

Martin Laaff  
Dr. med.

## **Klonierung und Charakterisierung der Rattensequenz von Growth-Differentiation-Factor-15/Macrophage-Inhibiting-Cytokine-1, einem neuen Mitglied der Transforming-Growth-Factor- $\beta$ Superfamilie**

Geboren am 29.07.1973 in Baden-Baden  
Reifeprüfung am 19.05.1993 in Baden-Baden  
Studiengang der Fachrichtung Humanmedizin vom WS 1994 bis SS 2001  
Physikum am 12.09.1996 an der Universität Heidelberg  
Klinisches Studium in Heidelberg  
Praktisches Jahr in Heidelberg und Bern/Schweiz  
Staatsexamen am 14.05.2001 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Anatomie  
Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. Klaus Unsicker

Die TGF- $\beta$  Superfamilie stellt eine ständig wachsende Gruppe von Signalmolekülen dar, die wichtige Funktionen in der Regulation zellulären Wachstums, zellulärer Differenzierung sowie in der Wundheilung ausüben.

Aufgabe dieser Arbeit war es, die Rattensequenz des neu entdeckten Faktors GDF-15/MIC-1 zu klonieren und zu charakterisieren. Insbesondere der potentielle Promotorbereich wurde auf Transkriptionsfaktorbindungsstellen und auf Aktivität untersucht. Die Arbeit steht am Beginn der Untersuchungen zu den Funktionen eines neu entdeckten Proteins. Sie soll zeigen, wie es mittels moderner molekularbiologischer Methoden möglich ist, bereits durch die Gensequenz Hinweise auf eventuelle biologische Wirkungen zu erhalten.

Die genomische Sequenz wurde durch Hybridisierung einer DNA-Genbank der Ratte gewonnen. Radioaktiv markierte Maus- und Ratten-cDNA diente als Sonden.

Das klonierte Gen hat insgesamt eine Grösse von ca. 3,6 kb. Der kodierende Sequenzabschnitt zeigt eine Länge von 923 bp. Er wird von einem Intron unterbrochen, von welchem 1189 bp sequenziert werden konnten. Der reife Teil des Proteins mit einer Länge von 115 Aminosäuren weist zur orthologen Mausequenz eine Homologie von 97% und zur orthologen Sequenz des Menschen eine Homologie von 68% auf. Das charakteristische Vorkommen von neun Cysteinen an hoch konserviert gebliebenen Stellen im reifen Protein weist das Molekül als Mitglied der TGF- $\beta$  Superfamilie aus. Dennoch fehlt die notwendige Homologie zu einem verwandten Faktor von 60% bis 90%, um es einer Subfamilie sicher zuordnen zu können.

Zahlreiche mögliche Bindungsstellen für Transkriptionsfaktoren konnten identifiziert werden. Dazu gehören AP-1 und -2, SP-1, NF- $\kappa$ B und CK-1.

Insbesondere befindet sich eine TATA-Box unmittelbar vor dem potentiellen Translationsstart. Diese scheint eine entscheidende Rolle in der Regulation der Transkription einzunehmen. Die nähere Untersuchung mittels einer Deletionsstudie und eines Luciferase Assays zeigt, dass es zu einer Abnahme der Aktivität kommt, wenn dieser Bereich gezielt deletiert wird.

Ergebnisse der Sequenzanalyse und der Promotorstudie zeigen, dass GDF-15/MIC-1 der Ratte ein entferntes Mitglied der TGF- $\beta$  Superfamilie darstellt. Durch die geringe Homologie zu weiteren Subgruppen kann dem Molekül eine Sonderstellung zugesprochen werden. Eventuell ist GDF-15/MIC-1 das erste Mitglied einer neuen Untergruppe. Die Gemeinsamkeiten zu GDF-9 und das Vorkommen von charakteristischen Bindungsstellen für Transkriptionsfaktoren weisen auf eine mögliche Funktion in der Regulation zellulären Wachstums und zellulärer Differenzierung hin.