

Untersuchung des Einflusses von Rab-GTPasen und Endozytose-Inhibitoren auf die Zellbiologie und Zellschicksalsspezifikation von hämatopoetischen Stamm- und Vorläuferzellen

Ein wichtiger Aspekt der Stammzellbiologie ist es zu verstehen, welche Mechanismen an der Zellschicksalsentscheidung Selbsterhalt oder Differenzierung von Stammzellen beteiligt sind. Vorarbeiten unserer Arbeitsgruppe konnten zeigen, dass hämatopoetische Stamm- und Vorläuferzellen (HSVZ) in der Lage sind sich asymmetrisch zu teilen (Beckmann *et al.*, 2007). Dabei segregierten drei Proteine die mit Endosomen assoziiert waren asymmetrisch in die Tochterzellen, was zu der Vermutung führte, dass eine Verbindung zwischen der endosomalen Maschinerie und Zellschicksalsentscheidungen von HSVZ besteht.

Rab-GTPasen sind Hauptregulatoren endosomaler Transportwege und endozytotische Prozesse lassen sich durch verschiedene Inhibitoren blockieren. Durch ektopische Expression von wildtypischen, konstitutiv-aktiven und dominant-negativen Varianten von Rab5, Rab7, Rab11 und Rab21 wurde der Einfluss endosomaler Transportwege auf die Zellbiologie und Zellschicksalsspezifikation von HSVZ untersucht. Zusätzlich zu der genetischen Manipulation der endosomalen Wege, wurde die Wirkung von Endozytoseinhibitoren auf die Zellbiologie und das Zellschicksal analysiert.

Ähnlich wie in anderen zellulären Systemen führte die Expression der Rab-GTPase Varianten (WT, DN und CA) zu teils drastischen Veränderungen der subzellulären Organisation von endosomalen Kompartimenten. Vor allem zeigte die Expression von Rab5CA eine abnormale Vergrößerung der Endosomen und Reorganisation von späten endosomalen Markerproteinen.

Darüber hinaus, zeigte die Expression von Rab11DN eine Verminderung der Ausbildung morphologisch polarisierter CD34⁺ Zellen. Eine Beeinträchtigung der Motilität durch Rab11DN oder eine andere Rab-GTPase-Variante war nicht erkennbar.

Die Behandlung mit Endozytose-Inhibitoren resultierte in einer gestörten Endozytose von Rezeptorliganden und verhinderte teilweise die Ausbildung und den Erhalt der Zellpolarität von CD34⁺ Zellen.

Funktionelle Analysen von genetisch und pharmazeutisch manipulierten CD34⁺ Zellen in CFC-Ansätzen zeigten, dass endosmale Prozesse, die durch Rab5WT, Rab5DN, Rab7DN und Rab21DN sowie die Inhibitoren Dynasore, M β CD und Spautin-1 verändert werden, das erythrozytäre-myeloische Linienpotenzial der CD34⁺ Zellen beeinflussen. Rab5DN und Rab21DN sowie Dynasore, M β CD und Spautin-1 verminderten die Bildung von Makrophagen (CFU-G bzw. CFU-GM), Granulozyten (CFU-G bzw. CFU-GM) und Erythrozyten enthaltenden Kolonien (BFU-E und CFU-Mix). Die Effekte von Rab5DN und Rab21DN auf die spezifischen Kolonietypen fanden sich in beiden analysierten Zellpopulationen (CD133⁺CD34⁺ und CD133^{low}CD34⁺) der CD34⁺Zellen und verminderten zudem das gesamte Koloniebildungspotenzial der Zellen. Rab5WT und Rab7DN förderten die Bildung von erythrozytären Kolonien (BFU-E und CFU-Mix) innerhalb der CD133^{low}CD34⁺ Zellpopulation. Durch die Verwendung von erythrozytären und megakaryozytären Differenzierungsverfahren konnten die fördernden Effekte von Rab5WT und Rab7DN auf die erythrozytäre und megakaryozytäre Differenzierung von CD133^{low}CD34⁺ Zellen bestätigt werden.