

Spektraplakine

Giganten der Zellarchitektur und -dynamik

ANDREAS PROKOP¹ UND WOLFGANG BOTTENBERG²

¹FAKULTÄT FÜR LIFE SCIENCES, UNIVERSITÄT MANCHESTER, GROSSBRITANNIEN

²INSTITUT FÜR ZOOLOGIE, UNIVERSITÄT HEIDELBERG

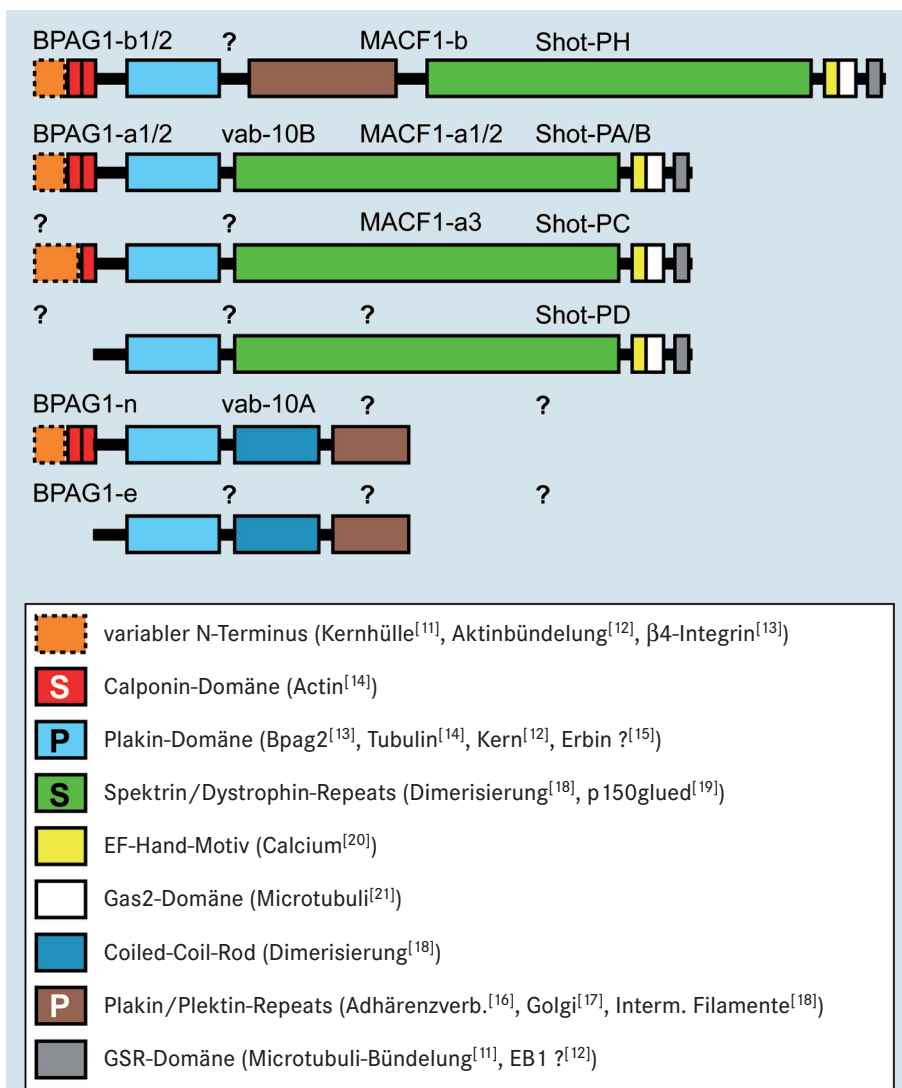
Aktin-/Mikrofilamente, Intermediärfilamente und Mikrotubuli sind die drei Elemente des Zytoskelettes eukaryotischer Zellen, welche als filamentäre Strukturen der Zelle Form und Stabilität verleihen, aber auch wesentlich an dynamischen Prozessen, wie Formveränderungen, intrazellulärem Transport oder Exo- und Endozytose, beteiligt sind. Dazu müssen zytoskelettale Filamente miteinander, mit zellulären Organellen oder der Zelloberfläche interagieren.

■ Solche Vernetzungsfunktionen wurden seit Jahrzehnten den Mitgliedern der Spektrin- und Plakin-Proteinfamilien zugeschrieben, die entscheidend zur Organisation von Zellverbindungen und des Zell-Kortex beitragen. Spektraplakine sind gigantische Hybridmoleküle, die wesentliche Domänen der Spektrine und Plakine in sich vereinen. Ihre Vertreter aus Invertebraten und Säugern sind strukturell hoch konserviert und spielen vergleichbare Rollen bei der zytoskelettalen Kreuzvernetzung in statischen aber auch dynamischen zellulären Prozessen. Nur wenige menschliche Krankheitsbilder werden derzeit mit Spektraplakinen assoziiert, doch Arbeiten an genetischen Modellorganismen wie der Maus, der Fruchtfliege und Nematoden, zeigen uns die zunehmende Vielfalt ihrer Funktionen in essenziellen zellulären Prozessen.

Organisation der Spektraplakine

Wie in der Einleitung erwähnt, sind Spektraplakine gigantische Moleküle, deren größte Isoformen ungefähr 5–9000 Aminosäuren umfassen und deren Genloci z. T. über hundert Exone aufweisen. Spektraplakine umfassen die beiden Säugerparaloga Bpag1 und ACF7, Short stop (Shot) aus der Fruchtfliege *Drosophila* und Vab-10 aus dem Nematoden *Caenorhabditis elegans* (Abb. 1). Alle diese Gene weisen die Hauptdomänen der Plakine und Spektrine auf („P“ und „S“ in Abb. 1), aber auch eine Anzahl zusätzlicher Domänen mit unterschiedlichen Funktionen (siehe Abb. 1).

◀ **Abb. 1:** Vereinfachte Darstellung der Spektraplakin-Isoformen aus Mensch, Maus, Fruchtfliege und Nematoden. 6 Klassen beschriebener Spektraplakin-Isoformen sind aufgelistet und benannt für die bekannten Spektraplakine BPAG1^[14], vab-10^[15], ACF7/MACF1^[17] und Shot^[6]. Domänen sind farbkodiert, klassische Spektrin- oder Plakin-Domänen sind als „S“ oder „P“ gekennzeichnet. Bindungen/Funktionen der Domänen sind in Klammern aufgelistet.



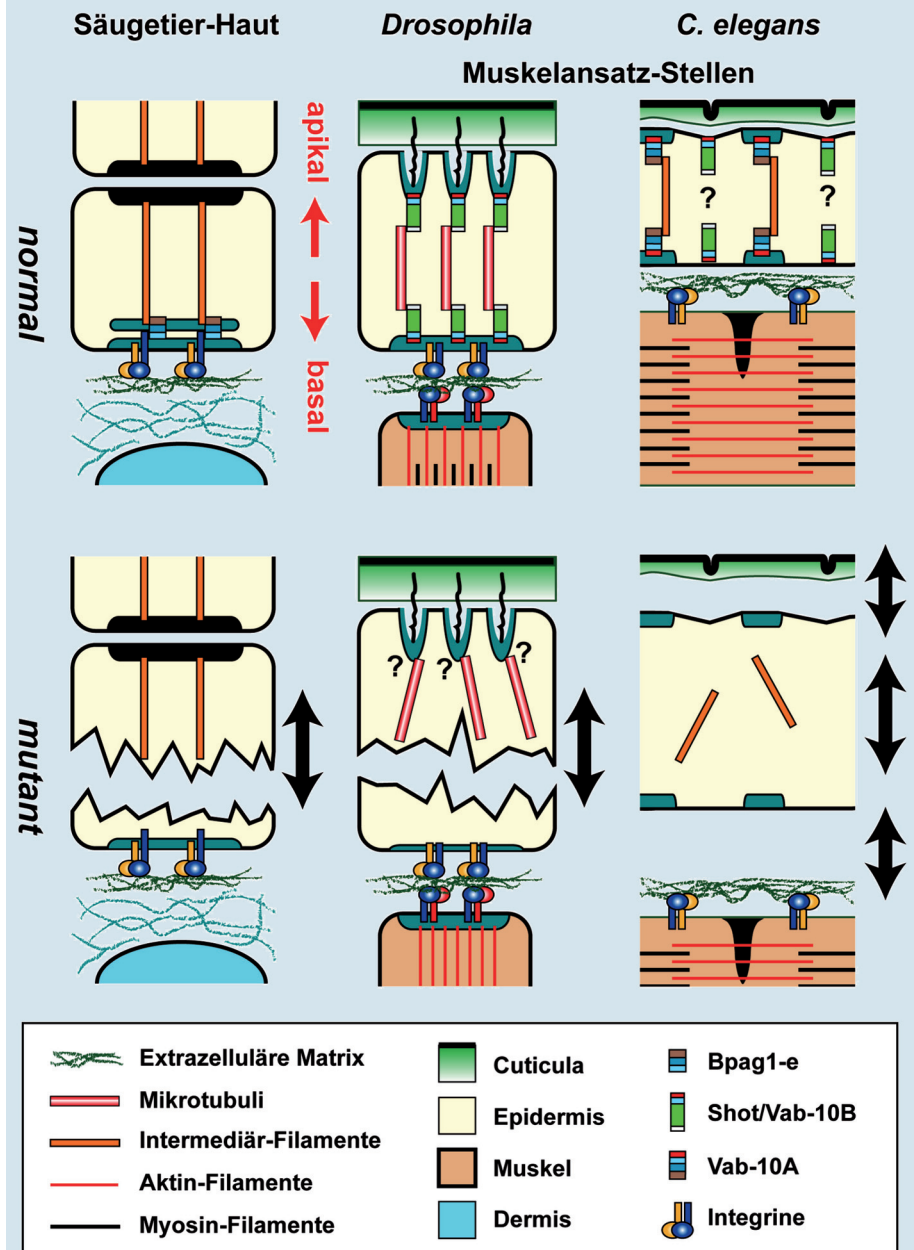
Alle Spectraplakine weisen gravierend unterschiedliche Isoform-Varianten auf. Nur die Plakin-Domäne ist allen Genen und Isoformen gemeinsam. Die Isoformen lassen sich grob in 3 Klassen einteilen: 1) lange Isoformen mit interner Plektin/Plakin-Repeat-Domäne (z.B. Bpag1-b), 2) lange Isoformen ohne diese Domäne (z.B. Shot-PA-D) und 3) kurze Isoformen mit einer zentralen Coiled-Coil- und einer C-terminalen Plectin/Plakin-Repeat-Domäne (z.B. Bpag1-e/n). Während die ersten beiden Isoformen C-terminal mit Mikrotubuli interagieren, sind Isoformen der dritten Klasse prädestiniert für Interaktionen mit Intermediär-Filamenten.

Bpag1

Bpag1 (alias Dystonin, MACF2, BP230 oder Trabeculin- β) ist in seiner Haut-spezifischen e-Isoform eine essenzielle Komponente von Intermediär-Filament-assoziierten Hemidesmosomen (**Abb. 2**) und wurde schon in den 80er Jahren als wesentliches Antigen beim bullösen Pemphigoid, einer blasenbildenden autoimmunen Hauterkrankung, erkannt^[1]. Bereits in den 70er Jahren wurden *dystonia musculorum (dt)*-mutante Mäuse untersucht, von denen wir erst seit den 90er Jahren wissen, dass sie die a- und b-Isoformen des *Bpag*-Genes betreffen^[2]. In der Abwesenheit dieser Isoformen treten starke Nerven-, Glia- und Muskeldegenerationserscheinungen auf, die sich wahrscheinlich auf Funktionen von Bpag1 beim neuronalen Transport, der Organisation von Mikrotubuli, Intermediär-Filamenten und Mikrotubuli-assoziierten Proteinen zurückführen lassen. In Übereinstimmung mit diesen Beobachtungen wurde eine Patientin mit kognitiven und Motorstörungen beschrieben, die eine nachgewiesene genetische Aberration der Bpag1 a- und b-Isoformen aufweist^[3]. Auch Berichte einer potenziellen Assoziation von Bpag1 mit Multipler Sklerose erscheinen vor dem Hintergrund bestehender Einsichten zur Schwanzzell-Degeneration in *dt*^{-/-}-Mäusen sinnvoll^[4].

MACF1

Das *ACF7*-Gen (alias MACF1, Macrophin1, ABP620, Trabeculin- α , KIAA0465) wird in Mensch und Maus in fast allen Geweben exprimiert. *ACF7* scheint vorrangig mit Mikrotubuli und filamentösem Aktin zu assoziieren^[5]. Menschliche Mutationen wurden bislang nicht berichtet, aber Einsichten wurden aus zwei frühembryonal letalen Mausmodellen und durch RNA-Interferenz-Technologie gewonnen. Trotz seiner enormen Grö-



▲ **Abb. 2:** Vergleichende Darstellung Spektraplakin-abhängiger epidermaler Spezialisierungen in normalem und mutanem Hintergrund. In basalen Keratinozyten der Säugerhaut ankern intermediale Keratinfilamente an interepidermalen Desmosomen (schwarze Struktur) und auf der basalen Seite via Bpag1-e an Hemidesmosomen (graue Doppelstruktur), welche über Extrazelluläre Matrix mit der Dermis verbunden sind^[2]. In *Bpag1*^{-/-}-mutanten Mäusen können Keratine nicht an Hemidesmosomen binden, die Epidermiszelle zerreiht. Hemidhärenz-Verbindungen (graue Struktur) epidermaler Muskelansatzstellen in *Drosophila* binden an Extrazelluläre Matrix und via Shot an intrazelluläre Mikrotubuli. Letztere Bindung ist defekt in *shot*-mutanten Embryonen, die epidermalen Zellen zerreißen^[8]. Fibröse Organellen in Epidermiszellen von *C. elegans* (graue Strukturen) verankern via Vab-10A mit Intermediär-Filamenten und extrazellulär mit der Cutikula und der basalen Extrazellulären Matrix, an die auch Muskeln anheften^[10]. Vab-10B lokalisiert in den Zwischenbereichen. In der Abwesenheit von Vab-10B dehnt sich die Epidermis in apicobasaler Richtung aus, wohingegen sich die *vab-10A*-mutante Epidermis von Cuticula und Muskeln ablöst^[10].

ße reguliert *ACF7* das hochdynamische Auswachsen und Kollabieren von Mikrotubuli am Vorderende migrierender Zellen, u. a. indem es die dynamische Bindung von Mikrotubuli an Aktin-Stressfasern vermittelt^[5]. Zugleich ist die Lokalisierung der Proteinkinase PKC ζ in *ACF7*^{-/-}-mutanten Mausepithelialzellen

gestört^[5], was Konsequenzen für die Signalvorgänge bei der Zellpolarisierung hat. *ACF7* kann sich also aktiv an Signalvorgängen beteiligen. Dies wurde kürzlich auch für den Wnt-Signalweg gezeigt, wo *ACF7* eine wesentliche Rolle bei der Translokalisierung eines Komplexes aus Axin, GSK3 β und β -Catenin

spielt^[6]. Die Funktions-Palette der multitalentierten Spektraplakine dehnt sich stetig aus. So wurde kürzlich gezeigt, dass ACF7 essenziell für den Strukturhalt des Golgi-Apparates ist^[7].

Shot

Shot (alias Kakapo, Kopupu, Groovin) ist das einzige *Drosophila*-Spektraplakin und vereinigt daher stabilisierende aber auch dynamische Funktionen. So ist Shot essenziell für den Strukturhalt epidermaler Muskelansatzzellen (**Abb. 2**) aber auch für das dynamische Wachstum von Nervenzellen^[8]. *Drosophila* weist keine Intermediär-Filamente auf, dementsprechend wurden keine kurzen Isoformen von Shot gefunden (**Abb. 1**). Anstelle von Intermediärfilamenten vermitteln Mikrotubuli die mechanische Stabilität epidermaler Zellen, welche von den langen Shot-Isoformen verankert werden können (**Abb. 2**). Weitere Funktionen von Shot sind die Kompartimentierung des zellulären Kortex, Beteiligung an der Fusion trachealer Zellen während der Embryonal-Entwicklung, Assemblierung von Adhärenzverbindungen in der Epidermis, Strukturhalt epidermaler Zellen im Flügel, Transport von Entwicklungs-Determinanten während der Oogenese und eine Beteiligung an Aspekten der Neuregulin- und Notch-Signalwege^[9].

Vab-10

Vab-10 aus *C. elegans* ist das bislang am wenigsten untersuchte Spektraplakin. Es weist kurze und lange Isoformen auf (**Abb. 1**), die beide eine Rolle beim Strukturhalt epidermaler Muskelansatzzellen spielen (**Abb. 2**). Hierbei nehmen beide Isoformen räumlich klar getrennte Positionen in Epidermiszellen ein^[10]. Diese Beobachtung verleitet zur Spekulation, dass es sich bei dieser zellulären Organisation um ein evolutives Vorläufermodell handelt, aus dem sich sowohl die epidermale Muskelansatzzelle von *Drosophila* als auch die Hemidesmosom/Desmo-

som-Organisation der Säuger-Epidermis ableiten lässt.

Schlussfolgerung

Es lassen sich eindeutig gemeinsame Themen der Spektraplakin-Funktionen aus den Arbeiten an verschiedenen genetischen Modellorganismen ableiten. So üben Spektraplakine die klassische Rolle von Plakinen und Spektrinen bei der Organisation des Zellkortex und zellulärer Organellen sowie bei der Verankerung zytoskelettaler Elemente aus. Solche Funktionen sind tendenziell stabilisierender, lang andauernder Natur. Spektraplakine vermitteln aber auch interaktiv zwischen den verschiedenen zytoskelettalen Elementen und organisieren diese, was eher eine dynamische Rolle darstellt. Ein weiteres Konzept, für das es zunehmend mehr Beispiele gibt, ist die aktive Beteiligung von Spektraplakinen an Signalvorgängen, also ebenfalls eine tendenziell dynamische Rolle. Diese Einsichten zu Spektraplakinen wurden fast ausschliesslich an genetischen Modellorganismen gewonnen, wohingegen bislang keine eindeutigen Verbindungen von Spektraplakinen zu vererbten menschlichen Krankheiten berichtet wurden. Dies könnte auf die potenziell letale Wirkungen starker Mutationen der *Bpag1*- oder *ACF7*-Loci zurückzuführen sein, wohingegen schwache Allele subtile Phänotypen hervorrufen könnten, die keine offensichtlichen Bezüge zu Spektraplakinen nahelegen. Solche Bezüge sollten jedoch zunehmend klarer werden, wenn die komplexe, multitalentierte Funktion von Spektraplakinen mit Hilfe genetischer Modellsystemen auch im Detail besser verstanden sein wird. ■

Literatur

- [1] Jonkman, M. F. (1999): *J Dermatol Sci* 20, 103–21.
- [2] Guo, L., Degenstein, L., Dowling, J., Yu, Q.-C., Wollmann, R., Perman, B., Fuchs, E. (1995): *Cell* 81, 233–243.
- [3] Giorda, R., Cerritello, A., Bonaglia, M. C., Bova, S., Lanzi, G., Repetti, E., Giglio, S., Baschiroto, C., Pramparo, T., Avolio, L., Bragheri, R., Maraschio, P., Zuffardi, O. (2004): *J Med Genet* 41, e71.

- [4] Laffitte, E., Burkhard, P. R., Fontao, L., Jaunin, F., Saurat, J. H., Chofflon, M., Borradori, L. (2005): *Br J Dermatol* 152, 537–40.
- [5] Kodama, A., Karakesisoglou, I., Wong, E., Vaezi, A., and Fuchs, E. (2003): *Cell* 115, 343–354.
- [6] Chen, H. J., Lin, C. M., Lin, C. S., Perez-Olle, R., Leung, C. L., and Liem, R. K. (2006): *Genes Dev* 20, 1933–45.
- [7] Lin, C. M., Chen, H. J., Leung, C. L., Parry, D. A., Liem, R. K. (2005): *J Cell Sci* 118, 3727–38.
- [8] Prokop, A., Uhler, J., Roote, J., and Bate, M. C. (1998): *J Cell Biol* 143, 1283–1294.
- [9] Röper, K., Gregory, S. L., and Brown, N. H. (2002): *J Cell Sci* 115, 4215–4225.
- [10] Boshier, J. M., Hahn, B. S., Legouis, R., Sookhareea, S., Weimer, R. M., Gansmuller, A., Chisholm, A. D., Rose, A. M., Bessereau, J. L., Labouesse, M. (2003): *J Cell Biol* 161, 757–68.
- [11] Young, K. G., Pinheiro, B., Kothary, R. (2006): *Exp Cell Res* 312, pp.121ff.
- [12] Young, K. G., Pool, M., Kothary, R. (2003): *J Cell Sci* 116, pp.4543ff.
- [13] Koster, J., Geerts, D., Favre, B., Borradori, L., Sonnenberg, A. (2003): *J Cell Sci* 116, pp.387ff.
- [14] Yang, Y., Bauer, C., Strasser, G., Wollman, R., Julien, J. P., Fuchs, E. (1999): *Cell* 98, pp.229ff.
- [15] Favre, B., Fontao, L., Koster, J., Shafaatian, R., Jaunin, F., Saurat, J. H., Sonnenberg, A., Borradori, L. (2001): *J Biol Chem* 276, pp.32427ff.
- [16] Röper, K., Brown, N. H., (2003): *J Cell Biol* pp.1305ff.
- [17] Lin, C. M., Chen, H. J., Leung, C. L., Parry, D. A., Liem, R. K. (2005): *J Cell Sci* 118, pp.3727ff.
- [18] Jefferson, J. J., Leung, C. L., Liem, R. K. (2004): *Nat Rev Mol Cell Biol* 5, pp.542ff.
- [19] Liu, J. J., Ding, J., Kowal, A. S., Nardine, T., Allen, E., Delcroix, J. D., Wu, C., Mobley, W., Fuchs, E., Yang, Y. (2003): *J Cell Biol* 163, pp.223ff.
- [20] Lewit-Bentley, A., and Rety, S. (2000): *Curr Opin Struct Biol* 10, pp.637ff.
- [21] Sun, D., Leung, C. L., Liem, R. K. (2001): *J Cell Sci* 114, pp.161ff.
- [22] Slep, K. C., Rogers, S. L., Elliott, S. L., Ohkura, H., Kolodziej, P. A., and Vale, R. D. (2005): *J Cell Biol* 168, pp.587ff.
- [23] Leung, C. L., Zheng, M., Prater, S. M., Liem, R. K. (2001): *J Cell Biol* 154, pp.691ff.
- [24] Boshier, J. M., Hahn, B. S., Legouis, R., Sookhareea, S., Weimer, R. M., Gansmuller, A., Chisholm, A. D., Rose, A. M., Bessereau, J. L., Labouesse, M. (2003), *J Cell Biol* 161, pp.757ff.

Korrespondenzadresse:

PD Dr. rer. nat. Andreas Prokop
Faculty of Life Sciences
Wellcome Trust Centre for Cell-Matrix Research
Michael Smith Building, Oxford Road
Manchester M13 9PT
Großbritannien
Tel.: +44-161-2751556
Fax: +44-161-2751505
Andreas.Prokop@Manchester.ac.uk
www.prokop.co.uk

AUTOREN



Andreas Prokop

1983–1989 Studium der Biologie in Bayreuth und Köln, 1989–1993 Doktorarbeit am Institut für Genetik der Universität Mainz, 1993–1997 postdoktoraler EU- und „Lloyds of London“- Stipendiat am Department of Zoology in Cambridge (UK), 1997–2000 Wissenschaftl. Mitarbeiter am Institut für Genetik, Universität Mainz, Gründung eigener Arbeitsgruppe, 2000 Habilitation im Fach Zoologie, 2000–2004 Heisenbergstipendiat am selben Institut, seit 2004 „Senior Lecturer“ an der Faculty of Life Sciences, Manchester (UK).



Wolfgang Bottenberg

1996–2002 Studium der Biologie an der Universität Mainz, 2002–2006 Doktorarbeit am Institut für Genetik, Mainz und der Faculty of Life Sciences, Manchester (UK), ab 2006 Wissenschaftl. Mitarbeiter am Institut für Zoologie der Universität Heidelberg.