

Zusammenfassung

Ein Glutamat (E62 in Ras), C-terminal des Walker B-Motivs, ist in nahezu allen G Proteinen der Ras-Superfamilie hoch konserviert. Die hier erhaltenen Ergebnisse bestätigten die essenzielle katalytische Funktion dieses Restes für die Nukleotid-Austausch Funktion von GEF-Proteinen. Durch die negative Ladung des Restes wird die Affinität zum Nukleotid verringert und das Gleichgewicht des trimeren G Protein**Nt*-GEF Komplexes zum Dimer verschoben, stabilisiert durch eine Interaktion des Glutamats mit dem *P-loop* Lysin. Die Rab-Proteine bilden eine Ausnahme dieser Regel, da sie das konservierte Glutamat nicht für die GEF-Katalyse sondern für die Bindung eines GDIs einsetzen.

Ein weiterer Aspekt dieser Arbeit war die funktionelle Aufklärung der Ras-Protein-bindenden RA-Domänen. Die RA-Domäne von RapL besitzt eine rein rekrutierende Funktion, so dass RapL ausschließlich als Adapterprotein fungiert. Die hier erstmals nachgewiesene, schwach-affine Bindung von RapL an Integrine ist nicht durch die Interaktion mit Rap-Proteinen reguliert, erlaubt aber die Bildung eines trimeren Komplexes aus Rap, RapL und Integrin. RapL könnte demgemäß die Rekrutierung von Rap an den Ort der Integrin-Aktivierung bei anschließender Übertragung an andere Rap-Effektoren übernehmen. Als weitere Funktion wäre die Bindung zusätzlicher Proteine wie Mikrotubuli und deren Lokalisation an Integrine und *Focal Adhesions* denkbar.

Bei den Arap-Proteinen übernimmt die RA-Domäne keine regulatorische Funktion. Vielmehr wurde eine *in vitro* Interaktion dieser Domäne mit Ras-Proteinen ausgeschlossen. Allerdings lassen Konstrukt-bedingte Unterschiede in der RhoGAP-Aktivität von Arap1 und Arap3 einen Einfluss der C-terminalen PH5-Domäne auf die GAP-Aktivität vermuten. Für Arap1 äußerte sich dies in einer höheren Affinität und einer geringeren Aktivität im Vergleich zu kürzeren Konstrukten. Ein regulatorischer Interaktionspartner der PH-Domäne konnte nicht identifiziert werden. Somit kann postuliert werden, dass die RA-Domäne von Arap1 oder Arap3 entweder an andere, nicht identifizierte Proteine bindet oder ausschließlich strukturell für die Proteinintegrität benötigt wird.

Die hier erfolgte Analyse mehrerer RA-Domänen, gemeinsam mit publizierten Ergebnissen über andere RA-/RB-Domänen-Effektoren lässt den Schluss zu, dass diese Proteinfamilie eine strukturelle und nahezu ausschließlich rekrutierende Funktion übernimmt, mit Ausnahme von ARHGAP20 und der PI3-Kinase. Dies ist analog zu Rab- und Arf-Effektoren und steht im Gegensatz zu den regulatorisch aktiven Rho-Effektoren. Die außerordentlich häufig vorkommende Ubiquitin-Faltung (Ubiquitin, SUMO, RADs/RBDs) hat sich demnach evolutionär auch in RAD/RBD-Proteinen als reines Protein-Interaktions-Modul etabliert.