

## **Zusammenfassung**

Eine fundamentale Fragestellung der Zellbiologie ist, wie Proteine interagieren und sich selbst lokal als makromolekulare Strukturen assemblieren, die diverse Funktionen ausführen. Zell-Matrix-Adhäsionsstellen sind makromolekulare Anordnungen, die aus mehr als 150 Proteinen bestehen und in verschiedene zelluläre Funktionen wie Zelladhäsion, Zellmigration, Zellmorphogenese, die Wahrnehmung der direkten Umgebung sowie Entscheidungen über das zelluläre Schicksal involviert sind. Ein komplexes Netzwerk von regulierten Interaktionen zwischen den Komponenten generiert hochdynamische und räumlich heterogene Adhäsionsstellen, die unterschiedliche molekulare Kompositionen und Funktionen aufweisen. Insgesamt stellen diese Aspekte ein grundlegendes Problem für die Beobachtung darüber dar, wie die Proteinnetzwerke sich assemblieren und in den Adhäsionsstellen funktionieren. In dieser These werden neue Konzepte und Herangehensweisen entwickelt, um diese Problematik systematisch aufzuarbeiten: (1) Um Proteinnetzwerke mit hoher räumlicher und zeitlicher Auflösung zu beobachten, wurde ein sensitives 4-Farben-Bildaufnahmeverfahren an lebenden Zellen inklusive Alignment- und Korrekturmethode entwickelt (Kapitel 2). (2) Um diese 4-Farbendaten zu analysieren, entwickelte ich ein kompositorisches Bildaufnahmeverfahren für lebende Zellen, mit dem die räumlich-zeitlichen Änderungen in der molekularen Komposition der Adhäsionsstellen mit der Auflösung des Lichtes abgeleitet werden. Mit dieser Technik visualisierte ich die räumliche Organisation diverser Proteinnetzwerkzustände und ihrer Dynamik mit einer Auflösung unterhalb der Größe der Adhäsionsstellen in Fibroblasten, die sich auf dem Substrat spreiten sowie solchen auf die mechanische Kräfte einwirken, auf (Kapitel 3). (3) Um die Regulation und Funktion von

Proteinnetzwerken zu verstehen, ist es auch notwendig zu begreifen, wie die Netzwerkkomponenten sich gegenseitig beeinflussen. Daher entwickelte ich als komplementären Datenextraktionsansatz eine Objektsegmentations- und Objektverfolgungssoftware, die die relativen Änderungen in den Leveln der beobachteten 4 Komponenten in individuellen Adhäsionsstellen quantifiziert. Aus den Zeitreihen und den theoretischen Ansätzen heraus, wurden potentielle kausale Verknüpfungen zwischen den Proteinen, die Aufbau, Abbau und stationäres Verhalten der fokalen Adhäsionsstellen regulieren, abgeleitet. Um direkt kausale Verbindungen innerhalb komplexer, biochemischer Systeme abzuleiten, müssen ihre Komponenten gestört werden. Daher entwickelte ich rechnergestützte Werkzeuge um die Änderungen in den Konzentrationen der Proteine in fokalen Adhäsionen nach akuter Störung ihrer Komponenten zu quantifizieren und damit die kausalen Zusammenhänge zwischen ihnen räumlich aufzulösen (Kapitel 4). (4) Ein grundlegendes Problem bei dem Studium großer und heterogener intrazellulärer biochemischer Systeme wie Adhäsionsstellen, ist die Unmöglichkeit alle Komponenten gleichzeitig zu beobachten. Dies kann zu unterschiedlichen beobachteten Abhängigkeiten zwischen der gleichen Untergruppe von beobachteten Komponenten führen. Daher war ich an der gemeinschaftlichen Entwicklung von statistischen, rechnergestützten Methoden beteiligt, mit denen aus der Beobachtung einer Mischung von Proteinnetzwerken mit unterschiedlichen Topologien, die einzelnen Netzwerke entmischt werden können (Kapitel 5). Im Rahmen dieser These wurden daher die zuvor benannten Herausforderungen angegangen, neue Methoden entwickelt und damit die Struktur-Funktionsbeziehungen heterogener Proteinnetzwerke in Adhäsionsstellen mit hoher räumlicher und zeitlicher Auflösung analysiert.