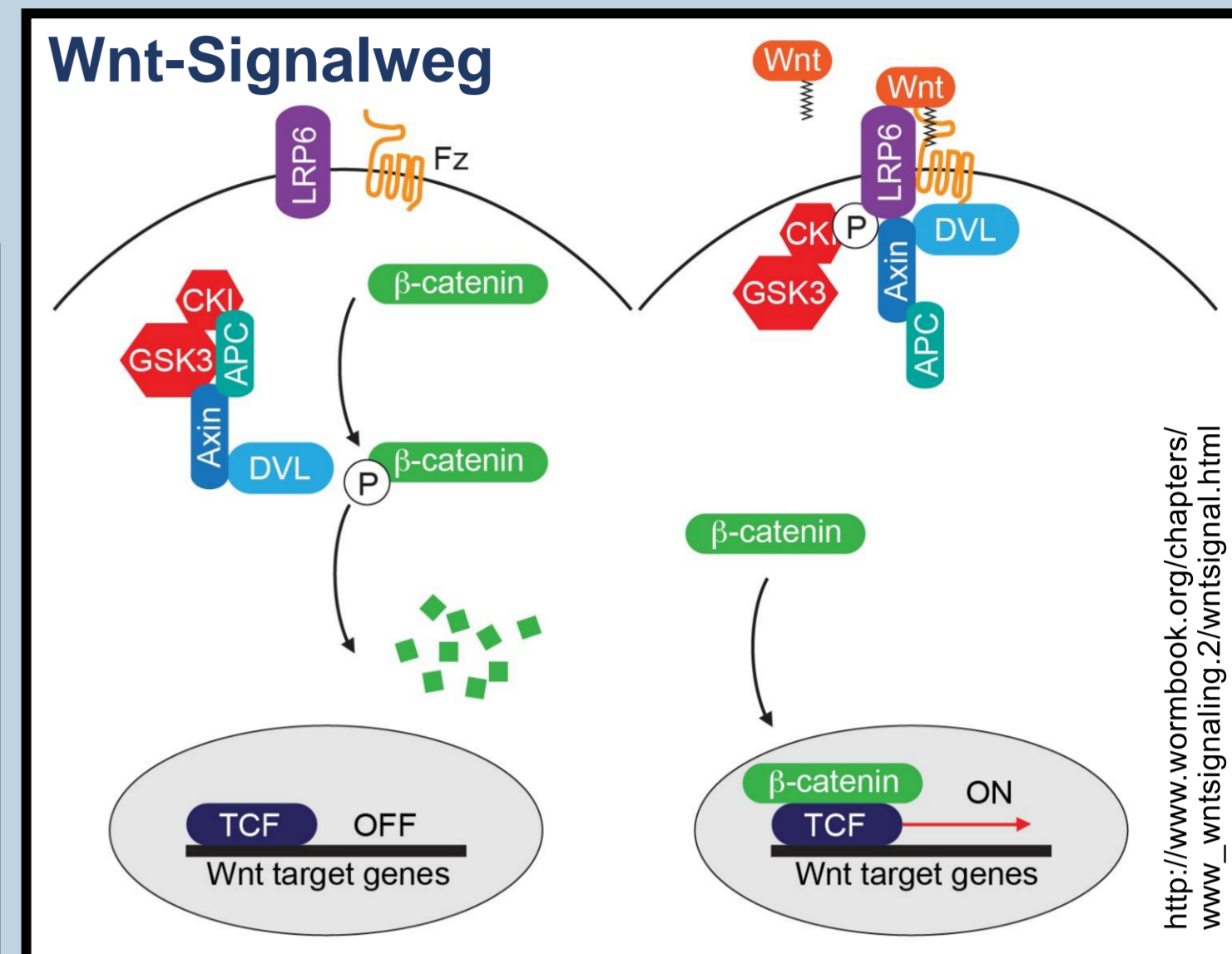


# Wie kann ein Brustkrebs-Gen die Regulation des Wnt-Signalwegs beeinflussen?

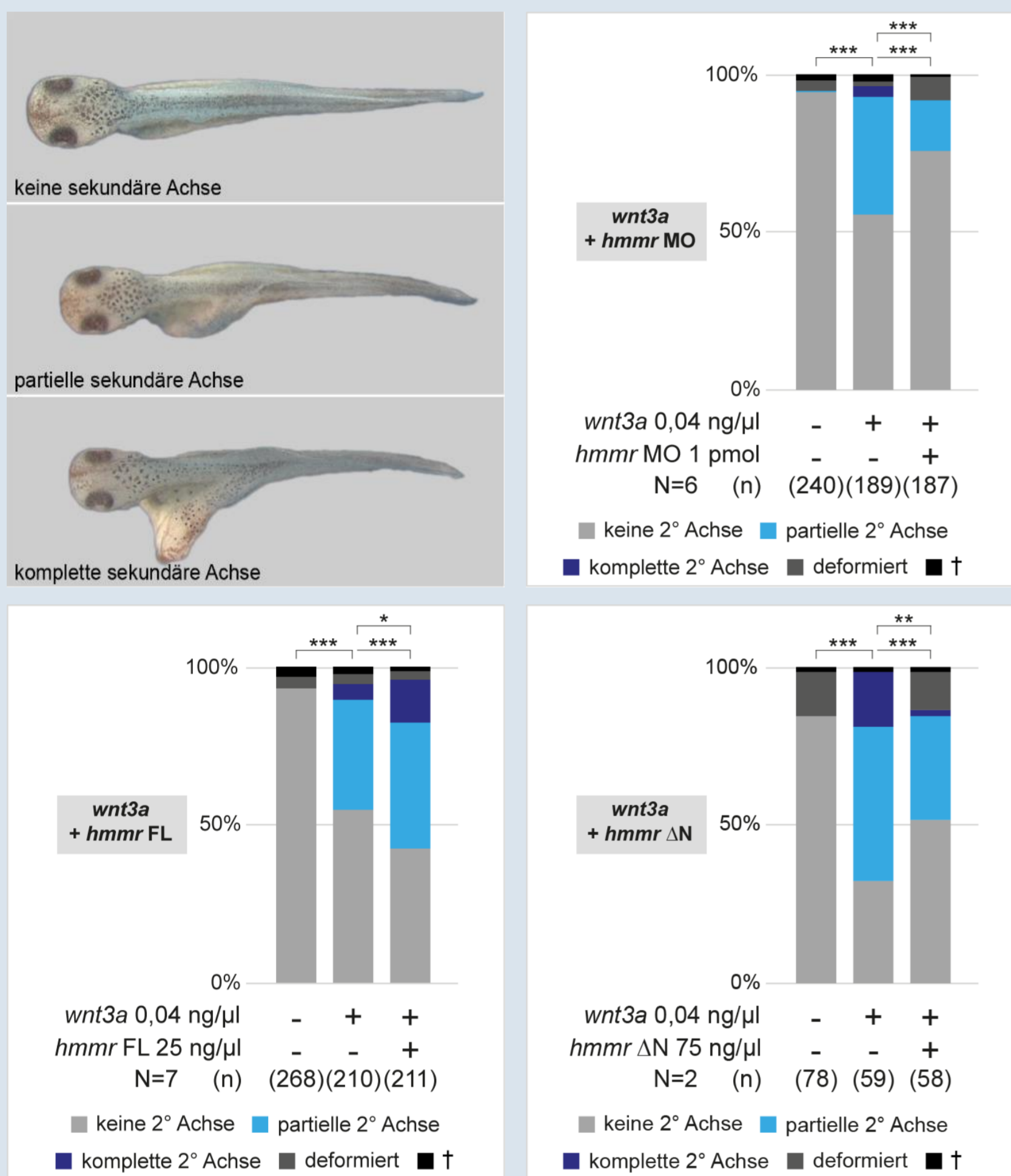


## Beschreibung

Das Protein Hmnr (hyaluronan mediated motility receptor), welches an Mikrotubuli-Filamente bindet, ist gehäuft in metastasierenden Brustkrebszellen vorzufinden. Es bewerkstelligt den dynamischen Auf- und Abbau von Mikrotubuli, sorgt für ein arrangiertes Cytoskelett und infolgedessen für eine korrekte Polarisierung und Elongation der Zellen. Wir beschäftigten uns mit dem Einfluss von Hmnr auf den hochkonservierten Wnt-Signalweg. Bekannt ist, dass Hmnr gehäuft in Geweben vorzufinden ist, die mesenchymal-epithelialen Übergängen unterliegen. In diesen Geweben ist auch der Wnt-Signalweg aktiv und erfordert eine strenge Regulierung.

## Einleitung

Doppelachsen-Assays zeigen den Einfluss von Hmnr auf den Wnt-Signalweg. Der N-Terminus ist ausschlaggebend.

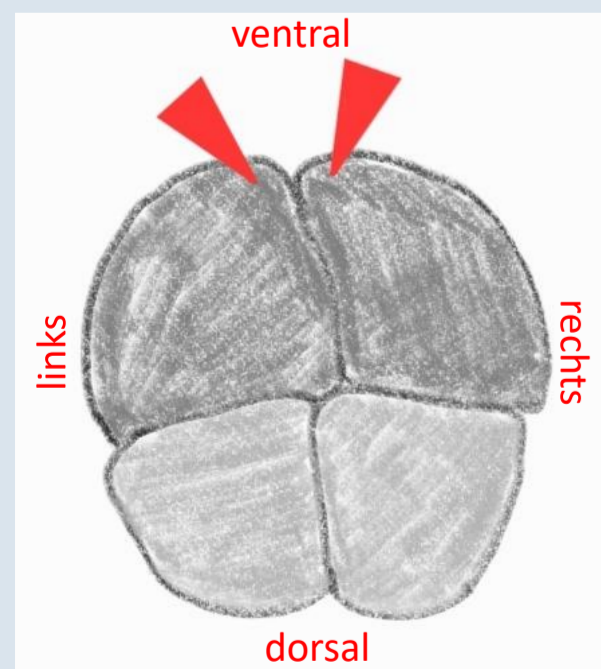


Injiziertes, exogenes *wnt3a* aktiviert den Wnt-Signalweg und führt zur vermehrten Bildung einer sekundären Körperachse im Embryo. Bei einem zusätzlichen Verlust von *hmmr*, ausgelöst durch ein *hmmr*-MO, verringert sich die Anzahl an Doppelachsen. Das exogene volle Länge (FL) *hmmr*-Konstrukt scheint den Wnt-Signalweg zu unterstützen, mehr Doppelachsen sind vorhanden. Bei einem Verlust des N-Terminus von *hmmr*, nimmt die Anzahl an Doppelachsen ab.

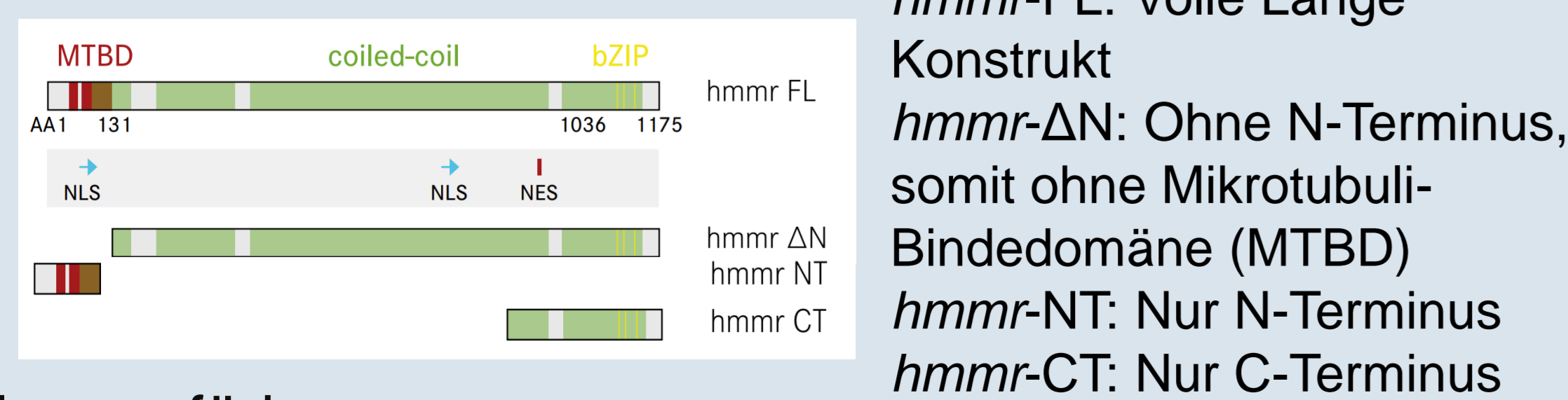
## Material und Methoden

### Injektionsschema & Kappenpräparation

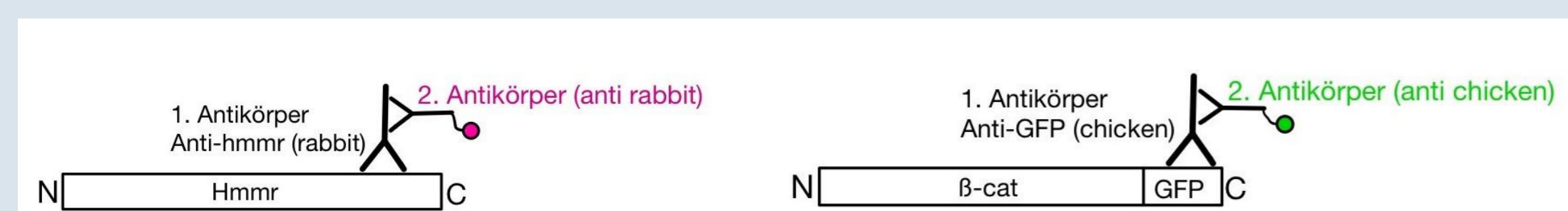
Im 4-Zellstadium wurden 3 verschiedene *hmmr*-Konstrukte + GFP-gekoppeltes  $\beta$ -catenin zweimal in die ventrale Marginalzone injiziert. In diesem Gewebe wird durch Injektion von Wnt-Signalwegskomponenten (wie  $\beta$ -catenin) ein 2. Organisator induziert. Die Embryonen wurden bis zum Stadium 9, kurz vor Beginn der Gastrulation, wachsen gelassen und dann durch die Marginalzone äquatorial geschnitten.



### Hmnr-Konstrukte



### Immunfärbung



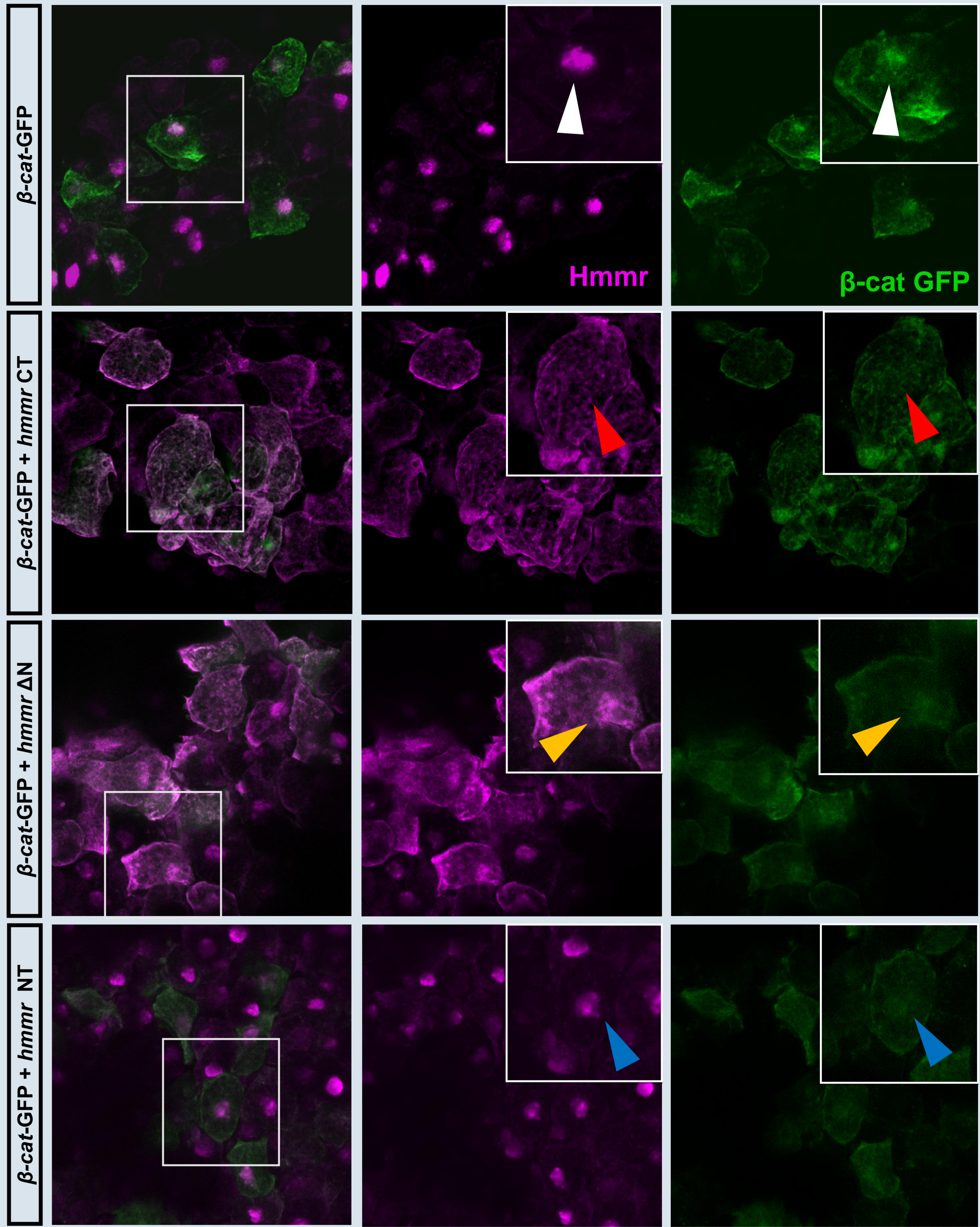
## Ergebnisse

Injektion von  $\beta$ -catenin-GFP: Lokalisation von Hmnr und  $\beta$ -cat im Zellkern (weiße Pfeile). Ebenso war  $\beta$ -cat im Cytoplasma vorzufinden.

Koinjektion mit dem *hmmr* CT Konstrukt: Anhäufung von Hmnr im Cytoplasma, wobei sich  $\beta$ -cat vereinzelt im Zellkern und im Cytoplasma befindet (rote Pfeile).

Koinjektion mit dem *hmmr*  $\Delta$ N Konstrukt: Ansammlung von Hmnr im Zellkern und im Cytoplasma.  $\beta$ -cat hingegen ist hauptsächlich im Cytoplasma vorzufinden und kaum im Zellkern (orangene Pfeile).

Koinjektion mit dem *hmmr* NT Konstrukt: Ansammlung von Hmnr im Zellkern.  $\beta$ -cat befindet sich überwiegend im Cytoplasma (blaue Pfeile).



Lokalisierung des GFP-gekoppelten  $\beta$ -catenins (grün) und der unterschiedlichen Hmnr-Konstrukte (magenta) in Zellen der ventralen Marginalzone im St. 9. Detektiert via indirekter Immunfärbung mit Hilfe Fluorophor-gekoppelter Antikörper und Laser-Scanning-Mikroskopie.

## Diskussion

**Der N-Terminus von *hmmr* hatte einen Einfluss auf die nukleäre Lokalisation von  $\beta$ -catenin.**

Nachdem das  $\Delta$ N-*hmmr* Konstrukt injiziert wurde, befand sich vergleichsweise weniger  $\beta$ -catenin im Zellkern.

**Eine übermäßige Konzentration an NLS (nukleäres Lokalisationssignal), durch Injektion des N-terminalen *hmmr* Konstruktes, führte zur verminderten Anhäufung von  $\beta$ -catenin im Zellkern.**

Sowohl das Fehlen der Mikrotubuli-Bindedomänen, als auch die Injektion von zu viel *hmmr* NT, führte zu einer gestörten nukleären  $\beta$ -catenin Lokalisation.

## Fazit

Diese Experimente zeigten uns einen klaren Einfluss von Hmnr auf die Wnt-Signalwegskomponente  $\beta$ -catenin, hinsichtlich der nukleären Lokalisation und dadurch die Aktivierung des Wnt-Signalweges. Ausschlaggebend hierbei war der N-Terminus von Hmnr.

Die Absenz von  $\beta$ -catenin im Zellkern kann zu gestörten Vorgängen bei der Festlegung des Zellschicksals, der Zellmigration, Zellpolarität und Organogenese führen.

Clara Sätzler,  
Sylvia Pietzsch  
Betreuerin: Fee Wielath (M.Sc.)  
Institut für Zoologie (190z)