

## Zusammenfassung

Gephyrin ist ein zentrales Geruestprotein, das unterhalb der postsynaptischen Membran inhibitorischer Synapsen ein Netzwerk ausbildet. Es immobilisiert und clustert Glycin-Rezeptoren (Glycine receptors (GlyRs)) und  $\gamma$ -Aminobuttersaeure-Rezeptoren (GABA<sub>A</sub>Rs) in der postsynaptischen Membran durch Verankerung mit dem Cytoskelett. Gleichzeitig interagiert Gephyrin mit einer Vielzahl von weiteren Proteinen, die eine regulatorische Rolle uebernehmen. Unter anderem bindet Gephyrin an die Dynein leichten Ketten 1 und 2 der LC8-Familie (DLC1 & 2, Dynein *Light Chain*), die Komponenten des cytoplasmatischen Dynein-Motorkomplexes und des Myosin V-Motors sind.

Die Kristallstrukturen der Gephyrin G- und E-Domaene bilden eine trimere und dimere Anordnung, jedoch die Struktur der zentralen C-Domaene ist bislang ungeklaert. Diese wuerde zum Verstaendnis der Bildung des molekularen Geruests unterhalb der postsynaptischen Membran beitragen. Die Interaktion von DLC1 und 2 findet im N-terminalen Bereich der Gephyrin C-Domaene statt. Nach Expression und Reinigung der einzelnen Proteine wurden mit Hilfe der partiellen Proteolyse und der dynamischen Differenzkalorimetrie Stabilitaetsuntersuchungen in An- und Abwesenheit von DLC1 und 2 durchgefuehrt. Die Daten zeigten, dass die C-Domaene sehr schnell degradiert wird, so dass sie im Gesamtprotein wahrscheinlich oberflaechenexponiert vorliegt und eine unstrukturierte Region ist, die durch Bindung von DLC stabilisiert werden kann. Stabilere verkuerzte Gephyrin-Varianten wurden erstellt, die unter anderem zu Kristallisationsexperimenten eingesetzt wurden, jedoch keine Kristallbildung beobachtet werden konnte. Des Weiteren konnte durch isotherme Titrationskalorimetrie und analytische Gelfiltration eine Stoechiometrie des Gephyrin / DLC1 Komplexes von 3:2 identifiziert werden, die sich bei den verkuerzten Gephyrin-Varianten und der isolierten C-Domaene auf 3:1 veraendert.

Die gleichzeitige Interaktion von DLC mit Kargomolekuelen und dem Dynein-Motorkomplex ist essentiell fuer einen DLC-vermittelten Transport. Kosedimentationsexperimente, analytische Gelfiltration und Kolokalisation in nicht-neuronalen Zellen widerlegten die Ausbildung eines ternaeren Komplexes, bestehend aus Gephyrin DLC und den Dynein mittleren Ketten DIC1 & 2 (Dynein *Intermediate Chain*), was einen Transport von Gephyrin ueber die Bindung von DLC unwahrscheinlich macht.

Um die Funktion der Interaktion von Gephyrin und DLC1 genauer zu untersuchen wurden Varianten beider Proteine erstellt, die nicht mehr in der Lage sind miteinander zu interagieren. Durch Kolokalisation in Cos-7 Zellen konnte eine verminderte Interaktion der beiden Proteine nachgewiesen werden. Die Analyse der Varianten in Hippocampus Neuronen zeigte eine verringerte Lokalisation der Gephyrin-Cluster an Synapsen, so dass moeglicherweise die Interaktion von Gephyrin und DLC eine regulatorische Funktion besitzt.