

2 Problemstellung

Das synaptosomale SNARE-Protein SNAP-25 ist in Neuronen an vier Cysteinen palmitoyliert, wobei die Fettsäuren die Membranverankerung des Proteins bewirken. Da die meisten Untersuchungen mit SNAP-25 bisher mit dem fettsäurefreien rekombinanten Protein aus Bakterienzellen vorgenommen wurden, wird SNAP-25 hier erstmalig in Insektenzellen exprimiert, gereinigt und charakterisiert. Folgende Fragestellungen wurden mit dem gereinigten Protein untersucht:

- ◆ Werden SNAP-25-WT und -Mutanten mit substituierten Cysteinresten in der Acylierungsregion in Insektenzellen palmitoyliert? Inwieweit ändert sich die Hydrophobizität des Proteins bei Substitutionen der Cysteine?
- ◆ Gibt es einen Zusammenhang zwischen Palmitoylierung des Proteins und Proteinstruktur?
- ◆ Welche Auswirkung haben die proteingebundenen Fettsäuren auf die Affinität des gereinigten SNAP-25 zu künstlichen Membranen?
- ◆ Wie beeinflusst die Palmitoylierung das Verhalten von SNAP-25 zu seinen *in vivo*-Bindungspartnern, den SNARE-Proteinen Syntaxin und VAMP?