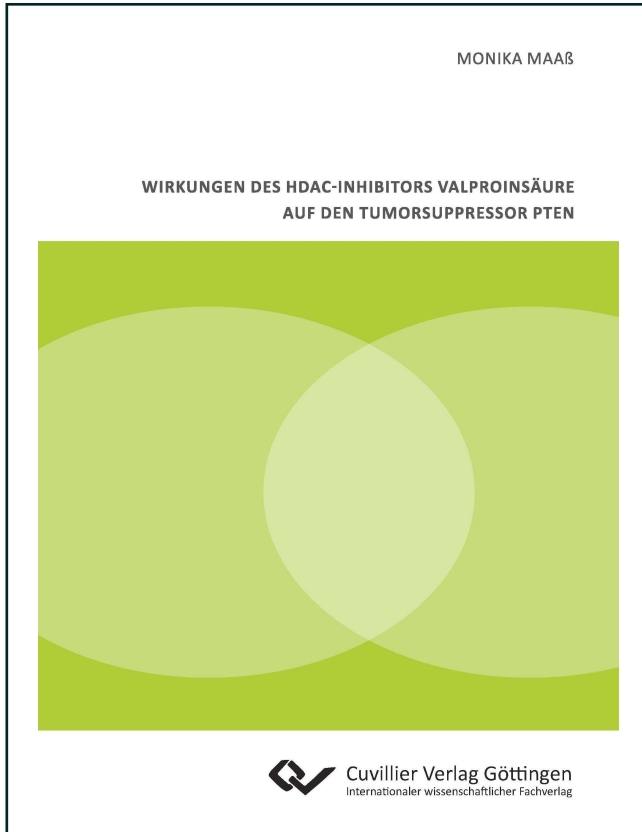




Monika Maaß (Autor)

Wirkungen des HDAC-Inhibitors Valproinsäure auf den Tumorsuppressor PTEN



<https://cuvillier.de/de/shop/publications/6466>

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>

**Inhaltsverzeichnis**

Inhaltsverzeichnis	I
Abkürzungsverzeichnis	III
Zusammenfassung	XI
Summary	XIII
1. Einleitung	I
1.1. Histondeacetylasen (HDACs) und HDAC-Inhibitoren _____	1
1.1.1. Lysin-Acetylierung: Bedeutung für Histon- und Nicht-Histon-Proteine _____	2
1.1.2. Histondeacetylasen _____	4
1.1.3. HDACs und Krebs _____	8
1.1.4. HDAC-Inhibitoren _____	9
1.1.5. HDAC-Inhibitoren als potenzielle Tumorthapeutika _____	10
1.2. Phosphatase and Tensin Homolog Deleted on Chromosome 10 (PTEN) _____	12
1.2.1. PTEN-Struktur _____	13
1.2.2. <i>PTEN</i> -Expression _____	14
1.2.3. Posttranslationale Regulation von PTEN _____	16
1.2.4. PTEN-Signalwege: Kontrolle zahlreicher zellulärer Prozesse _____	21
1.2.5. Die Rolle von PTEN bei nicht-neoplastischen Erkrankungen _____	25
1.3. Zielsetzung der Arbeit _____	27
2. Material und Methoden	28
2.1. Material _____	28
2.2. Methoden _____	45
2.2.1. Zellkultur _____	45
2.2.2. Biochemische Methoden _____	48
2.2.3. Statistische Auswertung _____	57
2.2.4. Konfokale Lasermikroskopie _____	57
2.2.5. PE-Annexin-V Färbung zur Ermittlung von Apoptose _____	59
2.2.6. FACS-Analyse _____	59
2.2.7. Kultivierung von <i>Escherichia coli</i> (<i>E.coli</i>) _____	60
2.2.8. Molekularbiologische Methoden _____	60
3. Ergebnisse	69
3.1. VPA führt zu einer Erhöhung der mRNA-Menge von <i>PTEN</i> _____	72
3.2. VPA beeinflusst die Regulation der PTEN-Menge auf Proteinebene _____	74
3.2.1. Die Hemmung des Abbaus von PTEN durch das Calpain-2-Protease Degradationssystem durch VPA trägt möglicherweise zur Erhöhung der PTEN-Proteinmenge durch VPA bei. _____	74
3.2.2. HDAC-Inhibitor-bedingte Veränderungen posttranslationaler Modifikationen, die mit der PTEN-Stabilität assoziiert sind, liefern keine hinreichende Erklärung für die PTEN-Induktion. _____	77
3.3. VPA beeinflusst die Multi-Monoubiquitinierung von PTEN _____	87
3.3.1. HDAC-Inhibitoren stimulieren die Mono- bis Triubiquitinierung von transfiziertem PTEN in PTEN-defizienten PC3-Zellen. _____	87



3.3.2. Die Lysinreste 13 und 289 sind nicht die einzigen Ubiquitinierungsstellen, die für die VPA-bedingte Erhöhung der Mono- bis Triubiquitinierung von PTEN eine Rolle spielen.	92
3.4. HDAC-Inhibitoren beeinflussen die Ubiquitin-Ligase und das Deubiquitinierungssystem von PTEN	95
3.4.1. HDAC-Inhibitoren bewirken eine verstärkte Wechselwirkung von PTEN mit der PTEN-Ubiquitin-Ligase NEDD4-1 und eine Verminderung der NEDD4-1-Proteinmenge	95
3.4.2. VPA führt zu einer Verminderung der Proteinmenge des PTEN-Deubiquitinierungssystems und verstärkt dessen Wechselwirkung mit PTEN	99
3.5. HDAC-Inhibitoren beeinflussen die Funktion von PTEN.	109
3.5.1. HDAC-Inhibitoren beeinflussen die Lokalisation von WT-PTEN und K13E-, K289E- bzw. K13E/K289E-mutiertem PTEN.	109
3.5.2. VPA-Behandlung und die Transfektion von <i>WT-PTEN</i> , <i>K13E-</i> , <i>K289E-</i> und <i>K13E/K289E-PTEN</i> induzieren Apoptose in PC3-Zellen	114
3.5.3. VPA stellt die Fähigkeit der PTEN-K13E-, -K289E- und K13E/K289E-Mutanten nukleäre Phospho-AKT-Mengen zu reduzieren wieder her.	116
3.5.4. VPA beeinflusst die Wechselwirkung von PTEN mit verschiedenen bekannten und neu identifizierten Interaktionspartnern von PTEN.	118
4. Diskussion	122
4.1. Einfluss von VPA auf die mRNA- und Proteinmenge von PTEN	123
4.2. Bedeutung der Modulation posttranslationaler Modifikationen von PTEN für die HDAC-Inhibitor-bedingte Induktion der PTEN-Proteinmenge	126
4.3. Bedeutung der Lysinreste K13 und K289 für die VPA-induzierte Multi-Monoubiquitinierung von PTEN	130
4.4. Bedeutung der PTEN-Ubiquitinligase NEDD4-1 und des PTEN-Deubiquitinierungssystems für die Erhöhung der PTEN-Multi-Monoubiquitinierung durch HDAC-Inhibitoren	133
4.5. Einfluss von HDAC-Inhibitoren auf die Lokalisation und Funktion von PTEN	138
4.5.1. Einfluss von HDAC-Inhibitoren auf die Lokalisation von PTEN	138
4.5.2. Einfluss der VPA-Behandlung auf die Fähigkeit von WT-PTEN und PTEN-Ubiquitinierungsmutanten zur Dephosphorylierung von P-AKT und zur Apoptoseinduktion	141
4.5.3. Wirkung von VPA auf die Wechselwirkung von PTEN mit MAGI-2 und den neu identifizierten Interaktionspartnern HDAC1, HDAC2 und CENP-E	144
4.6. Schlussfolgerung	147
Literaturverzeichnis	149
DANKSAGUNG	165