

**Das neuronale Scaffold-Protein Shank3 vermittelt
Signaltransduktion und biologische Funktionen der
Rezeptor-Tyrosinkinase Ret in Epithelzellen**

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades des
Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

eingereicht im Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Gunnar Schütz
aus Berlin-Schöneberg

angefertigt am Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin Berlin
in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Walter Birchmeier

Berlin, im August 2004

Gutachter: Prof. Dr. Walter Birchmeier,
Prof. Dr. Ferdinand Hucho
Datum der Disputation: 21. Oktober 2004

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung	4
2	Einleitung	5
2.1	Die Scaffold-Adaptor-Proteine der Shank-Familie	6
2.2	Rezeptor-Tyrosinkinasen	8
	Aktivierung von Rezeptor-Tyrosinkinasen	8
	Signalwege unterhalb von Rezeptor-Tyrosinkinasen	9
2.3	Die Rezeptor-Tyrosinkinase Ret	12
	Aktivierung von Ret	14
	Bekannte Signalwege unterhalb von Ret	16
	Ret-assoziierte Krankheiten	18
2.4	Tubulogenese - ein komplexer Vorgang in Epithelzellen	19
	Tubulogenese in der Niere	20
	Die Rolle von Rezeptor-Tyrosinkinasen in der Tubulogenese	22
	Ret9 und Ret51 in der Tubulogenese	23
3	Ergebnisse	24
3.1	Ret9 interagiert mit Mitgliedern der Shank-Proteinfamilie	24
3.2	Die Ret9-Shank-Interaktion ist direkt	26
3.3	Ret interagiert mit Shank in vivo	29
3.4	Ret9, nicht aber Ret51 induziert Tubulogenese in vitro	31
3.5	Die Ret9-induzierte Tubulogenese benötigt die Interaktion mit Shank3	34
3.6	Shank3 reguliert die Dauer des Signals von Ret9	36
3.7	Shank3 interagiert mit dem Adaptorprotein Grb2	39
3.8	Die Bindung von Grb2 an Shank3 moduliert die Tubulibildung durch Ret	42
4	Diskussion	44
4.1	Die PDZ-Bindung als wichtiger Modulationsmechanismus in der Signalverarbeitung von Rezeptor-Tyrosinkinasen	44
4.2	Das PDZ-Bindemotiv in Ret9 erweitert die Konsensussequenz für Klasse-I- PDZ-Interaktionen	46
4.3	Shank als Adaptorprotein in der Signaltransduktion	47
4.4	Die Grb2-Bindestelle in Shank3 ist in Fisch und Mammalia konserviert	49
4.5	Shank3 als Modulator der Ret9 Signaltransduktion	50

4.6	Die Funktion von Ret9 und Shank3 in der Tubulogenese	52
4.7	Eine mögliche Funktion von Ret9 und Shank3 in der Nierenentwicklung	54
5	Material und Methoden	56
5.1	Molekularbiologische Standardmethoden, Chemikalien, Kits und Geräte	56
5.2	Bakterienstämme	56
5.3	Verwendete Plasmide	57
5.4	Klonierung der Shank-Mutanten	57
5.5	Klonierung der Ret-Mutanten	58
5.6	Hefe-2-Hybrid-System	60
5.7	Zellkultur und Transfektion	60
5.8	Immunpräzipitation und Immunoblot	61
5.9	Immunfluoreszenz	63
5.10	In Vitro Tubulogenese	64
5.11	Abkürzungen	65
	Allgemeine Abkürzungen	65
	Abkürzungen von Proteinnamen	66
6	Literaturverzeichnis	68
7	Anhang	92
	Abstract	92
	Lebenslauf	93
	Erklärung	94
	Danksagung	95