

6 ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurden die chromosomalen Bruchpunkte bei fünf mental retardierten Patienten und einer balancierten Translokation untersucht, um sowohl X-chromosomale als auch autosomale Gene zu finden, die für kognitive Funktionen bedeutsam sein könnten. Basierend auf dem bereits bekannten Zusammenhang zwischen X-chromosomalen Genen und mentaler Retardierung und den praktischen Vorteilen von Untersuchungen am X-Chromosom wurden zunächst drei Patientinnen mit einer X;Autosom-Translokation untersucht. Die molekulare Charakterisierung ergab für zwei dieser drei Patientinnen keinerlei Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen mentaler Retardierung und dem X-chromosomalen Bruchpunkt. Hingegen konnte in der dritten Patientin, die den ausgeprägtesten Phänotyp aufweist, eine Unterbrechung des Zink-Finger 41 (*ZNF41*) Gens nachgewiesen werden. Diese Unterbrechung hatte zur Folge, dass ein vollständiges Transkript des *ZNF41* Gens in einer Zelllinie der Patientin nicht nachweisbar war, welches nahelegt, dass ein funktionelles *ZNF41* Protein ebenfalls fehlt. Die Analyse von *ZNF41* in nicht verwandten Familien mit X-chromosomal vererbter mentaler Retardierung (XLMR) führte zur Identifizierung von zwei Basenaustauschen, welche sehr wahrscheinlich krankheitsrelevant sind, da sie in 400 Kontrollchromosomen nicht gefunden werden konnten. Eine der Mutationen verursacht den Austausch eines Prolins durch ein Leucin (P111L) im *ZNF41* Protein. Die andere Mutation befindet sich am Exon-Intron-Übergang und beeinträchtigt eine konservierte Spleissstelle (479-42A>C). Hieraus resultiert der Verlust einer spezifischen Spleissvariante von *ZNF41* in der Zelllinie des Patienten. Beide Mutationen führten zu einer vergleichsweise milden mentalen Retardierung. Das *ZNF41* Gen wird in vielen Geweben exprimiert, inklusive im fötalen und adulten Hirn, und ist an der molekularen Repression der Transkription beteiligt. Ein derartiger Zusammenhang zwischen mentaler Retardierung und Transkriptionsregulation wurde bereits für andere ubiquitär exprimierte Gene gezeigt, wie z.B. für das Methyl-CpG-bindende Protein 2 Gen *MECP2*, oder für das Helicase-kodierende Gen *ATRX*. Zusammen mit diesen Daten erscheint das *ZNF41* Gen als besonders relevanter, neuer Kandidat für die genetische Grundlage der mentalen Retardierung.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden ebenfalls zwei Patienten mit schwerer mentaler Retardierung und einer autosomalen Translokation untersucht. Die molekularcytogenetischen Untersuchungen zeigten zunächst, dass bei beiden Patienten ein bereits detailliert charakterisiertes Kandidatengen im Bruchpunktbereich vorliegt: bei einer Patientin das hirnspezifisch exprimierte Forkhead-Transkriptionsfaktor *FOXG1B* Gen, bei dem anderen Patienten das überwiegend im Gehirn exprimierte C-Jun-N-terminale Kinase 3 (*JNK3*) Gen. Eine genauere, sequenzbasierte Analyse dieser beiden Bruchstellen ergab, dass das *FOXG1B*-Gen intakt vorlag, während das *JNK3*-Gen direkt unterbrochen war. Alle weiteren Untersuchungen konzentrierten sich daher auf *JNK3*. *JNK3* spielt eine bekannte Rolle in der Regulation der neuronalen Apoptose, und wurde kürzlich mit einem direkten Einfluss auf die Differenzierung neuronaler Strukturen in Zusammenhang gebracht. Der Bruchpunkt im *JNK3* Gen führt zu der Expression eines trunkierten *JNK3* Proteins in der lymphoblastoiden Zelllinie des Patienten. Die Überexpression einer derartigen *JNK3* Mutante in verschiedenen Zelllinien, einschliesslich HeLa and Neuro2A, zeigte eine Aggregation des trunkierten Proteins, während die Kontroll-Überexpression eines Wildtyp-*JNK3*-Proteins dieses Verhalten nicht aufzeigte. Zusammengenommen lässt dies annehmen, dass die Expression eines trunkierten *JNK3* Proteins im Menschen zu einer aberranten, intrazellulären Aggregation dieses Proteins führt. Dies lässt vermuten, dass der ausgeprägte neurologische Phänotyp des Patienten aus einem partiellen *JNK3* Funktionsverlust beim Neuritenwachstum und einem dominanten Effekt des trunkierten *JNK3* Proteins auf die normale GTPase-vermittelte Signalübertragung resultiert. Dieser Mechanismus stellt eine plausible Erklärung für den beobachteten, schweren Phänotyp des Patienten dar.

Zusammengefasst legen die vorgenannten Daten nahe, dass die Analyse von krankheitsassoziierten balancierten Translokationen einen effizienten Ansatz darstellen, Kandidatengene zu identifizieren. Durch die Untersuchung von fünf Indexpatienten konnten im Rahmen dieser Arbeit zwei neue Kandidatengene für die mentale Retardierung gefunden werden. Die mögliche Bedeutung dieser Gene wurde durch mutationsanalytische und molekularbiologische Methoden untermauert. Drittens unterstützen die Ergebnisse die kürzlich aufgestellten Hypothesen, dass sowohl die Kontrolle des Chromatinbaus, als auch die Feinregulation der GTPase-vermittelten Signalübertragung eine essentielle Rolle in der normalen Entwicklung und Funktion des menschlichen Gehirns spielen.