

5 Zusammenfassung

Die humane LRRK1 (*leucine-rich repeat kinase 1*) ist ein über 200 kDa großes Multi-Domänen Protein, das gleich mehrere für die Signaltransduktion essentielle Domänen in einem Molekül vereint. Neben den Protein-Protein-Interaktionen vermittelnden Ankyrin-, *leucine-rich*- und WD-40-Repeats stehen dabei die Proteinkinasedomäne und eine GTPase-ähnliche Domäne (Roc-Domäne; *Ras of complex proteins*) im Mittelpunkt dieser Arbeit. Die Roc-Domäne, die stets in Verbindung mit der 300 – 400 bp großen COR-Domäne (*C-terminal of Roc*) auftritt, klassifiziert LRRK1 zur Gruppe der ROCO-Proteine, einer eigenständigen Untergruppe Ras-ähnlicher GTPasen mit unbekannter Funktion. An Hand der proteinchemischen Charakterisierung der LRRK1 wird in dieser Arbeit zum ersten Mal der Regulationsmechanismus eines ROCO-Proteins beschrieben.

Zu Beginn der Arbeit wurden intensive bioinformatische Analysen der LRRK1 Proteindomänenarchitektur durchgeführt, die zur Entdeckung und Vervollständigung der bisher bekannten Anzahl der Protein-Repeats führte. In der Folge wurden ein komplettes Transkript, sowie Fragmente und mutierte Versionen der LRRK1-mRNA erstellt und über Plasmidtransfektionen in HeLa- und HEK293FT-Zellen zur Expression gebracht. An Hand der ausschließlich cytosolisch lokalisierten, aufgereinigten LRRK1 konnte bewiesen werden, dass es sich um eine aktive Protein Kinase handelt, die in der Lage ist spezifisch GTP oder GDP an ihre Roc-Domäne zu binden. Des Weiteren wurde durch Messung der Autophosphorylierungsrate gezeigt, dass die LRRK1-Kinaseaktivität selektiv durch Bindung von GTP, nicht aber von GDP, stimuliert werden kann. Durch die Verwendung diverser LRRK1-Mutanten wurde der intramolekulare Mechanismus der Autophosphorylierung aufgeklärt und basierend auf der Signaltransduktion kleiner, monomerer GTPasen ein GTP-abhängiges Aktivierungsmodell für LRRK1 postuliert.

Mit diesem Modell stellt LRRK1 das erste bekannte Beispiel für eine GTP regulierte Protein Kinase dar, die regulatorische und enzymatische Funktionen in einem Protein vereint und die Voraussetzungen für einen vielfältig regulierbaren molekularen Schalter erfüllt. Das Aktivierungsmodell wird in Zukunft auf Grund der signifikanten Sequenzhomologie der ROCO-Proteine untereinander auch zur Aufklärung deren Funktion beitragen können. Dabei ist das Verständnis des pathogenen molekularen Mechanismus der Parkinson Krankheit verursachenden Mutationen in LRRK2, dem engsten Verwandten der LRRK1, von besonders großem Interesse. Ob LRRK1, deren Genlocus in einem für die Alzheimer-Krankheit relevanten DNA-Bereich liegt, ebenfalls eine Rolle in neurodegenerativen Krankheiten spielt, sollte Gegenstand zukünftiger Forschungsanstrengungen sein.