

Name: Dipl. Biologin Xenia Gorny
Titel der Dissertation: Das Adapterprotein AKAP79/150 – Charakterisierung eines genetischen Polymorphismus und eines neuen Bindungspartners

Zusammenfassung

Das Adapterprotein AKAP79/150 ist eine wichtige Komponente im Proteinnetzwerk der postsynaptischen Dichte. Eine seiner wichtigsten Funktionen ist die Verankerung von Proteinkinasen und -Phosphatasen in der Nähe ihrer postsynaptischen Substrate.

Im humanen AKAP79 existiert ein genetischer Polymorphismus, welcher in einem Aminosäureaustausch von einem Prolin zu einem Leucin an Position 100 im AKAP79 resultiert (AKAP79 Pro100Leu). Eine von der Arbeitsgruppe „Imaging Genetics“ des Leibniz Instituts für Neurobiologie durchgeführte Studie hat verhaltensbiologische Unterschiede bei Trägern des Leucin-Allels im Vergleich zu Prolin-Allel-Trägern gezeigt. In der vorliegenden Arbeit wurde nach zellbiologischen und proteinbiochemischen Unterschieden zwischen den AKAP79-Allelen gesucht, um den Mechanismus der gefundenen verhaltensbiologischen Unterschiede zu ergründen.

Ein zellbiologischer Unterschied wurde in der Co-Lokalisation der beiden AKAP79-Allele mit dem postsynaptischen Protein Homer gefunden. Die Ursache für die verstärkte Co-Lokalisation des Leucin-Allels mit Homer ist allerdings noch unklar.

In Bindungsstudien mit AKAP79 wurde außerdem ein neuer Bindungspartner entdeckt, das Ca^{2+} -Sensor-Protein Caldendrin. Die Interaktion wurde mit Hilfe von Pulldown-Experimenten, *Surface Plasmon Resonance*-Messungen, Co-Immunopräzipitationen und immun-cytochemischen Co-Färbungen primärer Neurone extensiv untersucht und mit der bereits bekannten Interaktion zwischen AKAP79 und Calmodulin verglichen, einem weiteren Ca^{2+} -Sensor-Protein.

Es stellte sich heraus, dass sich die Bindungssequenzen beider Ca^{2+} -Sensor-Proteine überlappen und beide miteinander um die Bindung an AKAP79 konkurrieren, obwohl Caldendrin im Vergleich zu Calmodulin eine N-terminal verlängerte Bindungssequenz braucht. *Surface Plasmon Resonance*-Messungen zeigten verschiedene Bindungskinetiken und Bindungsmechanismen für beide Interaktionen. Die Interaktion zwischen Caldendrin und AKAP79 ist ungewöhnlich stabil, wohingegen die On/Off-Raten der Bindung von Calmodulin an AKAP79 sehr hoch sind.

Im Gegensatz zur Bindung von Calmodulin an AKAP79, welche komplett Ca^{2+} -abhängig ist, reagiert die Bindung zwischen Caldendrin und AKAP79/150 zwar Ca^{2+} -sensitiv, kann aber auch in Abwesenheit von Ca^{2+} etabliert werden.

Aufgrund der Unterschiede kann davon ausgegangen werden, dass die gefundene neue Interaktion mit Caldendrin zellbiologisch andere Funktionen erfüllt als die Interaktion von AKAP79 mit Calmodulin.

Diese Arbeit liefert weitere Erkenntnisse über das Adapterprotein AKAP79/150, den Einfluss eines Aminosäureaustauschs auf seine Integration in der postsynaptischen Dichte und seine Funktion als Interaktionspartner zweier konkurrierender Ca^{2+} -Sensor-Proteine.

Name: Dipl. Biologin Xenia Gorny
Titel der Dissertation: Das Adapterprotein AKAP79/150 – Charakterisierung eines genetischen Polymorphismus und eines neuen Bindungspartners

Abstract

The adaptor protein AKAP79/150 is a key component in the protein network of the postsynaptic density. One of its main functions is the anchoring of protein kinases and phosphatases close to their postsynaptic substrates.

The human AKAP79 harbors a genetic polymorphism that results in an amino acid exchange from a proline to a leucine at position 100 in the AKAP79 protein (AKAP79 Pro100Leu). A study conducted by the group “imaging genetics” at the Leibniz Institute for Neurobiology showed behavioral differences between the leucine allele carriers compared to the proline-allele carriers. The present study was undertaken to search for cell biological and protein biochemical differences between both AKAP79 alleles in order to elucidate the mechanism that might cause the behavioral differences found by the neuropsychological study.

One cell-biological discrepancy was found in the co-localization of the two AKAP79 alleles with the postsynaptic protein Homer. However, the reason of the increased co-localization of the leucine allele with Homer remains unclear.

Furthermore, a novel interaction has been discovered between AKAP79/150 and the Ca^{2+} sensor protein Caldendrin. This interaction was extensively studied by means of pull-down experiments, surface plasmon resonance measurements, co-immunoprecipitations and immunocytochemical co-stainings of primary neurons, and compared with the established interaction between AKAP79 and Calmodulin.

It turned out that the binding sequences of both Ca^{2+} sensor proteins overlap and that they compete for binding to AKAP79, although Caldendrin needs an N-terminally extended binding sequence compared to Calmodulin. Surface plasmon resonance measurements showed different binding kinetics and binding mechanisms for both interactions. The interaction between AKAP79 and Caldendrin is unusually stable, whereas the on/off rates of binding of Calmodulin to AKAP79 are very fast.

In contrast to the binding of Calmodulin to AKAP79, which is completely Ca^{2+} -dependent, the binding between Caldendrin and AKAP79/150 can be established in the absence of Ca^{2+} , although it is sensitive to low Ca^{2+} concentrations.

Because of the differences it can be assumed that the binding between AKAP79/150 and Caldendrin serves cell biological functions other than the interaction between AKAP79 and Calmodulin.

Thus, this work provides further insight into the functions of the adaptor protein AKAP79/150, into the influence of an amino acid exchange on its integration in the postsynaptic density, and into its function as an interaction partner of two competing Ca^{2+} -sensor proteins.