

Isabelle Nadine Kuhlee  
Dr. med.

## **Funktionelle Analyse extrazellulärer Mutationen im Bereich der Aminosäuren 102 - 117 des Thrombopoietin Rezeptors c-Mpl: Untersuchung der Korrelation von Glykosylierung und subzellulärer Verteilung**

Fach/Einrichtung: Kinderheilkunde  
Doktorvater: Prof. Dr. med. Andreas Kulozik, PhD

Das Hormon Thrombopoietin spielt sowohl in der Signalübertragung in der Zelle eine Rolle, als auch als Mediatorstoff im Regelkreis der Homöostase der Blutplättchen. Durch Bindung von Thrombopoietin an den c-Mpl Rezeptor werden die Signaltransduktionswege in der Zelle aktiviert. Mutationen der Aminosäuren 102, 104 und 106 im c-Mpl Rezeptorprotein haben eine gegensätzliche Wirkung auf die Aktivität des Rezeptors, trotz ihrer Nähe im c-Mpl Gen, und führen zu unterschiedlichen Krankheitsbildern: Es wurden hier sowohl Thrombozytosen (durch gain-of-function Mutationen) und als auch Thrombozytopenien (durch loss-of-function Mutationen) beschrieben. Dieser Bereich hat damit eine besondere Bedeutung für die Funktion des Rezeptors. In der vorliegenden Arbeit wird eine funktionelle Analyse der extrazellulären Domäne des Thrombopoietin Rezeptors c-Mpl durchgeführt. Dafür wurden neben Untersuchung der drei natürlich vorkommenden Mutationen an Stelle 102, 104 und 106 auch artifizielle c-Mpl Proteine im benachbarten Bereich der natürlich vorkommenden Mutationen generiert. Es wird dargestellt, dass die subzelluläre Verteilung des Rezeptors zwar mit dem Glykosylierungsstatus korreliert, interessanterweise jedoch nicht mit der Funktion. Die c-Mpl Mutation P106L zeigt darüber hinaus trotz einer unvollständigen Glykosylierung eine konstitutive Aktivierung des Rezeptors. Eine Mutation an Stelle N117 führt zu einer insuffizienten Glykosylierung des Rezeptors, der aber dennoch im Golgiapparat prozessiert werden kann. Durch Mutation der Aminosäure an Stelle 117 fehlt dem Rezeptor eine Glykosylierungsstelle im Vergleich zum Wildtyp. Bei allen anderen für diese Arbeit generierten artifiziellen Mutation von ausgewählten Leuzinen im benachbarten Bereich der bekannten natürlichen Mutationen zeigt sich ein Funktionsverlust des Rezeptors bei unvollständiger Glykosylierung. Das wiederkehrende Leuzin-Motiv im untersuchten Proteinabschnitt des c-Mpl Rezeptors führt dazu, die Hypothese des Leuzin Zippers in dieser Arbeit aufzugreifen, der für eine korrekte Prozessierung und Dimerisierung der Rezeptoranteile eine Rolle spielen könnte. Die hohe Frequenz der Leuzine ist ein Muster das in verschiedenen Spezies konserviert ist. Veränderungen der Leuzinstruktur führen zum Bruch der Sekundärstruktur eines Proteins. Aufgrund der hier vorgestellten Ergebnisse kann man annehmen, dass ein Zusammenhang zwischen den Leuzinen und der Glykosylierung besteht, und durch deren Mutation eine korrekte Prozessierung verhindert wird.