

Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurde in einer computergestützten Strategie eine neue Familie von Proteinsequenzen identifiziert, die anschließend durch heterologe Expression im *Saccharomyces cerevisiae* biochemisch als Sphingolipid- Δ 4-Desaturasen charakterisiert wurden.

Die computergestützte Strategie zur Identifizierung der neuen Proteinfamilie bestand aus drei Stufen. Die erste Stufe war die Erstellung einer möglichst umfassenden Sammlung membrangebundener Desaturasen und Hydroxylasen mit Hilfe des Datenbank-Suchprogramms PSI-Blast. Die zweite Stufe war die Einteilung der mit PSI-Blast erstellten Sammlung an Sequenzen in Familien. Diese Einteilung wurde zunächst manuell anhand von phylogenetischen Stammbäumen vorgenommen. Später wurde zusätzlich eine automatische Einteilung mit Hilfe des Programmes TRIBE-MCL durchgeführt, die zu sehr guten Ergebnissen führte. In der dritten Stufe wurde eine Familie von Proteinsequenzen identifiziert, die als putative Sphingolipid- Δ 4-Desaturasen angesehen werden konnten.

Die heterologe Expression im *S. cerevisiae*-Stamm TDY2037-*sur2* Δ zeigte, dass es sich tatsächlich um eine Familie von Sphingolipid- Δ 4-Desaturasen handelte. Eine Sphingolipid- Δ 4-Desaturase-Aktivität konnte für die Familienmitglieder aus dem Menschen (*Homo sapiens*), der Maus (*Mus musculus*), der Fruchtfliege (*Drosophila melanogaster*) und der Hefe *Candida albicans* nachgewiesen werden. Einzig die Sequenz aus der Tomate (*Lycopersicon esculentum*) zeigte keine Aktivität. Eines der beiden untersuchten Enzyme aus *M. musculus* zeigte zusätzlich eine Sphingolipid-C4-Hydroxylase-Aktivität. Es handelt sich bei diesem Enzym also um eine bifunktionale Sphingolipid- Δ 4-Desaturase/C4-Hydroxylase.

Drei der in dieser Arbeit als Sphingolipid- Δ 4-Desaturasen charakterisierten Proteine waren bereits zuvor mit molekularbiologischen Methoden untersucht worden, ohne dass ihre biochemische Aktivität bekannt war. Dies waren *H. sa-*

piens DES1 (MLD), *M. musculus* Des1 (Mdes) und *D. melanogaster* DES-1. Die Aktivität von DES-1 ist für einen normalen Ablauf der Spermatogenese in *D. melanogaster* nötig. In der *des*-Mutante ist das Fortschreiten des Zellzyklus und die Differenzierung der Spermatiden am Beginn der ersten meiotischen Teilung blockiert (K. ENDO, T. AKIYAMA, S. KOBAYASHI und M. OKADA (1996) *Mol. Gen. Genet.* 253, 157–165). Die Charakterisierung des DES-1-Proteins als Sphingolipid- Δ^4 -Desaturase zeigt, dass es eine bisher unbekannte Verknüpfung zwischen Δ^4 -ungesättigten Sphingolipiden oder den Enzymen ihrer Biosynthese und der Steuerung der Spermatogenese gibt.