



Dr. med. Mirjam Eberhardt

Medizinische Hochschule Hannover
Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin

Forschungspreis der Charlotte Lehmann-Stiftung

Kurzfassung des Forschungsprojektes

Oxidation of methionine residues activates the high-threshold heat-sensitive ion channel TRPV2

Bereits publiziert in
PNAS November 26, 2019 116 (48)
24359–24365. DOI: 10.1073/
pnas.1904332116

Fragstellung: Der thermosensitive Ionenkanal TRPV2 ist essenziell für die Phagozytose von Makrophagen, und sein Fehlen im Mausmodell führt zu einem Überlebensnachteil in der Sepsis. Mit TRPV2 verwandte Ionenkanäle können durch chemische Modifikation von Aminosäuren aktiviert werden. Ziel des Projektes war es zu untersuchen, ob TRPV2 durch oxidativen Stress aktiviert werden kann.

Methodik: TRPV2 und seine durch zielgerichtete Mutagenese generierten Mutanten wurden in HEK293-Zellen exprimiert und, wie auch humane Makrophagen, mittels Patch Clamp-Technik und Calcium Imaging untersucht. Durch Oxidation induzierte Veränderungen an aufgereinigtem rTRPV2-Kanalprotein untersuchten wir mittels Tandem-Massenspektrometrie (MS/MS). Die TRPV2-abhängige Phagozytose von Fluoreszenz-markierten, abgetöteten E. coli-Bakterien wurde in humanen Makrophagen bestimmt.

Ergebnisse: In Patch Clamp und Calcium Imaging zeigt sich eine Sensibilisierung von Ratten-TRPV2 (rTRPV2) und humanem TRPV2 durch das Oxidans Chloramin T, UV-Licht, hohe Konzentrationen von H₂O₂ und anderen reaktive Sauerstoffspezies produzierenden Substanzen. Dies führt zum Abfall der sonst hohen Temperaturschwelle zur Öffnung von TRPV2 auf 35°C und somit zu einer anhaltenden Ionenkanalaktivierung bei Körpertemperatur. Diese Aktivierung ist auch in Einzelkanalmessungen nachweisbar und damit ein direkter Effekt an TRPV2. Das Enzym Methioninsulfoxid-Reduktase in Kombination mit dem Reduktionsmittel Dithiothreitol oder der Austausch von Methionin M528 und M607 zu Isoleucin verhindern die Oxidations-induzierte Aktivierung von rTRPV2 fast vollständig. Massenspektrometriedaten des aufgereinigten rTRPV2-Proteins bestätigen die Oxidation dieser Methionine durch Chloramin T und H₂O₂. Humane Makrophagen zeigen nach Behandlung mit Chloramin T für TRPV2 charakteristische Einwärtsströme. In humanen Makrophagen ist die Phagozytose von E.coli-Partikeln durch Applikation von Dithiothreitol oder dem TRP-Kanalblocker Ruthenium Red deutlich reduziert.

Interpretation: Unsere Daten belegen eine bisher unbekannte, Methionin-abhängige Regulation der Aktivität von TRPV2 durch oxidativen Stress, die den entscheidenden endogenen Mechanismus für die bedeutende Funktion von TRPV2 bei der Phagozytose von Makrophagen darstellen könnte.

Curriculum Vitae

Geburtsdatum und -ort:	03.04.1983 in Erlangen
Studium:	10/2002 – 11/2008 Medizinstudium an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg
Promotion:	06/2010 „Einfluss von Stickstoffmonoxid auf Freisetzung und Genexpression von Calcitonin gene-related peptide im trigeminalen Ganglion der Ratte“ am Institut für Physiologie und Pathophysiologie der FAU in Erlangen
Facharztanerkennung:	08/2018 Fachärztin für Anästhesiologie
Derzeitige Tätigkeit:	Assistenzärztin der Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin der Medizinischen Hochschule Hannover (Direktor: Prof. Dr. med. W. Koppert, M.A.)
Wissenschaftliche Preise/Stipendien:	2011 Stipendium der Dr. Ernst und Anita Bauer-Stiftung 2014 Max von Frey-Preis 2014 EFIC IBSA Foundation Publication Award 2017 DGAI-Forschungsstipendium der Fresenius-Stiftung