

ZUSAMMENFASSUNG

Die Alzheimer-Krankheit ist gekennzeichnet durch die Ablagerung von abnormal aggregierten Proteinen im Gehirn. Diese Ablagerungen bestehen im Falle der extrazellulären Amyloid-Plaques zum Großteil aus Filamenten des A β -Peptids und im Falle der intrazellulären neurofibrillären Bündel (NFTs, *neurofibrillary tangles*) aus dem Mikrotubulus-assoziierten Protein Tau. Für die familiäre Alzheimer-Krankheit werden Mutationen in verschiedenen Genen verantwortlich gemacht, die alle eine erhöhte Produktion des toxischen β -Amyloid-Peptids der Amyloid-Plaques zur Folge haben. Vor wenigen Jahren wurden bei einer Gruppe von neurodegenerativen Erkrankungen, die unter dem Namen Frontotemporale Demenz und Parkinsonismus verknüpft mit Chromosom 17 (FTDP-17) zusammengefaßt werden, Mutationen im Tau-Gen entdeckt. Bei diesen Erkrankungen kommt es wie bei der Alzheimer-Krankheit zu der Aggregation des Proteins Tau in Form der NFTs. Es werden dagegen bei der FTDP-17 Erkrankung keine Ablagerungen von Amyloid-Plaques gefunden. Dies stellt einen eindeutigen Beweis dar, daß eine abnorme Aggregation des Tau-Proteins direkt mit einer neurodegenerativen Erkrankung in Zusammenhang steht.

In dieser Arbeit wurde die Aggregation von rekombinanten FTDP-17 Tau-Proteinen zu Filamenten mittels einer Fluoreszenz-basierten Methode in ihrer Geschwindigkeit und ihrem Ausmaß verfolgt. Es konnte gezeigt werden, daß einige FTDP-17 Mutationen, insbesondere die Δ K280 und P301L Mutation, im Vergleich zum Wild-Typ eine eindeutige Zunahme in ihrer toxischen Funktion – der Aggregation zu Filamenten – zeigen. Elektronenmikroskopisch wurde nachgewiesen, daß die gebildeten Filamente mit denen aus Alzheimer-Gehirnen isolierten in ihrem Erscheinungsbild vergleichbar sind. Spektroskopisch konnte nachgewiesen werden, daß die Aggregation von löslichem Tau-Protein zu Tau-Filamenten durch einen Übergang der Struktur eines ungeordneten Zufallsknäuels zu einer Gesamtstruktur mit einem erhöhten Anteil an β -Faltblatt gekennzeichnet ist. Die auf die Aggregation förderliche Wirkung der Δ K280 und P301L Mutation läßt sich auf eine gesteigerte Tendenz des mutierten Proteins zur Ausbildung von β -Faltblatt zurückführen.

In einem zweiten Teil wurde der Einfluß reduzierender und oxidierender Bedingungen auf die Aggregation des Tau-Proteins zu Filamenten untersucht. Dies ist von Bedeutung für die Alzheimer-Krankheit, da sie mit oxidativem Streß in Verbindung gebracht wird. Zu diesem Zweck wurden Tau-Konstrukte, die aus drei oder vier Repeats der Mikrotubulus-bindenden

Domäne (Repeat-Region) bestanden, auf eine Aggregation zu Filamenten in Gegenwart des aggregationsfördernden Polyanions Heparin hin getestet. Die Repeat-Region bildet den Kern der Alzheimer-Filamente. Sie enthält zwei Cysteine, wobei in 4-Repeat Tau beide und in 3-Repeat Tau nur ein Cystein vorkommt.

Frühere Ergebnisse der Arbeitsgruppe konnten dahingehend bestätigt werden, daß unter oxidierenden Bedingungen eine Dimerisierung von 3-Repeat Tau-Konstrukten über die Ausbildung einer intermolekularen Disulfidbrücke die Filament-Bildung beschleunigt. Unter denselben Bedingungen ist die Aggregation von 4-Repeat Tau durch die Ausbildung einer intramolekularen Disulfidbrücke über die beiden Cysteine inhibiert.

Weitergehend konnte gezeigt werden, daß auch unter reduzierenden Bedingungen in Gegenwart von Heparin eine Aggregation des 4-Repeat Tau-Konstrukts zu Filamenten erfolgt. Bei 3-Repeat Tau-Konstrukten ist die Aggregation im Vergleich zu oxidierenden Bedingungen jedoch verlangsamt. Durch eine Filament-Bildung von Mutanten der Tau-Konstrukte ohne Cysteine konnte gezeigt werden, daß die Dimerisierung des Tau-Proteins über eine Disulfidbrücke nicht Bedingung, aber förderlich für eine Aggregation ist. Eine Dimerisierung dieser Mutanten ohne Cysteine über nicht-kovalente Wechselwirkungen ist zu einem geringen Prozentsatz nachweisbar. Unabhängig von oxidierenden oder reduzierenden Bedingungen und der Anwesenheit von Cysteinen bilden die 3-Repeat und 4-Repeat Tau-Konstrukte Filamente, die sich elektronenmikroskopisch nicht von denen aus Alzheimer-Gehirnen isolierten unterscheiden. Wird hingegen anstelle des Polyanions Heparin die Fettsäure Arachidonsäure zur Unterstützung der Aggregation eingesetzt, bilden sich ausschließlich gerade Filamente und keine paarigen helikalen Filamente.

Oxidierende Bedingungen sind demnach keine Bedingung für eine Aggregation von Tau-Protein zu Filamenten. Dadurch kann erklärt werden, warum sich Tau-Aggregate auch in gesunden Menschen und bereits in jungen Jahren finden lassen.