

Die schnelle Reizleitung im ZNS setzt eine hohe Konzentration von Liganden-gesteuerten Ionenkanälen in der postsynaptischen Membran voraus. Gephyrin ist das zentrale Gerüstprotein an inhibitorischen Synapsen und verankert Glycin-Rezeptoren (GlyRs) sowie bestimmte Isoformen von gamma-Aminobuttersäure-Rezeptoren (GABA(A)Rs) mit dem Cytoskelett. Beide Rezeptor-Typen sind Heteropentamere und weisen hohe topologische Übereinstimmungen, wobei für die Assemblierung von GABA(A)Rs eine größere Anzahl an Untereinheiten zur Verfügung steht.

GlyRs binden über den cytoplasmatischen Loop der beta-Untereinheit an die Gephyrin E-Domäne. Basierend auf der Kokristallstruktur dimerer E-Domäne mit GlyRbeta-Loop-Peptid wurde die Interaktion von Gephyrin mit dem GlyR in dieser Arbeit *in vivo* genauer charakterisiert. Das Interface wird vornehmlich durch eine hydrophobe Kernstruktur stabilisiert, die zwischen Phe 398 und Ile 400 des beta-Loops und Phe 330 der E-Domäne ausgebildet wird. Eine Wasserstoffbrückenbindung verbindet zusätzlich Tyr 673 mit Ile 400. P713 ist wichtiger Bestandteil der linken Wand der GlyR-Bindungstasche. Alle identifizierten essentiellen Reste sind in Vertebraten konserviert.

Über die Interaktion von Gephyrin mit GABA(A)Rs ist deutlich weniger bekannt. Kollokalisierungen in diversen Hirnregionen und Versuche mit Gephyrin-/GABA(A)R-defizienten Mäusen lassen vermuten, dass Gephyrin in das Clustern verschiedener GABA(A)R-Subtypen involviert ist. In dieser Arbeit konnte eine direkte Bindung von der Gephyrin E-Domäne an die Loops der GABA(A)R-Untereinheiten alpha2, beta2/3 und delta gezeigt werden. Das GlyR-Bindungsmotiv auf Gephyrin ist nicht mit der GABA(A)R-Bindungsstelle identisch; darüber hinaus variiert der biophysikalische Charakter der Wechselwirkung zwischen verschiedenen GABA(A)R-Loops und dem Gerüstprotein. Die Bindung von Gephyrin an N- und C-terminale Abschnitte des beta2-Loops erfolgt über ionische Wechselwirkungen. Die Bindungsstelle überlappt mit dem AP2-Motiv, was auf eine zusätzliche Funktion von Gephyrin bezüglich der Stabilisierung von GABA(A)Rs hindeutet. Im Gegensatz zur starken wechselseitigen Abhängigkeit von GlyRs und Gephyrin hat das Protein an GABAergen Termini offenbar die Immobilisierung bereits existierender Rezeptor-Cluster zur Aufgabe.

Gephyrin wird Gewebe-spezifisch in verschiedenen Isoformen exprimiert; die Funktion des alternativen Spleißens ist jedoch weitestgehend unbekannt. Hier wurde der Einfluss von Spleiß-Kassetten-Insertionen hinsichtlich der zweiten, metabolen Funktion von Gephyrin untersucht – der Synthese eines essentiellen, Molybdän-haltigen Cofaktors (Moco). Ein Einschub der G2-Kassette in die Gephyrin G-Domäne führt zum Funktionsverlust des Proteins in Rekonstitutionsexperimenten. *In vitro* Versuche bestätigen, dass das Cofaktor-Intermediat MPT noch gebunden wird, aber keine Adenylierung erfolgt. G2-haltige Isoformen werden vornehmlich in der Leber, dem Haupt-Syntheseort des Cofaktors exprimiert und haben somit vermutlich eine regulatorische Funktion. In Übereinstimmung mit einem hohen Gephyrin-Gehalt wurde Moco erstmals auch im Gehirn nachgewiesen. In diesem Organ erfolgt die Cofaktor-Synthese ausschließlich durch in Glia-Zellen exprimiertes Gephyrin – wahrscheinlich vornehmlich durch eine C3-haltigen Variante. In Neuronen identifizierte Isoformen, wie Geph-C4c, sind zwar biochemisch zur Cofaktor-Synthese in der Lage aber nicht daran beteiligt. Offensichtlich werden die verschiedenen Aufgaben von Gephyrin von unterschiedlichen Spleiß-Varianten übernommen. Die in dieser Arbeit hergestellten Spleiß-Kassetten-spezifischen Antikörper gegen C3 und C4a werden zu einem weiteren Verständnis über die Rolle verschiedener Gephyrin-Isoformen im Organismus beitragen.