

# Zusammenfassung

Kollagen VI ist ein heterotrimeres Protein der extrazellulären Matrix. Die am längsten bekannte Form besteht aus den drei verschiedenen  $\alpha$ -Ketten  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  und  $\alpha 3$ . Jede Kette besteht aus einer für Kollagene typischen Tripelhelix und aus N- sowie C-terminalen nicht-kollagenen Domänen, die wiederum hauptsächlich aus von-Willebrand-Faktor-A-ähnlichen Modulen zusammengesetzt sind. Die Assemblierung beginnt intrazellulär, die drei verschiedenen Ketten bilden ein Kollagen VI-Monomer, zwei Monomere ein Dimer in einer antiparallelen Ausrichtung und zwei Dimere bilden ein Tetramer. Die Tetramere werden in den extrazellulären Raum sekretiert und bilden dort Kopf-an-Kopf assoziierte Mikrofibrillen aus, die in einem Netzwerk mit zahlreichen anderen Matrixproteinen verknüpft sind. Im Jahr 2008 wurden drei weitere Kollagen VI  $\alpha$ -Ketten, die sogenannten „neuen Ketten“,  $\alpha 4$ ,  $\alpha 5$  und  $\alpha 6$  entdeckt. Sie weisen in ihrer Domänenanordnung eine hohe Homologie zur  $\alpha 3$ -Kette auf und es wird vermutet, dass die neuen Ketten die  $\alpha 3$ -Kette im Kollagen VI-Molekül in bestimmten Bereichen von Geweben ersetzen können.

Für Untersuchungen zur Struktur und makromolekularen Organisation von Kollagen VI wurden Fragmente der einzelnen Ketten rekombinant exprimiert. Dabei wurden für die Expression der kollagenen Domänen verschiedene Methoden zur Erzeugung einer Tripelhelix getestet. Die N- und C-terminalen Fragmente aus nicht-kollagenen Domänen wurden alle erfolgreich kloniert, in eukaryotischen Zellkultursystemen exprimiert und gereinigt. Gegen einen Großteil der Fragmente wurden darüber hinaus spezifische Antikörper hergestellt. Sowohl die rekombinanten Proteinfragmente, aber auch die spezifischen Antikörper sind wichtige Werkzeuge um die Funktionen von Kollagen VI zu untersuchen.

Von den N-terminalen Domänen der  $\alpha 3$ -,  $\alpha 4$ -,  $\alpha 5$ - und  $\alpha 6$ -Kette wurden molekulare EM Aufnahmen gemacht und daraus Strukturmodelle erstellt. Die N-terminalen Domänen der neuen Ketten wurden zusätzlich SAXS-Messungen unterzogen und daraus homologiebasierte *Rigid Body* Modelle erstellt. Die aus beiden Methoden hervorgegangenen Modelle zeigen untereinander eine gute Übereinstimmung und außerdem eine Ähnlichkeit zu dem bereits bekannten Modell der N1-N9-Domänen der  $\alpha 3$ -Kette. Darüber hinaus wurden die C-terminalen Domänen von  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$  und  $\alpha 4$  ebenfalls mittels SAXS untersucht und die erhaltenen Modelle weisen sowohl für  $\alpha 1$  aber auch für  $\alpha 2$  auf eine Dimerbildung hin.

Die Bindungen zwischen nicht-kollagenen Domänen und mit potentiellen Bindungspartnern aus der extrazellulären Matrix wurden mittels ELISA-ähnlichen Bindungsassays untersucht.

Dabei wurden einige, vornehmlich schwache Bindungen zwischen einzelnen Kollagen VI - Fragmenten festgestellt, deren Stärke sich aber im vollständig assemblierte Molekül durch kooperative Kräfte noch verstärken könnten. Bei der Suche nach potentiellen Bindungspartnern von Kollagen VI wurden die stärksten Wechselwirkungen mit Decorin und Nidogen-1 gemessen. Schwache Wechselwirkungen wurden mit Kollagen IV, Nidogen-2, Laminin- $\gamma$ 1, Thrombospondin-1 und den Fibulinen gefunden. Keinerlei Bindung zeigten die Matrilin und COMP. Die Bindung zwischen Kollagen VI und den Nidogenen wurde mit SPR-Messungen bestätigt und gezeigt, dass es eine generelle Affinität zwischen den Kollagen VI -VWA-Domänen und den Nidogenen gibt. Diese bisher unbekannte Bindung könnte als eine Verknüpfung der Basalmembran mit dem Netzwerk der Kollagen VI - Mikrofibrillen dienen.

Insgesamt konnte eine starke Ähnlichkeit zwischen den neuen Ketten und der  $\alpha$ 3-Kette in Bezug auf Struktur und Bindungsverhalten gezeigt werden, wodurch die Annahme untermauert wird, dass die neuen Ketten die  $\alpha$ 3-Kette im Kollagen VI -Molekül in bestimmten Bereichen von Geweben ersetzen können. Feine Unterschiede sprechen für eine funktionelle Spezialisierung der einzelnen Ketten.