
2 Problemstellung

Ziel dieser Arbeit war es, die Funktion der Palmitoylierung des synaptischen Vesikel-Proteins Synaptotagmin zu untersuchen. Die Arbeiten konzentrierten sich auf die Isoform Synaptotagmin I, den bestcharakterisierten Vertreter dieser Protein-Gruppe. Folgende Fragestellungen sollten untersucht werden:

- Ist die gebundene Palmitinsäure gleichmäßig über alle fünf Cysteine verteilt oder gibt es bevorzugte Palmitoylierungsstellen?
- Hat die Palmitoylierung des Proteins Einfluß auf seine Prozessierung in der Zelle und damit auf seine Glykosylierung?
- Ist bei der fettsäurefreien Mutante des Synaptotagmins ein verändertes Transportverhalten erkennbar?

Zur Bearbeitung dieser Fragen sollte das Synaptotagmin-Gen mittels ortsgerechter Mutagenese mutiert werden, so daß einzelne oder alle Cysteinreste im Acylierungsbereich substituiert sind. Diese Konstrukte wurden in Säugerzellen mit Hilfe des Vaccinia-Systems und in Zellen mit regulierter Sekretion exprimiert. Das Palmitoylierungssignal sollte mittels metabolischer Markierung mit ^3H -Palmitinsäure detektiert werden. Aussagen über einen veränderten Transport der Mutanten erbrachten fluoreszenzmikroskopische Versuche und Zellfraktionierungsexperimente.