

Zusammenfassung

Kapitel 1: DUF 926 enthaltende Proteine: von *Dictyostelium* bis zu Säugern

Die DUF 926 Domäne ist von niederen bis zu höheren Eukaryoten hoch konserviert. In Säugetieren gibt es zwei DUF 926 Domänen enthaltende Proteine, NKAP (NF kappa beta activating protein) und NKAP-L (NF kappa beta activating protein-Like). Im Gegensatz zu Säugetieren enthält das *Dictyostelium discoideum* Genom nur ein Protein mit einer DUF 926 Domäne. In *D. discoideum* wurde dieses Protein als nukleärer Interaktionspartner von SUN1, einem Protein der inneren Kernmembran, identifiziert. DdNKAP besitzt eine N-terminale Domäne, die Arginin-Serin (RS)-Wiederholungen mit stark basischen Aminosäuren enthält; die DUF 926 Domäne ist am C-Terminus lokalisiert. In Säugern fungiert NKAP als Transkriptionsrepressor und wird für die T-Zell Entwicklung, die Reifung und das Erlangen funktioneller Kompetenz benötigt. Außerdem ist NKAP wichtig für die Aufrechterhaltung und das Überleben adulter hematopoetischer Stammzellen. Jedoch ist der molekulare Mechanismus, der diesen Funktionen zugrunde liegt, bis jetzt schlecht verstanden. In detaillierten Analysen von NKAP haben wir herausgefunden, dass NKAP während der Interphase eine punktförmige Verteilung im Zellkern besitzt und dass es sich während der Mitose in das Zytosol verteilt.

D. discoideum Zellen, welche ektopisch DdNKAP exprimieren, weisen schwere Wachstumsdefekte, eine Verspätung von Strömungs-, Aggregatbildung und Chemotaxis auf. Eine Überexpression des N-Terminus führte ebenfalls zu einem Wachstumsdefekt, jedoch waren Strömungsverhalten und Aggregatbildung nicht verstärkt. Diese Effekte wurden begleitet von erhöhter chemotaktischer Geschwindigkeit und gesteigerter Beweglichkeit. Um die Funktion von DdNKAP besser verstehen zu können, haben wir mit Hilfe von micro array Studien Genexpressionsprofile erstellt. Diese Studien zeigten, dass Gene, die an der Zellstressantwort beteiligt sind, hoch reguliert werden, und Gene, welche in der Translation benötigt werden, herunter reguliert werden. Abschließend lässt sich sagen, dass *Dictyostelium* DdNKAP ist an Genregulation, Wachstum und Aggregation beteiligt.

Wie DdNKAP lokalisiert auch NKAP während der Interphase im Nukleus und verteilt sich während der Mitose ins Zytosol. Im Nukleus ist NKAP besonders in nuklearen Flecken (nuclear speckles) zu finden. Des Weiteren rundeten sich NKAP positive

Strukturen nach Actinomycin D-Behandlung ab und die Größe der (nuclear speckles) nahm zu. Zusätzlich zeigen wir, dass NKAP nicht während der G0 Phase exprimiert wird. Co-Immunopräzipitationsstudien enthüllten, dass NKAP mit verschiedenen RNA-bindenden-Proteinen interagiert, einschließlich FUS, ein Protein, welches eine wichtige Rolle in der RNA Biogenese spielt. Zuzüglich konnten wir zeigen, dass NKAP sowohl mit prä-mRNA als auch mit gespleißter mRNA interagiert. Wir schliessen aus unseren Ergebnissen, dass NKAP eine wichtige Rolle in dem Fortschreiten des Zellzyklus und RNA Biogenese spielt.

Kapitel 2: Die Regulierung des Aktin Zytoskeletts durch eine Interaktion desIQGAP-verwandten- Proteins GAPA mit Filamin und Cortexillin

In *Dictyostelium discoideum* fungieren Filamin und Cortexillin als F-Aktin quervernetzende Proteine, um aus Aktinfilamenten dreidimensionale Netzwerke zu bilden. GAPA, ein IQGAP verwandtes Protein, wird für die Cytokinese benötigt und ist während der Cytokinese an der Teilungsfurche verortet. In dieser Arbeit beschreiben wir eine neuartige Interaktion mit Filamin, welche für die Cytokinese und des Weiteren zur Regulation des F-Aktin Gehalts benötigt wird. Diese Interaktion wird durch die aktinbindende Domäne von Filamin und die GRD Domäne von GAPA vermittelt. Eine ähnliche Interaktion findet mit Cortexillin I statt. Des Weiteren berichten wir, dass Filamin mit aktiviertem Rac assoziiert, welches darauf hinweist, dass Filamin als Gerüstprotein für kleine GTPasen agiert. Filamin und aktiviertes Rac verbinden sich mit GAPA, um die Aktin-Umgestaltung zu regulieren. Filamin und GAPA Überexpressionsstudien in verschiedenen *Dictyostelium*-Linien deuten darauf hin, dass GAPA das Aktin Zytoskelett durch eine Interaktion mit Filamin reguliert und dass es die Cytokinese durch eine Assoziation mit Filamin und Cortexillin kontrolliert.