

Characterization of new functional interactions of hemicentins within the elastin/ fibrillin microfibril network

Inaugural-Dissertation



Zur Erlangung des Doktorgrades

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität zu Köln

vorgelegt von

Steffen Lütke

aus Beckum, Deutschland

Köln, 14.06.2023

Berichterstatter (Gutachter):

Prof. Gerhard Sengle

Prof. Günter Schwarz

Tag der mündlichen Prüfung:

14.09.2023

Zusammenfassung

Die extrazelluläre Matrix ist eine wichtige zelluläre Mikroumgebung für die Regulierung von Gewebestruktur und -funktion. Die Glykoproteine Fibrillin-1 und Fibrillin-2 (FBN1 und FBN2) assemblieren zu mikrofibrillären Netzwerken, die nicht nur die biomechanischen Eigenschaften von Geweben bestimmen, sondern auch die Bioverfügbarkeit von Wachstumsfaktoren im extrazellulären Raum kontrollieren. Mitglieder der Fibulin Familie sind als essentielle Faktoren der Elastogenese beschrieben worden, die über spezifische Wechselwirkungen mit FBNs interagieren. Hemicentin-1 (HMCN1) und Hemicentin-2 (HMCN2) sind große 600 kDa Proteine, die zur Fibulin Familie gehören. Über das Bindungsrepertoire der HMCNs innerhalb des Elastin/ FBN Fasernetzwerks ist jedoch wenig bekannt.

Mausgewebe wurde mittels konfokaler Immunfluoreszenzmikroskopie und Immunogold-Elektronenmikroskopie untersucht, wobei neu generierte Antikörper gegen rekombinante HMCN1 und HMCN2 Proteinfragmente verwendet wurden. Immunfluoreszenzanalysen ergaben, dass HMCN1 vorwiegend an FBN-positiven Fasern lokalisiert ist, die die Dermis durchqueren und Haarfollikel mit einem korbartigen Geflecht umschließen. Eine ähnliche Co-Verteilung von HMCN1 wurde für Mitglieder der Fibulin und latenten TGF- β -Bindungsprotein (LTBP) Familie sowie mit Elastin beobachtet, was bestätigt, dass HMCN1 ein vernetzter Bestandteil des Elastin/ FBN Mikrofibrillen Netzwerks ist. HMCN2 wurde in der Dermis nicht nachgewiesen, es zeigte sich, dass es mit Basalmembran-Markern des Endomysiums der Skelettmuskulatur ko-lokalisiert, wo HMCN1 nicht vorhanden war. Die Immunfluoreszenzanalyse zeigte auch, dass HMCN1 seine dermale Lokalisierung in Abwesenheit von FBN2 veränderte, was darauf hindeutet, dass seine Gewebelokalisierung von FBN Mikrofibrillen abhängt.

Darüber hinaus zeigte die Immunogold-Markierung der Haut, dass HMCN1 direkt auf FBN Mikrofibrillen abgelagert wird. Interaktionsstudien zeigten, dass das Fibulin-ähnliche Modul der Hemicentine die Interaktion mit der N-terminalen EGF3-Hybrid1 Region der Fibrilline vermittelt und dass Hemicentine die LTBP-Bindung an die Fibrilline begrenzen können.

Die Analyse von *Hmcn1*^{-/-}, *Hmcn2*^{-/-} und *Hmcn1*^{-/-};*Hmcn2*^{-/-} Mäusen ergab keine Beeinträchtigung des Gesamtwachstums oder der Ablagerung von FBN Mikrofibrillen.

Transmissions-Elektronenmikroskopie und Echokardiographie erwachsener Aorten zeigten jedoch Brüche elastischer Fasern und Dilatationen der aufsteigenden Aorta.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen HMCN1 und HMCN2 als neue Interaktionspartner von Proteinen des Elastin/ FBN Mikrofibrillennetzwerks. Diese Ergebnisse geben neue Einblicke in die HMCNs und das Elastin/FBN Mikrofibrillen-Netzwerk, da sie eine wichtige Rolle bei der Elastogenese spielen und das Targeting von Wachstumsfaktoren modulieren könnten.