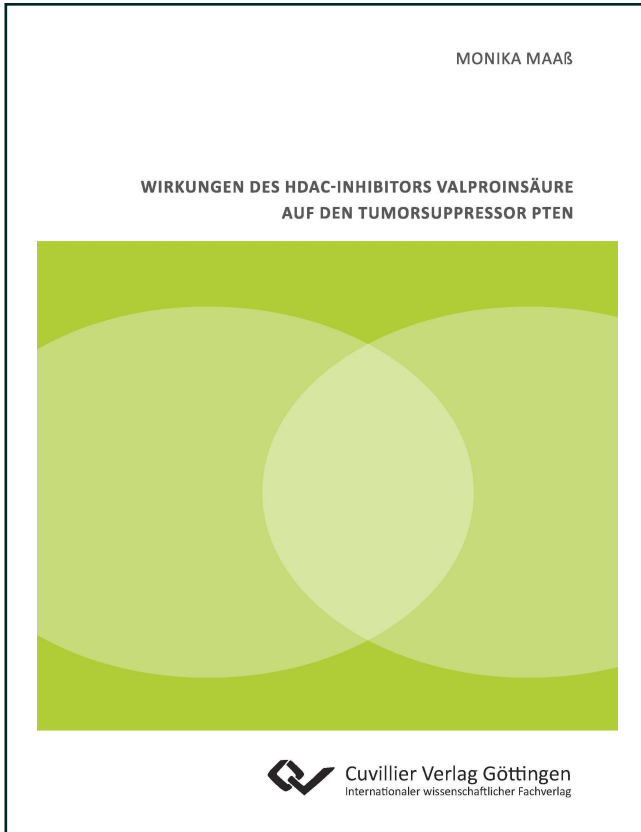




Monika Maaß (Autor)

Wirkungen des HDAC-Inhibitors Valproinsäure auf den Tumorsuppressor PTEN



<https://cuvillier.de/de/shop/publications/6466>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen,
Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: <https://cuvillier.de>

**Inhaltsverzeichnis**

Inhaltsverzeichnis	I
Abkürzungsverzeichnis	III
Zusammenfassung	XI
Summary	XIII
1. Einleitung	I
1.1. Histondeacetylasen (HDACs) und HDAC-Inhibitoren _____	1
1.1.1. Lysin-Acetylierung: Bedeutung für Histon- und Nicht-Histon-Proteine _____	2
1.1.2. Histondeacetylasen _____	4
1.1.3. HDACs und Krebs _____	8
1.1.4. HDAC-Inhibitoren _____	9
1.1.5. HDAC-Inhibitoren als potenzielle Tumorthapeutika _____	10
1.2. Phosphatase and Tensin Homolog Deleted on Chromosome 10 (PTEN) _____	12
1.2.1. PTEN-Struktur _____	13
1.2.2. PTEN-Expression _____	14
1.2.3. Posttranslationale Regulation von PTEN _____	16
1.2.4. PTEN-Signalwege: Kontrolle zahlreicher zellulärer Prozesse _____	21
1.2.5. Die Rolle von PTEN bei nicht-neoplastischen Erkrankungen _____	25
1.3. Zielsetzung der Arbeit _____	27
2. Material und Methoden	28
2.1. Material _____	28
2.2. Methoden _____	45
2.2.1. Zellkultur _____	45
2.2.2. Biochemische Methoden _____	48
2.2.3. Statistische Auswertung _____	57
2.2.4. Konfokale Lasermikroskopie _____	57
2.2.5. PE-Annexin-V Färbung zur Ermittlung von Apoptose _____	59
2.2.6. FACS-Analyse _____	59
2.2.7. Kultivierung von Escherichia coli (E.coli) _____	60
2.2.8. Molekularbiologische Methoden _____	60
3. Ergebnisse	69
3.1. VPA führt zu einer Erhöhung der mRNA-Menge von <i>PTEN</i> _____	72
3.2. VPA beeinflusst die Regulation der PTEN-Menge auf Proteinebene _____	74
3.2.1. Die Hemmung des Abbaus von PTEN durch das Calpain-2-Protease Degradationssystem durch VPA trägt möglicherweise zur Erhöhung der PTEN-Proteinmenge durch VPA bei. _____	74
3.2.2. HDAC-Inhibitor-bedingte Veränderungen posttranslatonaler Modifikationen, die mit der PTEN-Stabilität assoziiert sind, liefern keine hinreichende Erklärung für die PTEN-Induktion. _____	77
3.3. VPA beeinflusst die Multi-Monoubiquitinierung von PTEN _____	87
3.3.1. HDAC-Inhibitoren stimulieren die Mono- bis Triubiquitinierung von transfiziertem PTEN in PTEN-defizienten PC3-Zellen. _____	87



3.3.2. Die Lysinreste 13 und 289 sind nicht die einzigen Ubiquitinierungsstellen, die für die VPA-bedingte Erhöhung der Mono- bis Triubiquitinierung von PTEN eine Rolle spielen. _____	92
3.4. HDAC-Inhibitoren beeinflussen die Ubiquitin-Ligase und das Deubiquitinierungssystem von PTEN _____	95
3.4.1. HDAC-Inhibitoren bewirken eine verstärkte Wechselwirkung von PTEN mit der PTEN-Ubiquitin-Ligase NEDD4-1 und eine Verminderung der NEDD4-1-Proteinmenge _____	95
3.4.2. VPA führt zu einer Verminderung der Proteinmenge des PTEN-Deubiquitinierungssystems und verstärkt dessen Wechselwirkung mit PTEN _____	99
3.5. HDAC-Inhibitoren beeinflussen die Funktion von PTEN. _____	109
3.5.1. HDAC-Inhibitoren beeinflussen die Lokalisation von WT-PTEN und K13E-, K289E- bzw. K13E/K289E-mutiertem PTEN. _____	109
3.5.2. VPA-Behandlung und die Transfektion von <i>WT-PTEN</i> , <i>K13E-</i> , <i>K289E-</i> und <i>K13E/K289E-PTEN</i> induzieren Apoptose in PC3-Zellen _____	114
3.5.3. VPA stellt die Fähigkeit der PTEN-K13E-, -K289E- und K13E/K289E-Mutanten nukleäre Phospho-AKT-Mengen zu reduzieren wieder her. _____	116
3.5.4. VPA beeinflusst die Wechselwirkung von PTEN mit verschiedenen bekannten und neu identifizierten Interaktionspartnern von PTEN. _____	118
4. Diskussion	122
4.1. Einfluss von VPA auf die mRNA- und Proteinmenge von PTEN _____	123
4.2. Bedeutung der Modulation posttranslationaler Modifikationen von PTEN für die HDAC-Inhibitor-bedingte Induktion der PTEN-Proteinmenge _____	126
4.3. Bedeutung der Lysinreste K13 und K289 für die VPA-induzierte Multi-Monoubiquitinierung von PTEN _____	130
4.4. Bedeutung der PTEN-Ubiquitinligase NEDD4-1 und des PTEN-Deubiquitinierungssystems für die Erhöhung der PTEN-Multi-Monoubiquitinierung durch HDAC-Inhibitoren _____	133
4.5. Einfluss von HDAC-Inhibitoren auf die Lokalisation und Funktion von PTEN ____	138
4.5.1. Einfluss von HDAC-Inhibitoren auf die Lokalisation von PTEN _____	138
4.5.2. Einfluss der VPA-Behandlung auf die Fähigkeit von WT-PTEN und PTEN-Ubiquitinierungsmutanten zur Dephosphorylierung von P-AKT und zur Apoptoseinduktion _____	141
4.5.3. Wirkung von VPA auf die Wechselwirkung von PTEN mit MAGI-2 und den neu identifizierten Interaktionspartnern HDAC1, HDAC2 und CENP-E _____	144
4.6. Schlussfolgerung _____	147
Literaturverzeichnis	149
DANKSAGUNG	165