

Zusammenfassung

**Analyse des Prion Proteins der Maus
in *Saccharomyces cerevisiae*:
Fehlfaltung und Zelltod**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
des Fachbereiches Biologie der Universität
der Freien und Hansestadt Hamburg

durchgeführt am Max-Planck-Institut für Biochemie
in Martinsried

vorgelegt von

Ulrich Heller

aus Greifswald

Hamburg 2002

Transmissible Spongiforme Encephalopathien sind durch die pathogene Isoform (PrP^{Sc}) des zellulären Prion Proteins (PrP^C) charakterisiert. Der genaue Mechanismus der Konversion des mehrheitlich α -helikalen und in milden Detergenzien löslichen PrP^C in das β -Faltblatt-reiche und unlösliche PrP^{Sc} ist ungeklärt. In dieser Arbeit wurde die Biogenese des PrP der Maus in der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* untersucht. Dabei wurden folgende Ergebnisse erzielt:

- Die Signalsequenzen des Maus-PrP sind in der Hefe nicht funktionell. Die apparente Größe des Proteins von 29 kDa im SDS-Gel spricht dafür, dass weder die ER-Signalsequenz noch die GPI-Ankersequenz prozessiert wurden.
- Ein Austausch der Maus-Signalsequenzen durch Sequenzen des endogenen, GPI-verankerten Zelloberflächenproteins Gas1p führt zu einer effizienten Expression und den ER-Import von PrP in *S. cerevisiae*. Auch die Prozessierung der endogenen GPI-Ankersequenz ist sehr schwach ausgeprägt.
- In der Hefe exprimiertes PrP hat Eigenschaften von PrP^{Sc}, die Unlöslichkeit in milden Detergenzien sowie eine limitierte Resistenz gegenüber der Proteinase K. Auch gegenüber endogenen Proteasen zeigt PrP eine hohe Resistenz.
- Die Expression von PrP führt zu einem reversiblen Wachstumsdefekt, der von der ER-Lokalisation abhängig ist.
- Es konnte festgestellt werden, dass die Deletion der potenziellen Transmembrandomäne des PrP sowohl die Faltung fördert als auch den Wachstumsdefekt aufhebt.
- Durch die Membranverankerung des PrP mittels eines C-terminalen Transmembranankers des CD4-Proteins konnte der Wachstumsdefekt supprimiert werden, ohne dass die Faltung des Proteins wesentlich verbessert worden wäre.
- Der Nachweis der intrazellulären Lokalisation führte zu dem Modell, nachdem ein anhaltender ER-Aufenthalt von PrP den Wachstumsdefekt auslöst. Sowohl die Deletion der potenziellen Transmembrandomäne als auch die

Membranverankerung führten zu einem effizienten anterograden Export von PrP in die Vakuole der Hefe.

- Der unstrukturierte N-Terminus des PrP wird sowohl in Hefe- als auch in N2a-Zellen durch den ERAD-Mechanismus abgebaut. Der Abbau wird unterbunden, sobald der N-Terminus um die potenzielle Transmembrandomäne erweitert wird.
- Obwohl aggregiertes PrP im ER vorliegt, wird die Unfolded Protein Response nicht aktiviert.

Die Ergebnisse zeigen, dass die potenzielle Transmembrandomäne ein Schlüsselement in der Faltung und Qualitätskontrolle von PrP darstellt. Die wachstumshemmende Wirkung von ER-ständigem PrP zeigt die Sensitivität dieses Kompartiments gegenüber Proteinaggregaten und gibt Hinweise auf eine Rolle der Qualitätskontrolle bei der Entstehung von Prionen-Krankheiten.