

0 Aufgabenstellung und Zielsetzung

Bei vielen Prozessen im Körper, wie dem embryonalen Wachstum von Nervenzellen, der Migration von Zellen bei Verletzungen oder dem Ersatz alter Zellen ist es erforderlich, dass eine Zelle ihre Form verändert. Dies wird über das Aktin-Cytoskelett bewirkt. Die Regulation erfolgt über das Wachstum und den Abbau der Aktinfilamente. Ein wichtiges Protein, das an der Regulation des Wachstums der Filamente beteiligt ist, wird VASP (Vasodilator Stimulated Phosphoprotein) genannt. Es verhindert den als Capping bezeichneten Vorgang, der das Wachstum von Aktinfilamenten zum Erliegen bringt. Für das Verständnis der Aktindynamik ist die Untersuchung des Proteins VASP von großem Interesse.

Weiterhin spielt VASP eine entscheidende Rolle bei Infektionen mit dem pathogenen Bakterium *Listeria monocytogenes*, die durch verdorbene Lebensmittel, besonders Geflügel, hervorgerufen werden können und bei immungeschwächten Menschen oft zum Tod führen. An der Oberfläche von Listerien wird das Protein ActA präsentiert. Es enthält das Sequenz-Motiv SFEFPPPTEDEL, das von VASP gebunden wird. So können Listerien die zelleigene Aktin-Maschine an ihre Oberfläche rekrutieren. Das führt zur Ausbildung von Aktin-Filamenten am hinteren Pol von *Listeria*, welche das Bakterium zur Bewegung durch die Zelle verwendet.

VASP ist in ein Netzwerk von Protein-Protein-Wechselwirkungen eingebunden, die über die N-terminale EVH1-Domäne, einen prolinreichen Mittelteil und eine F-Aktin-bindende Domäne vermittelt werden. Der C-Terminus wird von einer coiled-coil-Domäne gebildet. Die Wechselwirkung von VASP mit prolinreichen Motiven, wie sie etwa in ActA vorliegen, wird über die N-terminale EVH1 Domäne vermittelt (AS 1-115). Sie erkennt Sequenzen des Typs FPxφP. Dieses Motiv kommt in den zelleigenen Proteinen Zyxin und Vinculin vor, ebenso wie in ActA. Daher sollten neue Liganden für die VASP EVH1 Domäne entwickelt werden, die eine Modulation der Wechselwirkung dieser Domäne mit ihren Liganden ermöglichen. Solche Liganden wären sowohl in der Erforschung des Aktinskeletts als auch bei der Bekämpfung der Listeriose von Bedeutung.

Zum Verständnis der Ligandenspezifität der VASP EVH1-Domäne sind die Aufklärung von Struktur und Wechselwirkungen anderer EVH1-Domänen hilfreich. So rückte die vor kurzem beschriebene Familie der Spred-Proteine ins Blickfeld, da diese Proteine eine N-terminale EVH1 Domäne enthalten. Die Spred-Proteine sind wie VASP im Cytosol lokalisiert und an der Regulation der Ras/Raf-Signalkaskade beteiligt.

Sequenzvergleiche zu bekannten EVH1-Domänen zeigen deutliche Unterschiede in Regionen, die für Wechselwirkungen mit Liganden von Bedeutung sind und lassen auf eine neue Ligandenspezifität dieser EVH1 Domänen schließen. Die Struktur der humanen Spred2 EVH1 Domäne sollte aufgeklärt und aus der Struktur Rückschlüsse auf ihre Ligandenspezifität gezogen werden.

Für die Funktion des Proteins VASP und die Assoziation der EVH1-Domäne mit ihren Zielsequenzen ist auch das Verhalten der C-terminalen coiled coil EVH2-Domäne wichtig, da sie die Oligomerisierung von VASP bewirkt. Die Oligomerisierung wird von einer coiled coil Domäne vermittelt (Aminosäuren 336 - 380). Sowohl der Oligomerisationsgrad (Dimer, Trimer, Tetramer etc.) als auch die relative Orientierung der Monomere zueinander (parallel, antiparallel) spielen eine Rolle. Daher sollte das Oligomerisationsverhalten der coiled coil Domäne und, wenn möglich, ihre Struktur aufgeklärt werden.