

Autosomal rezessive kongenitale Ichthyosen (ARCI) bilden eine sowohl klinisch als auch genetisch heterogene Gruppe schwerer epidermaler Keratinisierungsstörungen. Die generalisierte, am ganzen Körper auftretende Schuppung der Haut variiert von Patient zu Patient in Farbe, Form und Festigkeit der Schuppen und ist abhängig von Alter, Körperregion, Klima und Pflegezustand des Betroffenen. Weitere klinische Zeichen sind palmoplantare Hyperkeratose und erythematöse Haut. Bis heute sind sechs Genorte und die zugehörigen Gene für ARCI identifiziert worden.

Zu Beginn dieser Arbeit im Sommer 2002 waren erst drei ursächliche ARCI-Gene, *TGM1*, *ALOX12B* und *ALOXE3*, bekannt. *ALOX12B* und *ALOXE3* bestehen aus je 15 Exons und kodieren für zwei epidermale Lipoxygenasen, 12R-LOX und eLOX-3. In dieser Arbeit wurden über 200 unabhängige Patientenproben aus Deutschland, Belgien, Indien und der Türkei auf Mutationen in den Genen *ALOX12B* und *ALOXE3* durch Sequenzierung aller Exons hin überprüft. Insgesamt fanden sich so in 26 nicht-verwandten ARCI-Familien 20 verschiedene Mutationen, davon waren 15 Missense-Mutationen.

Um zu überprüfen, ob jede der 15 gefundenen Missense-Mutationen die Enzymaktivität der Lipoxygenasen (12R-LOX bzw. eLOX-3) zerstören und sich so der ARCI-Phänotyp erklären läßt, wurden Mutanten generiert, indem jede gefundene Missense-Mutation in rekombinantes *ALOX12B* bzw. *ALOXE3* durch gerichtete Mutagenese eingeführt wurde. Die Mutanten wurden exprimiert und einem Aktivitätstest mit genuinem Substrat unterworfen. Die Produkte des Aktivitätstest wurden mit RP-HPLC analysiert.

Hier konnte gezeigt werden, daß, mit einer Ausnahme, alle Mutanten im Aktivitätstest inaktiv waren. Dies zeigte den Funktionsverlust durch die Missense-Mutationen und den Zusammenhang zwischen Mutationen in den Genen *ALOX12B/ALOXE3* und der Krankheit ARCI. Nonsense- und Spleißstellen-Mutationen (mit Frameshift) führen immer zum Verlust des Proteins und waren nicht funktionell untersucht worden. Die exonische Mutation c.434G>A, welche im Funktions-Test aktiv gewesen war, stellte sich später als Spleiß-Stellen-Mutation heraus, dies konnte experimentell bestätigt werden.

Eine Genotyp/Phänotyp-Korrelation wurde für ARCI-Patienten mit Mutationen in den Genen *ALOXE3* und *ALOX12B* erstellt. Diese Korrelation läßt den Schluß zu, daß ARCI-Patienten mit Mutationen in den epidermalen LOX-Genen grundsätzlich einen milden Phänotyp zeigen.

Mutationen in *Ichthyin* bei Patienten mit ARCI sind zuerst von Lefèvre et al. 2004 beschrieben worden. In der hier vorliegenden Arbeit sind 182 unabhängige Patienten mit ARCI auf Mutationen im Sechs-Exon-Gen *Ichthyin* hin untersucht worden. Insgesamt fanden sich auf 40 Chromosomen von 31 Familien fünf unterschiedliche Mutationen in diesem wenig charakterisierten Gen. Allerdings fanden sich auch zwei der in Patienten beschriebenen Mutationen auf 26 von 288 Kontroll-Chromosomen. Für beide in Kontrollen gefundenen Mutationen ergaben sich Allelhäufigkeiten größer als 1 %.

Da *Ichthyin* und sein Genprodukt wenig untersucht sind, wurde in dieser Arbeit eine Charakterisierung des Ichthyin-Proteins unternommen und versucht, die in Patienten und Kontrollen identifizierten Mutationen einzuordnen und zu werten. Für weitere funktionelle Untersuchung wurde die cDNA des *Ichthyins* kloniert und polyklonale Antikörper gegen das Protein generiert.