

Hauptbetreuer: Prof. Dr. Michael Sereda

Titel des Projektes: Die (patho-) physiologische Rolle des PMP22-Interaktionspartners Nicht-Neuronale Enolase (NNE).

Projektbeschreibung:

Das Periphere Myelinprotein 22 kDa (PMP22) ist ein integrales Membranprotein, das vornehmlich in myelinisierenden Schwannschen Zellen des peripheren Nervensystems (PNS) exprimiert wird. Veränderungen im *PMP22*-Gen sind die häufigste Ursache für erblich bedingte periphere Neuropathien wie die Charcot-Marie-Tooth-Erkrankungen 1A (CMT1A), welche durch eine 1,5-fach erhöhte *PMP22*- Gen dosis ausgelöst wird. CMT1A ist durch fehlerhafte Myelinisierung und den kontinuierlichen Verlust sensorischer und motorischer Neuronen gekennzeichnet. PMP22 ist nicht nur an der Myelinisierung beteiligt, sondern wird auch in nicht-myelinisierenden Zellen exprimiert und hat dort wie auch in den Schwannschen Zellen u.a. eine Funktion bei der Regulation des Zellwachstums und des Zytoskeletts (Schneider et al., 1988; Fledrich et al., 2014; Krauter et al., 2021 PREPRINT; Lee et al., 2014). Die molekularen Mechanismen, die diese Funktionen ermöglichen, sind bisher weitgehend unbekannt.

Durch Experimente an der CMT-Ratte, dem wichtigsten Tiermodell für CMT1A (Sereda et al., 1996), und in Zellkultur konnten wir bereits eine Reihe möglicher Bindungspartner von PMP22 bestimmen, unter diesen auch die Nicht-Neuronale Enolase (NNE). NNE ist ein wichtiges Enzym der Glykolyse, spielt aber auch bei zahlreichen Signalprozessen und bei der Regulation des Zytoskeletts eine Rolle (Didiasova et al., 2019).

Im Rahmen dieses Projektes wollen wir nun herausfinden, ob die Interaktion mit PMP22 eine Veränderung von Lokalisation und/oder Aktivität von NNE bei erhöhter PMP22- Expression verursacht. Dazu wollen wir verschiedene PMP22- und NNE-DNA-Konstrukte unter anderem in HEK293T- und primäre Schwannsche Zellen einbringen. Durch Mutagenese und pharmakologische Interventionen können wir die Aktivität und das Verhalten der daraufhin exprimierten Proteine beeinflussen, was uns nicht nur weiteren Aufschluss über die Details der Proteininteraktion und deren etwaige Folgen für die Myelinisierung im PNS geben wird, sondern auch über eine mögliche Regulation von Stoffwechsel, Zellwachstum oder Zytoskelett durch den PMP22-NNE-Komplex. Methodisch wird das Projekt die Präparation und Aufrechterhaltung von Zellkulturen, Transfektion und Transduktion von Säugerzellen, verschiedene Techniken der Flüssigkeitschromatographie sowie klassische biochemische Methoden wie Enzym-Aktivitätsassays, SDS-Page und Western Blotting beinhalten. Alle für das Projekt notwendigen Methoden sind in unserer Arbeitsgruppe bereits etabliert und erprobt.

Didiasova, M., Schaefer, L., & Wygrecka, M. (2019). When place matters: shuttling of enolase-1 across cellular compartments. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 7, 61.

Fledrich, R., Stassart, R. M., Klink, A., Rasch, L. M., Prukop, T., Haag, L., Czesnik, D., Kungl, T., Abdelaal, T. A., Keric, N., Stadelmann, C., Brück, W., Nave, K.-A., & Sereda, M. W. (2014). Soluble neuregulin-1 modulates disease pathogenesis in rodent models of Charcot-Marie-Tooth disease 1A. *Nature Medicine*, 20(9), 1055–1061.

Krauter, D., Ewers, D., Hartmann, T. J., Volkman, S., Kungl, T., Fledrich, R., Goebbels, S., Nave, K.-A. & Sereda, M. W. (2021). Inversely proportional myelin growth due to altered *Pmp22* gene dosage

identifies PI3K/Akt/mTOR signaling as a novel therapeutic target in HNPP . Preprint at:
doi:10.1101/2021.11.08.4

Lee, S., Amici, S., Tavori, H., Zeng, W. M., Freeland, S., Fazio, S., & Notterpek, L. (2014). PMP22 is critical for actin-mediated cellular functions and for establishing lipid rafts. *Journal of Neuroscience*, 34(48), 16140-16152.

Schneider, C., King, R. M., & Philipson, L. (1988). Genes specifically expressed at growth arrest of mammalian cells. *Cell*, 54(6), 787-793.

Sereda, M. W., Griffiths, I., Pühlhofer, A., Stewart, H., Rossner, M. J., Zimmerman, F., Magyar, J. P., Schneider, A., Hund, E., Meinck H. M., Suter, U., & Nave, K.-A. (1996). A Transgenic Rat Model of Charcot-Marie-Tooth Disease. *Neuron*, 16(5), 1049–1060.