

Zusammenfassung

Kollagen VI ist ein ubiquitäres heterotrimeres Protein der extrazellulären Matrix (EZM) mit einem komplexen Assemblierungsprozess und einer Vielzahl von Funktionen. Im Skelettmuskel sorgt Kollagen VI sowohl für die strukturelle Integrität des Endomysiums, als auch der Basalmembran, die die Muskelfasern umgibt und gibt den darunter liegenden Satellitenzellen Signale, die das Wachstum und die Regeneration des Skelettmuskels beeinflussen. Mutationen in Kollagen VI führen zu einem Spektrum von angeborenen Myopathien, von der relativ milden Bethlem-Myopathie (BM) bis zur schweren angeborenen Ullrich-Muskeldystrophie (UCMD).

Kollagen VI Ketten enthalten vorwiegend von Willebrand Faktor Typ A-Domänen (VWA), bei denen es sich um Protein-Protein-Interaktionsdomänen handelt, die auch in einer Reihe anderer EZM-Proteinen zu finden sind. Insbesondere die $\alpha 3$ (VI) Kette weist an ihrem N-Terminus bis zu zehn miteinander verbundene VWA-Domänen auf. Hier wird mittels SAXS experimentell gezeigt, dass die bisher nur vermutete Flexibilität auch tatsächlich zwischen diesen Domänen vorhanden ist. Die Flexibilität zwischen benachbarten Domänen reicht von einem elastischen, steifen Federtyp in distalen Tandemdomänen (nach N4) bis zu einem hochflexiblen Verbindungsstück zwischen den N4- und N3-Domänen, was auf eine scharnierartige Verbindung zwischen den beiden hindeutet. Pathogene Mutationen sind in dieser Region der $\alpha 3$ (VI) Kette selten, was auf eine integrale Rolle hinweist und die daher Varianten nicht zulassen, die die Struktur dieser Region verändern.

Krankheitsverursachende Mutationen sind jedoch in der tripelhelikalen Region und in den sie flankierenden VWA-Domänen häufig. Die $\alpha 3$ (VI) N2-VWA-Domäne ist eine solche Domäne, und die hier gelöste Kristallstruktur war hilfreich, um die Pathomechanismen zu verstehen. Die Konsequenzen von Punktmutationen, die in einzelne N2-Domäne eingeführt wurden, hängen von der Position innerhalb der Struktur ab. Diese Mutationen führen entweder zu Fehlfaltung, Retention und Auslösung von ER-Stress oder zur Sekretion, was dann in der Folge zu einer gestörten Wechselwirkungen mit anderen EZM Bestandteilen führen kann. Somit konnten erste Struktur-Funktions-Beziehungen analysiert werden.

Parallel zu diesen grundlegenden, krankheitsverursachenden Mechanismen treten Mutationen in der tripelhelikalen Region auf. Eine besonders schnell fortschreitenden Form von UCMD entsteht durch eine Mutation, die zur Bildung einer neuen Spleißdonorstelle in COL6A1 (c.930 + 189C> T) und damit zur Bildung eines Pseudoexons führt. Die Mutation bewirkt dadurch die Unterbrechung des tripelhelikalen Gly-Xaa-Yaa Wiederholungsmotifs durch eine Insertion von 24 Aminosäureresten. Hier wird gezeigt, dass die daraus resultierende mutierte $\alpha 1$ (VI) Kette trotz einer partiellen intrazellulärer Retention von

Aggregaten mit hohem Molekulargewicht, die ER-Stress auslösen können, von dermalen Fibroblasten weitgehend als nicht tripelhelikale Form sekretiert wird. Die mutierte $\alpha 1(VI)$ Kette reichert sich dann in der vom Skelettmuskel und von kultivierten dermalen Fibroblasten gebildeten EZM an, wo sie gehäuft mit Wildtyp-Kollagen VI interagiert. Die mutierte Kette scheint daher in erster Linie einen toxischen Pathomechanismus auszulösen, der eine Fehlfunktion hervorruft und ein neues Entstehungsmuster für eine Kollagen-VI-Myopathie darstellt. Daher hat sich die biochemische Charakterisierung dieser Mutation bei der Entwicklung einer vielversprechenden Therapie auf der Basis von Oligonukleotid-Skipping für diese Form von UCMD als wertvoll erwiesen.