

Untersuchungen zur zytoplasmatischen Reifung von Rindereizellen: Zusammenspiel der Akt (PKB) und mTOR Aktivierung bei der Modulation der Funktion des Translationsrepressors eIF4E-BP1 während der in vitro Reifung

W. Tomek, T. Smiljakovic, F. Melo Sterza, C. Leidig, H.P. Nohner W. Kanitz, FBN
Dummerstorf, Abt. Reproduktionsbiologie; BVN Neustadt/ Aisch,

Durch in vitro Reifungstechniken können weltweit in Abhängigkeit vom Ausgangsmaterial 20-35% transfertaugliche Blastozysten erzeugt werden. Daraus kann geschlussfolgert werden, dass die verwendeten Reifungssysteme suboptimal sind. Während die Kernreifung mikroskopisch anhand morphologischer Veränderungen relativ gut beurteilt werden kann, sind die zytoplasmatischen Reifungsprozesse nur bruchstückhaft bekannt und nur biochemischen Methoden zugänglich.

Frühere Untersuchungen zeigten, dass spezifische Proteinkinasen (MPF, MAPK) während der meiotischen Endreifung phosphoryliert werden und an der Aktivierung des Translationsapparates beteiligt sind. Obwohl dadurch essentielle Initiationsfaktoren in der M II-Phase aktiviert sind und mRNA polyadenyliert vorliegt, ist die Proteinbiosynthese in diesem Entwicklungsstadium blockiert. Unsere Untersuchungen analysierten die Phosphorylierung und damit die Aktivität des Repressors der Initiation der Translation (eIF4E-BP1) und Signalkaskaden, die daran beteiligt sind. Damit sollte der Hypothese nachgegangen werden, dass eIF4E-BP1 ein essentieller Schalter der Proteinsynthese ist, welcher diese im M II Stadium reprimiert und direkt nach der Befruchtung stimuliert.

Western-Blot Analysen zeigten, dass eIF4E-BP1 während der IVM an Thr 37, Thr 46, Thr 70 und Ser 65 phosphoryliert wird. Der höchste Phosphorylierungsgrad ist in der M II-Phase zu verzeichnen. Im GV-Stadium hingegen ist der Faktor unphosphoryliert und in der M I-Phase sind nur eine basale Phosphorylierung an Thr 37/46 nachzuweisen.

Untersuchungen an somatischen Zellen deuten darauf hin, dass zwei Signalkaskaden an der Phosphorylierung von eIF4E-BP1 zusammenwirken. Diese beinhalten die Proteinkinasen Akt (PKB) und mTOR (mammalian target of rapamycin). Eine getrennte und spezifische Inhibition der Aktivierung von Akt durch das Phosphatidylinositol-Analogon SH6 oder der mTOR-Aktivierung durch Rapamycin beeinflussen die Phosphorylierung von eIF4E-BP1 in Rindereizellen jedoch unterschiedlich. Während SH6 die vollständige Phosphorylierung nur unwesentlich reduziert, scheint die Rapamycin-Behandlung diese nur zeitlich zu verzögern. Dies deutet auf ein komplexes, hierarchisches Zusammenspiel beider Signalkaskaden bei der Phosphorylierung von eIF4E-BP1 hin.

Darüber hinaus zeigen die Ergebnisse, dass eIF4E-BP1 nicht allein für die Reprimierung der Proteinsynthese in der M II-Phase verantwortlich sein kann. Weitere potentielle Faktoren und das Zusammenspiel der untersuchten Signalkaskaden werden diskutiert.