

Name: Karl-Heinz Strucksberg

## Zusammenfassung

### **Titel: Molecular interactions of desmin and VCP in myofibrillar myopathies**

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung der Proteasom- und Autophagie-abhängigen Degradation von Proteinen im Kontext zweier humaner Erkrankungen, nämlich der Desminopathie und der IBMPFD-Erkrankung. Daher wurde zunächst eine sensitive und hochspezifische Methode entwickelt, die es ermöglicht, die Aktivität des Proteasoms in sehr kleinen Probenmengen von Skelettmuskelgewebe zu bestimmen. Eine erste Anwendung an Skelettmuskel von Mäusen ergab, dass die Proteasomaktivität mit zunehmendem Alter abnimmt und dass darüber hinaus die Proteasomaktivität in verschiedenen Skelettmuskeltypen Unterschiede aufweist.

Ein erster Anlauf, ein physiologisches VCP-R155C knock-in Mausmodell für die humane IBMPFD-Erkrankung herzustellen, führte zu einem anderen, jedoch ebenfalls nützlichen Modell. Trotz des Nachweises einer korrekten Manipulation des murinen VCP-Gens, konnte keine mutierte Form von VCP nachgewiesen werden. Stattdessen wurde gezeigt, dass dieses Mausmodell erniedrigte Mengen an VCP mRNA sowie Protein aufweist. Demzufolge wurde ein hemizygoten VCP-Mausmodell hergestellt. Die Charakterisierung dieses Mausmodells wies eine deutlich verminderte Proteasomaktivität und Defekte in der Autophagie auf. Zusätzlich wurden abnormale tubuläre Proteinaggregate im Skelettmuskel gealterter haploinsuffizienter VCP-Mäuse identifiziert. Wurde rekombinantes VCP Protein zu Lysaten von Skelettmuskelgewebe hinzugegeben, ergab sich eine deutliche Steigerung der Proteasomaktivität. Parallel zum Mausmodell wurde ein VCP R155C *Dictyostelium discoideum* Modell erzeugt. Mit diesem Modell sollen auf einfachere Weise ebenfalls Aspekte der humanen IBMPFD-Erkrankung untersucht werden.

Ein weiteres Mausmodell, eine Desmin R349P knock-in Maus als physiologisches Modell für die humane Desminopathie, wurde hingegen erfolgreich hergestellt. Eine Verpaarung von heterozygoten Tieren führte zwar zu homozygoten Tieren, aber in einer niedrigeren Frequenz als erwartet. Durch Westernblotanalysen wurde deutlich, dass mutiertes Desmin eine geringere elektrophoretische Mobilität aufweist. Analysen der mRNA und Protein-Mengenverhältnisse ergab, dass etwa 40% mutiertes und 60% normales Desmin vorliegen. Die zwei-dimensionale Gelelektrophorese zeigte eine abnormale Verschiebung der Desmin-Punkte zu einem mehr sauren pH-Wert. Die Gesamtheit der erhobenen biochemischen Daten und unsere ersten histopathologischen Analysen zeigten, dass die Pathologie in unserem Desmin R349P Mausmodell die Pathologie der humanen Desminopathie-Erkrankung widerspiegelt.