

Abstract zur Dissertation „Funktionelle Untersuchungen der G-Proteinuntereinheit Gβ3 und einer Spleissvariante Gβ3s“ von Stefanie Benzrath

Heterotrimere G-Proteine spielen in der Signaltransduktion eine wichtige Rolle. Gβ-Proteine gehören zu der Superfamilie der „Propellerproteine“, die 7 „Propellerblätter“ besitzen, welche aus 7 WD-Domänen gebildet werden. Gβ3s ist eine Spleissvariante, die durch alternatives Spleissen 41 Aminosäuren, das heißt eine WD-Domäne und damit ein „Propellerblatt“ weniger enthält. Vorhergehende Untersuchungen zeigten eine Assoziation dieser alternativen Spleissvariante Gβ3s mit dem T-Allel des GNB3 C825T Polymorphismus auf. In verschiedenen Assoziationsstudien konnten Zusammenhänge zwischen dem Vorhandensein des T-Allels und Erkrankungen, z.B. des Herzkreislaufsystems, festgestellt werden. Einen Einfluss auf die Effektivität verschiedener Medikamente wurde beobachtet.

Ziel der vorliegenden Arbeit war eine funktionelle Untersuchung der Spleissvariante Gβ3s auf zellulärer Ebene im Vergleich zur Wildtypvariante Gβ3L. Hierzu wurden rekombinante Baculoviren, die Gβ3L, Gβ3s und M1-Acetylcholin-Rezeptor kodieren, hergestellt. Nach Klonierung der entsprechenden cDNA-Sequenzen in einen Shuttle-Vektor konnte eine Rekombination in die Baculovirus-DNA stattfinden. Mittels Sequenzierung wurden die genetische Information überprüft. Zunächst erfolgte die Virusamplifikation. Im folgenden Schritt wurden Sf9-Zellen infiziert und die Membranen präpariert, um mittels Westernblotuntersuchung die Proteine erwarteter Größe nachzuweisen. Die funktionellen Untersuchungen erfolgten mittels eines Fluoreszenzmikroskopes. Nach entsprechender Infektion der Sf9-Zellen mit den Baculoviren für einen der beiden Gβ3-Untereinheiten und den M1-Acetylcholinrezeptor wurden die intrazellulären Ca⁺⁺-Signale der Sf9-Zellen gemessen. Dadurch konnte gezeigt werden, dass es bei Expression der Gβ3s-Untereinheit zu einer stärkeren Kalziumausschüttung kommt als bei der Expression des Wildtyps. Die biologische Aktivität der Gβ3s-Untereinheit scheint höher zu sein als die der Gβ3L-Untereinheit, was die bisherigen funktionellen Daten sowie klinischen Beobachtungen hinsichtlich der Funktion und Auswirkung des GNB3 825T-Allels unterstützt.