

Ines Kock

Dr. med.

Analyse des Rhodopsin Transports in Invertebraten am Beispiel transgener *Drosophila melanogaster*

Promotionsfach: Biochemie

Doktormutter: Prof. Dr. rer. nat. I. Sinning

Ein fehlerfreier Transport von Rhodopsin zum photosensitiven Kompartiment des Auges ist für die Entwicklung der Photorezeptorzellen und die visuelle Funktion der Retina von entscheidender Bedeutung.

So stellen Rezeptormutationen, welche eine Fehllokalisierung des Sehpigments Rhodopsin innerhalb der menschlichen Photorezeptorzelle bedingen, die pathogenetische Grundlage der autosomal dominant vererbten *Retinitis Pigmentosa* (RP) dar. Diese beschreibt eine degenerative Erkrankung der Retina, deren Verlauf durch die progressive Erblindung der Betroffenen gekennzeichnet ist.

Besonders schwere Formen der RP lassen hierbei Mutationen im C-terminalen QVxPA Motiv des Rhodopsins erkennen. Diese Peptidsequenz ist unter Vertebraten hoch konserviert und dient als Interaktionsplattform für verschiedene Transport-assoziierte Proteine. Deletionen bzw. Alterationen dieses Proteinbereichs führen in Vertebraten zu Transportstörungen des Rezeptors und bedingen den konsekutiven Untergang der Photorezeptorzellen.

In der Erforschung der RP sowie anderer Netzhauterkrankungen stellt *Drosophila melanogaster* einen vielfach eingesetzten Modellorganismus dar. Dennoch ist bisher nur wenig über die Grundlagen des Rhodopsin Transports in diesem Organismus aus der Familie der Wirbellosen bekannt.

Mit Hilfe multipler Sequenzvergleiche von Rhodopsin Homologen unterschiedlicher Spezies konnte im Rahmen dieser Dissertation nun gezeigt werden, dass sich die Konservierung des ziliären QVxPA Motiv nicht auf die rhabdomerischen Homologe von Invertebraten erstreckt. Im Gegensatz dazu weisen diese eine ausgeprägte Variabilität sowohl in der Länge als auch der Aminosäureabfolge ihrer C-terminalen Proteinbereiche auf.

Um festzustellen ob diese Region dennoch auch in Wirbellosen für den Rezeptortransport benötigt wird, wurden verschiedene C-terminal verkürzte Varianten des *Drosophila*

Rhodopsins in den Augen transgener Fliegen exprimiert und ihre Verteilung in den Photorezeptorzellen sowohl *in vivo* als auch mittels Immunfluoreszenz studiert.

Hierbei gelang der Nachweis einer unbeeinträchtigten rhabdomerischen Lokalisation sowohl des Wildtyp Rezeptors als auch einer um die letzten 23 Aminosäuren verkürzten Rhodopsin Mutante.

Durch Analyse weiterer Rhodopsin Konstrukte konnte zudem demonstriert werden, dass für die korrekte Lokalisation des *Drosophila* Homologs nicht etwa dessen äußerster C-Terminus, sondern vielmehr ein distaler Teil der amphipathischen Helix 8 benötigt wird. Interessanterweise beinhaltet diese Helix das in rhabdomerischen Opsinen aus Invertebraten hoch konservierte Aminosäuremotiv PKY/FRXXXXXXXXP, welches in ziliären Homologen aus Vertebraten gänzlich fehlt.

Des Weiteren konnte weder *in vitro* noch *in vivo* eine Beteiligung des Proteins SARA am Transport von *Drosophila* Rhodopsin festgestellt werden. In Vertebraten hingegen ist die essentielle Bedeutung von SARA und dessen FYVE-Domäne im Transportprozess ziliärer Homologe gut belegt.

Zusammenfassend legen diese Ergebnisse einen neuen, klar von Vertebraten abzugrenzenden, Transportmechanismus rhabdomerischer Opsine nahe. Weitere Experimente werden in Zukunft benötigt um auch diesen genauer zu verstehen und entwicklungsbiologisch einordnen zu können.