

5 Zusammenfassung

Die Experimente dieser Arbeit zeigen, dass Annexin VI mit den cholesterinreichen Membranen von Lipid Rafts und Caveolae interagieren kann. Im ersten Teil dieser Arbeit konnten zwei Methoden zur Isolierung von Lipid Rafts und Caveolae erfolgreich etabliert werden. Sowohl die Methode zur Präparation von Lipid Rafts und Caveolae im diskontinuierlichen Optiprep®-Gradienten als auch die Triton X-100-Solubilisation nach Brown und Rose ließen sich in den Experimenten erfolgreich und reproduzierbar einsetzen. Die Charakterisierung von Lipid Rafts und Caveolae führte zur Identifikation der calciumabhängigen Assoziation von Annexin VI an cholesterinreiche Membrandomänen. Auf dieser Grundlage konnte ein Modell für die calciumabhängige Translokation von Annexin VI in cholesterinreiche Membrandomänen entwickelt werden. Neben dem Einfluss von Calcium galt das Interesse auch der Bedeutung von Cholesterin für die Membranbindung von Annexin VI mit cholesterinreichen Membrandomänen. In den Experimenten mit Digitonin-Inkubationen der Versuchszellen zeigte sich keine cholesterinabhängige Membranaffinität von Annexin VI mit Lipid Rafts/Caveolae. In vergleichenden Analysen von Wildtyp CHO Zellen mit Annexin VI überexprimierenden CHO Zellen (CHO Anx VI) nach HDL- oder LDL-Inkubationen ergaben sich keine signifikanten Veränderungen in der Cholesterinverteilung in Lipid Rafts und Caveolae Membranregionen. Es konnte jedoch für Annexin II eine sowohl calciuminduzierbare als auch cholesterinabhängige Membranaffinität in Lipid Rafts/Caveolae nachgewiesen werden.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde die mögliche Funktion von Annexin VI beim HDL-vermittelten Cholesterin-Efflux untersucht. In diesen Experimenten mit ^3H -Cholesterin-LDL beladenen CHO Zellen gelang der Nachweis eines signifikant erniedrigten HDL-induzierten ^3H -Cholesterin-Efflux in CHO Anx VI im Vergleich zu CHO Wildtypzellen. In ^3H -Cholesterin-Efflux-Studien mit EDTA-Zusatz konnte in Annexin VI überexprimierenden Zellen zudem ein tendenziell calciumabhängiger Cholesterin-Efflux nachgewiesen werden.

Zusammenfassend weisen die Ergebnisse der Experimente darauf hin, dass Annexin VI calciumabhängig mit Proteinen in Lipid Rafts (Caveolae) interagieren kann und an der Regulation des HDL-vermittelten Cholesterin-Efflux sowie dem Cholesterin Membrantransport in Caveolae entscheidend beteiligt ist.