



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Fakultät für Klinische Medizin Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Kupfer und die Alzheimersche Erkrankung: ein molekularer Link
zum Amyloid-Vorläufer-Protein APP**

Autor: Andre Kemmling
Institut / Klinik: Institut für Molekular- und Zellbiologie der Hochschule
Mannheim
Doktorvater: Prof. Dr. M. Hafner

Ein wichtiges Merkmal der Alzheimerschen Erkrankung ist die gestörte Homöostase von Metallionen, insbesondere Kupfer, unter Berücksichtigung der amyloidogenen Prozessierung des Kupferbindenden Vorläuferproteins Amyloid-Precursor Protein (APP) und A β Peptid. Es konnte gezeigt werden, dass APP überexprimierende transgene Mausmodelle signifikant erniedrigte Kupferspiegel im Hirn aufweisen. In diesem Experiment wurden APP23 transgene Mäuse, die das humane APP überexprimieren, untersucht. Neben den bekannten Plaqueablagerungen im Hirn zeigten sich bei diesen Mäusen ab 15 Monaten mit fortschreitendem Alter eine erhöhte Sterberate, reduziertes Wachstum und signifikant erniedrigte Kupferspiegel im Hirn. Die Gabe von Kupferionen über die Nahrungsaufnahme wirkte sich positiv aus: Kupferzusatz im Trinkwasser normalisierte den Kupferspiegel im Hirn und erhöhte die Lebenserwartung signifikant. Dies korrelierte mit einer verbesserten Funktion der Kupfer-abhängigen Superoxiddismutase 1 (SOD1) und mit einem erniedrigten Proteingehalt von löslichem A β Peptid was zur Reduktion des oxidativen Stresses im Hirn beiträgt. Diese Ergebnisse untermauern die Hypothese, dass im Rahmen der Alzheimerschen Erkrankung eine Fehlregulation des APP zur Senkung des Kupferspiegels im geschädigten Hirn führt.

Der positive Effekt der Kupferaufnahme in APP23 transgenen Mäusen wurde mit weiteren Experimenten auf molekularer Ebene ergänzt. APP und das homologe Amyloid Precursor Like Protein (APLP2) besitzen N-terminale Kupferbindungsdomänen. Transformation der Hefe *Pichia Pastoris* ermöglichte die Herstellung von folgenden rekombinanten Proteinen zur weiteren Purifikation und Analyse: APP18-350, APP18-350AAA, sAPP770 α und APP homologe Proteine APLP1 und APLP2. Die molekulare Größe der nativ gefalteten, gereinigten Proteine APP und APLP2 wurde mittels Größenausschlusschromatographie untersucht. Dabei zeigte sich, dass innerhalb eines Tetramer-Dimer-Monomergleichgewichts die anteilig vorherrschende Konformation einem Homodimer entspricht. Diese Ergebnisse wurden durch Vernetzungsexperimente bestätigt.

Die Bindung von Kupferionen an die N-terminale Domäne von APP (innerhalb der Aminosäuren 18-350) hatte eine Veränderung des Gleichgewichts zur Folge. Nach Größenausschlusschromatographie verschob sich die vorherrschende Konformation des APP18-350 zur Monomerfraktion, wohingegen die APP18-350AAA Mutante, welche Kupferionen nicht binden kann, keine Veränderung im Elutionsprofil zeigte. Es wurde kürzlich über die Bedeutung der Homodimerisierung des APP als mögliche Voraussetzung der β -amyloidogenen Prozessierung berichtet. Daher könnte die Induktion der monomeren Konformation durch Kupfer ein Mechanismus zur Hemmung der A β Produktion darstellen. Die Hypothese zur Ausbildung potentieller Heterodimere zwischen APP und APLP2 wurde durch Vernetzungsexperimente unterstützt. Funktionelle Hochregulation einer möglichen APP/APLP2 Heterointeraktion könnte ein zweiter Mechanismus zur Hemmung der Ausbildung von APP-Homodimeren sein.

Zusammenfassend unterstreichen die Ergebnisse die Bedeutung von Kupfer für das Amyloid-Vorläufer-Protein APP. Auf molekularer Ebene veränderte die Kupferanbindung den nativen Zustand des APP. Kupfer könnte dadurch dessen amyloidogene Prozessierung, die Ursache der Alzheimerschen Erkrankung, inhibieren. Im transgenen Mausmodell hatte die Überexpression des APP einen Kupfermangel im Hirn zu Folge, welcher durch orale Kupferaufnahme verhindert werden konnte und die Sterberate, A β Produktion und SOD1 Aktivität günstig beeinflusste.