



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

**Nukleosid Diphosphat Kinase B - ein essentieller Komplexpартner  
der  $\beta$ -Untereinheit heterotrimerer Guaninnukleotid-bindender  
Proteine in Kardiomyozyten**

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

Die durch heterotrimere Guaninnukleotid-bindende Proteine (G-Proteine) vermittelte Signaltransduktion ist der meist genutzte Signalweg in Säugetierzellen. G-Proteine bestehen aus einer  $\alpha$ -, einer  $\beta$ - und einer  $\gamma$ -Untereinheit ( $G\alpha$ ,  $G\beta$  und  $G\gamma$ ) und werden über so genannte G-Proteingekoppelte Rezeptoren aktiviert, die die Wirkung extrazellulärer Botenstoffe vermitteln. Aktivierte G-Proteine dissoziieren in  $G\alpha$  und das  $G\beta\gamma$ -Dimer. Beide interagieren mit Effektoren, wie der Adenylyl Cyclase (AC), und koppeln so den aktivierten Rezeptor an verschiedene intrazelluläre Signalkaskaden. Die Nukleosid Diphosphat Kinase (NDPK) ist ein Multifunktionsenzym, das in viele zellphysiologische Prozesse wie Entwicklung, Genregulierung und Apoptose involviert ist. NDPK B bildet Komplexe mit dem  $G\beta\gamma$ -Dimer und kann G-Proteine Rezeptor-unabhängig über einen Phosphattransfer auf Histidin 266 der  $\beta$ -Untereinheit aktivieren. Bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz sind Gehalt und Aktivität von NDPK in der kardialen sarcolemmalen Membran erhöht. Ein Knockdown von NDPK B führt im Zebrafisch zu einer Abnahme des Gehaltes der  $G\beta_1$ -Orthologen  $G\beta_1$  und  $G\beta_{1like}$  und umgekehrt. In beiden Fällen kommt es zu einem ausgeprägten kardialen Phänotyp, der u. a. durch eine deutlich verminderte Pumpfunktion gekennzeichnet ist. Diese Daten legen eine essentielle Rolle des NDPK B/  $G\beta\gamma$ -Komplexes für eine normale Kontraktilität des Herzens *in vivo* nahe.

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass sich NDPK B und  $G\beta$  auch in Säugetierzellen und im Speziellen in Rattenkardiomyozyten gegenseitig stabilisieren, wobei exemplarisch die  $G\beta$ -Isoformen  $G\beta_1$  und  $G\beta_2$  untersucht wurden. Durch einen siRNA-vermittelten Knockdown von NDPK B, sank auch der Gehalt an  $G\beta_1$  und  $G\beta_2$  und umgekehrt. Gleichzeitig waren die enzymatische NDPK-Aktivität und der basale cAMP-Level (cyclisches Adenosin 5'-monophosphat) vermindert. Letzteres ist am ehesten auf eine Verminderung der Rezeptor-unabhängigen Aktivierung heterotrimerer G-Proteine zurückzuführen. NDPK B beeinflusst also über zwei verschiedene Mechanismen die G-Protein-vermittelte Signaltransduktion: Einerseits aktiviert NDPK B G-Proteine Rezeptor-unabhängig und andererseits scheint NDPK B den Gehalt an G-Proteinen bzw. den  $G\beta$ -Gehalt in der Zelle zu regulieren. Der NDPK B/  $G\beta\gamma$ -Komplex scheint also eine essentielle Rolle für die Erhaltung einer normalen G-Protein-Funktion zu spielen.

Zusammen mit neueren, im Zebrafisch und in embryonalen Fibroblasten nicht lebensfähiger NDPK A/ B Doppelknockout Mäuse gewonnenen Daten spricht dies dafür, dass NDPK B und  $G\beta\gamma$  Teile eines größeren Signaltransduktionskomplexes sind, der wichtig für die posttranslationale Stabilisierung und Funktion insbesondere von AC regulierenden heterotrimeren G-Proteinen ist. Innerhalb dieses Komplexes, der mit Caveolin-angereicherten Plasmamembrandomänen assoziiert zu sein scheint, stabilisieren sich die Bindungspartner gegenseitig und beeinflussen auch die Stabilität weiterer Komplexpартner, wie  $G\alpha$ -Untereinheiten und Caveoline. Des Weiteren wird neben dem cAMP-Spiegel auch die Phospholamban-Phosphorylierung beeinflusst. Dies könnte für den im Zebrafisch beobachteten, kardialen Phänotyp verantwortlich sein. In den Myozyten insuffizienter Herzen ist der NDPK B-Gehalt in der Plasmamembran möglicherweise aufgrund einer Dauerstimulation von  $\beta$ -Adrenorezeptoren erhöht. Die Bildung der NDPK B/  $G\beta\gamma$ -Komplexe scheint also essentiell für eine normale kardiale Funktion zu sein und könnte eine wichtige Rolle bei der Herzinsuffizienz spielen, sei es als Kompensationsmechanismus oder in deren Entstehung.