

Autor: Ingo Nölte  
Titel: Biochemische und molekulare Charakterisierung von Ratp28

Geboren am 27.8.1974  
Reifeprüfung am 14.6.1994  
Physikum am 10.9.1997 an der Universität Heidelberg  
Klinisches Studium an der Universität Heidelberg  
Praktisches Jahr in Heidelberg, Edinburgh, Galveston/Texas  
Staatsexamen am 10.5.2002 an der Universität Heidelberg  
Promotionsfach: Biochemie  
Doktorvater: Prof.Dr. F.T. Wieland

Ziel der Arbeit war die Identifizierung und molekulare Charakterisierung von ratp28, einem Protein aus Rattenleber. Dies umfaßte die Klonierung und Sequenzierung von ratp28 sowie die Bestimmung seiner Membrantopologie und seiner intrazellulären Lokalisation.

Durch Edman-Sequenzierung eines Proteins mit apparentem Molekulargewicht von 28 kD wurde der N-Terminus eines bisher unbekanntes Proteins ermittelt. Durch den Genbankscreen einer cDNA-Bank aus Rattenleber wurde eine cDNA isoliert, die für ein Protein von 195 Aminosäuren (ratp28) kodiert.

Datenbankvergleiche haben Homologien zu Proteinen aus Maus, Schwein und Mensch ergeben.

Durch Hochsalzbehandlung und kontrollierten Verdau (Proteaseschutzexperimente) von mikrosomalen Membranen aus Rattenleber konnte gezeigt werden, daß es sich bei ratp28 um ein Membranprotein mit einer Transmembrandomäne handelt, dessen N-Terminus cytosolisch und dessen C-Terminus luminal liegt (Transmembranprotein vom Typ II).

Die intrazelluläre Lokalisation von ratp28 wurde durch Analyse verschiedener subzellulärer Fraktionen bestimmt. Dabei konnte gezeigt werden, daß sich ratp28 im Endoplasmatischen Retikulum und nicht, wie bisher angenommen, in der Plasmamembran oder dem Golgi-Apparat befindet.

Über die Funktion von ratp28 *in vivo* ist bisher nur wenig bekannt. Als mögliche Liganden werden Steroide und/oder Opioide postuliert. Insbesondere liegen Hinweise auf die Bindung von Progesteron vor. Sollte es sich bei ratp28 tatsächlich um einen Progesteronrezeptor handeln, so wäre ratp28 der erste intrazelluläre membranständige Steroidrezeptor.

Weiterhin wird angenommen, daß das Schweineortholog von ratp28 in einem 200 kD-Proteinkomplex vorliegt und daß eine oligomere Form des Proteins existiert.

Auf transkriptioneller Ebene konnte gezeigt werden, daß eine Dioxin-Exposition in Ratten die mRNA-Synthese von ratp28 steigerte. Der zugrundeliegende Mechanismus ist noch nicht bekannt. Da bekannt ist, daß polyhalogenierte Kohlenwasserstoffe wie Dioxin an Steroidrezeptoren binden und ratp28 *in vitro* einige Steroide bindet, könnte Dioxin möglicherweise an ratp28 binden.

In Zukunft ist zu klären, ob es sich bei ratp28 tatsächlich um einen Steroidrezeptor *in vivo* handelt. Daran knüpfte sich die Frage, ob die Bindung einen genomischen oder einen nicht-genomischen Effekt vermittelt. Die Ergebnisse dieser Arbeit dienen als Grundlage zur Aufklärung der Funktion von ratp28.