

Zweiter Zwischenbericht

„Etablierung einer Plattform zur Testung von Mikrotubuli stabilisierenden Wirkstoffen zur Behandlung von SPG4-HSP“

Prof. Dr. med Beate Winner,

Tania Rizo M.Sc.

Stammzellbiologische Abteilung, Universitätsklinikum Erlangen,

Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, 91054 Erlangen

Wir freuen uns sehr die Fortschritte unseres Projekts mitteilen zu dürfen, und bedanken uns weiterhin für die Unterstützung bei dem Förderverein für HSP-Forschung. Es ist unser Ziel, eine Plattform in unserem Labor zu etablieren, mit der wir in der Lage sein werden, die Wirkung unterschiedlicher Testsubstanzen auf humane Nervenzellen, die aus induzierten pluripotenten Stammzellen (iPSZ) hergestellt worden sind, nachzuweisen. Im letzten Bericht haben wir erklärt wie wir diese humanen Nervenzellen generiert haben und welcher Qualitätskontrolle diese durchlaufen haben.

In den letzten Monaten haben wir uns darauf fokussiert, den Messparameter „das Vorhandensein von Nervenfortsatzschwellungen“ besser zu kalibrieren. Dabei konnten wir auch in den vorliegenden Zellen bestätigen, dass SPG4 abgeleitete Nervenzellen im Vergleich zu Kontrollen eine erhöhte Menge an Nervenfortsatzschwellungen aufweisen. Diese waren außerdem erheblich empfindlicher gegenüber äußeren Stressfaktoren. Um die Feinstruktur, spezifisch die Mikrotubuli innerhalb dieser Schwellungen besser darstellen zu können, haben wir sogenannte „Super-resolution Mikroskopie“ angewendet. Hier konnten wir erstmals zeigen, dass sich zerstückelte Mikrotubuli innerhalb der Nervenfortsatzschwellungen befinden (Abbildung 1).

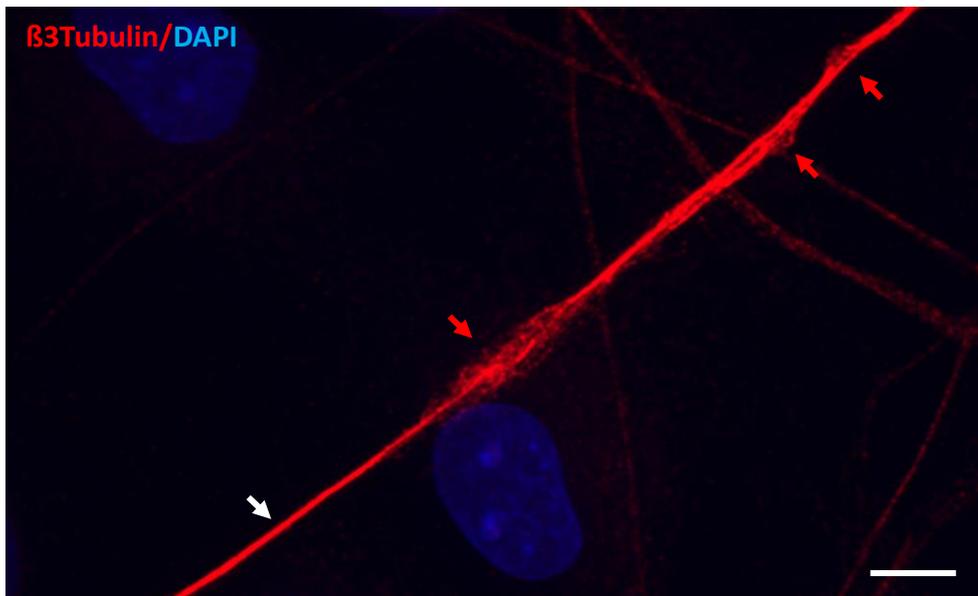


Abbildung 1. Super-resolution mikroskopische Aufnahme eines SPG4-iPSZ abgeleiteten Nervenfortsatzes mit Schwellungen. Mikrotubuli wurden mit dem neuronal-spezifischen Marker β 3Tubulin gefärbt (rot), Zellkerne mit DAPI (blau). Der weiße Pfeil zeigt auf einen normal aussehenden Ausschnitt des Nervenfortsatzes. Die roten Pfeile zeigen auf zerbrochene Mikrotubuli innerhalb der Nervenfortsatzschwellungen. Maßstab= 5 μ m

Mikrotubuli und Transport von Zellorganellen entlang der Nervenfortsätze

Mikrotubuli sind ein Bestandteil des Zellskeletts und dienen dabei als Gleitschienen auf denen unterschiedliche Zellorganellen transportiert werden. Die Mikrotubuli müssen stabil genug sein, dass Zellorganelle zuverlässig transportiert werden, allerdings flexibel genug sein, dass Zellen schnell genug auf rasche Änderungen reagieren können. Spastin, das Protein, das von dem Gen SPG4 kodiert wird, trägt zu dieser Flexibilität enorm bei. Gibt es in der Zelle weniger spastin, so ändert sich die Struktur der Mikrotubuli in der Zelle (siehe Abbildung 1). Diese Änderung kann wiederum dazu führen, dass der Transport von Zellorganellen unterbrochen wird. Deswegen war unser nächster Schritt den Transport von Mitochondrien zu untersuchen, welche die „Kraftwerke der Zellen sind“ (siehe Abbildung 2). Hier haben wir festgestellt, dass der Transport von Mitochondrien in SPG4 Nervenzellen im Vergleich zu den Kontrollen reduziert ist.

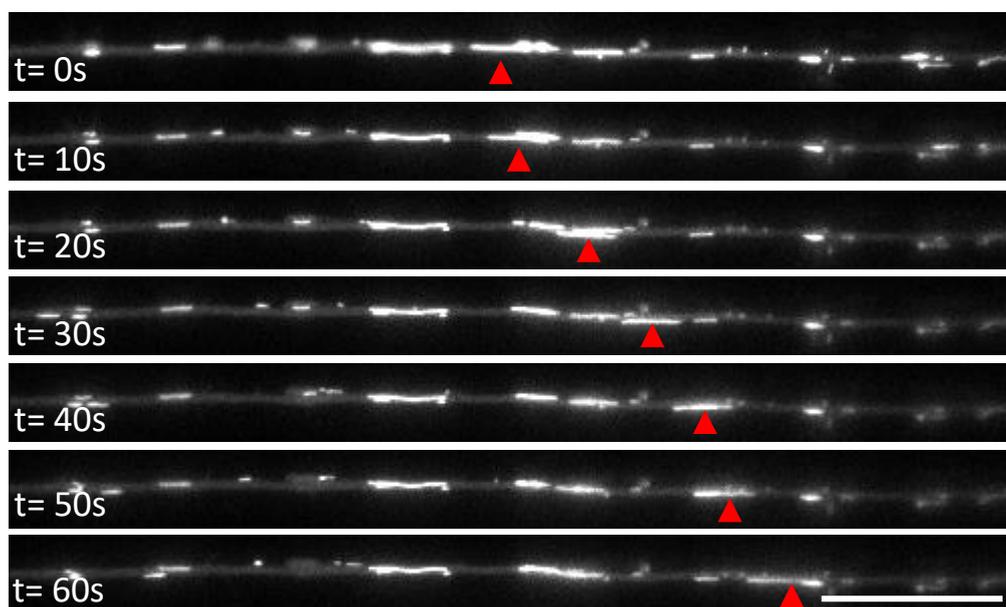


Abbildung 2. Transport von Mitochondrien entlang eines Nervenfortsatzes. Mitochondrien wurden mit MitoDsRed sichtbar gemacht und deren Transport entlang der Nervenfortsätze von iPSZ abgeleiteten Nervenzellen über die Zeit aufgenommen. Maßstab = 30µm

Nächste Schritte:

Wir haben festgestellt, dass iPSZ abgeleitete Nervenzellen eine erhöhte Menge an Nervenfortsatzschwellungen aufweisen und dass der Transport von Mitochondrien verringert ist. Nun werden wir versuchen, anhand von Mikrotubuli-modifizierenden Wirkstoffen diesen Transport wiederherzustellen.