

Berichte aus der Biologie

Anett Ritter

**Untersuchungen zur konformationellen
Regulation von Ligandenbindungsstellen
des Zytoskelettproteins Talin**

D 98 (Diss. Universität Bonn)

Shaker Verlag
Aachen 2011

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Zugl.: Bonn, Univ., Diss., 2011

Copyright Shaker Verlag 2011

Alle Rechte, auch das des auszugsweisen Nachdruckes, der auszugsweisen oder vollständigen Wiedergabe, der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen und der Übersetzung, vorbehalten.

Printed in Germany.

ISBN 978-3-8440-0319-2

ISSN 0945-0688

Shaker Verlag GmbH • Postfach 101818 • 52018 Aachen

Telefon: 02407 / 95 96 - 0 • Telefax: 02407 / 95 96 - 9

Internet: www.shaker.de • E-Mail: info@shaker.de

Zusammenfassung:

In Integrin-vermittelten Zelladhäsionen spielt Talin eine zentrale Rolle für die Verbindung von Integrinrezeptoren mit dem Aktinzytoskelett. Talin weist zwei Integrin-, drei Aktin- und bis zu elf verschiedene Vinculinbindungsstellen auf und kann mit Calpain II in eine Kopf- und eine Schwanzdomäne gespalten werden. Der Talinschwanz ist aus 62 α -Helices (H) aufgebaut, welche sich in 4- oder 5-Helixbündeln zusammenlagern. Biochemische Analysen zeigen die Inhibition der Aktin- und besonders der Vinculinbindung, weshalb Aktivierungsprozesse in Fokalen Adhäsionen erforderlich sind. Die Ligandenwechselwirkung des Proteins Talin wird im Cytoplasma zusätzlich durch eine inhibitorische Kopf-Schwanz-Interaktion blockiert. Der Einbau von Talin in Fokale Adhäsionen erfordert höchstwahrscheinlich die Freisetzung der Kopf- und Schwanzdomäne sowie weitere konformationelle Änderungen im Talinschwanz zur endgültigen Aktivierung der kryptischen Bindungsstellen für Integrin, Aktin und Vinculin. Die zeitliche und räumliche Regulation der Aktivierung des Talinmoleküls ist bisher unzureichend verstanden.

Für ein umfassenderes Verständnis über die Lokalisationseigenschaften des Talins sowie die Aktivierung kryptischer Ligandenbindungsstellen wurden in der vorliegenden Arbeit die Lokalisation, Halblebenszeitzeiten sowie Protein-Protein-Interaktionen in einer Auswahl von Talinschwanzfragmenten analysiert. Die Helix H62 wurde als Dimerisierungsregion am Talin C-Terminus bestimmt. Für die Integrinbindungsstelle 2 wurde gezeigt, dass sie an ein membranproximales Peptid der cytoplasmatischen Domäne von β -Integrinen bindet. Weitere Ergebnisse legen dar, dass hoch konservierte Aminosäuren in dieser membranproximalen Region möglicherweise eine sehr feste in Fokalen Adhäsionen potentiell irreversible Bindung von Talin an β -Integrine verhindern. Es wurden zwei verschiedene Arten von Vinculinbindungsstellen charakterisiert. Eine Bindungsstelle ist konstitutiv zugänglich für Vinculinkopf und eine andere Bindungsstelle liegt kryptisch in Helixbündeln vor, ist jedoch aktivierbar. Sowohl die Integrinbindungsstelle 2 als auch die Aktinbindungsstelle 3 können unabhängig voneinander eine Rekrutierung von Talin in Fokale Adhäsionen hervorrufen. Vinculin hingegen scheint für die Lokalisation nicht essentiell zu sein. Mit Hilfe von FRAP (*Fluorescence Recovery After Photobleaching*) wurde nachgewiesen, wie die Aktivität von Proteinbindungsstellen die Dauer der Wechselwirkungen des C-Terminus von Talin und somit die Verknüpfung mit F-Aktin begrenzen kann. Ferner wurden Sensoren von Talin etabliert, die mittels FRET (*Förster Resonance Energy Transfer*) eine zeitliche und räumliche Beobachtung der Aktivitäten einer Integrin- und Vinculinbindungsstelle in lebenden Zellen ermöglichen. Anhand der Daten wurde ein Modell für die Aktivierung und Inaktivierung von Ligandenbindungsstellen von Talin in Fokalen Adhäsionen entworfen.