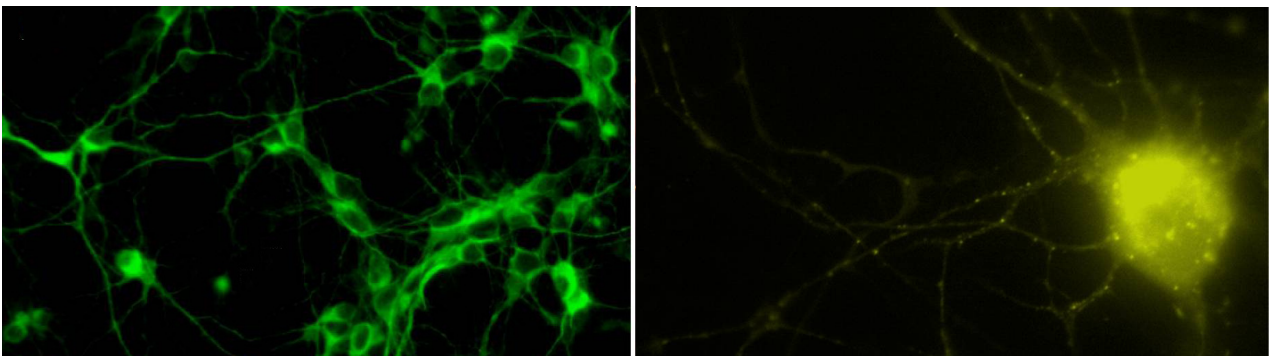


Über die Herkunft von A β 42 und Amyloid-Plaques

Heute ist sicher belegt, dass sich die amyloiden Plaques aus einer Vielzahl an Abbaufragmenten des Amyloid-Vorläufer-Proteins (amyloid-precursor-protein, APP) zusammensetzen, welches in allen Zellen des Körpers exprimiert wird. Die Funktion des Proteins ist Ziel zahlreicher Untersuchungen, aber bis heute nicht endgültig geklärt.

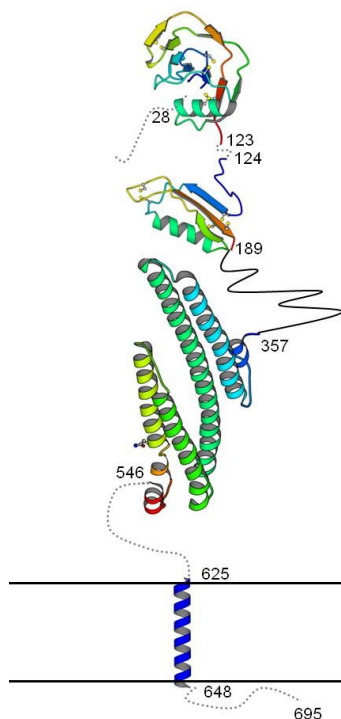
Abbildung 1 – Nachweis der räumlichen Verteilung von APP in Neuronen



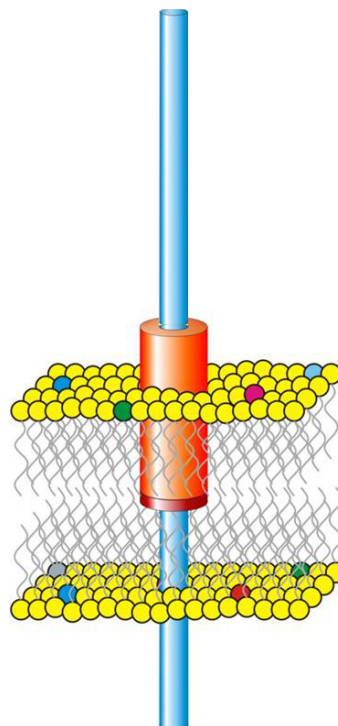
APP-GFP/Fluoreszenzmikroskop. Aufnahmen neuronaler Zellen, mit freund. Genehmigung von Prof. Stefan Kins, TU Kaiserslautern

Abbildung 2 – Aufbau des Amyloid-Vorläufer-Proteins (APP)

a. Räumliche Darstellung



b. Schematische Darstellung



Anmerkungen:

Der fett und rot dargestellte Bereich in Abb. 2b zeigt nur an, dass es sich um einen in der Folge bedeutsamen Abschnitt des Proteins handelt (siehe Abb. 3).

Abbildung a mit freundlicher Genehmigung von Klemens Wild, Biochemie-Zentrum der Universität Heidelberg (BZH)

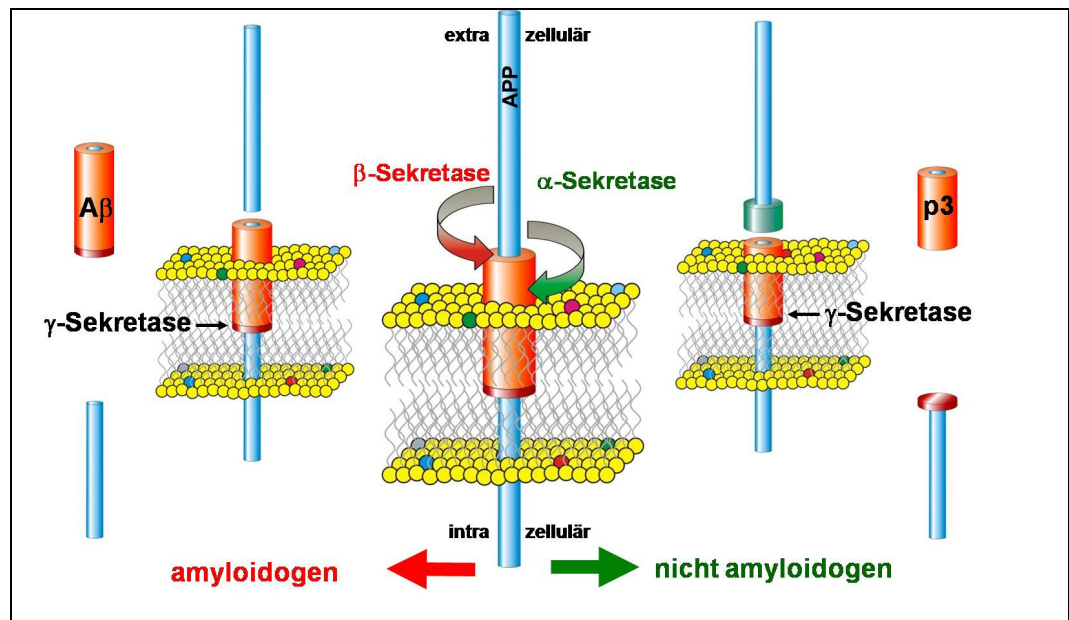
Abbildung b mit freundlicher Genehmigung von Prof. Stefan Kins, TU Kaiserslautern

Aufgabe 1 

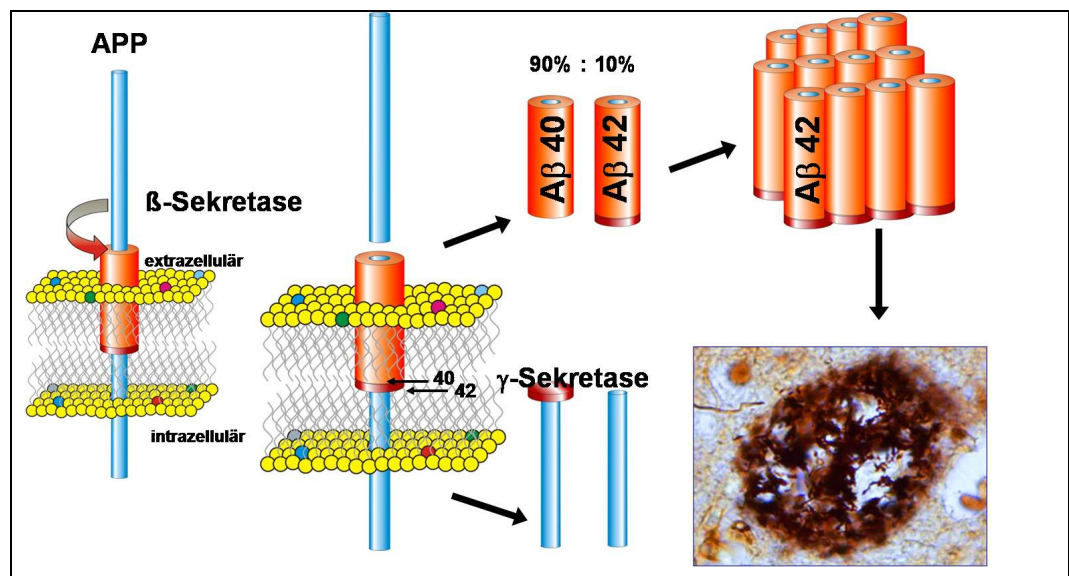
- Erläutern Sie, wie man mit Hilfe des Proteins GFP (green fluorescent protein) die räumliche Verteilung eines zu untersuchenden Proteins in Zellen ermitteln kann. Beziehen Sie Ihre Informationen aus Ihrem Lehrbuch oder aus dem Internet.
- Welche Schlüsse kann man bezüglich der zellulären Verteilung von APP aus Abb. 1 ziehen?
- Beschreiben Sie den Aufbau des Proteins anhand der räumlichen Darstellung unter Verwendung von Fachbegriffen. Gehen Sie auch auf die „Verankerung“ des Proteins ein.

Abbildung 3 – Wege der enzymatischen Zerlegung („Prozessierung“) von APP

Teil 1



Teil 2



Abbildungen mit freundlicher Genehmigung von Prof. Stefan Kins, TU Kaiserslautern

Information:

APP kann von verschiedenen Enzymen, die als Sekretasen (α -Sekretase, β -Sekretase, γ -Sekretase) bezeichnet werden, auf unterschiedliche Art und Weise geschnitten werden. Alle Prozesse finden in den Zellen miteinander konkurrierend auch statt. Dabei entstehen unterschiedliche Produkte, deren Funktionen (wie auch die des APP selbst) noch nicht endgültig geklärt sind.

Aufgabe 2



Formulieren Sie die in den Abbildungen 3 (Teil 1 und Teil 2) ablaufenden Prozesse systematisch sinnvoll in eigenen Worten. Machen Sie deutlich, unter welchen Bedingungen es zur Bildung von Plaques kommen kann.

Über die Herkunft von A β 42 und Amyloid-Plaques

Lösungsvorschlag zu Aufgabe 1a/b

Erläutern Sie, wie man mit Hilfe des Proteins GFP die räumliche Verteilung eines zu untersuchenden Proteins in Zellen ermitteln kann. Beziehen Sie Ihre Informationen aus Ihrem Lehrbuch oder aus dem Internet.

Welche Schlüsse kann man bezüglich der zellulären Verteilung von APP aus Abb. 1 ziehen?

GFP (Grün fluoreszierendes Protein) ist ein Protein, dem in der Grundlagenforschung aufgrund seiner Fähigkeit, bei Anregung zu Fluoreszieren, eine hohe Bedeutung zukommt.

In der Praxis wird das Gen für APP mit dem Gen für GFP fusioniert. Das Genkonstrukt wird in ein Plasmid eingebaut, welches in vitro in neuronale Zellen eingeführt wird (Transfektion, genetische Veränderung eukaryotischer Zellen). Die Zellen exprimieren nun das Fusionsprotein aus APP und GFP und transportieren es an diejenigen Stellen in der Zelle, an denen APP benötigt wird. Die solchermaßen veränderten Zellen können nun unter dem Fluoreszenzmikroskop betrachtet werden. Das Leuchtmuster des Bildes zeigt an, wo sich APP in der Zelle anreichert.

Aus dem vorliegenden, Fluoreszenz-mikroskopischen Aufnahme lässt sich schließen, dass APP überall in der neuronalen Zelle vorkommt. Die detailliertere Aufnahme zeigt allerdings kleine lokale Häufungen im Zellkörper und den Dendriten. Hier wird APP synthetisiert (Zellkörper) und über Vesikel durch Zellkörper und Axon transportiert.

Lösungsvorschlag zu Aufgabe 1c

Beschreiben Sie den Aufbau des Proteins unter Verwendung von Fachbegriffen. Gehen Sie auch auf die „Verankerung“ des Proteins ein.

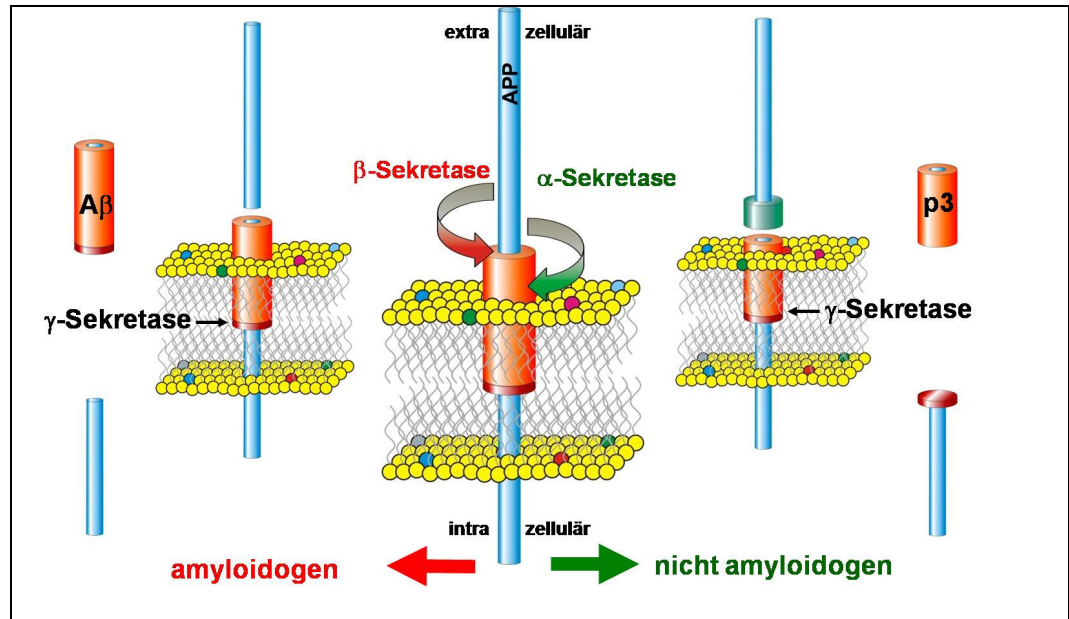
Das Protein APP scheint aus 695 AS zu bestehen. Dargestellt ist es in seiner Tertiärstruktur. Als Sekundärstrukturen sind sowohl Alphahelices, als auch Beta-Faltblatt-Bereiche und Loops zu erkennen.

Das Protein ist über einen Alphahelix-Anker in der Membran verankert. Es handelt sich also um ein Transmembran-Protein. Der größte Teil des Proteins liegt im extrazellulären Bereich und scheint zumindest aus drei extrazellulären Bereichen zu sehen, die reich an Sekundärstrukturen sind. Diese Bereiche sind jeweils über einen Loop-Bereich miteinander verbunden. Intrazellulär ist nur ein winziger Teil des Proteins vorhanden, der jedoch keine Sekundärstrukturelemente besitzt.

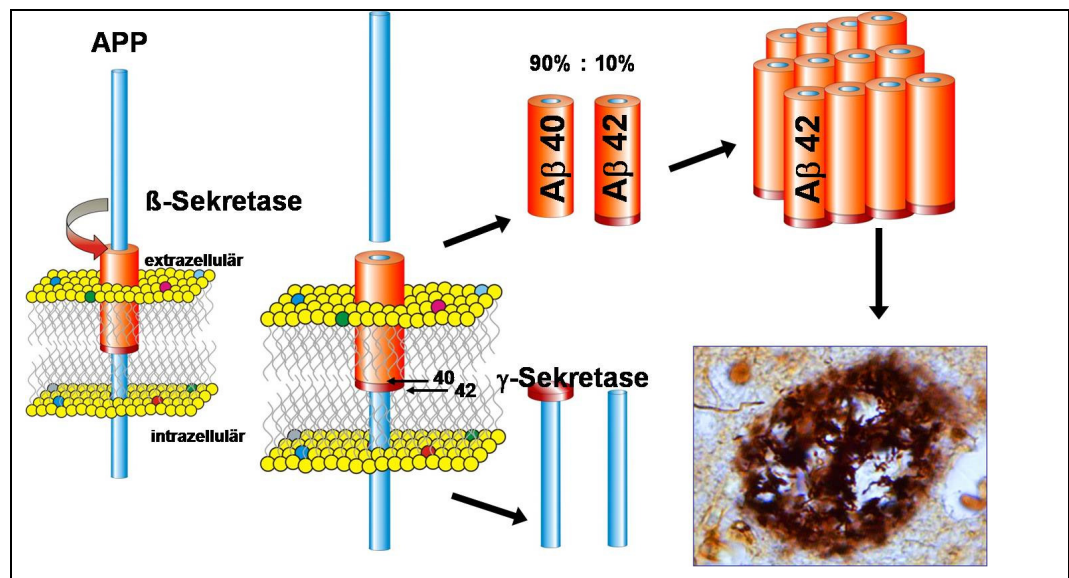
Lösungsvorschlag zu Aufgabe 2

Formulieren Sie die in den Abbildungen 3 (Teil 1 und Teil 2) ablaufenden Prozesse systematisch sinnvoll in eigenen Worten. Machen Sie deutlich, unter welchen Bedingungen es zur Bildung von Plaques kommen kann.

Teil 1



Teil 2



APP wird extrazellulär zunächst entweder durch die α -Sekretase oder durch die β -Sekretase an unterschiedlichen Stellen geschnitten. Beide schneiden nicht exakt an der gleichen Stelle, sodass extrazellulär unterschiedlich große Fragmente entstehen.

Da der Schnitt über die α -Sekretase nicht zur Bildung amyloider Plaques führt, wird zunächst dieser Prozess beschrieben:

Durch den Schnitt der α -Sekretase wird das für die Plaque-Bildung notwendige A β -Fragment schon frühzeitig zerlegt. Der in der Membran verbleibende Rest des APP wird innerhalb der Membran durch die γ -Sekretase ein zweites Mal geschnitten. In den extrazellulären Raum wird ein Fragment namens p3 abgegeben, in den intrazellulären Raum der nicht näher benannte Rest.

Schneidet aber am APP zuerst die β -Sekretase, fällt der Schnitt so aus, dass das A β -Fragment in der Membran erhalten bleibt. Der auch hier innerhalb der Membran folgende Schnitt der γ -Sekretase führt damit zur exakten Freisetzung des A β -Fragments in den extrazellulären Raum. In Teil 2 der Abbildung ist darüber hinaus zu erkennen, dass γ -Sekretase zwei dicht nebeneinander liegende Schnittstellen besitzt, die sich aber in der Häufigkeit der Umsetzung unterscheiden. Daraus ergibt sich, dass ca. 10 Prozent der nach außen abgegebenen A β -Fragmente nicht A β 40 sind, sondern A β 42. Dieses scheint eine Neigung zur Aggregation zu besitzen und die für Morbus Alzheimer charakteristischen, extrazellulären Plaques zu bilden.

Die intrazellulär abgegebenen Fragmente spielen offensichtlich bei der Plaque-Bildung keine Rolle.