

## Zusammenfassung

Zelluläre Prozesse so verschieden wie die Kontrolle der Zellmorphologie, die Bildung multizellulärer Netzwerke, die Migration von Zellen, die Cytokinese und Membrantransportprozesse sind abhängig von der Polymerisation von Aktinfilamenten. Gleichsam wichtig für die individuellen zellulären Funktionen sind sowohl eine zeitliche und räumliche Kontrolle der Nukleation von Aktin und die Bildung verschiedener Aktinsuperstrukturen. Trotz der Vielfalt der gebildeten Aktinstrukturen sind bisher in Vertebraten nur zwei Aktinnukleationsmaschinerien etabliert, der Arp2/3 Komplex und Formine. Syndapine und Abp1 sind SH3-Domänen-enthaltende Proteine, die als Verbindung von Membrantransportprozessen und dem Aktincytoskelett fungieren können, da sie mit an beiden Prozessen beteiligten Proteinen interagieren.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde Cordon bleu (Cobl), ein neuer Aktinnucleator, mittels des Hefe-Zwei-Hybrid Systems als Interaktionspartner für Syndapin I identifiziert. Cobl ist ein im Gehirn angereichertes Protein, das mehrere prolinreiche Domänen und drei Wiskott-Aldrich Syndrom 2 (WH2) Domänen enthält. Die Interaktion wurde mit verschiedenen *in vitro* und *in vivo* Methoden wie z.B. Koimmunpräzipitationen und *in vivo* Rekonstitutionsstudien verifiziert. Parallel dazu wurde die Interaktion von Cobl mit Abp1 gezeigt und charakterisiert. Eine Rolle von Cobl/Syndapin und Cobl/Abp1 Komplexen bei der rezeptorvermittelten Endocytose wurde durch funktionelle Studien enthüllt.

Im zweiten Teil der Arbeit wurden die molekularen Mechanismen der Cobl-vermittelten Aktinnukleation untersucht. Cobl, welches mehrere WH2-Domänen enthält, wurde als neuer Aktinnucleator charakterisiert und zu der erstaunlich kleinen Gruppe der aktinfilamentbildenden Proteine hinzugefügt. Biochemische Analysen und *in vitro* Rekonstitutionen legten dar, dass alle drei WH2-Domänen, wenn auch mit unterschiedlichen Affinitäten, für die Aktinbindung genutzt werden. Kinetische Studien zeigten, dass Cobl-induzierte Aktinnukleation ähnlich stark ist wie durch den vollständig aktivierten Arp2/3 Komplex ausgelöst. Cobl-vermittelte Aktinpolymerisation, die zu nicht gebündelten, unverzweigten Filamenten führt, baut hierbei auf ein Wachstum am *barbed end* und führt nicht zu einem Schutz am *pointed end* von Aktinfilamenten. Um die Aktinnukleation zu realisieren, benötigt Cobl alle seine drei WH2-Domänen und die erweiterte Linkerregion L2 zwischen der zweiten und dritten WH2-Domäne. Diese Arbeit zeigt, dass Cobls besondere Leistungsfähigkeit in der Nukleation auf dem Zusammenfügen von drei Aktinmonomeren in einer beide Filament der Helix beinhaltenden Orientierung beruht. Diese Erkenntnisse liefern damit direkte experimentelle Beweise, dass das Zusammenfügen von minimal drei Aktinmonomeren für eine effektive Nukleation notwendig und dass die Bildung von Keimen in *cross-filament* Orientierung die hauptsächliche Quelle für Aktinfilamente ist.

M. Sc. Rashmi Ahuja  
Cordon bleu ein Interaktionspartner von Syndapinen und Abp1, ist ein neuer  
Aktinnucleator der die neuronale Morphologie moduliert

---

Eine Rolle von Cobl in Aktindynamik auch *in vivo* zeigen die Beobachtungen, dass Cobl zu Stellen mit hoher Aktindynamik lokalisiert die Morphologie von Fibroblastenzellen durch die Bildung von starken dreidimensionalen *Ruffles* moduliert. In hippocampalen Primärkulturen hatte Cobl einen drastischen Effekt auf die neuronale Morphogenese, die Bildung und die Verzweigung von Neuriten stiegen deutlich an. Diese Effekte erwiesen sich als abhängig von der Funktion von Cobl als Aktinnucleator; Mutanten mit fehlender Aktinnucleationsfunktion zeigten keine Effekte. Konsistenterweise führt ein *knock down* von Cobl zu einer verminderten dendritischen Arborisierung. Damit ist Cobl tatsächlich ein kritischer Faktor während der zellulären Morphogenese. Diese Arbeit zeigt, dass Cobl ein neuer Aktinnucleator ist, der neuronale Morphologie und Entwicklung kontrolliert und gibt detaillierte mechanistische Aufschlüsse über die Rolle von Cobl in der Aktindynamik.