

4 ZUSAMMENFASSUNG

Die Kernhülle (NE) ist eine der am wenigsten charakterisierten Strukturen in der eukaryotischen Zelle. Die vorgelegte Arbeit handelt von der Identifikation neuer Komponenten der inneren Kernmembran (INM) und deren Charakterisierung. Zusätzlich wurden Interaktionspartner von LAP2beta, einem bekannten Protein der INM, gesucht.

Durch eine Kombination von subzellulärer Fraktionierung und Werkzeugen der Proteomanalyse wurde ein proteomischer Screen der NE durchgeführt. Basierend auf den experimentellen Beweisen, dass INM-Proteine eine Extraktion mit TritonX-100 überstehen, wurden zwei neue integrale Membran-Proteine als INM-Proteine klassifiziert. Diese Proteine sind KIAA0810 und LUMA. Deren Lokalisation in der INM wurde durch indirekte Immunfluoreszenz von transient transfizierten Zellen, die diese Proteine überexprimierten, bestätigt.

LUMA, ein Protein mit der geschätzten Molekulargewicht von 45kDa, hat keine Ähnlichkeit zu anderen bekannten Proteinen und besitzt keine Homologie-Domänen. Das Hydrophathie-Profil von LUMA lässt auf vier Transmembran-Sequenzen mit einem großem hydrophilen Bereich zwischen den ersten zwei schließen. Durch Überexpression von Deletionsmutanten in COS7-Zellen konnte die Topologie von LUMA untersucht und die INM-Targeting-Domäne identifiziert werden. Beide N- und C-Termini von LUMA zeigen zur ER-Lumen während die große hydrophile Bereich zum Nucleoplasma hin orientiert ist.. Der kleinste Teil von LUMA, der für die INM-Lokalisierung ausreichend ist, besteht aus den Aminosäuren 201-345, welche die zweite Hälfte des hydrophilen Bereiches und die zweite Transmembran-Sequenz umfassen. Überexpression von LUMA induziert einen markanten Phänotyp in den Zellen – die NE sieht 'geschwollen' aus und beinhaltet vesikel-ähnliche Strukturen. Zusätzlich sieht das nukleäre Chromatin weniger dicht aus als in Kontrollzellen. Eine Runterregulation von LUMA führt zur Bildung vesikel-ähnlicher Strukturen außerhalb des Kerns. Diese Vesikel beinhalten Chromatin, während das Chromatin im Kern eine veränderte Struktur erhält. Ein Chromosom-Bindungstest zeigte, dass LUMA Chromosomen zu binden und diese zu dekondensieren fähig ist. Diese Beobachtungen lassen vermuten, dass LUMA eine Rolle in der Genregulation und/oder Regulation des Zellzyklus hat. Außerdem zeigen sie, dass die korrekte Menge an LUMA für den Erhalt einer intakten NE notwendig ist.

Um die Funktionen der Kernhülle zu verstehen, ist ein detailliertes Verständnis der Interaktionen zwischen deren Proteinen notwendig. Um diese zu untersuchen wurden native Komplexe von LAP2beta isoliert und charakterisiert. Durch die Nutzung verschiedener Techniken konnten nach dem Solubilisieren der Membran mit n-dodecyl-beta-maltosid LAP2beta beinhaltende Komplexe von hohem Molekulargewicht isoliert werden. Neben LAP2beta befand sich auch LAP2epsilon in diesen Komplexen jedoch keine Lamina. Weitere Experimente sind notwendig, um die isolierten Komplexe näher zu charakterisieren.