

---

## **2 ZIELSTELLUNG**

Stimulatorische und inhibitorische G-Proteine übertragen Signale von G-Protein-gekoppelten Rezeptoren zur Adenylylcyclase. Von der  $\alpha$ -Untereinheit des stimulatorischen G-Proteins ( $G\alpha_s$ ) werden vier Spleißvarianten exprimiert, deren Expression in vielen Fällen differentiell gesteuert wird. Die Berichte über die Bedeutung der  $G\alpha_s$ -Spleißvarianten für die Signalübertragung zwischen G-Protein-gekoppelten Rezeptoren und der Adenylylcyclase sind jedoch widersprüchlich.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollten Modellsysteme etabliert werden, die eine isolierte Betrachtung der Spleißvarianten ermöglichen. Es ergaben sich zwei Ansätze: Zum einen die Inhibition der  $G\alpha_s$ -Expression in endogen exprimierenden Systemen, zum anderen die Rekonstitution der  $G\alpha_s$ -abhängigen Signaltransduktion in Zellen ohne endogenes  $G\alpha_s$ . Die Rekonstitution sollte unmodifizierte Formen der Spleißvarianten verwenden, da die bereits bekannten Interaktionsstellen von  $G\alpha_s$  mit G-Protein-gekoppelten Rezeptoren und der Adenylylcyclase über das gesamte Molekül verteilt sind. Der rekonstituierte Konzentrationsbereich sollte ausreichend sein, um die Bandbreite der möglichen Interaktionen abzudecken.

Daraus ergab sich die Charakterisierung der Signaltransduktion auf folgenden Ebenen:

- Bestehen Unterschiede in der Kopplung der Spleißvarianten von  $G\alpha_s$  mit G-Protein-gekoppelten Rezeptoren verschiedener Familien?
- Unterscheiden sich die Spleißvarianten in ihrer Fähigkeit zur Aktivierung der Adenylylcyclase?

Aus der Synthese beider Ansätze sollte sich die Antwort ableiten lassen, ob die für gereinigte Proteine beschriebenen Unterschiede zwischen zwei Spleißvarianten über die gesamte Signaltransduktionskaskade G-Protein-gekoppelter Rezeptor - G-Protein - Adenylylcyclase abgeschwächt oder verstärkt werden.