

Historisches

In den 50er Jahren beobachtete R.W. Sperry bei Fröschen, denen zuvor die Augen entfernt und um 180° verdreht wieder hinein operiert wurden, folgendes: Beim Versuch eine Fliege zu fangen sprangen sie um 180° falsch [1] (vgl. Abb.1). Die Nervenfasern des Auges hatten in ihr ursprüngliches Zielgebiet projiziert. Um dieses zielgerichtete Wachstum zu erklären, formulierte Sperry 1963 seine **Chemoaffinitätstheorie**, derzufolge wachsende Axone ihre Zielzellen durch chemische Markierungen erkennen [2].

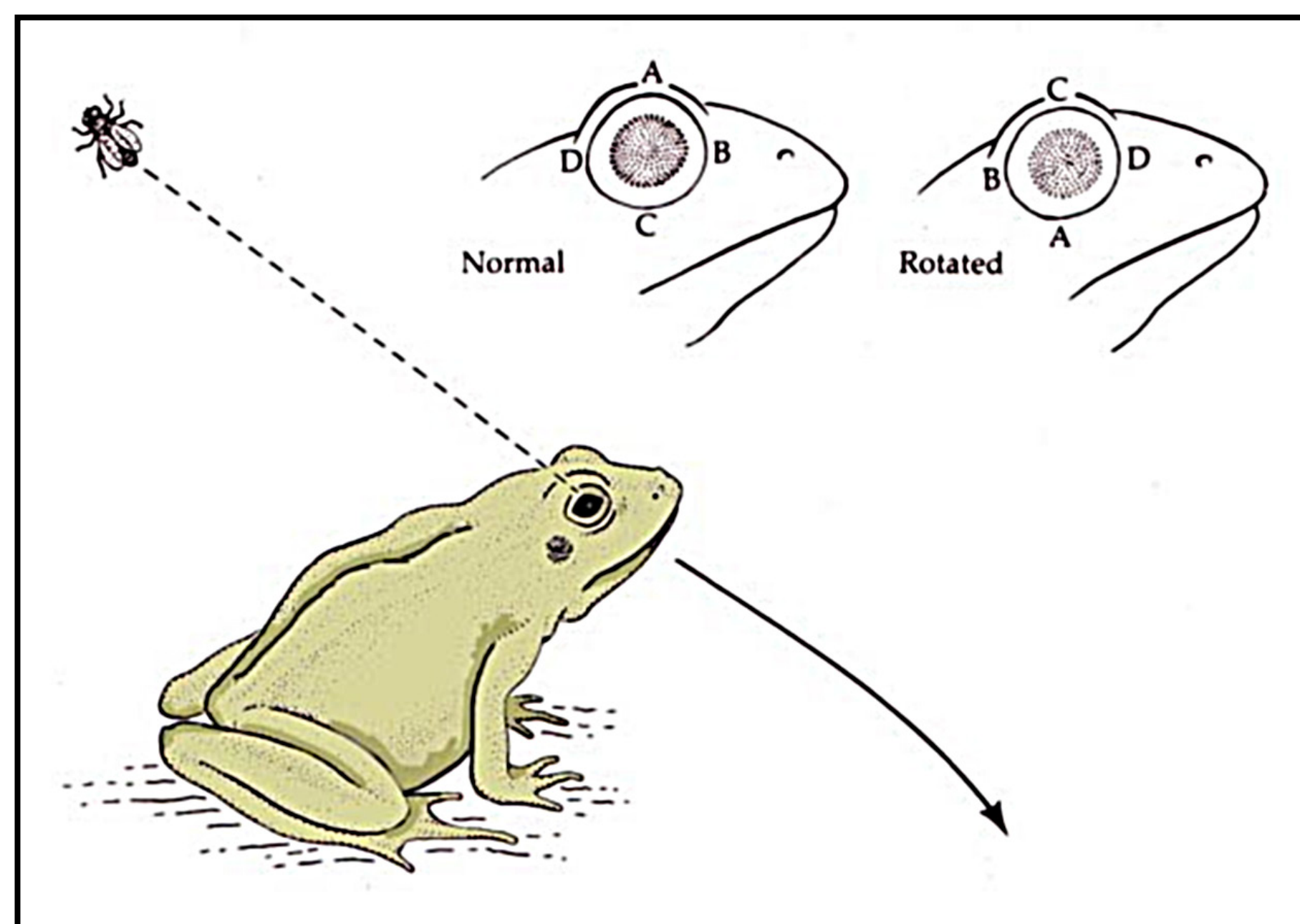


Abb. 1: Nach der 180°-Drehung des Auges und der Regeneration des Sehnerves springt der Frosch in die falsche Richtung (nach [1])

Konzept der Axonalen Wegfindung

Die korrekte funktionelle Verknüpfung einzelner Nervenfasern innerhalb eines komplexen Nervensystems wird durch ein gerichtetes Axonwachstum erreicht, dessen Steuerung zahlreiche Lenkungsmoleküle übernehmen.

Unter diesen Lenkungsmolekülen gibt es Vertreter, welche eine (Chemo-)Attraktions- bzw. Repulsionswirkung auf entsprechende Axone ausüben. So können beispielsweise *Netrine* anziehend und *Slits* abstoßend wirken. Die beiden genannten Moleküle bilden extrazelluläre Gradienten und wirken somit distanzvermittelt. Daneben existiert noch die kontakt-abhängige Attraktion bzw. Repulsion (vgl. Abb. 2).

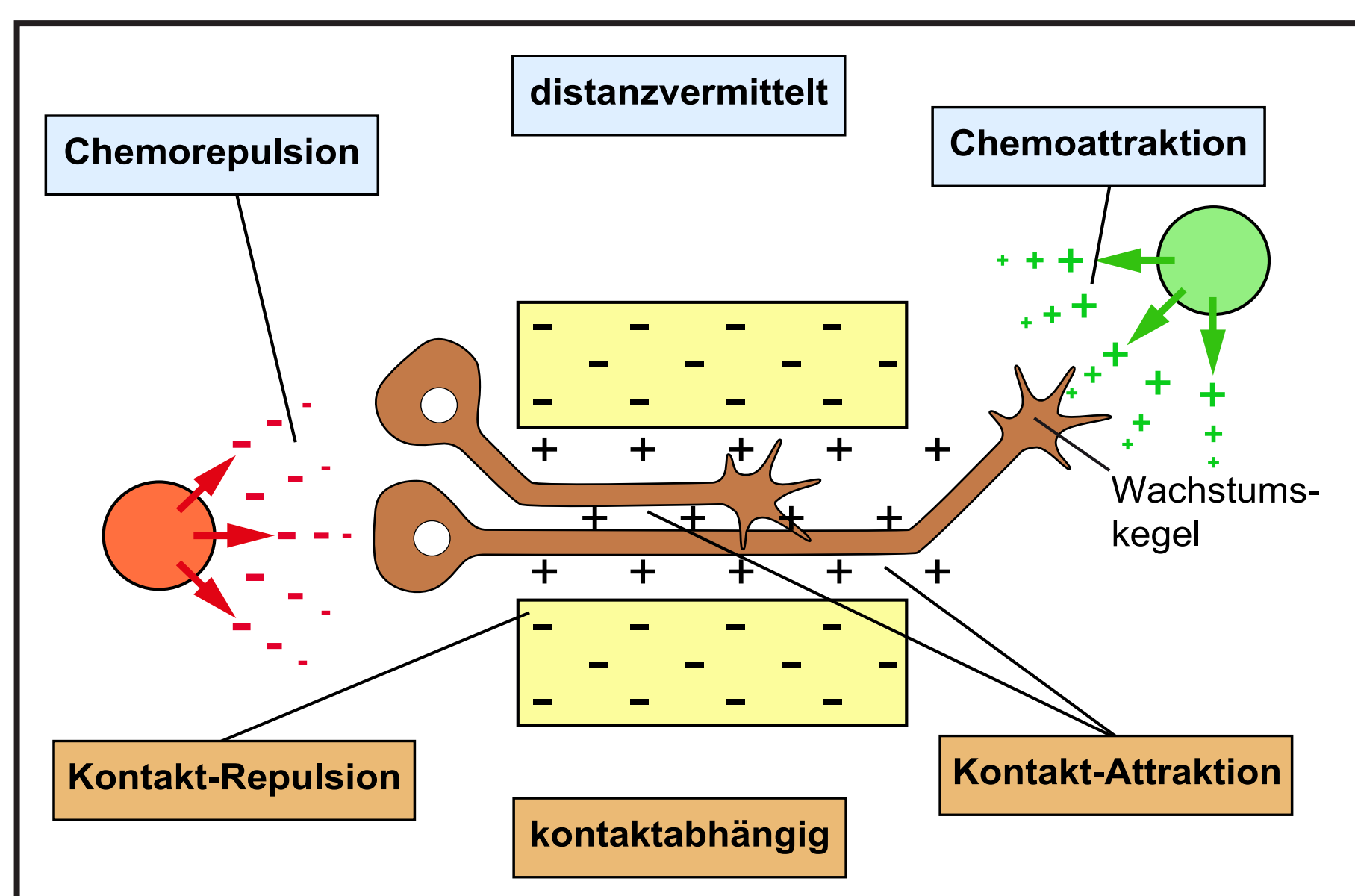


Abb. 2: Darstellung der 4 Mechanismen: distanzvermittelte und kontakt-abhängige Attraktion bzw. Repulsion (nach [3])

Funktionen von Slit-Robo Signaling

Slit und sein Rezeptor Robo koordinieren durch Ligand-Rezeptor Interaktion wachsende Axone. Sie übernehmen somit eine Schlüsselrolle in der neuronalen Entwicklung, speziell bei der Mittellinie des zentralen Nervensystems von Vertebraten und Invertebraten [4]. Bei der Anlage der Mittellinie in *Drosophila* Embryonen wird *Slit* als Signalmolekül sezerniert. Heranwachsende Axone, die *Robo*-Rezeptoren tragen, werden von diesem Signal abgestoßen (vgl. Abb. 3).

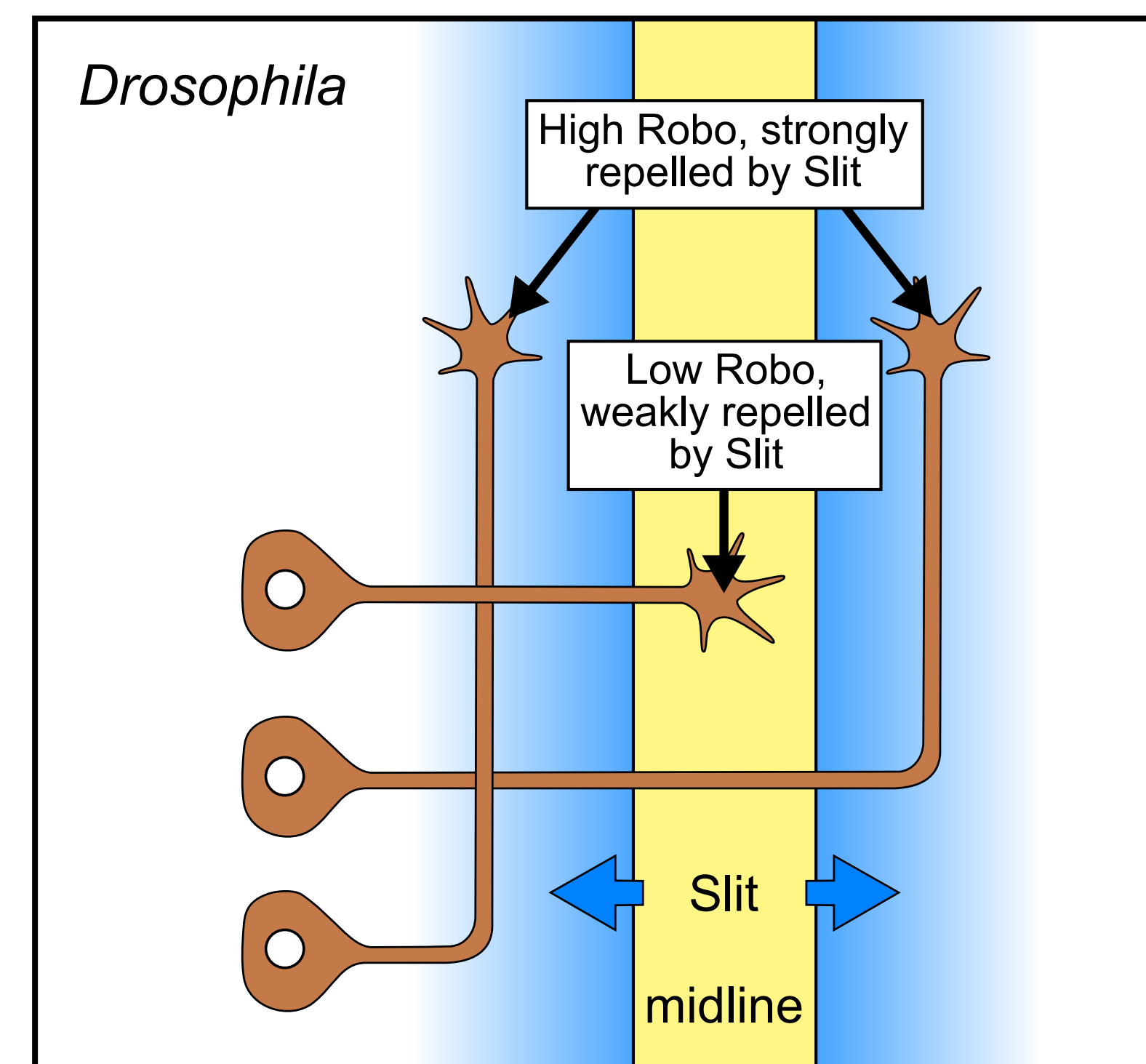


Abb. 3: Slit-Sekretion (blauer Gradient) an der Mittellinie von *Drosophila* (nach [5])

Daneben ist Slit-Robo Signaling auch an Organentwicklung und Tumorentstehung beteiligt. So wurde neben der Rolle als Regulator der Zellmigration eine steuernde Funktion bei Proliferation, Angiogenese, Adhäsion und Apoptose von gesunden und tumorhaften Zellen gefunden [6].

Zellmigration durch Veränderung des Cytoskelettes

Das Cytoskelett ist der Adressat der Slit-Robo Signaltransduktion. Slit-Bindung führt zu einer lokalen Hemmung der Actin-Polymerisation. Dadurch kommt es zur Translokation von Actinfilamenten im Wachstumskegel des Axons. Dies bewirkt eine gerichtete Bewegung (vgl. Abb. 4).

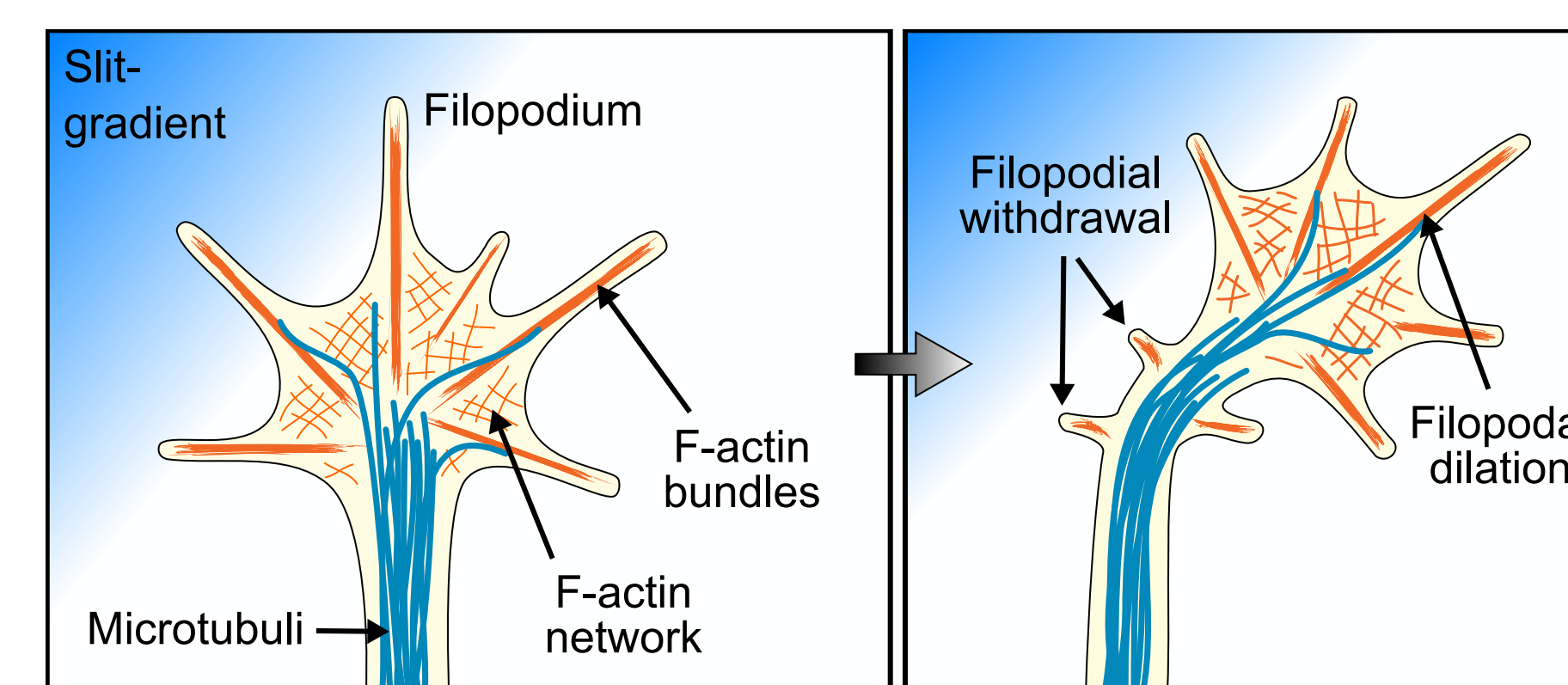


Abb. 4: Cytoskelettale Umordnung im Wachstumskegel, initiiert durch Slit-Bindung (nach [5])

Slit-Robo Struktur und Interaktion

Abb. 5 zeigt die Strukturen von Slit und Robo in schematischer Darstellung. Slits sind relativ große Glykoproteine und sowohl bei Invertebraten als auch bei Vertebraten stark konserviert. Charakteristisch sind die vier *LRR* (*leucine-rich repeat*) Domänen, von denen eine (D2) die Bindung zum Robo-Rezeptor herstellt. Slit ist zunächst mit der Zellmembran assoziiert und wird erst durch proteolytische Spaltung nach der fünften *EGF* (*epidermal growth factor-like*) Domäne diffusibel [7]. Slit benötigt außerdem *HS* (*Heparansulfat*) um seine Funktion ausüben zu können. Dabei handelt es sich um ein membrangebundenes Polysaccharid, welches die Bindung zu Robo begünstigt und außerdem die Ausschüttung und Effizienz von Slit zu regulieren scheint [8].

Robo ist ein Transmembranrezeptor der *Roundabout* Familie. Von den fünf extrazellulären *IG* (*immunoglobulin-like*) Domänen, sind IG1 und IG2 an der Slit-Bindung beteiligt. Auch diese sind stark konserviert. Letzteres gilt nicht für einen Großteil der cytosolischen Domänen. Hier weisen lediglich bestimmte (CC-) Motive eine hohe Konservierung auf. Diese Motive bilden Effektor-Bindestellen und leiten somit das Signal in das Zellinnere weiter.

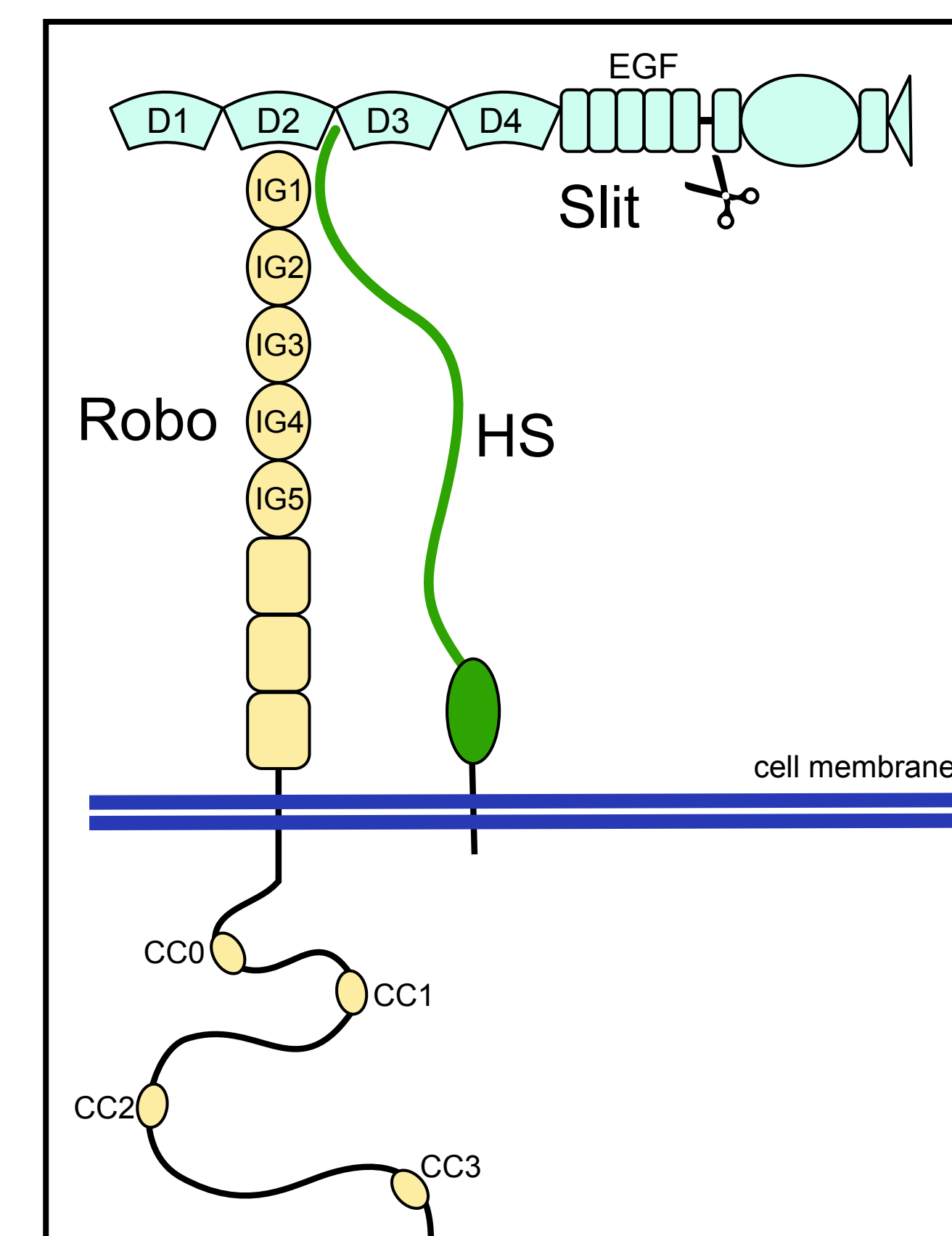


Abb. 5: Schematische Strukturen von Slit (blau) und Robo (gelb); Darstellung der Bindung (nach [7])

Zusammenfassung

Sezernierte Slit-Signalmoleküle bilden einen extrazellulären Gradienten, der auf heranwachsende Axone abstoßend wirkt, wenn diese Robo-Rezeptoren tragen. Die Steuerung der Zellmigration erfolgt durch lokale Umgestaltung des Cytoskeletts innerhalb des Wachstumskegels. Neben der zentralen Rolle bei der Axonalen Wegfindung, wurden mittlerweile weitere wichtige Funktionen des Slit-Robo Signalweges nachgewiesen. Vor allem die Aktivität während der Angiogenese zeigt, dass Slit-Robo bei der Entwicklung zahlreicher Organe, sowie dem Tumorentstehung beteiligt ist.

Signaltransduktion

Wenn Slit an Robo bindet, ändert sich der Oligomerisierungsgrad von Robo und dadurch auch die Konformation der Cytosolischen Domänen, wodurch Effektor-Bindestellen frei werden. Nun bindet *srGAP* an das CC3 Motiv von Robo und wird aktiviert (vgl. Abb. 6). Dies führt zur Inaktivierung der GTPase *Cdc42*, wodurch die Aktivierung von *N-WASP* reduziert wird. Somit verringert sich der Gehalt an aktivem *Arp2/3* Komplex, welcher die Actinpolymerisation initiiert [9]. Dadurch kommt es letztlich zur lokalen Hemmung der Actinpolymerisation am Ort der Slit-Bindung. Gleichzeitig findet eine Zellstreckung in entgegengesetzter Richtung zum Slit-Gradienten statt. Die Slit-Bindung löst also ein Zellmigration aus.

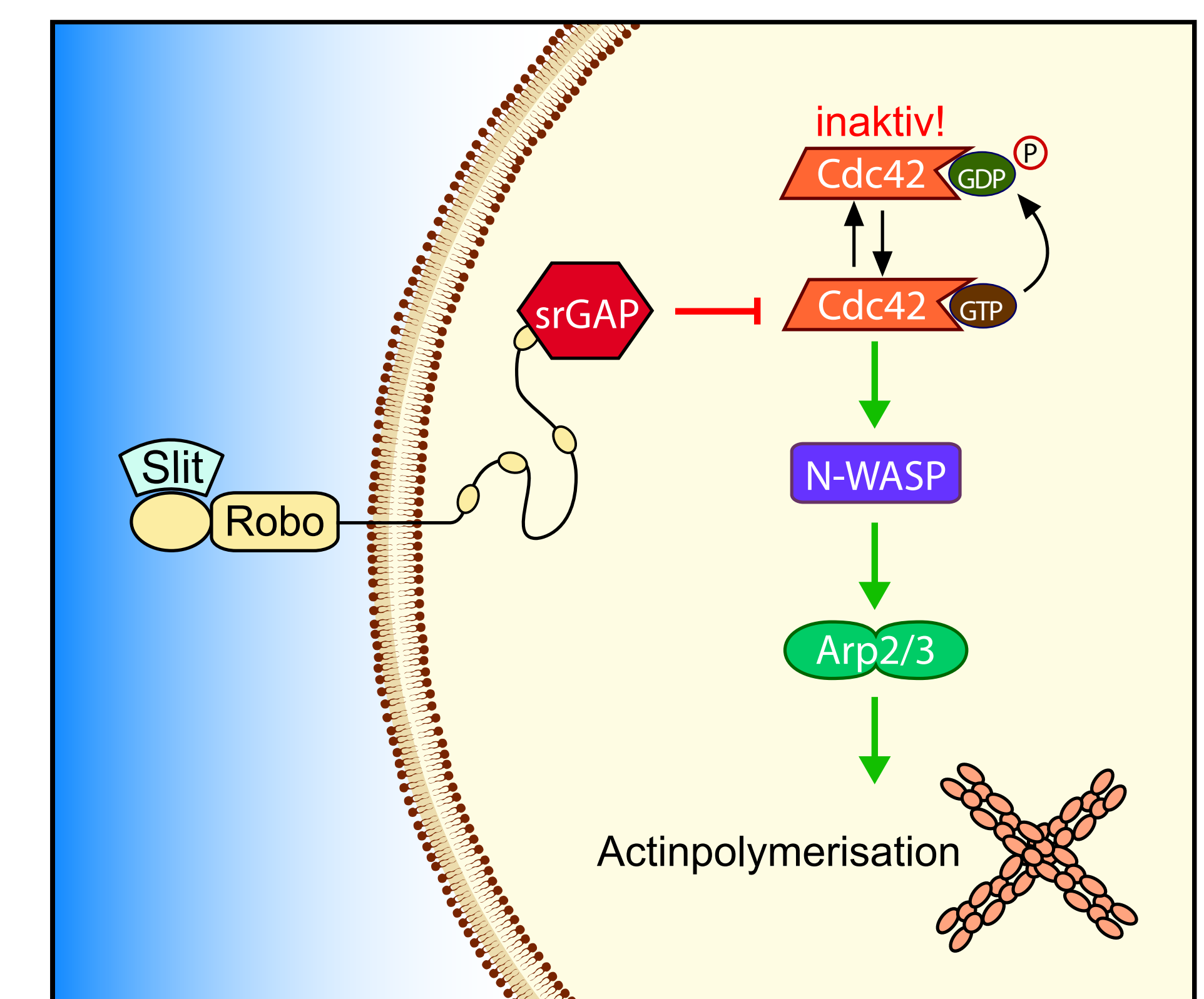


Abb. 6: Modell der Signaltransduktion

Literatur

- Sperry R.W. (1956) The eye and the brain. *Sci. Am.* **194**:703-710.
- Sperry R.W. (1963) Chemoaffinity in the orderly growth of nerve fiber patterns and connections. *PNAS* **50**:703-710.
- Tessier-Lavigne M., Goodman C.S. (1996) The molecular biology of axon guidance. *Science* **274**:1123-1133.
- Marlot C. et al. (2007) Structural insights into the Slit-Robo complex. *PNAS* **104**:14923-14928.
- Dickson B.J. (2002) Molecular mechanisms of axon guidance. *Science* **298**:1959-1964.
- Dickinson R.E., Duncan W.C. (2010) The SLIT-ROBO pathway: a regulator of cell function with implications for the reproductive system. *Reproduction* **139**:697-704.
- Hohenester E. (2008) Structural insight into Slit-Robo signalling. *Biochem. Soc. Trans.* **36**: 251-256.
- Johnson K.G. et al. (2004) Axonal heparan sulfate proteoglycans regulate the distribution and efficiency of the repellent slit during midline axon guidance. *Curr. Biol.* **14**:499-504.
- Wong K. et al. (2001) Signal Transduction in Neuronal Migration: Roles of GTPase Activating Proteins and the Small GTPase Cdc42 in the Slit-Robo Pathway. *Cell* **107**:209-221.