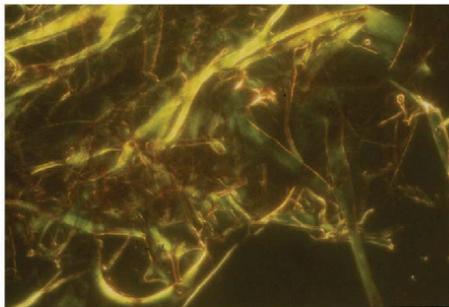




Gerald Gellermann (Autor)

**Raft -Lipide und Cholesterol-Ester als Bestandteile
von humanen *ex vivo* Amyloid-Fibrillen**

„Raft“-Lipide und Cholesterol-Ester als Bestandteile
von humanen *ex vivo* Amyloid-Fibrillen



Dissertation

von

Gerald Gellermann

<https://cuvillier.de/de/shop/publications/3245>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen,
Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: <https://cuvillier.de>

Zusammenfassung

Amyloidosen sind degenerative Proteinspeicherkrankheiten, die vorrangig im Alter auftreten. Sie stellen ein wachsendes medizinisches Problemfeld mit bedeutender volkswirtschaftlicher Relevanz dar. Zu den bekanntesten Vertretern zählen die Alzheimer- und die Prion-Krankheit. Bis heute sind mehr als 20 Amyloid-Proteine beschrieben. Beim Auftreten der Krankheit aggregieren diese und lagern sich im Gewebe in der für Amyloidosen typischen Fibrillenform mit einem hohen β -Faltblattanteil ab. Die Struktur der Amyloid-Fibrillen ist unabhängig von den Fibrillenproteinen, klinischen Symptomen, Geweben oder der induzierten bzw. spontanen Entstehung. Der Ablagerungsprozess kann intra- und extrazellulär ablaufen, auf einzelne Organe beschränkt oder systemisch sein. Die Folge sind Gewebeschäden und Tod.

Bis heute ist der pathogene Mechanismus der Amyloidosen noch weitestgehend unverstanden. In der vorliegenden Arbeit wird die Frage nach der Rolle von Lipiden an der Pathogenese der Amyloidosen aufgeworfen.

Ziel der Promotion war eine Analyse von Proteinen und Lipiden humaner *ex vivo* Amyloid-Fibrillen, um Rückschlüsse auf den pathogenen Mechanismus ziehen zu können. Die Amyloid-Proben wurden von Prof. Dr. Reinhold P. Linke, Prof. Dr. Mordechai Pras und Prof. Dr. Peter Davies aus von Amyloidosen betroffenem Gewebe extrahiert. Da das Patientenmaterial nur in geringer Menge vorlag, mussten für eine sensitive und quantitative Analytik Mikromethoden etabliert werden, die eine genaue Bestimmung der Protein- und Lipid-Komponenten in Amyloid-Fibrillen erlauben.

Das erhaltene Material wurde als Amyloid charakterisiert und mit proteinanalytischen Methoden konnte die Identität der Fibrillenproteine bestätigt werden. Eine Quantifizierung der Proteine zeigte, dass noch weitere Komponenten mit diesen vergesellschaftet aufgereinigt wurden.

Bei Untersuchung des Lipidanteils der Amyloid-Fibrillen konnte in allen Proben ein selektives Lipidmuster gefunden werden, das sich von der Lipidkonstellationen von Kontroll-Gewebe unterscheidet. Auffällig war der geringe Anteil an Phospholipiden. Die Lipid-Mikrodomänen („lipid rafts“) bildenden Lipide Cholesterol und Sphingomyelin konnten stark angereichert nachgewiesen werden. Zusätzlich fanden sich in den humanen *ex vivo* Amyloid-Fibrillen hohe Werte an Cholesterol-Estern.

Die selektive Assoziation dieser Lipide mit den Amyloid-Fibrillen, die unabhängig vom Fibrillenprotein ist, weist auf einen generellen Ablauf der pathologischen Prozesse von Amyloidosen in „lipid rafts“ hin. Dabei kommt den gefundenen Cholesterol-Estern, die vorrangig im Zentrum von Lipoproteinen lokalisiert sind, eine besondere Rolle bei der Aggregation der untersuchten Serumsproteine zu.

Danksagung

Die Anfertigung meiner Dissertation am Institut für Molekulare Biotechnologie Jena e.v. in der Abteilung Molekularbiologie unter der Leitung von Prof. Dr. Stephan Diekmann war ein aufregender und höchst interessanter Abschnitt meines Lebens. Prof. Stephan Diekmann möchte ich für die Möglichkeit danken, die interessante Fragestellung der vorliegenden Arbeit in seiner Arbeitsgruppe bearbeiten zu dürfen. Des Weiteren möchte ich mich für die nette Aufnahme in seine Arbeitsgruppe, sein Interesse am Fortgang der Arbeit sowie seine ständige Diskussionsbereitschaft herzlich bedanken.

Ganz besonders bin ich Dr. Thomas Appel zu Dank verpflichtet. Durch seine Forschungsergebnisse zu Lipiden in Prion-Fibrillen brachte er die spannende Fragestellung der vorliegenden Arbeit auf. Er führte mich in das Thema der Amyloidosen ein und hatte stets ein offenes Ohr für auftretende Probleme und deren Lösung. Dankbar bin ich ihm auch für viele Ratschläge zu chemischen Analysen und anregende Diskussionen.

Die Analyse von Lipiden in humanen Amyloid-Proben war nur möglich durch die großzügige Überlassung ausreichender Mengen dieses Materials. Die Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Reinhold P. Linke stellte 15 wasseraufgereinigte humane Amyloid-Proben bereit. Hierfür herzlichen Dank.

In gleicher Weise bin ich auch Prof. Dr. Mordechai Pras und Dr. Shmuel Strasburg für die Überlassung von 15 weiteren humanen wasseraufgereinigten Amyloid-Proben dankbar.

Prof. Dr. Peter Davies möchte ich herzlich für die in seiner Arbeitsgruppe immunoaffinitätsaufgereinigte Präparation von „paired helical filaments“ danken.

Vor allem bin ich Christian Leisner und Tim Luetkepohl zu großem Dank verpflichtet, die während 11monatiger hilfswissenschaftlicher Tätigkeiten und eines Sommerpraktikums viel zur Verbesserung der dünnschichtchromatographischen Techniken beitrugen. Durch ihr Engagement und ihren Einsatzwillen war es möglich, die anfallenden großen Datenmengen bei der quantitativen Analyse der Lipidextrakte aus den Amyloid-Proben zu erstellen und auszuwerten. In dieser Zeit, in der sie bei vielen wissenschaftlichen Experimenten selbstständig arbeiteten, wurden sie zu guten Freunden.

Emilia Niekrasz, die ich während eines Socrates-Praktikums betreuen durfte, bin ich für die Evaluierung der Nachweisgrenzen der polaren Lipidklassen bei MALDI-MS und die Messungen der mit micro-HPLC separierten Lipidklassen aus den Lipidextrakten einzelner Amyloid-Proben dankbar.

Dr. Karl-Heinz Gührs möchte ich für die Unterstützung bei der micro-HPLC und die Einführung in die Bedienung des MALDI-MS sowie für seine vielen guten Ratschläge herzlich danken.

Brigitte Künzel danke ich für ihre Unterstützung bei der Protein-Gelelektrophorese sowie Kathleen Buder für ihre Einführung in die Elektronenmikroskopie. Dr. Marcus Fändrich bin ich für viele wertvolle Diskussionen zum Thema Amyloid dankbar.

Die Arbeit wurde durch die Ausstattung von EXIST-HighTEPP (Existenzgründer aus Hochschulen-High Technology Entrepreneurship Postgraduate Programm) mit einem Stipendium und finanziellen Mitteln für Forschung und Reisen möglich. Der Programm-Leitung möchte ich danken, über die wissenschaftliche Seite der Biotechnologie hinaus Erfahrungen sammeln zu können.

Herzlich bedanken möchte ich mich auch bei allen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe Molekulare Biotechnologie für ihr Interesse und ihre Diskussionsbereitschaft an der vorliegenden Arbeit sowie das freundschaftliche Klima während der Arbeit und auch bei vielen privaten Gelegenheiten.

Meiner Familie möchte ich für ihr Verständnis und ihre Unterstützung in allen Lebenslagen meinen größten Dank aussprechen.