

Zusammenfassung

CRN2 ist ein Mitglied der Coronin Familie, die zur Super-Familie der WD-repeat Domänen Proteine gehört. Es ist in Zellbereichen mit hoher Aktindynamik lokalisiert und spielt dort eine Rolle bei der F-Aktin Bündelung und Inhibierung der Aktin Polymerisation. In beiden Fällen wird CRN2 durch eine CK2 vermittelte Phosphorylierung an Serin 463 negativ reguliert. Des Weiteren ist die CRN2 Expression assoziiert mit dem malignen Phänotyp diffuser Gliome und der Lungenmetastasierung von Leberzellkarzinomen. Um die Relevanz von CRN2 für die Tumorentwicklung näher zu untersuchen, wurden stabil transduzierte humane Glioblastom-Zelllinien mit einem CRN2 Knock-down oder Überexpression von GFP gekoppelten CRN2 Fusionsproteinen erstellt. Diese Zelllinien wurden in diversen in vitro Assays verwendet, um die Zellproliferation, Migration, Invasion und die Ausbildung zellulärer Fortsätze zu analysieren. Transplantation auf Organotypische Hirnschnittkulturen und Analysen der Größe und Invasionsrate der transplantierten Tumore zeigten erhöhte Invasion und diffusere Morphologie bei CRN2 überexprimierenden Zellen und erniedrigte Invasion sowie runde Morphologie bei CRN2 Knock-down Zellen. Darüber hinaus konnte eine reduzierte Invasion bei Zellen die S463D Phospho-mimetisches CRN2 exprimieren, im Vergleich zu Zellen die S463A Phospho-resistentes CRN2 exprimieren, beobachtet werden. Es wurden außerdem Unterschiede der F-Aktin Organisation in Invadopodia-ähnlichen Zellfortsätzen festgestellt. Die Phospho-resistente CRN2 Mutante zeigte eine zentrale Anreicherung von F-Aktin, wohingegen die Phospho-mimetische CRN2 Mutante eine Aktin Akkumulation am Rand der Zell-extensionen aufwies und CRN2 Knock-down Zellen eine diffuse F-Aktin Organisation. Dies könnte zu einer verringerten F-Aktin Stabilität in Invadopodia-ähnlichen Fortsätzen führen und somit die Invasivität dieser Zellen verringern. Um die biologische Rolle von CRN2 zu untersuchen, wurden knock-out Maus Linien mit Reporter-Insertion, Konditionalen, Reporter Deletion und Deletion Allelen erstellt. Der Knock-out wurde mit PCR, Southern Blot und Western Blot bestätigt. Die ersten Analysen der CRN2 Knock-out Mäuse zeigten ein erhöhtes Angstverhalten. Außerdem konnte ein Defekt in der Ausbildung von F-Aktin Stressfasern und in der Ausbildung zellulärer Fortsätze in primären CRN2 Knock-out Hautfibroblasten beobachtet werden, was zu einer verringerten Migrationsgeschwindigkeit führte.