

# Zusammenfassung

Die Serum- und Glukokortikoid-induzierbare Proteinkinase Sgk1 wird mit einer Vielzahl von Funktionen in verschiedenen Geweben und zellulären Kompartimenten in Verbindung gebracht. Sie soll eine Rolle bei der Steuerung zahlreicher Plasmamembrantransporter und Ionenkanäle sowie bei der Regulation des Zellzyklus spielen und an der Pathogenese einiger Erkrankungen beteiligt sein. Im Zentralnervensystem wurde Sgk1 als aktivitätsreguliertes Gen im Hippocampus beschrieben, dessen Expression sowohl nach neuronaler Aktivität als auch durch Stress induziert wird. Dabei führt neuronale Aktivität v.a. zur Expression in Neuronen des Gyrus dentatus während Stress zu einer Hochregulation in Oligodendrocyten verschiedener Fasertrakte führt.

Um die teilweise widersprüchlichen Daten zur subzellulären Lokalisation von Sgk1 aufzuklären, wurde die Lokalisation der Kinase in dieser Arbeit durch konfokale Mikroskopie von Sgk1-EGFP-Fusionsproteinen untersucht. Dabei zeigte sich, daß Sgk1 hauptsächlich und stimulusunabhängig an den Mitochondrien lokalisiert ist. *In vitro*-Import in aufgereinigte Mitochondrien sowie subzelluläre Fraktionierungen von Mauslebern bestätigten die mitochondriale Lokalisation von Sgk1. Durch biochemische Experimente konnte demonstriert werden, daß der N-Terminus von Sgk1 eine sehr starke Assoziation mit der äußeren Mitochondrienmembran vermittelt und daß sich der funktionell relevante Teil der Kinase auf der cytosolischen Seite der äußeren Membran befindet. Mit Hilfe von EGFP-fusionierten Deletionsvarianten konnte der mitochondriale Zielsteuerungsbereich von Sgk1 auf die Aminosäurereste 17-33 eingegrenzt werden. *Pulse-chase* Experimente zeigten, daß der gleiche Sequenzbereich auch für die kurze Halbwertszeit von Sgk1 verantwortlich ist, so daß der schnelle Abbau und die subzelluläre Lokalisation von Sgk1 untrennbar miteinander gekoppelt sind. Die Befunde dieser Arbeit deuten darauf hin, daß die Kinase nach Erreichen ihrer mitochondrialen Destination stabilisiert wird, und der Abbau hauptsächlich im Cytosol stattfindet.

NDRG1 ist das einzige Protein, von dem zweifellos gezeigt wurde, daß es ausschließlich durch Sgk1 phosphoryliert wird. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, daß die Effizienz zur Phosphorylierung

von NDRG1 durch die mitochondriale Lokalisation von Sgk1 erhöht wird. Darüberhinaus wurde NDRG1 als Sgk1-Phosphorylierungstarget im Hippocampus der Maus nach neuronaler Aktivität und Gabe von Glukokortikoiden identifiziert. Bei der Analyse der räumlichen mRNA-Expression von Sgk1 im Gehirn der Maus zeigte sich, daß sich das Expressionmuster von Sgk1 nach der Applikation von Dexamethason kaum von dem bei Kontrolltieren unterscheidet. Dieser Befund weist darauf hin, daß Sgk1 durch Glukokortikoidrezeptor-Agonisten aktiviert wird, und daß hauptsächlich Katecholamine für die Stress-induzierte Sgk1-Expression in Oligodendrocyten verantwortlich sind. Darüberhinaus macht es der Vergleich mit dem Expressionsmuster von NDRG1 wahrscheinlich, daß NDRG1 hauptsächlich in den Nervenzellen des Hippocampus durch Sgk1 phosphoryliert wird.

Bei der Suche nach einer zellulären Funktion von Sgk1 zeigte sich, daß die Kinase weder einen Einfluß auf Teilung oder Fusion von Mitochondrien, noch auf die Steuerung der Genexpression in HEK293 Zellen hat, da sich nach Überexpression von Sgk1 in dieser Zelllinie keine Unterschiede in der Mitochondrienmorphologie oder im Transkriptom fanden.

Weder mit einem im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Antikörper, noch mit vier weiteren Antikörpern gelang die Detektion von Sgk1 in primärem Mausgewebe oder nicht transfizierten Zelllinien, was auf die sehr kurze Halbwertszeit von Sgk1 zurückzuführen ist. Erst nach Applikation von Dexamethason bei Tieren oder starker Überexpression in HEK293 Zellen ließ sich Sgk1 in Western Blot Analysen detektieren. In HEK293 Zellen trat dabei eine zusätzliche Bande bei 40 kD auf, von der gezeigt werden konnte, daß sie durch Benutzung eines alternativen Translationsstarts entsteht.

Die Ergebnisse dieser Arbeit stellen viele publizierte Daten zu Sgk1 in Frage, insbesondere im Hinblick auf die subzelluläre Lokalisation, bestimmte zelluläre Funktionen und Expressionsanalysen mit Hilfe von Sgk1-spezifischen Antikörpern. Sie können aber als Ausgangspunkt weiterer Experimente zu Aufklärung der zellulären Funktion von Sgk1 dienen.