



**Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg**  
**Medizinische Fakultät Mannheim**  
**Dissertations-Kurzfassung**

**Charakterisierung der Signalübertragung durch den  
Guaninnukleotid-Austauschfaktor Larg**

Autor: Petra Winkler  
Institut / Klinik: Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie und  
Toxikologie  
Doktorvater: Prof. Dr. T. Wieland

Die Familie der RhoGTPasen sind zentrale Regulatoren des Aktinzytoskeletts und spielen eine wichtige Rolle für viele zelluläre Prozesse, wie z.B. die Proliferation, die Migration und die Kontraktion. Ihre Aktivierung erfolgt im Zuge vieler verschiedener Signalkaskaden und wird vornehmlich durch Guaninnukleotid-Austauschfaktoren (RhoGEFs) kontrolliert. Diese katalysieren den GDP/GTP-Austausch und führen so zu einer vermehrten Bildung von aktiven, GTP-gebundenen RhoGTPasen.

Ziel dieser Arbeit war es, die Signalübertragung durch das Leukämie-assoziierte RhoGEF Larg zu charakterisieren und beteiligte akzessorische Proteine zu identifizieren. Dieser Austauschfaktor aktiviert spezifisch RhoA und wird selbst im Rahmen der Stimulation G-Protein-gekoppelter Rezeptoren (GPCR) aktiviert. Unklar war jedoch, ob die Aktivierung von Larg ausschließlich im Zuge der Stimulation von  $G_{12/13}$ -gekoppelten Rezeptoren erfolgt oder aber auch durch  $G_{q/11}$ -gekoppelte Rezeptoren induziert werden kann. Um diese Frage zu beantworten, wurde der Einfluss des Histamin- $H_1$ - ( $H_1R$ ), sowie des muskarinischen  $M_3$ -Acetylcholin- ( $M_3R$ ) Rezeptors auf die Aktivierung von Larg und einer N-terminal trunkierten Variante ( $Larg\Delta PDZ$ ) untersucht. Hierbei konnte gezeigt werden, dass Larg die  $H_1R$ - und  $M_3R$ -abhängigen Aktivierungen von RhoA und des durch RhoA-induzierbaren Transkriptionsfaktors SRF verstärken konnte.  $Larg\Delta PDZ$  dagegen zeigte, trotz ähnlich hoher Basalaktivität wie Larg, keinerlei verstärkende Wirkung. Da aber weder Larg noch  $Larg\Delta PDZ$  in der Lage waren die Aktivierung von RhoA und SRF in Kooperation mit konstitutiv aktivem  $G\alpha_q$ -Protein zu stimulieren und auch mittels Co-Immunopräzipitation keine physikalische Interaktion nachweisbar war, belegen die beschriebenen Ergebnisse, dass die Aktivierung von Larg vom Vorhandensein eines aktiven Rezeptors und dessen PDZ-Domäne abhängig ist. Zur weiteren Charakterisierung dieser Signalübertragung wurde der Einfluss der G-Protein-gekoppelten Rezeptor-Kinase 2 (GRK2) untersucht. Diese kann GPCRs phosphorylieren und dadurch desensitivieren, aber auch  $G\alpha_q$ - und  $G\beta\gamma$ -Untereinheiten inhibieren bzw. binden. Hierbei zeigte sich, dass die Larg-abhängige RhoA- bzw. SRF-Aktivierung durch die GRK2 signifikant gehemmt werden konnte und diese Hemmung unabhängig von der GRK2-Kinaseaktivität war. Da keine der verwendeten GRK-Mutanten einen Einfluss auf die Aktivität von  $Larg\Delta PDZ$  hatte, unterstrichen diese Experimente die Bedeutung der PDZ-Domäne als regulatorisch wichtige Einheit. Zusammenfassend sprechen die erhobenen Daten für eine Aktivierung von Larg im Rahmen  $G_q$ -mediierter Signalwege. Diese Aktivierung scheint aber nicht direkt über die aktive  $G\alpha$ -Untereinheit vermittelt zu werden, sondern setzt wahrscheinlich die Bildung eines Multiproteinkomplexes voraus, der neben dem Rezeptor,  $G_{q/11}$ -Proteine, Larg und bis dato noch zu identifizierende Faktoren beinhaltet.