

Funktionelle und strukturelle Aspekte bei Selbstinteraktionen der N-terminalen Domänen von Lamininen

Basalmembranen müssen unterschiedlichsten Anforderungen gerecht werden, wobei die jeweils vorkommenden Isoformen ihrer molekularen Bestandteile eine wesentliche Rolle spielen. Für die Entwicklung von Basalmembranen ist die Ausbildung eines Laminin-Netzwerkes ein wesentlicher Schritt (Smyth et al., 1999; Li et al., 2002). Dieses Netzwerk entsteht durch Ca^{2+} -abhängige (Paulsson et al., 1987) Selbstinteraktionen zwischen den N-terminalen Bereichen der kurzen Arme der Laminine (Yurchenco et al., 1992; Yurchenco & Cheng, 1993; Schittny & Schittny, 1993; Odenthal, 2002; Odenthal et al., 2004). Bisher war weder bekannt, ob nur die jeweiligen LN-Domänen oder auch die darauf folgenden LEa1-Domäne an diesen Interaktionen beteiligt sind, noch wo die beteiligten Interaktionsflächen liegen. Versuche die dreidimensionale Struktur der N-terminalen Domänen aufzulösen waren erfolglos. Auch die Frage nach möglichen kooperativen Effekten bei den Interaktionen blieb unbeantwortet.

Im Rahmen dieser Arbeit konnte für die Interaktionen zwischen den N-terminalen Domänen der Laminin- β - und γ -Ketten positive Kooperativität nachgewiesen werden, während die α -Ketten sich anscheinend in ihren Interaktionseigenschaften unterscheiden. Darüber hinaus wurden für die Interaktion zwischen der β 1- und der γ 1-Kette Bereiche identifiziert, die an der Interaktion beteiligt sind. Einer dieser Bereiche liegt in der LEa1-Domäne der γ 1-Kette, damit konnte erstmals direkt eine Beteiligung der LEa1-Domäne an einer Laminin-Laminin-Interaktion gezeigt werden. Eine Analyse des Disulfidbrückenmusters der Domänen LEa1-LEa4 der Laminin- γ 1-Kette machte außerdem deutlich, dass sich die LEa-Domänen anscheinend von den LEb-Domänen unterscheiden, da sie nicht eine für EGF-ähnliche Domänen typische überkreuzte Anordnung der Disulfidbrücken aufweisen, sondern eine lineare. Durch zielgerichtete Mutagenese wurde des Weiteren ein Tryptophan an Position 165 in der LN-Domäne der β 2-Kette identifiziert, die Einfluss auf das Interaktionsverhalten dieser Kette hat.

Zusammen geben diese Ergebnisse einen tieferen Einblick in die Komplexität der Lamininpolymerisation und die daraus resultierende funktionelle Vielfalt von Basalmembranen.

Functional and structural aspects influencing self interactions of Laminin N-terminal domains

Basement membranes have to fulfil a number of functionally different requirements, with different isoforms of their molecular components contributing important properties. The formation of laminin networks is a crucial step in the development of basement membranes (Smyth et al., 1999; Li et al., 2002). These networks form through Ca^{2+} -dependent (Paulsson et al., 1987) self-interactions between the N-terminal regions of the laminin short arms (Yurchenco et al., 1992; Yurchenco & Cheng, 1993; Schittny & Schittny, 1993; Odenthal, 2002; Odenthal et al., 2004). So far, it was neither known, whether only the LN-domains or also the LEa1-domains are involved in these interactions, nor were the corresponding interaction surfaces identified. Attempts to solve the three dimensional structure of the N-terminal domains remained unsuccessful and potential presence of cooperative effects in laminin polymerisation had not been addressed.

The data presented here demonstrate positive cooperativity of the interactions between the N-terminal domains of the laminin β - and γ -chains and points to differences in interaction properties between these and the α -chains. Furthermore, areas within the LN-domain of the β 1-chain and the LEa1-domain of γ 1-chain could be identified as being involved in the interaction between the two. In these experiments, the contribution of an LE-domain to laminin-laminin interactions was verified for the first time. An analysis of the disulfide bonding pattern of the domains LEa1 to LEa4 of the γ 1-chain showed that these domains differ from the LEB-domains of the same chain by not having the crossed disulfide bonds that are typically found in EGF-like domains. Site directed mutagenesis within the LN-domain of the laminin β 2-chain revealed a tryptophan in position 165, strongly influencing the interaction properties of this chain.

These results allow a deeper understanding of the dynamics of laminin polymerisation, leading to the functional variability of basement membranes.