

Zwischenbericht zum Projekt Nonsensemutationen in der HSP

06. Mai 2014

Erste Erfolge – Messung der Boten-RNA

Ein weiteres halbes Jahr ist seit dem letzten Zwischenbericht zu unserem Projekt Nonsensemutationen vergangen. In diesem Bericht hatten wir erklärt, wie geeignete HSP-Betroffene und gesunde Kontrollpersonen gleichen Alters sorgsam für dieses Projekt ausgewählt wurden und wie wir – mit viel Geduld – Hautproben und weiße Blutkörperchen aller Studienteilnehmer im Labor angezüchtet haben.

Unsere Hauptaufgabe für das zweite Halbjahr in unserem Projekt war nun, feinste Messmethoden zu entwickeln, mit denen wir die Menge an Boten-RNA in diesen Zellen bestimmen können. Was bedeutet das? Sie erinnern sich, dass wir in unserer Studie versuchen, eine ganz bestimmte Mutationsart zu behandeln, die sogenannten Nonsensemutationen. Nonsensemutationen führen dazu, dass Eiweißmoleküle in den Zellen des Körpers nicht mehr korrekt gebildet werden können. Dies betrifft die jeweiligen Erkrankungsproteine, bei der SPG4 z.B. das Eiweiß Spastin, Statt vollständigem Spastin entstehen dann nur noch kurze, unvollständige Bruchstücke und oft auch insgesamt viel zu wenig von dem betroffenen Eiweiß.

Was ist dabei die Rolle der Boten-RNA? Das lässt sich am besten an einem Bild erklären. Stellen sie sich einmal unser Genom als eine riesige Bibliothek vor mit – sagen wir einmal – einer unvorstellbar großen Sammlung an Kochbüchern. In den ‚Gen-Kochbüchern‘ stehen die Rezepte für alle Eiweißbausteine unseres Körpers. Nun stellen Sie sich vor, Sie möchten ein ganz bestimmtes Rezept zubereiten, Hühnersuppe zum Beispiel. Würden Sie die Hühnersuppe in der Bibliothek kochen? Nein, Sie würden vermutlich in der Bibliothek eine Kopie oder Abschrift des Rezeptes anfertigen und diese in ihre Küche mitnehmen, in der Sie dann das Gericht zubereiten. Genau so funktioniert das in den Körperzellen auch. Die Boten-RNA entspricht in diesem Bild der Abschrift des Rezeptes. Mit dieser Abschrift wird die Anleitung für den Zusammenbau eines Eiweißbausteins aus dem Zellkern in die Zellbereiche transportiert, wo Eiweiße gebaut werden. Nur dass die Boten-RNA eben nicht das Rezept für Hühnersuppe sondern die Bauanleitung für z.B. Spastin enthält. In der Genbibliothek eines HSP-

Betroffenen enthält nun das Rezept für Spastin einen Fehler, eine ‚Mutation‘. Sie können sich vorstellen, dass derselbe Fehler auch in der Abschrift, der Boten-RNA vorhanden ist. Für die Boten-RNA haben solche Fehler oft fatale Folgen, da es in der Zelle Korrekturmechanismen, so eine Art Rechtschreibprüfung gibt, die fehlerhafte Boten-RNAs vernichten. Wir würden also erwarten, dass die Menge an Boten-RNA für bestimmte Eiweißmoleküle bei HSP-Betroffenen im Vergleich zu Gesunden verringert ist. Um diese Unterschiede zwischen Betroffenen und Gesunden messen zu können brauchen wir feinste Meßmethoden, die für jedes einzelne HSP-Gen angepasst werden müssen. Dies ist im vergangenen Jahr für alle HSP-Gene in der Studie gelungen! Exemplarisch will ich am Beispiel der SPG46 zeigen, wie diese Meßdaten aussehen. Die SPG46 führt zu einem Mangel an Boten-RNA für das Eiweiß mit dem komplizierten Namen Glucosylcerebrosidase 2 oder kurz GBA2. In der Abbildung sieht man die Ergebnisse einer sog. quantitativen Real-Time Polymerase Chain Reaction oder kurz qPCR. Jede einzelne rote Linie steht für die Boten-RNA eines einzelnen Patienten. Durch die Auswertung der Linien-Profile können wir auf die Menge an Boten-RNA rückschließen.

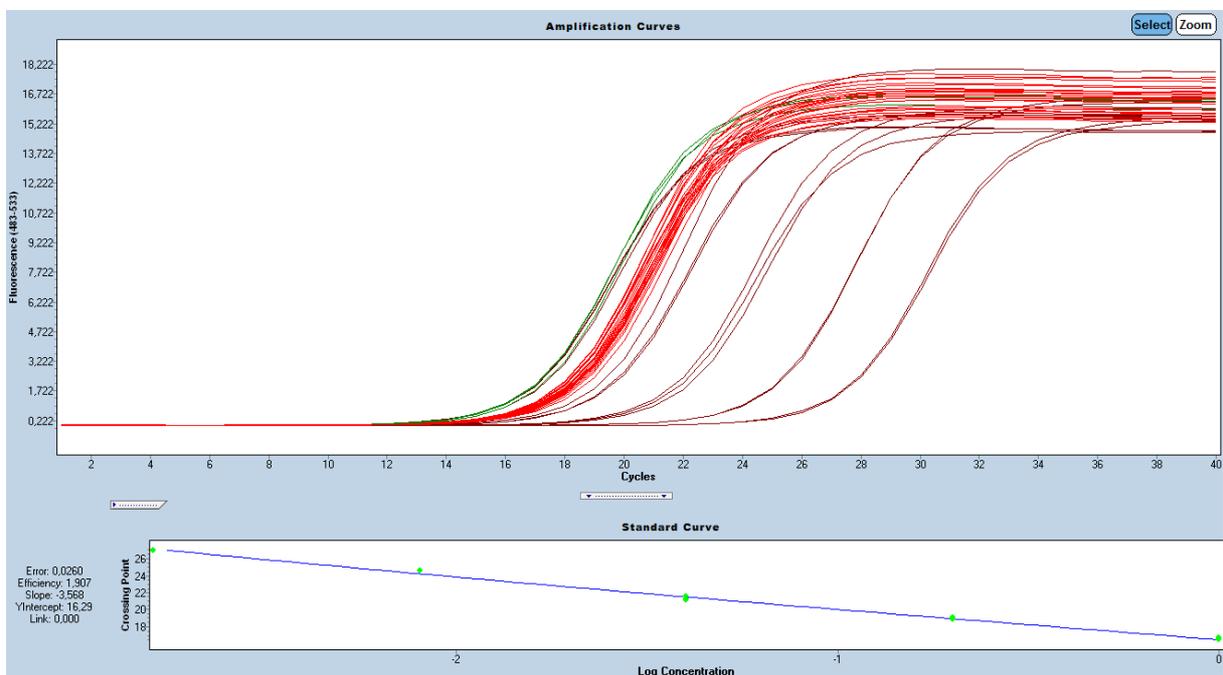


Abbildung 1: Quantitative Real-Time PCR - eine Meßmethode zur Bestimmung der Menge an Boten-RNA

Die Auswertung der qPCR bei der SPG46 zeigt uns nun z.B., dass die Boten-RNA bei den Betroffenen im Vergleich zu gesunden Kontrollen um mehr als 50% reduziert ist!

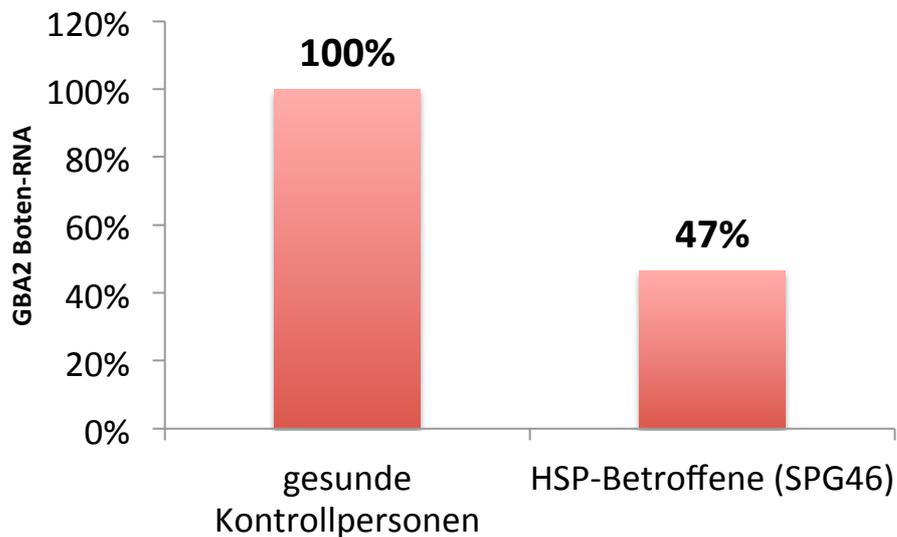


Abbildung 2: Menge an GBA2 Boten-RNA in HSP-Betroffenen mit einer SPG46 (= Mutationen im GBA2-Gen) im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen

Ganz ähnlich sieht es auch bei den anderen getesteten HSP-Formen aus.

In kurzer Zusammenfassung lässt sich also festhalten, dass es im vergangenen Halbjahr gelungen ist, für alle HSP-Formen in der Studie die Meßmethoden für die Bestimmung der Boten-RNA zu etablieren. Wir haben außerdem für alle Studienteilnehmer sowohl in den weißen Blutkörperchen als auch in den Hautproben genaue Ausgangswerte erhoben, wie sehr die Menge an Boten-RNA durch die Mutationen beeinträchtigt ist.

In den nächsten Monaten werden wir uns verstärkt den Eiweißmolekülen selbst zuwenden und Methoden entwickeln, wie wir auch diese mit größtmöglicher Genauigkeit messen können.