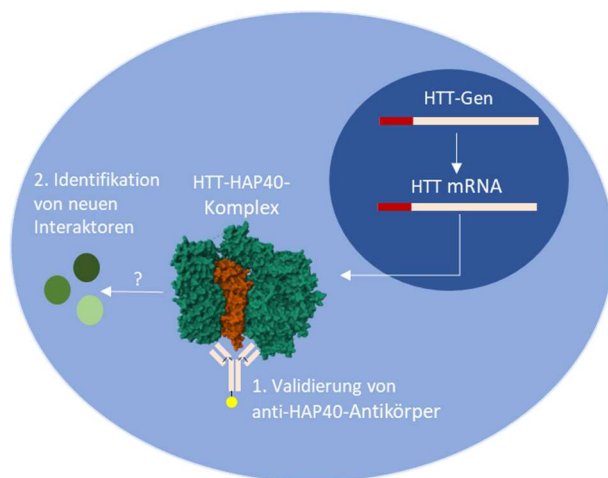


Projektförderung: Bedeutung von HAP40 und des HTT-HAP40-Komplexes für die Huntington-Krankheit



Projektziele: (1) Validierung neuer anti-HAP40-Antikörper. Ein anti-HAP40-Antikörper (rosa) bindet an HAP40 (orange), das mit HTT (grün) einen Komplex bildet. Die gebundenen Antikörper können über ein Detektormolekül (gelb) visualisiert und quantifiziert werden. (2) Identifizierung von neuen Interaktoren von HAP40 bzw. des Komplexes aus HAP40 mit normalem oder mutiertem HTT. Bild: Manuel Seefelder

Die Huntington-Erkrankung wird bekanntermaßen durch eine Mutation im Huntingtin-Gen verursacht. Im Jahr 2001 beobachteten Forscher erstmals eine Interaktion zwischen dem Huntingtin-Protein (HTT) und einem relativ kleinen Protein, welches seitdem als Huntingtin-assoziiertes Protein 40 (HAP40) bezeichnet wird. Erst viele Jahre später fand man heraus, dass HAP40 einer der häufigsten Interaktoren (Bindungspartner) von HTT ist. Daraufhin haben wir zusammen mit weiteren Forschern die Detailstruktur von normalem und mutiertem HTT zusammen mit HAP40 bestimmt. Bisher wissen wir so gut wie nichts über die Funktion von HAP40 und seine Rolle, die es bei der Huntington-

Krankheit spielen könnte. Es zeigt sich jedoch, dass HAP40 und HTT offenbar eine gemeinsame Evolution durchlaufen haben, ein Hinweis darauf, dass die Beziehung zwischen den beiden Proteinen sehr wichtig ist. Auch wenn wir später feststellten, dass Mutationen im HTT-Protein (Q46 und Q128) die grundlegende Struktur des HTT-HAP40-Komplexes nicht wesentlich verändern, gibt es bereits Hinweise dafür, dass HAP40 eine Rolle bei der Huntington-Erkrankung spielen könnte. So ist die Menge von HAP40 in Zellen direkt von der Menge des HTT-Proteins abhängig: wenn HTT niedrig in Zellen ist, ist auch HAP40 niedrig. In Gewebeproben von Huntington Patienten und in Mausmodellen ist das HAP40-Protein stark in seiner Menge reduziert. Neben der möglichen Krankheitsrelevanz könnte HAP40 auch als Biomarker für die Menge an HTT dienen, da HAP40-Mengen direkt von HTT-Mengen abhängen und beide Proteine bei Huntington-Patienten abnehmen. Die Bestätigung von HAP40 als Biomarker könnte Bedeutung haben für die Entwicklung von Therapien, die darauf abzielen, das mutierte HTT-Protein zu reduzieren. Zusätzlich könnte ein besseres Verständnis von HAP40s Bedeutung für die Huntington-Krankheit für die Entwicklung neuer Therapien wichtig sein.

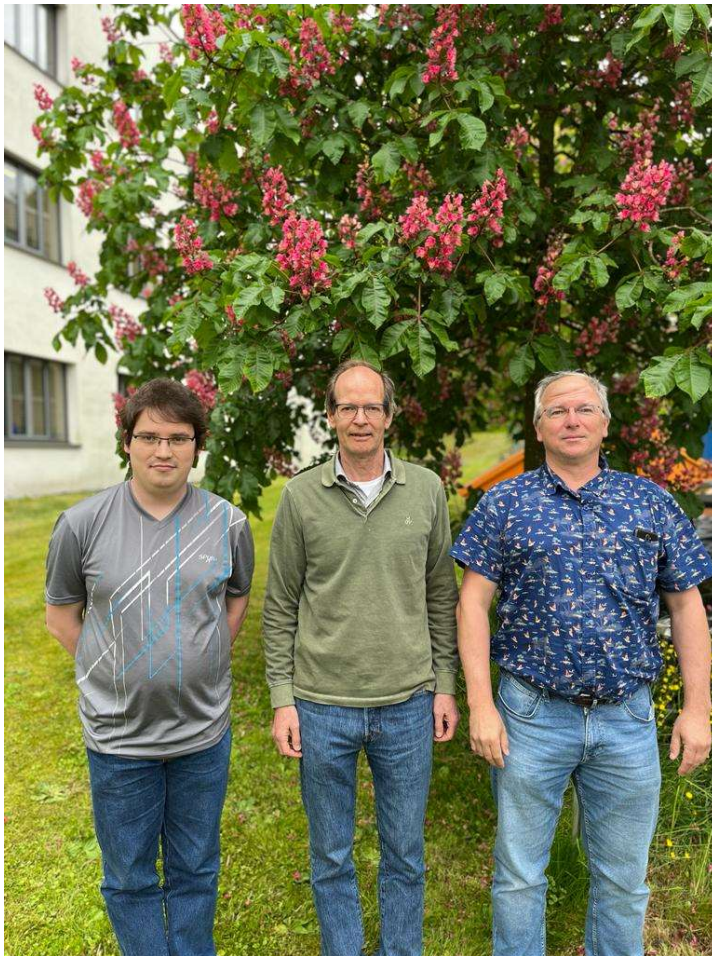
Aus diesem Grund haben wir zusammen mit dem Labor von Herrn Prof. Yvon Trottier (IGBMC, Straßburg) 13 neue monoklonale Antikörper gegen HAP40 hergestellt, welche wir nun untersuchen. Zusätzlich werden wir durch verschiedene Methoden weitere Proteine identifizieren, die mit HAP40 oder mit dem HTT-HAP40-Komplex interagieren, um Rückschlüsse auf die Funktion von HAP40 und des Komplexes zu ziehen.

In einem ersten Schritt haben wir beispielsweise gefunden, dass unsere Antikörper HAP40 aus verschiedenen Modellorganismen (Mensch, Maus, Zebrafisch und Fruchtfliege) binden können. Experimente mit verkürzten HAP40-Proteinen ermöglichten es uns, die Bindungsstelle der Antikörper näher zu charakterisieren. Demnächst werden wir untersuchen, welche Antikörper für Immunfärbungen an Zellen und Geweben sowie zur

Quantifizierung von HAP40 in antikörperbasierten HAP40-Analysen geeignet sind. Schließlich werden wir die Bindungsstärke (Affinität) der besten Antikörper bestimmen. Diese Informationen werden uns helfen, die Anwendbarkeit dieser Antikörper für zukünftige Experimente besser einschätzen und optimieren zu können. Unsere bisherigen Daten zeigen interessanterweise, dass freies HAP40 (also HAP40, welches in der Zelle nicht an HTT gebunden vorliegt) mit einer Vielzahl von anderen Proteinen interagieren kann. In einem nächsten Schritt werden wir verschiedene Interaktionsstudien mit dem HTT-HAP40-Komplex durchführen, um Bindungspartner des Komplexes aus HAP40 und normalem (17Q) bzw. mutiertem (128Q) HTT zu finden. Dieser Vergleich wird es uns ermöglichen, Proteine zu identifizieren, deren Interaktion mit dem HTT-HAP40-Komplex durch die Mutation im HTT-Gen beeinflusst wird.

Zusammenfassend erforschen wir in diesem von der Deutschen Huntington-Hilfe geförderten Projekt zum einen neue Antikörper als Werkzeuge, um die Rolle von HAP40 bei der Huntington-Krankheit besser untersuchen zu können. Gleichzeitig bestimmen wir die Gesamtheit der Bindungspartner von HAP40 und dem HTT-HAP40-Komplex, dies mit dem Ziel, die Pathogenese der Huntington-Krankheit auf molekularer Ebene besser zu verstehen.

Manuel Seefelder, Fabrice Klein, Stefan Kochanek



Manuel Seefelder, Stefan Kochanek und Fabrice Klein