

## 2 Zielsetzung

Pharmaka, die an einen Zelloberflächen-Rezeptor binden, können aufgrund der vielfältigen Signalmöglichkeiten in jeder Zelle eine andere Antwort auslösen. Die Untersuchung einzelner zellulärer Signalkomponenten ebnet den Weg für die Entwicklung selektiver Therapeutika, die gezielt bestimmte Signalwege beeinflussen, ohne dabei die gesamte Rezeptor-getriggerte Signalkaskade zu manipulieren. Angesichts der Bandbreite an isoform-spezifischen Regulationen partikulärer ACs können diese als therapeutische Zielflächen von entscheidendem Nutzen sein. Insbesondere die Isoformen ACI und ACII stellen Knotenpunkte innerhalb des komplexen Signaltransduktions-Netzwerks vieler Zellen dar. Ihre Stimulatoren Ca/CaM und G $\beta\gamma$  sind markante Regulatoren, die je nach AC-Isoform stimulatorischen und auch inhibitorischen Einfluss auf die ACs ausüben können.

Mit der Kristallstruktur-Entschlüsselung des katalytischen Zentrums wurde zwar ein Durchbruch in der Aufklärung der AC-Katalyse und deren Aktivierung durch G $\alpha_s$  erzielt, die Auflösung der gesamten AC-Tertiärstruktur jedoch ist bis heute nicht gelungen, und die molekularen Mechanismen der isoform-spezifischen Regulationen sind immer noch unbekannt. Versuche, die ACs in voller Länge aus ihrer membranären Umgebung heraus zu isolieren, um sie genauen molekularen Analysen zu unterziehen, scheitern an der Instabilität der großen komplexen Enzyme. Die bisherigen Struktur/Funktions-Untersuchungen beschränken sich daher meist auf künstliche Modelle löslicher AC-Komplexe oder coexprimierter AC-Hälften. Dabei werden jedoch wichtige Kriterien völlig außer Acht gelassen, wie beispielsweise der Einfluss der - zwischen der ersten katalytischen Domäne (C1a) und der zweiten transmembranären Domäne (M2) fixierten - C1b-Domäne auf die Struktur, Aktivität und Regulierbarkeit der AC.

In der vorliegenden Arbeit sollten die Isoformen ACII und ACI bezüglich ihrer Aktivatoren G $\beta\gamma$  (ACII) und Ca/CaM (ACI) auf molekularer Ebene untersucht werden mit dem Ziel, die für den Signaltransfer verantwortlichen Motive auf der jeweiligen AC zu identifizieren.

- (1) Auf der ACII war bislang noch kein für die Stimulation durch G $\beta\gamma$  relevantes Motiv entdeckt.
- (2) Bezüglich der ACI-Stimulation durch Ca/CaM wurde schon ein Regulationsmotiv beschrieben, es war jedoch bislang nichts bekannt über die Hinlänglichkeit dieser Region als Ca/CaM-Signaltransfermotiv.

Zur Erhaltung physiologischer Bedingungen war es die Leitlinie dieser Arbeit, alle Untersuchungen an intakten membranverankerten AC-Konstrukten voller Länge durchzuführen.