

Zusammenfassung

Thema: Molecular dynamics of the neuronal Ca^{2+} -binding proteins Caldendrin and Calneurons

Dipl. Biol. Marina Mikhaylova

Caldendrin ist ein Calcium-Bindungsprotein der EF-hand Familie mit großer Ähnlichkeit zu Calmodulin. Neben Calmodulin sind die Calneurone die nächst homologen Proteine. Sowohl Caldendrin als auch Calneurone finden sich prominent in Neuronen des Gehirns und der Retina. Biochemische Analysen zeigen, dass Caldendrin eng mit dem spezialisierten Zytoskelett der Postsynapse, der so genannten postsynaptischen Dichte (PSD), assoziiert ist, während Calneurone am Golgi anreichern.

In der vorgelegten Arbeit wurde zunächst die Interaktion von Caldendrin mit seinem synaptischen Bindungspartner Jacob näher charakterisiert. Auf der Beobachtung aufbauend dass Jacob ausschließlich nach Stimulation von N-Methyl-D-Aspartat (NMDA)-Rezeptors in den Zellkern transloziert und die Anreicherung von Jacob im Zellkern zu deutlichen Veränderungen in der Morphologie der Nervenzellen führt, wurde der Jacob-Signalweg in Neuronen genauer charakterisiert. Im Gegensatz zu Jacob findet sich Caldendrin vor allem prominent im subsynaptischen Zytoskelett wo es über eine Ca^{2+} -abhängige Bindung ein nukleäres Lokalisierungssignal (NLS) in Jacob maskiert. Die hierzu notwendigen Ca^{2+} -Konzentrationen werden vermutlich nur in dendritischen Spine-Synapsen unterhalb der postsynaptischen Membran erreicht, so dass Caldendrin Jacob nur nach Aktivierung synaptischer NMDA-Rezeptoren in der Synapse fixiert. Der Kerntransport von Jacob erfolgt über den klassischen Importin-Transportweg und erfordert das Vorhandensein des NLS in Jacob. Die kompetitive Bindung von Caldendrin an Jacob ist spezifisch, Calmodulin kann die mit dem NLS überlappende IQ-Domäne von Jacob nicht binden. Jacob ist im Zellkern funktionell an den Transkriptionsfaktor CREB gekoppelt und spielt unter pathophysiologischen Bedingungen eine prominente Rolle beim späten neuronalen Zelluntergang nach exzitotoxischer Schädigung. Da Jacob unter Bedingungen neuronaler Erregung in den Zellkern wandert die auch die CREB-kontrollierte Genexpression blockieren (in der Literatur als CREB shut-off pathway bezeichnet), wurde nachfolgend untersucht welche Konsequenzen die Präsenz von Jacob

im Zellkern für die Aktivierung von CREB hat. Eine gezielte Überexpression von Jacob im Zellkern hatte eine drastische Abnahme von transkriptionell aktiven CREB unabhängig von den eingesetzten Stimulationsbedingungen zur Folge. Diese Beobachtung führte zu der Hypothese, dass Jacob Bestandteil des CREB ‚shut-off pathways‘ ist.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde eine neue Subfamilie von neuronalen Calcium-Sensor Proteinen, die so genannten Calneurone, identifiziert und charakterisiert. Calneurone gehören zur Calmodulin-Superfamilie und weisen hohe Ähnlichkeit zu dem synaptischen Ca^{2+} -Sensor Caldendrin auf. Calneurone finden sich prominent am Trans-Golgi-Network (TGN) wo sie mit dem Enzym Phosphatidylinositol 4-OH kinase III β (PI-4K β) interagieren. Diese Interaktion führt zu einer Inhibition der enzymatischen Aktivität von PI-4K β . PI-4K β ist wesentlich an der Produktion von Phosphatidylinositol 4,5-Bisphosphate (PI(4,5)P₂) am TGN beteiligt und PI(4,5)P₂ ist ein essentielles Phospholipid für den Transport von Vesikeln aus dem TGN. Die Interaktion von Calneuronen mit PI-4K β wird über Kalzium reguliert. Interessanterweise binden nicht nur Calneurone PI-4K β sondern auch das Calcium-Sensor Protein NCS-1. Im Gegensatz zur Calneuron-Bindung erfordert die Interaktion mit NCS-1 erhöhte Kalzium-Konzentrationen und führt zur Aktivierung von PI-4K β . Die differentielle Bindung beider Kalzium-Bindungsproteine konstituiert einen molekularen Schalter der über eine Kalziumschwelle den Transport von Vesikeln aus dem TGN reguliert.