

## Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit beschreibt Studien zur Funktion der GNE, des Schlüsselenzyms der Biosynthese von Sialinsäuren. Die GNE bzw. Sialinsäuren sind essentiell für den Organismus, da GNE-defiziente (KO-) Mäuse embryonal lethal sind. Das Augenmerk dieser Arbeit liegt auf der Aufklärung der Regulation dieses Enzyms über seine verschiedenen oligomeren Zustände und auf der Identifizierung interagierender Proteine. Des Weiteren werden embryonale Stammzellen (ES-Zellen), die bezüglich der GNE-defizient sind, isoliert und näher charakterisiert. Mittels Y2H-System wurde die Kinasedomäne der GNE als wichtige Komponente für die Oligomerisierung identifiziert. Außerdem konnten mittels Y2H-Screening gegen eine cDNA-Genbank aus fötalem humanem Hirn vier interagierende Proteine isoliert werden. Diese vier Proteine sind CRMP-1, PLZF, RIF 1 und KIAA 1549. Die Interaktion von CRMP-1 mit GNE konnte durch Co-Immunpräzipitationen bestätigt werden. Ebenso konnte die Interaktion von PLZF mit GNE durch *pull down*-Assays bestätigt werden. Nach der Isolation embryonaler Stammzellen wurden diese zunächst genotypisch mittels PCR und biochemisch mittels Enzym-Assay charakterisiert. Anschließend wurden ihre Stammzellmarker bestimmt, um die Pluripotenz der Zellen sicherzustellen. Des Weiteren wurden WT- und KO-ES-Zellen unter serumhaltigen und serumfreien Bedingungen kultiviert und bezüglich ihrer Sialinsäurekonzentration (Resorcinol-Assay) und Oberflächensialylierung (FACS) miteinander verglichen. Anschließend wurden die KO-ES-Zellen mit dem Sialinsäurevorläufer ManNAc inkubiert, um das Defizit an Sialinsäuren auszugleichen. Dabei wurde herausgefunden, dass eine Konzentration von 1-3 mM ManNAc ausreichend ist, um die Sialylierung der KO-ES-Zellen auf das Niveau der WT-ES-Zellen anzuheben. Die Proliferation der ES-Zellen wurde ebenfalls unter verschiedenen Kulturbedingungen untersucht, wobei kein Unterschied zwischen WT- und KO-ES-Zellen festgestellt werden konnte.