

Hauptbetreuer: Prof. Dr. Michael Sereda

Titel des Projektes: ATP1A1 als dereguliertes Signalprotein in der CMT1A - der Einfluss von ATP1A1 auf den PI3K/AKT Signalweg durch Interaktion mit PMP22.

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*-Gendosis ausgelöst wird. CMT1A ist durch fehlerhafte Myelinisierung und den kontinuierlichen Verlust sensorischer und motorischer Neuronen gekennzeichnet. Bisher ist keine ursächliche Behandlung für CMT1A etabliert, nicht zuletzt aufgrund der Tatsache, dass die molekulare Funktion von PMP22 noch nicht aufgeklärt werden konnte. Wir konnten bereits zeigen, dass ein Teil der Dysmyelinisierung bei CMT1A durch eine Hemmung der PI3K/AKT/mTOR-Signalkaskade durch PMP22 verursacht wird, welche bei der Steuerung des Myelinwachstums eine entscheidende Rolle spielt (Fledrich et al., 2014; Krauter et al., 2021 PREPRINT). Die diese Hemmung vermittelnden Protein-Protein Interaktionen sind noch unbekannt, und deren Ermittlung kommt daher bei der Suche nach neuen Möglichkeiten zur Behandlung von CMT1A zentrale Bedeutung zu.

Durch Experimente an der CMT-Ratte, dem wichtigsten Tiermodell für CMT1A, konnten wir bereits eine Reihe möglicher Bindungspartner von PMP22 bestimmen (Sereda et al., 1996). Unter diesen die α -Isoform der Natrium-/Kalium-ATPase der Plasmamembran (ATP1A). ATP1A1 wird neben seiner grundlegenden Funktion der Etablierung und Aufrechterhaltung der transmembranösen Kationenhomöostase auch eine Signalfunktion zugeschrieben. Einer der von ATP1A1 regulierten Signalwege ist die PI3K/AKT/mTOR-Signalkaskade (Wu et al., 2013).

Im Rahmen dieses Projektes wollen wir nun herausfinden, ob die bei erhöhter PMP22-Expression auftretende Deregulierung des PI3K/AKT Signalweges durch die Natrium-/Kalium-ATPase als Signalprotein ausgelöst wird. Dazu wollen wir verschiedene PMP22- und ATP1A1-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 Folgen für die Myelinisierung im PNS geben wird, sondern auch über eine bisher unbekannte Rolle von ATP1A1 als mögliches Signalprotein in der Schwannschen Zelle. Methodisch wird das Projekt die Präparation und Aufrechterhaltung von Zellkulturen, Transfektion und Transduktion von Säugerzellen, verschiedene Techniken der Flüssigkeitschromatographie sowie klassische molekularbiologische Methoden wie SDS-Page und Western Blotting beinhalten. Alle für das Projekt notwendigen Methoden sind in unserer Arbeitsgruppe bereits etabliert und erprobt.

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. doi:10.1038/nm.3664.

Krauter, D., Ewers, D., Hartmann, T. J., Volkmann, 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:10.1101/2021.11.08.467756.

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. doi:10.1016/s0896-6273(00)80128-2.

Wu, J., Akkuratov, E. E., Bai, Y., Gaskill, C. M., Askari, A., & Liu, L. (2013). Cell signaling associated with Na(+)/K(+)-ATPase: activation of phosphatidylinositide 3-kinase IA/Akt by ouabain is independent of Src. *Biochemistry*, 52(50), 9059–9067. doi:10.1021/bi4011804.