



Stefan Pabst (Autor)

**Studien zur Interaktion von Complexin mit dem
synaptischen SNARE-Komplex**

Stefan Pabst

**Studien zur Interaktion von Complexin
mit dem synaptischen SNARE-Komplex**



Cuvillier Verlag Göttingen

<https://cuvillier.de/de/shop/publications/3414>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen,
Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: <https://cuvillier.de>

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Neuroexocytose und die SNARE-Hypothese.....	1
1.2	Der synaptische SNARE-Komplex.....	4
1.3	Modell der SNARE-Funktion in der Neuroexocytose.....	7
1.4	Interaktionspartner von SNARE-Proteinen und -Komplexen.....	9
1.5	Complexine.....	10
1.6	Ziel dieser Arbeit.....	12
2	Material und Methoden.....	13
2.1	Material.....	13
2.2	Besondere Geräte.....	14
2.3	Klonierung der DNA-Konstrukte.....	14
2.4	Herstellung von Cysteinmutanten.....	16
2.5	Expression und Aufreinigung rekombinanter Proteine.....	16
2.6	Reinigung von SNARE-Komplexen.....	18
2.7	Bindungsstudien mit löslichen rekombinanten Proteinen.....	20
2.8	Bindungsstudien mit in Liposomen rekonstituierten SNAREs.....	20
2.9	Elektronenspin-Markierung und Elektronen paramagnetische Resonanz (EPR)-Messungen.....	21
2.10	Fluoreszenz-Markierung und Fluoreszenz Resonanz Energie Transfer (FRET)-Messungen.....	22
2.11	Fluoreszenz-Anisotropie-Messungen.....	23
2.12	Stopped-flow-Messungen.....	24
2.13	Isotherme Titrationskalorimetrie (ITC).....	25
2.14	Circular Dichroismus (CD)-Spektroskopie.....	26
2.15	Dissoziation von SNARE-Komplexen durch NSF.....	26
2.16	Multi-angle laser light scattering (MALLS).....	27
2.17	Biochemische Standardmethoden.....	27

3	Ergebnisse.....	28
3.1	Struktur und evolutionäre Konservierung von Complexin	28
3.2	Charakterisierung der Bindung von Complexin an den SNARE-Komplex.....	29
3.3	Kinetik und Affinität der Interaktion von Complexin mit dem synaptischen Fusionskomplex.....	47
3.4	Studien zur Funktion von Complexin bei der Neuroexocytose	56
3.5	Mögliche Interaktionspartner von Complexin am synaptischen SNARE-Komplex	61
4	Diskussion.....	66
4.1	Studien zur Bindung von Complexin an den SNARE-Komplex	66
4.2	Der Effekt von Ca^{2+} auf die Bindung von Complexin am SNARE-Komplex	68
4.3	Welche Funktion hat Complexin bei der Neuroexocytose?	70
4.4	Complexin im synaptischen Zyklus	72
5	Zusammenfassung	75
6	Literatur	76