

Zusammenfassung

Das humane orthologe Molekül von CHL1 (hCHL1) ist ein kürzlich entdecktes Molekül aus der L1-Familie von Zelladhäsionsmolekülen. Die Moleküle dieser Teilfamilie der Ig-Superfamilie sind an zahlreichen Vorgängen in der Entwicklung und Aufrechterhaltung der Funktion des zentralen und peripheren Nervensystems beteiligt. In dieser Arbeit sollte ein Fusionsprotein aus der extrazellulären Domäne von hCHL1 und dem F_c von IgG₁ hergestellt werden, um mit diesem in Neuritenwachstumsexperimenten die Funktion von hCHL1 zu untersuchen. Hierzu wurde zunächst ein für das Fusionsprotein hCHL1-Fc kodierendes Plasmid konstruiert, das durch CaPO₄-Transfektion in CHO-K1-Zellen eingeführt wurde. In diesem eukaryontischen Expressionssystem wurde das Fusionsprotein in dimerer Form in den Überstand sezerniert und konnte über Protein A-Sepharose aufgereinigt werden. Nachdem dessen Identität im Western Blot gesichert war, wurde es zu Neuritenwachstumsexperimenten in der Cerebellum-Zellkultur verwendet. Es wurde gezeigt, daß hCHL1-Fc das Neuritenwachstum von Cerebellumzellen der Maus sowohl substratgebunden, als auch in löslicher Form konzentrationsabhängig in ähnlichem Maße wie L1 und Laminin stimuliert. Nach Sicherung der Funktion wird hCHL1-Fc nun in Experimenten zur Regeneration bei Rückenmarksverletzungen durch Kontusion an Ratten verwendet und wird so möglicherweise eine Teilfunktion in der Therapie von Rückenmarksverletzungen einnehmen können.

L1 ist ein weiteres Molekül der L1-Familie, dessen Funktion schon näher charakterisiert wurde. Seine Signaltransduktion ist Gegenstand intensiver Forschung. Zahlreiche potentielle Transduktionswege wurden beschrieben. In dieser Arbeit sollte der noch weitgehend unbekannte Einfluß von Tyrosinkinasen und -phosphatasen untersucht werden. Dazu wurden N2A-Zellen kultiviert, mit dem Anti-L1-Antikörper AK 557.B6 stimuliert, der in früheren Experimenten erfolgreich Neuritenwachstum und Ca²⁺-Influx stimulierte, und schließlich lysiert. Das Lysat wurde durch 2-D Polyacrylamidgelelektrophorese aufgetrennt und mit der Silberfärbung angefärbt bzw. im Western Blot mit dem Anti-Phosphotyrosin-Antikörper 4G10 verwendet, um Unterschiede zwischen den stimulierten Zellen und der Kontrolle festzustellen. In dieser Arbeit konnten keine reproduzierbaren Unterschiede zwischen stimulierten Zellen und Kontrolle gefunden werden, was den Einfluß von Tyrosinkinasen und -phosphatasen aber keineswegs unwahrscheinlich macht.