

Zusammenfassung

IRSp53 induziert Veränderungen in der Organisation des Aktin-Cytoskeletts und nimmt dadurch direkten Einfluss auf die Morphogenese von Zellen. Das Protein ist im Gehirn und besonders in der postsynaptischen Dichte exzitatorischer Synapsen angereichert. Es interagiert mit den Shank-Proteinen, die eine Verankerung verschiedener Glutamat-Rezeptoren mit dem Cytoskelett vermitteln. Die Bindung von IRSp53 an PSD-95 verknüpft das Protein mit den NMDA-Rezeptoren in der postsynaptischen Membran.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde gezeigt, dass die Überexpression von IRSp53 das vermehrte Auswachsen dendritischer Verzweigungen und *spines* in Neuronen induziert. Dabei war die Ausbildung postsynaptischer Proteinkomplexe stark beeinträchtigt, was anhand der PSD-95-*Cluster* nachgewiesen wurde. Die isolierte IM-Domäne von IRSp53 war allein in der Lage morphologische Veränderungen des Neurons hervorzurufen, während das Fehlen der Cdc42/Rac1-Bindestelle (CRIB-Domäne) innerhalb von IRSp53 zu einem unkontrollierten, sehr starken Auswachsen filopodienartiger Ausläufer führte. *Upstream* von Cdc42 sowie Rac1 und ihrem Effektor IRSp53 agierende GEFs konnten anhand von Kopräzipitationen aus HEK293-Zellen nicht identifiziert werden. Die neuronale Überexpression eines dominant-negativen Konstrukts (IRS Δ SH3), das die weitere Interaktion des Proteins mit Aktin-assoziierten Proteinen wie z.B. Mena, WAVE2 und Shank unmöglich machte, resultierte in einer Reduktion der Dendriten und *spines*. Der vollständige Funktionsverlust von IRSp53 führte ebenfalls zu einer verminderten Anzahl dendritischer Verzweigungen und Primärdendriten, was anhand von Neuronen einer durch *Gene-Trap* Mutagenese hergestellten IRSp53 *knock out*-Maus gezeigt wurde. Die Reduktion der dendritischen Verzweigungen konnte durch Überexpression von IRSp53 sowohl in der frühen als auch in der späten Differenzierungsphase der *knock out*-Neurone kompensiert werden. Dies war bei der reduzierten Primärdendritenanzahl nur in der frühen neuronalen Entwicklungsphase möglich. Die verminderte Anzahl der PSD-95-*Cluster* in den homozygoten *knock out*-Neuronen ließ auf eine verzögerte Synapsenbildung der IRSp53 *knock out*-Mäuse schließen.

Proteinbiochemische Analysen detektierten eine Anreicherung des Proteins Densin-180 und des NMDA-Rezeptors in der postsynaptischen Dichte der *knock-out* Mäuse. Möglicherweise ist das ein erster Hinweis auf eine Beteiligung von IRSp53 an der Internalisierung von NMDA-Rezeptoren. Die Expression des Proteins in fast allen Gewebetypen und die außergewöhnlich geringe Geburtenrate homozygoter *knock out*-Mäuse zeigte die Bedeutung von IRSp53 für die Funktionalität des Mausorganismus.