



Doctoral Thesis

Die biochemische Charakterisierung der Fragmente des Fibronektins und Gedanken zu deren möglichen Funktion

Author(s):

Ehrismann, Ruth Elisabeth

Publication Date:

1981

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000240710> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

DISS ETH NR. 6963

DIE BIOCHEMISCHE CHARAKTERISIERUNG DER FRAGMENTE DES
FIBRONEKTINS UND GEDANKEN ZU DEREN MÖGLICHEN FUNKTION

ABHANDLUNG

zur Erlangung des Titels eines
Doktors der Naturwissenschaften
der

EIDGENOESSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE ZUERICH

vorgelegt von

EHRISMANN RUTH ELISABETH

Dipl. Natw. ETH

geboren am 9. November 1954

von Horgen (Kt. Zuerich)

angenommen auf Antrag von
Prof. Dr. H.M. Eppenberger, Referent
Prof. Dr. T. Koller, Korreferent

1981

ZUSAMMENFASSUNG

Myoblasten aus dem Brustmuskel 11-tägiger Hühnerembryonen brauchen ein Fibronektin-bedecktes Substrat, damit sie haften und sich ausstrecken können. Fibronektin ist ein dimeres Glykoprotein, das auf Zelloberflächen und in Plasma vorkommt. Seine Untereinheiten mit einem Molekulargewicht von 230,000 sind über S-S-Brücken kovalent miteinander verbunden. Wenn die Zellen auf einem gelatinisierten Substrat gezüchtet werden, bindet die Gelatine Fibronektin aus dem Medium und stellt dann das Bindeglied zu den Zellen her. Pferdeserumfibronektin konnte mit Chymotrypsin gespalten werden, sodass die Gelatinebindungsstelle und der Fibronektinabschnitt mit Haftaktivität voneinander getrennt werden konnten. Weitere Verdauung der Fragmente mit Pronase sowie das Testen der Fragmente auf Affinität zu Heparin, führte zur Isolierung und Lokalisierung von sechs funktionellen Bereichen auf einer Fibronektinuntereinheit, welche für die folgenden Funktionen verantwortlich sind: Binden an Gelatine, Binden an Heparin (zwei distinkte Bindungsstellen), Vermittlung von Zellhaften sowie Selbstassoziation von Fibronektinmolekülen über zwei komplementäre Bindungsstellen. Diese letzteren Bindungsstellen (Fibronektin-Fibronektin-Interaktionsstellen), liegen weit auseinander, sodass die Moleküle "Kopf zu Schwanz" aggregieren müssen. Diese Interaktion könnte die molekulare Grundlage für die Form von Fibronektin-Polymeren, Fibrillen unterschiedlicher Dicke, liefern. Eine wichtige Entdeckung war, dass ein kleiner Abschnitt von 12K für die Vermittlung des Zellhaftens verantwortlich zu sein scheint. Die Isolation dieses Fragmentes könnte wichtig werden für die Identifikation des Fibronektinrezeptors der Myoblasten. Es wird vorgeschlagen, dass Zelloberflächenfibronektine Homodimere sind im Gegensatz zu den Plasmafibronektinen, denen als Heterodimere auf einer ihrer Untereinheiten eine Selbstassoziationsstelle fehlen

könnte. Die unterschiedlichen, biologischen Funktionen von Zelloberflächen- und Plasmafibronektinen könnten von diesem Strukturunterschied herrühren, indem Plasmafibronektin weniger aggregiert als Zelloberflächen- Fibronektin und nur letzteres ausgedehnte, dreidimensionale Netzwerke bilden kann.

ABSTRACT

Chicken myoblasts require fibronectin (FN), a dimeric protein with subunits of ~ 230K, for their attachment to a substratum. Large monomeric fragments (~ 200K) of horse serum fibronectin retain full attachment-promoting activity and ability to bind to gelatin; digestion of FN bound to gelatin-sepharose with chymotrypsin yielded a mixture of two attachment-promoting fragments (135K and 160K) and a single 60K gelatin-binding fragment. Further digestion of the fragments with pronase and assessment of their ability to bind to heparin led to the construction of a self-consistent model for the arrangement of 6 functional domains in horse serum FN: gelatin-binding, attachment-promoting, two distinct heparin-binding and two complementary self-associating sites were located along the FN-subunit. An important feature is the location of the attachment-promoting region on a small (12K) peptide segment; this may aid in identifying the FN-"receptor". It is proposed that cellular FNs are homodimeric and that plasma FNs are heterodimeric with one subunit lacking, in the region near the C-terminus, a functional site for FN-selfassociation. The functional differences between cellular and plasma FNs are ascribed to the inability of the latter to form extended lattices.