

### II Zielsetzung der Arbeit

Die UDP-*N*-Acetylglucosamin-2-epimerase/*N*-Acetylmannosamin-kinase (GNE) setzt das Substrat UDP-GlcNAc zu ManNAc um und phosphoryliert es anschließend an der C-6-Position. Da dieser Schritt irreversibel und geschwindigkeitsbestimmend ist, ist die GNE das Schlüsselenzym der Sialinsäurebiosynthese. Punktmutationen im GNE-Gen führen zu den Krankheiten Sialurie bzw. erblicher Inclusion-Body-Myopathie (h-IBM). Im Rahmen dieser Arbeit sollen die humanen und murinen GNE-Isoformen auf der Basis neu entdeckter Spleißvarianten definiert werden. Sie sollen kloniert und über das BAC-TO-BAC®-Baculovirus-System in Insektenzellen exprimiert werden. Die genaue biochemische Charakterisierung der einzelnen Proteine ist ein weiteres Ziel dieser Arbeit. Zunächst sollen Enzymaktivitäten sowie Enzymkinetiken bestimmt und die Quartärstruktur der einzelnen Isoformen definiert werden. Ferner soll der Zusammenhang zwischen Enzymaktivität und Quartärstruktur genauer untersucht werden. Schließlich sollen die spezifischen Gewebsverteilungen der Proteine bestimmt werden.

Der Pathomechanismus der h-IBM ist bis heute nicht geklärt. Es besteht wahrscheinlich kein singulärer Zusammenhang zwischen einer eingeschränkten enzymatischen Funktion der GNE durch die Punktmutationen, der Expression von Sialinsäuren auf der Zelloberfläche und dem Ausbruch der Krankheit. Eher sind eine oder mehrere Funktionen, die die GNE neben der Sialinsäurebiosynthese besitzen könnte, gestört. Um die unterschiedlichen Funktionen der GNE besser zu verstehen, soll die GNE auf mögliche Interaktionen mit anderen Proteinen näher untersucht werden. Proteine, die bei h-IBM phänotypisch ähnlichen Erkrankungen mutiert sind, gelten als aussichtsreiche Kandidaten, ebenso wie Proteine die in Two-Hybrid-Screens als potentielle Interaktionspartner identifiziert worden sind. Diese Protein-Protein-Interaktionen sollen verifiziert und aufgrund von eventuellen Fehlregulationen in Verbindung zur h-IBM gebracht werden, so daß der Pathomechanismus der Krankheit besser verstanden werden kann.