

Inga Bohlmann
Dr. med.

Molekulare Charakterisierung des humanen und murinen *ranBP16*-Gens

Geboren am 21.09.1974 in Wolfenbüttel
Staatsexamen am 17.06.2002 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Humangenetik
Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. J.W.G. Janssen

Bei Patienten mit einer reziproken $t(5;14)(q34;q11)$ Translokation und akuter lymphatischer Leukämie konnte im Bruchpunktbereich auf Chromosom 5 das Gen *ranBP17* identifiziert werden. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Identifizierung eines zu 66,8% homologen Gens, *ranBP16*, später identifiziert als Exportin 7. In der vorliegenden Arbeit wird sowohl das humane, als auch das murine *ranBP16*-Gen charakterisiert.

In einem humanen Northernblot konnte die ubiquitäre Expression eines ca. 4.8kb großen Transkriptes in sämtlichen Geweben gezeigt werden. Ausnahme war das Thymusgewebe. Stärkere Signale fanden sich in Knochenmarks-, Schilddrüsen- und Hodengewebe. Dort zeigten sich neben dem o.g. Transkript noch zwei weitere Transkripte von ca. 4.4kb und 3.2kb Größe.

Durch eine Radiations-Hybridkarte konnte das humane *ranBP16*-Gen auf dem Chromosom 8p21 lokalisiert werden.

Mit Hilfe von FITC-konjugierten RANBP16 spezifischen Antikörpern konnte in HeLa-Zellen die intrazelluläre Lokalisation des Proteins im Bereich des Zellkerns detektiert werden.

Bei der Bestimmung der evolutionären Konservierung zeigte sich im Zoo-Blot eine Konservierung des Gens bis zur Forelle mit Ausnahme des Huhns. In vielen Organismen zeigten sich mehrere Banden des *ranBP16*-Gens, was möglicherweise auf evolutionäre Veränderungen oder auf veränderte Exon-Strukturen zurückzuführen ist. Eine Datenbanksuche ergab eine Konservierung des Gens bis zum Fadenwurm *Caenorhabditis elegans* mit einer Übereinstimmung von 41.7% im Aminosäuresequenz Vergleich.

Das murine *ranBP16*-Gen präsentierte im Northernblot ein etwas anderes Expressionsprofil als das humane *ranBP16*-Gen. Hier zeigte sich eine schwache Expression eines Transkriptes von ca. 4.7kb Größe im Lungengewebe, eine deutliche Expression in Hirn-, Nieren- und Hodengewebe und eine starke Expression in Leber- und Milzgewebe. Im Leber- und Milzgewebe zeigte sich neben dem o.g. Transkript noch

ein kleineres von ca. 4.3kb Größe. Keine Expression fand sich im Skelett- und Herzmuskelgewebe.

Vergleicht man die Aminosäuresequenz zwischen dem humanen RANBP16 und dem murinen RANBP16 zeigt sich eine hohe Übereinstimmung von 99,4%.

Eine Datenbank- Sequenzanalyse fand eine N-terminale RAN-Bindungsdomäne und ließ damit eine Beteiligung von RANBP16 an nukleären Transportprozessen vermuten.

Während der Sequenzierung des humanen *ranBP16*-Gens wurde im Rahmen eines Sequenzierungsprojektes durch das Kazusa DNA Research Institute eine cDNA-Sequenz, KIAA0745 (Accession No. AB018288), der humanen *ranBP16* Sequenz entsprechend, veröffentlicht. Die Homologie beträgt 100%, jedoch beinhaltet das von uns identifizierte *hranBP16*-Gen ein zusätzliches 549bp Insert bei Position 800 der KIAA0745 Sequenz.

Zeitgleich, aber unabhängig von unserer Arbeit, identifizierte die Arbeitsgruppe um U. Kutay die humanen Proteine RANBP16 und RANBP17 und deren DNA-Sequenzen (Kutay et al.2000).

Im Juli 2004 konnte RANBP16 einer Funktion zugeordnet werden. Es zeigte sich, dass RanBP16, mittlerweile Exportin 7 genannt, für den Export von p50RhoGAP und 14-3-3 σ und weiteren Proteinen aus dem Nukleus verantwortlich ist (Mingot et al., 2004).