

Hans-Jörg Hippe
Dr. med.

Rezeptor-unabhängige Aktivierung heterotrimerer G-Proteine durch die Nukleosid Diphosphat Kinase B über intermediär phosphorylierte G $\beta\gamma$ -Dimere

Geboren am 28.03.1970 in Ibbenbüren
Reifeprüfung am 10.05.1989 in Osnabrück
Studiengang der fachrichtung Medizin vom WS 1995/96 bis SS 2002
Physikum am 15.09.1997 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Heidelberg
Staatsexamen am 28.06.2002 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin
Doktorvater: Prof. Dr. med. F. Niroomand

Heterotrimere G-Proteine übertragen die Signale unterschiedlicher extrazellulärer Botenstoffe in das Zellinnere. Dabei binden die Botenstoffe an Rezeptoren der Plasmamembran und bewirken eine Aktivierung von G-Proteinen durch den Austausch der Guaninnukleotide GDP (inaktiv) und GTP (aktiv) an der G-Protein α -Untereinheit.

Nukleosid Diphosphat Kinasen (NDPKs) katalysieren Phosphattransfer-Reaktionen und sind in die Regulation verschiedenener zellulärer Vorgänge wie Signaltransduktion, Proliferation, Differenzierung und Apoptose eingebunden. Aus in vitro-Studien gibt es Hinweise darauf, dass die NDPK zur Aktivierung von G-Proteinen beitragen kann.

In dieser Arbeit wurde erstmals der Einfluß der NDPK auf die G-Protein-Aktivität in intakten Zellen untersucht. Dazu wurden die NDPK-Isoformen A und B sowie eine katalytisch inaktive NDPK B-Mutante in einer Rattenkardiomyozyten-Zelllinie stabil überexprimiert. Diese NDPK-Überexpression hatte keinen Einfluß auf die GTP- und ATP-Konzentrationen, die basale Adenylatzyklase-Aktivität, den basalen cAMP-Spiegel oder den G_s- und G_i-Proteingehalt. Die Co-Expression der α -Untereinheit des stimulatorischen G-Proteins (G_s α) führte jedoch zu einem Anstieg der intrazellulären cAMP-Synthese, dessen Ausmaß durch das Expressionsniveau der NDPK B bestimmt wurde. Dagegen kam es bei Überexpression der katalytisch inaktiven NDPK B-Mutante mit G_s α zu einer Inhibition der cAMP-Synthese. Die Expression der NDPK A hatte keinen Effekt. Messungen der Adenylatzyklase-Aktivität in vitro zeigten, dass der Anstieg des intrazellulären cAMP direkt durch die NDPK/G_s α -induzierte Aktivierung des Enzyms erfolgt.

Aus früheren Arbeiten war bekannt, dass G-Protein β -Untereinheiten intermediär phosphoryliert werden und dies zu einer Aktivierung von G_i- und G_s-Proteinen führt. Co-

Immunpräzipitationen in dieser Arbeit zeigten, dass die NDPK B Komplexe mit G β -Dimeren bildet. Es konnte darüberhinaus eine zur NDPK-Aktivität proportionale Zunahme der Phosphorylierung von G β bei Überexpression der NDPK B nachgewiesen werden.

Somit wurde in dieser Arbeit erstmals eine Rezeptor-unabhängige, spezifisch NDPK B-vermittelte Aktivierung eines G-Proteins in intakten Zellen demonstriert. Diese Aktivierung erfolgt unter Bildung eines NDPK B-G β -Komplexes. Dadurch kommt es zu einer intermediären Phosphorylierung von G β und wahrscheinlich einem nachfolgenden Transfer des energiereichen Phosphats auf GDP, wodurch die Bildung der aktiven G-Protein α -Untereinheit (G α -GTP) katalysiert wird.

Der Rezeptor-unabhängige Mechanismus der G-Protein-Aktivierung durch den NDPK-G β -Komplex ermöglicht es, die Signalwege zur Steuerung der Zellfunktionen auch unabhängig von Rezeptorliganden zu nutzen. Dieser Mechanismus könnte ein wichtiges Bindeglied im komplexen Netzwerk der G-Protein-vermittelten Signaltransduktion sein.