

Kinesin-abhängige mikrotubuläre Bewegungsprozesse

In neuronalem Gewebe erfolgt der anterograde Vesikeltransport entlang von Mikrotubuli. Bei diesem Prozeß spielt das Motorprotein *Kinesin* eine essentielle Rolle. Es ist in die Vesikelmembran eingebaut, stellt die strukturelle Bindung zum Mikrotubulus her, und liefert die Energie für die Bewegung. Kinesin hat die Eigenschaft, unter *in vitro*-Bedingungen (in Gegenwart von Magnesiumionen und ATP) Mikrotubuli über Glasoberflächen zu bewegen. Damit eröffnen sich Möglichkeiten, den in der Zelle ablaufenden Vesikeltransport zu simulieren und an einem solchen Modell Studien zur Generation von Bewegungsabläufen auszuführen.

Während des Praktikums machen wir Sie mit der Isolation von Mikrotubuli und Kinesin aus Schweinehirn vertraut. Dabei werden sowohl Verfahren der Proteinreinigung (Gewebehomogenisation, präparative Ultrazentrifugation, Affinitäts- und Ionenaustauschchromatographie, Gelfiltration) als auch proteinanalytische Methoden (quantitative Proteinbestimmung, ATPase und GTPase-Messungen, SDS-Elektrophorese mit Silberfärbung) zum Einsatz kommen.

Ziel der Arbeiten ist die Untersuchung der Aktivität bzw. Funktionalität der gereinigten Proteine mit Hilfe von Assemblierungsmessungen (zeitabhängige Trübungsmessung zur Erfassung der Mikrotubulusbildung) und von *in vitro*-Motilitätstests (Verfolgen des Gleitens von Mikrotubuli über Kinesin-beschichtete Glasoberflächen mit differentieller Interferenzkontrast-Videomikroskopie) unter verschiedenen experimentellen Randbedingungen (Variation von Co-Faktoren, Einfluß von Effektoren).

Einführungsliteratur:

Alberts et al.: Molekulare Biologie der Zelle. 4. Auflage 2004, Wiley VCH, S. 1055-1139

Web Sites:

<http://www.fli-leibniz.de/~kboehm/Kinesin.html>

<http://www.fli-leibniz.de/~kboehm/Tubulin.html>

<http://cellbio.utmb.edu/CELLBIO/microtub.htm>

<http://www.proweb.org/kinesin/>