

Zusammenfassung

Zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP) und zyklisches Guanosinmonophosphat (cGMP) sind wichtige intrazelluläre Botenstoffe. Die Bindung zyklischer Nukleotide beeinflusst in vielen Zellen die Funktion von Proteinkinasen, Ionenkanälen und Guaninnukleotid-Austauschfaktoren. Das SCNBP (*soluble cyclic nucleotide-binding protein*) ist ein bisher uncharakterisiertes Protein, für das eine Bindestelle für zyklische Nukleotide vorhergesagt wird. Es kann keiner bisher bekannten Gruppe von Zielproteinen für zyklische Nukleotide zugeordnet werden. In 17 verschiedenen Spezies - vom marinen Invertebraten bis zum Menschen - findet man Gene, die zum Maus-SCNBP ortholog sind. Demnach könnte das SCNBP einer neuen Proteinklasse angehören, die durch zyklische Nukleotide reguliert wird. In Northernblot-Experimenten wurde gezeigt, dass SCNBP-mRNA in der Maus im Wesentlichen im Hoden vorkommt. Mittels *in situ* Hybridisierung wurde SCNBP-mRNA spezifisch in Spermatozyten des Maushodens nachgewiesen. In dieser Arbeit wurde die Expression des SCNBP im Maushoden auf Proteinebene untersucht. Ich konnte zwei unterschiedliche SCNBP-Varianten nachweisen. Um Hinweise auf die physiologische Funktion des SCNBP zu erhalten, habe ich mögliche Interaktionspartner im Maushoden durch Immunpräzipitation und Massenspektrometrie identifiziert. Für eine umfassende biochemische Charakterisierung wurde das SCNBP heterolog in CHO (*chinese hamster ovary*)-Zellen exprimiert. Nach Fermentation dieser Zellen in einem Rührkesselbioreaktor habe ich das SCNBP affinitätschromatographisch gereinigt.

Abstract

Cyclic adenosine monophosphate (cAMP) and cyclic guanosine monophosphate are important intracellular messengers. Binding of cyclic nucleotides controls the activity of protein kinases, ion channels and guanine-nucleotide-exchange factors in many cells. The SCNBP (soluble cyclic nucleotide-binding protein) is a novel uncharacterized protein predicted to comprise a cyclic nucleotide-binding domain. This protein belongs to neither of the known families of effector proteins for cyclic nucleotides. Within 17 distinct species - from marine invertebrates to humans - genes orthologous to the mouse SCNBP are present. Hence, the SCNBP could belong to a novel class of effector proteins for cyclic nucleotides. Northern blot experiments with mouse tissue indicate that the mRNA of SCNBP is expressed predominantly in the testis and by means of *in situ* hybridization it was specifically detected in spermatocytes. In the present study, SCNBP expression has been analyzed in mouse testis utilizing specific antibodies. I could provide evidence that two distinct SCNBP variants are present in mouse testis. To approach the physiological function of SCNBP, I identified by immunoprecipitation and mass spectrometry proteins in mouse testis that potentially interact with SCNBP. For a comprehensive biochemical study, SCNBP was heterologously expressed in Chinese hamster ovary (CHO) cells. Following fermentation of these cells in a stirred tank bioreactor I purified SCNBP by affinity chromatography.