

Zusammenfassung

Die Netrine gehören zu einer Gruppe phylogenetisch konservierter Wegfindungsmoleküle, deren Funktion bisher am ausführlichsten in der Entwicklung des Nervensystems beschrieben wurde. Dort lenken sie eine Vielzahl von neuronalen Wachstums- und Migrationsprozessen. Axone können von Netrinen sowohl angezogen als auch abgestoßen werden. Dies hängt davon ab, welche Netrin-Rezeptoren auf ihren Wachstumskegeln exprimiert werden. Die Expression der Netrine ist jedoch nicht auf das Nervensystem beschränkt. Auch bei der Morphogenese verschiedener Organe wie Lunge, Darm, Pankreas und Brustdrüsen spielen Netrine eine Rolle.

In Säugetieren wurden bisher fünf Netrine identifiziert: Netrin-1, Netrin-3, Netrin-4, Netrin-G1 und Netrin-G2. Für zwei dieser Netrine, Netrin-1 und Netrin-3, wurde eine Interaktion mit Rezeptoren aus der DCC- und UNC-5-Familie nachgewiesen. In dieser Arbeit wurde anhand von Biacore-Bindungsstudien die Interaktion von zwei weiteren Netrinen, Netrin-4 und Netrin-G1, mit den Rezeptoren DCC, Neogenin, UNC5B und UNC5C untersucht. Im Gegensatz zu Netrin-1 bindet Netrin-4 weder an DCC noch an Neogenin. Eine Bindung an den Rezeptor UNC5C hingegen konnte sowohl für Netrin-4 als auch für Netrin-G1 nachgewiesen werden. Im Unterschied zu der Bindung an UNC5C konnte die Interaktion von Netrin-4 und Netrin-G1 mit dem Rezeptor UNC5B erst gezeigt werden, als der Rezeptor, durch anfügen des Fc-Fragments aus menschlichem IgG, als Dimer vorlag.

Neben der Untersuchung der Netrin-4 Bindung zu bereits bekannten Netrin-Rezeptoren sollten auch neue Bindungspartner gefunden werden. Einen Hinweis auf mögliche Bindungspartner der Netrine gibt ihre strukturelle Verwandtschaft zu den N-terminalen Domänen VI und V der Laminin-Ketten. Laminine sind eine der Hauptkomponenten von Basalmembranen und bilden über ihre N-terminalen VI-Domänen ein Netzwerk aus. Da Netrin-4 vermehrt in den Basalmembranen verschiedener Organe vorkommt, wurden mögliche Interaktionen von Netrin-4 mit den Laminin-Ketten untersucht. Hierbei zeigte sich eine besonders starke Bindung von Netrin-4 an die Laminin γ 1- und γ 3-Ketten. Diese Bindung konnte ausschließlich für Netrin-4 gezeigt werden. Netrin-1 und Netrin-G1 dagegen interagierten mit keiner der beiden untersuchten γ -Ketten.

Aufgrund der nachgewiesenen Bindung von Netrin-4 an eine der Hauptkomponenten der Basalmembran sollten mittels funktioneller Analysen Erkenntnisse über die Aufgaben von Netrin-4 in Basalmembranen erlangt werden. Hierzu wurde der Einfluss von Netrin-4 auf die Verzweigungsmorphogenese von Speicheldrüsen und die Laminin-Polymerisation untersucht. Die *in vitro*-Analysen zeigten, dass Netrin-4 die Verzweigung der Speicheldrüsenendknospen deutlich inhibiert. Auch die Laminin-Polymerisation ließ sich durch Zugabe von Netrin-4 beeinflussen.

Entscheidend für ein genaueres Verständnis, wie Netrin-1 und Netrin-4 mit ihren jeweiligen Rezeptoren und Proteinen der extrazellulären Matrix interagieren, ist die Auflösung ihrer dreidimensionalen Struktur. Mit beiden Proteinen wurden daher Kristallisationsversuche unternommen. Dabei steht die röntgenkristallographische Strukturaufklärung für Netrin-1 kurz vor dem Abschluss.