
ZUSAMMENFASSUNG

Eine der großen Herausforderungen der Genomforschung liegt in der Vertiefung unseres Verständnisses vom komplexen Zusammenwirken von Proteinen in physiologischen Kontexten. Dafür ist es auch notwendig, zur funktionellen Annotation der beachtlichen Anzahl von uncharakterisierten menschlichen Proteinen beizutragen. Ziel dieser Arbeit war es, Einsichten in die Funktion der Proteine zu erlangen, die auf dem menschlichen Chromosom 21 (Hsa21) kodiert sind, und regulatorische Netzwerke zu identifizieren, die relevant für die Entstehung des Down-Dyndroms (DS) sein könnten. Dazu wurden zunächst 206 bekannte protein-kodierende Sequenzen (*open reading frames*, ORFs) vervielfältigt und kloniert oder aus verfügbaren ORF-Klonsammlungen übernommen. Die resultierende Kollektion von Hsa21-ORF-Klonen stellt die umfangreichste bisher beschriebene dar, mit einer Abdeckung von 81% der bekannten ORFs. Eine hohe Erfolgsrate (80%) wurde auch bei der rekombinanten Herstellung von entsprechenden Proteinen erzielt, so daß die folgenden funktionellen genomischen Analysen auf einer soliden Grundlage beruhen.

Zur Ermittlung der subzellulären Lokalisierung von Proteinen im Hochdurchsatz-Verfahren wurden 89 Konstrukte, die N-terminal markierte Proteine kodierten, auf transfizierten Zell-Arrays in HEK293T-Zellen eingeführt. So konnten Informationen zur Lokalisierung von 52 der 89 untersuchten Hsa21-Proteine (58%) gewonnen werden, wobei 28 dieser Lokalisierungen zum ersten Mal überhaupt beschrieben wurden (veröffentlicht in Hu *et al.* 2006). Alle ermittelten Lokalisierungen wurden in die öffentliche Gen-Ontologie (GO)-Datenbank eingetragen.

Zur Identifikation von Protein-Protein-Interaktionen (PPIs) wurden 53 nicht-autoaktivierende Konstrukte im Hefe-Interaktionssystem (*yeast two-hybrid*, Y2H) gegen eine Sammlung von 5.640 menschlichen Proteinen selektiert. Dazu wurde ein automatisiertes Hochdurchsatz-Y2H-System verwendet, mittels dessen 56 neue Interaktionen für 24 verschiedene Hsa21-Proteine gefunden wurden. Dreiundzwanzig der neuen PPIs konnten in unabhängig durchgeführten Kotransformations-Y2H-Ansätzen bestätigt werden (56% von 41 getesteten PPIs). Experimente zur zellulären Ko-Lokalisierung in COS-1-Zellen sowie biochemische Interaktions-Tests (*pull-down assays*) bestätigten die PPIs für fünf von sechs getesteten Proteinpaaren (83%).

Zudem wurden alle bereits bekannten Interaktionsdaten für Hsa21-Proteine aus öffentlichen Datenbanken erfasst. Auf diese Weise konnte ein Datensatz geschaffen werden, der insgesamt 684 Interaktionen für 108 verschiedene Hsa21-Proteine enthält und damit der umfangreichste bisher für dieses Chromosom beschriebene ist. Im nächsten Schritt wurde dann ein Proteom-weites Interaktionsnetzwerk errechnet, indem indirekte Protein-Interaktoren in den verfügbaren Interaktions-Datensätzen ermittelt wurden. Die Analyse von Transkriptionsfaktoren in diesem Netzwerk zeigte eine bemerkenswerte Vernetzung von 13

Hsa21-kodierten Faktoren über Protein-Protein-Interaktionen. Eine detaillierte Betrachtung der Funktionen von Sub-Netzwerken für die Hsa21-Proteine NRIP1, UBE2G2, PCP4, MCM3AP und C21orf127 offenbarte neue funktionelle Zusammenhänge. Die Untersuchung der Verbindungen von Hsa21-Proteinen zu zellulären Signalübertragungswegen zeigte neun Verbindungen auf. Von diesen wurden einige bereits vorher mit der Pathogenese des Down-Syndroms in Verbindung gebracht, wohingegen andere hier zum ersten Mal in diesem Kontext beschrieben werden.

Auch in Zukunft wird der Ausbau des bekannten Hsa21-Interaktionsnetzwerks einen Beitrag dazu leisten, neue Proteinfunktionen und regulatorische Netzwerke zu identifizieren. Die hier beschriebenen Ergebnisse zeigen, daß Hsa21-Protein-Interaktionsnetzwerke nützliche Hilfsmittel darstellen, um die biologischen Kontexte von neu ermittelten Protein-Interaktionen zu verdeutlichen, und daher ein unerläßliches Werkzeug für einen systembiologische Ansatz zum Down-Syndrom bilden.