

# Charakterisierung von APPBP2/PAT1 & Analyse der Interaktion zwischen den Proteinen der APP Protein Familie

Yung-Hui Kuan  
Betreuers: Prof Beyreuther

## Zusammenfassung

Die physiologischen Funktionen und die pathogenen Eigenschaften des Amyloid Precursor Proteins (APP) und den zu APP homologen Proteinen, Amyloid Precursor Protein Like Protein 1 und 2 (APLP1, APLP2) stehen in einem engen Zusammenhang mit der subzellulären Verteilung von APP. Kürzlich wurde ein noch uncharakterisiertes Genprodukt identifiziert, welches partielle Homologie mit dem Kinesin Light Chain (KLC) Protein aufweist. Es wurde gezeigt, daß dieses neue Protein, welches PAT1 (Protein Interacting With APP Tail 1) genannt wurde, zum einen mit Mikrotubuli assoziiert ist, und zum anderen mit dem intrazellulären C-Terminus von APP interagiert. Weitere Daten aus dieser Studie weisen darauf hin, daß PAT1 auch in Neuronen an dem Transport von APP entlang von Mikrotubuli in Richtung der Plasmamembran beteiligt ist. Funktionale Studien, die diese Hypothese für das *in vivo* relevante neuronale System belegen würden, wurden jedoch nicht durchgeführt.

Im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit wurde festgestellt, daß sich die codierende Sequenz von PAT1, in sieben Nukleotiden von der DNA Sequenz von APPBP2 (Amyloid Precursor Binding Protein 2) unterscheidet. Dieser Austausch von einzelnen Nukleotiden führt zu einer nicht homologen Substitution von 6 Aminosäuren und ist wahrscheinlich auf einen sehr selten vorkommenden Polymorphismus in dem APPBP2 Gen zurückzuführen. Für alle weiterführenden Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit wurde aus diesem Grund das APPBP2 Genprodukt verwendet.

Durch Northern Analyse wurde gezeigt, daß APPBP2/PAT1a sowohl in den untersuchten menschlichen Geweben, als auch in der Maus ein ubiquitär exprimiertes Protein ist. Die Charakterisierung von APPBP2/PAT1a mittels *in situ* Hybridisierung und immunhistochemischen Methoden ergab, daß APPBP2/PAT1a im Gehirn von Mäusen weitgehend mit APP/APLPs kolokalisiert und vorwiegend in Neuronen exprimiert wird. Des Weiteren konnte gezeigt werden, daß APPBP2/PAT1a in einem stabilen Komplex mit den einzelnen Mitgliedern der APP Proteinfamilie im zentralen Nervensystem der Maus vorkommt. In primären Neuronen ist APPBP2/PAT1a sowohl im Soma, als auch in Neuriten teilweise mit Vesikeln assoziiert. Diese beinhalten zusätzlich auch APP oder APLPs, was darauf hinweist, daß APPBP2/PAT1a eine Rolle im intrazellulären Transport von APP, APLP1 und APLP2 in Neuronen spielt. Zwischen APLP2 und APPBP2/PAT1a war die Kolokalisation in Neuronen im Vergleich zu APP oder APLP1 am stärksten ausgeprägt. Dies läßt vermuten, daß APPBP2/PAT1a vorzugsweise mit APLP2 *in vivo* interagiert. Des Weiteren wurde in dieser Arbeit gezeigt, daß APPBP2/PAT1a, die Prozessierung von APP, APLP1 und APLP2 beeinflusst, und die Ab Sekretion in stabil transfizierten SH-SY5Y Neuroblastomzellen modifiziert.

Zusammengefaßt, zeigen die oben beschriebenen Experimente, daß APPBP2/PAT1a ubiquitär exprimiert wird und innerhalb des Gehirns vorwiegend in Neuronen vorhanden ist. Außerdem konnte sowohl eine *in vivo* Interaktion zwischen den Proteinen der APP Protein Familie und APPBP2/PAT1a im zentralen Nervensystem der Maus, als auch eine überlappende Verteilung dieser Proteine im späten sekretorischen Weg in primären Neuronen, aufgezeigt werden.

Des Weiteren konnte in dieser Arbeit ein regulatorischer Einfluß von APPBP2/PAT1a auf die Ab Produktion und die proteolytische Prozessierung der APP Protein Familie, demonstriert werden.

Demnach kommt APPBP2/PAT1a vermutlich eine wesentliche Rolle bei der physiologischen Wirkung von den Mitgliedern der APP-Proteinfamilie zu, und es stellt ein mögliches neues therapeutisches Zielprotein für die Entwicklung von Medikamenten dar, welche die Produktion von Ab im Gehirn vermindern.