

**Identifizierung und Charakterisierung von VLIG-1,
einer neuen Interferon-induzierten GTPase**

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität zu Köln

vorgelegt von
Thorsten Klamp
aus Köln

Köln 2002

Berichtserstatter:

Prof. Dr. J. C. Howard

Prof. Dr. J. Dohmen

Tag der Mündlichen Prüfung:

13.02.2002

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abkürzungsverzeichnis	V
1. Einleitung	1
1.1 Interferone und die Zytokin-Superfamilie	1
1.2 Interferon-Typ II	2
1.2.1 Das IFN- γ Gen und Protein	2
1.2.2 Zelluläre Produzenten und Regulation der IFN- γ Expression	2
1.2.3 Der IFN- γ Rezeptor	4
1.2.4 Der IFN- γ Signaltransduktionsweg	4
1.2.5 Transkriptionelle Regulation von IFN- γ Antwortgenen	5
1.2.6 Alternative IFN- γ Signaltransduktionswege	6
1.3 Interferon-Typ I	8
1.3.1 Interferon-Typ I: Gene und Proteine	8
1.3.2 Zelluläre Produzenten und Regulation der Interferon-Typ I Expression	8
1.3.3 Der Interferon-Typ I Rezeptor	11
1.3.4 Der Interferon-Typ I Signaltransduktionsweg	11
1.3.5 Transkriptionelle Regulation von Interferon-Typ I Antwortgenen	12
1.3.6 Alternative Interferon-Typ I Signaltransduktionswege	13
1.4 Primäre und sekundäre Antwort auf Interferone	16
1.4.1 Sekundäre Transkriptionsfaktoren des Interferon-Typ I und Typ II Signaltransduktionsweges	16
1.5 Negative Regulation der zellulären Antwort auf Interferone	18
1.6 Interferon-Typ I und Typ II induzieren teilweise überlappende Zellantworten	20
1.7 Die Komplexität der zellulären Antwort auf Interferone	22
1.8 Zellautonome Resistenzprogramme innerhalb der zellulären Antwort auf Interferone	24

1.8.1	Zellautonome antivirale Resistenzmechanismen der Interferon-Antwort	25
1.8.2	Zellautonome antimikrobielle Resistenzmechanismen der IFN- γ Antwort	27
1.9	Interferon-induzierte GTPasen als Bestandteile zellautonomer Resistenzmechanismen	28
1.9.1	Die p65 GTPase Familie	31
1.9.2	Die p47 GTPase Familie	33
1.10	Zielsetzung der Arbeit	35
2.	Material und Methoden	37
2.1	Mäuse	37
2.1.1	Mausstämme	37
2.1.2	Infektion mit <i>Listeria monocytogenes</i>	37
2.2	Molekularbiologie	37
2.2.1	Sichtung der gröbenselektionierten λ -cDNA Banken aus IFN- γ stimulierten C57BL/6J embryonalen Fibroblasten	38
2.2.2	Sichtung einer Erststrang 3'-RACE cDNA Bank aus IFN- γ stimulierten C57BL/6J embryonalen Fibroblasten	38
2.2.3	Sichtung genomischer DNA-Bibliotheken	39
2.2.4	Analyse der BAC-, bzw. PAC-DNA	40
2.2.5	Subklonierung der BAC-DNA in Cosmide	40
2.2.6	Analyse der Cosmid-DNA	41
2.2.7	Isolation genomischer DNA	41
2.2.8	PCR-Analyse	42
2.2.9	Southern Blot Analyse	42
2.2.10	DNA-Sequenzierung und Analyse von DNA-Sequenzen	43
2.2.11	Herstellung von GST-VLIG-1 Fusionsproteinen	43
2.2.12	Herstellung eines das EGFP-VLIG-1 Fusionsprotein kodierenden Plasmides	44
2.2.13	RNA-Extraktion	45
2.2.14	Northern Blot Analyse	45
2.2.15	RNase Schutzexperiment -Analyse (RPA)	46

2.3	Biochemische Methoden	47
2.3.1	Expression und Reinigung der GST-VLIG-1 Fusionsproteine	47
2.3.2	Herstellung von polyklonalen α -VLIG-1 Antiseren	48
2.3.3	Herstellung von Zellsolubilisaten	49
2.3.4	Western Blot Analyse	49
2.3.5	Nukleotid-Binde- und Kompetitions-Experimente	50
2.3.6	Biosynthetische Markierung von Proteinen mit [³⁵ S]-Methionin	51
2.3.7	Immunopräzipitation	52
2.3.7	Pulse-Chase Analysen	52
2.3.8	Ko-Immunopräzipitationen	53
2.4	Zellbiologie	53
2.4.1	Zell-Linien	54
2.4.2	Stimulation von Zellen	54
2.4.3	Fraktionierung von Zellen	55
2.4.4	Herstellung und Analyse der transienten EGFP-Transfektanden	56
2.4.5	Indirekte Immunofluoreszenz Analyse	57
3.	Ergebnisse	58
3.1	Vorarbeiten	58
3.2	Identifizierung der vollständigen cDNA und Sequenzanalyse von VLIG-1	59
3.3	Vergleichende Sequenzanalyse der GTP -Bindungsdomäne von VLIG-1	65
3.4	Genomische Struktur von VLIG-1, chromosomale Lokalisierung und erste Hinweise auf eine VLIG-Genfamilie	67
3.5	Identifikation und Sequenzanalyse der Promotorregion von VLIG-1	70
3.6	Identifikation und Aufbau der murinen C57BL/6J VLIG-Familie	71
3.7	Identifikation und Sequenzanalyse eines humanen Homologes von VLIG-1	75
3.8	Identifikation und Sequenzanalyse von VLIG-1 Homologen in anderen Vertebraten	81
3.9	Charakterisierung der konstitutiven VLIG-1 Expression in verschiedenen Geweben	83
3.10	<i>In vivo</i> Induktion von VLIG-1 in der Leber <i>Listeria monocytogenes</i> infizierter Mäuse	84

3.11	<i>In vitro</i> Charakterisierung des Induktionsprofils von VLIG-1	85
3.12	Analyse der Zeit- und Dosis-abhängigen, Interferon-vermittelten Induktion von VLIG-1 auf mRNA und Proteinebene	88
3.13	Analyse der mRNA- und Protein-Stabilität von VLIG-1	92
3.14	Polymorphismus von VLIG-1 in Mäusen mit unterschiedlichem genetischen Hintergrund	95
3.15	Klassifizierung von VLIG-1 als gemischtes IFN- γ Antwortgen	101
3.16	Das VLIG-1 Protein bindet GDP effizienter als GTP	104
3.17	Interaktionspartner des VLIG-1 Proteins konnten nicht identifiziert werden	107
3.18	Subzelluläre Lokalisierung des VLIG-1 Proteins	108
4.	Diskussion	115
4.1	Identifizierung von VLIG-1 cDNA Fragmenten mit Hilfe der SSH-Technik	115
4.2	Analyse der VLIG-1 cDNA Klone	117
4.3	Analyse der Struktur und biochemischen Eigenschaften des VLIG-1 Proteins	118
4.3.1	Analyse der VLIG-1 GTP-Bindungsdomäne und Identifizierung des G4-Motivs	118
4.3.2	Analyse der strukturellen Verwandtschaft der VLIG-1 GTP-Bindungsdomäne zu der von anderen GTPasen	119
4.3.3	Biochemische Charakterisierung des VLIG-1 Proteins	120
4.4	Analyse der genomischen Struktur von VLIG-1	121
4.5	Aufbau und Struktur der murinen VLIG-Familie	122
4.6	Speziesübergreifende Analyse der VLIG-Familie	125
4.7	Analyse des VLIG-1 Polymorphismus	126
4.8	Analyse der VLIG-1 Expression <i>in vivo</i>	128
4.8.1	Analyse der konstitutiven VLIG-1 Expression	128
4.8.2	Analyse der <i>in vivo</i> Induktion von VLIG-1 nach Infektion mit <i>Listeria monocytogenes</i> und die Bedeutung von TNF- α in der transkriptionellen Regulation von VLIG-1	129
4.9	Vergleichende Analysen der <i>in vitro</i> Induktion von VLIG-1 mit Mitgliedern der p47 und p65 GTPasen	130

4.10	Charakterisierung von VLIG-1 als gemischtes IFN- γ Antwortgen	134
4.11	Das VLIG-1 Protein ist prädominant im Zytoplasma aber auch am Nukleus lokalisiert	136
4.12	Weiterführende Experimente	139
5.	Abstract/Zusammenfassung	141
6.	Literaturverzeichnis	145
7.	Anhang	182
	Danksagungen	203
	Curriculum Vitae	205
	Eine Liste IFN-g regulierter Gene, Version 2.0	206

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AK	Antikörper
APC	Antigenpräsentierende Zelle
APS	Ammoniumpersulfat
BAC	Bakterielles artifizielles Chromosom
BSA	Rinderserumalbumin
cDNA	komplementäre Desoxyribonukleinsäure
CDS	Protein kodierende Region
C-terminal	Carboxy-terminal
DMEM	Dulbecco Modified Eagles Medium
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DNase	Desoxyribonuklease
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EF	Embryonale Fibroblasten
EGFP	verstärkt grün-fluoreszierendes Protein
EST	"expressed sequence tag"
EtOH	Ethanol
FCS	Fötale Kälber-Serum
FITC	Fluoresceinisothoncyanat
FPLC	"fast protein liquid chromatography"
GAP	GTPase aktivierendes Protein
GST	Glutathion S Transferase
HRP	Meerrettich-Peroxidase
IL	Interleukin
IFN	Interferon
IPTG	Isopropylthiogalactosid
IRF	"interferon regulatory factor"
JAK	Janus Kinase
LPS	Lipopolysaccharide
N-terminal	Amino-terminal
ORF	Offenes Leseraster
PEG	Polyethylen Glykol
PBS	Phosphat-gepufferte Salzlösung
PCR	Polymerase Kettenreaktion
RACE	"rapid amplification of cDNA ends"
RNA	Ribonukleinsäure
RNase	Ribonuklease
RPA	RNase Schutzexperiment
RPMI	Roswell Park Memorial Institute Medium
RT	Raumtemperatur
SDS	Natriumdodecylsulfat
SDS-PAGE	SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese
SSH	Suppressions subtraktive Hybridisierung
STAT	"signal transducer and activator of transcription"
TBS	Tris-gepufferte Salzlösung
TNF	Tumornekrose Faktor
ÜN	über Nacht
WT	Wild-Typ

Maße und Einheiten:

'	Minute(n)
"	Sekunde(n)
	unendlich
Ø	Durchmesser
%	Prozent
%ige Lösung	Gramm in 100 ml Lösung
°C	Grad Celsius
aa	Aminosäure(n)
bp	Basenpaare
Ci	Curie (1 Ci = 3.7×10^7 cpm)
cpm	Zerfälle pro Minute
g	Erdbeschleunigung
g	Gramm
h	Stunde
kb	Kilobasenpaare
l	Liter
LD	Letale Dosis
m	Meter
M	molar
m ²	Quadratmeter
nt	Nukleotide
OD	Optische Dichte
PSL	"photo-stimulated luminescence"
rpm	Umdrehungen pro Minute
t	Zeit
U	Unit (Enzymeinheit)
v/v	Volumen pro Volumen
w/v	Gewicht pro Volumen

SI-Vorsätze für dezimale Vielfache und Teile:

c	Centi, 10^{-2}
m	Milli, 10^{-3}
µ	Mikro, 10^{-6}
n	Nano, 10^{-9}
p	Pico, 10^{-12}

1. Einleitung

1.1 Interferone und die Zytokin-Superfamilie

1957 beobachteten Isaacs und Lindenmann, daß die Inkubation tierischer Zellen mit Hitze-inaktivierten Influenza Viren, die Zellen vor einer nachfolgenden Infektion mit lebenden Viren schützte. Die Beeinträchtigung der Virus Replikation, bzw. Ausbreitung erfolgte dabei unabhängig von einer Assoziation der beiden Viren Spezies. Vielmehr wurde die inhibitorische Substanz, die sie als Interferon (von "interference with virus multiplication") bezeichneten, von den infizierten Zellen selbst produziert und sezerniert. Ferner beobachteten sie, daß dieses Protein nicht direkt mit dem Virus interagiert, sondern in den infizierten, wie auch in den sie umgebenden Zellen die Synthese von Proteinen induziert, die in der Lage waren die Vervielfältigung des eindringenden Virus zu blockieren [1].

1965 wurde von Wheelock im Rahmen viraler Infektionsstudien in einem Zellkultursystem ein ähnlicher antiviraler Effekt beschrieben [2]. Die von ihm beobachtete Resistenz humaner fötaler Lungenzellen gegenüber einer Sindbis Virus Infektion wurde dabei jedoch durch ein Protein vermittelt, daß von zuvor stimulierten Leukozyten sezerniert wurde. Dieses von ihm als "interferon-like virus inhibitor" bezeichnete Protein interagiert ebenfalls nicht direkt mit dem Virus, sondern aktivierte antivirale Resistenzmechanismen der Lungenzellen.

Die antivirale Aktivität der von Isaacs und Lindenmann, bzw. Wheelock entdeckten Proteine diente als Merkmal zur Definition der Interferon (IFN) Familie. Diese läßt sich basierend auf Kriterien ihrer Mitglieder, wie der Genstruktur, der zellulären Produzenten, der Rezeptorspezifität und der generellen biologischen Eigenschaften in zwei unterschiedliche Klassen einteilen, die Typ I Interferone (hauptsächlich IFN- α und IFN- β) und das Typ II Interferon (IFN- γ) [3, 4]. Der von Isaacs und Lindenmann entdeckte Virus-induzierten Virus-Inhibitor entspricht dabei IFN- β , während es sich bei dem von Wheelock identifizierten aus stimulierten Leukozyten stammenden Virus-Inhibitor um IFN- γ handelte.

Interferone gehören zu den Zytokinen, unter denen man allgemein kleine, lösliche Proteine oder Glykoproteine nicht-immunoglobulinartiger Natur versteht, welche als chemische Kommunikatoren zwischen Zellen fungieren und in autokriner oder parakriner Weise der Regulation von Zellfunktionen dienen, wobei sie jedoch nicht als direkte Effektor-Moleküle agieren. Die mehr als 40 Mitglieder der Zytokinfamilie werden von verschiedenen lebenden,

körpereigenen Zellen produziert und zumeist in den extrazellulären Raum sezerniert. Spezifische Zytokine können jedoch auch an der Zellmembran exprimiert oder als Zytokin-Reservoirs in der extrazellulären Matrix zurückgehalten werden [5, 6].

1.2 Interferon-Typ II

1.2.1 Das IFN- γ Gen und Protein

Interferon-Typ II (IFN- γ), das man auch als Immuninterferon bezeichnet, wird von einem in Einzelkopie vorliegendem Gen kodiert, welches beim Menschen auf Chromosom 12 und bei der Maus auf Chromosom 10 lokalisiert ist [7-9]. Die genomische Struktur umfaßt in beiden Organismen ca. 6 kb, bestehend aus 4 Exons und 3 Introns [10, 11]. Die reife IFN- γ mRNA kodiert einen Polypeptid-Vorläufer von 166 Aminosäuren (aa) (Mensch), bzw. 155 aa (Maus) [10, 12]. Nach posttranslationaler Abspaltung eines hydrophoben Signal-Peptides entsteht ein Protein mit einem Molekulargewicht von 17.1 kDa (Mensch), bzw. 15.9 kDa (Maus) [13]. Aufgrund variabler posttranslationaler N-Glykolisierung beträgt das Molekulargewicht des reifen IFN- γ Moleküls in beiden Spezies ca. 40-70 kDa. Eine Glykolisierung ist für die biologische Aktivität von IFN- γ jedoch nicht unbedingt erforderlich [14]. Biologisch aktives IFN- γ besteht aus einem nicht-kovalent gebundenem Homodimer, wobei die dimere Natur des IFN- γ Moleküls durch Röntgenstrukturanalysen bestätigt werden konnte [15].

1.2.2 Zelluläre Produzenten und Regulation der IFN- γ Expression

IFN- γ wird von spezifischen Zellen des Immunsystems als Antwort auf mitogene oder antigene Stimuli synthetisiert. Die hauptsächlichen zellulären Produzenten von IFN- γ sind aktivierte T-Helfer (T_H) Zellen des T_{H1} Typs (inflammatorische $CD4^+$ T-Zellen) [16], aktivierte $CD8^+$ zytotoxische TC1 Zellen [17], sowie aktivierte natürliche Killerzellen (NK-Zellen) [18]. Neuere Untersuchungen zeigten, daß IFN- γ auch von, mit geeigneten Stimuli aktivierten, Makrophagen [19], B-Zellen [20] und $CD8\alpha^+$ dendritischen Zellen (DC) [21] synthetisiert werden kann.

Die Induktion der IFN- γ Synthese in T-Zellen erfolgt vor allem nach ihrer Aktivierung durch Kreuzvernetzung des T-Zell Rezeptorkomplexes (TCR) infolge einer Exposition zu Antigen-präsentierenden Zellen (APC) [22, 23]. Die IFN- γ Produktion in NK-Zellen, B-Zellen,

DC und Makrophagen ist Antigen-unabhängig und wird hauptsächlich durch Zytokine, wie Interleukin-12 (IL-12) und/oder Interleukin-18 (IL-18), die von aktivierten APCs (insbesondere von Makrophagen) sezerniert werden, stimuliert [18-21, 24]. Darüber hinaus sind die Zytokine Tumornekrose Faktor- α (TNF- α), IFN- α , Interleukin-1 (IL-1) und Interleukin-2 (IL-2) bedeutende Kostimulatoren innerhalb der Induktion von IFN- γ in NK-Zellen [25-27]. Zusätzlich wurde bei Makrophagen und NK-Zellen ein direkter, autostimulatorischer Rückkopplungsmechanismus von IFN- γ nachgewiesen [28-30].

Die IFN- γ Induktion durch Zytokine unterliegt einem komplexen regulatorischen Netzwerk, welches durch eine Vielzahl zeitlicher und Zelltyp-abhängiger, synergistischer und/oder inhibitorischer, autokriner und/oder parakriner Mechanismen gekennzeichnet ist [27, 31]. Die proinflammatorischen Zytokine IL-18 (auch "interferon- γ inducing factor", IGIF genannt), ein die T_H1-Differenzierung induzierendes Mitglied der IL-1 Familie [32, 33], sowie IL-12, welches keine strukturelle Verwandtschaft zu IL-18 aufweist und ebenfalls bedeutsam für die T-Helferzell-Differenzierung in T_H1 Zellen, bzw. naive T-Zellen ist [18], nehmen dabei eine zentrale Rolle innerhalb dieses regulatorischen Netzwerkes ein (eine schematische Darstellung ist in Abb. 1 wiedergegeben).

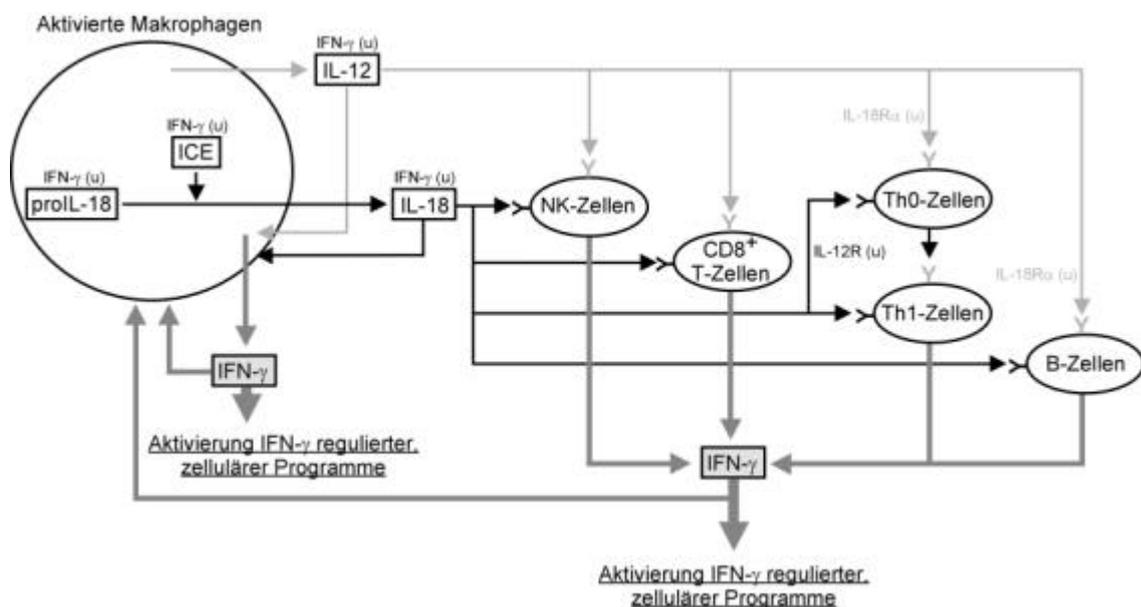


Abbildung 1. Zytokin-vermittelte Induktion von IFN- γ in Immunzellen. Modifiziert nach Nakanishi [27]. Aktivierte Makrophagen sezernieren IL-12 und IL-18, deren Expression durch verschiedene mitogene Stimuli induziert wird [18, 27, 34-37]. Die Sekretion von IL-18 erfolgt erst nach intrazellulärer Abspaltung des Propeptides des inaktiven IL-18 Vorläuferproteins (pro-IL18) durch die IFN- γ regulierte Caspase-1 oder anderer Caspasen [38-41]. IL-12 und IL-18 induzieren oftmals synergistisch die Expression von IFN- γ in verschiedenen Immunzellen [32, 42-44], wobei sie einerseits miteinander interagierende Transkriptionsfaktoren aktivieren [45, 46], und andererseits eine reziproke, zelltypspezifische Induktion ihrer Rezeptoren erfolgt (gekennzeichnet durch IL-12R(u), bzw. IL-18R α (u)), die zur Zell-Sensibilisierung oder Potenzierung ihrer Effekte führt [47, 48]. Ferner induzieren IL-12 und IL-18 über einen positiven, autokrinen Rückkoppelungsmechanismus die Expression von IFN- γ in Makrophagen, wobei IFN- γ wiederum teilweise autostimulatorisch die Expression von Komponenten des regulatorischen Netzwerkes wie IL-12, IL-18, Caspase-1 oder den IL-12 Rezeptor induziert (gekennzeichnet mit IFN- γ (u)) [27, 49].

Durch die in Abbildung 1 beschriebenen Mechanismen kann IL-12 in Kombination mit IL-18 die Produktion von IFN- γ in T-Zellen, unabhängig von einer Involvierung des TCRs, in NK-Zellen, Makrophagen, DC, sowie B-Zellen induzieren [27, 31]. Der in spezifischen Zelltypen bestehende positive, autostimulatorische Rückkopplungsmechanismus, hervorgerufen durch die reziproke Induktion von IFN- γ und IL-12, bzw. IL-18, stabilisiert im Endeffekt die T_H1-ausgerichtete, zellvermittelte Immunität gegenüber der T_H2-ausgerichteten, humoralen Immunität [50].

1.2.3 Der IFN- γ Rezeptor

Biologisch aktives, homodimeres IFN- γ bindet an einen spezifischen Zelloberflächenrezeptor, der nahezu ubiquitär, mit der Ausnahme reifer Erythrozyten, auf allen Zelltypen exprimiert wird [51]. Die Zahl der Rezeptormoleküle ist relativ niedrig und beträgt zwischen 200-2500 Molekülen pro Zelle [52], wobei die Expression des Rezeptors in Zellen, die nicht zum lymphatischen System gehören, besonders hoch ist [51, 52]. Neuere Untersuchungen zeigten, daß der IFN- γ Rezeptor in kaveolaren Membrandomänen lokal konzentriert vorliegt [53].

Der funktionell aktive IFN- γ Rezeptor wird von zwei heterologen Untereinheiten gebildet, IFNGR1 (auch als α -Kette oder CD119w bezeichnet) und IFNGR2 (zuvor β -Kette oder "accessory factor-1" genannt) [3, 4]. IFNGR1, ein 90 kDa Polypeptid, kodiert von einem auf Chromosom 6 beim Menschen [54, 55] und Chromosom 10 bei der Maus lokalisierten Gen [56], ist für die hohe Affinität der Ligandenbindung ($K_a=10^9-10^{10}M^{-1}$) verantwortlich und zudem von Bedeutung bei dem Transport des Liganden durch die Zelle, sowie bei der Signaltransduktion [3, 52]. IFNGR2, ein 62 kDa Protein, kodiert von einem Gen auf dem humanen Chromosom 21 [57, 58] und dem murinen Chromosom 16 [59], spielt nur eine untergeordnete Rolle innerhalb der Bindung des Liganden, ist jedoch essentiell für die von IFN- γ aktivierte Signaltransduktion [3, 52].

1.2.4 Der IFN- γ Signaltransduktionsweg

Die Aufklärung der Interferon-Typ I und Typ II Signaltransduktionsmechanismen (siehe Abb. 4) führte zur Entdeckung und Definition des JAK-STAT-Signaltransduktionsweges. Dessen zugrundeliegendes Prinzip, die kaskadische Aktivierung spezifischer Mitglieder zweier Proteinfamilien, der Janus Kinasen (JAKs) und der "signal transducers and activators of transcription" (STATs), wird von der überwiegenden Mehrzahl der Zytokin-Rezeptor Superfamilie zur Signalweiterleitung benutzt [60, 61].

Die intrazelluläre Domäne beider IFN- γ Rezeptor Untereinheiten ist jeweils konstitutiv mit einer spezifischen, inaktiven Janus Kinase assoziiert, IFNGR1 mit JAK1 [62, 63] und IFNGR2 mit JAK2 [64-66]. In unstimulierten Zellen präassoziiieren IFNGR1 und IFNGR2 nicht miteinander [3, 66]. Die Bindung des biologisch aktiven IFN- γ Homodimers an zwei IFNGR1 Untereinheiten, induziert deren Dimerisierung und führt durch ihre konformationelle Änderung zur Generierung von Bindungsstellen für zwei IFNGR2 Untereinheiten [66]. In dem symmetrischen Rezeptorkomplex, bestehend aus jeweils zwei IFNGR1 und zwei IFNGR2 Untereinheiten, werden die intrazellulären Domänen der Rezeptor-Untereinheiten zusammen mit deren assoziierten JAKs in räumliche Nähe gebracht, was zur sequentiellen und reziproken Aktivierung der JAKs mittels Auto- und Transphosphorylierung führt, wobei JAK2 als erstes aktiviert wird [3, 67]. Aktivierte JAKs phosphorylieren spezifische Tyrosinreste nahe des C-Terminus von beiden IFNGR1 Untereinheiten, wodurch zwei gegenüberliegende Bindungsstellen für STAT1 Proteine entstehen [68]. Jeweils ein präformiertes, zytosolisches, monomeres STAT1 Protein, dessen Expression durch IFN- γ Stimulation gesteigert werden kann [69, 70], bindet mittels seiner "src homology 2" (SH2) Domäne an einer der Bindungsstellen und wird daraufhin von den Rezeptor-gebundenen JAKs am Tyrosinrest an Position 701 phosphoryliert [3, 71]. Die phosphorylierten STAT1 Proteine dissoziieren vom Rezeptorkomplex und bilden aktive Homodimere durch die reziproke Interaktion zwischen dem Phosphotyrosinrest des einen Moleküls mit der SH2 Domäne des anderen Moleküls [72]. STAT1 Homodimere, die man auch als "gamma-interferon activation factor" (GAF) bezeichnet, werden anschließend unter Beteiligung der GTPase Ran/TC4 in den Nukleus transportiert [73].

1.2.5 Transkriptionelle Regulation von IFN- γ Antwortgenen

Im Kern bindet GAF an spezifische, palindromische Promotorelemente, genannt "gamma activated site" (GAS, Konsensus-Sequenz: TTCNNGAA), von IFN- γ regulierten Genen und aktiviert ihre Transkription [74]. Die transkriptionelle Aktivierungsfunktion von GAF ist dabei abhängig von der Phosphorylierung des STAT1 Serinrestes an Position 727 (Ser⁷²⁷), welche an einem nicht genauer definierten Punkt während des Signaltransduktionsweges durch ein Enzym mit "mitogen-activated protein" (MAP) Kinase ähnlicher Aktivität erfolgt [75-78]. Die Identität dieser Kinase wird kontrovers diskutiert und ist mglw. Zelltyp-abhängig [79-81]. Die Funktion der Ser⁷²⁷ Phosphorylierung besteht darin, die Interaktion von GAF mit der basalen Transkriptionsmaschinerie zu erleichtern [78, 82]. So interagiert STAT1 einerseits mit dem transkriptionellen Koaktivator "CREB-binding protein/p300" (CBP/p300), der die Aktivität verschiedener Transkriptionsfaktoren, so auch von STAT1, bzw. GAF steigern kann [83, 84], und

andererseits mit dem IFN- γ induzierbaren "N-Myc-interactor" (Nmi), das die Bindung von STAT1 und CBP/p300 verstärkt [85-87].

1.2.6 Alternative IFN-g Signaltransduktionswege

Neben dem zentralen, ubiquitär angewandten IFN- γ Signaltransduktionsweg, der wie zuvor beschrieben über die JAK abhängige Aktivierung von STAT1 Proteinen, deren Homodimerisierung zu GAF und dessen Bindung an GAS Promotorelementen erfolgt, existieren noch weitere, als alternativ zu bezeichnende Signaltransduktionswege. Diese werden jedoch nur in geringem Umfang, bzw. Zelltyp-spezifisch aktiviert. Ihre biologische Signifikanz innerhalb der zellulären Antwort auf IFN- γ ist zudem in vielen Fällen noch nicht ausreichend geklärt.

Durch differentielles Spleißen entstehen zwei verschiedene STAT1 Formen, wobei die Expression beider Isoformen durch IFN- γ Stimulation verstärkt wird [70, 88, 89]. Einerseits wird STAT1 α gebildet, welches transkriptionelle Aktivierungsfunktion besitzt und wie zuvor beschrieben zu GAF dimerisiert. Andererseits entsteht das C-terminal verkürzte STAT1 β . Die Verkürzung führt zum Verlust von Ser⁷²⁷ in STAT1 β , so daß diese Isoform zwar DNA binden kann, aber kein Transkriptions-Aktivierungspotential mehr besitzt [90]. Die biologischen Konsequenzen von potentiellen STAT1 α -STAT1 β Heterodimeren oder STAT1 β Homodimeren sind ungeklärt, sie könnten jedoch mglw. zu einer transkriptionellen Reprimierung beitragen [82].

Neuere Untersuchungen zeigten, daß der zentrale durch Interferon-Typ I aktivierte Transkriptionsfaktor "interferon stimulated gene factor 3" (ISGF3), bestehend aus STAT1 α/β , STAT2 und dem Mitglied der "interferon regulatory factor" (IRF) Familie IRF-9 (vormals p48 oder "interferon stimulated gene factor 3 γ " (ISGF3 γ) genannt) [91, 92] auch durch IFN- γ aktiviert wird, wenn auch wesentlich schwächer als nach Interferon-Typ I Stimulation [53, 93]. Die Bildung von ISGF3 erfolgt dabei durch eine direkte, IFN- γ vermittelte Aktivierung von STAT1 und STAT2 und ist unabhängig von einer endogenen Interferon-Typ I Produktion [53, 93]. Die wesentlich geringe Bindungskapazität von STAT2 an den IFN- γ Rezeptorkomplex und die damit verbundene geringe Phosphorylierungs-abhängige Aktivierung von STAT2 nach IFN- γ Stimulation [94] liefert hierbei eine mögliche Erklärung für die beobachtete, verminderte, IFN- γ vermittelte ISGF3 Aktivierung. Die von beiden Interferon-Typen induzierte ISGF3 Aktivierung ist mglw. eine Begründung für die essentielle Bedeutung von IRF-9 sowohl in der Interferon-Typ I, als auch IFN- γ vermittelten antiviralen Zellantwort, wie es in Untersuchungen an IRF-9

defizienten Mäusen gezeigt werden konnte [95].

Mittels *in vitro* Untersuchungen an der aus Grünen Meerkatzen stammenden Nieren Zell-Linie Vero konnte nachgewiesen werden, daß nach IFN- γ Stimulation auch STAT1 α Homodimere mit IRF-9 assoziieren. Dadurch verschiebt sich ihre DNA-Bindenspezifität von GAS zu "interferon stimulated response element" (ISRE) Promotormotiven, der Bindungsstelle von ISGF3 [96, 97]. Inwieweit STAT1 α :1 α -IRF-9 Komplexe eine *in vivo* Relevanz innerhalb der zellulären Antwort auf IFN- γ aufweisen, ist jedoch ungeklärt [74].

Neben diesen alternativen IFN- γ Signaltransduktionswegen unter Beteiligung von STAT1, bzw. STAT2, konnte zudem eine zelltypspezifische Aktivierung von STAT3 [98-103] und STAT5a [102, 104, 105], die zur Bildung homo- oder heterodimerer Transkriptionsfaktorenkomplexe führt, beobachtet werden. Die Mechanismen der IFN- γ vermittelten Aktivierung von STAT3 und STAT5a, sowie deren biologische Relevanz innerhalb der zellulären Antwort auf IFN- γ sind nur ungenügend charakterisiert. Es wird vermutet, daß sie in Zelltyp-spezifischen, IFN- γ induzierten Proliferations- oder Differenzierungsprozessen, bzw. in eine Zelltyp-spezifische Modulation der zellulären Antwort auf IFN- γ involviert sind [98, 101, 102, 105].

Schließlich konnte zudem eine STAT1-unabhängige Regulation der Gen-Expression als zelluläre Antwort auf IFN- γ nachgewiesen werden. [106-108]. Unerwarteterweise wurden relativ viele Gene (ca. 40-50) in embryonischen Fibroblasten (EF), sowie Makrophagen STAT1-unabhängig durch IFN- γ reguliert, wobei ihre Genprodukte vor allem an antiviralen- und Zellproliferations-Mechanismen beteiligt sind [107, 108]. Für diesen alternativen Signaltransduktionsweg von IFN- γ in Abwesenheit von STAT1 wird sowohl der IFN- γ Rezeptor, als auch JAK1 benötigt [108]. Weitere daran beteiligte Komponenten konnten bisher noch nicht eindeutig identifiziert werden. Mögliche Kandidaten sind die durch IFN- γ Stimulation aktivierte Tyrosin-Kinase Pyk-2 [81], das Vav Proto-Onkogen [109], sowie Mitglieder der Crk-Adapterprotein Familie [110, 111], wobei letztere Tyrosin-phosphorylierte Rezeptoren oder ihre Substrate mit verschiedenen Signalkaskaden verbinden können [112]. Die genauen Mechanismen ihrer Aktivierung, insbesondere inwieweit diese STAT1-unabhängig erfolgen, ist, ebenso wie die Funktion dieser Proteine innerhalb der zellulären Antwort auf IFN- γ , nicht bekannt. Untersuchungen legen jedoch nahe, daß sie an Wachstums-inhibitorischen IFN- γ Effekten beteiligt sind [111], was mit dem in STAT1 defizienten Zellen beobachtetem Gen-Induktionsmuster im Einklang stehen würde [107, 108].

1.3 Interferon-Typ I

1.3.1 Interferon-Typ I: Gene und Proteine

Die Familie der Typ I Interferone besteht im Gegensatz zu IFN- γ aus einer Vielzahl von Mitgliedern, die strukturell untereinander, jedoch nicht mit IFN- γ verwandt sind. Man unterscheidet zwischen der IFN- α Multigenfamilie, bestehend aus jeweils mehr als 10 Mitgliedern bei Maus und Mensch, und dem verwandten, in beiden Spezies in Einzelkopie vorliegendem IFN- β [4, 113]. Weitere Interferon-Typ I Subfamilien sind IFN- δ [114], IFN- ω [115] und IFN- τ [116], auf die hier jedoch nicht näher eingegangen werden soll.

IFN- α , das auch als Leukozyten-Interferon bezeichnet wird und IFN- β , auch Fibroblasten-Interferon genannt, werden im Unterschied zu IFN- γ von intronlosen Genen kodiert, die in einem Gencluster beim Menschen auf Chromosom 9 und bei der Maus auf Chromosom 4 lokalisiert sind [117]. Ihre Transkripte kodieren Vorläuferproteine von 182-195 aa inklusive eines Signalpeptides von 21-24 aa. Nach posttranslationaler Abspaltung des Signalpeptides entstehen Proteine mit einem Molekulargewicht von 19-20 kDa, aus denen durch N-Glykolisierung reife Proteine zwischen 19 und 27 kDa gebildet werden. Biologisch aktives Interferon-Typ I liegt als monomer vor, auch wenn in kristallographischen Studien des humanen IFN- α und IFN- β Dimere nachgewiesen wurden [118-120], die jedoch wahrscheinlich auf chemische Modifikationen der Moleküle zurückzuführen sind [113].

1.3.2 Zelluläre Produzenten und Regulation der Interferon-Typ I Expression

Die Induktion der Interferon-Typ I Expression unterliegt wie die von IFN- γ einem komplexen, sich gegenseitig beeinflussendem Netzwerk. Die Heterogenität innerhalb der IFN- α/β Familie führt dabei zu einer größeren Zelltyp-abhängigen Diversität bezüglich der Mechanismen ihrer Induktion.

Generell erfolgt die Induktion durch die virale Infektion von Zellen. An der Weiterleitung der von dieser Infektion hervorgerufenen Signale, die wiederum zur Expression von Interferon-Typ I führen, sind Mitglieder der IRF-Familie, sowie die durch die "dsRNA abhängige Protein Kinase" (PKR) vermittelte Redistribution des Transkriptionsfaktors "nuclear factor κ B" (NF κ B) vom Zytoplasma in den Zellkern von besonderer Bedeutung (eine Übersicht gibt Abb. 2) [4, 82, 121].

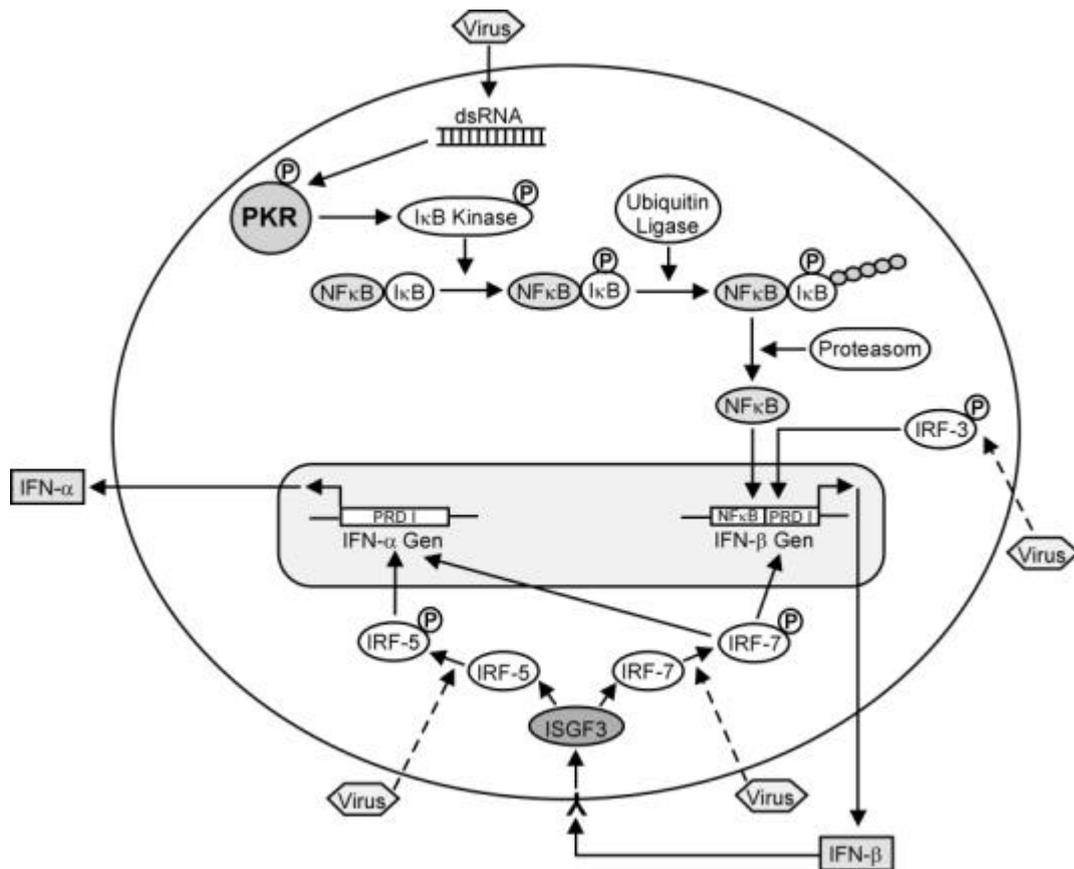


Abbildung 2. Schematische Darstellung der Virus-induzierten Expression von IFN- α und IFN- β . Modifiziert nach Goodbourn und Taniguchi [82, 121]. In nicht-infizierten Zellen liegt der Transkriptionsfaktor NF κ B durch Assoziation mit dem inhibitorischen Molekül "inactivator of NF κ B" (I κ B) Kinase im inaktiven Zustand vor. Nach viraler Infektion erfolgt die autokatalytische Aktivierung von PKR durch dsRNA. PKR aktiviert wiederum die heterotrimerische I κ B-Kinase, bestehend aus "NF κ B inducing kinase" (NIK), "I κ B Kinase- α " (IKK- α) und "I κ B Kinase- β " (IKK- β). I κ B-Kinase phosphoryliert anschließend I κ B, was zu dessen Ubiquitinierung durch eine E3 Ubiquitin-Ligase und nachfolgender Proteolyse durch das Proteasom führt. Das derart freigesetzte NF κ B wird als biologisch aktives Homo- oder Heterodimer in den Nucleus transloziert [122-125]. NF κ B bindet am IFN- β Promotor als Teil eines Multiprotein-Transkription-fördernden Komplexes, den man als "enhanceosome" bezeichnet [126, 127]. Weitere Komponenten dieses Komplexes werden u.a. von Mitgliedern der IRF-Familie gestellt. So wird IRF-3 nach viraler Infektion aktiviert und in den Nucleus transloziert, wo es spezifisch am "positive regulatory domain I" (PRD I) Element des IFN- β Promotors bindet und ebenfalls zu dessen Induktion beiträgt [128-130]. Mittels eines positiven Rückkopplungsmechanismus induziert IFN- β durch die Aktivierung von ISGF3 die Expression von IRF-5 und IRF-7, die durch einen unbekanntem Mechanismus nach viraler Infektion aktiviert und in den Nucleus transloziert werden [121, 131, 132]. IRF-7 bindet sowohl am PRD I Element des IFN- β als auch des IFN- α Promotors, während IRF-5 nur an der Induktion der IFN- α Expression beteiligt ist. Möglicherweise sind IRF-1 und IRF-9 (als Bestandteil von ISGF3) ebenfalls an der Regulation der Interferon-Typ I Expression beteiligt (hier nicht gezeigt) [121, 132].

IFN- β wird hauptsächlich von Zellen fibroblastoiden Ursprungs nach deren Infektion mit Viren exprimiert, wobei der eigentliche Induktor doppelsträngige RNA (dsRNA) ist, die vom viralen Genom selbst oder nach Replikation, bzw. Transkription des viralen Genoms zur Verfügung gestellt wird [133]. Die Induktion erfolgt vor allem auf der Ebene der transkriptionellen Initiation, unter Beteiligung des Transkriptionsfaktors NF κ B, Mitgliedern der IRF-Familie und weiteren Transkriptionsfaktoren, die einen als "enhanceosome" bezeichneten, Multiprotein Transkriptions-fördernden Komplex bilden [134, 135] (Abb.2).

Der durch diverse mitogene Stimuli, wie TNF- α , IL-1, LPS und virale dsRNA, aktivierbare Transkriptionsfaktor NF κ B ist bei der Regulation einer Vielzahl von immunomodulatorischen Genen von Bedeutung [122, 136, 137]. Die Aktivierung von NF κ B in Virus-infizierten Zellen erfolgt indirekt durch PKR, einer Interferon-Typ I und Typ II induzierbaren Serin-Threonin Kinase, die mittels einer N-terminalen Domäne an dsRNA bindet. Die Bindung führt zur konformationellen Änderung des PKR Proteins, wodurch die C-terminale katalytische Domäne freigelegt wird ([138-140], eine Übersicht gibt [125]). Die katalytische Domäne autophosphoryliert PKR, das somit aktiviert wird. Aktiviertes PKR besitzt eine Reihe bedeutender Funktionen innerhalb der Transkriptions- und Translationskontrolle mit immunologischer Relevanz [4, 50, 125], auf die im weiteren Verlauf dieser Arbeit noch genauer eingegangen wird. Die genaue Identität des von Mitgliedern der IRF-Familie gestellten Faktors des "enhanceosomes" wird kontrovers diskutiert. Möglicherweise handelt es sich um IRF-1 [141, 142], IRF-9 (als Teil von ISGF3) [143], IRF-3 [129, 144-146], oder um eine Kombination aus IRF-3 und IRF-7 [128, 147].

Der latent im Zytoplasma vorhandene, nicht induzierbare Transkriptionsfaktor IRF-3¹ [144, 150, 151] wird nach viraler Infektion durch unbekannte Kinasen phosphoryliert und in den Nukleus transloziert, wo er an der Induktion von IFN- β beteiligt ist [129, 130, 144]. Durch einen autostimulatorischen Rückkoppelungsmechanismus erhöht IFN- β via ISGF3 die Expression des ansonsten schwach konstitutiv expremierten IRF-7, das ebenfalls über einen noch nicht näher identifizierten Mechanismus eine Virus-induzierte Aktivierung und nukleare Translokation vollzieht. IRF-7 bindet sowohl am PRD I Element des IFN- β als auch des IFN- α Promotors. Das Zusammenspiel von IRF-3 und IRF-7 bildet somit einen positiven Rückkopplungsmechanismus, der zur vollen und anhaltenden Induktion von IFN- β und IFN- α führt [121, 132]. Vor kurzem wurde gezeigt, daß dieser Mechanismus zudem von einer schwachen, konstitutiven IFN- α und/oder IFN- β Expression abhängig ist [131, 152].

IFN- α wird vor allem von Virus-infizierten Zellen lymphoiden Ursprungs aber auch von fibroblastoiden Zellen produziert. Im Gegensatz zur Induktion in Leukozyten, erfolgt die Induktion von IFN- α in Fibroblasten nicht direkt, sondern wird vermittelt durch den zuvor beschriebenen Mechanismus, unter Beteiligung von IRF-3, IFN- β , ISGF3 und IRF-7 [153, 154]. Da die Promotoren von IFN- α Genen keine NF κ B Bindungsstelle besitzen [155, 156], ist ihr Induktionsmechanismus divergierend zu dem von IFN- β . Die mechanistische Grundlage der

¹ Neuere Untersuchungen mittels "Gen Chips" konnten jedoch eine schwache IRF-3 Induktion nach IFN- α / β Stimulation detektieren [148, 149].

Induktion von IFN- α Genen in Leukozyten ist nur ungenügend charakterisiert, mglw. sind dabei IRF-7 oder IRF-5, welches ebenfalls Interferon-Typ I induzierbar ist und durch Virus-Induktion in den Nukleus transloziert wird, von essentieller Bedeutung [121, 132].

1.3.3 Der Interferon-Typ I Rezeptor

Sämtliche Mitglieder der Interferon-Typ I Familie binden als biologisch aktive Monomere an denselben, ubiquitär auf allen kernhaltigen Zellen exprimierten, spezifischen Zelloberflächenrezeptor [113]. Der Interferon-Typ I Rezeptor gehört, wie auch der IFN- γ Rezeptor, zu den Zytokin Rezeptoren der Klasse II [113] und besteht aus den Untereinheiten IFNAR1 (auch α -Untereinheit genannt) sowie IFNAR2 (auch als β -Untereinheit bezeichnet) [157-159]. IFNAR2 kann durch alternative Prozessierung in unterschiedlichen Varianten vorliegen [159-161], wobei die biologische Funktion der nicht-funktionalen, verkürzten IFNAR2 Untereinheiten (IFNAR2b und IFNAR2c) jedoch nicht näher charakterisiert ist [113].

Im Menschen und in der Maus liegen die Gene für IFNAR1 und IFNAR2 in einem Gencluster vor zu dem auch IFNGR2 gehört, und der beim Menschen auf Chromosom 21 [162, 163] und bei der Maus auf Chromosom 16 [163] lokalisiert ist. Im Gegensatz zum IFN- γ Rezeptor sind beide Untereinheiten des Rezeptors gleichermaßen an der Ligandenbindung und Signaltransduktion beteiligt [164, 165].

1.3.4 Der Interferon-Typ I Signaltransduktionsweg

Obwohl Typ I und Typ II Interferone strukturell nicht miteinander verwandt sind und an unterschiedliche Zelloberflächenrezeptoren binden, ist der von ihnen aktivierte Signaltransduktionsweg ähnlich und erfolgt unter Verwendung gemeinsamer Komponenten der JAK-STAT Transduktionsmaschinerie [4, 50] (siehe Abb. 4). Die Interferon-Typ I Signalweiterleitung läßt sich wie auch die von IFN- γ in zentrale, ubiquitär angewandte und alternative Signalisierungsmechanismen unterteilen. Im Falle von Interferon-Typ I besteht eine größere Komplexität innerhalb dieser Mechanismen, da in oftmals Zelltyp-spezifischer Weise, eine Vielzahl unterschiedlicher STAT enthaltender Komplexe gebildet werden kann, deren biologische Rolle innerhalb der zellulären Antwort auf Interferon-Typ I oftmals jedoch nur unvollständig geklärt ist.

Der zentrale, ubiquitär aktivierte Interferon-Typ I Signaltransduktionsweg wird initiiert durch die gleichzeitige Bindung von Interferon-Typ I an beide Rezeptoruntereinheiten und ihrer

nachfolgenden Dimerisierung. Infolgedessen werden die mit IFNAR1 präasoziierte Tyk2 Kinase und die konstitutiv an IFNAR2c gebundene JAK1 Kinase in räumliche Nähe gebracht, was ihre sequentielle und reziproke Phosphorylierung induziert [159, 166-169]. Aktiviertes Tyk2 transphosphoryliert IFNAR1 [166, 170] und generiert dadurch eine Bindungsstelle für den präformierten, zytoplasmatischen Transkriptionsfaktor STAT2, der mittels seiner SH2 Domäne an IFNAR1 bindet und anschließend ebenfalls durch Tyk2 Phosphorylierungs-abhängig aktiviert wird [94, 171, 172]. Die Bedeutung von IFNAR1 als Bindungs- und Aktivierungsstelle für STAT2 ist aufgrund neuerer Untersuchungen jedoch stark umstritten. Verschiedene unabhängige Befunde deuten daraufhin, daß eine konstitutive, nicht Phosphotyrosin-abhängige Bindungsstelle, mit der STAT2 in unstimulierten Zellen präasoziiert, und eine Phosphotyrosin-abhängige Bindungsstelle in IFNAR2c hauptverantwortlich für eine effiziente STAT2 Aktivierung durch Tyk2 sind, während IFNAR1 bei der Rekrutierung von STAT2 nur eine sekundäre Rolle spielt [113, 172-174]. Aktiviertes, an IFNAR1 oder IFNAR2c gebundenes STAT2 fungiert als Bindungsstelle für den latent im Zytoplasma vorhandenen Transkriptionsfaktor STAT1 [172, 175, 176], der nachfolgend ebenfalls aktiviert wird [90]. Der genaue Mechanismus dieser Aktivierung ist nicht bekannt und erfolgt mglw. unabhängig von STAT2 [111, 173, 177]. Aktivierte STAT1 und STAT2 Proteine, deren Expression durch Interferon-Typ I Stimulation gesteigert werden kann [69], bilden Heterodimere, dissoziieren vom Rezeptorkomplex und assoziieren mit dem DNA-bindenden Mitglied der IRF-Familie IRF-9, zum heterotrimeren Transkriptionsfaktorkomplex ISGF3, der durch einen nicht bekannten Mechanismus in den Nukleus transloziert wird [178].

Eine Besonderheit des IFN- β Signaltransduktionsweges ist, daß dieser teilweise unabhängig von Tyk2 erfolgen kann [179]. Der exakte Mechanismus ist unbekannt, wird jedoch vermutlich durch einen JAK-STAT abhängigen Weg beschritten [4]. Übereinstimmend mit diesem Befund ist, daß IFN- α und IFN- β in unterschiedlicher Weise mit dem Interferon-Typ I Rezeptor interagieren [113, 180-185]. Inwieweit sich diese unterschiedliche Rezeptor-Interaktion von IFN- β und IFN- α auch auf differentielle zelluläre Antworten auswirkt, konnte noch nicht geklärt werden.

1.3.5 Transkriptionelle Regulation von Interferon-Typ I Antwortgenen

Im Nukleus bindet ISGF3 an ISRE Sequenzmotive (Konsensus-Sequenz: $^A/_G$ NGAAANN $GAAACT$) in der Promotorregion von Zielgenen und aktiviert deren Transkription [186]. Dabei zeigte die Charakterisierung von ISGF3, daß sowohl STAT1 α als auch das C-terminal verkürzte STAT1 β , daß keine transkriptionelle Aktivierungskapazität besitzt, in den heterotrimeren Komplex

integriert sein können, ohne daß dieser seine transkriptionelles Aktivierungspotential verliert [88, 90-92, 187, 188].

Die maximale Aktivierungskapazität von ISGF3 ist, analog zu der von GAF, abhängig von der Interaktion der STAT Untereinheiten mit Komponenten der basalen Transkriptionsmaschinerie. Wie STAT1 ist auch STAT2 in der Lage über seine C-terminale Region an CBP/p300 zu binden, wobei eine Blockade dieser Interaktion zum Verlust der ISGF3 vermittelten Antwort auf Interferon-Typ I führt [189]. Die Interaktion wird ermöglicht durch die Phosphorylierung spezifischer Tyrosinreste der STAT Proteine die von nicht näher definierten Enzymen mit MAP Kinase ähnlicher Aktivität katalysiert wird. Die Funktion der p38 MAP Kinase, die nach Interferon-Typ I Stimulation aktiviert wird, ist ebenfalls von Bedeutung für die IFN- α induzierte ISRE-abhängige Gentranskription. p38 ist dabei jedoch weder für die Tyrosinphosphorylierung der STAT Proteine verantwortlich, noch beeinflusst es die DNA-Bindeaktivität des ISGF3 Komplexes, die vor allem von IRF-9 vermittelt wird [190, 191].

1.3.6 Alternative Interferon-Typ I Signaltransduktionswege

Neben der ubiquitären Aktivierung von ISGF3 können durch Interferon-Typ I Stimulation weitere IRF-9 enthaltende oder nicht-enthaltende, DNA-bindende Komplexe aktiviert werden. Im Unterschied zu IFN- γ werden von Interferon-Typ I eine Vielzahl verschiedener Mitglieder der STAT-Familie Zelltyp-spezifisch aktiviert. Die mechanistische Grundlage für die Aktivierung der unterschiedlichen STAT-Proteine ist mglw. darin begründet, daß die Interferon-Typ I Rezeptor-Untereinheiten direkt oder mittels Adaptor-Proteinen mit einer großen Bandbreite von STATs interagieren können.

Die Stimulation von Zellen mit Interferon-Typ I führt neben der Bildung von ISGF3 ebenfalls ubiquitär zur Bildung von STAT1 Homodimeren [186, 192, 193]. Die GAS-Promotorelemente erkennenden STAT1 Homodimere besitzen transkriptionelle Aktivierungs-Funktion und sind aufgrund verschiedener Kriterien nicht unterscheidbar von GAF. Daher werden sie analog zu diesem als "alpha-interferon activation factor" (AAF) bezeichnet [186, 192, 193]. Die Bildung von AAF durch Interferon-Typ I Induktion erfolgt jedoch weniger effizient als durch IFN- γ [194, 195].

STAT1:2 Heterodimere werden nur nach Interferon-Typ I und nicht nach IFN- γ Stimulation gebildet, wobei sie in noch geringerem Ausmaße auftreten als GAF/AAF [195, 196]. Sie erkennen ebenfalls GAS-Promotorelemente und können die Transkription von Zielgenen initiieren, wie am

Beispiel des Interferon-Typ I und IFN- γ induzierbaren IRF-1 Gens gezeigt werden konnte [195-197]. Tatsächlich scheinen STAT1:2 Heterodimere der zentrale Transkriptionsfaktorkomplex der Interferon-Typ I vermittelten Induktion von IRF-1 zu sein, während AAF nur eine untergeordnete Rolle spielt [196, 197]. Die IFN- γ vermittelte IRF-1 Induktion ist dagegen völlig von GAF abhängig [103, 195, 198-201].

Die Bildung von STAT2 Homodimeren konnte bisher nur *in vitro*, in nur STAT2 exprimierenden Zellen, nachgewiesen werden [97, 196]. STAT2 Homodimere binden an genomische DNA, die spezifische DNA Bindungssequenz, bei der es sich wahrscheinlich nicht um eine GAS-Sequenz handelt, wurde jedoch nicht charakterisiert [97, 196]. Inwiefern STAT2 Homodimere an der Interferon-Typ I Antwort unter physiologischen Bedingungen beteiligt sind ist nicht bekannt [74].

Ferner konnte in diesen Untersuchungen die Interferon-Typ I induzierte Aktivierung von STAT2:2-IRF-9 Komplexen beobachtet werden, die die Transkription von Zielgenen mit ISRE-Promotorelementen, wenn auch nur sehr schwach, aktivieren konnten [97]. Die gebildeten Komplexe erwiesen sich als sehr instabil und besaßen nur geringe DNA-Bindungs Affinität, an der STAT2 nicht beteiligt war, so daß eine physiologische Relevanz innerhalb der zellulären Antwort auf Interferon-Typ I ebenfalls fraglich bleibt [74, 97].

Neben der Aktivierung von STAT1 und STAT2 können durch Interferon-Typ I Stimulation noch weitere Mitglieder der STAT-Familie aktiviert werden und zu homologen oder heterologen Transkriptionsfaktorenkomplexen assemblieren. Diese Aktivierung erfolgt jedoch strikt Zelltyp-, teilweise sogar Spezies-abhängig [74, 173]. Ihre Bedeutung innerhalb der zellulären Antwort auf Interferon-Typ I ist noch größtenteils ungeklärt, sie scheinen jedoch in den meisten Fällen nicht an der Interferon-Typ I vermittelten antiviralen Antwort beteiligt zu sein, wie Untersuchungen an für diese Proteine defizienten Mäusen zeigten [202-206]. Möglicherweise dient die Zelltyp-abhängige Aktivierung weiterer Mitglieder der STAT-Familie der Zelltyp-spezifischen Modulation der Interferon-Typ I Antwort. Oft werden auch Interferon-Typ I vermittelte, die Zellproliferation beeinflussende, inhibitorische oder stimulatorische Effekte mit der Aktivierung weiterer Mitglieder der STAT-Familie in Verbindung gebracht. So werden nach Interferon-Typ I Stimulation in spezifischen Zelltypen STAT3, STAT4, STAT5a, STAT5b und STAT6 Phosphorylierungs-abhängig aktiviert und assemblieren zu homologen oder heterologen Komplexen (eine Übersicht gibt Abb. 3).

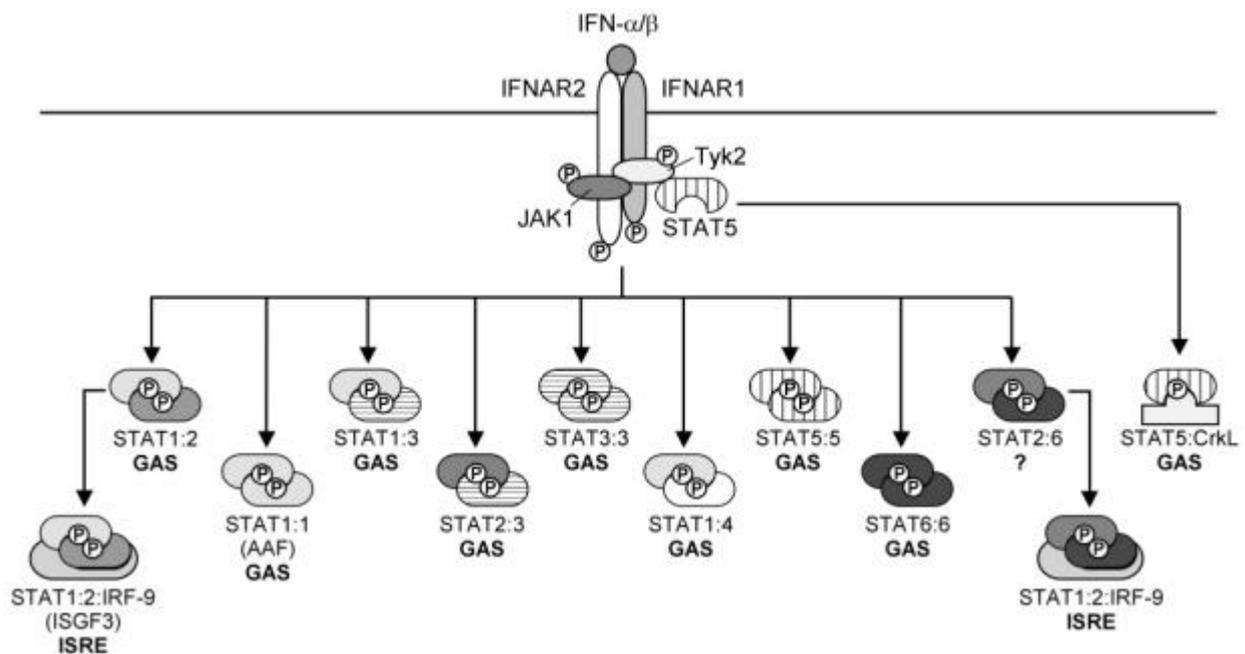


Abbildung 3. Schematische Darstellung der von Interferon-Typ I aktivierten Transkriptionsfaktoren-Komplexe. Modifiziert nach Plataniias [111]. Neben den ubiquitär aktivierten ISGF3 und AAF-Komplex können oftmals Zelltyp-spezifisch homologe oder heterologe STAT3, STAT4, STAT5a/b und STAT6 enthaltenden Komplexe gebildet werden. STAT3 bindet an IFNAR1 und wird von Tyk2 aktiviert, was in unterschiedlichen Zelltypen zur Bildung verschiedener, an spezifischen GAS-Elementen bindender, homologer oder heterologer Komplexe führt [99, 102, 172, 196, 207-214]. STAT4 wird ausschließlich in humanen T-Zellsubtypen und Monozyten durch IFN- α aktiviert, wobei die Bindung an den Rezeptor über STAT2 vermittelt wird. Die gebildeten STAT1:4 Heterodimere sind vermutlich an der Differenzierung von T-Zellen in den Th1 Subtyp beteiligt [212, 215-222]. STAT5 (welcher Subtyp ist nicht bekannt) bindet konstitutiv an die mit IFNAR1 assoziierte Tyk2 Kinase und dient nach seiner IFN- α vermittelten Phosphorylierungs-abhängigen Aktivierung als Adaptorprotein für CrkL, einem Mitglied der Crk-Familie. STAT5-CrkL Heterodimere können die Transkription von spezifischen, antiproliferativen Genen durch Bindung an GAS-Motiven in deren Promotoren initiieren [223]. Ferner werden in spezifischen Zelltypen nach IFN- α Stimulation STAT5a, bzw. STAT5b Homodimere gebildet, die GAS-Elemente erkennen können. Eines der Zielgene von STAT5a Homodimeren ist dabei die Interferon-Typ I und IFN- γ induzierbare "Tryptophanyl tRNA Synthetase" (WRS) [105, 211, 212, 224-226]. Die Aktivierung von STAT6 durch IFN- α wurde bisher nur in B-Zellen beobachtet. Im Unterschied zu STAT6 Homodimeren binden STAT2:6 Heterodimere nicht an GAS-Elementen. Interessanterweise können zudem STA2:6-IRF-9 Heterotrimeren komplexiert werden, die wie ISGF3 ISRE-Elemente erkennen können. Die biologische Funktion der IFN- α aktivierten, STAT6 enthaltenden Komplexe in B-Zellen ist nicht bekannt [211, 214].

Neben diesen alternativen Interferon-Typ I Signaltransduktionswegen, in die Mitglieder der STAT-Familie involviert sind, existieren wie im Falle der IFN- γ Signaltransduktion noch weitere, STAT-unabhängige, Interferon-Typ I induzierte Signal-Kaskaden, die vor allem in hämatopoetischen Zellen aktiviert werden und vermutlich Interferon-Typ I induzierte Zellwachstums-inhibitorische Effekte vermitteln [111, 227]. Bedeutende Komponenten innerhalb dieser Signalkaskaden sind, neben dem Interferon-Typ I Rezeptor und den JAK Kinasen, die heterodimere Lipid- und Protein-Kinase "Phosphatidylinositol 3-Kinase" (PI-3K) [173, 209, 228-230], Mitglieder der "insulin receptor substrate" (IRS) Familie [180, 230-234], die Zytokin-aktivierte Tyrosin-Kinasen mit verschiedenen Signaltransduktionskaskaden verbinden können [235], das als Adaptorprotein fungierende Proto-Onkogen CBL [111, 236, 237], bzw. Mitglieder der Crk-Familie [238], sowie das Proto-Onkogen Vav [183, 239].

1.4 Primäre und sekundäre Antwort auf Interferone

Die zelluläre Antwort auf Interferon-Typ I und Typ II läßt sich in eine primäre und sekundäre Antwort unterteilen. Unter der primären Antwort auf IFN- γ versteht man dabei die direkte, von der *de novo* Proteinbiosynthese neuer Transkriptionsfaktoren unabhängige, transkriptionelle Aktivierung von Genen mit GAS-Elementen in ihren Promotoren durch GAF [50]. Im Gegensatz dazu benötigt die sekundäre IFN- γ Antwort die *de novo* Proteinbiosynthese weiterer, sogenannter sekundärer Transkriptionsfaktoren, die in vielen Fällen von primären Antwortgenen kodiert werden [50].

In Analogie zu IFN- γ wird die direkte transkriptionelle Aktivierung von Genen mit ISRE-Elementen in ihren Promotoren durch ISGF3, die ebenfalls unabhängig von einer *de novo* Proteinbiosynthese ist, als primäre Interferon-Typ I Antwort bezeichnet [50].

Oftmals ist eine eindeutige Klassifizierung von Interferon-regulierten Genen in primäre oder sekundäre Antwortgene jedoch nicht möglich, da sowohl primäre als auch sekundäre Transkriptionsfaktoren an der Regulation beteiligt sind. Gene die ein solches Antwortmuster aufzeigen, werden im weiteren Verlauf dieser Arbeit als gemischte Antwortgene bezeichnet.

1.4.1 Sekundäre Transkriptionsfaktoren der Interferon-Typ I und Typ II Signaltransduktionswege

Untersuchungen der zellulären Antwort auf Interferon-Typ I mittels "Gen-Chip" Analysen ergaben, daß die Expression von mehr als 35 Transkriptionsfaktoren durch Interferon-Typ I reguliert wird [89, 149]. In einer im Rahmen dieser Arbeit erstellten Liste von IFN- γ regulierten Genen ([240] und siehe Anhang) konnten sogar mehr als 40 IFN- γ induzierte Transkriptionsfaktoren identifiziert werden. Inwieweit es sich bei diesen Transkriptionsfaktoren um primäre oder sekundäre Transkriptionsfaktoren handelt, kann in vielen Fällen jedoch nicht eindeutig bestimmt werden.

Wichtige Vertreter der sekundären Transkriptionsfaktoren werden von Mitgliedern der ISRE und z.T. auch PRD I Promotormotive bindenden IRF-Familie gestellt, wobei das bereits erwähnte Mitglied IRF-1 von besonderer Bedeutung ist (eine Übersicht gibt [121]).

IRF-1 wird in unstimulierten Zellen nur sehr schwach exprimiert, ist jedoch durch verschiedene Zytokine, wie Interferon-Typ I, IFN- γ , TNF- α , IL-1, IL-6 und durch virale Infektionen induzierbar [141, 198, 241-243]. Die Induktion von IRF-1 durch Interferone ist dabei vollkommen

abhängig von GAS-Elementen in dessen Promotorregion, an die im Falle von IFN- γ GAF und nach Interferon-Typ I Stimulation STAT1:2 Heterodimere binden [103, 195-201]. IRF-1 erkennt spezifische DNA-Sequenzen in den Promotoren von Interferon-regulierten Genen, die als IRF-E (Konsensus-Sequenz: G(A)AAA^{G/C}/cGAAA^{G/C}/c) bezeichnet werden [244] und nahezu nicht unterscheidbar vom ISGF3 Bindemotiv ISRE (Konsensus-Sequenz: ^{A/c}NGAAANNGAAACT) [186] sind [121]. Trotz der Ähnlichkeit der erkannten Promotormotive üben IRF-1 und ISGF3 jedoch nicht-redundante Funktionen innerhalb der zellulären Antwort auf Interferon aus, wie an IRF-1 und IRF-9 (als Bestandteil von ISGF3) einfach-, bzw. doppelt-defizienten Mäusen gezeigt werden konnte [95, 245]. Ferner erkennt IRF-1, wie auch andere Mitglieder der IRF-Familie, das Interferon-Typ I Promotorelement PRD I, und ist in der Lage die Interferon-Typ I Expression zu induzieren [141, 242, 246]. Eine Vielzahl von Interferon-Antwortgenen werden durch IRF-1 alleine, oder in Kombination mit anderen Transkriptionsfaktoren reguliert ([50, 121, 240] und siehe Anhang), so daß diverse Bereiche innerhalb der Regulation des Immunsystems und der Immunantwort gegen Pathogene von IRF-1 abhängig sind, was durch Untersuchungen an IRF-1 defizienten Mäusen, bzw. konstitutiv IRF-1 exprimierenden transgenen Mäusen eindrucksvoll bestätigt werden konnte [121, 245, 247-250].

Weitere durch IFN- γ induzierbare Mitglieder der IRF-Familie sind IRF-2, IRF-8 und IRF-9, während im Rahmen der zellulären Antwort auf Interferon-Typ I bis auf IRF-6 und IRF-8 sämtliche Mitglieder der IRF-Familie induziert werden. Die Induktion dieser IRF-Familienmitglieder wird z.T. durch sekundäre Transkriptionsfaktoren wie IRF-1 oder dem "CCAAT-enhancer binding protein- β " (C/EBP- β oder NF-IL6), einem Mitglied der "basic leucine zipper" Transkriptionsfaktoren-Familie vermittelt [121, 128, 141, 144, 149, 199, 246, 251-254], so daß diese im engeren Sinne tertiäre Transkriptionsfaktoren innerhalb der zellulären Antwort auf IFN- γ darstellen.

Die Interferon-Typ I induzierbaren Mitglieder IRF-3, IRF-5 und IRF-7 sind vor allem von Bedeutung bei der Induktion, bzw. Intensivierung der IFN- α und IFN- β Expression ([121] und siehe Abschnitt 1.3.2).

Eine Besonderheit des von beiden Interferon-Typen ubiquitär induzierbaren IRF-2 [121, 244, 246, 251], und des nur in myeloiden und lymphoiden Zellen durch IFN- γ induzierten IRF-8 [255-257], das auch als "interferon consensus sequence binding protein" (ICSBP) bezeichnet wird, ist, daß sie sowohl als transkriptioneller Aktivator, wie auch als Repressor fungieren können [35, 178, 246, 258-271]. *In vitro* Studien, sowie Untersuchungen an IRF-2, bzw. IRF-8 defizienten Mäusen zeigten, daß IRF-2 an einer Vielzahl zellulärer Resistenzmechanismen gegenüber Pathogenen

beteiligt ist, während IRF-8 eine wichtige Rolle bei der Regulation des Immunsystems und der Onkogenese spielt [35, 178, 260-271].

IRF-9 wurde ursprünglich als ISRE und PRD I erkennende, DNA-bindende Untereinheit innerhalb des ISGF3 Transkriptionsfaktorkomplexes identifiziert [178, 272, 273]. Die Induktion von IRF-9 nach IFN- γ Stimulation wird durch den Transkriptionsfaktor C/EBP- β vermittelt [251], der an verschiedenen biologischen Aktivitäten, wie der T_H1 Immunantwort, Makrophagen-Aktivierung und Lipid-Speicherung beteiligt ist [274-276]. C/EBP- β , das von IFN- γ STAT1-unabhängig induziert wird [107, 108, 277-279], erkennt das sogenannte "gamma-activated transcriptional element" (GATE) innerhalb des IRF-9 Promotors und aktiviert dessen Transkription [253, 254]. Studien an IRF-9 defizienten Mäusen zeigten, daß IRF-9 eine essentielle Rolle innerhalb der zellulären Antwort auf Interferon-Typ I und Typ II, bei der Aktivierung von Interferon-induzierbaren Genen und antiviralen Resistenzmechanismen spielt [95].

1.5 Negative Regulation der zellulären Antwort auf Interferone

Die zellulären Antworten auf Interferone müssen spezifisch kontrolliert und koordiniert werden, um übermäßige Immunantworten, die zu potentiell toxischen Effekten führen würden, zu unterbinden [280, 281]. Im Rahmen des komplexen Zytokin-Netzwerkes wird die Interferon-Antwort durch diverse Zytokine moduliert, wobei besonders das von T_H2-Zellen exprimierte Interleukin-4 (IL-4), das die Entwicklung der humoralen Immunantwort fördert, eine Vielzahl antagonistischer Effekte ausübt [50]. Daneben kann die Interferon-Typ I und IFN- γ Expression, sowie ihr spezifischer Signaltransduktionsweg durch unterschiedliche Ebenen betreffende autoinhibitorische Mechanismen reguliert werden (siehe auch Tabelle 1).

Wichtige autoinhibitorische Mechanismen innerhalb eines frühen Zeitpunktes des IFN- γ Signaltransduktionsweges, sind die Reprimierung der IL-18 induzierten IFN- γ Expression durch das Interferon-induzierbare "IL-18 binding protein" (IL-18BP) [282-285], die Zelltyp-spezifische Desensibilisierung gegenüber IFN- γ durch negative Beeinflussung der IFNGR2 Expression [3, 50, 286, 287], sowie die rasche Internalisierung des IFNGR1-IFN- γ Komplexes und nachfolgende Degradierung von IFN- γ in Lysosomen [3, 69, 289, 290]. Mechanismen der frühen negativen Regulation des Interferon-Typ I Signaltransduktionsweges die durch Interferon-Typ I selbst aktiviert werden sind weniger gut charakterisiert. Ähnlich zur IFNGR2 Rezeptor-Untereinheit

kann die IFNAR1 Expression in bestimmten Zellen nach IFN- α Induktion reprimiert werden, was zur zellulären Desensibilisierung gegenüber einer erneuten IFN- α Stimulation führt [69, 289].

Negative Regulationsmechanismen die in die Interferon-Typ I und IFN- γ spezifischen JAK-STAT Signaltransduktionskaskaden eingreifen werden durch Mitglieder der "cytokine-inducible Src homology 2-domain-containing" (CIS), "suppressor of cytokine signaling" (SOCS) Familie, sowie der "protein inhibitor of activated STAT" (PIAS) Familie vermittelt [291-294].

CIS bindet an aktivierte Zytokinrezeptoren, was die Rekrutierung und nachfolgende Aktivierung von STAT Proteinen blockiert [295]. Obwohl CIS-1 IFN- γ reguliert ist [296], scheint es spezifisch den STAT5 abhängigen Signaltransduktionsweg zu inhibieren und nicht an einem negativen Rückkoppelungsmechanismus innerhalb der IFN- γ Signalisierung beteiligt zu sein [297]. SOCS-1 und SOCS-3 assoziieren direkt mit JAK-Kinasen und inhibieren deren katalytische Aktivität [298-300]. Während bei SOCS-3 nur *in vitro* eine autoregulatorische Inhibition des IFN- γ Signaltransduktionsmechanismus festgestellt werden konnte [301, 302], wiesen Untersuchungen an SOCS-1 defizienten Mäusen, SOCS-1 als eindeutigen Bestandteil eines negativen Rückkoppelungsmechanismus innerhalb der IFN- γ Signalisierung aus [303]. Inwiefern CIS-1 oder Mitglieder der SOCS-Familie an einer autoinhibitorischen Regulation des Interferon-Typ I Signaltransduktionsweges beteiligt sind, ist nicht bekannt. Die Interferon vermittelte Aktivierung von Mitgliedern der PIAS-Familie führt zu deren Interaktion mit phosphoryliertem STAT1, wobei sie als transkriptionelle Korepressoren von STAT1 fungieren, indem sie entweder die STAT1-DNA-Bindung blockieren oder durch davon unabhängige, nicht näher charakterisierte Mechanismen, die transkriptionelle Aktivierungsfunktion von STAT1 reprimieren [293, 294].

Ein weiterer in den JAK-STAT Signaltransduktionsweg eingreifender inhibitorischer Mechanismus, erfolgt durch die Deaktivierung von STAT Proteinen mittels einer raschen Dephosphorylierung durch Tyrosin Phosphatasen, wie z.B. SHP-1 und SHP-2 [304, 305]. Die Identität dieser Kinasen wird jedoch kontrovers diskutiert. [76, 173, 306-310].

Zusätzlich wurde negative Rückkoppelungsmechanismen beschrieben die durch die Interferon-abhängige transkriptionelle Aktivierung von sekundären Transkriptionsfaktoren, wie IRF-2 (beide Interferon-Typen) und IRF-8 (nur IFN- γ), die als positiver oder negativer Regulator fungieren können, vermittelt werden [35, 178, 246, 258, 259, 261, 265-271].

Ebene der Autoinhibition	Inhibitorischer Mechanismus
Ligandenexpression	<ul style="list-style-type: none"> • Induktion von IL-18BP (IFN-γ) • IRF-2 vermittelte Inhibition der IFN-β Expression (IFN-α/β)
Rezeptor	<ul style="list-style-type: none"> • Rezeptor Internalisierung (IFN-α/β, IFN-γ) • Inhibition der Rezeptorexpression (IFN-α/β, IFN-γ)
JAK-STAT Signaltransduktionsweg	<ul style="list-style-type: none"> • CIS-1: Inhibition der STAT-Aktivierung durch Assoziation mit Rezeptoruntereinheiten (?) • SOCS: Inhibition der STAT-Aktivierung durch Assoziation mit JAK Proteinen (IFN-γ, IFN-α/β ?) • PIAS: Transkriptioneller Co-Repressor durch Assoziation mit STAT Proteinen (IFN-α/β, IFN-γ) • SHP-1/SHP-2: Deaktivierung von STAT Proteinen (IFN-α/β)
Expression von Antwortgenen	<ul style="list-style-type: none"> • Induktion von negativen transkriptionellen Regulatoren wie IRF-2 (IFN-α/β, IFN-γ) oder IRF-8 (IFN-γ)

Tabelle 1. Autoinhibitorische Regulation der zellulären Antwort auf Interferone. Aufgeführt sind der jeweilige inhibitorische Mechanismus und die von ihm betroffene Ebene innerhalb der zellulären Antwort auf Interferone. In Klammern gesetzt ist welcher Interferon-Typ den jeweiligen Mechanismus aktiviert.

1.6 Interferon-Typ I und Typ II induzieren teilweise überlappende Zellantworten

Interferon-Typ I und Typ II binden an unterschiedliche Zelloberflächen-Rezeptoren und induzieren eindeutig unterscheidbare Signaltransduktions-Kaskaden, jedoch unter Beteiligung gemeinsamer Komponenten der JAK-STAT Transduktionsmachinerie. Die zelluläre Antwort auf die verschiedenen Interferon-Typen ist spezifisch, dennoch teilweise überlappend [50, 89, 149, 240]. Diese partielle Überlappung wird z.T. dadurch hervorgerufen, daß beide Interferon-Typen die gleichen Transkriptionsfaktorenkomplexe (GAF/AAF, ISGF3, STAT3), bzw. Transkriptionsfaktoren mit ähnlicher Bindungsspezifität für bestimmte Promotormotive (IRF-1, ISGF3) aktivieren.

Die Zellstimulation mit IFN- γ bewirkt ferner einen "γ priming" genannten Effekt, der durch Induktion primärer Komponenten der Interferon-Typ I Signaltransduktionskaskade zu einer Potenzierung der zellulären Antwort auf eine nachfolgende Interferon-Typ I Stimulation führt [69, 311-313].

Anhand neuerer Untersuchungen konnte zudem eine direkte funktionale Verbindung zwischen dem Interferon-Typ I und Typ II Signaltransduktionsweg auf der Ebene der Rezeptorkomplexe nachgewiesen werden [53, 121, 152] (siehe Abb. 4). Eine minimale konstitutive Expression von Interferon-Typ I, die unterhalb des Signalisierungs-Grenzwertes liegt, führt dabei zur Phosphorylierung von IFNAR1 an den STAT1 und STAT2 binden, ohne anschließend aktiviert zu werden [53]. Zusätzlich wurde gezeigt, daß IFNGR2, selbst in unstimulierten Zellen, mit IFNAR1

assoziiert ist. Die unterschwellige Interferon-Typ I Expression verstärkt die Assoziation von IFNGR2 mit IFNAR1, wobei die an IFNAR1 gebundenen STAT-Moleküle, die nach IFN- γ Stimulation phosphoryliert werden, als effektive Bindungsstellen für IFN- γ aktivierte STAT-Proteine dienen können² [53]. Eine effiziente Aktivierung der IFN- γ Signaltransduktionskaskade, und somit der zellulären Antwort auf IFN- γ , ist daher abhängig von der unterschwelligen von Interferon-Typ I Expression und der direkten physikalischen Assoziation von IFNAR1 mit IFNGR2 [53, 121]. Bestätigt wurden diese Resultate durch Untersuchungen an IFN- β , IFNAR1 oder Tyk2 defizienten Mäusen, in denen die IFN- γ Signaltransduktion, bzw. die IFN- γ vermittelte antivirale Antwort beeinträchtigt ist [53, 314].

² Taniguchi und Mitarbeiter postulieren, daß die unterschwellige Synthese von IFN- α/β , die zur Assoziation von IFNAR1 mit IFNGR2 und STAT1 bzw. STAT2 führt, ebenfalls von Bedeutung bei der IFN- γ vermittelten Aktivierung von ISGF3 ist [53, 121]. Dies steht jedoch im Widerspruch zu ihren eigenen, früheren Ergebnissen, die zeigten, daß ISGF3 nach IFN- γ Stimulation auch in IFNAR1 defizienten Zellen gebildet wird [93].

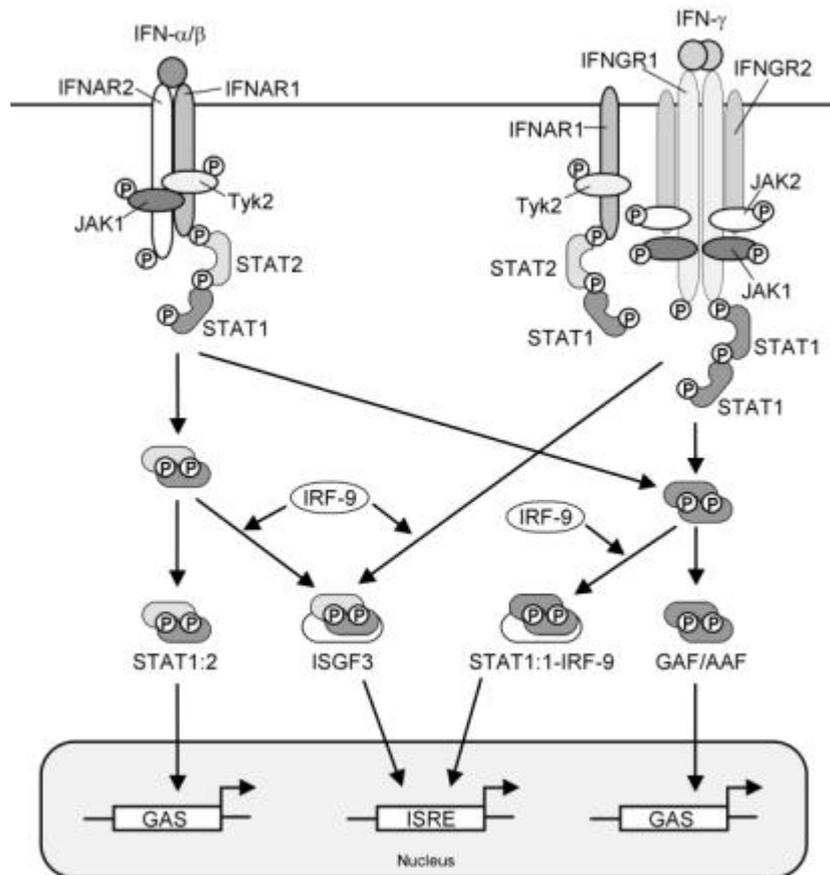


Abbildung 4. Schematische Darstellung ubiquitärer Interferon-Typ I, bzw. IFN- γ aktivierter Signaltransduktionswege. Modifiziert nach Taniguchi [121]. Die Bindung von Interferon-Typ I an den Rezeptor führt zur reziproken Aktivierung der mit IFNAR2 assoziierten JAK1 und der mit IFNAR1 assoziierten Tyk2 Kinase. Diese phosphorylieren ihrerseits einen spezifischen Tyrosinrest von IFNAR1, der als Bindungsstelle für STAT2 fungiert. Die Funktion von IFNAR1 als Bindungsstelle ist umstritten, mglw. erfolgt die Bindung von STAT2 durch IFNAR2. STAT2 wird durch Tyk2 phosphoryliert und dient als Bindungsstelle für STAT1, welches nachfolgend aktiviert wird. STAT1:2 Heterodimere dissoziieren vom Rezeptorkomplex und bilden zusammen mit IRF-9 den heterotrimeren Komplex ISGF3, der die Transkription von Zielgenen mit ISRE-Promotorelementen aktiviert. Zusätzlich führt die Interferon-Typ I Stimulation ubiquitär zur Bildung von STAT1 Homodimeren, genannt AAF und STAT1:2 Heterodimeren, die als transkriptioneller Aktivator von Genen mit GAS Elementen in ihrer Promotorregion fungieren. Die effiziente Aktivierung der IFN- γ Signaltransduktionskaskade ist abhängig von einer unterschwelligen Interferon-Typ I Signalisierung, die die ansonsten schwache Assoziation zwischen IFNAR1 und IFNGR2 verstärkt und die Bindung von STAT2, bzw. STAT1 an IFNAR1 ermöglicht. Die Bindung des IFN- γ Homodimers an zwei mit JAK1 assoziierten IFNGR1 führt zur IFNGR1 Dimerisierung, Assoziation mit zwei JAK2 tragenden IFNGR2 Untereinheiten, der Transphosphorylierung der JAKs und Tyrosinphosphorylierung von IFNGR1. Anschließend wird STAT1 von IFNGR1 rekrutiert, durch Phosphorylierung aktiviert, und als aktiver Homodimer (AAF) in den Kern transportiert, der an GAS Promotormotive bindet. Zusätzlich können nach IFN- γ Stimulation ISRE-Promotorelemente erkennende ISGF3, sowie STAT1:1-IRF-9 Transkriptionsfaktorenkomplexe gebildet werden. Der Prozeß der STAT1 Homodimerisierung und mglw. die Bildung von ISGF3 wird dabei von dem an IFNAR1 gebundenen STAT1 und STAT2 unterstützt.

1.7 Die Komplexität der zellulären Antwort auf Interferone

Die zelluläre Antworten auf beide Interferon-Typen sind außerordentlich komplex. Durch "Gen Chip" Analysen konnten bisher über 300 durch Interferon-Typ I regulierte Gene in humanen und/oder murinen Fibroblasten identifiziert werden, wobei unter Regulation sowohl die positive

als auch die negative Beeinflussung der Expression zusammengefaßt ist [89, 149] (<http://www.lerner.ccf.org/labs/williams/>). Die Gesamtzahl der durch Interferon-Typ I regulierten humanen Gene wird auf 600-2000 Gene (je nach der Anzahl der im humanen Genom vorhandenen Gene) pro Einzelzelle geschätzt [149].

Die Zahl der durch IFN- γ regulierten Gene und somit die Komplexität der zellulären Antwort auf IFN- γ , übersteigt womöglich sogar noch die von Interferon-Typ I. Im Rahmen einer dieser Arbeit begleitenden umfassenden Literatursuche konnten bisher über 700 durch IFN- γ regulierte Gene identifiziert werden (siehe Anhang). Diese entstammen jedoch aus unterschiedlichen Zelltypen oder Spezies. Auf experimentellen Analysen basierende Schätzungen deuten daraufhin, daß weit mehr als 500 Gene pro Einzelzelle durch IFN- γ reguliert werden [315, 316].

Der weitaus größte Teil der Interferon-vermittelten Gen-Aktivierung oder -Inhibition erfolgt auf der Ebene der transkriptionellen Regulation unter Beteiligung der zuvor beschriebenen Signaltransduktions- und Genaktivierungsmechanismen. Zudem konnten post-transkriptionelle Regulationsmechanismen ([317-322] siehe auch Anhang), sowie Änderungen innerhalb von Protein-Aktivierungszuständen beobachtet werden, deren zugrunde liegende molekulare Maschinerie jedoch weitgehend unbekannt ist. Die beobachtete Komplexität der zellulären Antworten auf Interferone ist dabei sicherlich zu einem großen Teil auf die Mannigfaltigkeit der von ihnen regulierten Transkriptionsfaktoren zurückzuführen.

Trotz der Komplexität der zellulären Antworten auf Interferone scheint ihre Funktion ausschließlich in einer Regulation des Immunsystems und der Kontrolle der Abwehr infektiöser Pathogene zu bestehen. Diese Annahme wird unterstützt durch die phänotypische Analyse von Mäusen, in denen durch gezielte Mutationen wesentlicher Bestandteile des Interferon-Typ I oder IFN- γ Signaltransduktionsweges, wie des Liganden [53, 323-325], von Rezeptoruntereinheiten [326-330] oder essentiellen Komponenten der JAK-STAT Signaltransduktionskaskade [103, 201, 314, 331-333], die Interferon-Typ I und/oder IFN- γ vermittelten zellulären Antworten eliminiert wurden. Phänotypische Abnormalitäten treten in diesen Mäusen nur innerhalb des lymphatischen Systems auf und die pathologischen Effekte beschränken sich auf eine erhöhte Sensitivität gegenüber verschiedenen infektiösen Pathogenen (siehe obige Referenzen).

Während beide Interferon-Typen essentielle, jedoch nicht-redundante Funktionen innerhalb der antiviralen Verteidigung ausüben, spielt Interferon-Typ I bei der antimikrobiellen und antiparasitären Immunantwort nur eine untergeordnete Rolle [4, 82, 327, 334, 335]. Unterstützt wird diese Beobachtung durch neuere Untersuchungen, die zeigten, daß der primär von

Interferon-Typ I aktivierte heterotrimere Transkriptionsfaktorkomplex ISGF3 vor allem an der antiviralen Immunantwort beteiligt ist, während der primär von IFN- γ aktivierte Transkriptionsfaktor GAF, bestehend aus STAT1 Homodimeren, hauptsächlich antimikrobielle Effekte induziert [336]. Die von Interferon-Typ I vermittelten immunomodulatorischen Effekte, die Beeinflussung der adaptiven Immunantwort, sowie insbesondere die Makrophagen-aktivierende Kapazität, sind im Vergleich zu IFN- γ ebenfalls nur begrenzt oder fehlen nahezu völlig [4, 60, 82, 334].

Die zellulären Antworten auf beide Interferon-Typen lassen sich größtenteils als spezifische Programme innerhalb der angeborenen und erworbenen Immunität beschreiben [50, 149, 240] (siehe Anhang). Beispiele für wichtige Interferon-stimulierte zelluläre Programme sind direkte oder indirekte antiviral, bzw. antimikrobiell wirkende Programme, die Modulation des Immunsystems durch Beeinflussung des Zytokinnetzwerkes, die Regulation der Lymphozyten Wanderung unter normaler und gestörter Physiologie, die Kontrolle der Zell-Proliferation, -Differenzierung und -Apoptose, sowie die quantitative und qualitative Intensivierung der Antigenprozessierung und -präsentierung durch MHC Klasse I (beide Interferon-Typen) und MHC Klasse II (nur IFN- γ) [4, 50, 149, 240].

Ein Teil der Interferon-regulierten Programme, oder Komponenten dieser, werden spezifisch in spezialisierten lymphomyeloiden Zelltypen, wie Makrophagen (die hauptsächlich durch IFN- γ aktiviert werden), T- und B-Lymphozyten, Neutrophile oder DC aktiviert. Ein weiterer Teil der zellulären Antwort auf Interferone erfolgt hingegen zelltypübergreifend und unabhängig von Differenzierungszustand der Zellen. Prinzipiell ist die Antwort auf Interferone jedoch eine allgemeine Fähigkeit aller, oder der meisten Zell-Typen. Die Vielzahl der Interferon-regulierten Gene in einer einzelnen, differenzierten Zelle verändert dabei drastisch deren Prioritäten, wodurch sie in einen neuen Zustand, den Immunitätszustand ("resistant state"), überführt wird.

1.8 Zellautonome Resistenzprogramme innerhalb der zellulären Antwort auf Interferone

Das auf die Abwehr infektiöser Pathogene ausgerichtete Immunsystem von Vertebraten läßt sich in eine angeborene und eine erworbene, adaptive Komponente unterteilen [337]. Die adaptive Immunität wird vermittelt von T- und B-Zellen, während an der angeborenen Immunität hauptsächlich professionelle Zellen des Immunsystems wie, Makrophagen, DC oder NK-Zellen beteiligt sind. Als weiterer Teil der angeborenen Immunantwort existiert daneben noch eine durch

von professionellen Immunzellen sezernierten Zytokinen oder Infektionen induzierte, jedoch nichtadaptive Immunreaktion, an der sowohl professionelle, als auch nicht-professionelle Zellen beteiligt sind [337]. Diese Immunantwort erfolgt rasch und dient oftmals dazu, die Ausbreitung infektiöser Pathogene schon zu einem frühen Zeitpunkt zu unterbinden.

Ein Teil der von Interferon-induzierten, nichtadaptiven Immunantworten sind hierbei Komponenten zellautonomer Resistenzprogramme gegen verschiedene infektiöse Pathogene. Während Elemente der zellautonomen, durch Interferon-Typ I induzierten, antiviralen Resistenzprogramme und der in professionellen Zellen des Immunsystems (insbesondere in Makrophagen) durch IFN- γ induzierten, zellautonomen antimikrobiellen Resistenzprogramme partiell charakterisiert wurden, sind IFN- γ vermittelte zellautonome, antivirale oder antimikrobielle Resistenzmechanismen in nicht-professionellen Zellen des Immunsystems, wie z.B. Fibroblasten, nahezu unerforscht.

1.8.1 Zellautonome antivirale Resistenzmechanismen der Interferon-Antwort

Die am besten charakterisierten Interferon-induzierten Komponenten der zellautonomen, antiviralen Resistenzprogramme in professionellen und nicht-professionellen Zellen sind PKR, das "2'-5' oligoadenylate synthetase" (2'-5' OAS) System und die zur Dynamin-Familie gehörenden Mx GTPasen.

Das präferentiell durch Interferon-Typ I induzierte PKR besitzt neben seiner bedeutenden Rolle innerhalb der, durch virale Infektionen hervorgerufenen, Induktion der IFN- β Expression weitere wichtige Funktionen in der Transkriptions- und Translationskontrolle mit immunologischer Relevanz. So übt dsRNA aktivierte PKR einen direkten antiviralen Effekt aus, in dem es die α -Untereinheit des "eukaryotic initiation factor 2" (eIF2) phosphoryliert, was dessen Inaktivierung bewirkt und somit ein Recycling von Translationsinitiationsfaktoren verhindert. Dies führt schließlich zur raschen Inhibierung der mRNA-Translation [125, 338, 339]. Ferner fungiert PKR als Induktor der Zell-Apoptose, der indirekt ebenfalls zur Beseitigung einer viralen Infektion beitragen kann [340-342], und beeinflusst als Signal-transduzierende Kinase die Aktivität einer Reihe von Transkriptionsfaktoren, wie NF κ B, IRF-1 und STAT1, die bei der Induktion verschiedener antiviraler Effekte von Bedeutung sind [343-346]. Aufgrund der diversen Funktionen von PKR weisen PKR defiziente Mäuse eine Vielzahl immunologischer Defekte auf [347, 348].

Das 2'-5' OAS System besteht aus mehreren Interferon-Typ I und Typ II induzierbaren Proteinen unterschiedlicher subzellulärer Lokalisierung, die nach ihrer Aktivierung durch dsRNA, die Synthese von 2', 5' verbundenen Oligoadenylaten (2-5A) aus ATP katalysieren. 2-5A Moleküle binden mit hoher Affinität die latent im Zytoplasma vorhandene, inaktive, monomere Endoribonuklease L (RNaseL) und induzieren die Formation des homodimeren, aktiven Enzyms. Aktivierte RNaseL degradiert virale und zelluläre einzelsträngige RNA und inhibiert somit deren Translation [349]. Vor kurzem konnte zudem gezeigt werden, daß RNaseL auch 28S ribosomale RNA degradiert, was zur ribosomalen Inaktivierung und somit ebenfalls zur Inhibierung der Translation führt [350].

Die selektiv durch Interferon-Typ I induzierbaren, in unterschiedlichen zellulären Kompartimenten lokalisierten, zur Dynamin-Familie gehörenden Mx GTPasen konnten in verschiedenen Säugetieren, Vögeln und Fischen nachgewiesen werden [351-353]. Die Oligomere bildenden Mx Proteine vermitteln eine direkte zellautonome Resistenz gegenüber der Infektion verschiedener Gruppen von RNA-Viren, indem sie die virale Replikation durch Inhibition des Transportes, bzw. der Aktivität viraler Polymerasen, oder durch Inhibition des Transportes des viralen Genoms in den Nukleus unterbinden [353-356]. Inwieweit die Oligomerisierung und GTPase Aktivität der Mx-Proteine zu dem von ihnen vermittelten antiviralen Effekt beitragen, ist nicht eindeutig geklärt. So ist die von humanem MxA vermittelte Resistenz gegenüber Infektionen mit dem Thogoto Virus oder dem "vesicular stomatitis virus" (VSV) unabhängig von einer Oligomerisierung und GTP-Hydrolyse, jedoch abhängig von der GTP-Bindung [357-362]. Ferner existiert in der, aus zwei Proteinen bestehenden, Mx Familie der Maus ein Polymorphismus für beide Gene. Die nicht-funktionalen Null-Allele sind in freilebenden Mauspopulationen äußerst selten, während nahezu alle Laborstämme ein fixiertes Null-Allel für ein oder beide Genen aufweisen und dementsprechend anfällig gegenüber Mx-sensitive Viren sind [363, 364].

Untersuchungen an dreifach defizienten Mäusen, bei denen RNaseL (als Bestandteil des 2'-5' OAS Systems), PKR und Mx1 deletiert wurden, zeigten, daß neben diesen Resistenzmechanismen noch weitere Interferon-induzierte antivirale Effekte existieren [365]. Zudem konnte gezeigt werden, daß die durch IFN- γ aktivierten, RNaseL, PKR und Mx1 unabhängigen, antiviralen Mechanismen in professionellen Zellen des Immunsystems und nicht-professionellen Zellen divergierend sein können und nicht mittels IFN- γ induzierter löslicher Mediatoren erfolgen [366]. Für diese antiviralen Effekte in Frage kommende Komponenten sind u.a. die "dsRNA-abhängige adenosine deaminase" (ADAR), sowie als indirekter Resistenzmechanismus, die

Interferon-vermittelte Induktion der Apoptose. Das durch Interferon-Typ I und IFN- γ induzierte ADAR Protein katalysiert den Austausch von Adenosin zu Inosin in doppelsträngiger RNA. Dieser als RNA-Editierung bezeichnete Prozeß wirkt mutagen, so daß kein funktionales Protein synthetisiert werden kann [367, 368]. Ferner gibt es Hinweise darauf, daß eine Inosin-spezifische Ribonuklease im Zusammenspiel mit ADAR die modifizierte virale RNA degradiert [369].

1.8.2 Zellautonome antimikrobielle Resistenzmechanismen der IFN- γ Antwort

Interferon-Typ I spielt bei der Aktivierung zellautonom, antimikrobieller Resistenzmechanismen im Vergleich zu IFN- γ nur eine untergeordnete Rolle, auch wenn eindeutige, oftmals jedoch indirekte antimikrobielle Effekte nachgewiesen werden konnten [370].

Die am besten charakterisierten IFN- γ induzierten Komponenten zellautonomer antimikrobieller Resistenzmechanismen sind die Produktion von reaktiven Sauerstoff und Stickstoff Intermediären, sowie die "natural resistance-associated macrophage protein" (NRAMP) Familie. Die Aktivierung dieser Mechanismen erfolgt zumeist nicht als generelle, zelltypübergreifende Antwort auf IFN- γ , sondern ist vor allem Teil der Aktivierung von professionellen, phagozytierenden Zellen, insbesondere Makrophagen, zum Schutz vor bakteriellen Infektionen.

Reaktive Sauerstoff-Metaboliten werden ausschließlich nach IFN- γ Induktion in professionellen, phagozytierenden Zellen produziert. Die Produktion der freien, toxischen Radikale ist dabei abhängig von der IFN- γ induzierten Assemblierung der Multikomponenten "NADPH-oxidase" (auch als "phagocyte oxidase" (phox) bezeichnet) [50, 371].

Im Unterschied zu reaktiven Sauerstoff-Metaboliten werden reaktive Stickstoff-Intermediäre, insbesondere Stickoxid (NO), von verschiedenen Zelltypen gebildet. Die Produktion ist dabei abhängig von der IFN- γ induzierten "inducible nitric oxide synthase" (iNOS, oder NOS2) und teilweise weiterer Koenzyme, wie der "GTP-cyclohydroxylase I" und der "Argininosuccinate-synthetase" [50, 371]. Zusätzlich zu den antimikrobiellen Effekten, die partiell mit denen der reaktiven Sauerstoff Intermediäre überlappen [372], ist NO auch von Bedeutung bei der Abwehr spezifischer viraler Infektionen [371, 373].

Proteine der NRAMP Familie ließen sich sowohl in Prokaryonten als auch in Eukaryonten nachweisen. Das in Vertebraten exprimierte, IFN- γ induzierte NRAMP1 Protein ist ein integrales Membranprotein, das ausschließlich im lysosomalen Kompartiment von phagozytierenden Zellen

exprimiert wird. Nach phagozytotischer Aufnahme pathogener Mikroben wird es zur Phagosomenmembran rekrutiert, wo es die intraphagosomale Replikation des Pathogens, durch Kontrolle der Konzentration divalenter Kationen innerhalb der Phagosomen, inhibiert. NRAMP2 vermittelt die Aufnahme von Eisen und ist ebenfalls an der antimikrobielle Resistenz beteiligt, wobei der genaue Wirkmechanismus nicht bekannt ist [374-377].

IFN- γ induziert zudem die zellautonome Resistenz gegenüber nicht-viralen Pathogenen in nicht-professionellen Zellen. Die dafür verantwortlichen Komponenten der zellulären Antwort auf IFN- γ sind jedoch weitgehend unbekannt [378, 379].

1.9 Interferon-induzierte GTPasen als Bestandteile zellautonomer Resistenzprogramme

Verschiedenste fundamentale zelluläre Prozesse in Prokaryonten und Eukaryonten, wie die Kontrolle der Zell-Proliferation und -Differenzierung, die Proteinbiosynthese und Translokation von Proteinen, die Signaltransduktion und der vesikuläre Transport, werden durch Mitglieder der GTPase Superfamilie reguliert [380-382].

Die regulatorische Aktivität der GTPasen basiert auf ihrer Fähigkeit Guaninnukleotide zu binden und die Hydrolyse von GTP zu katalysieren. GTPasen fungieren dabei als molekularer Schalter, die infolge eines unidirektionalen Zyklus zwischen einer GTP und GDP gebundenen Form (siehe Abb. 5), die mit einer Konformationsänderung des Proteins einhergeht, ihre Affinität zu anderen Makromolekülen verändern können. Der Austausch von GDP zu GTP aktiviert dabei die GTPase, während die Hydrolyse von GTP zu GDP inaktivierend wirkt. Reguliert wird dieser GTPase Zyklus von "GTPase activating proteins" (GAPs), die die Hydrolyse von GTP zu GDP und somit die Inaktivierung beschleunigen und von "guanine nucleotide exchange factors" (GEFs; auch als "guanine nucleotide-releasing proteins" (GNRPs) bezeichnet), die die Austauschrate von GDP zu GTP erhöhen und als Aktivatoren fungieren [380, 383].

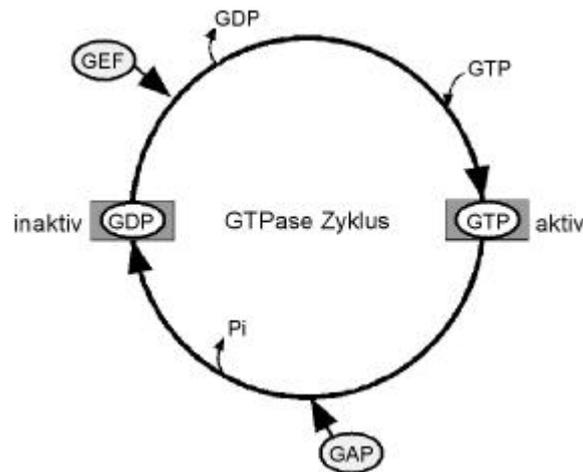


Abbildung 5. Schematische Darstellung des GTPase Zyklus, nach Bourne [383]. Die Funktion der GTPasen als molekularer Schalter beruht auf der Transition von einem inaktiven, GDP-gebundenen, in einen aktiven GTP-gebundenen Zustand. Reguliert wird die GTPase Aktivität in vielen Fällen von "guanine nucleotide exchange factors" (GEFs) und "GTPase activating proteins" (GAPs). GEFs katalysieren den Austausch von GDP zu GTP und wirkend aktivierend, während GAPs die Hydrolyserate von erhöhen und daher inaktivierend wirken.

Die Zugehörigkeit zur GTPase Superfamilie wird über die drei kanonischen, die GTP-Bindungsdomäne (auch GTPase- oder G-Domäne genannt) bildenden, Sequenzmotive G1 ($G(X_4)GKS$), G3 ($D(X_2)G$) und G4 ($(N/T)(K/Q)XD$) definiert [381]. Röntgenstrukturanalysen der $p21^{ras}$ GTPase zeigten, daß durch das G1- und G3-Motiv die Interaktion mit den Phosphatgruppen der gebundenen Guaninnukleotide vermittelt wird, während das G4-Motiv mit dem Purinring von GTP interagiert und für die Spezifität der Guaninerkennung verantwortlich ist [380, 383-385].

Verschiedene Mitglieder der GTPase Superfamilie werden durch Interferone reguliert und sind an diversen Interferon-vermittelten zellulären Programmen beteiligt (siehe Anhang). Beispiele hierfür sind der präferentiell durch $IFN-\gamma$ induzierbare "class II transactivator" (CIITA) [386, 387], die Interferon-Typ I und $IFN-\gamma$ induzierbare $p21^{ras}$ GTPase [149, 388], sowie Mitglieder der $IFN-\gamma$ regulierten GP-1 Familie [389, 390].

CIITA bildet den wichtigsten Regulator der im MHC Klasse II Antigenpräsentationsweg involvierten Gene und fungiert als Mediator ihrer Induktion durch $IFN-\gamma$ [391, 392]. $p21^{ras}$, das an der Kontrolle der Zell-Proliferation und -Differenzierung beteiligt ist [393], schützt Interferon-stimulierte Astrozyten vor Interferon-induzierten apoptotischen Effekten [388]. Die zellulären Funktionen der selektiv durch $IFN-\gamma$ induzierten GP-1 Familienmitglieder GTPBP1 und GTPBP2 sind nicht bekannt, da bei Analysen GTPBP1 defizienter Mäuse keinerlei phänotypische Abnormalitäten nachweisbar waren [394].

Darüber hinaus gibt es in zunehmenden Maße Beweise, daß fundamentale Komponenten zellautonomer Resistenzprogramme von Mitgliedern verschiedener Interferon-regulierter GTPase Familien gebildet werden.

Eine dieser Familien wird von den selektiv durch Interferon-Typ I induzierten, zur Dynamin-Familie gehörenden, Mx GTPasen gebildet, wobei die Mx Proteine als Prototyp der an zellautonomen, antiviralen Resistenzprogrammen beteiligten GTPasen angesehen werden können [351, 352]. Die von ihnen vermittelte zelltypübergreifende, direkte antivirale Aktivität gegen verschiedene Arten von RNA-Viren gilt als weitgehend gesichertes Erkenntnis und wurde zuvor bereits beschrieben (siehe 1.8.1)

Neuere Publikationen zeigten, daß die GTPase rab5a an zellautonomen, antimikrobiellen Resistenzprogrammen in IFN- γ stimulierten professionellen phagozytotischen Zellen beteiligt ist. Das Kompartiment-spezifische rab5a-Protein, dessen Expression auf phagosomale und endosomale Membranen beschränkt ist, fungiert unter normalen physiologischen Bedingungen als Regulator des endosomalen Transportes, wobei es sowohl an der Endozytose als auch an der Phagozytose beteiligt ist [395]. Die IFN- γ vermittelte Intensivierung der Expression und Aktivität von rab5a in murinen Makrophagen [396] beschleunigt die Phagosom-Lysosom-Fusion und Azidifikation, sowie die Produktion freier toxischer Radikale. Dadurch werden Mechanismen des putativ intrazellulären und intravakuolären Bakteriums *Listeria monocytogenes* zur Fusionsverzögerung konterkariert [397, 398]. Daher wird angenommen, daß rab5a eine zentrale Rolle innerhalb der IFN- γ vermittelten zellautonomen Resistenz gegenüber *Listeria monocytogenes* spielt [398].

Ebenfalls erst vor kurzem wurde gezeigt, daß verschiedene Mitglieder zweier, nicht miteinander verwandter GTPase Familien, die p65 und p47 GTPasen, von elementarer Bedeutung innerhalb zelltypübergreifender, zellautonomer Resistenzprogramme gegen virale, bakterielle und protozoische Pathogene sind. Zusätzlich konnte gezeigt werden, daß diese Interferon-Typ I und Typ II regulierten GTPasen die zelluläre Antwort auf IFN- γ in professionellen Zellen (Makrophagen) und nicht-professionellen Zellen (Fibroblasten) dominieren, wodurch sie als fundamentale Aspekt der Antwort auf IFN- γ charakterisiert werden. [399]

1.9.1 Die p65 GTPase Familie

Mitglieder der p65 GTPase Familie wurden bisher in Mensch, Maus, Ratte und Huhn identifiziert, wobei in den verschiedenen Spezies mindestens zwischen einem (Huhn, Ratte), vier (Maus) oder fünf (Mensch) zueinander sequenzverwandte p65 GTPasen existieren ([399-408]; Avdalovic, unveröffentlichte Daten (GenBank Nr.: NM052942; NM052941)).

Die konstitutiv nicht, oder nur sehr schwach exprimierten, 65-71 kDa großen p65 GTPasen werden durch beide Interferon-Typen sowohl in professionellen Zellen des Immunsystems, wie Makrophagen, als auch in nicht-professionellen Zellen, wie Fibroblasten, induziert, wobei IFN- γ einen wesentlich stärkeren induktiven Effekt als Interferon-Typ I aufweist [399-409]. So ist das hGBP-1 Transkript in IFN- γ stimulierten humanen Fibroblasten eine der häufigsten mRNAs [400, 410]. Die IFN- γ vermittelte Induktion der murinen p65 GTPasen erfolgt dabei als sekundäre Antwort und ist völlig von IRF-1 abhängig [50, 411]. An der Regulation der humanen p65 GTPasen, deren Promotor-Charakterisierung zur Aufklärung des JAK-STAT Signaltransduktionsweges führte, sind hingegen auch primäre Transkriptionsfaktoren von Bedeutung [192, 412-415].

Die p65 GTPasen besitzen den Konsensussequenzen entsprechende G1- und G3-Motive, daß G4-Motiv liegt jedoch, wie erst kürzlich anhand biochemischer Analysen der humanen p65 GTPase hGBP-1 gezeigt wurde, in abgewandelter Form vor und wird anstatt durch die kanonische Sequenz ((N/T)(K/Q)XD) durch das Sequenzmotiv ((T/A)(L/V)RD) gebildet [401, 406, 408, 416]. Die Substitutionen innerhalb des G4-Motives führen womöglich zu einer strukturellen Veränderung der GTP-Bindungsdomäne der p65 GTPasen. Dementsprechend weisen die oligomerisierenden p65 GTPasen eine größere Diversität innerhalb ihrer Guaninnukleotidbindungs- und Hydrolysekapazität als viele andere GTPasen auf. So sind die p65 GTPasen in der Lage, selektiv und mit nahezu nicht unterscheidbarer Affinität GTP-, GDP- und GMP-Nukleotide zu binden [400, 401, 404, 406, 408, 410, 417] und besitzen als ungewöhnliche biochemische Eigenschaft die Fähigkeit GTP zu GDP und GMP zu hydrolysieren. Das Hauptprodukt der Hydrolysereaktion ist dabei jedoch für die Mitglieder der p65 GTPase Familie jeweils unterschiedlich [406, 408, 416, 418, 419].

Die meisten Mitglieder der p65 GTPase Familie besitzen ein C-terminales Isoprenylierungsmotiv (auch CaaX-Sequenz genannt), wie es auch bei Mitgliedern der p21^{ras} GTPase Familie und der heterotrimerischen G-Proteine vorzufinden ist [420]. Mittels eines posttranslationalen

Mechanismus können an dieses Motiv Isoprenyl-Lipide angefügt werden, die die Verankerung eines Proteins an die Plasmamembran ermöglichen [421]. Die Isoprenylierung von hGBP-1 und des murinen mGBP-2 *in vitro* und *in vivo*, sowie der Ratten p65 GTPase *in vitro* konnte gezeigt werden [404, 407, 418, 422-424]. Neuere Untersuchungen zeigten, daß mGBP-1 trotz der CaaX-Sequenz nur ein sehr schwaches Substrat für die Isoprenylierung ist [425]. In Analysen zur subzellulären Lokalisierung der murinen, in zwei Subfamilien untergliederten, p65 GTPase Familienmitglieder mGBP-1, mGBP-2, mGBP-3 und mag-2 (wobei letztere kein CaaX-Motiv besitzen [405, 406]) konnte eine punktförmige (mglw. vesikuläre), zytoplasmatische Verteilung dieser GTPasen, wie sie auch für hGBP-1 beobachtet wurde, gezeigt werden [409, 410, 418, 426, 427]. Die Lokalisierung von mGBP-2 ist dabei abhängig von der Isoprenylierung des Proteins ist, was die bedeutende Rolle des CaaX-Motives herausstellt [427]. In anderen Publikationen wurde für mGBP-1, welches nur sehr schwach isoprenyliert wird und für mGBP-3, das keine C-terminale CaaX-Sequenz besitzt, eine homogene, nicht-punktförmige zytoplasmatische Verteilung nachgewiesen [406, 427]. Möglicherweise bestehen daher Zelltyp-spezifische Unterschiede innerhalb der subzellulären Lokalisierung dieser Proteine. Interessanterweise weist das im Zytoplasma lokalisierte humane MxA Protein ebenfalls eine punktierte Verteilung auf, eine Kolo-kalisation mit mGBP-2 oder mag-2 konnte aber nicht festgestellt werden [426, 428].

Durch kristallographische Studien, sowie biochemischer Analysen des humanen hGBP-1 Proteins konnte eine plausible strukturelle und biochemische Verbindung der p65 GTPasen mit der Dynamin-Familie hergestellt, die anhand eines Sequenzvergleiches nicht ersichtlich war [416, 429, 430]. In Übersichtsartikeln neueren Datums werden die p65 GTPasen daher, wie auch die Mx Proteine, der Dynamin-Familie zugeordnet [431].

Innerhalb der murinen p65 GTPase Familie existiert, ähnlich wie bei den murinen Mx GTPasen, ein Polymorphismus. In Mausstämmen, die das *GBP-1^a* Allel besitzen, wird mGBP-1, wie auch alle anderen p65 GTPasen durch Interferone induziert, während in Mausstämmen die das *GBP-1^b* Allel tragen die Expression von mGBP-1 nicht induziert werden kann [402, 417, 432, 433]. Trotz der natürlich vorkommenden Mausstämme ohne funktionelles mGBP-1 konnte bisher keine Korrelation der fehlenden mGBP-1 Expression mit einer erhöhten Anfälligkeit gegenüber Viren oder anderen Pathogenen festgestellt werden [402, 417, 432].

Obwohl die p65 GTPasen mit zu den ersten Proteinen gehörten die in IFN- γ stimulierten Fibroblasten identifiziert wurden, konnten sie lange Zeit keinem spezifischem Programm innerhalb der zellulären Antworten auf Interferone zugeordnet werden. Erst in einer vor kurzem

veröffentlichten *in vitro* Studie zur Funktion der humanen p65 GTPase hGBP-1 konnte gezeigt werden, daß dieses Mitglied der p65 GTPasen an direkten, antiviralen zellautonomen Resistenzmechanismen gegen VSV und dem "encephalomyocarditis virus" (ECMV) beteiligt ist [434]. Die zelluläre Funktion anderer Mitglieder der p65 GTPase Familie wurde noch nicht gezeigt, dennoch läßt sich annehmen, daß auch sie an zellautonomen Resistenzprogrammen gegenüber infektiösen Pathogenen beteiligt sind.

1.9.2 Die p47 GTPase Familie

Von der p47 GTPase Familie wurden bisher sechs murine Mitglieder publiziert [399, 435-439] und es bestehen Hinweise auf die Existenz von mindestens sieben weiteren Familienmitgliedern in der Maus (S. Martens, Universität zu Köln, persönliche Mitteilung). Zusätzlich gibt es Anzeichen auf die Existenz sequenzverwandter Gene in der Ratte, im Zebrafisch und im Menschen (J.C. Howard, Universität zu Köln, persönliche Mitteilung).

Die p47 GTPasen werden, ähnlich den p65 GTPasen zu denen sie keine Sequenzhomologie aufweisen, in professionellen Zellen des Immunsystems, wie Makrophagen, T-Zellen und B-Zellen, sowie in nicht-professionellen Zellen, wie Fibroblasten, stärker durch IFN- γ als durch Interferon-Typ I induziert [399, 409, 435-439]. Die Antwortklassifizierung der p47 GTPasen ist nicht einheitlich, so wurden verschiedene Mitglieder entweder der primären oder sekundären Antwort zugewiesen [399, 440], bzw. als gemischte Antwortgene charakterisiert [439].

Die in zwei Subfamilien unterteilten p47 GTPasen besitzen die drei die GTP-Bindungsdomäne bildenden kanonischen G-Motive, wobei bei den Mitgliedern IGTP, GTPI und LRG-47 die GKS Sequenz innerhalb des G1-Motivs durch GMS ersetzt ist [399, 409]. Trotz der zentralen Bedeutung dieses Motivs für die GTP-Bindung konnte eine GTPase Aktivität für IGTP, wie auch für TGTP/Mg21, das kein verändertes G1 Motiv aufweist, gezeigt werden [439, 441]. Bisher unveröffentlichte Studien zur biochemischen Charakterisierung von IIGP wiesen auch für dieses Protein eine inherente, wenn auch niedrige GTPase Aktivität nach, wobei die Hydrolyse rate von GTP zu GDP mit steigender Proteinkonzentration zunahm, was auf einen kooperativen Mechanismus der GTP-Hydrolyse hinweist (R. Uthaiyah, Universität zu Köln, persönliche Mitteilung). Studien zur subzellulären Lokalisierung zeigten, daß jede der sechs bisher veröffentlichten p47 GTPasen an verschiedenen intrazellulären Membransystemen lokalisiert ist, inklusive des endoplasmatischen Retikulums (ER), des ER-Golgi intermediären Kompartimentes (ERGIC), des Golgi-Apparates, des endosomalen Systems und spezifischer Regionen der

Plasmamembran ([409, 442], S. Martens, Universität zu Köln, persönliche Mitteilung und J. Zerrahn, Max-Planck-Institut für Infektionsbiologie, Berlin, persönliche Mitteilung). Die Art der Assoziierung der p47 GTPasen mit den jeweiligen Organellen ist unbekannt. Keines der sechs Mitglieder besitzt ein Signalpeptid, eine hydrophobe, potentielle Transmembrandomäne oder ein C-terminales Isoprenylierungsmotiv, wie es einige Mitglieder der p65 GTPase Familie aufweisen. Ein N-terminales Myristylierungsmotiv konnte nur bei dem Mitglied IIGP identifiziert werden, das jedoch nicht absolut für die Assoziation von IIGP mit ER Membranen erforderlich ist (R. Uthaiyah, Universität zu Köln, persönliche Mitteilung).

Neuere Untersuchungen zur Funktion der p47 GTPasen innerhalb der zellulären Antwort auf IFN- γ , erbrachten eindeutige Beweise, daß Mitglieder der p47 GTPase Familie eine fundamentale Rolle in zelltypübergreifenden, zellautonomen nicht-redundanten Resistenzmechanismen gegenüber jeweils verschiedenen intrazellulären Pathogenen spielen. Eine stabil TGTP/Mg21 exprimierende murine Fibroblasten-Zell-Linie war *in vitro* weniger anfällig gegenüber einer Infektion mit VSV, während dieser Effekt bei einer Herpes Simplex Virus (HSV-1) Infektion nicht beobachtet werden konnte [441]. Untersuchungen an Mäusen mit einer gezielten Deletion der p47 GTPasen IGTP, LRG-47 oder IRG-47 wiesen einen spezifischen Verlust der Resistenz gegenüber dem intrazellulären, einzelligen Parasit *Toxoplasma gondii* auf, wobei der in IRG-47 beobachtete Resistenzverlust geringer war und nur in der chronischen Phase der Infektion auftrat [443-445]. LRG-47 defiziente Mäuse zeigten darüber hinaus einen völligen Resistenzverlust gegenüber Infektionen mit dem fakultativ intrazellulärem, gram-positiven Bakterium *Listeria monocytogenes* [444] [445]. Die Produktion von IFN- γ , sowie die von IFN- γ vermittelte Abwehr einer Infektion mit dem Cytomegalovirus oder dem Ebola Virus war in den defizienten Mäusen nicht beeinträchtigt. Die verschiedenen p47 GTPasen scheinen demnach jeweils an der IFN- γ vermittelten Abwehr eines spezifischen Spektrums von Pathogenen beteiligt zu sein.

Die Analysen der biologischen Funktion der Mx Proteine, rab5a, sowie der p65 und p47 GTPasen (die von ihnen vermittelten Resistenzen sind in Tabelle 2 zusammengefaßt), legen nahe, daß Interferon-induzierte GTPasen eine zentrale Rolle innerhalb zelltypübergreifender, zellautonomer Resistenzprogramme gegen virale, bakterielle oder Protozoeninfektionen spielen.

Name und Familie der GTPase	Resistenz gegen	Induziert durch
rab5a (rab Familie)	<i>Listeria monocytogenes</i> (<i>in vitro</i>)	IFN- γ
Mx GTPasen (Dynamine)	verschiedene Arten von RNA-Viren (<i>in vivo</i> und <i>in vitro</i>)	IFN- α/β
hGBP-1 (p65 GTPasen; Dynamine)	VSV (<i>in vitro</i>) ECMV (<i>in vitro</i>)	IFN- γ (stark) IFN- α/β (schwach)
TGTP/Mg21 (p47 GTPasen)	VSV (<i>in vitro</i>)	IFN- γ (stark) IFN- α/β (schwach)
IGTP (p47 GTPasen)	<i>Toxoplasma gondii</i> (akut) (<i>in vivo</i>)	IFN- γ (stark) IFN- α/β (schwach)
LRG-47 (p47 GTPasen)	<i>Toxoplasma gondii</i> (akut) (<i>in vivo</i>)	IFN- γ (stark) IFN- α/β (schwach)
IRG-47 (p47 GTPasen)	<i>Toxoplasma gondii</i> (chronisch) (<i>in vivo</i>) <i>Listeria monocytogenes</i> (<i>in vivo</i>)	IFN- γ (stark) IFN- α/β (schwach)

Tabelle 2. Zellautonome Resistenzmechanismen Interferon-induzierter GTPasen. Neben dem Namen und Familienzugehörigkeit der jeweiligen GTPase ist angegeben gegenüber welchem Pathogen die GTPase die Resistenz vermittelt und inwieweit die Ergebnisse *in vitro* oder *in vivo* erzielt wurden. Ferner ist vermerkt durch welchen Interferon-Typ die Induktion erfolgt. Bis auf rab5a werden hierbei alle aufgeführten GTPasen zelltypübergreifend durch Interferon induziert.

1.10 Zielsetzung der Arbeit

Die pleiotropen Zytokine Interferon-Typ I und Typ II spielen eine fundamentale Rolle innerhalb der Regulation des Immunsystems und der Abwehr infektiöser Pathogene. Eine Vielzahl der mehreren hundert von Interferon-regulierten Gene lassen sich dabei komplexen, funktionell koordinierten zellulären Programmen zuordnen. Während die Funktion einiger Komponenten dieser Programme hinreichend charakterisiert wurde, ist weder der volle Umfang der Programme, noch die spezifische Rolle vieler Interferon-regulierter Gene innerhalb der zellulären Antwort auf Interferon bekannt. Dies betrifft in besonderem Maße Komponenten der zellulären Antwort auf IFN- γ in nicht-professionellen Zellen [4, 50, 82, 149, 240].

Im Rahmen einer in diesem Institut durchgeführten systematischen und vergleichenden Analyse der zellulären Antwort auf IFN- γ in Maus embryonischen Fibroblasten und Makrophagen mittels der PCR-basierten "Suppressions subtraktiven Hybridisierung" (SSH) Technik konnte gezeigt werden, daß Mitglieder zweier nicht miteinander verwandter GTPase Familien, die p65 und p47 GTPase Familien, die komplexe zelluläre Antwort auf IFN- γ in den untersuchten Zellen dominierten [399, 409].

Erst vor kurzem veröffentlichte Publikationen konnten nachweisen, daß Mitglieder der p65 und p47 GTPase Familie, sowie weitere Interferon-Typ I oder Typ II regulierte GTPasen, wie die

Mx Proteine oder die rab5a GTPase, bedeutende Komponenten Interferon-regulierter, zellautonomer Resistenzprogramme gegen virale, bakterielle oder protozoische Pathogene sind [352, 398, 434, 441, 444, 446].

Während der vergleichenden Analyse der zellulären Antwort auf IFN- γ in embryonischen Fibroblasten und Makrophagen, wurden weitere mit IFN- γ induzierten Transkripten korrespondierende cDNA Fragmente isoliert, deren Sequenz keine Homologien zu in öffentlichen Datenbanken deponierten Genen aufwies [399, 409]. Im Rahmen der vorangegangenen Diplomarbeit [447] wurde versucht die vollständige cDNA eines dieser Fragmente, genannt Klon 18, welches alleinig aufgrund seiner ungewöhnlichen Transkriptgröße von ca. 9 kb zur Analyse ausgewählt wurde, zu identifizieren, was jedoch nicht vollständig gelang. Da innerhalb der partiellen, putativen Proteinsequenz von Klon 18 eine GTP-Bindungsdomäne identifiziert wurde, repräsentierte Klon 18 eine weitere, völlig neue Interferon-regulierte GTPase und wurde in "very large inducible GTPase-1" (VLIG-1) umbenannt.

In der vorliegenden Arbeit sollte nun die vollständige cDNA-Sequenz von VLIG-1 identifiziert werden und eine detaillierte molekulare und teilweise biochemische Charakterisierung des VLIG-1 Gens, respektive Proteins erfolgen. Die Charakterisierung umfaßte dabei verschiedenste Aspekte, wie z.B. die Aufklärung der genomischen Struktur und der Promotorregion des Gens, die Suche nach sequenzverwandten Genen in anderen Organismen, die Expressionsanalyse unter verschiedenen experimentellen Bedingungen, die Charakterisierung der Nukleotidbindungseigenschaften, sowie die subzelluläre Lokalisierung des Proteins. Im Hinblick auf die putative zelluläre Funktion von VLIG-1, sollte die Charakterisierung von VLIG-1 teilweise vergleichend mit den p47 und p65 GTPasen erfolgen, da bekannt war, daß Mitglieder dieser GTPase Familien in zelltypübergreifende, zellautonome Resistenzmechanismen involviert sind [434, 439, 441, 444, 445].

2. Material und Methoden

2.1 Mäuse

2.1.1 Mausstämme

C57BL/6J, 129/sV und BALB/c Mäuse stammen aus der Mäusezucht des Instituts für Genetik, Universität zu Köln. Die IRF-1 defizienten Mäuse (IRF-1^{-/-}) mit 129/sV genetischem Hintergrund [448] stammen aus dem Labor von C. Weissmann (Imperial College School of Medicine at St. Mary's, London, England) und wurden freundlicherweise von S. Könen-Waisman (Universität zu Köln) zur Verfügung gestellt. Die IFN- γ Rezeptor defizienten Mäuse (IFN- γ R⁰⁰), ebenfalls mit 129/sV genetischem Hintergrund, wurden beschrieben in [326] und von M. Aguet (Universität Lausanne, Schweiz) zur Verfügung gestellt. TNFRp55 defiziente Mäuse (TNFRp55^{-/-}) mit C57BL/6J genetischem Hintergrund wurden beschrieben in [449] und von K. Pfeffer (Institut für medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene, Technische Universität München) zur Verfügung gestellt. Alle Mäuse wurden unter konventionellen Bedingungen gehalten.

2.1.2 Infektion mit *Listeria monocytogenes*

Die Infektion verschiedener Mausstämme mit *Listeria monocytogenes* wurden von U. Boehm (Harvard Medical School, Boston, USA) in den Laboratorien von K. Pfeffer durchgeführt. C57BL/6J, IRF-1^{-/-}, IFN- γ R⁰⁰ und TNFRp55^{-/-} Mäuse wurden intraperitoneal mit 1/10 der LD₅₀ des *Listeria monocytogenes* Stammes EGD infiziert. 24 h nach der Infektion wurden die Mäuse getötet, die Lebern entnommen und in flüssigem Stickstoff Schock-gefroren. Die nachfolgende Isolierung der Gesamt-RNA ist im Abschnitt 2.1.11 beschrieben.

2.2 Molekularbiologie

Alle eingesetzten Chemikalien wurden, wenn nicht anders vermerkt, in p.a.-Qualität von Merck (Darmstadt), Sigma-Aldrich (Deisenhofen) oder Roth (Karlsruhe), die Radiochemikalien von Amersham (Braunschweig) bezogen. Die verwendeten Enzyme stammen von Roche (Mannheim), New England Biolabs (Schwalbach) oder Clontech (Heidelberg). Die DNA-Größenstandards

wurden von Gibco-BRL (Eggenstein) bezogen. Sämtliche Puffer und Lösungen wurden mit deionisiertem, gereinigtem H₂O (Seral-Reinstwasser) angesetzt.

Alle hier nicht im Detail aufgeführten Puffer, Lösungen, sowie experimentelle Techniken wurden nach Protokollen in [450, 451] angesetzt, bzw. in Übereinstimmung mit diesen durchgeführt.

2.2.1 Sichtung der gröbenselektionierten λ -cDNA Banken aus IFN- γ stimulierten C57BL/6J embryonalen Fibroblasten

Die Herstellung der λ -cDNA Banken erfolgte im Rahmen der Doktorarbeit von U. Boehm (Harvard Medical School, Boston, USA) [409]. Die Sichtung der >4 kb λ -cDNA Bank wurde von R. Lange (Universität zu Köln) durchgeführt und soll nachfolgend nur kurz zusammengefaßt werden. Insgesamt 20.000 λ -Phagen wurden ausplattiert (je 5000 pro 15cm Platte) und entsprechend den Herstellerangaben (Stratagene) auf Hybond-N Membranen (Amersham) transferiert. Zur Identifizierung der vollständigen cDNA von VLIG-1 wurde ein mittels 3'-RACE auf 3384 bp verlängertes, radioaktiv markiertes cDNA-Fragment von VLIG-1 verwendet. Die Membranen wurden ÜN bei 65°C in "HYB-9 DNA-Hybridisierungslösung" (Biozym) hybridisiert, anschließend unter stringenten Bedingungen gewaschen und positive Signale mittels Autoradiographie detektiert. Nach dem "Rescreening" (Stratagene) wurden die cDNA Insertionen durch *in vivo* Exzision des pBluescript II SK+/- Phagemid aus dem Uni-Zap XR Vektor entsprechend den Herstellerangaben (Stratagene) isoliert. Die Größen der cDNA Insertionen wurden mit Hilfe eines SpeI Restriktionsverdauens abgeschätzt und nur die größten cDNAs zur weiteren Analyse verwendet und vollständig mit dem im Anhang aufgeführten VLIG-1 Sequenzprimern sequenziert. Hieraus resultieren die Vektoren VLIG-1/Klon A und VLIG-1/Klon B.

Als weitere λ -cDNA Bank wurde eine Bank aus *in vitro* differenzierten, nicht-stimulierten dendritischen Zellen mit C3H/eBFe/J genetischem Hintergrund verwendet [452], die freundlicherweise von I. Lieberam (Columbia University, New York, USA) zur Verfügung gestellt wurde. Diese λ -cDNA Bank wurde jedoch nur mittels PCR-Analyse gesichtet.

2.2.2 Sichtung einer Erststrang 3'-RACE cDNA Bank aus IFN- γ stimulierten C57BL/6J embryonalen Fibroblasten

Die Herstellung dieser 3'-RACE cDNA Bank erfolgte im Rahmen der vorangegangenen Diplomarbeit [447] und soll hier nur kurz beschrieben werden. 1 μ g mRNA aus 24 h mit 1000

U/ml IFN- γ stimulierten C57BL/6J embryonischen Fibroblasten (EF) wurde mit einem Oligo d(T)-Anker Primer (Roche) unter Verwendung von Mo-MLV Reverse Transkriptase (Roche) revers transkribiert. Der verwendete Primer bindet vor allem am Poly(A) Schwanz der Transkripte und fügt eine spezifische Sequenz ein (Anker), die als Primer Bindungsstelle für nachfolgende Amplifikationen genutzt werden kann. Nach erfolgter reverser Transkription wurde die verbliebene mRNA Matrize durch RNase H (Roche) degradiert und jeweils 1 μ l einer 1:500 Verdünnung dieser Erststrang 3'-RACE cDNA Bank als Matrize in PCR-Analysen eingesetzt.

Desweiteren wurde eine aus Milz mRNA hergestellte Erststrang cDNA Bank verwendet, wobei die mRNA aus C57BL/6J Mäusen stammte und freundlicherweise von A. Ehlich (Universität zu Köln) zur Verfügung gestellt wurde. Die Herstellung dieser Bank erfolgte mit Hilfe der "Omniscript Reverse Transkriptase" (Qiagen) nach Protokollen des Herstellers. Als Primer für die reverse Transkription diente ein Oligo d(T)-Anker Primer (Roche). Diese cDNA Bank wurde zur Identifizierung von VLIG-2 Transkripten eingesetzt und mittels PCR unter Verwendung des Primerpaares SP1/2GInsU analysiert.

2.2.3 Sichtung genomischer DNA-Bibliotheken

Im Rahmen dieser Arbeit wurden verschiedene genomische DNA-Bibliotheken nach dem Vorhandensein von Mitgliedern der VLIG-Familie gesichtet. Einerseits handelte es sich dabei um "bakterielle artifizielle Chromosomen" (BAC) Bibliotheken, bestehend aus bis zu 240 kb großen Fragmenten genomischer Maus DNA [453, 454], andererseits um "Bakteriophagen P1 artifizielle Chromosomen" (PAC) Bibliotheken, die bis zu 95 kb große genomische DNA-Fragmente enthalten können [455, 456].

- Die von Genome Systems (St. Louis, USA) hergestellten BAC-Bibliotheken bestehen aus durch partiellen HindIII Verdau hergestellten Fragmenten genomischer 129/sVJ Maus DNA, die in den Vektor pBeloBAC11 ligiert, als Einzelkopie-Plasmide in geeigneten *E.coli* Stämmen (hier DH10B) vermehrt werden können. Die Sichtung dieser BAC-Bibliotheken wurde von Genome Systems durch Hybridisierung mit einem markierten DNA-Fragment oder PCR durchgeführt. Die Hybridisierung mit einem spezifischen VLIG-1 cDNA Fragment blieb ohne Erfolg, während die PCR-Sichtung der BAC-Bibliotheken die Identifikation einiger potentiell positiver Klone ermöglichte.

In der ersten Amplifikationsrunde wurde das Primerpaar BU766/SP3 und in der zweiten Amplifikationsrunde BU284/BL1178 verwendet (die Primersequenzen sind im Anhang aufgeführt). Die Primer waren zuvor auf ihre Verwendbarkeit durch eine PCR mit

genomischer DNA als Matrize überprüft worden.

Folgende BAC-Klone wurden von Genome Systems identifiziert:

Klon Adresse/Klon-Nummer: 7:J23/19621; 226:M24/19622; 81:F18/19623; 114:E8/19624;
148:M7/19625

- Ferner wurde die BAC-Bibliothek RP23, sowie die PAC-Bibliothek ICRFP703 gesichtet, die beide genomische DNA-Fragmente von C57BL/6J Mäusen enthalten. Die Sichtung der PAC-Bibliothek erfolgte durch das Deutsche Ressourcenzentrum für Genomforschung (Berlin) mittels Hybridisierung unter Verwendung der vollständigen cDNA von VLIG-1.

Die BAC-Bibliothek RP23 wurde größtenteils durch D. Schenk im Rahmen ihrer Diplomarbeit [457] mittels PCR gesichtet und potentiell positive Klone vom Deutschen Ressourcenzentrum für Genomforschung (Berlin) erhalten.

Als PCR-Primer für die erste Amplifikationsrunde wurde das Primerpaar 4244/SP1 und für die zweite Amplifikationsrunde 18.1OG/SP1 verwendet:

Folgende BAC-Klone wurden identifiziert:

Klon Name: RP23-454A11; RP23-123C7; RP23-406H8; RP23-209J2; RP23-477O3;
RP23-472O8; RP23-477O14

2.2.4 Analyse der BAC-, bzw. PAC-DNA

Die Analyse der BAC-Klone aus der Bibliothek RP23, sowie der PAC-Klone aus der Bibliothek ICRFP703 war Bestandteil der Diplomarbeit von D. Schenk [457] und ist dort ausführlich beschrieben. Die BAC-DNA der 129/sV genomische DNA enthaltenden BAC-Klone von Genome Systems wurde nach dem in [451] beschriebenen Angaben, einem leicht modifizierten Protokoll der von Birnboim et al. beschriebenen Plasmid-Isolation [458], durchgeführt. Der Isolierung folgte eine Reinigung der BAC-DNA durch PEG-Präzipitation [451], um sequenzierfähige BAC-DNA zu erhalten. Die Analyse der BAC-DNA erfolgte durch PCR, Southern-Hybridisierung [450] und Sequenzierung.

2.2.5 Subklonierung der BAC-DNA in Cosmide

Die Subklonierung der BAC-DNA in Cosmide wurde angewandt, um kleinere genomische DNA-Fragmente von bis zu 50 kb zu erhalten, deren Analyse aufgrund ihrer geringeren Größe weniger technische Probleme mit sich bringt. Ein weiterer Vorteil von Cosmiden ist, daß diese im Unterschied zu BACs in mehreren Kopien pro Zelle vorliegen, so daß mit geringerem Aufwand größere Mengen DNA isoliert werden können [459].

Zur Subklonierung wurden 0.5-1.5 µg BAC-DNA mit Sau3AI partiell so verdaut, daß Fragmente zwischen 23 und 50 kb entstanden. Diese wurden in die BamHI-Schnittstelle von pCOS-EMBL6 [460] ligiert, mit Hilfe des "Gigapack III Gold Kits" (Stratagene) nach Angaben des Herstellers verpackt und damit *E.coli* Bakterien des DH5α Stammes transformiert. Nachteile dieser Methode waren, daß es keine exakten Sequenzinformationen des verwendeten Cosmid-Vektors gab, und das im Verlauf dieser Methode die Sequenzabfolge der genomischen DNA anscheinend nicht beibehalten wurde, was ihre Analyse nahezu unmöglich machte.

2.2.6 Analyse der Cosmid-DNA

Cosmide wurden mit Hilfe des "QIAprep Spin Plasmid Kits" (Qiagen) oder des "Boehringer Miniprep Kits" (Roche) isoliert, wobei die in den Herstellerprotokollen genannten Modifikation für die Cosmid-Isolierung Anwendung fanden. Die Analyse der Cosmide erfolgte durch PCR, Southern-Hybridisierung [450] und Sequenzierung. Zur Erleichterung und Beschleunigung der Cosmid-Sequenzierung wurde das "Genome Priming System (GPS)" (New England Biolabs) verwendet, wobei es sich um ein Tn7 Transposon-basierendes *in vitro* System handelt, welches die TnsABC Transposase nutzt um pro Ziel-DNA Molekül ein Transposon an einer willkürlichen Stelle zu integrieren. Ausgehend vom diesem Transposon ist mittels hochspezifischer Transposon-Primer die, im Gegensatz zum "Primer-Walking", rasche Cosmid-Sequenzierung möglich. Die Herstellung der GPS-Cosmid Bibliothek erfolgte gemäß Herstellerangaben.

2.2.7 Isolation genomischer DNA

Genomische DNA aus Zell-Linien wurde mit Hilfe des "GenomeClean Kits" (AGS) nach Herstellerangaben isoliert. Die Isolation genomischer DNA aus Mäuse-Schwänzen erfolgte im wesentlichen nach der Methode von Torres und Kühn [461], ohne Verwendung von Phenol. 600 µl Lyse-Puffer (100 mM Tris/HCl pH 8.5, 0.2% SDS, 200 mM NaCl, 400 µg/ml Proteinase K) wurde zu einem ca. 0.5 cm langen Maus-Schwanz in einem 1.5 ml Reaktionsgefäß gegeben und anschließend ÜN in einem Wasserbad unter Schütteln bei 55°C inkubiert. Das verbliebene Material wurde durch Zentrifugation für 5' bei 20.000 g pelletiert, der Überstand abgenommen und anschließend mit Isopropanol präzipitiert. Das Pellet wurde mit 700 µl 70% EtOH gewaschen und in 200 µl Tris/HCl pH 8.0 resuspendiert. Genomische DNA wurde bis zur weiteren Verwendung bei 4°C aufbewahrt.

2.2.8 PCR-Analyse

Die für PCR-Analysen verwendeten Protokolle variierten je nach Art der benutzten Matrizen-DNA, der verwendeten Primer, Größe des Amplifikationsproduktes und Art der Applikation. Die Amplifikationen erfolgten mit Hilfe des "Advantage KlenTaq Polymerase Mix" (Clontech), der Pfu Polymerase (Promega) oder einer in diesem Labor hergestellten Taq Polymerase unter Verwendung der mitgelieferten 10x PCR-Puffer, bzw. im Fall der Taq Polymerase unter Verwendung von 10x PCR-Puffer (Gibco BRL) und 2.5 mM MgCl₂ Standardprotokolle sahen dabei wie folgt aus:

- PCR mit genomischer DNA, BAC-DNA oder Cosmid-DNA als Matrize
Nach der Isolierung wurde die DNA 1:100 in 10 mM Tris/HCl pH 8.0 verdünnt, wovon 2 µl in einem Gesamtvolumen von 50 µl amplifiziert wurden (5 U Polymerase; 1x PCR-Puffer; je 5pmol Primer; 0.2 mM dNTPs; 1', 95°C; 35x (30", 95°C; 30", 62°C; 1', 72°C); 2', 72°C; , 4°C).
- PCR mit Plasmid-DNA als Matrize
Plasmid-DNA wurde 1:1000 in 10 mM Tris/HCl pH 8.0 verdünnt und davon 2 µl in einem Gesamtvolumen von 50 µl (Ansatz siehe oben) mittels einer Zweischnitt-PCR (ohne Annealing-Phase) oder Dreischnitt-PCR (mit Annealing-Phase), je nach Art der verwendeten Primer und der gewünschten Spezifität amplifiziert. Das Programm einer Zweischnitt-PCR bestand standardmäßig aus 1x 1', 95°C gefolgt von 25-30 Zyklen mit 30", 95°C und 1', 72°C und endete mit einer Inkubation bei 72°C für 2'.

2.2.9 Southern Blot Analyse

Southern Blot Analysen erfolgten gemäß den in [450, 451] beschriebenen Standardprotokollen. [α -³²P]dCTP (Amersham) markierte Sonden wurden mit Hilfe des "Rediprime DNA labeling Systems" (Amersham), nach Herstellerprotokollen generiert und anschließend nicht inkorporierte Radionukleotide durch Gelfiltration mittels Sephadex G-50 gefüllten NICK-Säulen (Pharmacia Biotech) entfernt. Die Hybridisierungen erfolgten ÜN bei 65°C in 5x Denhardts Lösung, 5x Standard Saline-Phosphat-EDTA (SSPE), 0.5% SDS und 0.5 mg Lachssperma-DNA. Die Membran wurde anschließend in Waschpuffern mit steigender Stringenz (1x SSPE, 0.1% SDS; 0.5x SSPE, 0.1% SDS; 0.1x SSPE, 0.1% SDS) für jeweils 20' bei 65°C gewaschen und Hybridisierungssignale durch Autoradiographie mit Kodak X-OMAT AR Filmen oder mit einem Fuji BAS1000 "Bio-imaging Analyzer System" (Phospho-Imager, Fujix) visualisiert.

2.2.10 DNA-Sequenzierung und Analyse von DNA-Sequenzen

Die Sequenzierung von Plasmid-DNA, Cosmid-DNA und BAC-DNA wurde unter Verwendung des "ABI Prism® BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Reaction Kits" (Applied Biosystems) durchgeführt. Die angewandte Methode basiert auf der Didesoxynukleotid-Kettenabbruch Reaktion nach Sanger [462] unter Verwendung Fluoreszenz-markierter Didesoxynukleotide. 0.5-2.5 µg DNA (je nach Art der zu sequenzierenden DNA) wurde mit 3.2 pmol Primer und 6 µl BigDye™ Terminator Reaktionsmix versetzt und auf ein Gesamtvolumen von 20 µl mit H₂O aufgefüllt. Nach erfolgter Sequenzierungsreaktion in einem Thermocycler (5', 96°C; 25x (30", 96°C; 15", 50°C; 4', 60°C); , 4°C) wurde die Reaktion mit EtOH präzipitiert, pelletiert und getrocknet. Die Auflösung der DNA-Fragmente erfolgte mit Hilfe eines automatischen Sequenzierers (373A, Applied Biosystems) und wurde von R. Lange (Universität zu Köln) durchgeführt.

Die computergestützte Analyse von DNA-Sequenzen und daraus abgeleiteten Proteinsequenzen erfolgte mit Hilfe der Programme "SeqPup 6.0" von D. Gilbert (zugänglich unter <ftp://iubio.bio.indiana.edu/molbio/seqpup/>), "Vector NTI Suite 5.5" (Informax), "BioEdit Sequence Alignment Editor" [463], DNASIS 2.0 (Hitachi Software Engineering, Tokio, Japan) und des "Wisconsin Package version 9.1" (Genetics Computer Group, Madison, WI, USA). Die Suche in DNA-, bzw. Protein-Datenbanken erfolgte unter Verwendung des Programmes BLAST und daraus abgeleiteter Programme [464, 465]. Die Suche nach Proteinmotiven erfolgte mit Hilfe der PROSITE und Pfam Datenbanken und geeigneter Programme wie "ProfileScan" oder anderer [466, 467]. Zur Analyse des VLIG-1 Promoters wurden die Programme "SignalScan", "Matrix Search", "TF Search" [468], "TESS" [469] und "MatInspector" [470], sowie die Datenbanken "IMD Database", "SigScan", "Transfac 4.0" [471] und "Matrix family library 1.9" eingesetzt.

2.2.11 Herstellung von GST-VLIG-1 Fusionsproteinen

Zur Herstellung von polyklonalen Kaninchen Antiseren die gegen Proteinfragmente von VLIG-1 gerichtet sind, wurden neun verschiedene rekombinante Fusionsprotein-kodierende Expressionsvektoren hergestellt, die die gesamte vorhergesagte Aminosäuresequenz von VLIG-1 nicht-überlappend abdeckten. Dazu wurden Fragmente mit einer durchschnittlichen Länge von 800 nt mittels PCR aus dem VLIG-1/Klon A Vektor herausamplifiziert, wobei Primer verwendet wurden (siehe Anhang) die eine innerhalb des Leserasters liegende SalI-Schnittstelle am 5'- und 3'-Ende des Fragmentes einführen. Die SalI geschnittenen PCR-Produkte wurden über ein Agarosegel und unter Verwendung des "High Pure PCR Purification Kits" (Roche) aufgereinigt

und in die Sall-Schnittstelle des pGEX-4T-2 (Amersham) Expressionsvektors ligiert. Bei korrekter Insertionsorientierung entsteht ein durchgehendes Leseraster vom Start-Kodon des GST-Gens über das VLIG-1 cDNA Fragment hinaus, bis zu einem vom Vektor kodierten Stop-Kodon. Zwischen dem N-terminal fusioniertem GST und dem VLIG-1 Fragment liegt eine Thrombin-Schnittstelle, die eine Abspaltung des VLIG-1 Proteinfragmentes von GST nach erfolgter Expression und Aufreinigung des Fusionsproteins ermöglicht. Zusätzlich wurde klonierungsbedingt ein acht Aminosäuren umfassendes Peptid am C-terminalen Ende des VLIG-1 Protein-Fragmentes angefügt. Der Ligation folgte die Transformation in den *E.coli* DH5 α Stamm und die Plasmid-DNA Isolation aus zufällig gepickten Bakterienkolonien. Die Insertionsrichtung der PCR-Fragmente wurde durch eine Restriktionsanalyse festgestellt [450]. Rekombinante Plasmide mit der gewünschten Insertionsorientierung wurden beidsträngig mit Insert-spezifischen und für die Insertionsstelle spezifischen Primern sequenziert (siehe Anhang). Hieraus resultieren die Vektoren GST-VLIG-1/1 bis GST-VLIG-1/9.

2.2.12 Herstellung eines das EGFP-VLIG-1 Fusionsprotein kodierenden Plasmides

Zur Herstellung des ein EGFP-VLIG-1 Fusionsprotein kodierendes Plasmid (pEGFP-VLIG-1) wurde eine mehrere Klonierungsschritte umfassende Strategie entwickelt, die mglw. auftretende Probleme einer PCR-basierenden Klonierung, wie Inkorporation fehlerhafter Nukleotide, oder geringer Effizienz aufgrund der Größe der zu amplifizierenden kodierenden Sequenz von VLIG-1, vermeiden sollte. Die Klonierung umfaßte dabei folgende Schritte. Aufgrund der Insertionsrichtung der vollständigen cDNA von VLIG-1 innerhalb des Vektors VLIG-1/Klon A und der damit verbundenen Orientierung der cDNA zu den Restriktionsstellen der multiplen Klonierungsstelle von pBluescript II SK \pm (pBS), erfolgte zunächst eine ungerichtete Inversion der cDNA. Ein SpeI Restriktionsverdau von VLIG-1/Klon A und die anschließende Ligation des Gel-aufgereinigten Fragmentes in einen SpeI geschnittenen pBS Vektor erzeugte teilweise Plasmide, in denen die cDNA von VLIG-1 invertiert vorlag. Die Inversion ermöglichte zugleich die Entfernung des 3' untranslatierten Bereiches (UTR) und eines geringen 3' kodierenden Teils der cDNA von VLIG-1. Invertierte Plasmide wurden mittels Restriktionsverdau und PCR-Analyse identifiziert und anschließend erneut einem Restriktionsverdau mit den Enzymen PmlI und Sall unterzogen, der den 5' UTR, sowie einen kleinen Teil der 5' kodierenden Sequenz der VLIG-1 cDNA entfernte. Nach Gelaufreinigung des geschnittenen Vektors wurde in die Schnittstellen ein mittels PCR erzeugtes Fragment ligiert. Dieses Fragment, ausgehend vom VLIG-1 Start-Kodon, komplementiert den zuvor deletierten 5' kodierenden Bereich wieder. Zudem führte es eine Sall Schnittstelle unmittelbar vor dem Start-Kodon von VLIG-1 ein, die zur

späteren Klonierung in den pEGFP-C3 Vektor (Clontech) benötigt wird. Nach der Ligation und Selektion positiver Klone mit Hilfe von Restriktionsverdauen und PCR-Analysen wurden der rekombinante Vektor durch einen Restriktionsverdau mit SpeI linearisiert und in die Schnittstelle ein PCR-Fragment ligiert, welches den zuvor deletierten 3' kodierenden Bereich, inklusive des natürlichen VLIG-1 Stopp-Kodons komplementiert. Die Ligation dieses PCR-Fragmentes erfolgte ungerichtet, da es an beiden Enden eine SpeI Restriktionsstelle trug. Zwischen dem VLIG-1 Stopp-Kodon und der 3' terminalen SpeI Schnittstelle wurde zudem eine SalI Schnittstelle eingefügt. Konstrukte mit einem korrekt orientiertem 3' Ende wurden wie zuvor mittels Restriktions- und PCR-Analysen identifiziert. Die kodierende VLIG-1 Sequenz, an deren 5'- und 3'-Ende nun eine SalI Schnittstelle existiert wurde mittels SalI Verdau ausgeschnitten, gelaufgereinigt und in den SalI linearisierten pEGFP-C3 Vektor ligiert.

Die korrekte Insertion wurde wie zuvor überprüft, zusätzlich wurden die Insertionsstellen und die kodierende Sequenz von VLIG-1 beidsträngig sequenziert. Das entstandene Konstrukt besteht aus einem durchgehenden Leseraster vom Start-Kodon des EGFP bis zum Stop-Kodon von VLIG-1, einschließlich einer zwischen EGFP und VLIG-1 liegenden, klonierungsbedingten Insertion von 15 aa. Die zur Herstellung von pEGFP-VLIG-1 verwendeten Primer sind im Anhang aufgeführt.

2.2.13 RNA-Extraktion

Die Extraktion von Gesamt-RNA aus Zellen und Geweben erfolgte mit Hilfe des "RNeasy Mini Kits" (Qiagen), des "DNA/RNA Isolations Kits" (Amersham) oder der Guanidinium Thiocyanat-Phenol-Chloroform Extraktionsmethode nach Chomczynski [472]. Die Homogenisierung der Zellen geschah mittels mehrmaligem Passieren durch eine Kanüle (\varnothing 0.9 mm), während Gewebe mit einem Ultraturrax homogenisiert wurde.

Poly(A)⁺ RNA wurde aus Gesamt-RNA unter Verwendung des "Oligotex mRNA Kits" (Qiagen) isoliert. Die Prozeduren erfolgten gemäß der Protokolle der Hersteller. Die Quantifizierung und Bestimmung des Reinheitsgrades der RNA erfolgte durch Messung der OD₂₆₀, bzw. OD₂₈₀ in einem Spektrophotometer (Unicam).

2.2.14 Northern Blot Analyse

Falls nicht anders vermerkt wurden 10 µg Gesamt-RNA pro Spur in 1%igen denaturierenden Agarose-Formaldehyd Gelen elektrophoretisch aufgetrennt [473] und anschließend auf Hybond-N Nylon Membranen (Amersham) transferiert [450]. Gleiche Beladungsmenge, Transfer und Qualität der RNA wurde durch reversible Färbung der Membranen mit Methyleneblau überprüft

[450, 474]. Radioaktiv markierte Hybridisierungssonden wurden wie im Abschnitt 2.2.7 beschrieben hergestellt.

Folgende DNA-Fragmente wurden als Hybridisierungssonden eingesetzt:

- vollständige cDNA von VLIG-1 (mittels XhoI und NotI Restriktionsverdau aus VLIG-1/Klon A ausgeschnitten)
- Fragment der 3' UTR von VLIG-1 (Nukleotidposition 7684-8988)
- vollständige cDNA von IIGP
- vollständige cDNA von mGBP-2
- vollständige cDNA des MHC Klasse I H-2 K^b Alleles

Die Hybridisierungen erfolgten ÜN bei 42°C in 50% Formamid, 5x Denhardts Lösung, 5x SSPE, 1% SDS und 10% Dextransulfat. Die Membranen wurden anschließend bei steigender Stringenz 2x 15' bei RT in 2x SSPE, 2x 45' bei 65°C in 2x SSPE/2% SDS und 2x 15' bei RT oder 65°C in 0.1x SSPE gewaschen. Die Hybridisierungssignale wurden durch Autoradiographie mit Kodak X-OMAT AR Filmen oder mit einem Fuji BAS1000 "Bio-imaging Analyzer System" (Phospho-Imager, Fujix) detektiert.

Die Dokumentation der gleichen RNA-Beladung pro Spur erfolgte durch gleichzeitige oder aufeinanderfolgende Hybridisierung der Membranen mit einer radioaktiv markierten Sonde für murines Glyzerinaldehyd-3-Phosphat Dehydrogenase (GAPDH) cDNA. Als Größenstandard wurde der "RNA Millenium™ Size Marker" (Ambion) eingesetzt.

Die Analyse der basalen VLIG-1 Expression in verschiedenen Geweben der Maus erfolgte mit Hilfe des "Ambion FirstChoice Mouse Blot I" (Ambion), des "Strip-EZ DNA Kits" (Ambion) zur Erzeugung (α -³²P)dATP markierter Sonden und des "ULTRAhyb Puffers" (Ambion) zur ÜN Hybridisierung. Der Blot wurde anschließend unter stringenten Bedingungen in Übereinstimmung mit den Herstellerangaben gewaschen und wie zuvor beschrieben analysiert.

2.2.15 RNase Schutzexperiment-Analyse (RPA)

Für die RPA-Analyse wurde ein 743 bp Fragment aus der vollständigen cDNA von VLIG-1 (Nukleotide 4845-587) in den pCR II Vektor (Invitrogen) subkloniert. Nach erfolgter Linearisierung des rekombinanten Vektors diente das VLIG-1 Fragment als Matrize für die Erzeugung einer VLIG-1 Antisinn-komplementären RNA-Sonde. Als interne Gesamt-RNA Beladungskontrolle wurde eine Antisinn-RNA-Sonde des "TATA-box binding protein" (TBP) [475], einem "Haushalts-Gen" mit einer niedrigen Kopienzahl von 1-5 Kopien pro Zelle,

verwendet, die freundlicherweise von V. Steimle (Max-Planck-Institut für Immunologie, Freiburg) zur Verfügung gestellt wurde. Die Größe der ungeschützten RNA-Sonde von VLIG-1 betrug 397 nt, die von TBP betrug 216 nt. Die geschützten Fragmente waren 216 nt für VLIG-1 und 160 nt für TBP groß.

Die Synthese der RNA-Sonden erfolgte mittels *in vitro* Transkription unter Verwendung von 1 µg linearisiertem Plasmid und SP6, bzw. T3 RNA-Polymerase (Roche) in Anwesenheit von 50 µCi [α -³²P]UTP (Amersham) und 1000 U/ml RNase Inhibitor (Roche). Nach dem Verdau der DNA durch RQ1DNase (Promega) und EtOH Präzipitation der verbleibenden RNA-Sonde, wurde diese in 5 µl RNA-Probenpuffer (1 mM EDTA, 80% Formamid, 0.1% Bromphenolblau, 0.1% Xylenecyanol) resuspendiert und mittels Gelelektrophorese auf einem denaturierendem 4%igem Polyacrylamid-Gel aufgetrennt. Die folgende Autoradiographie diente der Detektion der spezifischen RNA-Sonde, die aus dem entsprechenden Gelstück durch ÜN Inkubation bei 42°C in "crush and soak" Puffer (500 mM NH₄OAc, 10 mM MgAc, 1.8 mM EDTA, 0.1% SDS) herausgelöst, Phenol-Chloroform extrahiert und EtOH präzipitiert wurde. Eine 5x10⁵ cpm entsprechende RNA-Sonde wurde zur ÜN Hybridisierung bei 50°C mit 10 µg muriner Gesamt-RNA, 40 µg Hefe-tRNA und einem Formamid enthaltendem Hybridisierungspuffer (40 mM PIPES pH 6.4, 400 mM NaCl, 1 mM EDTA, 80% Formamid) versetzt und nicht geschützte, einzelsträngige RNA anschließend für 40' bei 30°C mit RNase A (Sigma Aldrich) und RNase T1 (Roche) verdaut. Geschützte, doppelsträngige RNA Fragmente wurden mittels Phenol-Chloroform Extraktion und EtOH Präzipitation aufgereinigt und in 5 µl RNA-Probenpuffer resuspendiert, gefolgt von einer gelelektrophoretischen Auftrennung in einem denaturierenden 5%igen Polyacrylamid Gel. Die Visualisierung der geschützten RNA-RNA Hybride geschah durch Autoradiographie, wobei die Quantifizierung der Signalintensitäten per Phosphoimager Analyse unter Verwendung der Auswertungssoftware TINA 2.08a (raytest Isotopenmeßgeräte) vorgenommen wurde. Als Größenstandards dienten radioaktiv markierte 50 bp und 100 bp DNA-Leitern.

2.3 Biochemische Methoden

2.3.1 Expression und Reinigung der GST-VLIG-1 Fusionsproteine

Fusionsprotein kodierende Plasmide wurden in den *E.coli* Stamm BL21 transformiert. Die Expression der Proteine wurde gemäß Herstellerangabe (Amersham) oder wie in [476] beschrieben durch Zugabe von IPTG (Roth) induziert. Alle neun unterschiedlichen GST-VLIG-1

Fusionsproteine konnten exprimiert werden, bildeten jedoch in sämtlichen durchgeführten Induktionsexperimenten unter den verschiedensten Induktionsbedingungen [476] sogenannte "Einschluß-Körper" ("inclusion bodies"). "Inclusion bodies" wurden gemäß der in [477] beschriebenen Protokolle bis zu einem Reinheitsgrad von ca. 60% aufgereinigt und in Rückfaltungsexperimenten unter Verwendung der "Rotifold Reagenz" (Roth) und den Protokollen des Herstellers eingesetzt. Nur das Fusionsprotein des Vektors GST-VLIG-1/2 (Aminosäuren 270-541 des VLIG-1 Proteins) ließ sich zurückfalten und in 1x PBS solubilisieren. Die Rückfaltung des Proteins verlief jedoch vermutlich nicht korrekt, da sich GST-VLIG-1/2 weder per FPLC über eine Glutathion-Sepharose Säule (Amersham) weiter aufreinigen ließ, noch das VLIG-1 Protein-Fragment von der GST-Domäne mittels Thrombin-Spaltung (Serva) nach Angaben des Herstellers abgetrennt werden konnte. Gelöstes GST-VLIG-1/2 Fusionsprotein wurde per Zentrifugation durch einen "Centriprep Filter" (Millipore) mit einer nominalen Molekulargewichtsgrenze von 30 kDa gemäß Herstellerprotokollen weiter aufgereinigt und konzentriert. Der Reinheitsgrad des GST-VLIG-1/2 Fusionsproteins betrug nach der Rückfaltung und den weiteren Reinigungsschritten mehr als 80%, wie durch SDS-PAGE [478] gefolgt von "Coomassie brilliant blue G-250" (Bio-Rad) Färbung des Gels [479] gezeigt werden konnte.

2.3.2 Herstellung von polyklonalen α -VLIG-1 Antiseren

Insgesamt wurden zwei verschiedene Kaninchen polyklonale Antiseren gegen VLIG-1 hergestellt. Das als VLIG-1/B bezeichnete α -VLIG-1 Antiserum wurde durch Immunisierung von Kaninchen mit aufgereinigtem GST-VLIG-1/2 Fusionsprotein (siehe Abschnitt 2.3.1) hergestellt, wobei für die ersten beiden Immunisierungen jeweils 100 μ g Protein und für die nachfolgenden Immunisierungen jeweils 50 μ g Protein eingesetzt wurden. Aufgrund des Molekulargewichts des Fusionsproteins von ca. 56 kDa wurde auf eine Kopplung des Proteinfragmentes mit "Keyhole-Limpet-Hemocyanin" (KLH) verzichtet. Die Immunisierungen wurden von Dr. M. Cramer (Universität zu Köln) gemäß der gesetzlichen Richtlinien und wie in [480] beschrieben durchgeführt. Das Antiserum der zweiten Blutabnahme, die 14 Tage nach der zweiten Injektion des Antigens erfolgte, wurde mit Hilfe von Protein A Sepharose CL-4B (Amersham) und wie in [480] beschrieben aufgereinigt.

Zusätzlich wurde ein polyklonales α -Peptid-Antiserum gegen VLIG-1, bezeichnet als VLIG-1/218, mit Hilfe des "Double X Programmes" von der Firma Eurogentech (Seraing, Belgien) hergestellt. Dazu wurden zwei synthetische, KLH-gekoppelte Peptide aus der vorhergesagten Proteinsequenz von VLIG-1 (Peptid 919: Aminosäuren 9-24, DEPQLQSRRKHNLQEM; Peptid 920: Aminosäuren 1036-1050, KSPQDKSYSHRNQQM; beide mit einem C-terminalen Cystein

zwecks Kopplung) gleichzeitig zur Immunisierung eingesetzt. Das Immunisierungsprotokoll sah dabei wie folgt aus:

Tag	0	14	28	38	56	66	94
Injektion	erste	zweite	dritte		vierte		
Blutentnahme	Präimmun			2 ml Test		20 ml Test	Ausbluten

Das Antiserum der Blutentnahme nach 38 Tagen wurde mit Hilfe von Protein A Sepharose CL-4B (Amersham) und wie in [480] beschrieben aufgereinigt.

2.3.3 Herstellung von Zellsolubilisaten

Nach der Abnahme des Nährmediums wurden die zu lysierenden Zellen zweimal mit eiskaltem PBS gewaschen und anschließend für 30' mit einer Konzentration von 10^7 Zellen/ml in Lyse-Puffer, supplementiert mit dem Protease Inhibitor Cocktail "completeMini" (Roche), auf Eis inkubiert. Je nach Experiment wurde 1% Triton X-100 (Sigma Aldrich), 1% Thesit (Fluka) oder 1% Nonidet P-40 (NP-40) enthaltender PBS Puffer eingesetzt. Die Zell-Lysate wurden anschließend 15' mit 15.000 g bei 4°C zentrifugiert, der Überstand abgenommen und bei -20°C gelagert. Vor dem Gel-Auftrag wurden die Lysate mit SDS-haltigem 4x Probenpuffer (Roth) versetzt und kurz aufgekocht.

2.3.4 Western Blot Analyse

Die Auftrennung der Proteine erfolgte mittels SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (SDS-PAGE) [478] unter reduzierenden Bedingungen mit 4%igen Sammelgelen und je nach Experiment 5-10%igen Trenngelen. Der Transfer der Proteine aus den SDS-PAGE-Gelen auf Nitrozellulose-Membranen (Protan, Schleicher&Schuell) erfolgte durch Elektroblothing für 1 h bei 1A [481] (Blot-Apparatur von IDEA Scientific Company). Der Erfolg des Transfervorgangs wurde durch reversible Ponceau S-Färbung kontrolliert (Färbung: 10' mit Ponceau S-Färbelösung von Sigma Aldrich; Entfärbung: 10' in H₂O). Die Nitrozellulose Membranen wurden anschließend ÜN bei 4°C mit Blockierungs-Puffer (5% Milchpulver, 0.1% Tween 20 in PBS) abgesättigt. Die Inkubation mit dem Erstantikörper (verdünnt in PBS, 0.1% Tween 20) erfolgte für 1.5 h, gefolgt von dreimaligem Waschen für jeweils 10' mit 0.1% Tween 20 in PBS bei RT. Danach folgte eine 30'ige Inkubation mit einem spezifischen HRP-konjugiertem Zweitantikörper (verdünnt in PBS, 0.1% Tween 20) und eine Wiederholung der Waschschritte. Die Detektion des Zweitantikörpers

erfolgte mit Hilfe des "ECL detection Systems" (Amersham) entsprechend den Herstellerangaben. Die Membran wurde anschließend getrocknet und das emittierte Licht durch einen 1-20" aufgelegten Film (Fuji RX) sichtbar gemacht. Die Quantifizierung der detektierten Protein-Signale geschah mit Hilfe eines Joyce-Loebl Chromoscan 3 Densitometers.

Primäre Antikörper (AK)

- Polyklonales α -VLIG-1 Antiserum VLIG-1/B. Verdünnung: 1:1500.
- Polyklonales α -VLIG-1 Antiserum VLIG-1/218. Verdünnung: 1:2000.
- Polyklonales α -IIGP Antiserum 165 aus Kaninchen, freundlicherweise von R. Uthaiyah (Universität zu Köln) zur Verfügung gestellt. Verdünnung: 1:2000.
- Polyklonales α -IIGP Antiserum H15 aus Kaninchen, freundlicherweise von U. Boehm (Harvard Medical School, Boston, USA) zur Verfügung gestellt. Verdünnung: 1:2000.
- Polyklonales α -mag1 (α -mGBP1) Antiserum aus Kaninchen. Zur Verfügung gestellt von D. M. Paulnock (University of Wisconsin, USA). Verdünnung: 1:2000.
- Polyklonales α -Calnexin Antiserum aus Kaninchen (StressGen). Verdünnung: 1:2000. Diente zumeist als Beladungskontrolle.

Sekundäre Antikörper (AK)

- HRP-konjugiertes Ziege- α -Kaninchen IgG Antiserum (Dianova). Verdünnung: 1:2000.
- HRP-konjugiertes Ziege- α -Maus IgG Antiserum (Dianova). Verdünnung: 1:2000.

2.3.5 Nukleotid-Binde- und Kompetitions-Experimente

Primäre EF von C57BL/6J Mäusen wurden für 24 h mit 100 U/ml IFN- γ inkubiert, nach Abnahme des Mediums zweimal mit eiskaltem 3 mM MgCl₂ enthaltendem TBS gewaschen, in einem Volumen von 1 ml TBS/MgCl₂ mittels eines "Rubber-Policeman" überführt und durch Zentrifugation mit 500 g für 5' bei 4°C pelletiert. Anschließend wurde das Zellpellet vorsichtig in 1 ml hypotonischem Puffer (10 mM Tris pH 7.5, 10 mM NaCl, 1.5 mM MgCl₂), der zuvor mit dem Protease Inhibitorcocktail "completeMini" (Roche) supplementiert wurde, resuspendiert und erneut mit 500 g für 5' bei 4°C zentrifugiert. Das Zellpellet wurde in 0.5 ml hypotonischem Puffer resuspendiert, für 5' auf Eis inkubiert und schließlich mittels mehrmaligem Passieren durch eine Kanüle (\emptyset 0.9 mm) lysiert. Die Zellsuspension wurde durch eine 5'ige Zentrifugation bei 4°C mit 3000 g in ein Partikelsediment und einen löslichen Überstand aufgetrennt. Der zytosolische

Proteine enthaltende Überstand wurde entnommen und erneut mit 100.000 g für 40' bei 4°C zentrifugiert, um verbliebene Kernrückstände etc. zu entfernen.

Alternativ zu dieser Lyse-Methode wurde das Zellpellet nach der Zentrifugation mit 500 g für 5' bei 4°C in 0.5 ml Triton X-100 (Sigma Aldrich) enthaltendem Lyse-Puffer, supplementiert mit dem Protease Inhibitorcocktail "completeMini" (Roche), resuspendiert und für 15' zur Lyse auf Eis inkubiert. Anschließend erfolgte eine Zentrifugation für 40' mit 100.000 g bei 4°C und die Abnahme des Überstandes.

1×10^6 Zellen entsprechende Aliquots wurden entnommen und auf einem Überkopf-Rotator für 1 h bei 4°C mit 50 µl einer Guanin-Nukleotid-Agarose Suspension (Sigma Aldrich) inkubiert. Für Kompetitions-Experimente wurde der Nukleotid-Agarose Suspension 10 mM freies GTP oder GDP zugesetzt. Anschließend wurde die Nukleotid-Agarose mit den an sie gebundenen Proteinen durch Zentrifugation mit 17.000 g für 1' bei 4°C pelletiert und der Überstand vorsichtig entfernt und verworfen. Nach dreimaligem Waschen der Agarose-Suspension mit jeweils 1 ml hypotonischem Puffer, bzw. Triton X-100 Lysis-Puffer (je nach der angewandten Lysis-Methode) für 10', wurden die gebundenen Proteine durch 15'ige Inkubation in 50 µl eines SDS-haltigen Probenpuffers auf einem Schüttler bei RT eluiert. Anschließend wurden die Proben für 5' auf 65°C erhitzt, die Agarose-Partikel mittels Zentrifugation für 3' bei 17.000 g pelletiert und der Überstand auf einem 10%igem SDS-Polyacrylamidgel aufgetrennt. Die folgende Western Blot Analyse wurde wie zuvor beschrieben durchgeführt.

2.3.6 Biosynthetische Markierung von Proteinen mit [³⁵S]-Methionin

1×10^6 primäre EF von C57BL/6J Mäusen wurden für 24 h mit 100 U/ml IFN- γ stimuliert, das Nährmedium anschließend abgenommen und die Zellen zweimal mit 1x PBS gewaschen. Danach wurden die Zellen für weitere 90' in Methionin-freiem Hungermedium (GibcoBRL) + 100 U/ml IFN- γ inkubiert, das anschließend wieder entfernt und durch normales Zellkulturmedium + 100 U/ml IFN- γ + 100 µCi [³⁵S]-Methionin ersetzt wurde. Die biosynthetische Markierung in diesem Medium erfolgte über einen Zeitraum von 2-6 h. Das Medium wurde nachfolgend entfernt, die Zellen zweimal bei 4°C mit 1x PBS gewaschen und trypsinisiert. Die Zellen wurden durch eine 5'ige Zentrifugation mit 500 g bei 4°C pelletiert, in 250 µl eines 1% Triton X-100, oder 2% CHAPS-haltigen PBS-Puffers, supplementiert mit dem Protease Inhibitor Cocktail "completeMini" (Roche), resuspendiert und für 30' auf Eis lysiert. Alternativ wurde das Zellpellet in 250 µl hypotonischem Puffer (10 mM Tris pH 7.5, 10 mM NaCl, 1.5 mM MgCl₂; supplementiert mit dem Protease Inhibitorcocktail "completeMini" (Roche) resuspendiert und durch mehrmaliges (15-20x) Passieren durch eine 25 Gauge Kanüle lysiert. Unabhängig von der

angewandten Methode erfolgte nach der Lyse eine 40'ige Zentrifugation mit 100.000 g bei 4°C, um verbliebene Partikel abzutrennen. Der Überstand wurde anschließend vorsichtig in ein anderes Reaktionsgefäß überführt.

2.3.7 Immunopräzipitation

Protein A-Sepharose 4B wurde vor der Anwendung ÜN in 1x PBS gequollen, anschließend dreimal mit PBS gewaschen und im Verhältnis 1:1 (v/v) in PBS 0.02% Natriumazid bei 4°C gelagert. 100 µl der Sepharose-Suspension wurden entnommen und mehrmals mit PBS gewaschen, um das Natriumazid zu entfernen. Nach dem letzten Waschschrift wurde die Sepharose wieder im Verhältnis 1:1 mit PBS verdünnt (Gesamtvolumen: 100 µl). Zur Vorreinigung wurden der Suspension anschließend 5 µl "normales Kaninchen Antiserum" (NRS) und ein geeignetes Volumina eines biosynthetisch markierten Zell-Lysates hinzugefügt, das Volumen mit 1x PBS auf 1 ml aufgefüllt und der Ansatz ÜN bei 4°C über Kopf gerollert. Danach wurde der Ansatz 10' bei 17.000 g und 4°C abzentrifugiert und der derart vorgereinigte Überstand abgenommen. Der Überstand wurde mit 10 µg des polyklonalen α-VLIG-1 Kaninchen Antiserums VLIG-1/B versetzt und für 1 h auf Eis inkubiert, bevor 50 µl einer 1:1 in PBS verdünnten Protein A-Sepharose 4B Suspension hinzugefügt wurden und der Ansatz für 2 h bei 4°C über Kopf gerollert wurde. Nach einer Zentrifugation mit 17.000 g für 5' bei 4°C wurde der Überstand verworfen und das Sepharosepellet fünfmal für je 3' mit Waschpuffer (je nach Art der verwendeten Lyse-Methode 0.1% TX-100 in PBS, 0.2% CHAPS in PBS oder hypotonischer Puffer) gewaschen. Schließlich wurde die Sepharose mit dem an sie gebundenen Material in 45 µl SDS-haltigem Probenpuffer aufgenommen, 10' bei RT und weitere 5' bei 95°C inkubiert, erneut für 3' bei 17.000 g abzentrifugiert und der Überstand auf einem 7.5%igem SDS-Polyacrylamidgel aufgetrennt. Die nachfolgende Detektion des VLIG-1 Proteins erfolgte wie unter 2.3.4 beschrieben.

2.3.8 Pulse-Chase Analysen

1×10^6 C57BL/6J EF wurden für 24 h mit 100 U/ml IFN- γ stimuliert, das Nährmedium anschließend abgenommen und die Zellen zweimal mit 1x PBS gewaschen. Danach wurden die Zellen für 1 h in Methionin-freiem Hungermedium (GibcoBRL) + 100 U/ml IFN- γ inkubiert, das anschließend wieder entfernt und durch normales Zellkulturmedium + 100 U/ml IFN- γ + 100 µCi [35 S]-Methionin ersetzt wurde. Die biosynthetische Markierung ("Pulse") in diesem Medium

erfolgte für 1 h. Anschließend wurde dem Nährmedium für unterschiedlich lange Zeiten (0-8 h) ein Überschuß an unmarkiertem Methionin, der der 15fachen Menge der normalen Mediumkonzentration an Methionin entsprach, zugegeben ("Chase"). Zu den verschiedenen Zeitpunkten wurde das Nährmedium abgenommen, die Zellen zweimal mit eiskaltem PBS gewaschen, trypsinisiert und anschließend in 1% Triton X-100 PBS Puffer für 30' auf Eis lysiert. Von der Probe die unmittelbar nach Zugabe des unmarkierten Methionins entnommen wurde (Null-Probe), wurde der Einbau des markierten Methionins mit Hilfe eines Szintillationszählers bestimmt und das Volumen das 5×10^6 cpm entsprach zur nachfolgenden Immunopräzipitation verwendet. Die eingesetzten Volumina der Chase-Proben von späteren Zeitpunkten waren gleich dem der Null-Probe, um das Zellwachstum und somit die Verteilung der radioaktiv markierten Proteine zu berücksichtigen. Die anschließende Immunopräzipitation erfolgte wie unter 2.3.7 beschrieben, wobei das präzipitierte, radioaktiv markierte Proteine enthaltende Eluat anschließend auf einem 7.5%igem SDS-Polyacrylamidgel aufgetrennt wurde und Proteinsignale mittels Autoradiographie detektiert wurden.

2.3.9 Ko-Immunopräzipitation

1×10^6 primäre EF von C57BL/6J Mäusen wurden wie in 2.3.6 beschrieben biosynthetisch markiert, wobei die Markierungsdauer 3 h betrug und in Anwesenheit von 100 U/ml IFN- γ erfolgte. Das zur Immunopräzipitation eingesetzte Volumen der Zell-Lysate entsprach jeweils 5×10^6 cpm. Die Immunopräzipitation erfolgte wie in 2.3.7 beschrieben. Das radioaktiv markierte Proteine enthaltende Präzipitat wurde anschließend auf einem 7.5%igem SDS-Polyacrylamidgel aufgetrennt und Proteinsignale mittels Autoradiographie detektiert.

2.4 Zellbiologie

Die Plastikmaterialien für die Zellkultur stammen von Sarstedt (Nümbrecht) und Greiner (Solingen). Die verwendeten Zellkulturmedien sind jeweils bei den einzelnen Zelltypen angegeben. Alle Zellen wurden in einer wasserdampfgesättigten Atmosphäre mit einem CO₂-Gehalt von 5% (v/v) in einem 37°C-Inkubationsschrank (Heraeus, Hanau) kultiviert. Die Kontrolle der Zellen erfolgte mit einem Leitz-Diavert-Umkehrmikroskop. Der Zelltiter wurde mit einer Neubauer-Zählkammer bestimmt. Der Routineumgang mit Zellen erfolgte wie in (Martin, 1994) beschrieben.

2.4.1 Zell-Linien

- Primäre EF aus C57BL/6J, 129/sV, BALB/c, IRF-1^{-/-} und IFN- γ R^{0/0} Mäusen wurden 14 Tage post coitum wie in [461] beschrieben isoliert. Die isolierten EF wurden in einer Konzentration von ca. 3×10^4 Zellen/cm² auf Zellkultur-Petrischalen ausplattiert und bis zur Konfluenz (ca. 2-3 Tage) in DMEM (Invitrogen), supplementiert mit 10% Hitze-inaktiviertem, Endotoxin-getestetem FCS (HyClone), 2 mM L-Glutamin (Invitrogen), 1 mM Natriumpyruvat (ICN), 100 U/ml Penicillin (Invitrogen), 100 μ g/ml Streptomycin (Invitrogen) und 1x nicht-essentielle Aminosäuren (Gibco BRL) kultiviert. $5-10 \times 10^6$ Zellen wurden pro Aliquot eingefroren. Nach dem Auftauen wurde ein Aliquot auf 5 Zellkultur-Petrischalen (\varnothing 10cm) verteilt, bis zur Konfluenz kultiviert, und die daraus hervorgehenden Zellen für die in dieser Arbeit beschriebenen Experimente eingesetzt.
- Die aus C3H/An Mäusen stammende Fibroblasten Zell-Linie L929 wurde in DMEM (Invitrogen), supplementiert mit 10% Hitze-inaktiviertem FCS (Sigma Aldrich), 2 mM L-Glutamin (Invitrogen), 1 mM Natriumpyruvat (ICN), 100 U/ml Penicillin (Invitrogen), 100 μ g/ml Streptomycin (Invitrogen) kultiviert.
- Die aus C57BL/6J Mäusen stammende Makrophagen Zell-Linie ANA-1[482] wurde von K. Pfeffer zur Verfügung gestellt und in RPMI mit niedrigem Endotixingehalt (Biochrom), supplementiert mit 10% Hitze-inaktiviertem, Endotoxin-getestetem FCS (HyClone) sowie 50 μ M β -Mercaptoethanol (Invitrogen) kultiviert.
- RAW264.7 [483], ist eine aus BALB/c Mäusen stammende Makrophagen Zell-Linie und wurde von K. Pfeffer zur Verfügung gestellt. Die Kultivierung erfolgte wie die der ANA-1 Makrophagen Zell-Linie.
- Die humane, B-lymphoblastoide Zell-Linie C1R, transfiziert mit HLA-B7, ICP-47 und M86⁻, wurde freundlicherweise von B. Ortmann (amaxa GmbH) zur Verfügung gestellt. Die Kultivierung erfolgte in DMEM (Invitrogen), supplementiert mit 10% Hitze-inaktiviertem FCS (Sigma Aldrich), 2 mM L-Glutamin (Invitrogen), 1 mM Natriumpyruvat (ICN), 100 U/ml Penicillin (Invitrogen), 100 μ g/ml Streptomycin (Invitrogen).

2.4.2 Stimulation von Zellen

Die Induktion der verschiedenen primären Zellen und Zell-Linien erfolgte in den in Abschnitt 2.4.1 angegebenen Nährmedien, wobei die Zellen zum Zeitpunkt der Ernte eine ca. 75%ige Konfluenz erreicht hatten. Folgende Zytokine und Chemikalien wurden zur Induktion eingesetzt:

rekombinantes Maus IFN- γ (Genzyme Diagnostics), rekombinantes Maus IFN- β (Calbiochem), rekombinantes Maus TNF- α (Genzyme Diagnostics), der Translationsinhibitor Cycloheximide (CHX) (Sigma Aldrich), sowie der Transkriptionsinhibitor Actinomycin D (ActD) (Sigma Aldrich). Die Zytokin-Stimulation der Zellen erfolgte durch direkte Zugabe einer entsprechenden Zytokin Menge zum Nährmedium. Die eingesetzten U/ml sind bei den verschiedenen Zytokinen unterschiedlich definiert. So entspricht 1 U IFN- γ der Menge die ausreichend ist 50% einer 1 ml Maus L929 Kultur vor den zytopathologischen Effekten einer Infektion mit dem Vesicular Stomatitis Virus (VSV) zu schützen [484, 485]. 1 U IFN- β ist definiert als ausreichend um 50% einer 1 ml Maus L929 Kultur vor den zytopathologischen Effekten einer Infektion mit dem Encephalomyocarditis Virus (EMCV) zu schützen [484, 485]. 1 U TNF- α ist hingegen definiert als ausreichend die halbmaximale Zytotoxizität in Maus L929 Zellen zu induzieren [486, 487]. CHX wurde vor der direkten Zugabe zum Nährmedium in PBS solubilisiert, wobei die Zugabe von CHX 30' vor der nachfolgenden Stimulation mit IFN- γ erfolgte. Die Endkonzentration von CHX betrug dabei 50 $\mu\text{g/ml}$. ActD wurde ebenfalls in PBS solubilisiert und direkt zum Nährmedium gegeben. Die Zugabe erfolgte bei Zellen die zuvor für 24 h mit 100 U/ml IFN- γ stimuliert wurden. Die Endkonzentration von ActD betrug 50 $\mu\text{g/ml}$.

2.4.3 Fraktionierung von Zellen

Die Fraktionierung von Zellen wurde gemäß eines von Taylor et al. publiziertem Protokolles [439] durchgeführt. 1×10^6 Zellen wurden für 24 h mit 100 U/ml IFN- γ stimuliert. Nach Abnahme des Nährmediums wurden die Zellen dreimal mit eiskaltem PBS gewaschen, in einem Volumen von 0.5 ml PBS mit Hilfe eines "Rubber-Policeman" in Eppendorfgefäße überführt und 5' mit 500 g bei 4°C abzentrifugiert. Anschließend wurden die zellulären Proteine durch eine von zwei verschiedenen Vorgehensweisen fraktioniert.

- Die Zellen wurden vorsichtig in hypotonischem Puffer (10 mM Tris pH 7.5, 10 mM NaCl, 1.5 mM MgCl_2), supplementiert mit dem Protease Inhibitorcocktail "completeMini" (Roche), resuspendiert und erneut 5' mit 500 g bei 4°C abzentrifugiert. Danach wurden die Zellen in 0.5 ml hypotonischem Puffer aufgenommen und 5' auf Eis inkubiert. Dann wurden die Zellen durch mehrmaliges (15-20x) Passieren einer 25 Gauge Kanüle lysiert und die Zellsuspension durch eine 5'ige Zentrifugation bei 4°C mit 3000 g in ein Partikelsediment und einen löslichen Überstand aufgetrennt. Der lösliche Überstand wurde erneut für 40' mit 100.000 g bei 4°C zentrifugiert, um verbliebene Partikel abzutrennen und danach mit 0.25 Volumen eines SDS-Ladepuffers (24% w/v Saccharose, 0.36 M DTT, 4.8% w/v SDS, 48 mM EDTA, 0.05% w/v

Bromphenolblau) versetzt. Das Partikelsediment wurde in 1 ml hypotonischen Puffer resuspendiert, 5' mit 500 g zentrifugiert, der Überstand verworfen und das Pellet schließlich in 0.5 ml hypotonischem Puffer aufgenommen, zu dem 0.25 Volumen des SDS-Ladepuffers gegeben wurden.

- Alternativ wurde das Zellpellet in 0.5 ml NP-40 Puffer (0.75% v/v NP-40 in PBS), supplementiert mit dem Protease Inhibitorcocktail "completeMini" (Roche), aufgenommen und 10' auf Eis inkubiert. Nach erfolgter Lyse wurde die Zellsuspension in ein Partikelsediment und einen löslichen Überstand aufgetrennt, die wie zuvor beschrieben weiterbehandelt wurden.

Nach 2'igem Aufkochen wurden je 40 µl der Fraktionen auf einem 7.5%igen Polyacrylamidgel aufgetrennt und eine Western Blot Analyse (siehe Abschnitt 2.3.4) durchgeführt.

Primäre AK: Polyklonales α -VLIG-1 Antiserum VLIG-1/B. Verdünnung: 1:1500.

Monoklonaler α -IGTP Antikörper (Dianova). Verdünnung: 1:2000.

Sekundäre AK: HRP-konjugiertes Ziege- α -Kaninchen IgG Antiserum (Dianova).

Verdünnung: 1:2000.

HRP-konjugiertes Ziege- α -Maus IgG Antiserum (Dianova).

Verdünnung: 1:2000.

2.4.4 Herstellung und Analyse der transienten EGFP-Transfektanden

Auf Hitze-sterilisierten Deckgläsern gewachsene, nicht-stimulierte EF von C57BL/6J Mäusen oder L929 Fibroblasten wurden unter Verwendung des "Fugene 6" Lipofektions-Kits (Roche) nach Herstellerprotokollen transient mit EGFP-VLIG-1 transfiziert. 24 h nach der Transfektion wurde das Medium abgenommen und die Deckgläser 5' in PBS/0.9 mM CaCl₂/0.5 mM MgCl₂ gewaschen und 20' bei RT in 3% Paraformaldehyd fixiert. Danach wurden die Zellen zweimal mit PBS und einmal mit PBS/50 mM NH₄Cl gewaschen und anschließend auf Objektträgern in Mowiol (Calbiochem) eingebettet, mit klarem Nagellack versiegelt und bei 4°C dunkel gelagert. Teilweise erfolgte vor der Fixierung eine Anfärbung des Nukleus mittels 4'-6-Diamidino-2-phenylindol (DAPI) (Sigma Aldrich) laut Protokollen des Herstellers.

Die Dokumentation erfolgte mittels eines Axioplan II Fluoreszenz-Mikroskopes (Carl Zeiss), einer gekühlten Photometrics Quantix CCD Kamera (Roper Scientific) und der Metamorph Software Version 4.5r3 (Universal Imaging Corporation).

2.4.5 Indirekte Immunofluoreszenz Analyse

Auf Hitze-sterilisierten Deckgläsern ausplattierte EF von C57BL/6J Mäusen wurden für 24 h mit 100 U/ml IFN- γ stimuliert oder blieben unstimuliert. Die Deckgläser wurden aus den Kulturplatten entfernt, 5' in PBS/0.9 mM CaCl₂/0.5 mM MgCl₂ gewaschen und 20' bei RT in 3% Paraformaldehyd fixiert. Danach wurden die Zellen zweimal mit PBS und einmal mit PBS/50 mM NH₄Cl gewaschen und anschließend 10' mit PBS/0.1% Saponin permeabilisiert. Nach 30' in Blockierungs-Puffer (PBS, 3%, 0.2% Gelatine, 0.02% NaN₃, 0.1% Saponin) wurden die Deckgläser 1 h mit dem Erst-Antikörper (verdünnt in Blockierungs-Puffer) in einer feuchten Kammer inkubiert. Nach viermaligem Waschen der Zellen mit PBS/0.1% Saponin wurden die Deckgläser 30' mit dem Zweit-Antikörper (verdünnt in Blockierungs-Puffer) inkubiert und anschließend erneut wie zuvor beschrieben gewaschen. Schließlich wurden die Deckgläser auf Objektträgern in Mowiol (Calbiochem) eingebettet, mit klarem Nagellack versiegelt und bei 4°C dunkel gelagert. Die Auswertung der Immunofluoreszenz erfolgte mittels eines Axioplan II Fluoreszenz-Mikroskopes (Carl Zeiss), einer gekühlten Photometrics Quantix CCD Kamera (Roper Scientific) und der Metamorph Software Version 4.5r3 (Universal Imaging Corporation).

Primäre AK: gereinigtes, polyklonales α -VLIG-1 Antiserum VLIG-1/218. Verdünnung: 1:500.

Sekundäre AK: monoklonaler, FITC-konjugierter Ziege- α -Kaninchen Antikörper (Molecular Probes). Verdünnung: 1:1000.

monoklonaler Ziege- α -Kaninchen-Cy3 Antikörper (Molecular Probes).
Verdünnung: 1:1000.

3. Ergebnisse

3.1 Vorarbeiten

Dieser Arbeit vorausgegangen war eine Untersuchung der zellulären Antwort auf IFN- γ in murinen embryonalen Fibroblasten (EF) und Makrophagen [399, 409]. Zu diesem Zweck wurden "Suppressions subtraktive Hybridisierungs" (SSH) differentielle Bibliotheken [488] von IFN- γ stimulierten EF und IFN- γ /TNF- α stimulierten Makrophagen der Zell-Linie ANA-1, beide mit C57BL/6J genetischem Hintergrund, generiert [399, 409]. Es zeigte sich, daß in beiden Bibliotheken cDNA Fragmente von Mitgliedern der Interferon-induzierbaren, an zellautonomen Resistenzprogrammen gegen verschiedene Pathogene beteiligten p47 und p65 GTPasen Familie deutlich überrepräsentiert waren [399, 409].

Neben diesen Fragmenten und anderer, von bekannten Genen stammender, konnten in beiden Bibliotheken noch weitere cDNA Fragmente identifiziert werden, deren Sequenz in öffentlich zugänglichen Datenbanken nicht deponiert war [409]. Eine Expressionsanalyse dieser cDNA Fragmente durch Northern Blots ergab, daß zwei cDNA Fragmente von 464 bp und 641 bp Länge der EF SSH-Bibliothek, sowie ein weiteres cDNA Fragment von 743 bp aus der ANA-1 Bibliothek jeweils mit einem ca. 9 kb großem IFN- γ induzierbarem Transkript hybridisierten.

Im Rahmen der vorangegangenen Diplomarbeit [447] konnte gezeigt werden, daß die drei verschiedenen cDNA Fragmente Bestandteile einer gemeinsamen cDNA sind. Ferner konnte innerhalb dieser Arbeit die cDNA Sequenz dieses als Klon 18 bezeichneten Gens mit Hilfe der PCR-basierenden 3'- bzw. 5'-RACE Technologie auf nahezu 5300 Nukleotide (nt) ausgeweitet werden. Die vollständige cDNA von Klon 18 wurde jedoch nicht ermittelt.

Weiterhin konnte gezeigt werden, daß die aus der partiellen cDNA von Klon 18 abgeleitete Aminosäuresequenz die kanonischen GTP-Bindungsdomänen Motive $G(X_4)GKS$ (G1-Motiv), $D(X_2)G$ (G3-Motiv) und $(N/T)(K/Q)XD$ (G4-Motiv) [380, 381, 383] besitzt; funktionelle Analysen wurden jedoch nicht durchgeführt. Aufgrund der GTP-Bindungsdomäne wurde Klon 18 in "very large inducible GTPase-1" (VLIG-1) umbenannt.

3.2 Identifizierung der vollständigen cDNA und Sequenzanalyse von VLIG-1

Zur Identifizierung der vollständigen cDNA von VLIG-1 wurde eine >4 kb λ -cDNA Bank von IFN- γ stimulierten EF mit C57BL/6J genetischem Hintergrund unter Verwendung eines partiellen VLIG-1 cDNA Fragmentes gesichtet. Positive cDNA Klone traten in dieser Bank mit einer Frequenz von 0.4% auf. Es konnten mehrere cDNAs größer als 8 kb aus der λ -cDNA Bank isoliert werden, wobei der größte Klon 8988 bp bis zum Beginn des Poly(A)-Schwanzes umfaßte und als VLIG-1/Klon A bezeichnet wurde (Abb. 6). Klon A enthielt wie erwartet die Sequenzteile aller drei cDNA Fragmente der SSH-Bibliotheken.

Das längste offene Leseraster (ORF) umfaßte 7358 nt. Die Protein-kodierende Sequenz (CDS), beginnend vom ersten potentiellen Translations-Initiations Kodon AUG innerhalb dieses ORFs, bis zu einem zweifach aufeinanderfolgendem TAA Stopp-Kodon, umspannte 7281 bp, welches einem putativen Protein von 2427 aa mit einem kalkuliertem Molekulargewicht (M_r) von 280814.56 und einem isoelektrischen Punkt von 6.12 entsprach. Die Konsensus Polyadenylierungs-Signalsequenz (AATAAA) konnte insgesamt viermal innerhalb des 3' nicht-translatierten Bereiches (3' UTR) der VLIG-1/Klon A cDNA Sequenz identifiziert werden. Übereinstimmend mit diesem Befund wurden aus der λ -cDNA Bank VLIG-1 Klone mit unterschiedlichen 3' UTR Längen isoliert.

```

1   GGCAGGCTGGAGGAAGGTGCATGTCCACCTCCAATTACTCTCTAGAGCAACAATCTGAAGACTGGAACCTGGGCTTCAAGCACACAAGTGT 90
91  GTTGGGTATCCAGGACTCGTTGAGGTGAAAGTGTGGGTTCTGATGATGGAACCCCGCCGACCAGAGGCTGGGATCTGTTCCGGTCCG 180
181 GGCCACCCCGCCATCTTCTTTGAGCCAGCAGAGGCCACTAAGGACTCCAGAGTGTCTCCACACCACAGGGCATCAGGCTCACCTC 270
271 GGGAACACGGAGCC 284

285 ATGGCAACAGCAAAGTGTTCCTACTGATGAGCCTCAGCTACAAGCAGAAGGAAGCACAATCTCCAGGAGATGTGCAGAGAAGTGGGACTG 374
1   M A T A K C F T D E P Q L Q S R R K H N L Q E M L T E V G L 30

375 TCTGTTGACTACTGGTTACCTAAGCTTCAGGAAGATCTGGGTGTACCTCGGCCAGGCCTTACAATATTTAGACAGGAATGACCTCCAG 464
31  S V D Y W L P K L Q E D L G V T S A Q A L Q Y L D R N D L Q 60

465 AAGCTGAAGTCCAGACAACACACACATGGGAGAAAAGGGCGCTGGAGAAGTTACTGGACTTCTCACAGCCAAACAGTGTGTCAGAGCTA 554
61  K L K S Q T T H T W E K R A L E K L L D F S Q P N S V A E L 90

555 CAGGAGACTCCAAGGAGATGAAAAGAACAGGCAGAGGCAGGCAGGACAAGCACTGCAGGCTCTGAAAGCCTTGCAAGTGCAGAGGGAAG 644
91  Q E T P R E M K K N R Q R Q A G Q A L Q A L K A L Q S E G K 120

645 CACAGAGAGGAAGAGGCACTGAGGAGAAAAGCAGAGCTGAGACAAGCAATGGAGATCCCTGAGGAGTGTGGCCAACGGCTGAAGTG 734
121 H R E E E A V R R K E A E L R Q A M E I P E E C W P T A E V 150

735 TCCCTAAAAGACATCACTGAAATAATGGAGAGACATCTCAGTCACATGGAACGGACCCTGGCTCACAGTCCAAACCTCTCAGATGGAGAC 824
151 S L K D I T E I M E R H L S H M E R T L A H S P N L S D G D 180

825 CTGGTAAAGATGGGCATCTGGAGGGCTGGCTCTGCAGGGAATTTATAAGACCAACCACCAAGAAGCCTGATTCAGAAGAGAGAAGAGCTA 914
181 L V R W A S G G L A L Q G I Y K T N H P R S L I Q K R E E L 210

915 CTCAGTGTCCCTAAGCAGTCTCACTTGTGGCCAGAACATGGCACCAGAAATAAAAACGATGGAATTTTCATCTTTTCACGAACAAGCC 1004
211 L S V P K Q F S L V G P E H G T E I K T M E F S S F H E Q A 240

1005 ATGTTTACAGAGACTATAAAGATGATGGGTTTCAGTTCACCTCCTGGTTAAAGGCGAAGGATGGGGATTTAGTCTAGAAGCTGGTATA 1094
241 M F T E T I K M M G F S S T S L V K G E G W G F S L E A G I 270

1095 GATCAAAAACGAACAGACAGCATCTGAGAATACACCAATCCCAATCAGAGCAAACCTATTTTGTCTCAGCCAGGTTGAGCTACATCCCA 1184
271 D Q N E Q T A S E N T H Q S H S E Q T Y F C S A R F S Y I P 300

1185 TTGGCCACGTGCCATTTTCACATCAATGATCTTGAAGTCTCCAATGCTGCTCTCCAGGAAGTAAAACTATTGAAGAACTCCTGGAGCAG 1274
301 L A T C H F H I N D L E L S N A A L Q E L K T I E E L L E Q 330

1275 ACAACAGACCACCGAGATGGACTACCTTACTAAGGCACAGGGCTGAAAACCTTTTCCATAGGTTTGGCTCTCATGCTAACCAGGCCCT 1364
331 T T D H R D G L P L L R H R A E N F F H R F G S H A N Q G P 360

1365 CTGCAACTGGGTGGAATCTACTGCTGGAAGCCATTTTCAAGGTTTCAAAGTGGACTTGGCTGATGTAAGCAGCAAACAAGAGAG 1454

```

361 L Q L G G I Y C W K A I S E G F K S E H L A D V K Q Q T R E 390
1455 TCTTTGAATATTTACATTATGGGCAGTTATAGTGGCTTTGGAGTTAAAGTCGGTGCAAGTGTAAATATAGCAAACCTCAAATTCAGAAACA 1544
391 S L N I Y I M G S Y S G F G V K V G A S V N I A N S N S E T 420

1545 GCATCATTAGTACAACCTCATCTACACTCTCAAACCAAGGTACAACATCTGTAGCCCAGATAGGTGGACCAGCAGAAGCAGATGGAATT 1634
421 A S F S T T H L H S Q T K V Q L S V A Q I G G P A E A D G I 450

1635 GCCCAGTGGACAGCTGGCCTTGTAGTTAGCAATCAAACCTGGTCTGTCTGATAGGGAACTGCAGTTGGTACCTATTTGGGACATCATC 1724
451 A Q W T A G L V V S N Q T W S V I D R E L Q L V P I W D I I 480

1725 CTGTCTAGCCACAGAAGTATTTAAGAATGCTCTTCAAGTGGCTAACTGCCTAAAAGACAACCTACACTGCTCTGACTGAACATAGATGCC 1814
481 L S S H R T D F K N A L Q V A N C L K D N Y T A L T E L D A 510

1815 CAGATTCAAGAGGGGAAGAATTTCTGACTGCTAGAAAAGAAGCTAAAGCTTTTCATAGAGGATGTGAAATGCTGGGAGGTTTCTGATCCT 1904
511 Q I Q E G E E F L T A R K E A K L F I E D V K C W E V S D P 540

1905 GAAGAACAACCTTCAAAGTATTAGATTTTATGCAAACATTGAGTCAAAAAATAAAAAGTTATAACATTTGGATTAATACATGTCTCACT 1994
541 E E Q L T K L L D F M Q T L S Q K I K S Y N I W I N T C L T 570

1995 GATTGGGATCTGCAGAATTTCTAATAAATACTGTAAGTTCTGCAAACCTCACCCACTTATAAACTCAGTTTATTAATCTCAGTTG 2084
571 D W D L Q N F L I N T V K F C K T S P T Y K T Q F I K S Q L 600

2085 TGCATCCTTCTAGAACCTCATGTCTACAAAGTTACAACCTTCTGAGGCACACTCCATCATACAGTGGATCAATCAGTCAGAGTATGGG 2174
601 C I L L E P H V Y K V T N F P E A H S I I Q W I N Q S E Y G 630

2175 GAAGAGCAAGTCAAAATCACCTCATTTTCTGAATTCATTAAGACCTTAAAGAAAACCCACAATACTGATGGAAGTGAATTTCAAAT 2264
631 E E Q V K I T S F S E F I K T L K K T H K Y L M E V N F K N 660

2265 GAGGCCCCAGAACAGTGAAGAAGCAGAAAGAAGCGCTACATATGAGGTACCACAGCTCTCAGCTCCTTCTGAACTACCTCAAAGAA 2354
661 E A P E T V E E A E R T A T Y E V T T A L S S F L K Y L K E 690

2355 ACAGAACAGCCAGACATGCAGCTGCTGCTTCCATTGCAGCTGGTGCAGGCTATCAGTTGGTAAACAGTATTTTCAGCATCTCTG 2444
691 T E Q P D M Q L L L L S I A A G A G Y Q L V N S I F Q H L L 720

2445 GGGTGTGATGAGTTAACTTCTCTTGGATCAAATGCAAAGTAAACACAAATACCAAGAGCTTAAAAATATTTGCAACTACAGAGCC 2534
721 G C D E L N F L L D Q M Q S N Q H K Y Q E L K N I C N Y R A 750

2535 CAGGCATTCTGGTGTACAGCTCTAAGAACCACAGTTGAATCACAGATATTTCTACAGAAGAGAAAAGACAACGTTTGGCATTAAAT 2624
751 Q A F L V L T A L R T T V E I T D I S T E E K R Q R L A L I 780

2625 AAACAACATATGGGACACTGTGTCTGAAGAAGTTGCACATGTTTCTCAAAAACATGGAGAACATCATGACTGGGAAAGTCTGGAGAAT 2714
781 K Q H M G T L L S E E V A H V L T K H G E H H D W E S L E N 810

2715 GATTTGAGACTACTCATTGAGGGGACTATAAGCCACCACCATTACTTACAATGGATGAGGTAAAAACAATGCAAAGTCTCTG 2804
811 D L R L L I E G D Y K A T T H Y L Q M D E V K K Q L Q S L C 840

2805 CATGGAAGAAACAGACCTATAAACAAAAAGTAATGAAACATCAAAAAGGAATGATAGAAAATGGACCTTCTCGAAATTAATCCAA 2894
841 H G K K Q T Y K Q K S N E N I T K G M I E N G P F L K L L Q 870

2895 CGTCTAGGCTAGACAATTAATCTATCCAAAAGGATGAGCAGAGCTGACTTCCATCTGATCTATAAGACCTCTGTGTACAATTACAGCCA 2984
871 R L G L D N Y Y P K R M S R A D F H L I Y K T S V Y N S Q P 900

2985 AGGTCTGAAAAGGAGCTTCCATTCTATTTCTCAAAAAGCTACTGATGTTGGATTGAGGTTTCCAGACATCTGATAGTCAAAGATGATGAA 3074
901 R S E K E L P F Y F L Q K L L M L D Y G F R H L I V K D D E 930

3075 AACATAAAAAACAATCTCCATAGGTTCTCCAAATCACGAAAATGAAGATATGATCCATATGACGATGTCATTATAGACAATGATAGT 3164
931 N I K K Q I S I G S S N H E N E D I D P Y D D V I I D N D S 960

3165 CCTGGCTATCCTTACGCCACTGAGTCTGGCCCCACATTCACCCATTGGATATCCAGATGACCATTTTACACTGTGCAGATGATCTTACC 3254
961 P G Y P S A T E S W P H I H P L D I Q M T I L H C A D D L T 990

3255 AGGCAATATATTTTCTCTAACTTTCCATTTGTCTTATGCACTCCCCCTTGTGGTACCAAAATCCCAACACTTCTCAGATTGAATTTAT 3344
991 R Q Y I F S K L S I C H Y A L P L V V P N P N T S Q I E F Y 1020

3345 CTTTGGTCTCTCAGACAAATTAGGAAAAGTTGGCAAGATGCAAGTAAATCTCCACAGGACAAGAGCTACAGTCACAGAATCAGCAGATG 3434
1021 L W S L R Q I R K S W Q D A S K S P Q D K S Y S H R N Q Q M 1050

3435 TGTCGTCTCTACCCCCATTGTCTTCTCATTAGAGTTGGAATGACCTCTCTGCTTCCAAATCTCAGATCATGAACCTCTTCTCTCAGT 3524
1051 C R V S T P I V S F I R V G N D L S A S K S Q I M N S L L S 1080

3525 AAACGTAACATGACGTGTTTTTTCACAGACTGCAAAGGAAGCAACAACACTGTCTCTGATGCAGGAGTGGTGGAAATCTGCTGG 3614
1081 K R K H D V F F H R H C K G S N K H C L L M Q G V V E I C W 1110

3615 TTCTGTCTGCCGCCAAGGTGAGGACAGTTTGAAAATTGCTGTGACCTTACCAGTCTTCTGAGATGCAAAGGAACACACCCCAACAA 3704
1111 F C P A G Q G E D T F E N C L T F T S L H G D A K E H T Q Q 1140

3705 CTCAGTCTCTCCAACATGTCTCTTCTATCATTGTGGTCTCTGATGTCAGTTTCTGATAACAATAAAGAAAACCAAAAGCTTGTGACAGAC 3794
1141 L S F L Q H V S S I I V V L M S V S D N N K E N Q K L V R H 1170

3795 CTCTGGCAGTCATCAACACCTTTGATCTGTCTGATTGATGACAAAAGAAAGCCATAGCAAATACTTCTGGTAAAAGAAATGAGAATTGGC 3884
1171 L W Q S S T P L I C L I D D K E K A I A N T S G K R M R I G 1200

3885 ATCAAGAATAGAAATGAGGAGAATTAACAGAGGAGCTACCAATGCCATCAAAACATTTCTAGAGCTCTAACACTGTTCTCAGTTTA 3974
1201 I K N R N E A E L T E G L T N A I K H F L E L S N T V L S L 1230

3975 GAGGACTGTTTCACAGACAGCTAGAGAGCTAGGATTCATTATTGATGAAGACCAGAGAGACTGCAAGGAAGCCAAAGAAAAGGCTCAGACT 4064
1231 E D C S Q T A R E L G F I I D E D Q R D C K E A K E K A Q T 1260

4065 GTAATGGCCCTCTGGAGGAATACAAGTTATCTCAGACAAAAGAAAATTTACTACCCCTTCAAGGACAACCTTTGGCACCTTTGGTGTAA 4154
1261 V M A L L E E Y K L S Q T K E N L L P L Q G Q L W H L W C K 1290

4155 AAAGCAAAGAATTCTATCATCTGAGAGAAAAGGGGAATCGGAGCATCGAACACAAGAGTGAGATTGAAACACATAAAAAGAAAAATT 4244
1291 K D K E F Y H L R E K G N R S I E Q H K S E I E T H K R K I 1320

4245 CGACGTCACAGTTGGAAAAAGCCTTCTCTCAATGATTTAATGCGCTCTGTTCTCGAACTCTCCAAGACTATTAGAAAACACATAAC 4334
1321 R R Q Q L E K A F P L N D L M R S V L E L L Q D Y S E T H N 1350

4335 AAACCTACGTTTTGCAGTGGCTCACTCTGTTTTTTGACAACTGACAATAGATCACCTGGACAAAATTACATGAAAGGCAGAGATCTTTG 4424
1351 K L Y V L Q W L T L F F D N L T I D H L D K L H E R Q R S L 1380

4425 TGGTTAAGGATACAAAAGCAAAAGCAGACAGAAGAGCAACTCTGTGCAGAATCAGATAGAAGCCATCTCCACAGAGATTCTATAAC 4514
1381 W L R I Q T E K Q R A Q K S N S V Q N Q I E A I S T E I H N 1410

4515 TGTACTTTAGGAATTGAGCACCTTCTCCGAGAAGTTGGCCAGATCTATGAAGCTCTGGAAGAACTTCTCTCTAGAGATAGCCTTTTT 4604
1411 C T L G I E H L L R E V G Q I Y E A L E E T S S S R D S L F 1440

4605 CTCTGCCTCCCTCAAATTGCTGCAGACCTGATGATAGCTGGTGTCCATTGAGCTGATGGACGGGGATGCTTCATATGTCCTCTAAAG 4694
1441 L C L P Q I A A D L M I A G V P I E L M D G D A S Y V P L K 1470

4695 TGGGTAGCAGCTATTTTGGACAAGATCACAGAGAAAAGTTGGAGACAAAAGGCTGTTTGTCTCTGCTCTGGCCTGCAGAGCTCAGGG 4784
1471 W V A A I F D K I T E K V G D K R L F V L S V L **G L Q S S G** 1500
G1-Motiv

4785 AAGTCTACCTACTGAATGCCCTGTTTGGCCTACAGTTCACAGTCAGTGCAGGCAGGTGTACCAAGGGGCCTACATGCAGCTCCTGAAG 4874
1501 **K S** T L L N A L F G L Q F T V S A G R C T K G A Y M Q L L K 1530

4875 GTGGAAGAGACATTACAGAAGAACTTGGCTTAAATTATGTGCTTGTATAGACACAGAAGGACTTCGAGCTCCAGAATCAACAACAAA 4964
1531 V E E T F T E E L G F N Y V L V I **D T E G** L R A P E L N N K 1560
G3-Motiv

4965 TCCAGAATTGGGACCATGAGTTGGCAACATTAGTCATTGGCCTTGGAACTTGACTCTGATCAATATTTTGGGGAGAATCCCTCAGAC 5054
1561 S Q N W D H E L A T L V I G L G N L T L I N I F G E **N P S D** 1590

5055 ATTCAGGACATTCTACAAATATCTGTTCAAGCATTCTGAGAATGAAACAAGTGAATACTCCCCAGTTGCCTCTTTGTCATCAGAAT 5144
1591 I Q D I L Q I S V Q A F L R M K Q V K I S P S C L F V H Q N 1620

5145 GTGGGAGAAGTTACAGCAAAAGACCAAACTATGGAAGGACGGAAGAGACTGGAGCAGAACTGGATGAAATGACTGCATGGCTGCTGAG 5234
1621 V G E V **T A K D** Q T M E G R K R L E **Q K L D** E M T A L A A E 1650

5235 TTGGAAGAGTGTCCAAACATAACCCGCTTCAGTGTGTAATTAAGTTTGTATGCAATCGACATGTCTACTACTTTGCTCACCTATGGGAT 5324
1651 L E E C S N I T R F S D V **I K F D** A N R H V Y Y F A H L W D 1680

5325 GGCAATCCCCAATGGCTCCTCCCAATCCTCGCTATAGTCTACAATGTCAGGAACTAAGGAATGAAATCTTTCAACTGCCAGCAGGAA 5414
1681 G N P P M A P P N P R Y S Y N V Q E L R N E I L S T A Q Q E 1710

5415 TCTAGGGGAAGGATCTGAAAATATCAGATTCAAATTCAGAGTTCAAGATTTGTGGAAAGCCCTTGTGAGTAAAATTCATTTTCAGT 5504
1711 S R G R I L K I S D F K F R V Q D L W K A L V S E N F I F S 1740

5505 TTCAGGAACACCAAGAGGTCCATAGCCATGAGCAAACCTGGAACAAAGTATAATGAATGGACCTGGGAGCTAAGGAGTCATGTACTGGAC 5594
1741 F R N T Q E V I A M S K L E T K Y N E W T W E L R S H V L D 1770

5595 TTACAGAATCAGCTTGGACAATCAGATTCAAATGGAATAATCCTGACACTCACATCTAATTTACTAGAGGAACCCTTAGCAGGAAACTT 5684
1771 L Q **N Q L D** N Q I Q N G K I L T L T S N L L E E P L S R K L 1800
G4-Motiv

5685 AAAACCATCAAAGAAGAAATTGACAAATATTTGAAGAAGACCCAGATTTGAAATATTTGGTTCAGTGGAAAGCAAATTTGAACACAAG 5774
1801 K T I K E E F D K Y F E E D P D C E I L V Q W K A N F E H K 1830

5775 TTAATAATCCTTAAAGATTCACTTATTTTCCAGACACCAGACAGAAATGCAATGAACATATCAGTCTTAAAAATAGCAAGAAATCACTTGAT 5864
1831 L L I L K D S L I S D T R Q K C N E H I S L K N S Q E I L D 1860

5865 AACCAAAAGTCACAATATGAAATCAGTTGTTAGAGAGGAGCAGAAAGTTAGCTTTAAATTTGAAGGGTAAGGAATTAAGTGTATGAAGAG 5954
1861 N Q K S Q Y E N Q L L E R S R K L A L N L K G K E L S D E E 1890

5955 TTGCATGAGAAATTCAGGCAACTTTGGACAAGTTGGAATTTATGATGATCTTCCAATGTTCCCTCATGTACAGAGCCTAACATTGATTTG 6044
1891 L H E K F R Q L W T S W I Y D V S S N V P H V T E P N I D L 1920

6045 GACTCTGAAAATATCCTTCTGGAATATTTCAAGAAGGACAAAATATTTGTGAAAGACTAAAAATAAAGTCTCAAGGAAAGTTTGAATC 6134
1921 D S E N I L L E Y F K K D K N I V E R L K I K S Q G K F E I 1950

6135 ATGTATGACAAACATATTCAAATGAAAAAGAAATACCTTTTACTTAGAAAGAGTTTAGAAACCTGTCAATGTTGAATCCATCAAAAAGACA 6224
1951 M Y D K H I Q M K K K Y L L R K S L E T C H V E S I K K T 1980

6225 ACCAACAACATTCAAGTTAAAAATTTACAGAAACACTTACAACACTTTGGAACAAAAGCGTGATTACAGTCAGAAATTAATTTTCATGAAATC 6314
1981 T N N I Q L K F T E T L T N I W K Q K R D Y S Q N Y F H E I 2010

6315 TTGAGGATCATAGAAAATGAGCTGAAATCTGAAACCTGTGAGGGAGACTACACATTTACCAAGACTACATCATTGACTTATCCTTTGTAC 6404
2011 L R I I E N E L K S E P C E G D Y T F T K D Y I I D L S L Y 2040

6405 TTATTCAAAGAGCATCCAAGGATTTCAAGAAAATGCACGGCATTCAAGACTGCAATGACCCTGTGAACTATCTGGAGAGAAAAGAAA 6494
2041 L F Q R A S K D F K K M H A A F K T A N D P V N Y L E R K K 2070

6495 GATGATTTCTTTATGAGTTTAAAGATCTCTGCCAAGTGGCCACTTCAATCACTTCTTTGTTGACTTCTATGGCTCAAGCTCACTCTCT 6584
2071 D D F F M S F K I S C Q G A T S I T S F V D F L W L K L T P 2100

6585 GCTATCTCTGTCAGCATATGGAATAATGGTTCAAAAAATAGCTGGAGACATGCGAGCCACCTGCCCTGAATTCATGGAACAGAGCT 6674
2101 A I S V S I W K I M V Q K I A G D M R A T C P E F N G N R A 2130

6675 AACCTGGAGATACATATTTCTACTCTCTAGCAGAAGAAGAAAATTTGATAAATACTGGAATAACATTCAAAGCCAGAGGAATTTTTC 6764
2131 N L E I H I L Y S L A E E E K F D K Y W K Y I Q K P E E F F 2160

```

6765 AGGGATTATATTAGAGACCACATTAAGATACTGTTTCAGAAAAAGAGAGTGAATAAATAAATACTTTTTAAACATAAGCTTAGGTGAC 6854
2161 R D Y I R D H I K R Y C S E K E S E K I K T F L N I S L G D 2190

6855 ATCAAGAATACTACTCTGTCTGCCATTCATAACTCCACAAAGGTAGCTAAAGCTAAAGGCAGCACTGCATCTCACTGGCTGGATTGTTC 6944
2191 I K N T I L S A I H N S T K V A K A K G S T A S H W L D L F 2220

6945 TGTGACCACCTAGGGAGCAACCTGGTCTTCCCAAGGAAAGACTGGTAAGCATAGAGCACCAGGAGCTAATGGATACTGAGTTCCTCAA 7034
2221 C D H L G S N L V F P R K D L V S I E H Q E L M D T E F L K 2250

7035 GAAGCCATGAGCAAAGCTTTGGATCCTGCAATGAGGGAAGTAGAAGAGGATTGTTCAAGTAAGCACATAGATGAAATTGTTCTCTGACATT 7124
2251 E A M S K A L D P A M R E V E E D C S S K H I D E I V P D I 2280

7125 GAGAAAAATCTCTCTGACATCTCTGTGGCTGTGGAAACAGTGTCTTTTTGTAAAGGCAATTTGTACAAACACCATTCCCCAGCATGAA 7214
2281 E K I L S E H L C G C W K Q C P F C K A I C T N T I P Q H E 2310

7215 GGAGACCACAGTGTCCATTCCACCGTCTCCAGGCTGTCAAGTGGTGGCATTGGCATAAAACAGACCAGTTCACATTAATGTTTGTACT 7304
2311 G D H S V P F H R P Q A V S G W H W H K T D Q F H I N V C T 2340

7305 AGTAGTGTAGCAAGTAATATTTCTTCATTTTAGATGGCTTCCGGGAATTCACATTCAGAAATATCGAGAAGCAGGAGGTGATTATGCC 7394
2341 S S V A S N I S F I L D G F R E F P F K K Y R E A G G D Y A 2370

7395 ACATGGAGCATCACCCAGACTCATCTACCCAGCCATATGGAAATGGTTTGTCTGTCATTTAGATCAAACTAGAAGAGAATTATGCC 7484
2371 T W S I T P D S S T Q P Y W K W F V C H F R S N L E E N Y G 2400

7485 AAAAAATTTACAGGAAAGGTAGTCTTCCAGATTTATGGACAAAATCACAAAGCAAGAAGTCTGAATGACTTAAAAATAATAA 7571
2401 K K F T G K G S L P D L W T K I T K Q E V L N D L K K * * 2427

7572 CTGCCACAGACAGAACAACACTAGATGGGCCACAGAAATTTACTTCAGCCAAGGGAGCCTAATGGAGAACACCATGCAGGAGGATCTGCAGT 7661
7662 AGACATTTGAGCTTCTCGATATGGCCACTCTATTGGGCAATTTTCTGCAGACCAATATGAAGTTAACTTTCATAAAATAAGACTGT 7751
7752 TTAGATGAATTAATGATTTTATAGAATTTCTGAGTTGATTTAAATAGTTTTAGGCCACTAGGGTTAATGATAGAAAGTTAAGGAGATGCC 7841
7842 TTAATTTGTTCTGCTAAATAGATATGATAAAGTTAGAATTAAGAGCAGAATGTGACCTTCCCTTGTAGGATAATGAGAGCTACATAGGT 7931
7932 TTGAAAGAGGAGTACAGTGAAGCTTTCATGCATTGCAAGTATGTGATTGTACTTGGAGAAGAAAATAGCTTGGGACAAGTTAATGCCTCAA 8021
8022 AACATTCATCTAGGTTGGGTCTGAGTTCCTGGATTTGTGATCTAGAGACATAGTCACAGGTTTTGGTGGGCACCATAAAAAGGCAAGG 8111
8112 TAATAAACAAGGAGTAAATAATTCGATTATTAGTATAGAATAGAGAATAGATGATTCTCCAGTATAGCTGAACAAGACTACAAAAATAAG 8201
8202 ATGTAAGAGAGATTGTTCTTCGTAATAACAGATTGATCACCATCTAAGCATATGGAAAACCTGCTACTGTAGACTTGGCTTGCCTAAAC 8291
8292 ATTTGTTAATCAATAACAAAAAATATAGCTTTAGTTTTGCTATGGAGAAAAGATGAGAGAACGTTAGATGAGAAATGCTTAGGTATGA 8381
8382 GTTTCAAAAGAGAAATACACAATCAATGCTCCTGTTGTAATCTCTTGTGTGATGATTTTATTGCTTATTGAAGAACATGTGTTTTGTGA 8471
8472 TTGTTTTTAGAAAACCTGCAACTTATGGCTATGAAGTAATTTTTGTCAACATAGAGAACTTTGCTTATAGATGGTGTAAAAGGCTAAGA 8561
8562 GAACAATAAAAGATGTTAGAGCTCCTTGTGGAGCTTGTTCATCCTCCAAGTGTATGAGCATGTGCCAGCTTTACATTTGATACAATCAC 8651
8652 ACATGCCCTCTTTGGATCA TTGACATAGCTAGTCTTCAACATCCTCATACAAATTTGAAGTTGCATTAATAATTAATAAGTAAATAAA 8741
8742 TTAGCTACTATTGCAAGACTTGAAGATTTCTATGAAAATGATTTTACTTCTCTGATTTATTATCTAATGCTTTATTTCATATATACTA 8831
8832 AATATGTTAATGATCTATTGTTTTGATTTTTTTTTTTGCTTGGTGTGTTTTCTGTTTTTGTCTTATGGAAGAGTATGTTCTCTCTGT 8921
8922 ATTTCTTATTTTTGTTTTTTATTGTTTGTGTTTTGTTTTATTGAAAGATAAAAATAATAGTAAT 8988

```

Abbildung 6. Nukleotid- und vorhergesagte Aminosäuresequenz von VLIG-1/Klon A. Potentielle Polyadenylierungs-Signalsequenzen sind fett gedruckt und punktiert unterstrichen. Start- und Stopp-Kodon(s) sind fett gedruckt. Die identifizierten G1-G4-Motive der GTP-Bindungsdomäne sind mit einem grauen Rahmen unterlegt. Weitere potentielle G4-Motive die mindestens 50% Identität zur G4-Motiv Konsensussequenz aufweisen sind fett gedruckt und unterstrichen.

Aus der λ -cDNA Bank konnte zusätzlich ein weiterer VLIG-1 cDNA Klon von 8794 bp (VLIG-1/Klon B) isoliert werden. Die Sequenz von Klon B war, bis auf eine Sequenzlücke zwischen der Nukleotidposition 87 bis einschließlich Position 280 in Bezug auf Klon A, identisch zu diesem. Zudem war das erste potentielle Start-Kodon innerhalb des längsten ORFs von Klon B identisch zu dem von Klon A und in 5' Richtung von diesem war in den ORFs beider Klone ein Stopp-Kodon zu finden. Somit betraf der Unterschied zwischen beiden Klonen nur die Länge ihrer jeweiligen 5' UTR, während beide für das selbe Protein kodierten. Ein Vergleich der 5' UTRs, ORFs und des Beginns der CDS beider Klone ist in Abbildung 7 wiedergegeben.

Das putative AUG Start-Kodon war eingebettet, in eine der Konsensus Kozak-Sequenz (C(A/G)CCAUGG) [489, 490], als potentieller Translations-Initiationsstelle, nahezu identischer Sequenz (AGCCAUGG) (Abb. 6 und 7).

```

VLIG-1/Klon A  1  GGCAGGCTGGAGGAAGGTGCATGTCCACCTCCAATTACTCTCTAGAGCAACAATCTGAAGACTGGAAGCTG 70
                |||
VLIG-1/Klon B  1  --CAGGCTGGAGGAAGGTGCATGTCCACCTCCAATTACTCTCTAGAGCAACAATCTGAAGACTGGAAGCTG 68
                |||
                * S N N L K T G T

VLIG-1/Klon A  71  GGCTTCAAGCACACAAGTGTGTGGGGTATCCAGGACTCGTTGAGGTGAAAGTGCTGGGTTCTGATGATG 140
                |||
VLIG-1/Klon B  69  GGCTTCAAGCACACAA----- 84
                G L Q A H K

VLIG-1/Klon A  141 GAACCCCGCCCGACCAGAGGCTGGGATCTGTTCCGGTCCGGGCCACCCCGCCATCTTCTCTTTTGAAGCCC 210
                |||
                * A
VLIG-1/Klon B  84  ----- 84

                Q Q R P L R T P E C S P H H R A S G S P R E H G
VLIG-1/Klon A  211 AGCAGAGGCCACTAAGGACTCCAGAGTGCTCTCCACACCACAGGGCATCAGGCTCACCTCGGGAACACGG 280
                |||
VLIG-1/Klon B  84  ----- 84

                A M A T A
VLIG-1/Klon A  281 AGCCATGGCAACAGCA 296
                |||
                A M A T A
VLIG-1/Klon B  85  AGCCATGGCAACAGCA 100
                A M A T A

```

Abbildung 7. Sequenzvergleich zwischen VLIG-1/Klon A und Klon B. Dargestellt sind die jeweiligen 5' UTRs und die Translation des 5'-Bereiches des längsten ORFs inklusive der ersten 12 nt, bzw. 4 aa der CDS. Die in 5'-Richtung vom vorhergesagten Start-Kodon liegenden Stopp-Kodons innerhalb der jeweiligen ORFs sind fett gedruckt. Die ersten 4 aa des putativen VLIG-1 Proteins sind mit einem grauen Rahmen unterlegt. Die Kozak-Sequenz ist unterstrichen.

Die vorhergesagte Aminosäuresequenz von VLIG-1 beinhaltet die schon in der partiellen cDNA-Sequenz von VLIG-1 identifizierte GTP-Bindungsdomäne [447], bestehend aus den kanonischen Sequenzmotiven G1-G4, die in den meisten GTPasen konserviert vorliegen [380, 381, 383], als das einzige erkennbare strukturelle Motiv.

Während das G1-, bzw. G3-Motiv der GTP-Bindungsdomäne von VLIG-1 zweifelsfrei identifiziert werden konnten (G1: GLQSSGKS, G3: DTEG) und in einem in den meisten GTPasen vorzufindenden Abstand von 40-80 aa zueinander liegen [380, 381, 383], wurde die Identität des G4-Motivs noch nicht eindeutig geklärt. Der Konsensussequenz des G4-Motivs (N/T)(K/Q)XD am ähnlichsten war die Sequenz NQLD an Position 1773-1776. Der Abstand dieser Sequenz vom G1-Motiv beginnend mit der Aminosäure Position 1495 war mit 270 aa jedoch relativ groß. In den meisten bisher untersuchten GTPasen beträgt der Abstand zwischen dem G1- und G4-Motiv 110-170 aa [380, 381, 383]. Bei Mitgliedern der an Signaltransduktionsprozessen beteiligten Familie der G-Protein α Untereinheiten, konnten jedoch ebenfalls Abstände zwischen dem G1- und G4-Motiv von ca. 230-330 aa festgestellt werden [380, 381, 383]. Anhand der Sequenzanalyse war jedoch nicht auszuschließen, daß das G4-Motiv von anderen, stärker von der kanonischen Sequenz abweichenden Sequenzregionen gebildet wird. Weitere potentielle G4-Motive von VLIG-1, die zumindest 50% Identität zur G4 Konsensussequenz aufwiesen, ohne

die biochemischen Eigenschaften der Aminosäuren zu berücksichtigen, sind in Abbildung 6 gezeigt.

Repetitive Sequenz-Elemente, die auf eine wiederholte molekulare Struktur innerhalb des VLIG-1 Proteins hindeuten, wurden nicht identifiziert. Dies konnte durch einen Dot Plot Vergleich der Aminosäuresequenz von VLIG-1 mit sich selbst, der auch bei einer niedrigen Identitätsstringenz eine einzelne, durchgehende Gerade ergab, gezeigt werden (Abb. 8). Dasselbe Resultat wurde bei einem Dot Plot Vergleich erzielt, bei dem nicht nur identische, sondern auch äquivalente Aminosäuren berücksichtigt wurden (hier nicht gezeigt).

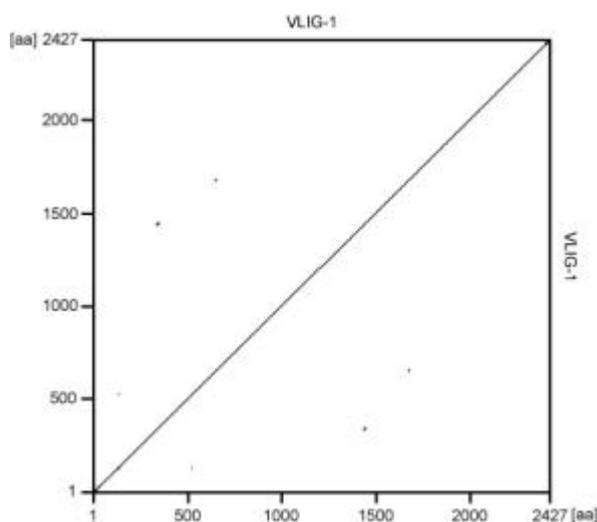


Abbildung 8. Dot Plot Vergleich der Aminosäuresequenz von VLIG-1 mit sich selbst. Die Fenstergröße beträgt 30 aa, die Stringenz der Identität wurde auf 10 aa (= 33%) festgelegt. Die N-Termini befinden sich unten links.

Computergestützte Vorhersagen, unter Verwendung diverser Programme, über mögliche spezifische Wiederholungssequenzen (wie z.B. "Leucin-reiche-Wiederholungen" etc.), Signalpeptide, Prenylierungs- und Myristilierungs-Motive, Transmembran-Helices oder anderer Motive innerhalb der vorhergesagten VLIG-1 Proteinsequenz verliefen ebenfalls negativ.

Ein durchgeführter Hydrophobizitäts-Plot nach der Methode von Kyte & Doolittle ließ gleichfalls keine potentiellen Transmembran-Domänen erkennen (Abb. 9). Er wies das VLIG-1 Protein mit einem Durchschnittswert von -0.49 als überwiegend hydrophil aus. Vorhandene hydrophobe Sequenzbereiche (z.B. in der Region zwischen den Aminosäuren an Position 1400-1500) waren zudem nur sehr schwach hydrophob ausgeprägt, und lassen somit nicht auf etwaige Transmembran-Domänen schließen. Übereinstimmend mit diesem Befund diagnostizieren computergestützte Programme die subzelluläre Lokalisierung von VLIG-1 als zytoplasmatisch und nicht membrangebunden.

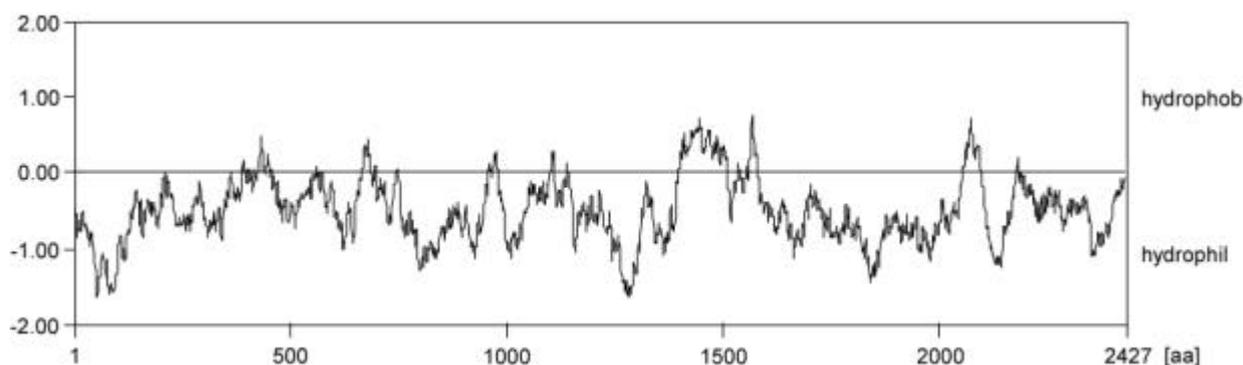


Abbildung 9. Hydrophobizitäts-Analyse von VLIG-1 nach der Methode von Kyte & Doolittle. Die Zahlen unterhalb des Graphen entsprechen der Position der Aminosäuren innerhalb der Proteinsequenz.

3.3 Vergleichende Sequenzanalyse der GTP-Bindungsdomäne von VLIG-1

Die Sequenz der vollständigen cDNA und die vorhergesagte Aminosäuresequenz von VLIG-1 wiesen keine signifikanten Homologien zu anderen Maus cDNAs oder Proteinen, die in öffentlich zugänglichen Datenbanken deponiert waren, auf. VLIG-1 repräsentierte somit eine völlig neue, eigenständige Klasse von Interferon-induzierbaren GTPasen, und war gleichzeitig die dritte GTPase Klasse die neben den p65 und p47 GTPase Familien in beiden SSH-Bibliotheken identifiziert werden konnte. Zudem charakterisiert VLIG-1 das größte Mitglied der GTPase Superfamilie, das bisher bekannt ist.

Eine signifikante Homologie von VLIG-1 zu anderen Proteinen ließ sich nur an den kanonischen GTP-Bindungsmotiven und den sie umgebenden Sequenzbereichen erkennen. Eine phylogenetische Stammbaumanalyse dieses Sequenzbereiches von verschiedenen Mitgliedern der GTPase Superfamilie zeigte, daß VLIG-1 zusammen mit anderen Interferon-induzierbaren GTPasen, die in zellautonome Resistenzprogramme involviert sind, eine eigenständige Unterfamilie bildet (Abb. 10). Der untersuchte Sequenzbereich von VLIG-1 wies einen höheren Homologiegrad zu der entsprechenden Region von Mitgliedern der p65, p47 oder Mx GTPase Familie auf, als zu der von klassischen GTPasen mit niedrigem Molekulargewicht (Ras, Rac, Rho, EF-Tu) [380] oder anderer Interferon-induzierter GTPasen, wie CIITA und der GP-1 Familie. Eine Ausnahme bildete dabei Rab5a, dessen Beteiligung an zellautonomen Resistenzprogrammen gezeigt werden konnte [398], jedoch im Rahmen der phylogenetischen Stammbaumanalyse nicht dieser Untergruppe zugeordnet werden konnte.

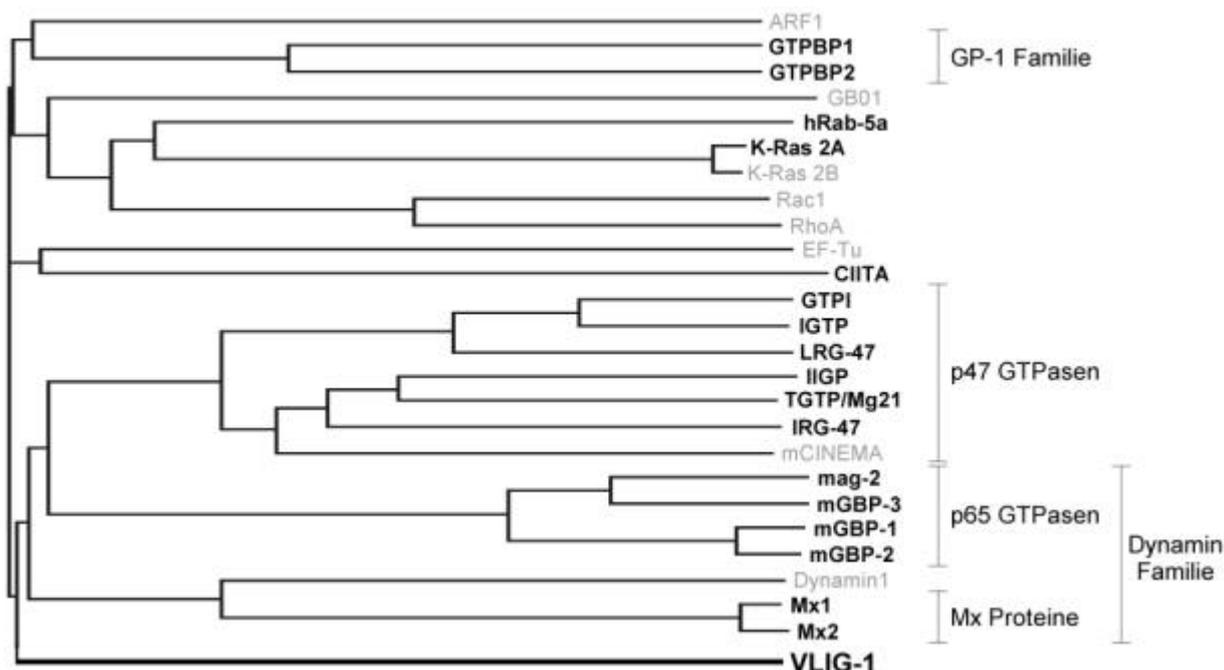


Abbildung 10. Phylogenetische Stammbaumanalyse von ausgewählten Mitgliedern der GTPase Superfamilie, basierend auf einem "Alignment" der kanonischen GTP-Bindungs motive G1, G3 und G4. Der Vergleich beinhaltete, sofern möglich, zusätzlich 50 aa in Richtung des C-terminalen, bzw. N-terminalen Endes. Interferon-induzierbare GTPasen sind schwarz und fett gedruckt, während nicht induzierbare GTPasen in grauer Farbe dargestellt sind.

Ein detaillierterer Sequenzvergleich zwischen VLIG-1 und Mitgliedern der p65, p47, sowie Mx GTPase Familie (Abb. 11), zeigte, daß das G1-Motiv und der angrenzende Sequenzbereich von VLIG-1 den höchsten Identitätsgrad zu der entsprechenden Region des Mx1 Proteins (32% Identität in den ersten 62 aa), gefolgt von den p65 GTPasen und IIGP (beide zu 27.4% identisch), besaß. Die Similarität³ dieser GTPasen zu VLIG-1 war in dem verglichenen Sequenzbereich annähernd gleich groß (zwischen 47% und 50%). Die G3-Region von VLIG-1 wies hingegen einen höheren Homologiegrad zu den Mitgliedern der p65 GTPase Familie mGBP-1/mGBP-2 auf (mGBP-1/2: 34% identisch, 51% ähnlich; Mx1 und IIGP: 12% identisch, 37% ähnlich über die letzten 41 aa), die innerhalb des untersuchten Sequenzbereiches identisch zueinander waren. Den höchsten Homologiegrad über die gesamte Länge (103 aa) der verglichenen Proteinsequenz wies VLIG-1 zu den p65 GTPasen auf (30% identisch, 49.5% ähnlich), während Mx1 und IIGP geringere, annähernd gleich hohe Homologien zu VLIG-1 erkennen ließen (Mx1: 24.3% identisch, 44.7% ähnlich; IIGP: 21.4% identisch, 42.7% ähnlich). Bestätigt wurde dieses Resultat durch eine Suche nach konservierten Domänen mittels des "reverse position specific" BLAST Programmes (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>), das als signifikante Struktur innerhalb des VLIG-1 Proteins ebenfalls lediglich eine Dynamin-, sowie eine p65-spezifische GTPase-Domäne erkannte (hier nicht gezeigt).

Es bleibt jedoch festzuhalten, daß eine signifikante Homologie von außerhalb der GTP-Bindungsdomäne liegenden Sequenzbereichen von VLIG-1 zu anderen Mitgliedern der GTPase Superfamilie nicht festgestellt werden konnte.

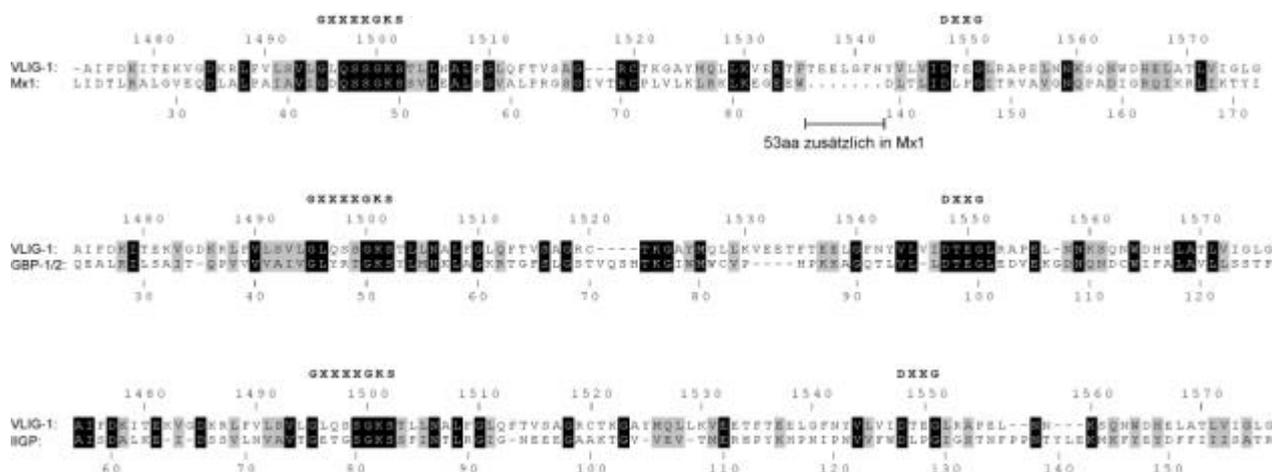


Abbildung 11. Sequenzvergleich des G1- und G3-Motives, sowie der sie umgebenden Sequenzregion zwischen VLIG-1, Mx1, mGBP-1/mGBP-2 und IIGP. Identische Aminosäuren sind schwarz und ähnliche Aminosäuren grau unterlegt. Die Position und Konsensussequenz des G1 - und G3-Motivs ist angegeben. Zahlen markieren die jeweilige Aminosäureposition in den vollständigen Proteinsequenzen. Das Mx1 Protein weist zwischen der Aminosäureposition 86 und 139 zusätzlich 53 aa auf, die nicht in den Vergleich einbezogen wurden.

3.4 Genomische Struktur von VLIG-1, chromosomale Lokalisierung und erste Hinweise auf eine VLIG-Genfamilie

Untersuchungen im Rahmen meiner und der Diplomarbeit von D. Schenk [447, 457] erbrachten Hinweise, daß es sich bei VLIG-1 nicht um ein in Einzelkopie vorliegendes Gen handelt, bzw. daß VLIG-1 Mitglied einer mehrere Gene umfassenden Genfamilie ist. Die Mitglieder dieser Genfamilie scheinen einen hohen Homologiegrad zueinander aufzuweisen, so daß in genomischen Southern Blots, unter Verwendung der vollständigen VLIG-1 cDNA oder Fragmente von dieser als Sonde, eine Zuordnung der detektierbaren Hybridisierungssignale die spezifisch für VLIG-1 sind nicht erfolgen konnte. Eine grobe Kartierung der genomischen Struktur von VLIG-1 war mittels dieser Methode daher nicht möglich.

Zur Vereinfachung der Analyse durch Verwendung kleinerer genomischer Fragmente wurde eine Bibliothek "bakterieller artifizierlicher Chromosomen" (BACs) der Firma Genome Systems, die bis zu 240 kb große Fragmente genomischer 129/sV Maus DNA enthalten, durch eine PCR-Analyse gesichtet (siehe Material und Methoden). Eine Southern Blot Analyse der verschiedenen als

³ Der Begriff Similarität bezieht sich hierbei auf die Verwendung identischer oder äquivalenter Aminosäuren an der jeweiligen Sequenzposition.

positiv getesteten BAC-DNAs ergab, daß alle BACs VLIG-1, bzw. mit einer VLIG-1 CDS Sonde kreuzhybridisierende Mitglieder der VLIG Familie enthielten (Abb. 12A). Ferner wurde, besonders in Restriktionsverdauen der BAC DNAs mit Enzymen die mehr als einmal innerhalb der VLIG-1 cDNA Sequenz schneiden, deutlich, daß alle BACs vermutlich mehr als ein Mitglied dieser Genfamilie trugen, da wesentlich mehr Hybridisierungssignale detektiert werden konnten als aus der VLIG-1 cDNA Sequenz vorhergesagt werden konnten (Abb. 12B).

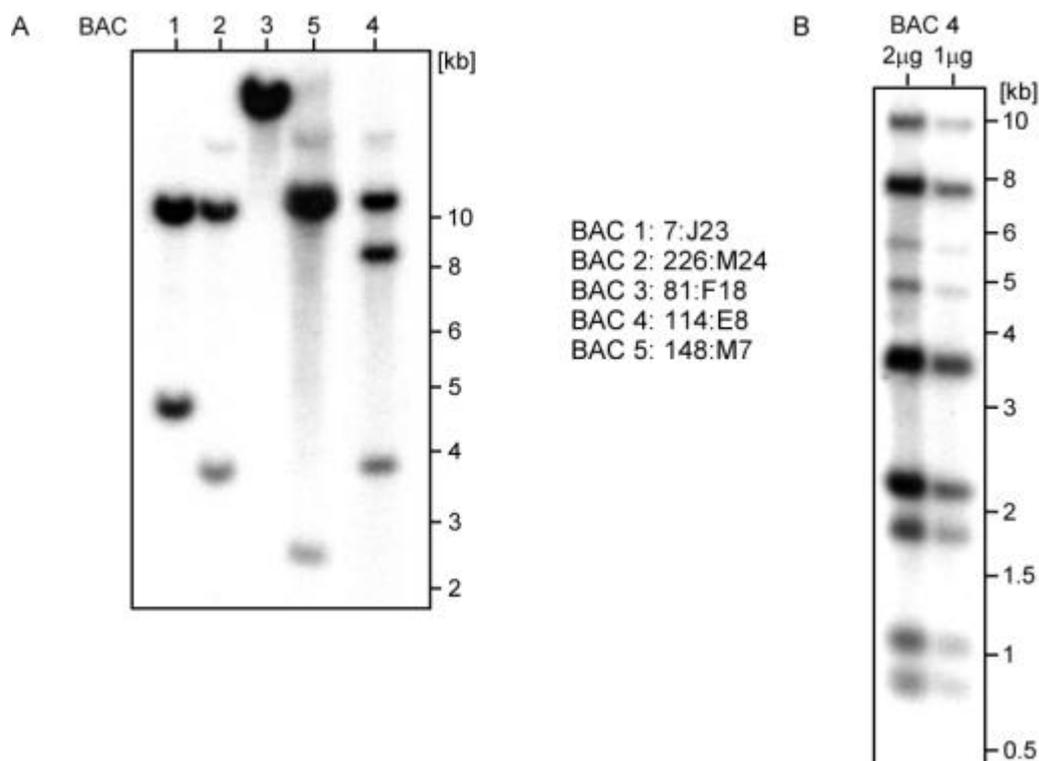


Abbildung 12. Southern Blot Analyse der BAC DNAs unter Verwendung der VLIG-1 CDS als Hybridisierungssonde. **A**, Restriktionsverdau von ca. 1 µg BAC DNA mit SpeI, das einmal innerhalb der VLIG-1 CDS schneidet. Erwartete Hybridisierungssignale: 2. **B**, Restriktionsverdau von ca. 2, bzw. 1 µg BAC 114:E8/19624 mit EcoRI, das die VLIG-1 CDS viermal schneidet. Erwartete Hybridisierungssignale: 5.

Eine PCR-Analyse der BACs mit aus der VLIG-1 cDNA Sequenz abgeleiteten Primern bestätigte diese Vermutung. So konnten mindestens vier verschiedene Mitglieder der VLIG-Genfamilie identifiziert werden, die in unterschiedlichen Kombinationen auf den BACs vorhanden waren. Zusätzlich konnten mehrere nicht-kodierende mit VLIG-1 sequenzverwandte Pseudogene entdeckt werden, die durch große Deletionen innerhalb der kodierenden Sequenz charakterisiert wurden. Die Analyse der BACs ließ zudem darauf schließen, daß Mitglieder der VLIG-Genfamilie, zumindest teilweise, als zusammenhängende Gengruppe, also gekoppelt vorliegen. Aufgrund der Existenz jeweils mehrerer mit VLIG-1 sequenzverwandter Gene auf den BACs war eine aussagekräftige Analyse der genomischen Struktur von VLIG-1 unter Verwendung der BACs nicht möglich.

Zur Vermeidung dieser Problematik wurden die verschiedenen BACs in Cosmide subkloniert (siehe Material und Methoden), um die unterschiedlichen VLIG-Gene zu separieren. Die Analyse der Cosmide erfolgte mit Hilfe von Southern Blots, PCRs und Sequenzierungen. Abbildung 13 gibt ein typisches Ergebnis einer Southern Blot Hybridisierung der Cosmide unter Verwendung der vollständigen VLIG-1 cDNA als Hybridisierungssonde wieder. Durch eine nachfolgende PCR-Analyse ausgewählter Cosmide mit VLIG-1 spezifischen Primern und Sequenzierung der amplifizierten Fragmente konnte gezeigt werden, daß die Subklonierung der BAC-DNA in Cosmide, teilweise zur gewünschten Separierung der verschiedenen VLIG-Gene führte.

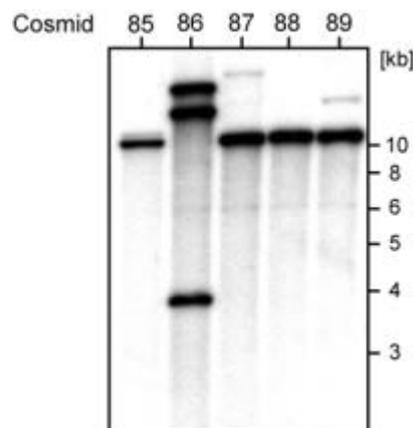


Abbildung 13. Southern Blot Analyse ausgewählter, mit SpeI geschnittener Cosmide unter Verwendung der vollständigen VLIG-1 cDNA als Hybridisierungssonde. Für den Restriktionsverdau wurden jeweils ca. 1 µg Cosmid-DNA eingesetzt. Die Cosmide entstammen von BAC 114:E8/19624

Die weitere Analyse der Cosmide mit aus 129/sV Mäusen stammender genomischer DNA wurde anschließend abgebrochen, da verschiedene Experimente zeigten, daß VLIG-1 ein polymorphes Gen repräsentiert und die 129/sV genomische DNA enthaltenden BACs somit sehr wahrscheinlich nicht das C57BL/6J VLIG-1 Gen besitzen (siehe Abschnitt 3.13).

Die genomische Struktur von VLIG-1 in C57BL/6J Mäusen wurde teilweise im Rahmen der Diplomarbeit von D. Schenk [457] durch Sequenzierung von C57BL/6J genomischer DNA tragenden BAC-Klonen, in Kombination mit Analysen genomischer DNA Datenbanken (Celera "Mouse Genome Database"; Mouse Genome Sequencing Consortium "Trace Archive") durchgeführt. Bei den Datenbankanalysen wurden ausschließlich Sequenzen berücksichtigt, die von C57BL genomischer DNA stammten.

Es zeigte sich, daß der VLIG-1 Genlocus insgesamt mindestens 26 kb umfaßt (die Sequenz von Intron 1 ist noch nicht vollständig bekannt) und aus vier Exons besteht (Abb. 14 und siehe Anhang). Die gesamte CDS inklusive der 3' UTR von VLIG-1 war dabei auf einem einzelnen,

sehr großen Exon von 8708 bp lokalisiert, dessen erste Nukleotide die putative Kozak-Sequenz bildeten, während die 5' UTR auf drei Exons von nur geringer Größe (54-139 bp) verteilt vorlag. Anhand der Exon-Intron Struktur von VLIG-1 wurde zudem deutlich, daß die unterschiedlich langen 5' UTRs von VLIG-1/Klon A und Klon B aufgrund alternativer Spleißvorgänge des primären RNA-Transkriptes (prä-mRNA) entstehen, wobei im Falle von Klon B Exon 1 direkt mit Exon 4 verbunden ist.

Im Gegensatz zu Intron 1 und Intron 3, die beide mehr als 6.7 kb umfaßten, war das zwischen Exon 2 und Exon 3 liegende Intron 2 nur 740 bp groß. Alle Exon-Intron Grenzen wiesen die typischen Sequenzmerkmale einer 5' GT-Spleiß-Donorstelle und einer 3' AG-Spleiß-Akzeptorstelle auf [491]. Mit Hilfe der Datenbank-Analysen konnte zudem nachgewiesen werden, daß VLIG-1 in der Maus auf Chromosom 7, Bande D2 lokalisiert ist.

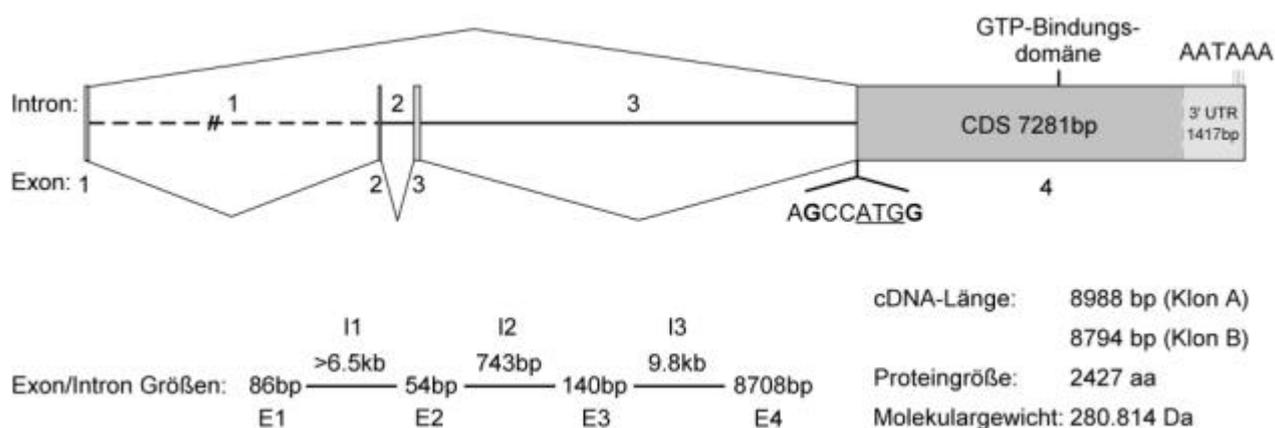


Abbildung 14. Schematische Darstellung der Genstruktur von VLIG-1. Die genomische Struktur wurde durch Sequenzierung von BACs mit genomischer DNA aus C57BL/6J Mäusen und durch Datenbank Analysen ermittelt. Intron 1 wurde noch nicht vollständig sequenziert. Die alternativen Spleißformen, Exon/Intron Größen, das vorhergesagte Start Kodon mit seiner umgebenden Kozak Sequenz, die putativen Polyadenylierungs Signalsequenzen (AATAAA) und die Position der GTP-bindenden Domäne sind angezeigt.

3.5 Identifikation und Sequenzanalyse der Promotorregion von VLIG-1

Durch die Sichtung der Celera Maus Genomdatenbank gelang es ebenfalls die putative Promotorregion von VLIG-1 zu identifizieren. Potentielle Promotormotive in der ca. 2 kb umfassenden Sequenz (siehe Anhang) wurden nachfolgend durch Verwendung diverser computergestützter Vorhersageprogramme und verschiedener Promotormotiv-Datenbanken identifiziert (Abb. 15).

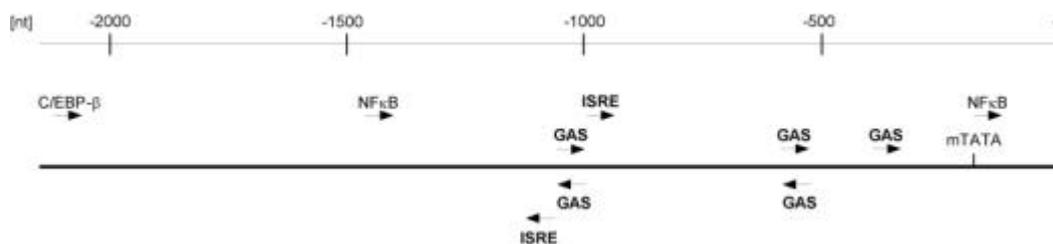


Abbildung 15. Schematische Darstellung der Promotorregion von VLIG-1. Die Sequenz der putativen VLIG-1 Promotorregion wurde anhand einer Sichtung der Celra Maus Genomdatenbank ermittelt und potentielle Promotormotive durch computerunterstützte Vorhersageprogramme (siehe Material und Methoden) identifiziert. Die Lage der Promotormotive auf dem kodierenden () oder nicht-kodierenden () Strang ist jeweils angegeben. -1 kennzeichnet das erste Nukleotid das stromaufwärts vom 5' Ende von Exon 1 liegt. Dargestellt sind ausschließlich Promotormotive die von Bedeutung innerhalb der transkriptionellen Regulation von Interferon-Antwortgenen sind.

Innerhalb der ersten ca. 1.1 kb der 5' flankierenden Sequenz von VLIG-1 Exon 1, ließen sich diverse putative Promotormotive identifizieren, die potentiell von Transkriptionsfaktoren gebunden werden, deren Beteiligung an der transkriptionellen Regulation von Interferon-Antwortgenen gezeigt wurde. Neben insgesamt fünf putativen GAS-Elementen, die als potentielle Bindungsstellen für Proteine der STAT-Familie fungieren können, wurden innerhalb dieser Region zusätzlich zwei putative ISRE-Elemente, als potentielle Bindungsstelle von Proteinen der IRF-Familie und ein NFκB ähnliches Promotormotiv identifiziert. Die Identität dieser putativen Transkriptionsfaktoren-Erkennungssequenzen zur jeweiligen Konsensussequenz betrug dabei mehr als 90%. Eine interessante Struktur wiesen die bei ca. -1050 lokalisierten GAS und ISRE Elemente auf, innerhalb einer kurzen Sequenzregion auf dem kodierenden und nicht-kodierenden Strang gespiegelt vorlagen. Weiter stromaufwärts liegende putative Promotormotive wurden von einer C/EBP-β und einer weiteren NFκB Erkennungssequenz gebildet. Eine TATA-Box ähnliche Struktur ("muscle TATA-Box") lokalisierte 68 nt stromaufwärts vom ersten Nukleotid des VLIG-1 Exons 1. Die Entfernung der putativen Promotorelemente vom vorhergesagten Transkriptionsstart waren insgesamt ungewöhnlich groß. Hierbei ist anzumerken, daß diese putative VLIG-1 Promotorregion nicht kloniert wurde und sich ihre Sequenz daher nicht überprüfbar war.

3.6 Identifikation und Aufbau der murinen C57BL/6J VLIG-Familie

Schon dieser Arbeit vorangegangene Analysen, sowie Untersuchungen zur genomischen Struktur von VLIG-1 (siehe Abschnitt 3.4) erbrachten Hinweise, daß es sich bei VLIG-1 um ein Mitglied einer mehrere Gene umfassenden Genfamilie handelt. Die Komplexität der Genfamilie in der

Maus wurde dabei teilweise im Rahmen der Diplomarbeit von D. Schenk untersucht [457] und soll hier nur kurz wiedergegeben werden.

Durch die Analyse diverser Datenbanken, die genomische DNA-Sequenzen oder Fragmente von cDNA Sequenzen ("expressed sequence tags", ESTs) enthielten, konnten mehrere hundert zu VLIG-1 homologe oder identische Sequenzfragmente identifiziert werden. Unter ausschließlicher Berücksichtigung von Fragmenten deren genetischer Hintergrund C57BL/6J war, wurden insgesamt 130 ESTs und 117 genomische Fragmente ermittelt (Stand: August 2001). Die identifizierten ESTs entstammten dabei zu 80% aus Zelltypen des Immunsystems (Makrophagen, T-Zellen) oder Geweben, wie Milz, Thymus und Lymphknoten, die von hämatopoetischen Zellen dominiert werden. Die verbleibenden ESTs stammten größtenteils aus der Brustdrüse.

Unter Einbezug weiterer partieller Sequenzen, die anhand von Analysen C57BL/6J genomischer DNA enthaltender BAC- oder P1-Klone erhalten wurden, konnten mehrere sogenannte "Contigs", d.h. Einzelsequenzen die durch partielle Sequenzüberlappungen zu einer gemeinsamen Konsensussequenz zusammengefaßt werden konnten, erstellt werden [457]. Die Mindestanzahl von Mitgliedern der VLIG-Familie ließ sich anhand der größten Anzahl unterschiedlicher "Contigs", die homolog zu einem bestimmten Bereich der VLIG-1 cDNA Sequenz waren, abschätzen. Es konnte gezeigt werden, daß mindestens 11 unterschiedliche Mitglieder der VLIG-Familie im C57BL/6J Mausstamm existieren, die auf Nukleotidebene mit 80-90%iger Identität einen hohen bis sehr hohen Homologiegrad zueinander aufwiesen.

Hierbei ist jedoch zu anzumerken, daß "Contigs" die nur aus genomischen Sequenz-Fragmenten zusammengefügt wurden mglw. VLIG-Pseudogene repräsentierten die nicht-kodierend sind. Die minimale Anzahl exprimierter Mitglieder der C57BL/6J VLIG-Familie reduzierte sich daher auf neun Mitglieder. Die vorhandene Sequenzinformation der mit VLIG-1 sequenzverwandten Familienmitglieder deutete daraufhin, daß sie vermutlich ebenfalls von intronlosen Genen kodiert werden, die eine zu VLIG-1 ähnliche Größe aufweisen [457].

Durch die Analyse einer murinen Genom Datenbank (<http://mouse.ensembl.org>) konnte zudem für einen Großteil der VLIG-Familienmitglieder nachgewiesen werden, daß sie auf Chromosom 7, Bande D2 gekoppelt in einem Gencluster vorliegen.

Einige der erstellten "Contigs" lagen innerhalb des Sequenzbereiches von VLIG-1 der für die GTP-bindende Domäne kodiert. Die Vorhersage der Proteinsequenz dieser "Contigs" zeigte, daß auch sie die kanonischen G1 - und G3-Motive mit identischer Sequenz zu VLIG-1 kodieren. Ein signifikanter Unterschied der Nukleotidsequenz von VLIG-1 zu denen der "Contigs" war, daß

VLIG-1 eine in nahezu allen "Contigs" in identischer oder sehr ähnlicher Form vorliegende Insertion von 9 bp (beginnend an Nukleotid-Position 4475 der vollständigen VLIG-1 cDNA) fehlte [457]. Aufgrund dieser Insertion konnten Sequenz-Primer generiert werden, durch die eine spezifische Unterscheidung zwischen VLIG-1 und anderen Mitgliedern der VLIG-Familie ermöglicht wurde.

Im Rahmen der Sichtung der aus IFN- γ stimulierten Zellen generierten SSH- oder λ -cDNA-Bibliotheken konnte keines dieser VLIG-1 ähnlichen Transkripte identifiziert werden. Ebenso war es nicht möglich die Expression dieser VLIG-1 Homologe mittels PCR-Analysen unter Verwendung spezifischer Primer (siehe oben) und der aus IFN- γ stimulierten EF, oder einer aus unstimulierten dendritischen Zellen (DC) stammenden λ -cDNA-Bibliothek nachzuweisen. In Abbildung 16 ist ein Beispiel dieser Analysen wiedergegeben. Während VLIG-1 auch in hohen Verdünnungen der EF λ -cDNA-Bibliothek nachgewiesen werden konnte, war dies für ein als VLIG-2 bezeichnetes Mitglied der VLIG-Familie, von dem annähernd 5 kb Sequenzinformation vorlagen [457] und das ebenfalls die signifikante 9 bp Insertion besaß, auch in der geringsten Verdünnung nicht möglich. Interessanterweise konnte ein VLIG-1 spezifisches Fragment auch in nicht-stimulierten DC amplifiziert werden, wobei die Quantität des Amplifikations-Produktes, bei gleicher Menge der eingesetzten Matrize, in stimulierten Fibroblasten und nicht-stimulierten DC annähernd dieselbe war, was auf eine erhöhte Expression von VLIG-1 in DC hindeutete. VLIG-2 konnte hingegen auch in der DC λ -cDNA Bibliothek nicht entdeckt werden.

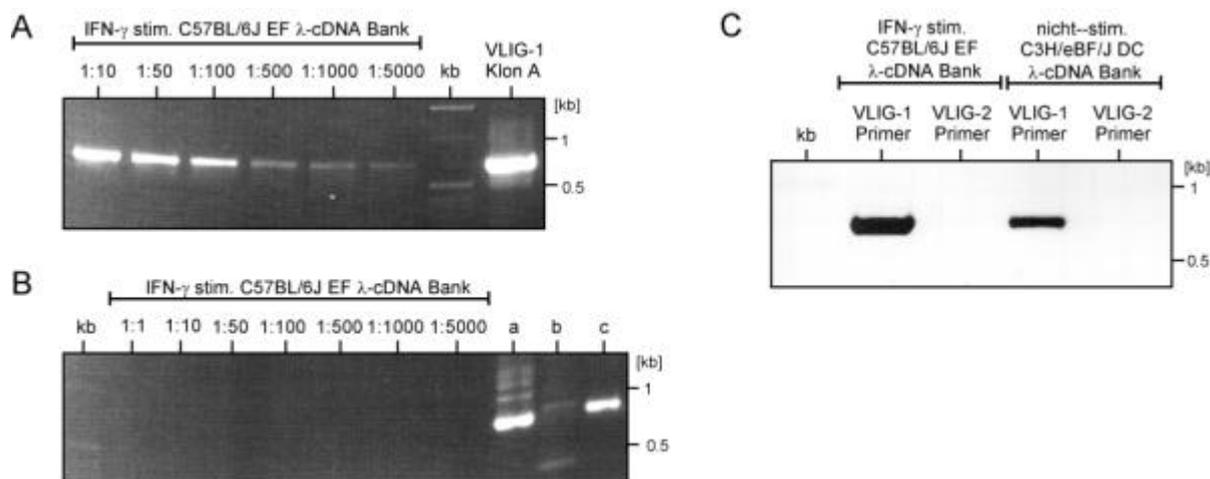


Abbildung 16. **A**, PCR-Analyse der λ -cDNA Bank aus IFN- γ stimulierten C57BL/6J EF mit VLIG-1 spezifischen Primern. **B**, PCR-Analyse der λ -cDNA Bank aus IFN- γ stimulierten C57BL/6J EF mit VLIG-2 spezifischen Primern. a = VLIG-2 Plasmid + VLIG-2 Primer; b = VLIG-2 Plasmid + VLIG-1 Primer; c = EF λ -cDNA Bank+VLIG-1 Primer. **C**, PCR-Analyse der λ -cDNA Bank aus nicht-stimulierten C3H/eBF/J DC mit VLIG-1 und VLIG-2 spezifischen Primern. Als Matrize wurde jeweils eine λ -cDNA Bank Menge eingesetzt die 6.3×10^6 PFU/ μ l, bzw. den angegebenen Verdünnungen davon entsprach. Das spezifische Primerpaar für VLIG-1 war 4244/SP1 und für VLIG-2 2GInsU/SP1. Als Spezifitätskontrolle diente die Amplifikation von rekombinanten Plasmiden, die die vollständige VLIG-1 cDNA, bzw. Fragmente von VLIG-2 trugen. Zusätzlich ist jeweils ein DNA-Größenmarker gezeigt.

Es gelang jedoch ein spezifisches VLIG-2 Fragment in einer 3'-RACE Erststrang cDNA-Bank aus IFN- γ stimulierten C57BL/6J EF (siehe Material und Methoden) zu amplifizieren (hier nicht gezeigt). Die Menge des PCR-Produktes war nach zwei aufeinanderfolgenden Amplifikationsrunden mit einer Gesamtzahl von 60 Zyklen jedoch so gering, daß es nur mit Hilfe einer Southern Blot Analyse detektierbar war. Daher war nicht völlig auszuschließen das geringfügigste Kontaminationen genomischer DNA innerhalb dieser Erststrang cDNA-Bank als Matrize für die beobachtete Amplifikation des VLIG-2 Fragmentes dienten und es sich somit nicht um eine sehr niedrige konstitutive Expression von VLIG-2 in Fibroblasten handelt.

Da ein Großteil der zu VLIG-1 identischen oder homologen ESTs aus Geweben stammte, die von hämatopoetischen Zellen dominiert werden, wurde ferner eine Milz Erststrang cDNA-Bank (siehe Material und Methoden) nach dem Vorhandensein von VLIG-1 und VLIG-2 spezifischen Transkripten durch eine RT-PCR-Analyse gesichtet. Sowohl VLIG-1 als auch VLIG-2 spezifische Fragmente konnten amplifiziert werden (Abb. 17), wobei eine nachfolgende Sequenzierung der Fragmente ihre Sequenzidentität zu VLIG-1, bzw. VLIG-2 bestätigte. Die PCR-Produktmenge war unter identischen Bedingungen für VLIG-1 und VLIG-2 annähernd gleich, so daß davon ausgegangen werden kann, daß VLIG-1 und VLIG-2 in den selben oder verschiedenen, jedoch nicht näher identifizierten Zellen der Milz mit einem vergleichbaren Niveau konstitutiv exprimiert werden.

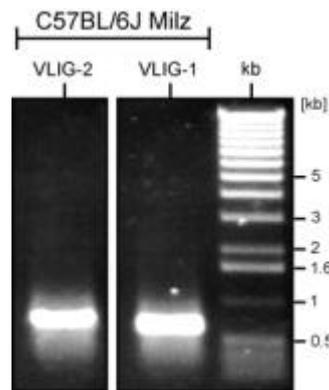


Abbildung 17. PCR-Analyse der Expression von VLIG-1 und VLIG-2 in der Milz von C57BL/6J Mäusen. Als Matrize diente eine Erststrang cDNA Bank die aus mRNA der Milz generiert wurde. Als VLIG-2 spezifisches Primerpaar diente 2GInsU/SP1. Zur Amplifikation eines VLIG-1 spezifischen Fragmentes wurde das Primerpaar 4244/SP1 verwendet.

Die erzielten Resultate deuteten somit daraufhin, daß VLIG-1 mglw. das einzige Mitglied der VLIG-Genfamilie repräsentiert, das durch IFN- γ in EF induziert werden kann und somit ein Bestandteil der Antwort dieser Zellen auf IFN- γ ist.

3.7 Identifikation und Sequenzanalyse eines humanen Homologes von VLIG-1

Hinweise auf die Existenz eines humanen Homologes von VLIG (hVLIG) wurden einerseits durch die PCR-Analyse humaner genomischer DNA und andererseits durch die Untersuchung von humanen EST-Datenbanken erhalten. Unter Verwendung Maus VLIG-1 (mVLIG-1) spezifischer Primer konnte ein ca. 850 bp großes Fragment aus der genomischen DNA von humanen C1R Zellen amplifiziert werden, dessen Nukleotidsequenz zu 82% und dessen vorhergesagte Aminosäuresequenz zu 73% identisch mit der des entsprechenden Bereiches (Aminosäureposition 1252-1534) von mVLIG-1 war (Abb. 18).

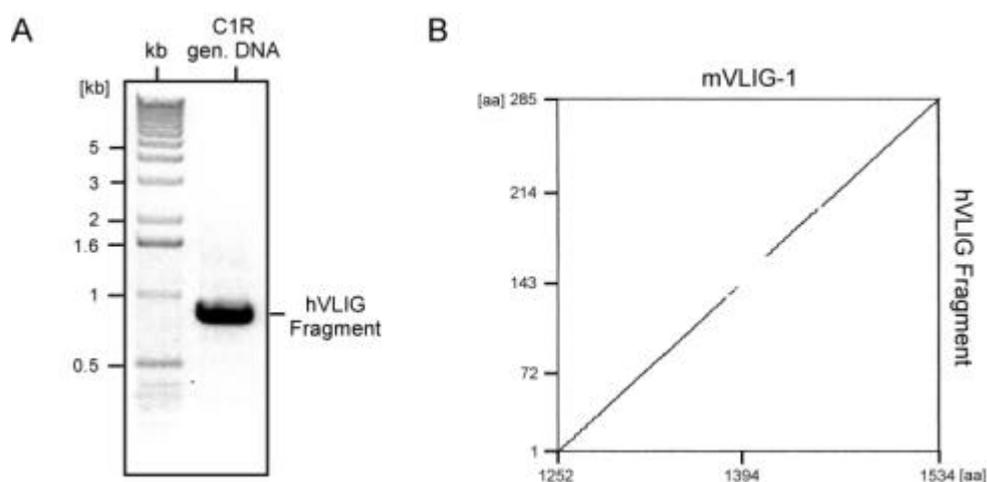


Abbildung 18. **A**, PCR-Analyse humaner genomischer DNA mit dem Primerpaar BU766/SP3. 5 μ l des Amplifikations-Produktes wurden auf einem 1%igen Agarosegel elektrophoretisch aufgetrennt. **B**, Dot Plot Vergleich der vorhergesagten Aminosäuresequenz des PCR-Produktes mit dem entsprechenden Bereich der mVLIG-1 Proteinsequenz. Die Fenstergröße betrug 30 aa, die Stringenz der Identität wurde auf 50% festgelegt.

Durch die Analyse der humanen EST-Datenbank konnten insgesamt acht cDNA Fragmente identifiziert werden die mit mVLIG-1 sequenzverwandt waren (siehe Tabelle 4). Ähnlich wie bei der Maus stammten diese ESTs größtenteils aus immunologisch relevanten Zellen oder Geweben, bzw. im Falle der Placenta aus einer "immunologisch privilegierten Region" [337].

GenBank Nr.	Gewebe oder Zell-Linie	Position innerhalb der aa-Sequenz von mVLIG-1	Identität/Ähnlichkeit zu mVLIG-1 in %
AW405524	Keimzentrum B-Zellen	2192-2346	70/82
AA311788	Jurkat T-Zellen	2355-2427	75/81
AU155698	Placenta	2367-2427	72/78
AU134885	Placenta	1813-2048	55/71
AK023435 ⁴	Placenta	1813-2427	64/76
AA311234	Jurkat T-Zellen	(3' UTR)	-
AW656364	karzinoide Lunge	(3' UTR)	-
BI359647	Lymphknoten	(3' UTR)	-

Tabelle 4. Zu mVLIG-1 homologe humane ESTs. Als Suchprogramm diente Tblastn und Blastn unter Verwendung der vorhergesagten Aminosäure-Sequenz von mVLIG-1, bzw. der vollständigen mVLIG-1 cDNA Sequenz. Identität/Ähnlichkeit bezieht sich auf die Aminosäure-Sequenz von mVLIG-1.

Mit Hilfe der vor kurzem veröffentlichten humanen Genomsequenz [492, 493] konnte schließlich die vollständige genomische Sequenz eines humanen Homologes von mVLIG-1 (oder eines anderen Mitgliedes der Maus VLIG-Familie⁵) ermittelt werden, das auf Chromosom 11, Bande p15+4 lokalisiert ist (Abb. 19). Weitere in dieser Region des humanen Chromosom 11 lokalisierte Gene sind das mitochondriale ribosomale Protein L17 (MRP-L17, auch als MRP-L26 bezeichnet)

⁴ Identisch mit NM025006, XM018090, dem "unnamed protein product BAB14573" und dem "hypothetischem Protein FLJ13373".

⁵ Aufgrund fehlender Sequenzinformationen von anderen Mitgliedern der Maus VLIG-Familie, konnte nicht eindeutig bestimmt werden, ob es sich bei hVLIG tatsächlich um ein Homolog von mVLIG-1 handelte. Die vorhandenen Sequenzinformationen deuteten jedoch darauf hin.

(Y. Peng, 2000, nicht veröffentlicht) und der zur G-Protein gekoppelte Rezeptor-Familie gehörende olfaktorische Rezeptor, Familie 6, Subfamilie A, Mitglied 1 (OR6A1) [494, 495].

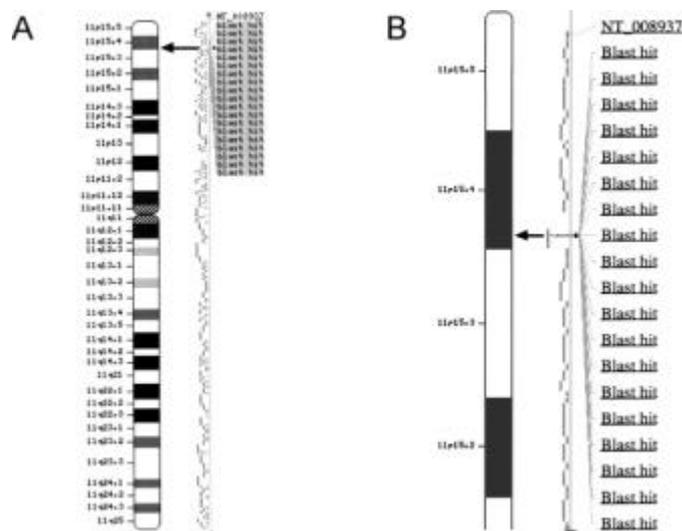


Abbildung 19. Chromosomale Lokalisierung von hVLIG-1. **A**, Schematische Gesamtübersicht des humanen Chromosom 11. **B**, Ausschnittvergrößerung des distalen Endes des humanen Chromosom 11. Die Position von hVLIG-1 in der Bande p15+4 ist jeweils durch Pfeile angezeigt.

Im Unterschied zu der über das "National Center for Biotechnology Information" (NCBI) zugänglichen Datenbank des "International human genome sequencing consortium" (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) war die Celera Genomdatenbank (<http://www.celera.com>) nur eingeschränkt analysierbar. So ließ sich der genomische Kontext eines Gens, wie z.B. dessen Promoter-Region oder 3' und 5' UTRs nicht bestimmen. Zudem wurden keine Hinweise über mögliche Einzel-Nukleotid Polymorphismen (SNP) gegeben. Anzumerken ist auch, daß in beiden Datenbanken nicht die vollständige humane Genomsequenz vorliegt, sondern nur Sequenz-Contigs zwischen denen Sequenzlücken unbestimmter Größe existieren.

Analysen der NCBI-Datenbank durch das Programm Tblastn (Vergleich einer Proteinsequenz mit einer in allen Leserastern translatierten Nukleotidsequenz-Datenbank) unter Verwendung der vollständigen Proteinsequenz von mVLIG-1 zeigten, daß Contig NT_009325 des Chromosoms 11 eine durchgehende Sequenzinformation trug, in der sämtliche identifizierte ESTs sowie das PCR-Fragment mit 98-100%iger Identität lokalisierten. Die identifizierte Sequenz (siehe Anhang) verlief dabei kolinear zum VLIG-1 Protein und wies einen hohen Homologiegrad zu diesem auf. Bei genauerer Analyse stellte sich jedoch heraus, daß die Proteinsequenz einerseits von verschiedenen Leserastern kodiert wurde und diese andererseits durch Stopp-Kodons unterbrochen waren. Eines dieser Leseraster war potentiell kodierend für ein Proteinfsegment das dem mVLIG-1 Protein beginnend vom Nterminalen Ende bis zur Aminosäure an Position 74

entsprach und anschließend durch ein Stopp-Kodon vorzeitig terminiert wurde. Dieses Fragment war auf Aminosäureebene zu 66% identisch, bzw. zu 80% ähnlich mit der entsprechenden Sequenzregion des mVLIG-1 Proteins und auf Nukleotidebene zu 72% identisch. Überlappend mit diesem Leseraster war ein zweites, potentiell kodierendes Leseraster, das mit dem mVLIG-1 Protein, beginnend von dessen Aminosäure an Position 77 bis zum C-terminalen Ende zu 67% identisch und zu 80% ähnlich war. Die Identität auf Nukleotidebene betrug 77%. Die Leserasterverschiebung auf der Ebene der humanen genomischen DNA wurde hervorgerufen durch eine Deletion von 14 nt (die Größe der Deletion variierte je nach der verwendeten Sequenzvergleichsmethode) (siehe Anhang). Anhand der Celera-Genomdatenbank ließ sich diese Sequenzinformation aus den zuvor genannten Gründen nicht überprüfen. Das zweite Leseraster bildete jedoch ebenfalls kein durchgehendes Leseraster, da durch einen Einzelbasenaustausch (G→A) an der Nukleotidposition 1715 (in Bezug auf die CDS von mVLIG-1) ein vorzeitiges Stopp-Kodon in der humanen Sequenz inseriert war (Maus: TGG, Mensch: TAG) (siehe Anhang). Dieser Einzelbasenaustausch ließ sich durch die Celera-Genomdatenbank (Gen-Identifikationsnummer: hCG1643360) bestätigen. Demnach lag auf Ebene der humanen genomischen DNA zwar eine Nukleotidsequenz vor, die homolog zur gesamten CDS von mVLIG-1 war, aufgrund der vorhandenen Deletion und des Einzelbasenaustausches jedoch für ein putatives hVLIG-1 Protein kodierte, das in spezifischen Bereichen divergent zum mVLIG-1 Protein und sein mußte.

Unter Verwendung von Programmen zur Vorhersage putativer ORFs wurde in der Celera-Genomdatenbank eine mRNA (hCT1643487) und Proteinsequenz (hCP1618216) von hVLIG postuliert. Demnach würde die CDS von hVLIG 6345 bp, lokalisiert auf vier Exons, umfassen und ein Protein von 2115 aa kodieren (siehe Anhang). Diese Vorhersage erschien jedoch aus mehreren Gründen als zweifelhaft. Zum einen war das vorhergesagte Start-Kodon nicht in eine Kozak-Sequenz eingebettet und zum anderen waren die postulierten Exon-Intron Grenzen, die zwar der GT-AG Regel folgten, recht willkürlich gewählt. So würde gemäß der Celera Vorhersage Exon 4 nur aus 12 bp bestehen. Ein wesentlich gewichtiger Grund war jedoch, daß der von Celera postulierte C-terminale Bereich des Proteins nicht mit der aus den humanen ESTs abgeleiteten Aminosäure-Sequenz, bzw. nicht mit der Sequenz des "hypothetischen Proteins FLJ13373" (siehe Tabelle 4), das gesicherte Erkenntnisse für die Sequenz des C-terminalen Endes liefert, übereinstimmte. Hervorgerufen wurde diese Divergenz durch eine Leserasterverschiebung aufgrund der Insertion eines zusätzlichen Nukleotides nach Position 4904 (in Bezug auf die CDS von mVLIG-1) in der Celera Sequenz, die nicht durch die aus der NCBI Datenbank des humanen Genoms stammenden Sequenz bestätigt werden konnte.

Daher wurde eine eigene, alternative Vorhersage der Proteinsequenz und Genstruktur von hVLIG angefertigt, deren postulierte Sequenz im Anhang der vorliegenden Arbeit wiedergegeben ist.

Die Vorhersage beruhte hierbei auf den Überlegungen, daß das putative hVLIG Protein in einem möglichst großen Sequenzbereich homolog zu mVLIG-1 und putative Start-Kodon in eine Kozak-Sequenz eingebettet sein sollten. Ferner wurde berücksichtigt das u.U. einzuführende Introns der GT-AG Regel an ihren Grenzen folgten. Das derart vorhergesagte hVLIG Protein wurde von drei Exons mit insgesamt 7122 nt gebildet, die für ein Protein von 2374 aa kodierten, dessen N-terminales, sowie C-terminales Ende mit dem von mVLIG-1 übereinstimmte. Die Identität dieses postulierten hVLIG-1 Proteins zu mVLIG-1 betrug 66% und die Ähnlichkeit 79% (Abb. 20).

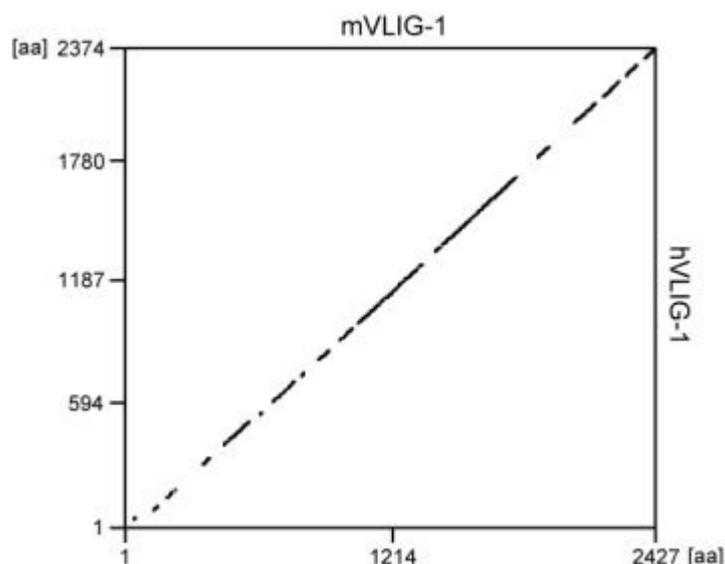


Abbildung 20. Dot Plot Vergleich der Aminosäuresequenz von mVLIG-1 und dem vorhergesagtem humanem VLIG-1 (hVLIG-1). Die Fenstergröße betrug 30 aa, die Stringenz der Identität wurde auf 20 aa (= 66%) festgelegt. Die N-Termini befinden sich unten links.

Gesicherte Erkenntnisse über die Struktur und Sequenz des hVLIG-1 Gens, bzw. Proteins lassen sich jedoch erst nach der Isolierung der vollständigen cDNA dieses Gens bestimmen. Es erscheint aber als sehr wahrscheinlich, daß hVLIG-1 nicht von einem intronlosem Gen kodiert wird und ein geringeres Molekulargewicht als mVLIG-1 aufweist, jedoch ebenfalls eine GTP-Bindungsdomäne besitzt, wobei gerade diese Sequenzregion zwischen Maus und Mensch hoch konserviert vorliegen könnte. So war eine Sequenzregion von 163 aa (Aminosäure Position 1443-1606 in mVLIG-1) in dem die G1- und G3-Motive von mVLIG-1 und dem postulierten hVLIG eingebettet waren, zu 83% identisch und zu 95% ähnlich (siehe Anhang).

Innerhalb des Contigs NT_009325 konnte noch eine weitere Sequenzregion identifiziert werden die eine signifikante Homologie mit der Sequenz von mVLIG-1 aufwies. Diese Region war

jedoch nur unvollständig sequenziert und wurde infolgedessen durch eine Sequenzlücke unbekannter Größe unterbrochen (daher hier nicht gezeigt). Die bereits bekannte Sequenz beinhaltete über ihre gesamte Länge und in allen Leserastern eine Vielzahl von Stopp-Kodons, Insertionen, Deletionen und Leserasterverschiebungen, so daß diese genomische Sequenzregion vermutlich nicht für ein Protein kodierend ist und ein Pseudogen darstellt. Die Analyse der Celera-Datenbank lieferte ebenfalls Hinweise auf die Existenz weiterer zu mVLIG-1 homologer Sequenzregionen innerhalb des humanen Genoms. Diese waren jedoch ebenfalls nur bruchstückhaft sequenziert und nicht zu einer durchgehenden Contig-Sequenz zusammengefügt. Inwiefern es sich dabei um denselben Sequenzbereich wie in Contig NT-009325 handelte ließ sich nicht bestimmen, da die jeweiligen Sequenzfragmente nicht überlappend waren.

Die Suche nach weiteren humanen Homologen von mVLIG-1 führte zur Identifizierung des KIAA1507 Proteins (GenBank Nr.: BAA96031) als dem nächsten Verwandten von mVLIG-1. Dieses Protein unbekannter Funktion, dessen Start-Kodon bisher noch nicht identifiziert wurde, war über eine Länge von 872 aa zu 28% identisch und zu 49% ähnlich mit mVLIG-1. Ein Dot Plot Vergleich beider Proteine ist in Abbildung 21 dargestellt. KIAA1507, das im Rahmen einer Suche nach unbekanntem, im Gehirn exprimierten humanen Genen entdeckt wurde [496], besitzt ebenfalls eine GTP-Bindungsdomäne, wobei in dieser Sequenzregion die größte Homologie zu mVLIG-1 nachgewiesen werden konnte. Ein Vergleich zwischen KIAA1507 und dem hVLIG Protein wurde nicht durchgeführt, da die vorhergesagte Proteinsequenz von hVLIG als zu spekulativ erachtet wurde. Ein Vergleich von mVLIG-1 mit dem murinen Homolog von KIAA1507 konnte ebenfalls nicht durchgeführt werden, da dessen Sequenz nicht bekannt war und nur einige mit KIAA1507 homologe ESTs identifiziert werden konnten, die sich jedoch nicht zu einer vollständigen Sequenz zusammenfügen ließen.

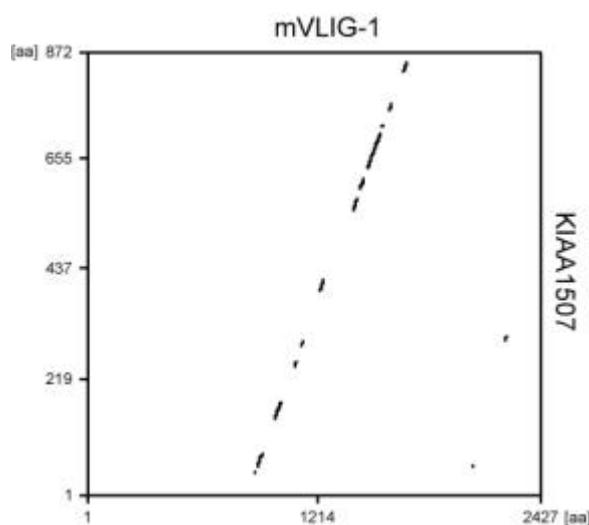


Abbildung 21. Dot Plot Vergleich zwischen der Aminosäuresequenz von humanem KIAA1507 und mVLIG-1. Die Fenstergröße betrug 30 aa, die Identität wurde auf 33% festgelegt. Die N-Termini der Sequenzen befinden sich unten links in den Diagrammen, mVLIG-1 ist auf der Abszisse dargestellt.

3.8 Identifikation und Sequenzanalyse von VLIG-1 Homologen in anderen Vertebraten

ESTs die mit VLIG-1 sequenzverwandte Gene repräsentierten, konnten neben der Maus und dem Menschen noch in anderen Organismen identifiziert werden. Tabelle 5 gibt eine Übersicht über die identifizierten Fragmente, deren Gewebeherkunft leider nicht näher spezifiziert war.

GenBank-Nr.	Organismus	Position innerhalb der Aminosäuresequenz von VLIG-1	Identität/Ähnlichkeit zu VLIG-1 in %
AI012016	Ratte	2008-2172	82/90
BF287794	Ratte	(3' UTR)	-
H35128	Ratte	(3' UTR)	-
C06645	Ratte	(3' UTR)	-
BE479845	Rind	1028-1187	68/80
AW479067	Rind	2350-2427	67/81
AW446830	Rind	370-497	58/77
AW336641	Rind	143-232	51/65
AW656364	Rind	1440-1613	37/64
BI359647	Schwein	1703-1848	69/86
BI359652	Schwein	1754-1835	67/81
AF102505	Schwein	1325-1388	62/71
BI359650	Schwein	1730-1835	52/66
BF199207	Schwein	1488-1679	33/57
BG022296	Krallenfrosch	2358-2427	64/82
BG407137	Krallenfrosch	1469-1589	59/80
BG407378	Krallenfrosch	434-578	41/61
BG018901	Krallenfrosch	1935-2098	33/53
AW018522	Zebrafisch	973-1151	46/66
AW454996	Zebrafisch	2269-2426	45/56
AW018923	Zebrafisch	1722-1895	39/69
BF717853	Zebrafisch	1722-1891	36/63
AI497127	Zebrafisch	2113-2242	39/59

Tabelle 5. Zu VLIG-1 homologe ESTs aus verschiedenen Spezies. Als Suchprogramm diente TBastn, unter Verwendung der vorhergesagten Aminosäuresequenz von VLIG-1.

VLIG-1 Homologe ließen sich sowohl in evolutionär näher mit der Maus verwandten Spezies, wie der Ratte (*Rattus norvegicus*), dem Rind (*Bos taurus*) und dem Schwein (*Sus scrofa*), als auch in entfernter verwandten Organismen, wie dem Krallenfrosch (*Xenopus laevis*) oder dem Zebrafisch (*Danio rerio*) nachweisen. Mit VLIG-1 sequenzverwandte ESTs im Huhn (*Gallus gallus*) wurden hingegen nicht identifiziert.

Inwiefern die identifizierten ESTs Homologe von VLIG-1 oder von anderen Mitgliedern der Maus VLIG-Familie repräsentieren und ob in diesen Spezies eine VLIG-Genfamilie existiert, konnte anhand der verfügbaren geringen Sequenzinformationen nicht festgestellt werden.

In Nicht-Vertebraten wie der Fruchtfliege (*Drosophila melanogaster*), dem Fadenwurm (*Caenorhabditis elegans*) oder der Hefe (*Saccharomyces cerevisiae*) ließen sich hingegen weder auf Transkript-, noch auf genomischer Ebene mit VLIG-1 sequenzverwandte Gene oder Genfragmente identifizieren.

Durch die Analyse der genomischen DNA Datenbank der Ratte gelang es, die vollständige CDS des Ratten VLIG-1 Homologes (rVLIG) zu ermitteln (siehe Anhang).

Die ebenfalls intronlose CDS umfaßte 7335 Nukleotide, die für ein Protein von 2445 aa mit einem Molekulargewicht von 282515 Dalton kodierten. Die Proteinsequenz von rVLIG war zu 84% identisch und zu 91% ähnlich mit der von mVLIG-1 (Abb. 22), und enthielt ebenso wie dieses eine GTP-Bindungsdomäne als einziges erkennbares strukturelles Motiv, die in beiden Spezies hochkonserviert vorlag. Im Unterschied zum mVLIG-1 Protein besaß das Homolog der Ratte eine C-terminale Extension von 16 aa.

Ferner konnten Hinweise gefunden werden, daß auch die Ratte auf genomischer Ebene mehr als nur ein mit VLIG-1 sequenzverwandtes Gen besitzt. Inwiefern dieses jedoch auch exprimiert wird, ließ sich nicht feststellen, da keine mit diesem Gen korrespondierende ESTs identifiziert wurden. Unter Verwendung der 5' UTR Sequenz von mVLIG-1 als Suchmotiv ließen sich keine damit verwandten Sequenzen in der genomischen DNA Datenbank der Ratte identifizieren.

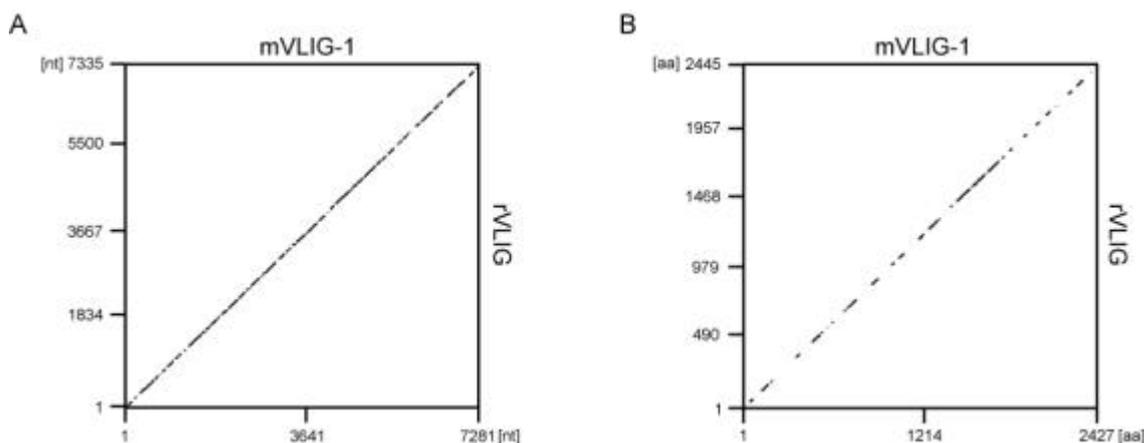


Abbildung 22. Dot Plot Vergleich zwischen mVLIG-1 und dem VLIG Homolog der Ratte. **A**, Dot Plot Vergleich der Nukleotidsequenz der jeweiligen CDS. **B**, Dot Plot Vergleich der vorhergesagten Aminosäuresequenz von mVLIG-1 mit dem VLIG Homolog der Ratte. Die Fenstergröße betrug jeweils 30 nt, bzw. 30 aa und die Identitätsstringenz wurde auf 90% festgelegt. Die 5' Enden, bzw. N-Termini befinden sich unten links in den Diagrammen, mVLIG-1 ist auf der Abzisse dargestellt.

Durch die Analyse der genomischen DNA Datenbank des Zebrafisches gelang es bisher ca. 673 aa vom C-terminalen Ende des Zebrafisch VLIG-1 Homologes vorherzusagen (siehe Anhang). Dieses Sequenzfragment war zu der korrespondierenden Sequenzregion des mVLIG-1 Proteins zu 30% identisch und zu 62% ähnlich, beinhaltete jedoch noch eine Sequenzlücke von ca. 20 aa. Die Existenz von Introns in diesem Teil der CDS des Zebrafisch VLIG-1 Homologes konnte nicht ausgeschlossen werden, erschien anhand der ermittelten Daten jedoch als unwahrscheinlich. Die Analyse der genomischen DNA Datenbank des Zebrafisches zeigte zudem, daß auf genomischer Ebene mindestens vier unterschiedliche mit VLIG-1 sequenzverwandte Gene existieren, die jedoch mglw. Pseudogene repräsentieren.

3.9 Charakterisierung der konstitutiven VLIG-1 Expression in verschiedenen Geweben

Zur Bestimmung der konstitutiven Expression von VLIG-1 wurden Northern Blot Analysen unter Verwendung verschiedener Gewebe der Maus durchgeführt (Abb. 23). Zu diesem Zweck wurde ein kommerziell erhältlicher Blot der Firma Ambion verwendet, der laut Herstellerangaben mit jeweils 2 µg poly(A) RNA pro Gewebe, die von nicht-induzierten Swiss Webster Mäusen isoliert wurden, beladen war.

Es konnte festgestellt werden, daß VLIG-1 im Vergleich zu GAPDH allgemein nur äußerst schwach konstitutiv exprimiert wurde, da die Autoradiographie von VLIG-1, bei gleicher spezifischer Aktivität der eingesetzten Hybridisierungssonde, ca. 400x länger exponiert werden mußte, um annähernd gleiche Signalintensitäten wie von GAPDH zu erreichen. Die höchsten

basalen Expressionsraten von VLIG-1 ließen sich in Lunge, Herz, Thymus und Milz, gefolgt von Leber, Eierstock, Niere und Gehirn feststellen. Die konstitutive VLIG-1 Expression im Hoden war sehr niedrig und in embryonalem Gewebe gar nicht nachweisbar.

Ferner zeigte sich, daß die Expressionsrate des "Haushalt"-Gens GAPDH in verschiedenen Geweben sehr unterschiedlich war, wie es auch schon zuvor beschrieben wurde [497, 498]. Daher konnte GAPDH nicht als Beladungskontrolle, bzw. als Standard zur Abschätzung der basalen VLIG-1 Expressionsraten herangezogen werden. Die Einschätzung der konstitutiven VLIG-1 Expressionsraten bezog sich daher ausschließlich auf die vom Hersteller garantierte, gleichmäßige Beladung des Northern Blots. Die erzielten Ergebnisse konnten durch eine Northern Blot Analyse eines weiteren Gewebe-Blots der selben Firma bestätigt werden.

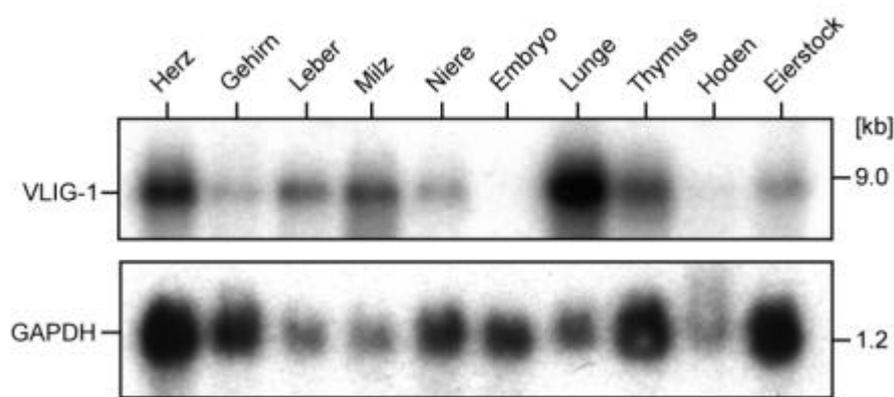


Abbildung 23. Northern Blot Analyse der konstitutiven Expression von VLIG-1 in unterschiedlichen Geweben der Maus. Die vollständige VLIG-1 cDNA diente als Hybridisierungssonde. Pro Spur wurden 2 µg poly(A) RNA, isoliert aus verschiedenen Geweben von Swiss Webster Mäusen gemischten Geschlechtes, aufgetragen. Die Expositionszeiten der Autoradiographen sind nicht identisch. So wurde VLIG-1 mehr als 400x länger exponiert als GAPDH.

3.10 *In vivo* Induktion von VLIG-1 in der Leber *Listeria monocytogenes* infizierter Mäuse

Zum Studium der IFN- γ abhängigen Induktion von VLIG-1 *in vivo* wurden verschiedene Mausstämme mit dem fakultativ intrazellulären, Gram-positivem Bakterium *Listeria monocytogenes* infiziert, da die Beteiligung von IFN- γ an der frühen und späten Abwehr einer *Listerien*-Infektion gezeigt werden konnte [326]. Zelluläre Produzenten von IFN- γ während der frühen Phase einer *Listeria monocytogenes* Infektion sind dabei vor allem NK-Zellen, die durch von Makrophagen sezerniertem IL-12 und/oder IL-18 aktiviert werden. Innerhalb der späten Phase einer *Listerien*-Infektion sind dann Antigen-spezifische T-Zellen die Hauptproduzenten von IFN- γ [499, 500].

24 h nach intraperitonealer Infektion unterschiedlicher Mausstämmen mit *Listeria monocytogenes*, also noch während der frühen Infektionsphase, wurden die Lebern isoliert und die Expression von VLIG-1 durch eine Northern Blot Analyse dokumentiert. Abbildung 24 zeigt, daß VLIG-1 massiv in der Leber *Listerien*-infizierter C57BL/6J Wild-Typ Mäuse induziert wurde. In der Leber von infizierten IFN- γ R^{0/0} Mäusen konnte hingegen keine VLIG-1 Induktion beobachtet werden, was die absolute Abhängigkeit dieser Induktion von IFN- γ zeigte. Die Induktion von VLIG-1 war dagegen unabhängig von TNF- α , da VLIG-1 auch in der Leber von *Listerien*-infizierten Mäusen ohne funktionellen TNF- α p55 Rezeptor (TNFRp55^{-/-} Mäuse), der die TNF- α abhängige protektive Antwort zur Abwehr der *Listerien* vermittelt [501], induziert wurde. Die Induktion von VLIG-1 in diesen Mäusen schien im Vergleich zur Induktion in Wildtyp Mäusen sogar noch verstärkt zu sein. Eine längere Expositionszeit des Northern Blots zeigte zudem eine schwache konstitutive Expression von VLIG-1 in der Leber von allen untersuchten Mäusen, wie sie auch in der Analyse der konstitutiven VLIG-1 Expression (Abb. 23) erkennbar war.

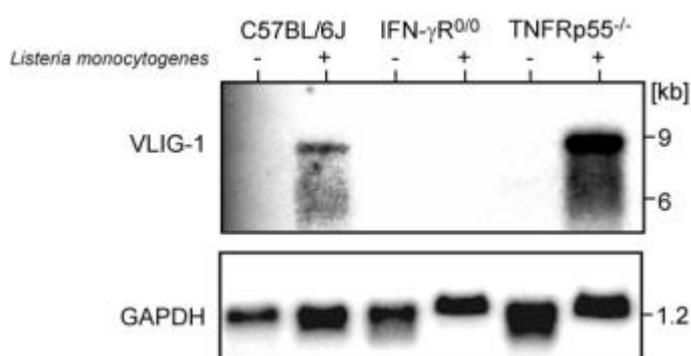


Abbildung 24. Induktion von VLIG-1 in verschiedenen Mausstämmen nach Infektion mit *Listeria monocytogenes*. Gezeigt durch eine Northern Blot Analyse von Leber Gesamt-RNA. Als Hybridisierungssonde diente radioaktiv markierte, vollständige VLIG-1 cDNA. Die Mäuse wurden mit 1/10 der LD₅₀ intraperitoneal infiziert und die Lebern nach 24 h isoliert. 10 μ g Gesamt-RNA wurden pro Spur geladen. Als Ladekontrolle diente die Hybridisierung mit GAPDH. Die Expositionszeit nach GAPDH-Hybridisierung betrug 6 h, während der mit VLIG-1 hybridisierte Blot für 24 h exponiert wurde.

3.11 *In vitro* Charakterisierung des Induktionsprofils von VLIG-1

Nachfolgende Experimente wurden durchgeführt um ein *in vitro* Induktionsprofil von VLIG-1 zu erstellen und dieses mit denen von Mitgliedern der Interferon-induzierbaren p47 und p65 GTPase Familien zu vergleichen. Anhand des Vergleiches sollten Gemeinsamkeiten und/oder Unterschiede innerhalb der Induktionscharakteristika von VLIG-1 zu diesen GTPase Familien herausgestellt werden können. Dabei sollte untersucht werden, ob VLIG-1 ausschließlich Bestandteil der zellulären Antwort auf IFN- γ ist, oder auch an den durch Interferon-Typ I oder

TNF- α vermittelten Zellantworten beteiligt ist. Ferner sollte ermittelt werden, ob VLIG-1 in eine Zelltyp-spezifische oder zelltypübergreifende Antwort auf Zytokine involviert ist und inwieweit sich die vorhergesagten putativen Promotormotive anhand der erzielten Resultate bestätigen oder widerlegen lassen

Zu diesem Zweck wurden zunächst C57BL/6J EF, bzw. die aus C57BL/6J Mäusen stammende Makrophagen Zell-Linie ANA-1 für 24 h entweder mit 100 U/ml IFN- γ oder mit 100 U/ml IFN- β stimuliert und die Induktion von VLIG-1, des p65 GTPase Familienmitgliedes mGBP-2 oder von IIGP, einem Mitglied der p47 GTPase Familie, durch eine Northern Blot Analyse dokumentiert (Abb. 25)

Die Expression VLIG-1 wurde von einem sehr niedrigem basalen Expressionsniveau durch Stimulation mit Interferon-Typ I oder Typ II in EF und ANA-1 Makrophagen dramatisch, auf das ca. 100-200fache erhöht, wobei die Induktionsrate durch Interferon-Typ I in beiden Zelltypen ca. 3-4fach niedriger als durch IFN- γ ausfiel. Unter identischen experimentellen Bedingungen wurden mGBP-2 und IIGP in beiden Zelltypen durch IFN- γ im gleichen Maße wie VLIG-1 induziert, während ihre Induktionsrate nach IFN- β Stimulation im Vergleich zu ihrer Induktion durch IFN- γ und zu VLIG-1 wesentlich schwächer ausfiel, wobei eine IFN- β vermittelte Induktion in ANA-1 Makrophagen nahezu nicht nachweisbar war.

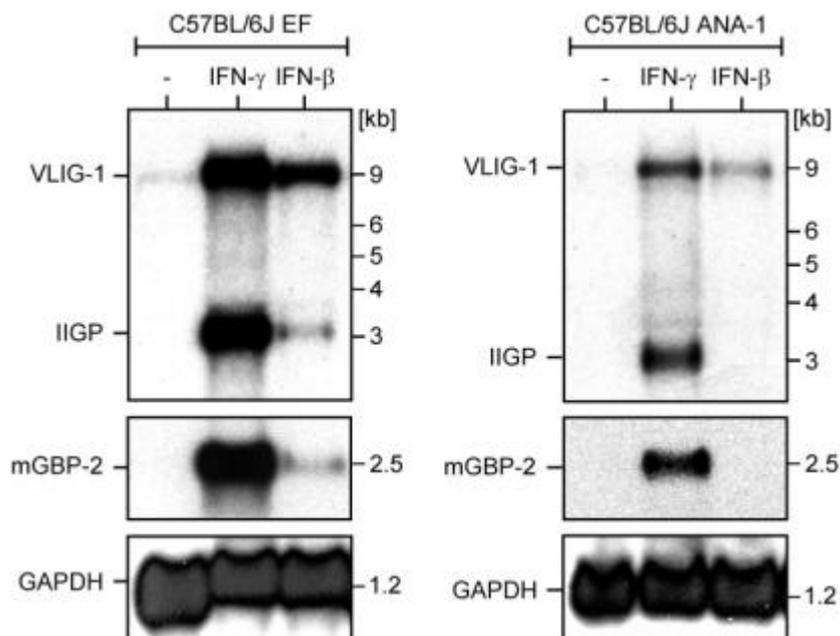


Abbildung 25. Northern Blot Analyse der Induktion von VLIG-1, mGBP-2 und IIGP durch Interferon-Typ I und Typ II in C57BL/6J EF und C57BL/6J ANA-1 Makrophagen. Die Zellen wurden für 24 h mit 100 U/ml IFN- β oder 100 U/ml IFN- γ stimuliert und jeweils 10 μ g Gesamt-RNA pro Spur geladen. Die Hybridisierung von VLIG-1 und IIGP erfolgte simultan. Die Hybridisierung mit GAPDH ist als Ladekontrolle gezeigt.

Da eine Interferon-vermittelte Erhöhung der Expressionsrate auf mRNA-Ebene nicht zwangsläufig zu einer Steigerung der Proteinexpression führen muß [502, 503], wurde zusätzlich eine Western Blot Analyse unter Verwendung von TX-100 Lysaten IFN- γ stimulierter C57BL/6J EF und beider α -VLIG-1 Antiseren (siehe Material und Methoden) durchgeführt (Abb. 26). Es zeigte sich, daß beide Antiseren ein Protein mit einem apparenten Molekulargewicht von ca. 280 kDa detektierten, welches dem kalkuliertem VLIG-1 Molekulargewicht entsprach. Auch auf Proteinebene war dabei eine massive Induktion von VLIG-1 nach IFN- γ Stimulation zu beobachten. Zusätzlich konnten mit beiden Antiseren weitere, nur nach IFN- γ Stimulation auftretende Proteinsignale mit niedrigerem apparentem Molekulargewicht als das für VLIG-1 kalkulierte detektiert werden (in Abb. 26 mit * gekennzeichnet).

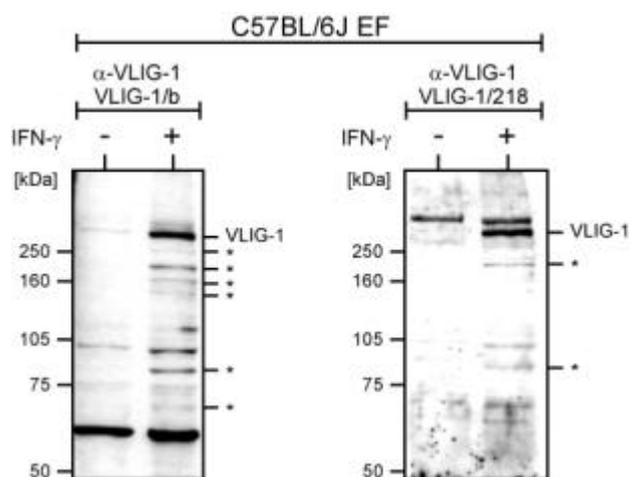


Abbildung 26. Western Blot Analyse der IFN- γ vermittelten Induktion des VLIG-1 Proteins unter Verwendung von TX-100 Lysaten von C57BL/6J EF und der α -VLIG-1 Antiseren VLIG-1/B und VLIG-1/218. Die Zellen wurden für 24 h mit 100 U/ml IFN- γ stimuliert. Zusätzlich von den Antiseren erkannte, induzierbare Proteine mit niedrigerem apparentem Molekulargewicht sind mit * markiert.

Bei vielen IFN- γ induzierten Genen konnte ein, auf verschiedenen molekularen Mechanismen beruhender, synergistischer Effekt bei der transkriptionellen Aktivierung nach gleichzeitiger Stimulation von Zellen mit TNF- α und IFN- γ beobachtet werden ([504-506], siehe auch Anhang).

Um zu untersuchen ob sich ein Synergismus von IFN- γ und TNF- α auch bei der Induktion von VLIG-1, mGBP-2 und IIGP konstatieren läßt und inwiefern diese Gene auch nur durch TNF- α induziert werden können, wie im Falle von VLIG-1 durch die Existenz von putativen NF κ B-Promotorelementen nahegelegt wird, wurden C57BL/6J EF für 24 h entweder mit 100 U/ml IFN- γ , 2000 U/ml TNF- α oder gleichzeitig mit beiden Zytokinen stimuliert und ihre Induktion durch eine Northern Blot Analyse dokumentiert. Die Analyse zeigte, daß weder VLIG-1, noch mGBP-2 oder IIGP signifikant durch TNF- α alleine, oder in synergistischer Weise

durch IFN- γ und TNF- α induziert wurden, während dies, wie zuvor beschrieben [507-509], anhand der Induktion der schweren Kette des MHC Klasse I K^b Alleles nachgewiesen werden konnte (Abb. 27). Die Expression von VLIG-1 wurde höchsten in minimaler Weise, um weniger als das Zweifache, durch TNF- α induziert, wie anhand einer verlängerten Expositionszeit der Autoradiographie festgestellt werden konnte (hier nicht gezeigt). Eine geringfügig unterschiedliche Beladung des Northern Blots, als Ursache dieser minimalen Induktion ließ dabei nicht gänzlich ausschließen.

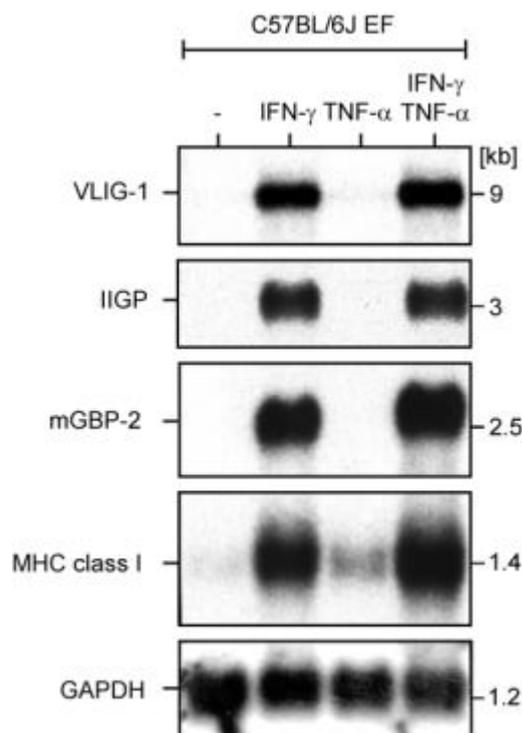


Abbildung 27. Northern Blot Analyse der Induktion von VLIG-1, mGBP-2, IIGP und des MHC Klasse I K^b Allels durch IFN- γ und TNF- α in C57BL/6J EF. Die Zellen wurden für 24 h mit 100 U/ml IFN- γ , 2000 U/ml TNF- α oder 100 U/ml IFN- γ + 2000 U/ml TNF- α stimuliert. Jeweils 10 μ g Gesamt-RNA pro Spur wurde geladen. Zusätzlich wurden Gesamt-RNA nicht stimulierter Kontrollzellen aufgetragen. Die Hybridisierung mit GAPDH ist als Ladekontrolle gezeigt.

3.12 Analyse der Zeit- und Dosis-abhängigen, Interferon-vermittelten Induktion von VLIG-1 auf mRNA und Proteinebene

Zur Bestimmung der Zeit- und Dosis-abhängigen Interferon-vermittelten Induktion von VLIG-1 wurden Analysen unter Verwendung von Gesamt-RNA und Protein-Lysaten aus Interferon-Typ I oder Typ II stimulierten C57BL/6J EF durchgeführt. Dabei zeigte sich, daß sowohl durch IFN- γ als auch durch IFN- β die Expression von VLIG-1 in Zeit- und Dosis-abhängiger Art und Weise auf Transkript- und Protein-Ebene zu induziert wurde.

Während in einer RPA-Analyse eine basale Expression von VLIG-1 in unstimulierten C57BL/6J EF nahezu nicht detektierbar war, konnte ein deutlicher Expressionsanstieg schon nach einstündiger IFN- γ Stimulation festgestellt werden (Abb. 28). Die Expression von VLIG-1 erreichte nach 12 h nahezu ihr Maximum und verblieb auf diesem hohem Expressionsniveau für mindestens weitere 12 h. Die Expressionsrate von VLIG-1 wurde dabei im Vergleich zu unstimulierten Fibroblasten um annähernd das 200fache gesteigert. Innerhalb dieser Induktionskinetik ließ sich der stärkste Anstieg der Akkumulationsrate zwischen 1 h und 3 h nach Stimulationsbeginn feststellen.

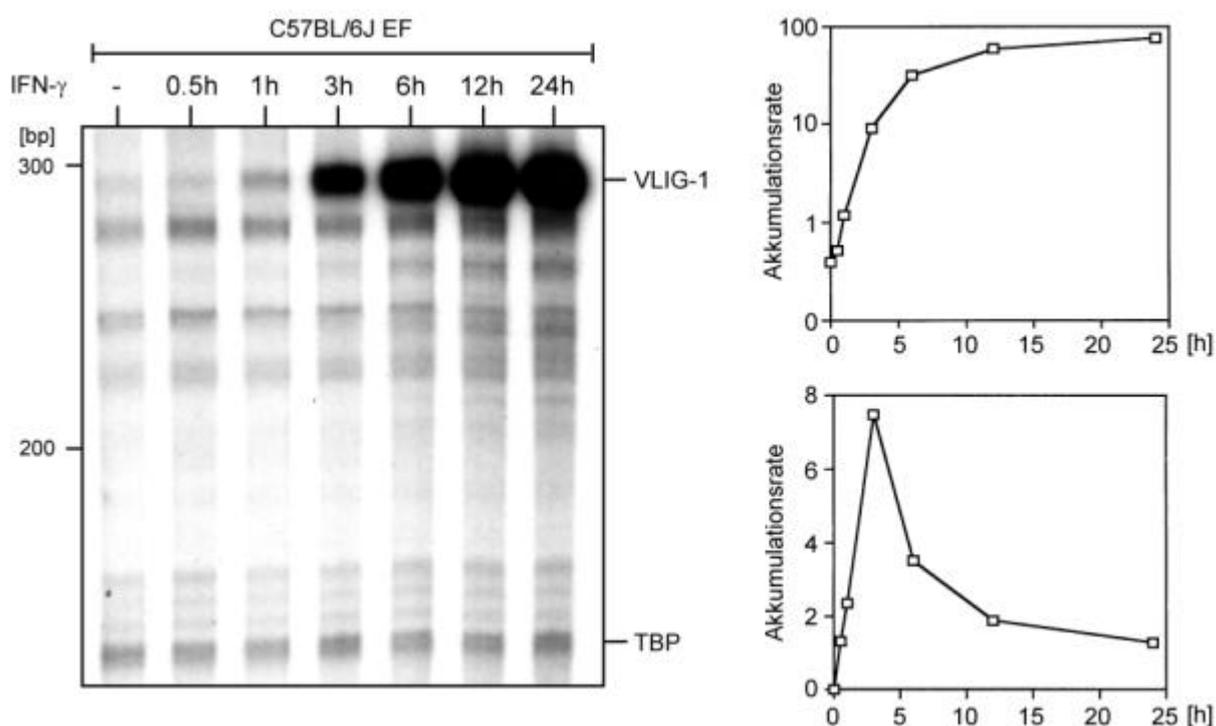


Abbildung 28. RPA-Analyse der Zeit-abhängigen Induktion von VLIG-1 durch IFN- γ in C57BL/6J EF. Die Zellen wurden über die angegebenen Zeiträume mit 100 U/ml IFN- γ stimuliert. Jeweils 10 μ g Gesamt-RNA wurden für die \dot{U} N Hybridisierung mit einer radioaktiv markierten Antisinn VLIG-1-RNA-Sonde von ca. 5×10^5 cpm eingesetzt. Als interne Ladekontrolle zur Quantifizierung der detektierten Signale mit Hilfe eines Phosphoimagers diente eine Antisinn TBP-RNA-Sonde. Die Akkumulations-Rate der VLIG-1 mRNA wurde nach folgender Formel berechnet: $((\text{PSL VLIG-1} - \text{PSL Hintergrund}) \text{ bei } t=x / (\text{PSL VLIG-1} - \text{PSL Hintergrund}) \text{ bei } t=x-1)$.

Eine vergleichbare Induktionskinetik konnte auch durch eine Northern Blot Analyse festgestellt werden (Abb. 29). Die schwächeren VLIG-1 Signalintensitäten bei der Northern Blot Analyse waren einerseits auf eine geringere Sensitivität der Northern Blot Methode im Vergleich zu RPA zurückzuführen und andererseits dadurch bedingt, daß in diesem Experiment nur 5 μ g Gesamt-RNA pro Spur aufgetragen wurden. Dennoch war die Zeit-abhängige, massive Induktion von VLIG-1 nach IFN- γ Stimulation klar zu erkennen.

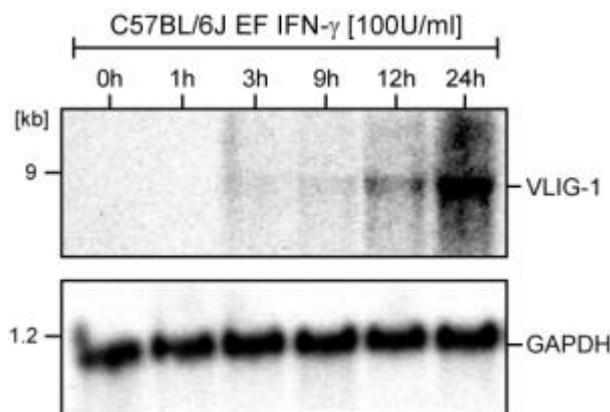


Abbildung 29. Northern Blot Analyse der Zeit-abhängigen Induktion von VLIG-1 nach IFN- γ Stimulation von C57BL/6J EF. Die Zellen wurden über die angegebenen Zeiträume mit 100 U/ml IFN- γ stimuliert. Bei diesem Experiment wurden nur 5 μ g Gesamt-RNA pro Spur aufgetragen. Als Hybridisierungssonde diente die radioaktiv markierte vollständige VLIG-1 cDNA. Die Hybridisierung mit GAPDH als Ladekontrolle ist gezeigt.

Die Induktion von VLIG-1 durch IFN- β verlief ebenfalls Zeit-abhängig, erreichte jedoch, wie schon zuvor beobachtet (Abb. 25), bei gleicher eingesetzter antiviraler Unitmenge und ansonsten identischen experimentellen Bedingungen, eine niedrigere Induktionsrate, als nach IFN- γ Stimulation (Abb. 30).

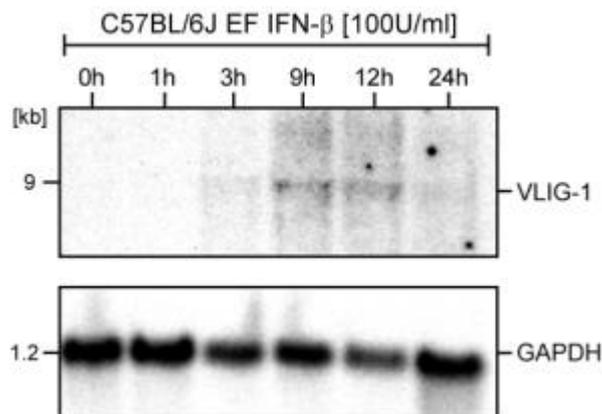


Abbildung 30. Northern Blot Analyse der Zeit-abhängigen Induktion von VLIG-1 nach IFN- β Stimulation von C57BL/6J EF. Die Zellen wurden über die angegebenen Zeiträume mit 100 U/ml IFN- β stimuliert. Pro Spur wurden 5 μ g Gesamt-RNA aufgetragen. Als Hybridisierungssonde diente die radioaktiv markierte vollständige VLIG-1 cDNA. Die Hybridisierung mit GAPDH als Ladekontrolle ist gezeigt.

Die Dosis-abhängige Induktion von VLIG-1 nach 24stündiger Stimulation von C57BL/6J EF mit Interferon-Typ I oder Typ II ist in Abbildung 31 wiedergegeben. Schon durch äußerst geringe IFN- γ Dosen von nur 0.5 U/ml ließ sich eine eindeutige Induktion von VLIG-1 nachweisen. Bereits bei einer IFN- γ Konzentration von 10 U/ml wurde die maximale Expressionsrate von VLIG-1 erreicht, die sich auch durch eine Erhöhung der eingesetzten IFN- γ Konzentration nicht weiter steigern ließ. Im Gegensatz dazu konnte die VLIG-1 Expressionsrate durch eine

fortlaufende Erhöhung der IFN- β Konzentration stetig gesteigert werden und erst bei einer Konzentration von 500 U/ml IFN- β schien das Expressionsniveau von VLIG-1 sich langsam seinem Maximum zu nähern. Anzumerken ist hierbei, daß die erzielten Induktionsraten nach IFN- γ , bzw. IFN- β Stimulation nicht direkt vergleichbar waren, da unterschiedliche RNA Menge aufgetragen wurden. Auch in diesem Experiment wurde die, im Vergleich zu VLIG-1, deutlich geringere Induzierbarkeit von mGBP-2 durch IFN- β deutlich. Eine signifikante Steigerung der mGBP-2 Expressionsrate war erst bei 250 U/ml IFN- β erkennbar, während VLIG-1 ein vergleichbares Expressionsniveau schon bei einer 50fach niedrigeren Konzentration von IFN- β erreichte.

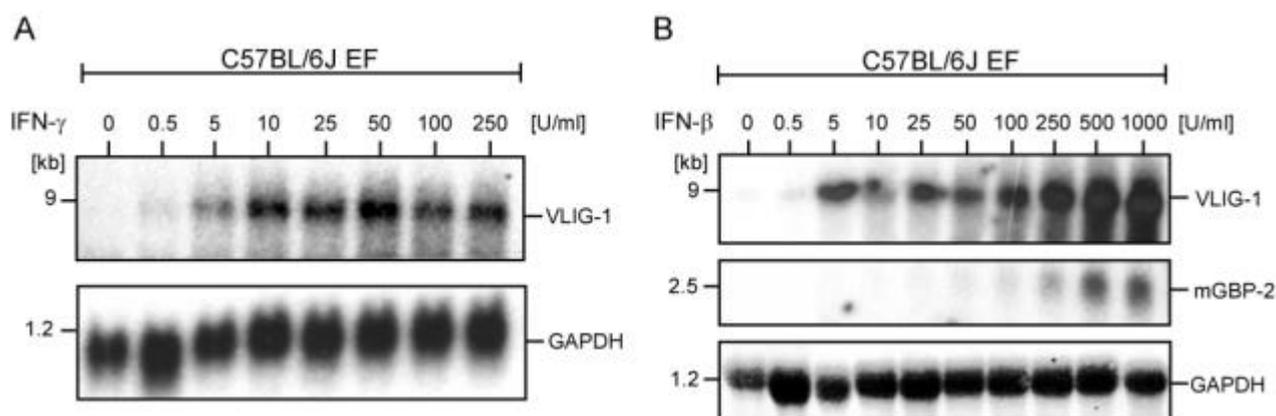


Abbildung 31. **A**, Northern Blot Analyse der Dosis-abhängigen Induktion von VLIG-1 nach IFN- γ Stimulation von C57BL/6J EF. Pro Spur wurden 5 μ g Gesamt-RNA aufgetragen. **B**, Northern Blot Analyse der Dosis-abhängigen Induktion von VLIG-1 nach IFN- β Stimulation von C57BL/6J EF. Pro Spur wurden 10 μ g Gesamt-RNA aufgetragen. Die Zellen wurden jeweils für 24 h mit der angezeigten Konzentration des jeweiligen Interferons stimuliert. Als Hybridisierungssonde diente die radioaktiv markierte vollständige VLIG-1 cDNA, bzw. mGBP-2 cDNA. Die Hybridisierung mit GAPDH als Ladekontrolle ist gezeigt.

Um mögliche Unterschiede der Zeit- und Dosis-abhängigen Induktion von VLIG-1 nach IFN- γ Stimulation zwischen der mRNA und Protein-Ebene aufzuzeigen, wurden die zuvor beschriebenen Untersuchungen mit Hilfe von Western Blot Analysen und TX-100 Zell-Lysaten IFN- γ stimulierter C57BL/6J EF wiederholt. Analysen der Zeit-abhängigen, durch IFN- γ vermittelten Induktion des VLIG-1 Proteins sind im Rahmen von Untersuchungen zur Proteininstabilität von VLIG-1 genauer beschrieben und dort abgebildet (Abb. 34).

Es konnte nachgewiesen werden, daß die Expressionsrate von VLIG-1 nach IFN- γ Stimulation auch auf der Protein-Ebene in Zeit- und Dosis-abhängiger Weise induziert wurde.

Im Unterschied zur Induktionskinetik auf Transkript-Ebene erfolgte die Zeit-abhängige Induktion des VLIG-1 Proteins leicht verzögert (Abb. 34). So konnte hierbei erst nach 6stündiger

Stimulation mit IFN- γ ein klar detektierbarer Anstieg der VLIG-1 Proteinmenge nachweisen, die erst nach 48 h ihr maximales Niveau erreichte (Abb. 34).

Ebenso konnte ein Unterschied zwischen der Dosis-abhängigen Induktion von VLIG-1 auf Transkript- und Protein-Ebene beobachtet werden (Abb. 32). In Übereinstimmung mit den Resultaten der Northern Blot Analyse genügte bereits die sehr geringe IFN- γ Konzentration von 0.5 U/ml um eine deutliche VLIG-1 Induktion nach 24stündiger Stimulation nachzuweisen. Die Expressionsrate ließ sich jedoch durch eine fortgesetzte Dosiserhöhung kontinuierlich steigern und erreichte erst bei 250 U/ml IFN- γ ihr Maximum. Auch hier konnten nach IFN- γ Stimulation Proteinsignale detektiert werden, deren apparentes Molekulargewicht und Signalintensität kleiner als die von VLIG-1 (in Abb. 32 mit einem * gekennzeichnet; vgl. Abb.26). Die Signalintensität dieser Proteinsignale wurde dabei ebenfalls in Dosis-abhängiger Weise durch IFN- γ erhöht.

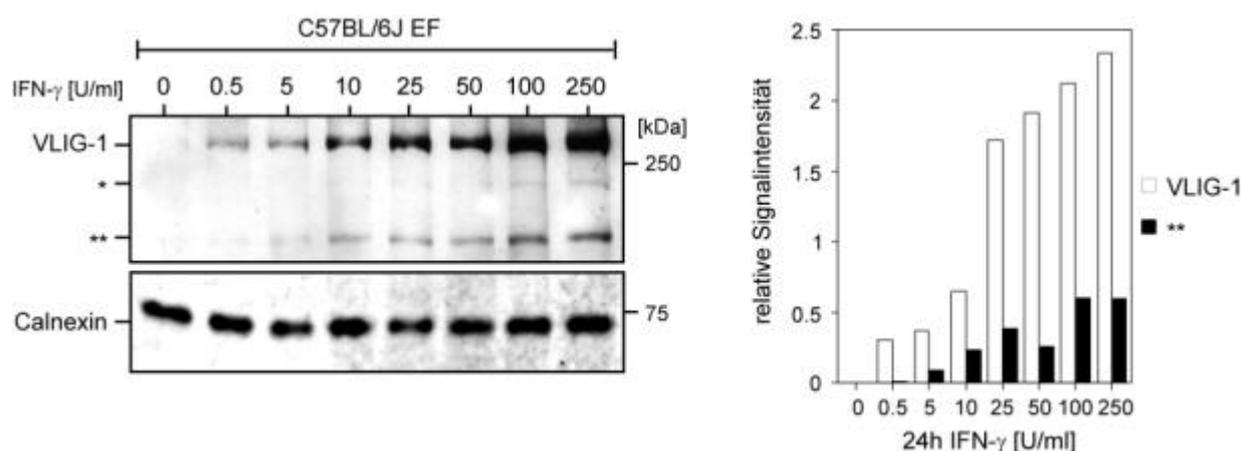


Abbildung 32. Western Blot Analyse der Dosis-abhängigen Induktion von VLIG-1 durch IFN- γ . C57BL/6J EF wurden mit den angegebenen Konzentrationen IFN- γ für 24 h stimuliert und anschließend in einem TX-100 haltigem Puffer lysiert. Jeweils 10 μ l Lysat wurden pro Spur aufgetragen. Die Detektion von VLIG-1 erfolgte mittels des α -VLIG-1 GST/VLIG-1/B Antiserums. Mit einem * wurden Proteinsignale gekennzeichnet deren apparentes Molekulargewicht und Signalintensität niedriger als für VLIG-1 waren, die jedoch vom eingesetzten α -VLIG-1 Antiserum ebenfalls erkannt werden können. Calnexin wurde mit einem spezifischen α -Calnexin Antiserum nachgewiesen und diente als Ladekontrolle. Die Signale für VLIG-1, einem Polypeptid niedrigerem Molekulargewichtes (**) und Calnexin wurden densitometrisch quantifiziert und werden als relative Signalintensitäten dargestellt.

3.13 Analyse der mRNA- und Protein-Stabilität von VLIG-1

Zur Bestimmung der mRNA Halbwertszeit von VLIG-1 wurden C57BL/6J EF für 24 h mit 100 U/ml IFN- γ stimuliert und anschließend nach Zugabe des antibiotischen Transkriptioninhibitors Actinomycin D (ActD) für weitere 2-12 h unter kontinuierlicher Anwesenheit von IFN- γ inkubiert wurden. ActD bindet fest und spezifisch an doppelsträngige DNA und hindert sie daran, als wirksame Matrize für die RNA-Synthese zu dienen, ohne dabei die DNA-Replikation oder

Proteinbiosynthese nachhaltig negativ zu beeinflussen. Der Zerfall der akkumulierten VLIG-1 mRNA wurde durch eine Northern Blot Analyse dokumentiert (Abb. 33). Unter diesen Bedingungen betrug die VLIG-1 mRNA Halbwertszeit ca. 5 h. Eine basale VLIG-1 Expression konnte in diesem Experiment auch nach wesentlich längeren Expositionszeiten nicht detektiert werden.

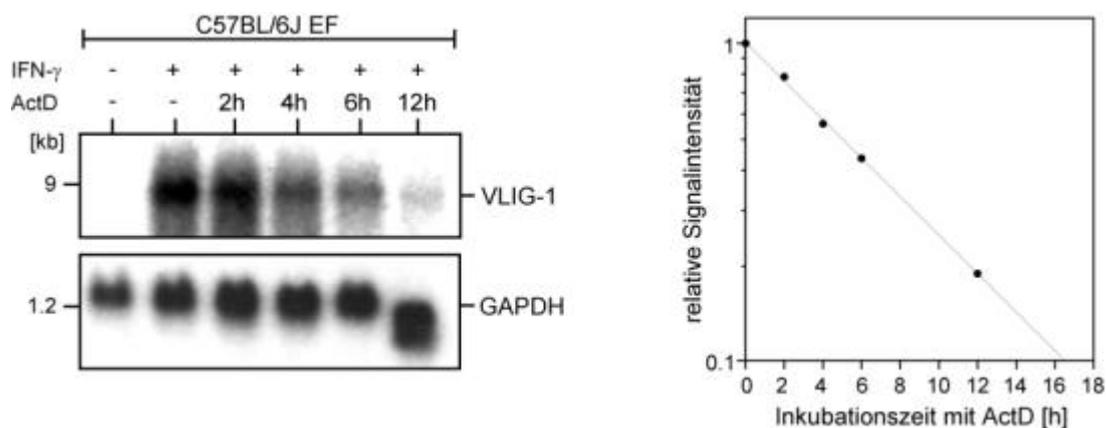


Abbildung 33. Northern Blot Analyse der mRNA Stabilität von VLIG-1. C57BL/6J EF wurden für 24 h mit 100 U/ml IFN- γ stimuliert und anschließend für weitere 2-12 h unter Zugabe von 10 μ g/ml ActD inkubiert. Pro Spur wurden 10 μ g Gesamt-RNA geladen. Als Hybridisierungssonde diente die radioaktiv markierte, vollständige cDNA von VLIG-1. Die Expositionszeit betrug 16 h. Als Ladekontrolle diente die Hybridisierung mit GAPDH. Die Signale für wurden mit Hilfe eines Phosphoimagers quantifiziert und werden als relative Signalintensitäten dargestellt, wobei die Signalintensität nach 24 h Inkubation mit IFN- γ = 1 gesetzt wurde. Zur Bestimmung der Halbwertszeit ($t_{1/2}$) wurde die Ordinatenachse in log₁₀ Einheiten unterteilt.

Zur Untersuchung der Zeit-abhängigen, IFN- γ vermittelten Induktion des VLIG-1 Proteins wurden C57BL/6J EF für 0.5-60 h mit 100 U/ml IFN- γ stimuliert und anschließend in TX-100 haltigem Lysis-Puffer solubilisiert. Eine Annäherung an die Halbwertszeit, bzw. Stabilität des VLIG-1 Proteins wurde erreicht, in dem bei einem Teil der Zellen nach 48 h Inkubation mit 100 U/ml IFN- γ das Interferon-haltige Nährmedium entnommen, die Zellen mehrfach mit 1xPBS gewaschen und anschließend für weitere 3-12 h in IFN- γ freiem Medium kultiviert wurden.

Die Abbildung 34 zeigt die durch Western Blot Analyse ermittelte Zeit-abhängige Induktion und Stabilität des VLIG-1 Proteins. Im Unterschied zur Zeit-abhängigen Induktion von VLIG-1 auf mRNA Ebene, ließ sich eine eindeutige Induktion des VLIG-1 Proteins erst nach 6stündiger Stimulationsdauer nachweisen. Zwischen 6 h und 48 h nach Beginn der Stimulation stieg die Menge des synthetisierten VLIG-1 Proteins stark an und erreichte ihr maximales Niveau. Ein weiterer Anstieg zwischen 48 h und 60 h konnte nicht verzeichnet werden. Das VLIG-1 Protein wurde anscheinend nur langsam abgebaut, da das Entfernen von IFN- γ aus dem Medium nach 48 h, auch nach weiteren 12 h zu keiner signifikanten Reduktion der zu diesem Zeitpunkt erreichten,

maximalen VLIG-1 Proteinmenge führte, wie durch eine Quantifizierung der Signalintensitäten nachgewiesen werden konnte.

In Übereinstimmung mit den zuvor erzielten Resultaten der Western Blot Analysen, konnten auch hier wieder Proteinsignale mit niedrigerem Molekulargewicht und Signalintensität durch das verwendete GST-VLIG-1/B α -VLIG-1 Antiserum in IFN- γ stimulierten Zellen detektiert werden (vgl. Abb. 26 und 32). Diese waren in unstimulierten Zellen nicht nachweisbar und ließen, entsprechend dem VLIG-1 Protein, erst 6 h nach Beginn der Stimulation einen quantitativen Anstieg erkennen, wobei sie wie VLIG-1 nach 48 h ihr maximales Niveau erreichten. Die weitere Inkubation der Zellen in Gegenwart oder Abwesenheit von IFN- γ führte im Falle dieser Proteinsignale zu einer geringfügigen Erhöhung der Signalintensität, wovon besonders das Proteinsignal mit einem Molekulargewicht von ca. 160 kDa betroffen war (in Abb. 34 mit einem ** gekennzeichnet).

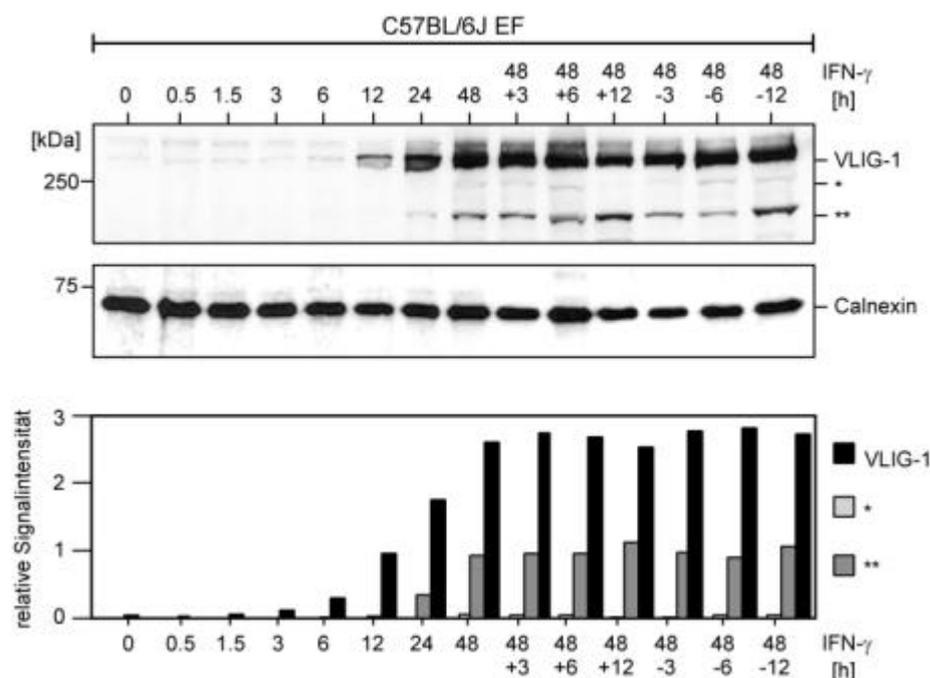


Abbildung 34. Western Blot Analyse der Zeit-abhängigen Induktion und Stabilität des VLIG-1 Proteins. C57BL/6J EF wurden für die angegebenen Zeiten mit 100 U/ml IFN- γ stimuliert und anschließend lysiert. Bei denen mit (-) gekennzeichneten Spuren handelt es sich um Zell-Lysate, bei denen die Zellen nach 48 h Inkubation mit 100 U/ml IFN- γ für die angegebenen Zeiten in IFN- γ freiem Medium weiter kultiviert wurden. Zur Detektion von VLIG-1 wurde das α -VLIG-1 GST-VLIG-1/B Antiserum verwendet. Mit * markierte Signale kennzeichnen Proteine deren apparentes Molekulargewicht und Signalintensität niedriger als das des VLIG-1 Proteins waren, die jedoch auch vom eingesetzten Antiserum erkannt wurden. Der Nachweis von Calnexin diente als Ladekontrolle. Die Signale für VLIG-1, den Proteinsignalen niedrigerem Molekulargewichtes und Calnexin wurden densitometrisch quantifiziert und werden als relative Signalintensitäten dargestellt.

Zur genaueren Analyse der Proteinstabilität von VLIG-1 wurden "Pulse-Chase" Experimente bei kontinuierlicher Anwesenheit von 100 U/ml IFN- γ durchgeführt. Die Markierungsdauer ("Pulse") neusynthetisierter Proteine betrug 1 h und dem Schicksal dieser Proteine ("Chase") wurde für

weitere 0.5-30 h gefolgt. Zur Immunopräzipitation wurde das polyklonale α -VLIG-1 VLIG-1/B Antiserum verwendet. Wie in Abbildung 35 zu erkennen wiesen die Immunopräzipitate des verwendeten Antiserums einen relativ hohen Hintergrund auf. Zudem zeigten sich in den Spuren der Immunopräzipitate nach 2 h, 4 h und 20 h "Chase"-Dauer unspezifische, hochmolekulare Artefakte, die schon in der Coomassie-Blue Färbung des Gels sichtbar waren. Der unspezifische Charakter dieser Signale wurde daran ersichtlich, daß die Probe nach 20 h "Chase"-Dauer zweifach auf das Gel aufgetragen wurde, daß Artefakt jedoch nur in einer der beiden Spuren auftrat. Nichtsdestotrotz ließen sich Proteinsignale detektieren, die spezifisch für VLIG-1 waren, da einerseits ihr apparentes Molekulargewicht dem des berechneten von VLIG-1 entsprach und sie andererseits nur in Lysaten IFN- γ stimulierter EF auftraten. Aufgrund des hohen Hintergrundes wurde auf die exakte Kalkulation der Halbwertszeit des VLIG-1 Proteins verzichtet. Dennoch konnte, in Übereinstimmung mit dem zuvor erzieltm Resultat der Western Blot Analyse, gezeigt werden, daß es sich bei VLIG-1 um ein langlebiges, sehr stabiles Protein handelt, da auch nach 20 h "Chase"-Dauer keine signifikante Reduktion der Signalintensität festgestellt werden konnte.

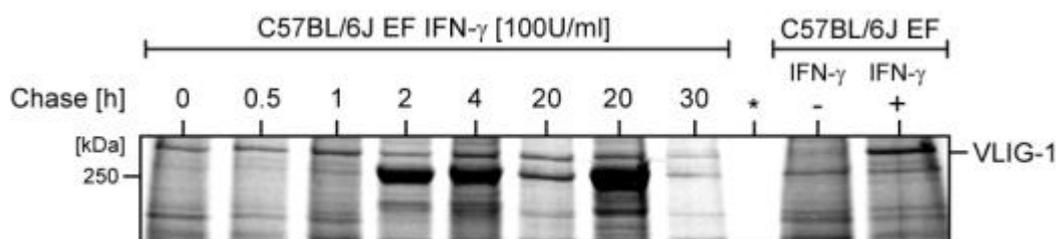


Abbildung 35. Pulse-Chase Analyse der Proteininstabilität von VLIG-1. Das gesamte Experiment erfolgte in kontinuierlicher Anwesenheit von 100 U/ml IFN- γ . C57BL/6J EF wurden für 24 h in normalem Nährmedium kultiviert, das anschließend für 1 h durch Methionin-freies Hungermedium ersetzt wurde. Die nachfolgende biosynthetische Markierung mit [35 S]-Methionin erfolgte für 1 h bevor ein Überschuß an nicht-markiertem Methionin zugegeben wurde. Die Zellen wurden für die angegebenen Zeiten (0-30 h) weiter kultiviert, in TX-100 haltigem Puffer lysiert und ein jeweils 5×10^6 cpm entsprechendes Volumen der Lysate in einer Immunopräzipitation unter Verwendung des α -VLIG-1 VLIG-1/B Antiserums eingesetzt. Als Kontrolle dienten in gleicher Weise behandelte, unstimulierte C57BL/6J EF, die unmittelbar nach Zugabe des nicht-markierten Methionins lysiert wurden. Die mit * markierte Spur wurde nicht beladen.

3.14 Polymorphismus von VLIG-1 in Mäusen mit unterschiedlichem genetischen Hintergrund

In der Maus existiert ein Polymorphismus sowohl für die zur Dynamin-Familie gehörenden, primär durch Interferon-Typ I induzierbaren Mx GTPasen, als auch für die zur gleichen Familie gehörende p65 GTPase mGBP-1 [363, 364, 402, 417, 426, 432, 433, 510, 511] Im Falle von mGBP-1 kann bei Mausstämmen die das *GBP1^b* Allel tragen dieses Gen nicht induziert werden,

während alle anderen Mitglieder der p55 GTPase Familie eine normale Expression und Induktion aufweisen [399,433].

Um festzustellen ob auch bei VLIG-1 ein Polymorphismus existiert, wurden Northern Blot Analysen unter Verwendung von Gesamt-RNA aus EF oder Zell-Linien von Mäusen mit unterschiedlichem genetischen Hintergrund durchgeführt, wobei einerseits die vollständige cDNA und andererseits ein Teil der 3' UTR von VLIG-1 als Hybridisierungssonde eingesetzt wurde (siehe Material und Methoden).

Unter Verwendung der vollständigen VLIG-1 cDNA konnte nach IFN- γ Stimulation von EF aus 129/sV oder BALB/c Mäusen, sowie von der Fibroblasten Zell-Linie L929 mit C3H/An genetischem Hintergrund ein induzierbares Transkript detektiert werden, das mit einer Größe von ca. 9 kb der VLIG-1 Transkriptgröße in C57BL/6J EF entsprach (Abb. 36). Die detektierten Transkripte wiesen jedoch nach IFN- γ Stimulation im Vergleich zu VLIG-1 in C57BL/6J EF ein leicht reduziertes Expressionsniveau auf. Zudem war auffällig, daß die konstitutive Expression des detektierten Transkriptes in L929 Zellen wesentlich stärker war, als die in C57BL/6J EF.

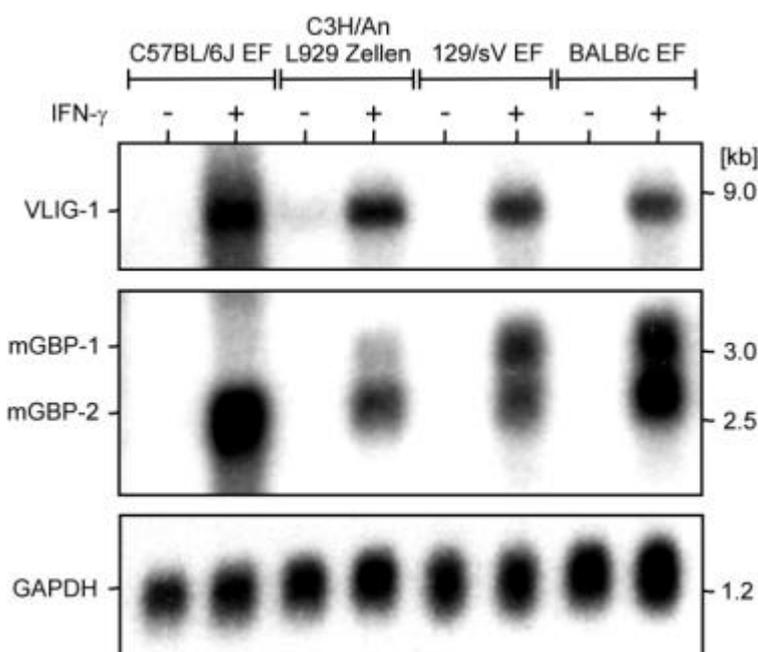


Abbildung 36. Northern Blot Analyse der IFN- γ vermittelten Induktion von VLIG-1 in Fibroblasten verschiedener Mausstämmen. EF von C57BL/6J, 129/sV, bzw. BALB/c Mäusen, sowie die aus C3H/An Mäusen stammende Fibroblasten Zell-Linie L929 wurden 24 h mit 100 U/ml IFN- γ stimuliert. Pro Spur wurden 10 μ g Gesamt-RNA geladen. Als Hybridisierungssonden dienten die vollständigen cDNAs von VLIG-1 und mGBP-2. Wobei Letztere auch mGBP-1 detektiert. Die Hybridisierung mit GAPDH als Beladungskontrolle ist gezeigt.

Ein vergleichbares Resultat wurde in Northern Blot Analysen erzielt, bei denen Gesamt-RNA aus mit verschiedenen Zytokinen stimulierten ANA-1 Makrophagen mit C57BL/6J genetischem

Hintergrund, bzw. RAW264.7 Makrophagen mit BALB/c Hintergrund verwendet wurde. Die vollständige VLIG-1 cDNA als Hybridisierungsprobe erkannte in beiden Makrophagen Zell-Linien ein massiv durch IFN- γ induzierbares Transkript von ca. 9 kb, daß signifikant vermindert durch IFN- β und gar nicht, oder nur äußerst schwach durch TNF- α induziert wurde (Abb. 37). Dieses Resultat war dabei in Übereinstimmung mit zuvor erzielten Ergebnissen der Zytokin vermittelten Induktion von VLIG-1 (vgl. Abb. 25 und 27). Die Signalintensität des in stimulierten BALB/c RAW264.7 Makrophagen detektierten Transkriptes war auch hier geringer als das von VLIG-1 in C57BL/6J ANA-1 Makrophagen (Abb. 37).

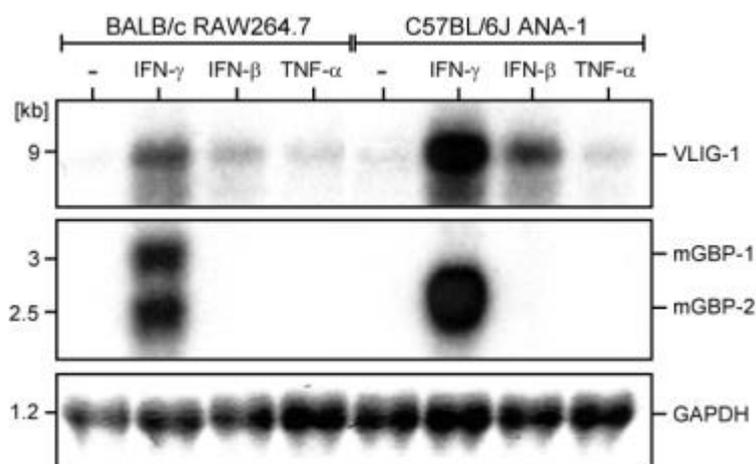


Abbildung 37. Northern Blot Analyse der Zytokin vermittelten Induktion von VLIG-1 in Makrophagen Zell-Linien mit unterschiedlichem genetischem Hintergrund. C57BL/6J ANA-1 Makrophagen und BALB/c RAW264.7 Makrophagen wurden für 24 h mit 100 U/ml IFN- γ , 100 U/ml IFN- β oder 2000 U/ml TNF- α induziert. 10 μ g Gesamt-RNA wurden pro Spur geladen. Als Hybridisierungssonden dienten die vollständige cDNA von VLIG-1, sowie von mGBP-2. Wobei Letztere auch mGBP-1 detektiert. Die gezeigte Hybridisierung mit GAPDH diene als Ladekontrolle.

Durch obige Northern Blot Analysen unter Verwendung von Fibroblasten oder Makrophagen mit unterschiedlichem genetischem Hintergrund ließ sich zudem der polymorphe Charakter der Induktion von mGBP-1 in den verschiedenen Mausstämmen nachweisen. Die eingesetzte Hybridisierungssonde der vollständigen cDNA von mGBP-2 war dabei aufgrund der hohen Sequenzidentität von mGBP-1 und mGBP-2 [399, 404], in der Lage, sowohl mGBP-1 als auch mGBP-2 zu detektieren. So konnte in Übereinstimmung mit zuvor beschriebenen Ergebnissen [417, 433] keine Induktion von mGBP-1 in das *GBPI^b* Allel tragenden C57BL/6J Zellen nachgewiesen werden (Abb. 36 und 37). Die Northern Blot Analyse unter Verwendung von Gesamt RNA aus RAW264.7, bzw. ANA-1 Makrophagen und der mGBP-1/mGBP-2 Hybridisierungssonde machte zudem erneut deutlich, daß VLIG-1 massiv durch IFN- β induziert werden kann, während keine Induktion von mGBP-1 und/oder mGBP-2 nach IFN- β Stimulation festgestellt werden konnte (Abb. 37).

Während diese Ergebnisse darauf hindeuteten, daß in allen untersuchten Mausstämmen ein zu VLIG-1 identisches Gen nach IFN- γ Stimulation induziert wurde, zeigte sich unter Verwendung einer Hybridisierungssonde die einen Großteil der 3' UTR von VLIG-1 abdeckt ein konträres Resultat (Abb. 38).

Mit der VLIG-1 3' UTR spezifischen Sonde ließen sich in IFN- γ stimulierten BALB/c RAW264.7 Makrophagen nur nach einer, im Vergleich zu C57BL/6J ANA-1 Makrophagen, zehnfach längeren Expositionszeit, bei ansonsten identischen experimentellen Bedingungen, zwei verschiedene Signale von schwach induzierten Transkripten, deren Größe um 9 kb betrug, nachweisen. In IFN- β stimulierten RAW264.7 Makrophagen ließen sich hingegen überhaupt keine Hybridisierungssignale detektieren (Abb. 38).

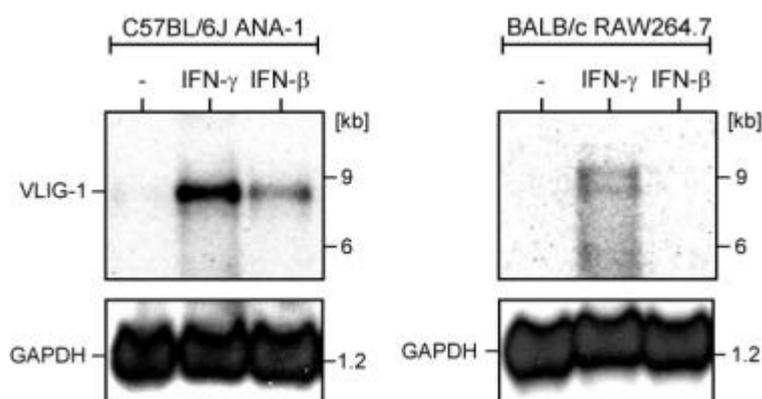


Abbildung 38. Northern Blot Analyse der IFN- β und IFN- γ vermittelten Induktion von VLIG-1 in Makrophagen Zell-Linien unterschiedlichen genetischen Hintergrundes. C57BL/6J ANA-1 Makrophagen und BALB/c RAW264.7 Makrophagen wurden für 24 h mit 100 U/ml IFN- γ oder 100 U/ml IFN- β stimuliert. Pro Spur wurden 10 μ g Gesamt-RNA geladen. Als Hybridisierungssonde diente ein den 3' UTR von VLIG-1 teilweise abdeckendes cDNA Fragment. Die Expositionszeit des ANA-1 Northern Blots betrug 36 h, während der RAW264.7 Blot für 15d exponiert wurde. Die Hybridisierung mit GAPDH als Ladekontrolle ist gezeigt.

Da dieser Befund auf signifikante Unterschiede innerhalb der Expression und Induktion von VLIG-1 in verschiedenen Mausstämmen hindeutete, wurden die Untersuchungen auf Proteinebene wiederholt.

Dazu wurden die verschiedenen EF, bzw. die Fibroblasten-Zell-Linie für 24 h mit 100 U/ml IFN- γ stimuliert und die Zellen anschließend in TX-100 haltigem Puffer lysiert. Die Zahl der Zellen zum Zeitpunkt der Lyse war hierbei jedoch nicht identisch. Sie betrug bei 129/sV und C57BL/6J EF ungefähr 1×10^6 Zellen, während sie bei BALB/c EF und L929 Zellen zweimal, respektive viermal so hoch war. Das aufgetragene Lysatvolumen wurde den unterschiedlichen Zellzahlen jedoch

nicht angepaßt, wie auch an der Calnexin Ladekontrolle zu erkennen war. Die Western Blot Analyse wurde mit Hilfe des α -VLIG-1 VLIG-1/B Antiserums, ein polyklonales Antiserum, das gegen ein ca. 56 kDa großes Proteinfragment von VLIG-1 gerichtet ist (siehe Material und Methoden) durchgeführt.

In allen Lysaten konnten zwar Signale IFN- γ induzierter Proteine detektiert werden, jedoch war das apparente Molekulargewicht des stärksten Proteinsignals in 129/sV EF, BALB/c EF und C3H/An L929 Fibroblasten ca. 30-50 kDa kleiner als das von VLIG-1 in C57BL/6J EF (im weiteren Verlauf dieser Arbeit werden diese Proteine als "VLIG-ähnlich" bezeichnet) (Abb. 39). Die Intensität dieser Proteinsignale war zudem im Vergleich zu VLIG-1 um ca. 50% reduziert, obwohl, wie anhand der Calnexin Ladekontrolle zu erkennen, das aufgetragene Lysatvolumen im Falle der L929 Fibroblasten und BALB/c EF sogar einer höheren Zellzahl als der von C57BL/6J EF entsprach.

Ferner ließen sich in L929 Fibroblasten und BALB/c EF nach IFN- γ Stimulation weiterer Proteinsignale nachweisen, deren apparentes Molekulargewicht und Signalintensität im Vergleich zum VLIG-1 Protein in C57BL/6J EF noch stärker reduziert waren.

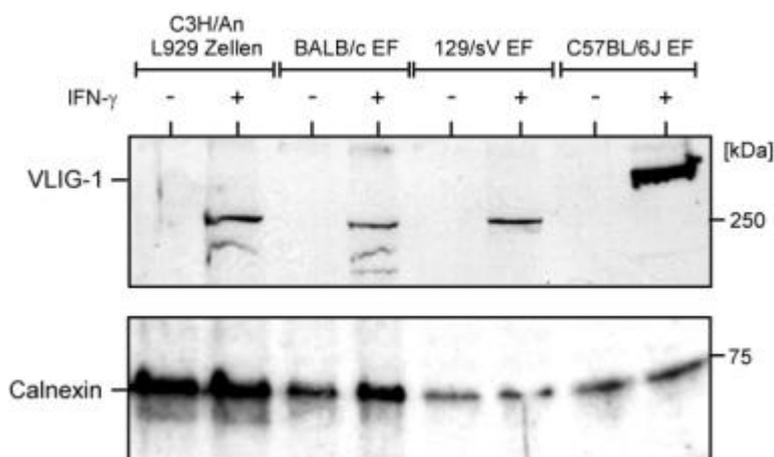


Abbildung 39. Western Blot Analyse der IFN- γ vermittelten Induktion von VLIG-1 in EF, bzw. Fibroblasten Zell-Linien mit unterschiedlichem genetischem Hintergrund. EF isoliert aus C57BL/6J, 129/sV und BALB/C Mäusen, sowie die aus C3H/An stammende Fibroblasten Zell-Linie L929 wurden für 24 h mit 100 U/ml IFN- γ stimuliert und anschließend in TX-100 haltigem Puffer lysiert. Die Zellzahl zum Zeitpunkt der Lyse betrug für C57BL/6J und 129/sV EF ca. 1×10^6 Zellen, für BALB/c EF 2×10^6 und für L929 Fibroblasten 4×10^6 Zellen. Jeweils 15 μ l Zell-Lysat wurden pro Spur geladen und in einem 7.5%igen SDS-Polyacrylamidgel elektrophoretisch aufgetrennt. Zur Detektion wurde das polyklonale α -VLIG-1 VLIG-1/B Antiserum verwendet. Der Nachweis von Calnexin diente zur Ladekontrolle.

Eine erneute Western Blot Analyse von IFN- γ stimulierten BALB/c und C57BL/6J EF, unter Verwendung desselben Antiserums, zeigte nach längerer Expositionszeit, daß auch in BALB/c EF ein induzierbares Proteinsignal nachgewiesen werden konnte, dessen apparentes Molekulargewicht dem von VLIG-1 entsprach, daß aber eine wesentlich geringere

Signalintensität als dieses aufwies, die vergleichbar mit dem von VLIG-1 in unstimulierten C57BL/6J EF war (Abb. 40). Die stärkste Signalintensität in BALB/c EF wies jedoch auch hier ein Protein auf, dessen apparentes Molekulargewicht ca. 50 kDa kleiner als das des VLIG-1 Proteins war (in Abb. 40 mit * markiert). In Übereinstimmung mit zuvor erzielten Western Blot Resultaten wurden mittels des VLIG-1/B Antiserums in C57BL/6J EF weitere IFN- γ induzierbare Proteinsignale mit niedrigerem Molekulargewicht und Signalintensität als VLIG-1 detektiert. Interessanterweise entsprachen diese in ihrem apparenten Molekulargewicht näherungsweise der Hauptproteinbande in BALB/c EF (in Abb. 40 durch * gekennzeichnet), bzw. einem weiterem in diesen Zellen detektierbaren, IFN- γ induzierten Proteinsignal (in Abb. 40 mit ** markiert).

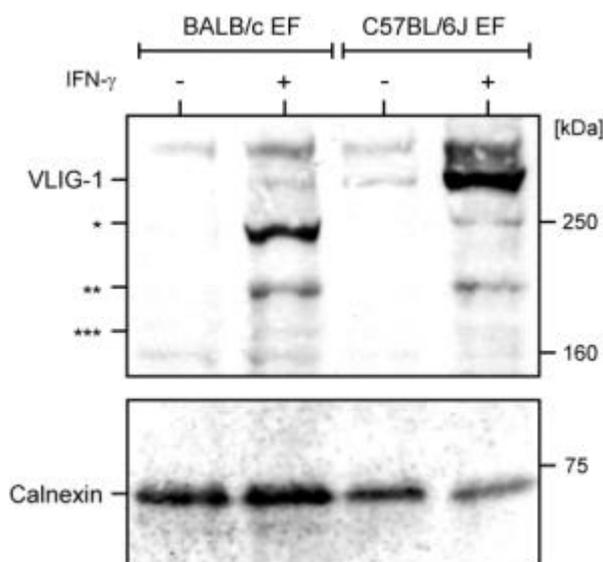


Abbildung 40. Western Blot Analyse der IFN- γ vermittelten Induktion von VLIG-1 in C57BL/6J und BALB/c EF unter Verwendung des α -VLIG-1 VLIG-1/B Antiserums. Jeweils 1×10^6 EF wurden für 24 h mit 100 U/ml IFN- γ induziert und anschließend in TX-100 haltigem Puffer lysiert. Pro Spur wurden 15 μ l des jeweiligen Lysates aufgetragen und in einem 7.5%igen SDS-Polyacrylamidgel elektrophoretisch aufgetrennt. Mit * markierte Signale kennzeichnen induzierte Proteine in C57BL/6J EF, deren apparentes Molekulargewicht niedriger als das kalkulierte des VLIG-1 Proteins ist, die jedoch auch vom eingesetzten Antiserum erkannt werden. Der Nachweis von Calnexin diente als Ladekontrolle.

Der Unterschied zwischen dem C57BL/6J VLIG-1 Protein und den VLIG-ähnlichen Proteinen in anderen Mausem war noch signifikanter in Western Blot Analysen unter Verwendung des α -VLIG-1 VLIG-1/218 Peptidantiserums ausgeprägt (Abb. 41). Mit diesem Antiserum konnte in 129/sV EF nur nach verlängerter Expositionszeit ein sehr schwaches Signal eines VLIG-ähnlichen Proteins detektiert werden. In L929 Zellen ließ sich schon nach 1.5"iger Expositionszeit ein schwaches Signal des VLIG-ähnlichen Proteins nachweisen, jedoch war die Zellzahl zum Zeitpunkt der Lyse im Vergleich zu den anderen Zelltypen hier um das fünffache erhöht. In BALB/c EF war hingegen auch nach längerer Expositionszeit kein VLIG-ähnliches Protein detektierbar.

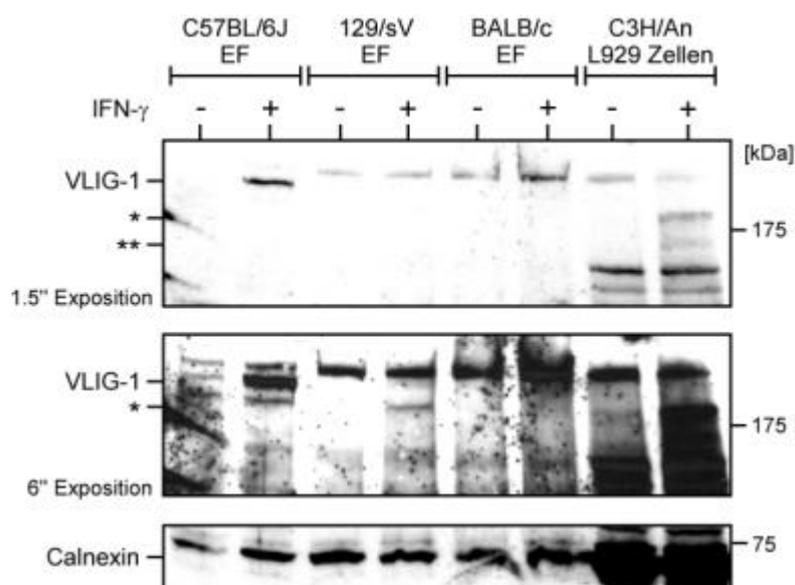


Abbildung 41. Western Blot Analyse der IFN- γ vermittelten Induktion von VLIG-1 in EF und Fibroblasten Zell-Linien mit unterschiedlichem genetischem Hintergrund. EF aus C57BL/6J, 129/sV und BALB/c Mäusen, sowie die aus C3H/An Mäusen stammende Fibroblasten Zell-Linie L929 wurden für 24 h mit 100 U/ml IFN- γ stimuliert und anschließend in TX-100 haltigem Puffer lysiert. Die Zellzahl zum Zeitpunkt der Lyse betrug bei den EF ca. 1×10^6 , während ca. 5×10^6 L929 Fibroblasten lysiert wurden. Pro Spur wurden jeweils 15 μ l Lysat aufgetragen und in einem 7.5%igen SDS-Polyacrylamidgel elektrophoretisch aufgetrennt. Der Nachweis von VLIG-1, bzw. den VLIG-ähnlichen Proteinen erfolgte mit Hilfe des polyklonalen α -VLIG-1 VLIG-1/218 Antiserums, wobei zwei unterschiedliche lange Expositionen gezeigt sind. Der Nachweis von Calnexin diente als Ladekontrolle.

Die Western Blot Resultate in Verbindung mit denen der Northern Blot Analyse unter Verwendung der VLIG-1 3' UTR spezifischen Sonde lieferten eindeutige Hinweise darauf, daß auch bei VLIG-1, ähnlich wie bei den Mx GTPasen und mGBP-1 ein Polymorphismus in Mäusen mit unterschiedlichem Hintergrund existiert.

3.15 Klassifizierung von VLIG-1 als gemischtes IFN- γ Antwortgen

Ein wichtiger Aspekt bei der Klassifizierung der zellulären Antwort auf IFN- γ ist die Unterscheidung zwischen Primär- und Sekundärantwort. Als Unterscheidungskriterium dient dabei, ob die transkriptionelle Aktivierung eines Gens nach IFN- γ Stimulation alleinig durch präformierte Transkriptionsfaktoren erfolgt, oder ob sie von der *de novo* Proteinsynthese sekundärer Transkriptionsfaktoren abhängig ist.

Zur Klassifizierung der Antwortart von VLIG-1 wurde zunächst untersucht, inwieweit der innerhalb der sekundären Antwort auf IFN- γ bedeutende Transkriptionsfaktor IRF-1 in die transkriptionelle Aktivierung von VLIG-1 involviert war, wie durch die Existenz von zwei

potentiell IRF-bindender ISRE Elemente in der putativen VLIG-1 Promotorregion nahegelegt wurde (siehe Abschnitt 3.5).

Dazu wurden EF aus IRF-1^{-/-} Mäusen für 24 h mit 100 U/ml IFN- γ stimuliert und die Induktion von VLIG-1 durch Northern Blot Analysen dokumentiert. Anzumerken ist hierbei, daß die verwendeten IRF-1^{-/-} EF aus Mäusen mit 129/sV genetischem Hintergrund stammten. Aufgrund des zuvor nachgewiesenen Polymorphismus von VLIG-1 in unterschiedlichen Mausstämmen (siehe Abschnitt 3.13), wurde daher nicht VLIG-1 detektiert, sondern ein VLIG-ähnliches Transkript, das mit der vollständigen VLIG-1 cDNA Sonde kreuzhybridisieren konnte und dessen putative Promotorregion jedoch bekannt war. Abbildung 42 zeigt, daß das VLIG-ähnliche Transkript unabhängig von IRF-1 durch IFN- γ induziert wurde. Die leichte Reduktion der Intensität des detektierten Signals in IRF-1^{-/-} EF im Vergleich zu C57BL/6J Wildtyp EF ist in Übereinstimmung mit den zuvor beobachteten Northern Blot Resultaten (Abb. 35). Sie spiegelte vermutlich nicht eine geringe Einflußnahme von IRF-1 in der transkriptionellen Aktivierung des VLIG-ähnlichen Gens wieder, sondern reflektierte eher eine geringere Hybridisierungsstärke der VLIG-1 cDNA Sonde zu dem VLIG-ähnlichen Transkript in 129/sV Mäusen.

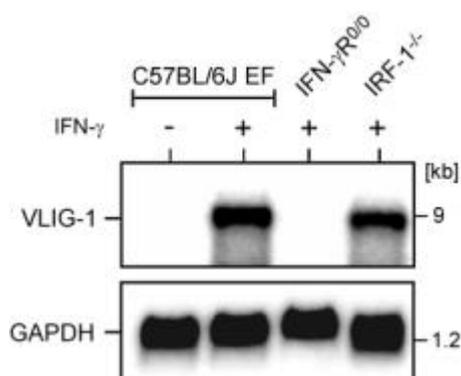


Abbildung 42. Northern Blot Analyse der IFN- γ vermittelten Induktion eines VLIG-ähnlichen Gens in 129/sV IRF-1^{-/-} EF. EF aus C57BL/6J, IRF-1^{-/-} und IFN- γ ^{R0/0} Mäusen wurden für 24 h mit 1000 U/ml IFN- γ stimuliert. Je 10 μ g Gesamt-RNA wurden pro Spur geladen. Als Hybridisierungssonde diente markierte vollständige VLIG-1 cDNA. Die Hybridisierung mit GAPDH als Ladekontrolle ist gezeigt.

Zur Bestimmung ob sekundäre Transkriptionsfaktoren im Allgemeinen an der transkriptionellen Aktivierung von VLIG-1 beteiligt waren, wurden C57BL/6J EF vor und während einer unterschiedlich langen Stimulationsdauer mit 100 U/ml IFN- γ , mit dem Translationsinhibitor Cycloheximid (CHX) inkubiert. Das Antibiotikum CHX hemmt die Peptidyltransferaseaktivität der 60S-Ribosomenuntereinheit bei Eukaryonten, was zur spezifischen Inhibition der Proteinsynthese führt. Zur Kontrolle wurden die Zellen über die gleichen Zeiträume nur mit IFN- γ oder nur mit CHX inkubiert. Als weitere Kontrolle diente die Hybridisierung mit einer

spezifischen mGBP-2 cDNA Sonde, da bekannt war, daß die Mitglieder der p65 GTPase Familie zu IRF-1 abhängigen Genen der Sekundärantwort auf IFN- γ gehören [399, 411, 512].

Abbildung 43 zeigt das Resultat dieser Analyse. Die Induktion von VLIG-1 wurde demnach durch CHX nicht vollständig inhibiert, jedoch, besonders zu einem späteren Zeitpunkt, auf ca. 50% der nur durch IFN- γ Stimulation induzierten Expressionsrate reduziert.

Daher ließ sich VLIG-1 als gemischtes IFN- γ Antwortgen klassifizieren, wobei die frühe Phase der Induktion durch präformierte Transkriptionsfaktoren vermittelt wird, während die *de novo* Proteinsynthese von sekundären Transkriptionsfaktoren erforderlich für die späte Phase der Induktion und dem Erreichen, bzw. der Aufrechterhaltung der maximalen Induktionsrate ist.

In Übereinstimmung mit publizierten Ergebnissen, wird die Induktion von mGBP-2 durch Inhibition der Proteinsynthese massiv reduziert [412, 414]. Ferner bestätigten diese Analysen erneut die rasche und starke Induktion von VLIG-1 (Abb. 28), die schon nach einer Stimulationszeit von 3 h sichtbar wurde.

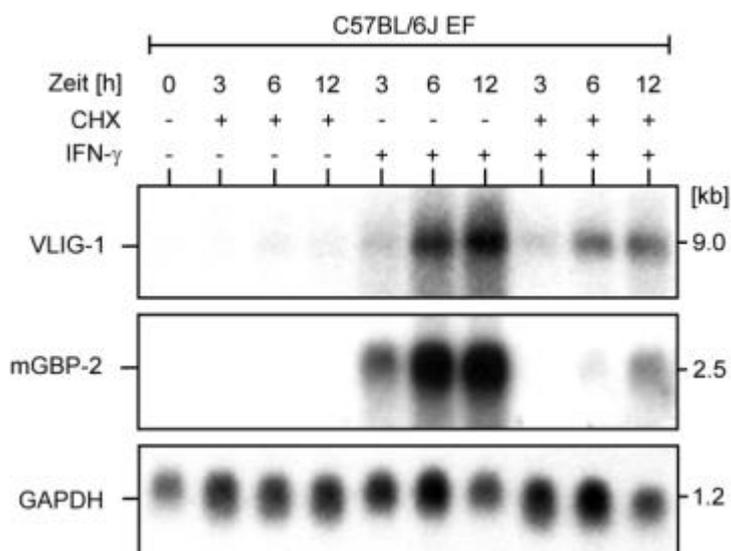


Abbildung 43. Northern Blot Analyse der Antwort-Klassifizierung von VLIG-1 nach IFN- γ Stimulation. C57BL/6J EF wurden über die angegebenen Zeiträume mit 100 U/ml IFN- γ , CHX in einer Endkonzentration von 50 μ g/ml oder CHX + IFN- γ , wobei eine 30'ige Präinkubation mit CHX der Zugabe von IFN- γ voranging, inkubiert. Als Hybridisierungssonde diente vollständige VLIG-1 und mGBP-2 cDNA. Die Hybridisierung mit GAPDH als Ladekontrolle ist gezeigt. Die Expositionszeiten der Autoradiographien waren nicht identisch, wobei mGBP-2 länger exponiert wurde.

3.16 Das VLIG-1 Protein bindet GDP effizienter als GTP

Zur Überprüfung der Guanin-Nukleotid Bindefähigkeit des VLIG-1 Proteins, wie sie durch das Vorhandensein einer putativen GTP-Bindungsdomäne innerhalb der Proteinsequenz nahegelegt wurde, wurden Guanin-Nukleotidagarose Bindungsstudien durchgeführt. Unter identischen Bedingungen wurden parallel dazu Bindungsstudien mit dem Mitglied der p65 GTPase Familie mGBP-2 und dem p47 GTPase Familienmitglied IIGP vorgenommen, deren Nukleotid-Bindungseigenschaften bekannt waren ([404], R. Uthaiyah, Universität zu Köln, persönliche Mitteilung).

C57BL/6J EF wurden für 24 h mit 100 U/ml IFN- γ stimuliert und anschließend entweder in einem TX-100, bzw. CHAPS-haltigem Puffer oder in einem hypotonischem Puffer lysiert. Die Detergenz-haltigen Puffer boten den Vorteil einer effizienteren Zell-Lyse und das Lysat beinhaltete im Gegensatz zu dem des hypotonischen Puffers nicht nur zytoplasmatische sondern auch Membran-assoziierte Proteine. Ein Nachteil der Detergenz-haltigen Puffer war, daß mglw. die Nukleotid-Bindeeigenschaften des zu untersuchenden Proteins beeinflusst werden. Die Lysate wurden anschließend mit Agarose-immobilisiertem GTP, GDP und GMP inkubiert und wie in Material und Methoden beschrieben weiter behandelt. Die Spezifität der Bindungsaktivitäten zu GTP und GDP wurde durch Konkurrenzexperimente unter Zugabe eines Überschusses des jeweiligen freien Nukleotides überprüft. Nach der gelelektrophoretischen Auftrennung der Lysate und dem Transfer auf eine Nitrozellulose Membran, wurde diese in drei, unterschiedliche Molekulargewichtsbereiche repräsentierende Teile zerschnitten und mit den dazu korrespondierenden Antiseren inkubiert.

Bei allen verwendeten Lyse-Puffern konnte die stärkste VLIG-1 Nukleotid-Bindeaktivität für GDP, gefolgt von Agarose-immobilisiertem GTP und GMP beobachtet werden (Abb. 44). Die detektierten VLIG-1 Signale bei Verwendung der Detergenz-haltigen Lyse-Puffer sind im Vergleich zu denen des hypotonischen Puffers stark reduziert, lassen jedoch eine identische VLIG-1 Nukleotid-Bindecharakteristik erkennen. Die Spezifität der VLIG-1 Bindungsaktivitäten konnte mittels Konkurrenzexperimente durch Zugabe von freiem GTP, bzw. GDP gezeigt werden, was zu einer signifikanten, wenn auch nicht völligen Reduzierung der Menge an gebundenem VLIG-1 Protein führte. In unstimulierten C57BL/6J EF konnte ebenfalls eine stärkere Bindung von VLIG-1 an GDP detektiert werden. Aufgrund des sehr niedrigen konstitutiven VLIG-1 Expressionsniveau ist dieser Befund jedoch nur nach einer wesentlich längeren Expositionszeit der Membran zu erkennen (hier nicht gezeigt).

Unter identischen Bedingungen konnte für mGBP-2 nur eine Nukleotid-Bindeaktivität für GTP festgestellt werden und diese auch nur in hypotonischen Zell-Lysaten. Eine Bindung an Agarose-immobilisiertem GDP oder GMP, wie sie bei mGBP-2 und anderen Mitgliedern der p65 GTPase Familie beobachtet werden konnte, war in diesem experimentellen System auch nach längeren Expositionszeiten der Membran nicht nachweisbar. Die in hypotonischem Lyse-Puffer detektierte Bindung von mGBP-2 an GTP ließ sich in Konkurrenzexperimente völlig unterdrücken, was ihre Spezifität bestätigte.

Für das Mitglied der p47 GTPase Familie IIGP konnte in Übereinstimmung mit von R. Uthaiiah (Universität zu Köln, persönliche Mitteilung) erzielten Resultaten, ebenfalls eine stärkere Bindung an Agarose-immobilisiertem GDP, gefolgt von GTP detektiert werden. Diese war jedoch nur in Detergenz-haltigem Lysaten erkennbar, während bei Verwendung des hypotonischen Lyse-Puffers eine, wahrscheinlich unspezifische, gleich starke Bindung an alle Guanin-Nukleotid-Agarose nachweisbar war, die im Gegensatz zur Bindung von IIGP an GDP, bzw. GTP in Detergenz-haltigen Lysaten nicht kompetitierbar war. Unter Verwendung des α -IIGP 165 Antiserums konnte zudem ein weiteres Protein detektiert werden, das ein etwas niedrigeres apparentes Molekulargewicht als IIGP aufwies. Dieses Protein wurde im Gegensatz zu den p47 GTPasen auch in nicht-stimulierten Zellen exprimiert und war ebenfalls in der Lage GTP zu binden.

Der Nachweis aller untersuchten Proteine in hypotonischen Zell-Lysaten weist zudem daraufhin, daß zumindest eine Teilmenge dieser Proteine im Zytoplasma lokalisiert ist.

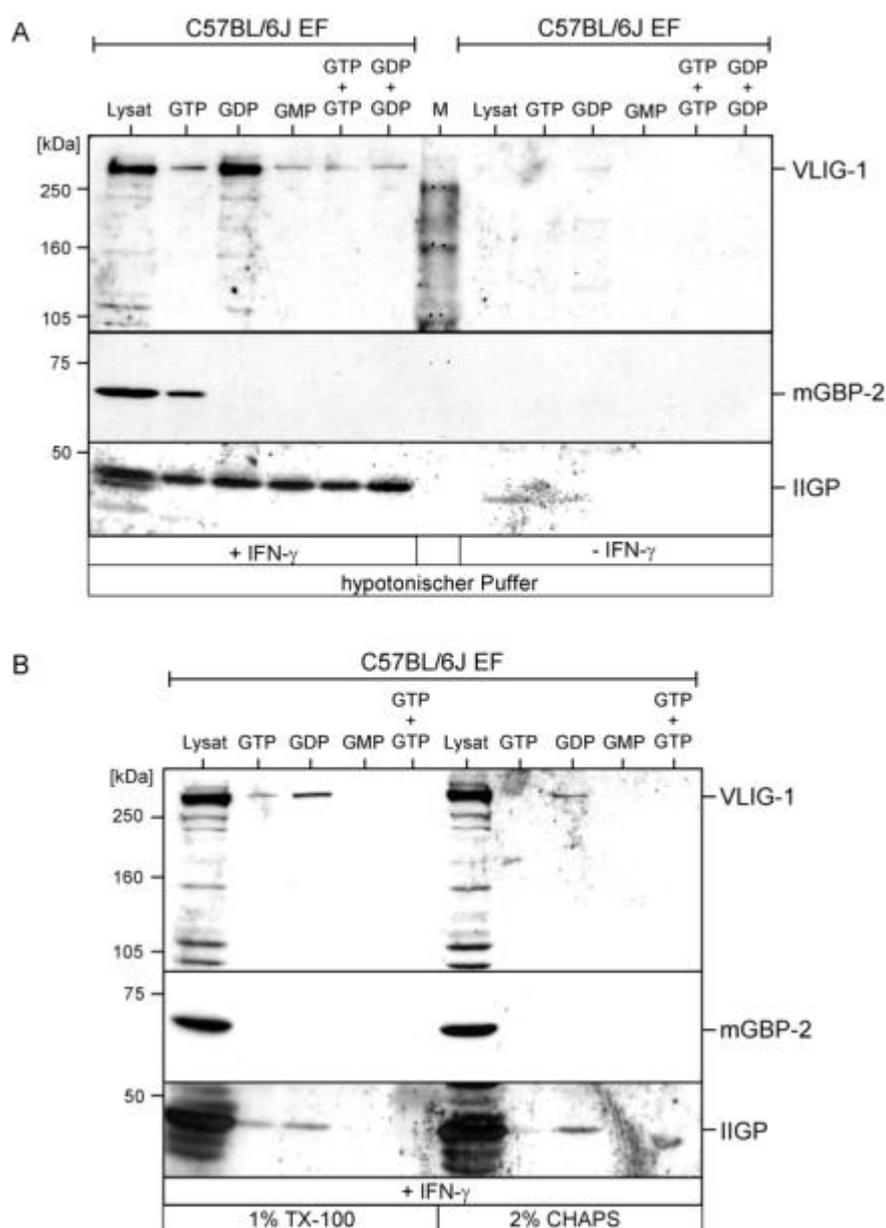


Abbildung 44. Guanin-Nukleotid-Bindestudien von VLIG-1, mGBP-2 und IIGP. C57BL/6J EF wurden für 24 h mit 100 U/ml IFN- γ stimuliert und anschließend in den angegebenen Puffern lysiert. Die Lysate wurden mit Agarose-immobilisiertem GTP, GDP, bzw. GMP inkubiert und die gebundenen Proteine nach mehrfachem Waschen eluiert und auf einem 7.5%igen SDS-Polyacrylamidgel elektrophoretisch aufgetrennt. Nach dem Transfer wurde die Membran in drei Teile zerschnitten und mit zur Proteindetektion mit dem jeweils angegebenen Antiserum inkubiert. Als Antiseren wurde α -VLIG-1 VLIG-1/B, α -IIGP 165, sowie α -mag1 (α -mGBP-1), das ebenfalls das mGBP-2 Protein erkennt, verwendet. Als Spezifitätskontrolle der Proteinbindung an GTP, bzw. GDP wurden Konkurrenzexperimente unter Zugabe von freiem GTP respektive GDP durchgeführt. Als Induktionkontrolle wurden hypotonische Lysate unstimulierter C57BL/6J EF verwendet. Die mit M markierte Spur wurde mit einem Proteingrößenmarker beladen. **A**, Die Zell-Lyse erfolgte in hypotonischem Puffer. **B**, Die Zell-Lyse erfolgte in 1% TX-100, bzw. 2% CHAPS-haltigem Puffer.

3.17 Interaktionspartner des VLIG-1 Proteins konnten nicht identifiziert werden

Die Fähigkeit des VLIG-1 Proteins Guanin-Nukleotide zu binden legt nahe, daß es auch eine inherente GTPase-Aktivität besitzt und somit als molekularer Schalter fungiert, der mit anderen Makromolekülen interagiert und infolge des unidirektionalen GTP-Hydrolysezyklus seine Affinität zu diesen ändern kann.

Daher sollten mögliche zelluläre Interaktionspartner von VLIG-1 mit Hilfe von Ko-Immunopräzipitations-Analysen ermittelt werden. Als Ausgangsmaterial dienten hierfür Zell-Lysate von C57BL/6J EF, die für 24 h mit 100 U/ml IFN- γ stimuliert oder unbehandelt blieben. Die Zell-Lyse erfolgte einerseits in hypotonischem Lysis-Puffer, so daß das Lysat nur die zytoplasmatische Proteinfraction enthielt und andererseits in TX-100 haltigem Puffer, so daß das daraus resultierende Lysat die, bis auf im Nukleus lokalisierte Proteine, gesamte Proteinfraction der Zelle repräsentierte. Die Ko-Immunopräzipitation erfolgte unter Verwendung des polyklonalen α -VLIG-1 VLIG-1/B Antiserums, wie in Material und Methoden beschrieben. Als Kontrolle diente eine Western Blot Analyse unter Verwendung eines hypotonischen Zell-Lysates von nicht radioaktiv markierten Zellen und des aus der Ko-Immunopräzipitation des TX-100 haltigen Zell-Lysates hervorgegangenen Eluates, sowie des α -VLIG-1 VLIG-1/B Antiserums.

Wie schon zuvor beobachtet (Abb. 35), ließ sich das VLIG-1 Protein mit dem verwendeten Antiserum präzipitieren, wobei das präzipitierte Material einen relativ hohen Hintergrund anscheinend unspezifisch präzipitierter Proteine, die sowohl in Präzipitaten der nicht stimulierten als auch der stimulierten Zellen vorhanden waren, aufwies. Ferner konnte auch hier wieder ein hochmolekulares Artefakt beobachtet werden, daß jedoch nur im Präzipitat der unstimulierten, mit TX-100 haltigem Lyse-Puffer aufgeschlossenen Zellen, auftrat. Zusätzlich konnten Proteinsignale detektiert werden, die nur in den Präzipitaten der IFN- γ stimulierten Zellen auftraten (in Abb. 45A mit * markiert), wobei ein einem Protein von ca. 65 kDa entsprechendes Signal in mit hypotonischem Puffer aufgeschlossenen Zellen besonders prominent war und auf einen möglichen zellulären VLIG-1 Interaktionspartner hindeutete.

In der Western Blot Analyse des hypotonischen, nicht radioaktiv markierten Zell-Lysates konnte jedoch ebenfalls dieses Proteinsignal und zusätzlich noch weitere Signale, mit einem geringeren apparenten Molekulargewicht als das des VLIG-1 Proteins (in Abb. 45B mit einem + markiert), nachgewiesen werden. Somit handelte es sich bei dem ca. 65 kDa großen Protein nicht um einen putativen Interaktionspartner von VLIG-1, sondern vielmehr um ein Proteinfragment, oder um ein unbekanntes, Interferon-induziertes Protein, welches von dem verwendeten ebenfalls Antiserum

erkannt wurde. Ein Teil der detektierten Signale niedrigeren Molekulargewichtes konnte dabei bereits in zuvor durchgeführten Western Blot Analysen nachgewiesen werden (Abb. 26, 32 und 34).

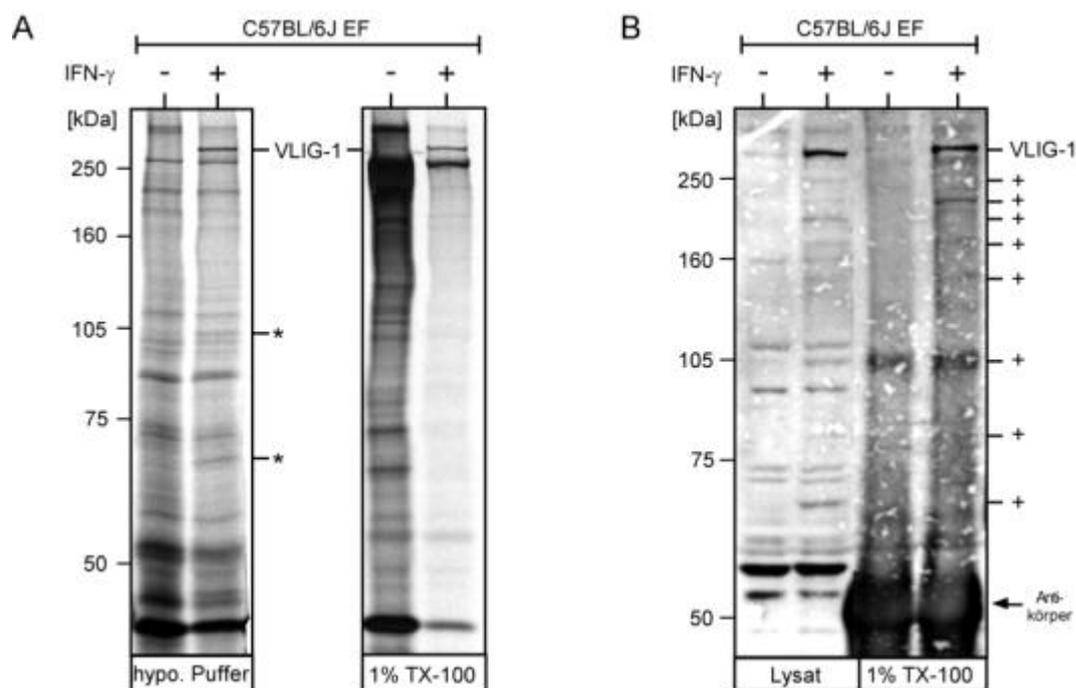


Abbildung 45. Identifizierung von putativen VLIG-1 Interaktionspartnern mit Hilfe von Ko-Immunopräzipitation. Bei stimulierten Zellen erfolgte das gesamte Experiment in kontinuierlicher Anwesenheit von 100 U/ml IFN- γ . C57BL/6J EF wurden für 24 h in normalem Nährmedium kultiviert, das anschließend für 1 h durch Methionin-freies Hungermedium ersetzt wurde. Die nachfolgende biosynthetische Markierung mit [35 S]-Methionin erfolgte für 3 h bevor die Zellen in 1% TX-100 haltigem, oder hypotonischem Puffer lysiert und ein jeweils 5×10^6 cpm entsprechendes Volumen der Lysate in einer Immunopräzipitation, unter Verwendung des α -VLIG-1 VLIG-1/B Antiserums eingesetzt wurden. **A**, Die Präzipitate wurden auf einem 7.5%igem SDS-Polyacrylamidgel elektrophoretisch aufgetrennt und radioaktiv markierte Proteine mittels Autoradiographie detektiert. Putative VLIG-1 Interaktionspartner sind mit * markiert. **B**, Als Kontrolle wurden 1×10^6 C57BL/6J EF für 28 h mit 100 U/ml IFN- γ stimuliert und in hypotonischem Puffer lysiert. Das Lysat wurde anschließend auf einem 7.5%igem SDS-Polyacrylamidgel aufgetrennt und Proteine unter Verwendung des α -VLIG-1 VLIG-1/B Antiserums in einer normalen Western Blot Analyse detektiert. Zusätzlich erfolgte eine Western Blot Analyse des 5×10^6 cpm entsprechenden Volumens des TX-100 Präzipitates. Proteinsignale mit einem niedrigeren apparenten Molekulargewicht als VLIG-1 sind mit + markiert.

3.18 Subzelluläre Lokalisierung des VLIG-1 Proteins

Eine computergestützte Vorhersage und der zuvor erbrachte Nachweis des VLIG-1 Proteins in hypotonischen Zell-Lysaten die nur die zytoplasmatische Proteinfraction enthielten (Abb. 44) legte nahe, daß das VLIG-1 Protein zumindest zu einem Teil im Zytoplasma lokalisiert war.

Zur genaueren Analyse der subzellulären Lokalisierung des VLIG-1 Proteins wurden einerseits eine subzelluläre Fraktionierung und andererseits Fluoreszenzanalysen von transient das

EGFP-VLIG-1 Fusionsprotein exprimierenden Zellen, bzw. indirekte Immunofluoreszenz Analysen das VLIG-1 Protein endogen exprimierender Zellen durchgeführt.

Bei der subzellulären Fraktionierung wurden C57BL/6J EF für 24 h mit 100 U/ml IFN- γ stimuliert und anschließend durch zwei unterschiedlichen Methoden aufgeschlossen, wobei die zellulären Proteine durch Zentrifugation jeweils in eine lösliche und eine Partikelsediment Fraktion separiert wurden (siehe Material und Methoden). Die Verteilung des VLIG-1 Proteins innerhalb der Fraktionen wurde anschließend durch eine Western Blot Analyse dokumentiert (Abb. 46). Erfolgte die Zell-Lyse durch mechanisches Scheren in einem hypotonischen Puffer, so ließ sich das VLIG-1 Protein hauptsächlich im Überstand, also in der zytoplasmatischen Proteinfraction nachweisen. Die Zell-Lyse in einem isotonischen Puffer, der das nichtionische Detergenz NP-40 enthielt, veränderte nicht die Verteilung des VLIG-1 Proteins. Auch in diesem Puffer konnte das VLIG-1 Protein vorwiegend in der löslichen Proteinfraction detektiert werden. Ein vergleichbares Resultat konnte auch für die Verteilung des VLIG-ähnlichen Proteins in L929 Fibroblasten mit C3H/An genomischen Hintergrund beobachtet werden (hier nicht gezeigt). Im Gegensatz dazu ist die Verteilung der ER-Membran assoziierten p47 GTPase IGTP, sowie des immanenten ER Proteins Calnexin, abhängig von der zur Zell-Lyse angewandten Methode. Während IGTP und Calnexin in hypotonischem Puffer in der Partikelsediment Fraktion detektiert wurden, waren sie nach Zell-Lyse in NP-40 haltigem Puffer nahezu ausschließlich in der löslichen Fraktion nachweisbar. Die subzelluläre Fraktionierung bestätigte demnach die vornehmlich zytoplasmatische Lokalisierung des VLIG-1 Proteins.

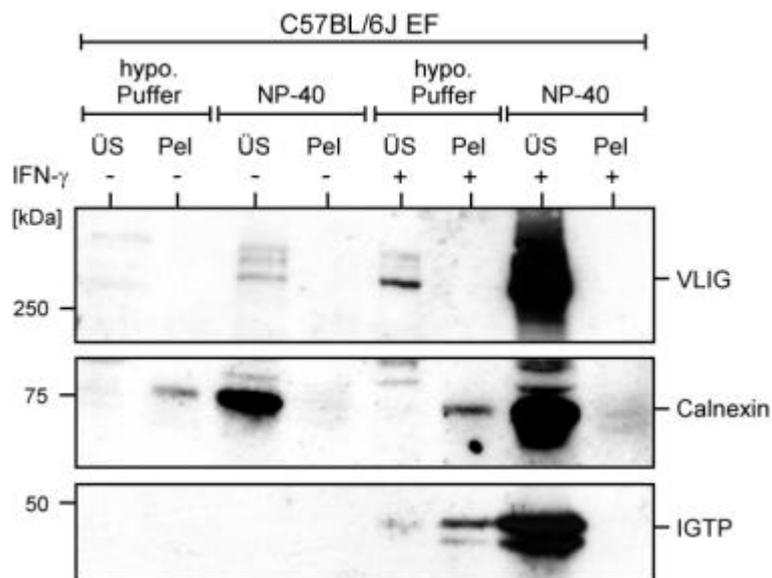


Abbildung 46. Western Blot Analyse der subzellulären Lokalisierung des VLIG-1 Proteins. C57BL/6J EF wurden für 24 h mit 100 U/ml IFN- γ stimuliert und die zellulären Proteine durch zwei verschiedene Methoden (siehe Text) in eine Partikelsediment und eine lösliche Fraktion aufgetrennt. Der Nachweis von VLIG-1 erfolgte mit dem α -VLIG-1 VLIG-1/B Antiserum. Als Kontrolle diente der Nachweis der ER-Membran assoziierten p47 GTPase IGTP, sowie des im ER lokalisierten Proteins Calnexin.

Zur genaueren Bestimmung der subzellulären Lokalisierung des VLIG-1 Proteins erfolgte die transiente Expression des EGFP-VLIG-1 Fusionsproteins in L929 Fibroblasten mit 129/sV genomischen Hintergrund (siehe Material und Methoden). Die Transfektionsrate der Zellen war, trotz experimenteller Optimierung, mit nur ca. 2% transfizierter Zellen sehr niedrig. Abbildung 47 zeigt ein typisches Beispiel einer EGFP-VLIG-1 exprimierenden Zelle. Deutlich zu erkennen war die zytoplasmatische Lokalisierung des Proteins, wobei die Fluoreszenzintensität in der unmittelbar den Nukleus umgebenden Region am höchsten war und zur äußeren Zellmembran hin abnahm. Vergleichbare Ergebnisse konnten auch nach der Transfektion von C57BL/6J EF, deren Transfektionsrate noch geringer war, beobachtet werden (hier nicht gezeigt).

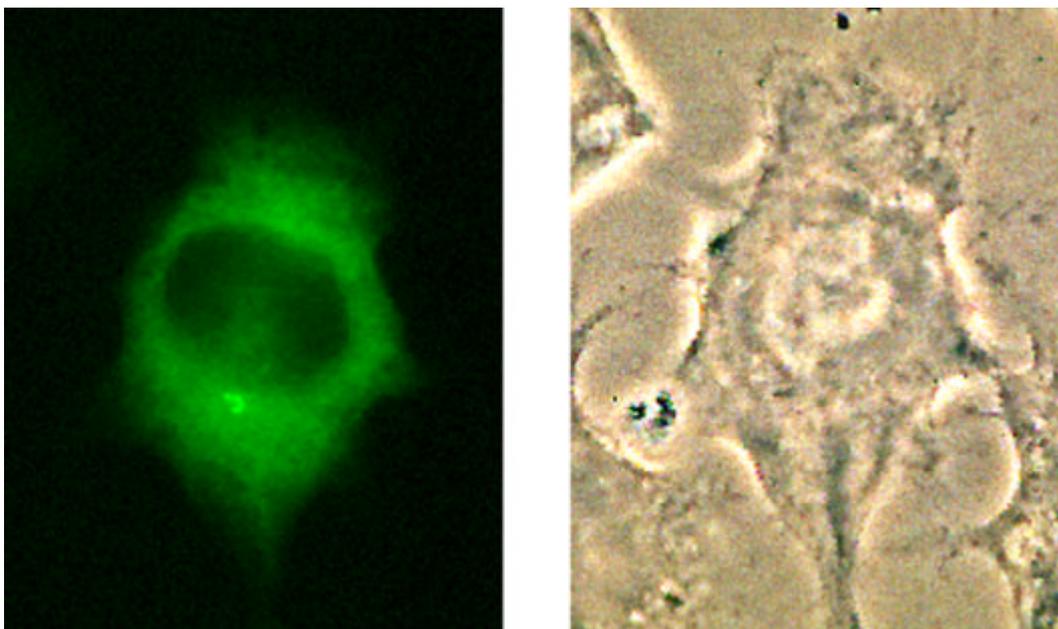


Abbildung 47. Analyse der subzellulären Lokalisierung des EGFP-VLIG-1 Fusionsproteins. Nicht-stimulierte L929 Fibroblasten wurden mit pEGFP-VLIG-1 transfiziert und 24 h nach der Transfektion fixiert. Neben dem EGFP-Fluoreszenzbild (links) ist die korrespondierende Phasenkontrastaufnahme (rechts) gezeigt.

Bei ca. 40% der mit pEGFP-VLIG-1 transfizierten L929 Fibroblasten konnte zusätzlich zu einer zytoplasmatischen Fluoreszenz eine starke Fluoreszenz des Nukleus festgestellt werden. Diese war stets mit einer Deformation des Nukleus, bzw. der Ausbildung einer polynuklearen Zelle einhergehend. Zudem konnten in diesen Zellen teilweise lokal konzentrierte, punktförmige Strukturen und Ausstülpungen der äußeren Plasmamembran beobachtet werden (Abb. 48). Die beobachteten Deformationen korrelierten dabei mit der Stärke der Expression des Fusionsprotein und traten generell nur in stark exprimierenden Zellen auf.

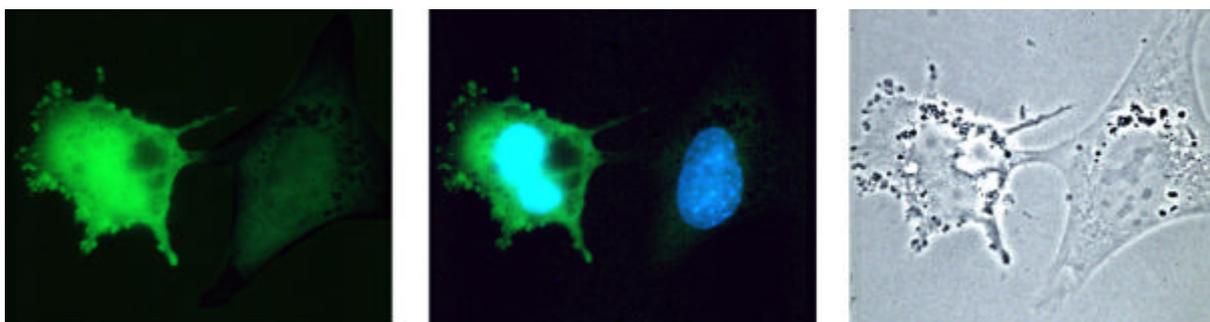


Abbildung 48. Analyse der subzellulären Lokalisierung des EGFP-VLIG-1 Fusionsproteins. Nicht-stimulierte L929 Fibroblasten wurden mit pEGFP-VLIG-1 transfiziert und 24 h nach der Transfektion fixiert. Zusätzlich zum EGFP-Fluoreszenzbild (links) ist die korrespondierende Phasenkontrastaufnahme (rechts), sowie die Überlagerung des EGFP-Fluoreszenzbildes mit dem Fluoreszenzbild der spezifischen Anfärbung der Nuklei mittels DAPI (mitte) gezeigt. Neben der transfizierten Zelle ist eine nicht-transfizierte Zelle, mit einem normal ausgebildeten Nukleus zu erkennen.

In nachfolgenden Experimenten, bei denen nicht-stimulierte, das EGFP-VLIG-1 Fusionsprotein transient exprimierende L929 Fibroblasten zusätzlich einer Immunofluoreszenz Analyse unter Verwendung des α -VLIG-1 Antiserum VLIG-1/218 unterzogen wurden, konnte gezeigt werden, daß es sich bei den punktförmigen Strukturen nicht um VLIG-1 unspezifische Strukturen handelte, da diese ebenfalls spezifisch durch das eingesetzte Antiserum erkannt wurden. Bei der in Abbildung 49 gezeigten Zelle lassen sich ebenfalls mehrere, kleinere Nuklei erkennen, in denen das EGFP-VLIG-1 Fusionsprotein in diesem Falle jedoch nicht nachweisbar war.

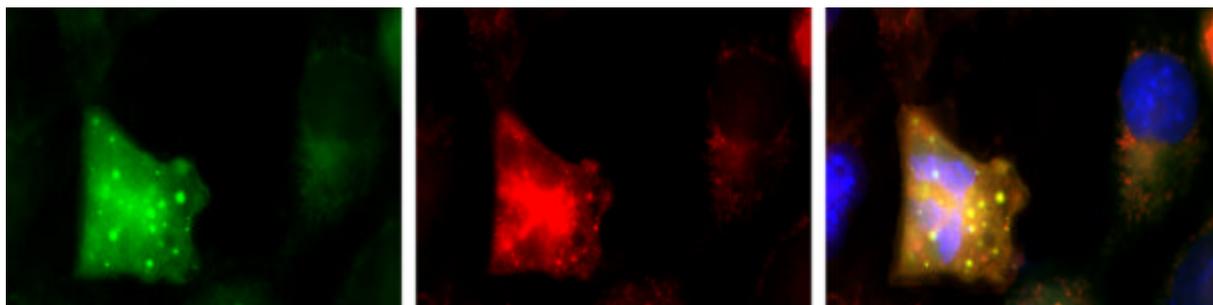


Abbildung 49. Analyse der subzellulären Lokalisierung des EGFP-VLIG-1 Fusionsproteins. Nicht-stimulierte L929 Fibroblasten wurden mit pEGFP-VLIG-1 transfiziert und 24 h nach der Transfektion fixiert. Vor der Fixierung erfolgte zusätzlich eine Anfärbung der Nuklei mittels DAPI und eine Immunofluoreszenz Analyse unter Verwendung des α -VLIG-1 Antiserum VLIG-1/218 und eines monoklonalen Ziege- α -Kaninchen-Cy3 gekoppelten Antikörpers als sekundärem Antikörper. Die Abbildungen zeigen von links nach rechts das GFP-Fluoreszenzbild (grün), das Cy3-Fluoreszenzbild (rot), sowie deren übereinander gelegte Bilder, inklusive des DAPI-Fluoreszenzbildes. Regionen in denen die Fluoreszenz übereinstimmt sind gelb gefärbt, der Nukleus erscheint in blauer Farbe.

In L929 Fibroblasten bei denen keinerlei Zelldeformationen feststellbar waren, ist das EGFP-VLIG-1 Fusionsprotein, wie schon zuvor beobachtet, im Zytoplasma lokalisiert, wobei die höchste Fluoreszenzintensität in der den Nukleus umgebenden Region beobachtet werden konnte. Die Verteilung des Fusionsproteins konnte dabei durch eine Immunofluoreszenz Analyse unter Verwendung des polyklonalen α -VLIG-1 Peptid-Antiserum VLIG-1/218, welches in der Lage ist das Fusionsprotein zu detektieren, bestätigt werden (Abb. 50).

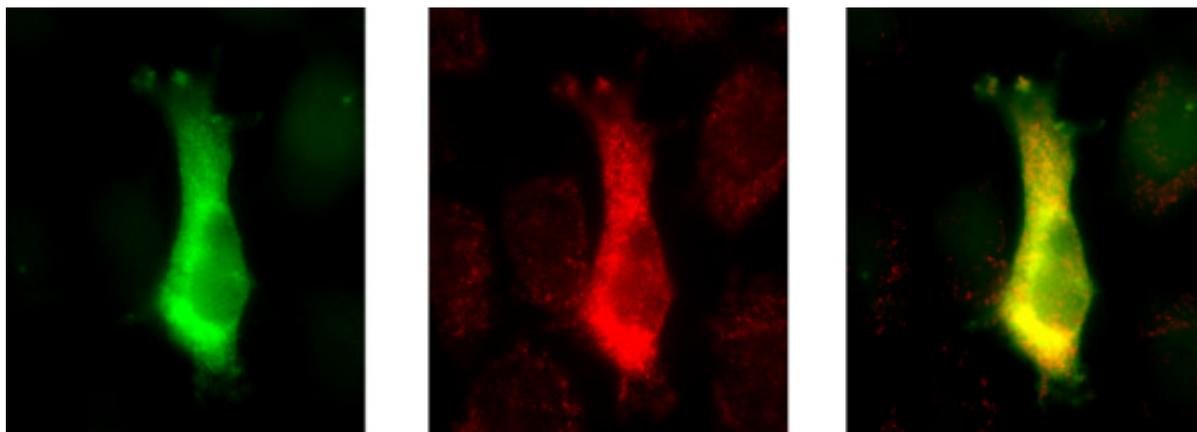


Abbildung 50. Analyse der subzellulären Lokalisierung des EGFP-VLIG-1 Fusionsproteins. Nicht-stimulierte L929 Fibroblasten wurden mit pEGFP-VLIG-1 transfiziert und 24 h nach der Transfektion fixiert. Vor der Fixierung erfolgte zusätzlich eine Immunofluoreszenz Analyse unter Verwendung des α -VLIG-1 Antiserums VLIG-1/218 und eines monoklonalen Ziege- α -Kaninchen-Cy3 konjugierten Antikörpers als sekundärem Antikörper. Die Abbildungen zeigen von links nach rechts das GFP-Fluoreszenzbild (grün), das Cy3-Fluoreszenzbild (rot), sowie deren übereinander gelegte Bilder, wobei Regionen in denen die Fluoreszenz übereinstimmt in gelber Farbe erscheinen.

Die vorangegangenen Analysen zur subzellulären Lokalisierung des VLIG-1 Proteins deuteten daraufhin, daß VLIG-1 primär zytoplasmatisch lokalisiert ist. Ferner wurde jedoch auch deutlich, daß eine Überexpression des Fusionsproteins mglw. toxisch für die Zellen ist, bzw. zur Ausbildung von zellulären Deformationen führt. Um dieses Problem und die nur sehr geringen Transfektionsraten zu umgehen wurde schließlich die subzelluläre Lokalisierung des endogenen in C57BL/6J EF exprimierten VLIG-1 Proteins mit Hilfe des α -VLIG-1 Antiserum VLIG-1/218, welches wie zuvor gezeigt in Immunofluoreszenz Analysen eingesetzt werden konnte, untersucht.

C57BL/6J EF wurden für 24 h mit 100 U/ml IFN- γ stimuliert und anschließend einer indirekten Immunofluoreszenz Analyse (siehe Material und Methoden) unterzogen. Als Vergleich dienten dabei nicht-stimulierte EF. Wie in Abbildung 51 zu erkennen, konnte in nicht-stimulierten Zellen eine geringe Fluoreszenzintensität beobachtet werden, die punktförmig im oder am Nukleus konzentriert war und mglw. das konstitutiv in diesen Zellen exprimierte VLIG-1 Protein repräsentierte. Nach der Stimulation der Zellen mit IFN- γ ließ sich eine drastische Zunahme der Fluoreszenzintensität feststellen, so daß davon ausgegangen werden konnte, daß die mittels des verwendeten α -VLIG-1 Antiserums detektierten Signale weitestgehend spezifisch für das VLIG-1 Protein waren. Die Verteilung der Fluoreszenzsignale in stimulierten EF ließ sich dabei in zwei Klassen unterteilen. In ca. 60% der Zellen konnte eine granuläre zytoplasmatische Verteilung der Signale detektiert werden, die einen vom Nukleus ausgehenden und bis zur äußeren Zellmembran reichenden Intensitätsgradienten bildete. Im oder am Nukleus lokalisierte Signale ließen sich in diesen Zellen nicht, oder nur in geringem Maße beobachten. Im Gegensatz dazu konnte bei den

verbleibenden 40% der EF eine verstärkte Fluoreszenzintensität im oder am Nukleus feststellen, die begleitet von einem granulärem, zytoplasmatischen Verteilungsmuster der Fluoreszenzsignale wurde. Die Intensität der zytoplasmatisch lokalisierten Signale wies in diesen Zellen ebenfalls einen vom Nukleus ausgehenden Intensitätsgradienten auf. Die Intensität der zytoplasmatisch lokalisierten Signale fiel dabei im Vergleich zu denen von EF ohne nukleare Fluoreszenzsignale jedoch geringer aus.

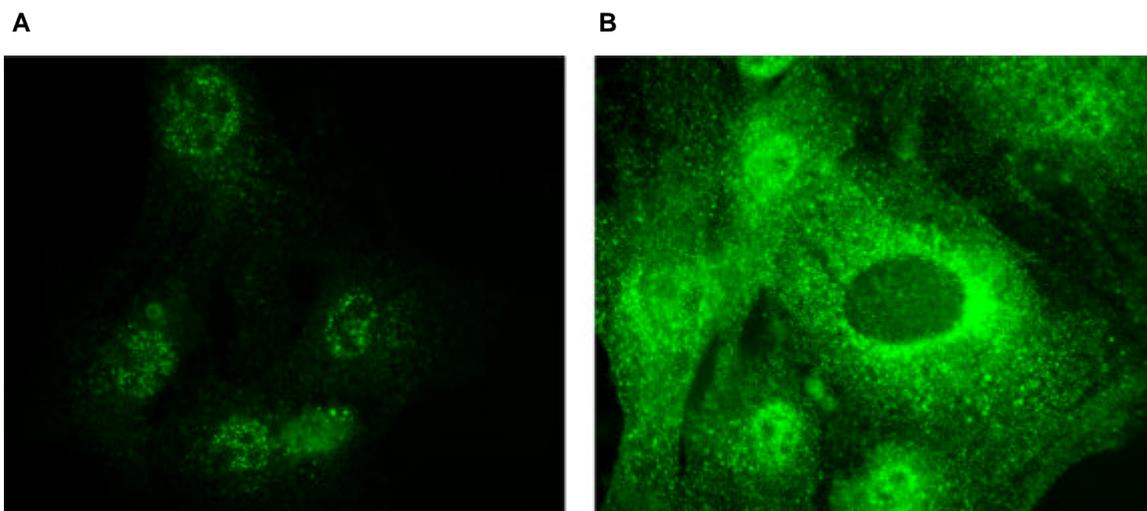


Abbildung 51. Analyse der subzellulären Lokalisierung des endogen exprimierten VLIG-1 Proteins. Für 24 h mit 100 U/ml IFN- γ stimulierte, bzw. nicht-stimulierte C57BL/6J EF wurden mit 3% Paraformaldehyde fixiert, mit Saponin permeabilisiert und anschließend die subzelluläre Lokalisierung von VLIG-1 mit Hilfe des α -VLIG-1 Antiserums VLIG-1/218 und eines monoklonalen, FITC-konjugierten Ziege- α -Kaninchen Antikörpers nachgewiesen. **A**, Fluoreszenzbild nicht-stimulierter C57BL/6J EF. **B**, Fluoreszenzbild IFN- γ stimulierter C57BL/6J EF.

4. Diskussion

An den komplexen zellulären Antworten auf Interferon-Typ I und Typ II sind jeweils mehrere hundert Gene pro Einzelzelle beteiligt, die sich größtenteils spezifischen, in der angeborenen und erworbenen Immunität funktionellen, zellulären Programmen zuordnen lassen ([4, 50, 89, 149, 240], siehe auch Anhang). Verschiedene dieser Programme vermitteln dabei zellautonome Resistenzen gegenüber unterschiedliche infektiöse Pathogene. Anhand neuerer Untersuchungen gibt es zunehmend Beweise dafür, daß Mitglieder mehrerer, Interferon-regulierter GTPase Familien fundamentale Bestandteile dieser zellautonomen Resistenzprogramme repräsentieren.

Die zellautonome, direkte antivirale Resistenz die von den, selektiv durch Interferon-Typ I induzierten, zur Dynamin-Familie gehörenden, Mx GTPasen vermittelt wird, gilt dabei als gesicherte Erkenntnis [352, 353, 513]. Erst vor kurzem konnte zudem gezeigt werden, daß Mitglieder der durch Interferon-Typ I und Typ II induzierten p47 und p65 GTPase Familie von zentraler Bedeutung in zelltypübergreifenden, zellautonomen Resistenzprogrammen gegen virale, bakterielle und/oder protozoische Pathogene sind [434, 441, 444, 446].

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit gelang es mit VLIG-1 eine völlig neue Interferon-induzierte GTPase zu identifizieren, deren grundlegenden molekularen und biochemischen Eigenschaften charakterisiert wurden. Im Hinblick auf die potentielle biologische Funktion von VLIG-1 innerhalb der zellulären Antworten auf Interferone, sollen die ermittelten Charakteristika von VLIG-1 mit denen der p47 und p65 GTPasen verglichen werden.

4.1 Identifizierung von VLIG-1 cDNA Fragmenten mit Hilfe der SSH-Technik

cDNA Fragmente von VLIG-1 wurden erstmalig in einer vergleichenden Analyse der zellulären Antwort auf IFN- γ in Fibroblasten und Makrophagen entdeckt [399, 409]. VLIG-1 cDNA Fragmente konnten sowohl aus einer SSH-Bank von IFN- γ stimulierten C57BL/6J embryonischen Fibroblasten (EF), als auch aus einer Bank von IFN- γ + TNF- α stimulierten ANA-1 Makrophagen isoliert werden (siehe 3.1). Im Unterschied zu den p47 und p65 GTPasen, waren VLIG-1 spezifische cDNA Fragmente in beiden SSH-Banken nur mit einer geringen Frequenz vertreten. So konnten aus der EF SSH-Bank zwei und aus der ANA-1 SSH-Bank sogar nur ein VLIG-1 spezifisches cDNA Fragment isoliert werden, was einer Frequenz von 1.4%, respektive 1.7% entsprach. cDNA Fragmente von Mitgliedern der p65, bzw. p47 GTPasen Familie konnten hingegen mit einer Frequenz von 3% (GTPI) bis 17% (mGBP-2) aus der EF SSH-Bank und 3%

(IIGP, TGTP/Mg21) bis 18% (mGBP-2) aus der ANA-1 SSH-Bank isoliert werden [399, 409]. Aufgrund der hohen Frequenz und Gesamtzahl von cDNA Fragmenten der p47, bzw. p65 GTPasen in beiden SSH-Banken wurde postuliert, daß diese GTPase Familien die zelluläre Antwort auf IFN- γ in den untersuchten Zelltypen dominieren und ihre Induktion in diesem Sinne einen fundamentalen Aspekt der IFN- γ Antwort darstellt [399, 409].

Der Frequenzunterschied zwischen cDNA Fragmenten von VLIG-1 und den p47, bzw. p65 GTPasen basierte vermutlich darauf, daß die SSH-Technik die Identifikation qualitativ induzierter Gene favorisiert. Dadurch werden bevorzugt Fragmente solcher cDNAs angereichert, deren Häufigkeit in den unstimulierten und stimulierten Zellen große Unterschiede aufweisen [409, 488]. Die überdurchschnittlich hohe Repräsentation von Mitgliedern der p65 und p47 GTPase Familie in den SSH-Banken resultierte daher einerseits aus der Häufigkeit ihrer Transkripte in der mRNA-Population der induzierten Zellen und andererseits besonders aus ihrem praktisch nicht vorhandenem Expressionsniveau in unstimulierten Zellen ([399, 409], siehe auch Abb. 25 und 27). Im Gegensatz zu den p47 und p65 GTPasen konnte eine, wenn auch nur sehr geringe, konstitutive Expression von VLIG-1 in unstimulierten Fibroblasten und Makrophagen detektiert werden (Abb. 25 und 28). Diese wirkte sich wahrscheinlich reduzierend auf die Anreicherung von VLIG-1 cDNA Fragmenten in den SSH-Banken aus. Ein signifikanter Unterschied zwischen dem Expressionsniveau von VLIG-1 und den p65, bzw. p47 GTPasen in IFN- γ stimulierten Zellen ließ sich hingegen nicht nachweisen und kann daher nicht als Begründung für die niedrigere Frequenz von VLIG-1 cDNA Fragmenten in den SSH-Banken herangezogen werden. In einer zur Isolierung vollständiger cDNA Klone hergestellten, unsubtrahierten λ -cDNA Bank aus IFN- γ stimulierten EF traten VLIG-1 spezifische Klone mit einer Frequenz von 0.4% auf, die vergleichbar mit denen der von mGBP-2 (1.9%), IIGP (0.7%) und GTPI (0.1%) war [409]. Durch die in dieser Arbeit durchgeführten vergleichenden Northern Blot Analysen konnte das annähernd identische Expressionsniveau von VLIG-1 und Mitgliedern der p47, bzw. p65 GTPase Familien in IFN- γ stimulierten EF und Makrophagen bestätigt werden (Abb. 25, 27, 36 und 37).

Basierend auf dem hohen Expressionsniveau von VLIG-1 in IFN- γ stimulierten Zellen, kann auch dieses Gen, wie zuvor schon die p47 und p65 GTPasen [399, 409], als fundamentaler Bestandteil der zellulären Antwort auf IFN- γ charakterisiert werden.

4.2 Analyse der VLIG-1 cDNA Klone

Der größte VLIG-1 cDNA Klon (VLIG-1/Klon A) der aus einer unsubtrahierten λ -cDNA Bibliothek IFN- γ stimulierter C57BL/6J EF isoliert werden konnte, umfaßte 8988 bp und kodierte für ein Protein von 2427 aa mit einem vorhergesagtem Molekulargewicht von 281 kDa. (Abb. 6). Die Größe des cDNA Klons und das vorhergesagte Molekulargewicht des Proteins entsprachen der in Northern Blot Analysen detektierten Transkriptgröße (Abb. 25), bzw. dem durch Western Blot Analysen ermittelten apparenten Molekulargewicht von VLIG-1 (Abb. 26). Daher wurde angenommen, daß Klon A die vollständige cDNA von VLIG-1 darstellt. Nachfolgend wurde jedoch ein zum 5' Ende von VLIG-1/Klon A identischer EST (GenBank Nr.: AI098949, isoliert aus der Leber von C57BL Mäusen) identifiziert, der fünf zusätzliche Nukleotide stromaufwärts des 5' Endes von Klon A besaß. Die Sequenz dieser Nukleotide konnte durch die genomische VLIG-1 Sequenz bestätigt werden (siehe Anhang). Daher ist es wahrscheinlich, daß das identifizierte 5' Ende von VLIG-1/Klon A nicht die eigentliche Transkriptions-Initiationsstelle repräsentiert und die vollständige cDNA von VLIG-1 geringfügig größer ist. Die Sequenz der CDS von VLIG-1 würde davon jedoch nicht beeinflußt werden.

Mit der ermittelten cDNA Größe von annähernd 9 kb und dem kalkuliertem Molekulargewicht von 281 kDa charakterisiert VLIG-1 das größte Interferon-induzierte Gen, das bisher identifiziert werden konnte ([89, 149]und siehe Anhang).

Zusätzlich zu Klon A konnte ein 8749 bp großes, alternatives Spleißprodukt von VLIG-1 (VLIG-1/Klon B) identifiziert werden, dem Exon 2 und 3 des 5' UTR von VLIG-1 fehlten. (Abb. 7 und 14). Die Identifizierung eines ESTs (GenBank Nr.: AW106860), dessen Sequenz identisch zum verkürztem 5' UTR von Klon B ist, bestätigt, daß VLIG-1/Klon B kein technisch bedingtes Artefakt war. Beide VLIG-1 Klone besaßen eine identische CDS und repräsentierten somit unterschiedliche Isoformen von VLIG-1. Entsprechend einer insgesamt viermal vorhandenen Polyadenylierungs-Signalsequenz im 3' UTR von VLIG-1 (Abb. 6), konnten weitere VLIG-1 cDNA Klone mit verkürzten 3' UTRs identifiziert werden, die ebenfalls VLIG-1 Isoformen darstellten.

In einer Zelle könnten daher gleichzeitig verschiedene Isoformen von VLIG-1 vorliegen, die sich nur in der Länge ihrer 5' UTR und/oder 3' UTR unterscheiden. Die unterschiedlichen Größen der UTRs sind mglw. von Bedeutung bei der post-transkriptionellen Regulation der VLIG-1 Expression. Durch eine modifizierte Translationseffizienz oder Veränderung der mRNA Stabilität

[514, 515] könnten die VLIG-1 Isoformen im temporalen Verlauf der VLIG-1 Induktion durch IFN- γ jeweils spezifische Eigenschaften aufweisen. Es wäre daher interessant zu überprüfen, inwiefern innerhalb der zellulären Antwort auf IFN- γ eine präferentielle Induktion einer spezifischen VLIG-1 Isoform stattfindet, oder ob die verschiedenen Isoformen in gleichem Maße vertreten sind.

4.3 Analyse der Struktur und biochemischen Eigenschaften des VLIG-1 Proteins

4.3.1 Analyse der VLIG-1 GTP-Bindungsdomäne und Identifizierung des G4-Motivs

Das einzige nachweisbare Proteinmotiv in VLIG-1 war eine GTP-Bindungsdomäne, die aus den drei kanonischen Sequenzmotiven G1-G4 gebildet wurde (Abb. 6). VLIG-1 repräsentiert somit ein neues Mitglied der GTPase Superfamilie, auch wenn eine dem Protein inhärente GTPase Aktivität noch explizit gezeigt werden muß. Durch einen Größenvergleich zwischen VLIG-1 und den bisher bekannten Mitgliedern der GTPase Superfamilie, ließ sich VLIG-1 zudem als die weitaus größte, bisher bekannte GTPase charakterisieren.

Das putative G4-Motiv von VLIG-1 (NQLD; Position aa 1773-1776), das zur kanonischen Sequenz ((N/T)(K/Q)XD) identisch ist, wies einen für GTPasen ungewöhnlich großen Abstand zu dem eindeutig identifizierten G1-, bzw. G3-Motiv auf und repräsentiert daher nicht unbedingt das funktionelle G4-Motiv (Abb. 6). Bei den p65 GTPasen, von denen bisher angenommen wurde, daß sie kein G4-Motiv besitzen [401], konnte die diesem Motiv entsprechende Sequenzregion anhand biochemischer Analysen erst vor kurzem identifiziert werden [416]. Die Sequenz des p65 G4-Motivs wies dabei signifikante Unterschiede zur kanonischen Sequenz auf, war jedoch analog zu diesem für die Spezifität der Guaninerkennung verantwortlich [416]. Ein zur G4-Konsensussequenz ((T/A)(L/V)RD) der p65 GTPasen identisches Motiv kann im VLIG-1 Protein nicht identifiziert werden. Den p65 GTPasen entsprechend, könnte jedoch auch bei VLIG-1 eine spezifisch abgewandelte Form des kanonischen G4-Motives existieren. Die innerhalb der üblichen G-Motiv-Abstände [381] liegende (QKLD) Sequenz (aa-Position 1639) von VLIG-1 (Abb. 6) ist hierbei von besonderem Interesse. Im Gegensatz zum postulierten G4-Motiv (NQLD) und anderen potentiellen G4-Motiven, existiert eine konservierte (QKLD) Sequenz in allen Mitgliedern der murinen VLIG-Familie, von denen die entsprechende Proteinsequenzregion vorliegt [457], sowie auch in dem putativen Ratten und humanem VLIG-Homolog (siehe Anhang). Die gezielte Mutation der potentiellen G4-Motive und nachfolgende biochemische Analysen der

Nukleotidbindeaktivität, bzw. -spezifität der mutierten Proteine, sollten die Identifizierung des funktionellen G4-Motives von VLIG-1 ermöglichen.

4.3.2 Analyse der strukturellen Verwandtschaft der VLIG-1 GTP-Bindungsdomäne zu der von anderen GTPasen

Aufgrund der ausgeprägten Diversität der von GTPasen regulierten zellulären Funktionen [380, 381, 383], erlaubt die bloße Existenz einer GTP-Bindungsdomäne in VLIG-1 keine direkten Rückschlüsse auf die biologische Funktion des Proteins. Durch eine phylogenetische Stammbaumanalyse konnte allerdings gezeigt werden, daß VLIG-1 und die an zellautonomen Resistenzprogrammen beteiligten p47, p65 und Mx GTPasen, eine eigene Untergruppe innerhalb der GTPase Superfamilie bilden (Abb. 10). Andere Interferon-induzierte GTPasen, wie z.B. der Transkriptionsaktivator CIITA [391] oder Mitglieder der GP-1 Familie [389, 390] ließen sich hingegen nicht dieser Unterfamilie zuordnen. Somit existiert eine spezifische strukturelle Verwandtschaft zwischen der GTP-Bindungsdomäne von VLIG-1 und denen der p47, p65, bzw. Mx GTPasen.

Da die Funktion der GTPasen als molekularer Schalter von einer funktionellen GTP-Bindungsdomäne abhängt [380, 383] könnte die strukturelle Verwandtschaft der VLIG-1, p65, p47 und Mx GTP-Bindungsdomänen auf ähnliche biochemische Eigenschaften oder Funktionsweisen der Proteine hindeuten und wichtige Anhaltspunkte für eine biochemische Charakterisierung von VLIG-1 liefern.

Das VLIG-1 G1-Motiv wies den höchsten Homologiegrad zu dem des Mx1-Proteins auf, während das G3-Motiv eine größere Sequenzähnlichkeit zu denen der p65 GTPasen mGBP-1, bzw. mGBP-2 besaß. Der Homologiegrad zur GTP-Bindungsdomäne der p47 GTPase IIGP fiel hingegen niedriger aus (Abb. 11). Durch kristallographische Studien, sowie biochemischer Analysen des humanen GBP-1 Proteins konnte eine plausible strukturelle und biochemische Verbindung der p65 GTPasen mit der Dynamin-Familie, zu denen auch die Mx GTPasen zählen, hergestellt werden [416, 429, 430]. In neueren Übersichtsartikeln werden die p65 GTPasen daher in die Dynamin-Familie eingegliedert [431]. Die G-Motive und die sie umgebenden Sequenzregionen von VLIG-1 weisen demnach eine verwandte Signatur zu der an Prozessen der Vesikelbildung und des vesikulären Transportes, oder an antiviralen Resistenzprogrammen (vermittelt von den Mx und p65 GTPasen) beteiligten Dynamin-Familie auf [431, 516].

Außerhalb der GTP-Bindungsdomäne konnte jedoch keine signifikante Sequenzhomologie von VLIG-1 zu Proteinen dieser Familie festgestellt werden. Eine auf der primären Struktur

basierende Verbindung von VLIG-1 zur Dynamin-Familie existiert daher nicht. Möglicherweise besteht jedoch, wie auch bei den p65 GTPasen, die ebenfalls keine direkte Sequenzverwandtschaft zu den Dynaminen besitzen, eine auf biochemischen und strukturellen Gemeinsamkeiten beruhende Verbindung [416, 429, 430]. Eine charakteristische Eigenschaft aller Proteine der Dynamin-Familie ist dabei ihre Fähigkeit der Selbstassemblierung zu höher geordneten Oligomeren auf spezifischen Matrizen, wie sie auch bei den Mx und p65 GTPasen beobachtet werden konnte [358, 429-431, 516-518]. Es wäre daher von großem Interesse die Fähigkeit zur Oligomerisierung auch bei VLIG-1 zu untersuchen, da sie einen weiteren Anhaltspunkt für eine mögliche Verbindung von VLIG-1 zur Dynamin-Familie liefern würde.

4.3.3 Biochemische Charakterisierung des VLIG-1 Proteins

Die intrinsische Guanin-Nukleotid Bindungsaktivität des endogen exprimierten VLIG-1 Proteins wurde durch Untersuchungen unter Verwendung von Guanin-Nukleotidagarosen nachgewiesen und die Bindungsspezifität durch Kompetitionsexperimente verifiziert (Abb. 44). Das VLIG-1 Protein wies dabei, unabhängig von dem zur Zell-Solubilisierung verwendeten Puffer, durchgehend eine höhere Bindungsaffinität zu Agarose-immobilisiertem GDP, gefolgt von GTP und GMP auf. Die höhere Bindungspräferenz für GDP könnte bedeuten, daß VLIG-1 innerhalb der Zelle solange in einem inaktiven Zustand vorliegt oder vorliegen muß, bis Guanylat-Austauschfaktoren ("guanylate exchange factors", GEFs) den Austausch von GDP zu GTP katalysieren und VLIG-1 somit aktivieren ([380, 383], siehe auch Abb. 5). Eine derartige, von GEF-abhängige Aktivierung konnte sowohl bei der kleinen GTPase p21^{ras} als auch beim bakteriellen Elongationsfaktor EF-Tu beobachtet werden, die beide sehr hohe Bindungsaffinitäten für GDP besitzen [519, 520].

Neben der Regulation von VLIG-1 auf transkriptioneller Ebene und mglw. auf post-transkriptioneller Ebene (4.2), würde eine Aktivitätsregulation von VLIG-1 durch GEFs ein weiteres Kontrollsystem für die zelluläre Funktion von VLIG-1 darstellen. Durch die in dieser Arbeit durchgeführten Ko-Immunopräzipitationen konnten jedoch keine potentiellen Interaktionspartner von VLIG-1 identifiziert werden (Abb. 45).

Die ermittelten biochemischen Eigenschaften von VLIG-1 lassen Gemeinsamkeiten zu denen an zellautonomen Resistenzprogrammen beteiligten GTPasen erkennen, was ebenfalls auf eine putative, funktionelle Verbindung hindeutet. So konnte auch bei der murinen Mx1 GTPase und der p47 GTPase IIGP eine höhere Affinität für GDP nachgewiesen werden ([521], R. Uthaiyah, Universität zu Köln, persönliche Mitteilung). Die höhere Affinität von IIGP für GDP ließ sich in

den durchgeführten Nukleotid-Bindungsstudien bestätigen (Abb.44). Für die humane MxA GTPase liegen hingegen kontroverse Resultate vor, da einerseits eine höhere Affinität für GTP und andererseits eine GDP Bindungspräferenz beschrieben wurden [521, 522]. Eine charakteristische Eigenschaft der p65 GTPasen ist die Bindung aller Guanin-Nukleotide mit nahezu nicht unterscheidbaren Affinitäten [400, 401, 410, 416, 418]. In den durchgeführten Studien zur Nukleotidbindung konnte diese Eigenschaft für mGBP-2 nicht festgestellt werden (Abb. 44), obwohl sie in früheren Publikationen bereits beschrieben, wenn auch nicht gezeigt wurde [404, 427].

Anhand der Sequenzanalyse der GTP-Bindungsdomäne von VLIG-1 und der biochemischen Eigenschaften des Proteins läßt sich somit eine Verbindung zu den an zellautonomen Resistenzprogrammen beteiligten GTPasen erkennen. Wobei VLIG-1 die meisten Gemeinsamkeiten zu den Mx GTPasen aufzeigte.

4.4 Analyse der genomischen Struktur von VLIG-1

Die genomische Struktur von VLIG-1 wurde durch die kombinierte Analyse von Maus Genom Datenbanken, Southern Blot Analysen und Sequenzierung C57BL/6J genomische DNA tragender BAC-Klone ermittelt (Abb. 12-13, siehe auch [457]). VLIG-1 ist auf dem Maus Chromosom 7, Bande D2 lokalisiert, wobei die gesamte VLIG-1 CDS inklusive der 3' UTR von einem einzigem, 8708 bp großem, intronlosem Exon (Exon 4) kodiert wird. Im Gegensatz dazu ist der 5' UTR des Gens auf drei Exons von geringer Größe aufgeteilt, die durch z.T. sehr große Introns unterbrochen werden (Abb. 14 und siehe Anhang).

Eine vergleichbare genomische Struktur weist das nicht Interferon-regulierte, vermutlich an Chaperon-vermittelten Proteinfaltungsprozessen beteiligte ARSACS-Gen auf, dessen intronlose CDS mit 11.5 kb sogar noch die Größe des VLIG-1 Exons 4 übertrifft [523]. Weitere große, intronlose Gene werden von Mitgliedern der an Signaltransduktions Prozessen beteiligten, G-Protein gekoppelten Rezeptor (GPCR) Superfamilie gestellt, von denen angenommen wird, daß mehr als 90% keine Introns im ORF besitzen [524, 525]. Bei einem Mitglied dieser Superfamilie, PUMA-G, konnte eine IFN- γ vermittelte, auf Makrophagen beschränkte Induktion gezeigt werden (A. Schaub, 2001, zur Publikation eingereicht).

Bei Mitgliedern der p47 GTPase Familie, wie IIGP, GTPI, IRG-47, TGTP/Mg21 und IGTP ließen sich ebenfalls keine Introns in ihrer CDS nachweisen [409, 446], während in den genomischen

Loci (inklusive der CDS) der p65 GTPasen mGBP-1, mGBP-2 und mGBP-3, sowie der Mx-Proteine eine Vielzahl von Introns existieren [426, 433, 443, 526].

Intronlose Gene sind relativ selten (maximal 5% der humanen Gene) und wahrscheinlich das Resultat eines als Retrotransposition/Retroinsertion bezeichneten Mechanismus, bei dem die mRNA eines Gens revers transkribiert und mittels Retroviren oder Retroposons in das Genom reintegriert wird [527]. Die Retrotransposition erzeugt dabei oftmals Retro-Pseudogene, auch prozessierte Pseudogene genannt, die nichtkodierend sind und aufgrund des fehlenden Selektionsdruckes eine Vielzahl von Insertionen und Deletionen aufweisen können [527]. Dementsprechend konnten auch mehrere mit VLIG-1 sequenzverwandte Pseudogene identifiziert werden [457]. Durch eine Retrotransposition können dennoch auch kodierende, sogenannte Retrogene entstehen, bei denen nachträglich integrierte Introns hauptsächlich im 5' UTR vorzufinden sind [524, 525, 527]. Demgemäß ließen sich auch bei VLIG-1 und den p47 GTPasen Introns nur in deren 5' UTR nachweisen (Abb. 14, [409, 446] und S. Martens, Universität zu Köln, persönliche Mitteilung). Es wird vermutet, daß diese Intronsequenzen infolge der Insertion eines Introns durch Rekombination oder durch die Erzeugung von Spleißstellen mittels Mutationen, bzw. kleinerer Insertionen entstehen [524, 525]. Ein möglicher selektiver Vorteil intronloser Gene basiert auf ihrer effizienteren Transkription und erhöhten Expression, da ein posttranskriptionelles Spleißen nicht mehr, oder nur noch eingeschränkt erforderlich ist [524, 525].

4.5 Aufbau und Struktur der murinen VLIG-Familie

Die Bildung von kleineren Genfamilien in der Maus ist eine Gemeinsamkeit aller Interferon-regulierter, an zellautonomen Resistenzprogrammen beteiligter GTPasen [399, 402, 404-406, 424, 435-439, 510, 511, 528].

Über die Gründe die im Laufe der Evolution zur Ausbildung dieser Genfamilien führten, läßt sich nur spekulieren. Denkbar wäre es, daß u.U. mehrfach erfolgte Genduplikationen dazu führten, eine einmal entstandene, erfolgreich gegen spezifische infektiöse Pathogene "getestete" Proteinstruktur zu vervielfältigen und durch nachfolgende Diversifikation der Duplikate, bei Beibehaltung oder Veränderung des Wirkmechanismus, das Wirkspektrum zu erweitern. Der Nukleotidsequenz-Identitätsgrad, den die verschiedenen Mitglieder der jeweiligen GTPase Familien untereinander aufweisen, kann dabei als Maß der Diversifikationsgeschwindigkeit, bzw. des entwicklungsgeschichtlichen Alters der Familie herangezogen werden, wobei eine größere

Heterogenität innerhalb einer Familie zudem auf nicht-redundante Funktionen der jeweiligen Mitglieder hindeutet. Diese Annahme wird bestätigt durch einen Vergleich der Struktur der p47 GTPase Familie mit der subzellulären Lokalisierung und Funktion ihrer Mitglieder. So sind die Sequenzen der p47 GTPasen sehr heterogen zueinander, was sich auch in ihrer jeweils spezifischen subzellulären Lokalisierung und, sofern bekannt, in den spezifischen, von ihnen vermittelten Pathogenresistenzen widerspiegelt ([409, 441, 442, 444, 529], S. Martens, Universität zu Köln, persönliche Mitteilung).

Durch Analysen im Rahmen der Bestimmung der genomischen Struktur von VLIG-1 konnte, ähnlich zu den p47, p65 und Mx GTPasen, eine mehrere Gene umfassende VLIG-Familie in der Maus nachgewiesen werden (Abb. 12 und 13).

Die VLIG-Familie in C57BL/6J Mäusen umfaßt dabei mindestens 9 exprimierte Mitglieder und ist somit größer als die der murinen p65 und Mx GTPasen, die aus vier, respektive zwei Mitgliedern bestehen [399, 402, 404-406, 424, 510, 511, 528]. Aufgrund ihrer Mitgliederzahl ist die murine VLIG-Familie eher vergleichbar mit der p47 GTPase Familie, bei der neben den sechs bisher veröffentlichten Mitgliedern [399, 435-439], noch sieben weitere Mitglieder entdeckt wurden (S. Martens, Universität zu Köln, persönliche Mitteilung). Im Gegensatz zur p47 GTPase Familie, weist die VLIG-Familie jedoch eine ausgesprochene Homogenität auf, da ihre Mitglieder auf Nukleotidebene zu 80-95% identisch zueinander sind [457]. Dies bedeutet, daß es sich bei der VLIG-Familie um eine entwicklungsgeschichtlich jüngere oder nur wesentlich langsamer diversifizierende Familie handelt. Im Vergleich zu den p47 GTPasen könnte diese große Homogenität innerhalb der VLIG-Familie zusätzlich bedeuten, daß die Mitglieder redundante zelluläre Funktionen ausüben.

Die VLIG-Familie könnte durch eine einmalig erfolgte Retrotransposition eines Vorläufers und mehreren aufeinanderfolgenden Genduplikationen via Rekombination entstanden sein, worauf besonders eine gekoppelte Lokalisation mehrerer Familienmitglieder hindeuten würde [524]. Es wäre jedoch auch denkbar, daß mehrere Retrotranspositionereignisse in Verbindung mit Rekombinationen zu den Genduplikationen führten. Ein Indiz für diese Entstehungsvariante, wäre die Verteilung der Familienmitglieder auf verschiedenen Chromosomen, wie es bei der intronlosen GPCR-Familie beobachtet werden konnte [524]. Analysen der Maus-Genom Datenbanken erbrachten bisher keinerlei Hinweise, daß Mitglieder der VLIG-Familie über verschiedene Chromosomen verteilt sind. Vielmehr konnte für die meisten Mitglieder der C57BL/6J VLIG-Familie gezeigt werden, daß ihre Genloci auf Chromosom 7, Bande D2 gekoppelt vorliegen, was ein einmaliges Retrotranspositionereignis nahelegt. Eine gekoppelte

Lokalisierung für einige Familienmitglieder konnte auch bei den p47 und p65 nachgewiesen werden [409, 433].

Die Herkunft der meisten mit VLIG-1 sequenzverwandten ESTs deutete daraufhin, daß Mitglieder der VLIG-Familie konstitutiv präferentiell in professionellen Zellen des Immunsystems, bzw. in von hämatopoetischen Zellen dominierten Geweben exprimiert werden [457]. Eine mit VLIG-1 vergleichbar hohe konstitutive Expression in der Milz von C57BL/6J Mäusen konnte durch eine RT-PCR-Analyse für ein Mitglied der VLIG-Familie, als VLIG-2 bezeichnet, bestätigt werden (Abb. 17). Das Verteilungsmuster der konstitutiven Expression der VLIG-Familienmitglieder könnte bedeuten, daß die VLIG-Familie insgesamt eine Funktion mit immunologischer Relevanz ausübt.

Im Rahmen der Sichtung der aus IFN- γ stimulierten Zellen generierten SSH- oder λ -cDNA-Bibliotheken konnte keines der zu VLIG-1 sequenzverwandten Gene identifiziert werden. Eine RT-PCR Analyse der C57BL/6J EF λ -cDNA-Bibliothek mittels spezifischer Primer für diverse Mitglieder der VLIG-Genfamilie erbrachte ebenfalls keine Hinweise auf eine konstitutive, oder gar induzierte Expression dieser Gene in IFN- γ stimulierten Fibroblasten (Abb 16). Ebenso konnten in den durchgeführten RPA-Analysen, unter Verwendung von Gesamt-RNA aus IFN- γ stimulierten C57BL/6J EF-Zellen und verschiedener VLIG-1 spezifischer RNA-Sonden, keine zusätzlichen, IFN- γ induzierten Transkriptsignale von geringer Größe als das kalkulierte VLIG-1 Signal nachgewiesen werden (Abb. 28).

VLIG-1 repräsentiert daher bisher das einzige Mitglied dieser Genfamilie in C57BL/6J Mäusen, dessen Expression in embryonischen Fibroblasten durch IFN- γ induziert werden kann.

In einer vor kurzem erschienenen Publikation konnte jedoch die IFN- γ vermittelte Induktion eines zu VLIG-1 sequenzverwandten, aus C57BL Mäusen stammenden ESTs (GenBank Nr.: AA177731) in EF-Zellen und Makrophagen gezeigt werden [366]. Die zum Nachweis verwendete RNA stammte dabei jedoch von IFN- γ stimulierten Zellen aus IFN- α/β Rezeptor defizienten Mäusen mit 129/sV genomischen Hintergrund. Ferner erfolgte der Induktionsnachweis durch Hybridisierung der markierten RNA mit einem "Gen-Chip", der verschiedene, jedoch nur zu einem einzigen C57BL/6J VLIG-1 Homolog korrespondierende ESTs trug. Aufgrund des Polymorphismus von VLIG-1 in verschiedenen Mausstämmen (4.7) erscheint es als sehr wahrscheinlich, daß das beobachtete Ergebnis auf einer Kreuzhybridisierung des aus 129/sV Zellen stammenden, IFN- γ induzierbaren VLIG-1 Homologes, mit dem aus C57BL/6J Mäusen stammenden, nicht induzierbarem VLIG-Familienmitglied zurückzuführen ist. Ein direkter

Nachweis der IFN- γ abhängigen Induktion von anderen Mitgliedern der C57BL/6J VLIG-Familie wurde somit bisher nicht erbracht.

4.6 Speziesübergreifende Analyse der VLIG-Familie

Durch Sichtung von EST-Datenbanken konnte gezeigt werden, daß zu VLIG-1 sequenzverwandte Gene neben der Maus auch in anderen Vertebraten, wie dem Zebrafisch (*Danio rerio*), Krallenfrosch (*Xenopus laevis*), Ratte (*Rattus norvegicus*), Schwein (*Sus scrofa*), Rind (*Bos taurus*) und Mensch (*Homo sapiens*) exprimiert werden (Tabelle 4 und 5). In Nicht-Vertebraten, wie z.B. der Fruchtfliege (*Drosophila melanogaster*), dem Fadenwurm (*Caenorhabditis elegans*), oder der Hefe (*Sacharomyces cervisiae*) konnten hingegen weder auf Transkript noch auf genomischer Ebene zu VLIG homologe Gene oder Fragmente von diesen identifiziert werden.

VLIG charakterisiert somit ein Vertebraten-spezifisches Gen, welches innerhalb der evolutionären Entwicklung dieses Tierstammes konserviert wurde.

Die der murinen VLIG-1 (mVLIG-1) CDS entsprechende genomische Sequenz des humanen (hVLIG-1) und Ratten Homologs (rVLIG) konnten vollständig und die des Zebrafischs partiell bestimmt werden (siehe Anhang). Das ebenfalls intronlose rVLIG wies eine zu mVLIG-1 hochkonservierte Nukleotid- und Proteinsequenz auf (Abb. 22 und Anhang), wodurch nahelegt wird, daß rVLIG eine ähnliche zelluläre Funktion wie mVLIG-1 ausübt. Das auf Chromosom 15, Bande p15+4 lokalisierte hVLIG-1 (Abb. 19) besaß auf genomischer Ebene ebenfalls eine zu mVLIG-1 hochkonservierte, kollinear verlaufende Sequenz (siehe Anhang). Kleinere Deletionen und Einzelbasenaustausche, deren Richtigkeit teilweise bestätigt werden konnte, führen jedoch dazu, daß die vorhergesagte Proteinsequenz von hVLIG-1, die vermutlich von mehreren Exons kodiert wird, in spezifischen Bereichen divergierend zu mVLIG-1 war (Abb. 20), was sich auch in einem niedrigerem kalkuliertem Molekulargewicht widerspiegelte. Aufgrund der hohen Fehlerrate der veröffentlichten humanen Genomsequenz bleibt die Vorhersage der cDNA, bzw. Proteinsequenz von hVLIG-1 zwar rein spekulativ, dennoch läßt sich vermuten, daß auch die Funktion von hVLIG-1 signifikante Unterschiede zu der von mVLIG-1 aufweisen könnte. Unterstützt wird diese Annahme durch vorläufige Untersuchungen zur IFN- γ vermittelten Induktion von hVLIG-1 in HeLa Zellen, die keine Hinweise auf eine mögliche Induktion von hVLIG-1 erbrachten [457]. Die geringe Anzahl der mit mVLIG-1 sequenzverwandten ESTs, sowie die Analyse der Genomdatenbanken wies zudem darauf hin, daß in den untersuchten Spezies keine oder nur eine sehr kleine VLIG-Familie existiert.

Die Verteilung von Mitgliedern der VLIG-Genfamilie in den verschiedenen Spezies weist deutliche Parallelen zur murinen p47 GTPase Familie auf. Im Gegensatz zur Maus konnten in anderen Vertebraten bisher nur wenige zu den p47 GTPasen sequenzverwandte Gene identifiziert werden und ähnlich zur VLIG-Familie existieren mglw. nicht-induzierte p47 GTPasen (S. Martens, Universität zu Köln, persönliche Mitteilung).

Die Existenz nur eines oder sehr weniger humaner Homologe der VLIG- und p47 GTPase Familie könnte bedeuten, daß die Funktion dieser GTPasen im Menschen von jeweils einem oder mehreren anderen Proteinen kompensiert wird. Die inaktivierenden Rezeptoren von NK-Zellen sind hierbei exemplarisch für Proteine die im Maus und im Menschen strukturell nicht miteinander verwandt sind, jedoch äquivalente Funktionen ausüben. So werden diese NK-Zellrezeptoren in der Maus von den zur Typ-C Lektin-Superfamilie gehörenden Ly49 Proteinen gebildet, während die funktionellen Analoge des Menschen ("Killer cell Ig-like receptors"; KIRs) Mitglieder der Immunoglobulin-Superfamilie repräsentieren [530, 531]. Andererseits ist es durchaus auch möglich, daß die biologische Funktion der VLIG und p47 GTPasen im Menschen tatsächlich völlig fehlt und nicht von anderen Proteinen kompensiert wird. Die zelluläre Funktion der p47 und VLIG GTPasen wäre demnach ein Maus-spezifisches Charakteristikum.

4.7 Analyse des VLIG-1 Polymorphismus

Eine weitere Gemeinsamkeit für einen Teil der Interferon-regulierten, an zellautonomen Resistenzprogrammen beteiligten GTPasen ist ihr polymorpher Charakter, der sowohl bei den murinen Mx-Proteinen, als auch bei der murinen p65 GTPase Familie festgestellt werden konnte [364, 402, 417, 433, 510, 511, 532].

Vergleichende Analysen der IFN- γ vermittelten VLIG-1 Induktion in EF oder Zell-Linien von Mausstämmen mit unterschiedlichem genetischen Hintergrund (BALB/c, 129/sV, C3H/An und C57BL/6J), konnte eindeutig gezeigt werden, daß auch bei VLIG-1 ein Polymorphismus existiert (Abb. 36-41).

Während die Größe des IFN- γ induzierten VLIG-1 in den untersuchten Mausstämmen identisch war (Abb. 36, 37), wies das apparente Molekulargewicht des von diesen Transkripten kodierten VLIG-1 signifikante Unterschiede auf. In Zellen aus BALB/c, 129/sV oder C3H/An Mäusen konnte kein dem apparenten Molekulargewicht von VLIG-1 entsprechendes Protein detektiert werden, statt dessen ließ sich in diesen Zellen ein massiv durch IFN- γ induziertes Protein

nachweisen, dessen apparentes Molekulargewicht ca. 30-50 kDa geringer als das von VLIG-1 in C57BL/6J EF war (Abb. 39-41).

Der Polymorphismus von VLIG-1 könnte einerseits auf einer differentiellen, posttranslationalen Prozessierung eines identischen VLIG-1 Proteins beruhen, daß in allen untersuchten Mausstämmen von einem identischem Gen kodiert wird. Dagegen spricht jedoch, daß mit einer für den 3' UTR von VLIG-1 spezifischen Hybridisierungssonde in Makrophagen mit BALB/c genetischem Hintergrund keine, bzw. nur äußerst schwache Transkriptsignale detektiert wurden (Abb. 38). Dieses Resultat deutet daraufhin, daß zumindest die 3' UTR des VLIG-ähnlichen Gens in BALB/c Mäusen divergierend zu dem von C57BL/6J sein muß und somit kein identisches VLIG-1 Gen vorliegt.

Daher erscheint es als wahrscheinlicher, daß der identifizierte Polymorphismus von VLIG-1 darauf basiert, daß verschiedene Mausstämme unterschiedliche, jedoch zum C57BL/6J VLIG-1 Gen in Transkriptgröße und Sequenz verwandte Gene besitzen. Diese sind ebenfalls durch IFN- γ induzierbar und können mit der vollständigen VLIG-1 cDNA Hybridisierungssonde kreuzhybridisieren. Sie kodieren jedoch für Proteine mit einem geringeren apparenten Molekulargewicht, die von den verwendeten α -VLIG-1 Antiseren teilweise erkannt werden können. Diese Art des Polymorphismus würde zudem die in den Northern Blot und Western Blot Analysen detektierten, schwächeren Hybridisierungssignale in den nicht-C57BL/6J Zellen erklären (Abb. 36-41), die demnach auf eine geringere Hybridisierungsspezifität zurückzuführen wären.

Inwiefern die verschiedenen Mausstämme jeweils ein für sie spezifisches, IFN- γ induzierbares, VLIG-1 ähnliches Gen besitzen, oder ob die VLIG-1-ähnlichen Proteine geringeren Molekulargewichts ein und dasselbe Gen repräsentieren, kann abschließend nicht beurteilt werden. Die Western Blot Analyse unter Verwendung des polyklonalen α -VLIG-1 Peptidantiserums (VLIG-1/218), mit dem sich nur in BALB/c EF kein VLIG-1-ähnliches, IFN- γ induziertes Protein nachweisen ließ (Abb. 41), deutet jedoch daraufhin, daß es sich bei diesen Proteinen um verschiedene, jedoch miteinander verwandte Proteine handelt.

Interessanterweise läßt sich eine Korrelation zwischen der Verteilung von VLIG-1, bzw. den VLIG-ähnlichen Genen und der Verteilung des *GBP1^a*, bzw. *GBP1^b* Allels feststellen [402, 533]. So besitzen C57BL/6J Mäuse das nicht-induzierbare *GBP1^b* Allel und als einzige VLIG-1, während in allen anderen untersuchten Mausstämmen das induzierbare *GBP1^a* Allel und ein induzierbares VLIG-ähnliches Gen existiert. Ob dieses Verteilungsmuster auch bei anderen das

GBPI^a oder *GBPI^b* Allel tragenden Mausstämmen [417] besteht und inwieweit es von biologischer Relevanz ist, sollten weiterführende Experimente klären.

4.7 Analyse der VLIG-1 Expression *in vivo*

4.7.1 Analyse der konstitutiven VLIG-1 Expression

VLIG-1 wird allgemein nur sehr schwach konstitutiv exprimiert. Die höchsten basalen Expressionsraten konnten hierbei in der Lunge, im Thymus, in der Milz und im Herzen nachgewiesen werden (Abb. 23). Mit Ausnahme des Herzens kommt es in diesen Organen häufig zum Kontakt zwischen eindringenden Pathogenen oder Fragmenten von diesen und Zellen des Immunsystems. So könnte das Vorhandensein von VLIG-1 Transkripten in der Lunge auf eine basale Expression in Alveolarmakrophagen zurückzuführen sein, während die Expression im Thymus und in der Milz von diversen Immunzellpopulationen ausgehen könnte. Dieses Ergebnis wurde bestätigt durch die Herkunft der meisten zu VLIG-1 identischen ESTs, die zu über 80% aus Immunzellen, bzw. Milz, Thymus oder Lymphknoten stammten [457]. Ferner konnte mittels RT-PCR Analysen eine konstitutive Expression von VLIG-1 in der Milz und in dendritischen Zellen nachgewiesen werden (Abb. 16 und 17).

VLIG-1 wird demnach präferentiell, wenn auch nicht ausschließlich, in Organen die von hämatopoetischen Zellen dominiert werden exprimiert, was erneut auf seine immunologisch relevante Funktion hindeutet.

Das basale VLIG-1 Expressionsmuster ähnelt sowohl dem von Mitgliedern der p65 als auch der p47 GTPase Familie. So wurden die höchsten konstitutiven Expressionsraten von IGTP in der Lunge, Milz, Thymus und Dünndarm [439], von TGTP/Mg21 in Lymphknoten, Milz, Thymus und Lunge [436], von IIGP in der Leber, Lymphknoten, Milz, Thymus und Herz (in der Lunge wurde keine Expression detektiert) (J. Zerrahn, Max-Planck Institut für Infektionsbiologie, Berlin, persönliche Mitteilung) und von mGBP-3 in der Lunge, Milz, Herz und Niere [406] festgestellt.

Da die zur Analyse verwendete mRNA aus Organen von Swiss Webster Mäusen stammte kann aufgrund des VLIG-1 Polymorphismus in verschiedenen Maustämmen nicht ausgeschlossen werden, daß das detektierte Hybridisierungssignal aus einer Kreuzhybridisierung der C57BL/6J VLIG-1 Sonde mit einem VLIG Homolog der Swiss Webster Mäuse, dessen Induzierbarkeit durch Interferone nicht bekannt ist, resultierte.

4.7.2 Analyse der *in vivo* Induktion von VLIG-1 nach Infektion mit *Listeria monocytogenes* und die Bedeutung von TNF- α in der transkriptionellen Regulation von VLIG-1

Die Infektion verschiedener Mausstämmen mit dem fakultativ intrazellulärem Bakterium *Listeria monocytogenes* diente als Modell der VLIG-1 Induktion *in vivo*. 24 h nach intraperitonealer Infektion von C57BL/6J Wildtypmäusen konnte eine signifikante Zunahme der von VLIG-1 in der Leber dieser Mäuse festgestellt werden. Die VLIG-1 Induktion war dabei vollkommen von IFN- γ abhängig, während TNF- α mglw. sogar inhibitorisch wirkte (Abb. 24). Eine IFN- γ unabhängige Induktion von VLIG-1 durch bakterielle Lipopolysacchariden konnte in der Leber der *Listerien*-infizierten Mäuse nicht detektiert werden.

Die Stärke der VLIG-1 Induktion war dabei im Vergleich zu den p65 und p47 GTPasen, wobei von IRG-47, einem Mitglied der p47 GTPasen die Beteiligung an der zellautonomen Resistenz gegenüber *Listerien* bekannt ist [444], unter identischen experimentellen Bedingungen schwächer ausgeprägt [399, 409].

Der potentiell vorhandene inhibitorische Effekt von TNF- α auf die Induktion von VLIG-1 steht im Gegensatz zu den oftmals beobachteten, über verschiedene Mechanismen ausgelösten, Synergismus von IFN- γ und TNF- α innerhalb der Transkriptionskontrolle von Zytokin-regulierten Genen [504]. Dennoch konnte bei wenigen IFN- γ regulierten Genen, wie der Aminopeptidase A [534], dem "Surfactant protein A" [535], der extrazellulären Superoxid Dismutase [536] und dem 60S ribosomalen Protein L26 [537], ein antagonistischer Effekt von TNF- α auf die IFN- γ vermittelte Induktion beschrieben werden.

Die simultane Stimulation von C57BL/6J EF mit IFN- γ und TNF- α ließ jedoch weder ein inhibitorische Wirkung von TNF- α , noch eine verstärkte oder synergistische Induktion von VLIG-1 erkennen (Abb. 27). Die Stimulation von C57BL/6J EF oder ANA-1 Makrophagen nur mit TNF- α führte ebenfalls nicht, oder nur in einem äußerst geringen Maße (weniger als eine zweifache Erhöhung der VLIG-1 Transkriptmenge) zur Induktion von VLIG-1 (Abb. 27 und 36). Obwohl innerhalb der identifizierten, putativen Promotorregion von VLIG-1 potentielle NF κ B Bindungsmotive vorhanden sind (Abb. 15), deuten die erzielten Resultate darauf hin, daß keine Einflußnahme des proinflammatorischen Zytokins TNF- α auf die Induktion von VLIG-1 besteht. Diese Eigenschaft von VLIG-1 ließ sich auch bei den p47, p67 und Mx GTPasen konstatieren, was ihre spezifische Funktion innerhalb der zellulären Antwort auf Interferone hervorhebt [409, 437, 438, 538].

Es bleibt anzumerken, daß die verwendeten $\text{IFN}\gamma\text{R}^{0/0}$ Mäuse einen 129/sV genetischen Hintergrund aufwiesen. Da die vollständige C57BL/6J VLIG-1 cDNA Hybridisierungssonde ein per se schwächeres Hybridisierungssignal mit dem aus 129/sV Mäusen stammenden VLIG-ähnlichen Transkript zeigte (Abb. 36), könnte eine mglw. noch vorhandene, schwache TNF- α oder LPS vermittelte Induktion des VLIG-ähnlichen Gens in der Leber *Listerien* infizierter $\text{IFN}\gamma\text{R}^{0/0}$ 129/sV Mäusen unterhalb der Nachweisgrenze liegen.

4.8 Vergleichende Analysen der *in vitro* Induktion von VLIG-1 mit Mitgliedern der p47 und p65 GTPasen

Entsprechend der Identifikation von VLIG-1 cDNA Fragmenten in den SSH-Banken aus IFN- γ stimulierten Fibroblasten und Makrophagen wurde VLIG-1 auf Transkript- und Proteinebene in einer Zeit- und Dosis-abhängigen Weise massiv durch IFN- γ , und etwas geringer durch IFN- β in C57BL/6J EF sowie Makrophagen induziert (Abb. 25-31, 33). Zu diesem Expressionsmuster korrespondierende, potentielle Transkriptionsfaktor-Bindungsstellen wie GAS und ISRE Elemente konnten in der Promotorregion von VLIG-1 identifiziert werden (Abb. 15).

VLIG-1 charakterisiert demnach, wie auch die Mitglieder der p47 und p65 GTPase Familie [399, 409], eine Komponente eines zelltypübergreifenden und in diesem Sinne generellen Programmes der zellulären Antworten auf beide Interferon-Typen.

Eine Beteiligung von VLIG-1 an zellulären Programmen der Interferon-Antworten die auf spezialisierte lymphomyeloide Zellen oder andere Zelltypen beschränkt sind, wie z.B. die Regulation des Zytokin-Netzwerkes, der Zell-Migration (insbesondere der Leukozyten Wanderung) oder der Aktivierung von phagozytierenden Zellen [50, 240], siehe auch Anhang), kann daher weitgehend ausgeschlossen werden. Beispiele für zelltypübergreifende Programme der IFN- γ Antwort, die sowohl in Makrophagen als auch Fibroblasten aktiviert werden, sind insbesondere zellautonome antivirale oder antimikrobielle Resistenzprogramme (in die die p47 und p65 GTPasen involviert sind), diverse Prozesse der Signalweiterleitung (inklusive der transkriptionellen Regulation), sowie die Regulation des MHC-Klasse I und Klasse II Antigenpräsentationsweges und der Zell-Proliferation, bzw. Zell-Apoptose ([4, 50, 539], siehe auch Anhang). Da Interferon-Typ I Komponenten des MHC-Klasse II Antigenpräsentationsweges nicht induziert [4, 50], kann eine Beteiligung von VLIG-1, das in beiden Zelltypen massiv durch IFN- β induziert wurde (Abb. 25, 46 und andere), an diesem zellulären Programm ebenfalls weitgehend ausgeschlossen werden.

In IFN- γ stimulierten C57BL/6J EF erreichte die VLIG-1 Transkriptmenge nach ca. 12 h ein Maximum und verblieb auf einem hohen Expressionsniveau für mindestens den gleichen Zeitraum. Im Vergleich zu nicht-stimulierten Zellen wurde VLIG-1 dabei um das 100-200fache induziert. Der stärkste Anstieg der Transkriptionsrate ließ sich anhand einer RPA Analyse nach einer Stimulationsdauer von 1-3 h feststellen (Abb. 28). Die Induktionskinetik von VLIG-1 auf Proteinebene, bei gleicher zur Stimulation eingesetzter Unit-Zahl IFN- γ , erschien dagegen als leicht verzögert. So ließ sich ein signifikanter Anstieg der VLIG-1 Proteinmenge erst 6 h bis 12 h nach Beginn der Stimulation und das maximale Expressionsniveau erst nach 48 h feststellen, auf dem es für mindestens weitere 12 h verblieb (Abb. 34).

Diese Verzögerung könnte einerseits auf der geringeren Sensitivität der Western Blot Analyse im Vergleich zur RPA Analyse basieren, andererseits könnte es die längere Zeitdauer reflektieren, die benötigt wird um das 281 kDa große VLIG-1 Protein zu synthetisieren. Für die geringere experimentelle Sensitivität als Begründung der verzögerten Induktionskinetik spricht zum einen die durch Northern Blot Analysen ermittelte Induktionskinetik⁶, die weitgehend analog zur Kinetik auf Proteinebene war (vgl. Abb. 29 und 34). Zum anderen wurde ein vergleichbarer Verzögerungseffekt zwischen der Induktionskinetik auf Transkript- und Proteinebene auch bei der nur 48 kDa großen p47 GTPase IIGP und der 67 kDa großen p65 GTPase mGBP-2 beobachtet ([404, 409], J. Zerrahn, Max-Planck Institut für Infektionsbiologie, Berlin, persönliche Mitteilung).

Während das, bei identischen experimentellen Bedingungen, erreichte Expressionsniveau in IFN- γ stimulierten EF sowie Makrophagen von VLIG-1 und sämtlichen Mitgliedern der p47, bzw. p65 GTPase Familien annähernd übereinstimmt (Abb. 25, 27, 36 und 37 [399, 409]), gleicht die Induktionskinetik von VLIG-1 tendenziell eher denen der p65 GTPasen. Die Induktion von Mitgliedern der p47 GTPase Familie ist bereits nach 1stündiger Stimulation mit IFN- γ detektierbar und erreicht schon nach 4 h ein Maximum auf dem es für mindestens weitere 20 h verbleibt ([435, 437-439], J. Zerrahn, Max-Planck Institut für Infektionsbiologie, Berlin, persönliche Mitteilung). Bei Mitgliedern der murinen p65 GTPase Familie kann hingegen, wie auch bei VLIG-1, erst nach einer IFN- γ Stimulationsdauer von 3-6 h eine signifikante Induktion detektiert werden, die nach ca. 12 h ein maximales Expressionsniveau erreicht und auf diesem für mindestens weitere 12 h verbleibt [404, 405, 540]. Anzumerken ist jedoch, daß die Analysen zur

⁶ Im Unterschied zur Western Blot und RPA Analyse der Induktionskinetik von VLIG-1, bei denen C57BL/6J jeweils mit 100 U/ml IFN- γ stimuliert wurden, erfolgte die Stimulation der in der Northern Blot Analyse eingesetzten Zellen nur mit 50 U/ml IFN- γ . Nachfolgende Experimente zur Dosis-abhängigen Induktion von VLIG-1 zeigten jedoch, daß bereits mit 10 U/ml IFN- γ das maximale Expressionsniveau von VLIG-1 erreicht wird (Abb. 31A). Der Unterschied der eingesetzten Unit-Zahl kann daher vernachlässigt werden.

Induktionskinetik der p47 und p65 GTPasen in Makrophagen, bzw. einer präB-Zell-Linie und nicht, wie bei VLIG-1, in Fibroblasten erfolgten. Eine direkter Vergleich kann daher nicht angestellt werden, eine tendenzielle Ähnlichkeit zu den p65 GTPasen läßt sich dennoch konstatieren.

Die Induktion von VLIG-1 nach 24stündiger IFN- β Stimulation war bei gleicher eingesetzter antiviraler Unitzahl und Stimulationsdauer sowohl in EF als auch in Makrophagen um das vier- bis fünffache geringer als nach IFN- γ Stimulation (Abb. 25 und 37). Die geringere Induktionskapazität von IFN- β wurde dabei besonders in Analysen zur Dosis-abhängigen Induktion von VLIG-1 deutlich. In C57BL/6J EF konnte nach 24stündiger Stimulation bereits bei der geringen Dosis von nur 10 U/ml IFN- γ das annähernd maximale VLIG-1 Expressionsniveau erreicht werden. Bei identischer Stimulationsdauer wurden hingegen 500 U/ml IFN- β zur Erreichung der maximalen VLIG-1 Expression benötigt. Im Vergleich zu VLIG-1 wurde die p47 GTPase IIGP und die p67 GTPase mGBP2 jedoch noch wesentlich schwächer in EF und Makrophagen durch IFN- β induziert (Abb. 25, 31B, und 36). So benötigte mGBP-2 eine 50fach höhere IFN- β Konzentration um ein mit VLIG-1 vergleichbares Expressionsniveau zu erreichen (Abb. 31B). Diese signifikant geringere Interferon-Typ I vermittelte Induktion von IIGP und mGBP-2 ist übereinstimmend mit bereits publizierten Ergebnissen von anderen Mitgliedern der p47 und p65 GTPase Familie [400, 401, 409, 412, 427, 438, 441], J. Zerrahn, Max-Planck Institut für Infektionsbiologie, Berlin, persönliche Mitteilung).

Studien zur mRNA- und Proteinstabilität wurden bisher nur bei Mitgliedern der p47 GTPase durchgeführt. Dabei ist die VLIG-1 mRNA Halbwertszeit von ca. 5 h (Abb. 33) vergleichbar mit der 4.5stündigen Halbwertszeit von IGTP, die jedoch nicht in Fibroblasten, sondern in Makrophagen bestimmt wurde [439]. Die genaue Halbwertszeit des VLIG-1 Proteins konnte nicht bestimmt werden. Dennoch ließ sich das VLIG-1 Protein als über einen längeren Zeitraum stabiles Protein charakterisieren, wie es auch für die p47 GTPasen IIGP und GTPI gezeigt werden konnte [409]. Der stabile Charakter des Proteins weist daraufhin, daß das VLIG-1 Protein nicht einer Regulationskontrolle durch Proteolyse unterliegt.

Die Induktionscharakteristika von VLIG-1 lassen somit sowohl Gemeinsamkeiten als auch Unterschiede zu denen der p47 und p65 GTPasen erkennen. Von besonderem Interesse erscheint dabei die im Vergleich zu VLIG-1 signifikant niedrigere Interferon-Typ I vermittelte Induktion der p47 und p65 GTPasen. Möglicherweise besteht daher eine graduelle Involvierung der Interferon-regulierten GTPasen innerhalb der zellulären Antwort auf diese Zytokinfamilie.

Hierbei würden die Mx-Proteine als Spezialisten der Interferon-Typ I abhängigen Antwort fungieren und VLIG-1 einen bedeutenden Bestandteil in von beiden Interferon-Typen vermittelten Antworten darstellen, während die p47, bzw. p65 GTPasen eine wichtigere Rolle innerhalb der zellulären Antwort auf IFN- γ als auf Typ I spielen.

Diese abgestufte Einflußnahme der verschiedenen GTPasen innerhalb der zellulären Antwort auf Interferon-Typ I und/oder Typ II könnte sich auch in ihren spezifischen biologischen Funktionen widerspiegeln. Anhand verschiedener Beobachtungen ließ sich erkennen, daß Interferon-Typ I im Vergleich zu IFN- γ nur eine geringfügige Funktion innerhalb der antimikrobiellen und antiparasitären Immunantwort ausübt. Im Gegensatz dazu induzieren beide Interferon-Typen größtenteils nicht-redundante antivirale Resistenzmechanismen, wobei Interferon-Typ I als Induktor dieser Mechanismen von größerer Bedeutung ist [4, 82, 327, 334-336].

Dementsprechend vermitteln die selektiv durch Interferon-Typ I induzierbaren murinen Mx GTPasen ausschließlich eine direkte zellautonome Resistenz gegenüber der Infektion verschiedener Gruppen von RNA-Viren [351, 352]. Untersuchungen an IRG-47, LRG-47, bzw. IGTP defizienten Mäusen zeigten hingegen, daß diese stärker durch IFN- γ induzierten Mitglieder der p47 GTPase Familie keine antiviralen, sondern zellautonome Resistenzen gegen bakterielle und/oder protozoische Pathogene vermitteln [444-446]. Anhand von *in vitro* Experimenten zur zellulären Funktion von TGTP/Mg21 konnte für diese p47 GTPase jedoch eine Beteiligung an antiviralen Resistenzmechanismen gezeigt werden [441]. Analysen zur biologischen Funktion von mGBP-2 wiesen auf eine Rolle dieses Protein innerhalb der Wachstumskontrolle hin [541]. Für die humane p65 GTPase hGBP-1, die wie ihre murinen Homologe ebenfalls stärker durch IFN- γ als durch Interferon-Typ I induziert wird [542], konnte *in vitro* eine Beteiligung an zellautonomen, antiviralen Resistenzprogrammen nachgewiesen werden [434]. Aufgrund der *in vitro* Analysen zur Funktion von TGTP/Mg21 und hGBP-1 läßt sich eine vollständige Korrelationen zwischen der Stärke der Interferon-Typ I und Typ II vermittelten Induktion und der Funktion der GTPasen Familien innerhalb zellautonomer Resistenzmechanismen demnach nicht feststellen.

In den durchgeführten Western Blot Analysen war auffällig, daß neben einem starken Proteinsignal, dessen apparentes Molekulargewicht dem von VLIG-1 kalkuliertem entsprach, zusätzlich noch bis zu acht weitere Signale von geringerer Größe und Intensität detektiert werden konnten (Abb. 26, 32, 34, 40 und 45). Die Detektion dieser Zeit- und Dosis-abhängig durch IFN- γ induzierten Proteinsignale erfolgte dabei unabhängig davon, ob das gegen ein Proteinfragment von VLIG-1, oder gegen ein Peptid gerichtete polyklonale α -VLIG-1 Antiserum eingesetzt

wurde. Aufgrund der stets auf Eis und unter Zugabe eines Protease-Inhibitor Cocktails erfolgten Zell-Solubilisierung (siehe Material und Methoden) konnte eine proteolytische Degradierung der zellulären Proteine nach erfolgter Lyse weitgehend ausgeschlossen werden. Die Proteinsignale repräsentieren daher vermutlich Abbauprodukte des VLIG-1 Proteins, deren Proteolyse schon innerhalb der Zellen erfolgte. Dabei könnte es sich entweder um eine unspezifische Proteolyse im Rahmen des normalen VLIG-1 Protein "turn-overs", bzw. von mißgefalteteten VLIG-1 Proteinen handeln, oder um eine funktionsspezifische Proteolyse des VLIG-1 Proteins, die zu dessen Aktivierung oder Deaktivierung führt. Das die zusätzlich detektierten Proteinsignale nicht mit VLIG-1 sequenzverwandte, IFN- γ induzierte Proteine repräsentieren ist sehr unwahrscheinlich, da sie auch durch das Peptid α -VLIG-1 Antiserum detektiert wurden. Ebenfalls als unwahrscheinlich erscheint die Möglichkeit, das es sich um Proteinsignale von anderen Mitgliedern der VLIG-Familie handelt, da durch verschiedene Experimente auf RNA-Ebene keinerlei Hinweise auf eine IFN- γ vermittelte Induktion dieser Mitglieder in C57BL/6J EF erbrachten.

4.9 Charakterisierung von VLIG-1 als gemischtes IFN- γ Antwortgen

Die IFN- γ vermittelte Induktion von VLIG-1 erfolgt rasch und lang anhaltend (Abb. 28). Daher ist davon auszugehen, daß VLIG-1, wie auch die p47 und p65 GTPasen [399, 409], sowohl zu einem frühen als auch zu einem späten Zeitpunkt innerhalb der zellulären Antwort auf IFN- γ von Bedeutung ist.

Untersuchungen zur IFN- γ Antwort-Klassifizierung charakterisieren VLIG-1 als gemischtes Antwortgen, an dessen transkriptioneller Aktivierung vermutlich primäre und sekundäre Transkriptionsfaktoren beteiligt sind. So konnte die IFN- γ vermittelte Induktion von VLIG-1 durch Zugabe des Translationsinhibitors CHX zwar nicht vollständig inhibiert werden, dennoch war besonders zu einem späten Induktionszeitpunkt eine signifikante Reduktion der Expressionsrate zu erkennen (Abb. 43). Die frühe Phase der IFN- γ abhängigen VLIG-1 Induktion könnte daher von präformierten, primären Transkriptionsfaktoren, wie z.B. GAF vermittelt wird, während zur Erreichung und Aufrechterhaltung der maximalen Expressionsrate die *de novo* Proteinsynthese sekundärer Transkriptionsfaktoren, wie z.B. IRF-1 oder anderer, erforderlich ist. Dieser Annahme entsprechend konnten in der putativen Promotorregion von VLIG-1 potentielle ISRE, sowie GAS Elemente identifiziert werden.

Analysen der VLIG-1 Induktion in IRF-1 defizienten Mäusen konnten eine Beteiligung dieses sekundären Transkriptionsfaktors an der transkriptionellen Regulation von VLIG-1 nicht bestätigen (Abb. 42). Hierbei bleibt anzumerken, daß der verwendete IRF-1 defiziente Mausstamm einen 129/sV genomischen Hintergrund aufwies und somit nicht VLIG-1, sondern ein VLIG-ähnliches Transkript detektiert wurde, welches für ein Protein von geringerem Molekulargewicht als VLIG-1 kodiert und mglw. auch unterschiedlich reguliert wird (vgl. Abb. 36, 39 und 40). Die im Vergleich zu C57BL/6J Wildtyp EF geringfügig schwächere Induktionsrate von VLIG-1 in IRF-1^{-/-} EF (Abb. 42) ist daher vermutlich auf die per se geringere Hybridisierungsstärke der VLIG-1 cDNA Sonde mit dem Transkript des 129/sV spezifischen, VLIG-ähnlichen Gens zurückzuführen (vgl. Abb. 36). Anhand dieser Resultate läßt sich eine Beteiligung von IRF-1 an der transkriptionellen Regulation von VLIG-1 daher nicht vollkommen ausschließen.

Im Gegensatz zu VLIG-1 handelt es sich bei den Mitgliedern der murinen p65 GTPase Familie um Gene der sekundären Antwort auf IFN- γ , deren Induktion weitgehend von der *de novo* Proteinsynthese des sekundären Transkriptionsfaktors IRF-1 abhängig ist [411, 512], was durch Untersuchungen an IRF-1 defizienten EF eindrucksvoll bestätigt werden konnte [399, 409]. Die in den CHX-Experimenten detektierte massive, jedoch nicht vollständige Reduktion der mGBP-2 Expression (Abb. 43) ist dabei in Übereinstimmung mit zuvor publizierten Ergebnissen [411, 501]. Für mGBP-3 konnte jedoch auch gezeigt werden, daß die IFN- γ vermittelte Induktion in RAW264.7 Makrophagen nicht durch CHX Zugabe beeinflußt wird [540], was im Gegensatz zu den Resultaten in IRF-1 defizienten Zellen steht. Möglicherweise existieren daher Zelltypspezifische Unterschiede in der Regulation der p65 GTPasen. Die nahezu identischen mGBP-1 und mGBP-2 Promotoren enthalten jeweils zwei ISRE Elemente, die als Bindungsstellen für IRF-1 fungieren und ein vermutlich inaktives GAS Element, das nicht für eine durch GAF vermittelte IFN- γ Induktion ausreicht [411, 512]

Mitglieder der p47 GTPase Familie wurden als primäre Antwortgene, wie im Falle von TGTP/Mg21 [441], gemischte Antwortgene, gezeigt für IGTP und IIGP [439], J. Zerrahn, Max-Planck Institut für Infektionsbiologie, Berlin, persönliche Mitteilung) oder als sekundäre Antwortgene, wie für IRG-47 gezeigt [440], klassifiziert. Bei keinem der sechs bisher veröffentlichten p47 Mitglieder konnte eine signifikante Reduktion der IFN- γ vermittelten Induktion in IRF-1 defizienten EF festgestellt werden [399, 409]. Die Klassifizierung von IRG-47 als sekundäres Antwortgen erscheint aufgrund letzteren Resultates als widersprüchlich. Einerseits

wurde gezeigt, daß die IFN- γ vermittelte Induktion abhängig von einem ISRE Element in dessen Promotorregion ist, das von IRF-1 gebunden wird [440], andererseits konnte jedoch keine signifikante Reduktion der IRG-47 Induktion durch IFN- γ in den IRF-1 defizienten EF festgestellt werden [399, 409]. Möglicherweise existieren daher auch hier Zelltyp-spezifische Unterschiede innerhalb der transkriptionellen Regulation der p47 GTPasen.

Die Klassifizierung von VLIG-1 als gemischtes Antwortgen war somit ins gesamt betrachtet mit den p47 GTPasen zu vergleichen.

4.11 Das VLIG-1 Protein ist prädominant im Zytoplasma aber auch am Nukleus lokalisiert

Studien zur subzellulären Lokalisierung des VLIG-1 Proteins durch subzelluläre Fraktionierung charakterisierten VLIG-1 als ein prädominant zytoplasmatisches Molekül. Eine Membranassoziiierung oder Lokalisation innerhalb membranumgrenzter Zellkompartimente ließ sich nicht nachweisen. Die Nukleusfraktion wurde im Rahmen der Fraktionierungen jedoch nicht untersucht (Abb. 46). Die zytoplasmatische Lokalisierung des VLIG-1 Proteins konnte durch die transiente Expression eines EGFP-VLIG-1 Fusionsproteins und durch indirekte Immunofluoreszenz Analysen bestätigt werden, wobei ein granuläres zytoplasmatisches Verteilungsmuster und ein vom Nukleus zur äußeren Zellmembran reichender Intensitätsgradient erkennbar waren (Abb. 47, 50 und 51). Innerhalb dieser Studien ließ sich jedoch in ca. 40% der Zellen zusätzlich eine nukleare Lokalisierung des Proteins nachweisen (Abb. 48, 49 und 51).

Bei den transienten Expressionsstudien war auffällig, daß nur in sehr wenigen Zellen ein Fluoreszenzsignal detektiert werden konnte und das die nukleare Lokalisierung von VLIG-1 mit einer hohen Expressionsrate korrelierte. Diese war zudem stets von spezifischen Deformationen, wie einem geschrumpftem Zytoplasma, Ausstülpungen der Plasmamembran, einer Nukleus Pyknose, oder einem in oligonukleosomale Stücke zerfallenem Nukleus, begleitet wurde (Abb. 47, 48)

Diese Zelldeformationen sind stereotypische Merkmale für apoptotische Zellen, wobei sie unabhängig von der Art des die Apoptose initiiierenden Signals auftreten [543, 544]. Es kann daher angenommen werden, daß die Überexpression von VLIG-1 eine zytotoxische Wirkung aufweist, was auch die geringe Zahl der detektierten, das EGFP-VLIG-1 Fusionsprotein exprimierenden Zellen und die bestehende Korrelation zwischen der starken Fluoreszenzintensität und den beobachteten Zelldeformationen erklärt.

Zytotoxische oder zu Zelldeformationen führende Effekte konnten auch während Untersuchungen

zur subzellulären Lokalisierung spezifischer p47 GTPasen, bzw. zur biologischen Funktion der p47 GTPase TGTP/Mg21 beobachtet werden ([441], S. Martens, Universität zu Köln, persönliche Mitteilung).

Die massive endogene VLIG-1 Expression in IFN- γ stimulierten C57BL/6J EF verursachte hingegen keine zytotoxischen Effekte, wie durch indirekte Immunfluoreszenzanalysen gezeigt wurde (Abb. 51). Diese Diskrepanz zwischen endogenem VLIG-1 und dem EGFP-VLIG-1 Fusionsprotein könnte darauf basieren, daß die Expressionsrate des Fusionsproteins und damit auch die Proteinmenge wesentlich höher als die des endogenen VLIG-1 Proteins ist und oberhalb eines sich zytotoxisch auswirkenden Schwellenwertes liegt. Denkbar wäre es auch, daß VLIG-1 in IFN- γ stimulierten Zellen durch die Interaktion mit ebenfalls IFN- γ induzierten oder reprimierten, positiv und/oder negativ wirkenden regulatorischen Proteinen einer stringenten Kontrolle unterliegt. Da die transiente Expression des EGFP-VLIG-1 Fusionsproteins in nicht-stimulierten Zellen erfolgte, fehlte der gesamte restliche Kontext der zellulären Antwort auf IFN- γ , inklusive der putativen Regulatoren und infolgedessen könnten unkontrollierte und daher mglw. auch atypische Effekte von VLIG-1 ausgelöst worden sein.

Allgemein sind zwei verschiedene funktionelle Klassen regulatorischer Proteine bekannt, die mit GTPasen interagieren und ihre Aktivität kontrollieren können [380, 382, 383]. GTPase aktivierende Proteine (GAPs) beschleunigen die GTP Hydrolyse und wirken inaktivierend, während Guanylat Austauschfaktoren (GEFs) die Freisetzung der gebundenen GDP, sowie die erneute GTP Bindung fördern und daher aktivierend wirken [380, 382, 383]. Aufgrund obiger Überlegungen erscheint es als möglich, daß auch VLIG-1 durch spezifisch mit ihm interagierende GAPs und GEFs kontrolliert wird, wobei diese wahrscheinlich Interferon-regulierte Proteine repräsentieren. Die höhere Bindungsaffinität von VLIG-1 zu GDP, deutete zuvor schon auf eine Beteiligung von aktivierend wirkenden GEF-Proteinen innerhalb der Regulation von VLIG-1 hin (siehe 4.4.3) und steht mit diesen Überlegungen somit im Einklang.

Die Existenz eines IFN- γ regulierten GAP-Proteins ("Breakpoint cluster region", BCR) konnte erst kürzlich nachgewiesen werden. [89]. Die Expression von BCR wird nach Interferon-Typ I oder Typ II Stimulation in humanen Fibroblasten inhibiert, was vermutlich zur Aktivierung der mit BCR interagierenden GTPasen führt. Als Interaktionspartner von BCR wurden GTPasen der Rho-Familie identifiziert [545], die verschiedene zelluläre Prozesse, wie den Zell-Zyklus und den vesikulären Transport regulieren [546]

Eine Lokalisierung von VLIG-1 im Nukleus erscheint als ungewöhnlich, da es aufgrund seines Molekulargewichts für eine freie Diffusion durch die Kernporen zu groß ist und eine

Kernlokalisierungssequenz nicht identifiziert werden konnte [547]. Die in der indirekten Immunfluoreszenzanalyse nachgewiesene nukleare Lokalisierung deutet mit ihrem granulären, punktförmigen Fluoreszenzmuster eher auf eine Assoziierung von VLIG-1 mit der Kernmatrix hin. Das nukleare Fluoreszenzmuster besitzt zudem eine gewisse Ähnlichkeit mit denen als "nuclear bodies" bezeichneten Nukleusdomänen (auch als ND10, "Kr bodies", POD oder "nuclear dots" bezeichnet) deren Komponenten von verschiedenen, teilweise Interferon-regulierten Proteinen gebildet werden [548]. Die ND10 Proteine sind in eine Vielzahl unterschiedlicher Prozesse involviert, wie z.B. der transkriptionellen Regulation, der Apoptose, der Aufrechterhaltung der Genomstabilität aber auch an antiviralen Effekten [548]. Bei diesen Proteinen handelt es sich jedoch nicht um GTPasen und im Unterschied zu VLIG-1 weisen sie keine zytoplasmatische Lokalisierung auf, so daß die Ähnlichkeit des nuklearen Fluoreszenzmusters von VLIG-1 zu den "nuclear bodies" nicht ausreichend ist, um auf funktionelle Gemeinsamkeiten zu schließen.

Die subzelluläre Lokalisierung von VLIG-1 weist nur wenig Gemeinsamkeiten zu denen der p47 GTPasen auf. Ausführliche Studien zur subzellulären Lokalisierung der p47 GTPasen konnten nachweisen, daß jedes der sechs bisher veröffentlichten Mitglieder dieser Familie spezifisch an einem intrazellulären, membranumschlossenen Kompartiment lokalisiert ist ([409, 442], S. Martens, Universität zu Köln, persönliche Mitteilung und J. Zerrahn, Max-Planck Institut für Infektionsbiologie, Berlin, persönliche Mitteilung), was mglw. zu ihrer funktionalen Nicht-Redundanz beiträgt [444].

Die subzelluläre Lokalisierung der murinen p65 GTPasen und besonders der Mx-Proteine weist dagegen eine gewisse Ähnlichkeit zu der des VLIG-1 Proteins auf. Die p65 GTPasen sind sämtlich im Zytoplasma lokalisiert, wobei es jedoch für die Art der zytoplasmatischen Verteilung teilweise kontroverse Ergebnisse gibt. Die meisten Mitglieder scheinen in punktförmigen, vesikelartigen Strukturen, deren Identität nicht näher bekannt ist, gleichmäßig verteilt im Zytoplasma vorzuliegen [409, 426, 427], wie es auch bei hGBP-1 beobachtet werden konnte [410, 418]. Für diese Art der zytoplasmatischen Verteilung scheint ein Isoprenylierungsmotiv, welches einige der p65 GTPasen besitzen, eine maßgebliche Rolle zu spielen [425, 427]. Diese Verteilung ließ sich für spezifische Mitglieder jedoch nicht immer bestätigen, so daß ferner eine homogene zytoplasmatische Distribution ohne Ausbildung dieser Strukturen, oder eine granuläre zytoplasmatische Lokalisierung beobachtet wurden. [406, 427]

Die subzelluläre Lokalisierung der Mx GTPasen ist insofern ähnlich zu VLIG-1, als das sie die einzigen, an zellautonomen Resistenzprogrammen beteiligten GTPasen sind, bei denen eine nukleare Lokalisierung festgestellt werden konnte [549, 550]. Während VLIG-1 sowohl im

Zytoplasma als auch im oder am Nukleus lokalisiert sein kann, sind die Mitglieder der Mx GTPase Familie entweder spezifisch nur im Nukleus oder nur im Zytoplasma lokalisiert [551]. Die im Nukleus lokalisierte Mx1 GTPase bildet dabei kleine granuläre und punktförmige Strukturen aus [360], wie sie auch für VLIG-1 nachgewiesen werden konnten (Abb. 51). Die unterschiedliche subzelluläre Lokalisierung der Mx GTPasen korreliert dabei mit ihrer jeweiligen antiviralen Spezifität [549, 552]. Falls man für VLIG-1 eine den Mx GTPasen analoge Funktion postuliert, würde seine duale Lokalisierung bedeuten, daß es gleichzeitig verschiedene Spezifitäten besitzen könnte.

Unmittelbar vor der Abgabe dieser Arbeit wurde gezeigt, daß die im Nukleus lokalisierte murine Mx1 GTPase spezifisch mit Komponenten der "nuclear bodies" interagiert [553]. Die den "nuclear bodies" ähnliche nukleare Fluoreszenz von VLIG-1, könnte demnach als eine weitere Verbindung von VLIG-1 zu den Mx-Proteinen gedeutet werden.

4.12 Weiterführende Experimente

Durch die in dieser Arbeit für VLIG-1 ermittelten molekularen und biochemischen Eigenschaften wurde die Grundlage für eine nachfolgende funktionelle Charakterisierung von VLIG-1 geschaffen. Aufgrund der Fülle der identifizierten Gemeinsamkeiten von VLIG-1 und Mitgliedern der an zellautonomen Resistenzprogrammen beteiligten p47, p65 und Mx GTPase Familien, können die von ihnen zum Teil bekannten zellulären Funktionen als Anhaltspunkte bei der Aufklärung der spezifischen Rolle von VLIG-1 innerhalb der zellulären Antworten auf Interferone fungieren. Die Identifizierung putativer Interaktionspartner, sowie die gezielte Inaktivierung von VLIG-1 sind dabei primär zu verfolgende experimentelle Ansätze.

Anhand biochemischer Analysen, sowie durch Studien zur subzellulären Lokalisierung wurden Anzeichen für eine stringente Regulation von VLIG-1 gefunden. Infolge der Funktion von VLIG-1 als GTPase erscheint es als naheliegend, daß es sich bei diesen Regulatoren vermutlich um GAP- und/oder um GEF-Proteine handelt.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden erste Ansätze zur Identifikation von VLIG-1 Interaktionspartner mittels Ko-Immunopräzipitationen durchgeführt. Die dabei verwendeten polyklonalen α -VLIG-1 Antisera erwiesen sich jedoch als nicht spezifisch genug.

Eine weiterführende systematische Suche nach Interaktionspartnern von VLIG-1 sollte daher auf unterschiedliche experimentelle Strategien ausgeweitet werden. Denkbar wäre dabei die

Anwendung von Zwei-Hybrid-Systemen [554], Affinitätschromatographien unter Verwendung des vollständigen Proteins oder Peptidfragmenten von diesem, Far-Western Blot Analysen, chemischen Kreuzvernetzern in physiologischen Zellpräparaten, Gelfiltrationen und Ko-Immunopräzipitationen mit monoklonalen, hoch spezifischen Antikörpern, bzw. eine Kombination dieser Strategien.

Bevor eine gezielte Deletion von VLIG-1 durchgeführt wird, sollten zunächst die Struktur der VLIG-Familie und die molekularen Eigenschaften ihrer Mitglieder näher untersucht werden. Von großer Bedeutung wäre es dabei die vollständige cDNA Sequenz dieser Mitglieder zu ermitteln. Aufgrund der rasch fortschreitenden Aufklärung der Sequenz des Maus Genoms kann dieses mglw. sogar *in silico* erfolgen. Nachfolgende Expressionsanalysen, wie z.B. die Zytokin-abhängige Induktion, Zelltypspezifität der Expression oder subzelluläre Lokalisierung der Familienmitglieder würden bedeutende Erkenntnisse über mglw. vorhandene redundante Funktionen liefern. Aufgrund dieser Information könnte eine spezifische phänotypische Analyse von VLIG-1 defizienten Mäusen erfolgen. Aufgrund der identifizierten Kopplung der Genloci von Mitgliedern der VLIG-Familie erscheint eine multiple gezielte Inaktivierung mehrerer VLIG-Familienmitglieder im Mausgenom mit nur einem Zielvektor als möglich.

Zusätzlich zu diesen die zelluläre Funktion von VLIG-1 betreffenden, weiterführenden Experimenten, bestehen noch eine Vielzahl weiterer interessanter Fragen, die teilweise schon in der Diskussion angesprochen wurden.

5. Summary

The partially overlapping cellular responses to interferon type I (mainly IFN- α and - β), and interferon type II (IFN- γ) are remarkably complex. Both types of interferon regulate several hundred genes, which can be largely classified in terms of specific cellular programs functional in innate or adaptive immunity, but the complete cellular response is still not clear.

Among these are programs that mediate cell-autonomous resistance of the host against various pathogens. There is increasing evidence that central components of cell-autonomous resistance programs are members of several inducible GTPase families, like the p47, p65 or Mx GTPases.

Here, we describe a novel IFN-inducible GTPase, termed **very large inducible GTPase-1** (VLIG-1), and compare its characteristics with the p47, p65 and Mx GTPases.

VLIG-1 defines a small gene family of at least nine members in the mouse and only a single homologue in human. With a transcript size of nearly 9kb and a calculated M_r of 280kDa, VLIG-1 represents the largest IFN-inducible gene and the largest member of the GTPase superfamily reported so far.

VLIG-1 transcript and protein are strongly inducible from a very low basal expression level as a mixed response gene by type I and type II interferon in a time and dose dependent but cell type non-specific manner. In contrast no induction was shown for TNF- α . The induction pattern of VLIG-1 resembles those of the interferon inducible p65 and p47 GTPases that are involved in pathogen specific resistance to infection. The tissue expression pattern of VLIG-1 together with the origin of ESTs identical or homologous to VLIG-1 suggests a constitutive expression of these genes preferentially in immune cell populations. In addition, similar to the Mx and p65 GTPases family, a polymorphism was detected for VLIG-1.

The preference of the VLIG-1 protein for GDP-binding indicates an activation mechanism that relies on the interaction with GEFs as postulated for the p47 GTPases. The subcellular localization of VLIG-1 showed a cytoplasmic as well as a nuclear staining. The overexpression of a GFP tagged protein leads to cytotoxicity.

In conclusion it is tempting to speculate that VLIG-1, like the other IFN-inducible GTPases, plays a role within cell autonomous resistance programs of the IFN-response .

5. Zusammenfassung

Die teilweise überlappenden zellulären Antworten auf Interferon-Typ I (hauptsächlich IFN- α und IFN- β) und Interferon-Typ II (IFN- γ) sind außerordentlich komplex. Beide Interferon-Typen regulieren mehrere hundert Gene, die sich größtenteils spezifischen, in der angeborenen und erworbenen Immunität funktionellen, zellulären Programmen zuordnen lassen. Ein Teil der Interferon-Antworten wird dabei durch Programme charakterisiert die zellautonome Resistenzen gegenüber verschiedene infektiöse Pathogene vermitteln. Mitglieder verschiedener GTPase Familien, wie die p47, p65 und Mx GTPasen, stellen fundamentale Komponenten innerhalb dieser zellautonomen Resistenzprogramme dar.

In dieser Arbeit gelang es mit VLIG-1 eine bisher unbekannte Interferon-regulierte GTPase zu identifizieren und ihre grundlegenden molekularen und biochemischen Charakteristika zu ermitteln. Durch einen umfassenden Vergleich der spezifischen Eigenschaften von VLIG-1 mit denen der p47, p65 und Mx GTPasen konnten eine Vielzahl von Gemeinsamkeiten identifiziert werden, die darauf hindeuten, daß mit VLIG-1 eine weitere Komponente zellautonomer Resistenzprogramme identifiziert wurde.

Als einziges strukturelles Motiv läßt sich in der primären Proteinsequenz von VLIG-1 eine GTP-Bindungsdomäne identifizieren. Mit einer Transkriptgröße von annähernd 9 kb und einem Molekulargewicht von 281 kDa repräsentiert VLIG-1 das größte Interferon-regulierte Gen, bzw. Protein und gleichzeitig das größte Mitglied der GTPase Superfamilie, das bisher identifiziert werden konnte. Die VLIG-1 GTP-Bindungsdomäne und der sie umgebende Sequenzbereich weist die meisten Gemeinsamkeiten zu den an zellautonomen Resistenzprogrammen beteiligten GTPasen auf, so daß VLIG-1 zusammen mit den p47, p65 und Mx GTPasen eine eigene Untergruppe in der GTPase Superfamilie bildet. Die größte Homologie ließ sich dabei zu den p65 und Mx GTPasen erkennen, die beide der Dynamin-Familie zugeordnet werden. Gemeinsamkeiten von VLIG-1 zu den p47 und Mx GTPasen wurden ferner auch in biochemischen Analysen nachgewiesen.

Die Charakterisierung der genomischen Struktur von VLIG-1 zeigte, daß die CDS inklusive des 3' UTR auf einem sehr großem, intronlosem Exon lokalisiert ist. VLIG-1 repräsentiert somit ebenfalls vermutlich ein Retrogen. VLIG-1 konnte als Teil einer mehrere Mitglieder umfassenden Genfamilie charakterisiert werden, die in C57BL/6J Mäusen mindestens neun Mitglieder besitzt, welche auf Chromosom 7 gekoppelt vorliegen. VLIG-1 ist bisher das einzige Mitglied dieser Familie dessen Interferon-abhängige Induktion in embryonischen Fibroblasten nachgewiesen

werden konnte. Zusätzlich konnte gezeigt werden, daß VLIG-1 ein polymorphes Gen ist. Zudem charakterisiert VLIG-1 ein Vertebraten-spezifisches Gen, dessen Homologe in Krallenfrosch, Zebrafisch, Schwein, Rind, Ratte und dem Menschen nachgewiesen wurden. Hinweise auf Genfamilien mit einer vergleichbaren Mitgliederzahl wie bei der Maus, konnten in diesen Vertebraten jedoch nicht gefunden werden.

Expressionstudien in embryonischen Fibroblasten und Makrophagen zeigten, daß VLIG-1 von einem sehr niedrigen basalen Expressionsniveau, in einer Zeit- und Dosis-abhängigen Weise, auf Transkript- und Proteinebene, massiv durch IFN- γ und etwas geringer durch IFN- β induziert wird. Die Interferon-Typ I vermittelte Induktion von VLIG-1 ist dabei wesentlich stärker als die der p47 und p65 GTPasen. Eine Induktion von VLIG-1 durch TNF- α oder ein Synergismus zwischen IFN- γ und TNF- α ließen sich hingegen nicht nachweisen. Zusätzlich wurde die mRNA und Proteinstabilität von VLIG-1 charakterisiert. VLIG-1 charakterisiert ein gemischtes Antwortgen, was durch die Existenz von potentiellen Bindungsstellen für primäre und sekundäre Transkriptionsfaktoren in der identifizierten putativen Promotorregion von VLIG-1 seine Bestätigung findet. Die Infektion verschiedener Mausstämme mit dem fakultativ intrazellulärem Bakterium *Listeria monocytogenes* führte zur massiven Induktion von VLIG-1 in der Leber von Wildtyp-Mäusen nicht aber in IFN- γ R^{0/0}-Mäusen.

Durch Studien zur subzellulären Lokalisierung wurde gezeigt, daß VLIG-1 im Zytoplasma aber auch im, bzw. am Nukleus lokalisiert ist. Eine Überexpression des Proteins in nicht-stimulierten Zellen wirkt dabei zytotoxisch.

Die Vielzahl an Gemeinsamkeiten von VLIG-1 zu den an zellautonomen Resistenzprogrammen beteiligten p47, p65 und Mx GTPasen deutet daraufhin, daß VLIG-1 mglw. ebenfalls an diesen zellulären Programmen der Interferon-Antwort beteiligt ist.

Eine verkürzte Übersicht der für VLIG-1 ermittelten Charakteristika, sowie ein Vergleich dieser zu denen der murinen p47, p65 und Mx GTPasen ist nachfolgend wiedergegeben

Charakteristikum	VLIG-1/VLIG-Familie	Vergleich von VLIG-1 zu den murinen p47, p65 oder Mx GTPasen
Transkript-/Proteingröße	<ul style="list-style-type: none"> ca. 9 kb und 281 kDa 	<ul style="list-style-type: none"> eher vergleichbar mit Mx
Genomische Struktur	<ul style="list-style-type: none"> CDS + 3' UTR intronlos 	<ul style="list-style-type: none"> vergleichbar mit p47
GTP-Bindungsdomäne	<ul style="list-style-type: none"> vorhanden (G4-Motiv noch nicht eindeutig identifiziert) 	<ul style="list-style-type: none"> vergleichbar mit p65 und Mx
Struktur der murinen Genfamilie	<ul style="list-style-type: none"> 9 exprimierte Mitglieder (C57BL/6J) 	<ul style="list-style-type: none"> vergleichbar mit p47
Alter/ Diversifikationsgeschwindigkeit der murinen Genfamilie	<ul style="list-style-type: none"> jung oder sich langsam entwickelnd 	<ul style="list-style-type: none"> eher vergleichbar mit p65 und Mx
Nicht-induzierbare murine Familienmitglieder	<ul style="list-style-type: none"> VLIG-1 ist mglw. das einzige in EF und Makrophagen durch IFN induzierbare Mitglied 	<ul style="list-style-type: none"> vergleichbar mit p47 (noch nicht eindeutig bewiesen)
Verteilung von Familienmitgliedern in anderen Spezies als der Maus	<ul style="list-style-type: none"> spezifisch für Vertebraten nur wenige Mitglieder in Mensch, Ratte, Rind, Schwein Krallenfrosch und Zebrafisch 	<ul style="list-style-type: none"> vergleichbar mit p47, p65 und Mx vergleichbar mit p47
IFN vermittelte Induktion von Familienmitgliedern in anderen Spezies als der Maus	<ul style="list-style-type: none"> nicht bekannt, mglw. jedoch vorhanden 	<ul style="list-style-type: none"> vergleichbar mit p47 (noch nicht eindeutig bewiesen)
Konstitutive Gewebeexpression	<ul style="list-style-type: none"> Lunge, Herz, Thymus, Milz > Leber, Eierstock, Niere, Gehirn > Hoden 	<ul style="list-style-type: none"> vergleichbar mit p47 und p65
<i>In vivo</i> Expression in der Leber <i>Listerien</i> infizierter Mäuse	<ul style="list-style-type: none"> abhängig von IFN-γ mglw. inhibitorischer TNF-α Effekt 	<ul style="list-style-type: none"> p47 und p65 abhängig von IFN-γ; stärker induziert als VLIG-1 keine Beeinflussung durch TNF-α
Zytokin vermittelte Induktion in EF und/oder Makrophagen	<ul style="list-style-type: none"> IFN-γ: +++ IFN-β: ++ TNF-α: - IFN-γ + TNF-α: kein Synergismus 	<ul style="list-style-type: none"> IFN-γ: vergleichbar mit p47 und p65 IFN-β: eher vergleichbar mit Mx TNF-α: vergleichbar mit p47, p65 und Mx IFN-γ + TNF-α: vergleichbar mit p47, p65 und Mx
Induktionskinetik nach IFN-γ Stimulation	<ul style="list-style-type: none"> nach 3h detektierbar, Maximum nach 12h, mindestens weitere 12h auf Maximum 	<ul style="list-style-type: none"> vergleichbar mit p65
Antwort Klassifizierung	<ul style="list-style-type: none"> gemischtes Antwortgen 	<ul style="list-style-type: none"> eher vergleichbar mit p47
Polymorphismus	<ul style="list-style-type: none"> vorhanden 	<ul style="list-style-type: none"> vergleichbar mit p65 und Mx
Guanin-Nukleotid Bindungsspezifität	<ul style="list-style-type: none"> GDP > GTP > GMP 	<ul style="list-style-type: none"> vergleichbar mit p47 und Mx
Zelldeformationen nach Überexpression in nicht stimulierten Zellen	<ul style="list-style-type: none"> Zytotoxischer Effekt führt zu Zelltod durch Apoptose 	<ul style="list-style-type: none"> eher vergleichbar mit p47 (Überexpression spezif. Mitglieder führt zu Kompartiment-Deformationen)
Subzelluläre Lokalisierung	<ul style="list-style-type: none"> Zytoplasma > Nukleus 	<ul style="list-style-type: none"> eher vergleichbar mit Mx

6. Literaturverzeichnis

1. **Isaacs, A. and J. Lindenmann**, *Virus interference. I. The interferon*. Proc R Soc London Ser B, 1957. **147**: p. 258-67.
2. **Wheelock, E.F.**, *Interferon-like virus-inhibitor induced by phytohemagglutinin*. Science, 1965. **149**: p. 310-311.
3. **Bach, E.A., M. Aguet, and R.D. Schreiber**, *The IFN gamma receptor: a paradigm for cytokine receptor signaling*. Annu Rev Immunol, 1997. **15**: p. 563-91.
4. **Stark, G.R., et al.**, *How cells respond to interferons*. Annu Rev Biochem, 1998. **67**: p. 227-64.
5. **Callard, R. and A. Gearing**, *The Cytokine FactsBook*. 1994: Academic Press.
6. **Nathan, C. and M. Sporn**, *Cytokines in context*. J Cell Biol, 1991. **113**(5): p. 981-6.
7. **Trent, J.M., S. Olson, and R.M. Lawn**, *Chromosomal localization of human leukocyte, fibroblast, and immune interferon genes by means of in situ hybridization*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1982. **79**: p. 7809-13.
8. **Naylor, S.L., P.W. Gray, and P.A. Lalley**, *Mouse immune interferon (γ IFN) gene is on mouse chromosome 10*. Somat. Cell. Mol. Gen., 1984. **10**: p. 531-34.
9. **Naylor, S.L., et al.**, *Human immune interferon is located on chromosome 12*. J. Exp. Med., 1984. **157**: p. 1020-27.
10. **Gray, P.W. and D.V. Goeddel**, *Cloning and expression of murine immune interferon cDNA*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1983. **80**(19): p. 5842-6.
11. **Gray, P.W. and D.V. Goeddel**, *Structure of the human immune interferon gene*. Nature, 1982. **298**: p. 859-863.
12. **Gray, P.W., et al.**, *Expression of human immune interferon cDNA in E.coli and monkey cells*. Nature, 1982. **295**: p. 503-509.
13. **Rinderknecht, E., B.H. O'Connor, and H. Rodriguez**, *Natural human interferon gamma. Complete amino acid sequence and determination of sites of glycosylation*. J. Biol. Chem., 1984. **259**: p. 6790-97.
14. **Simons, G., et al.**, *High-level expression of human interferon gamma in Escherichia coli under control of the pL promoter of bacteriophage lambda*. Gene, 1984. **28**(1): p. 55-64.
15. **Ealick, S.E., et al.**, *Three-dimensional structure of recombinant human interferon-gamma*. Science, 1991. **252**(5006): p. 698-702.
16. **Mosmann, T.R. and R.L. Coffman**, *TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties*. Annu Rev Immunol, 1989. **7**: p. 145-73.

17. **Sad, S., R. Marcotte, and T.R. Mosmann**, *Cytokine-induced differentiation of precursor mouse CD8⁺ T cells into cytotoxic CD8⁺ T cells secreting Th1 or Th2 cytokines*. *Immunity*, 1995. **2**(3): p. 271-9.
18. **Trinchieri, G.**, *Interleukin-12: a proinflammatory cytokine with immunoregulatory functions that bridge innate resistance and antigen-specific adaptive immunity*. *Annu Rev Immunol*, 1995. **13**: p. 251-76.
19. **Munder, M., et al.**, *Murine macrophages secrete interferon gamma upon combined stimulation with interleukin (IL)-12 and IL-18: A novel pathway of autocrine macrophage activation*. *J Exp Med*, 1998. **187**(12): p. 2103-8.
20. **Yoshimoto, T., et al.**, *Interleukin 18 together with interleukin 12 inhibits IgE production by induction of interferon-gamma production from activated B cells*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997. **94**: p. 3948-53.
21. **Ohteki, T., et al.**, *Interleukin 12-dependent interferon gamma production by CD8alpha⁺ lymphoid dendritic cells*. *J Exp Med*, 1999. **189**: p. 1981-6.
22. **Ullman, K.S., et al.**, *Transmission of signals from the T lymphocyte antigen receptor to the genes responsible for cell proliferation and immune function: the missing link*. *Annu Rev Immunol*, 1990. **8**: p. 421-52.
23. **Young, H.A.**, *Regulation of interferon-gamma gene expression*. *J Interferon Cytokine Res*, 1996. **16**(8): p. 563-8.
24. **Singh, S.M., et al.**, *Augmentation by interleukin-18 of MHC-nonrestricted killer activity of human peripheral blood mononuclear cells in response to interleukin-12*. *Int J Immunopharmacol*, 2000. **22**(1): p. 35-43.
25. **Bancroft, G.J., R.D. Schreiber, and E.R. Unanue**, *Natural immunity: a T-cell independent pathway of macrophage activation, defined in the scid mouse*. *Immunol Rev*, 1991. **124**: p. 5-24.
26. **Matikainen, S., et al.**, *IFN-alpha and IL-18 synergistically enhance IFN-gamma production in human NK cells: differential regulation of Stat4 activation and IFN-gamma gene expression by IFN-alpha and IL-12*. *Eur J Immunol*, 2001. **31**(7): p. 2236-45.
27. **Nakanishi, K., et al.**, *Interleukin-18 regulates both Th1 and Th2 responses*. *Annu Rev Immunol*, 2001. **19**: p. 423-74.
28. **Di Marzio, P., et al.**, *Interferon gamma upregulates its own gene expression in mouse peritoneal macrophages*. *J Exp Med*, 1994. **179**(5): p. 1731-1736.
29. **Cockfield, S.M., et al.**, *Regulation of IFN-gamma expression in vivo. IFN-gamma upregulates expression of its mRNA in normal and lipopolysaccharide-stimulated mice*. *J Immunol*, 1993. **150**(3): p. 717-725.
30. **Hardy, K.J. and T. Sawada**, *Human gamma interferon strongly upregulates its own gene expression in peripheral blood lymphocytes*. *J Exp Med*, 1989. **170**(3): p. 1021-6.

31. **Okamura, H., et al.**, *Regulation of interferon-gamma production by IL-12 and IL-18*. *Curr Opin Immunol*, 1998. **10**(3): p. 259-64.
32. **Okamura, H., et al.**, *Cloning of a new cytokine that induces IFN-gamma production by T cells*. *Nature*, 1995. **378**(6552): p. 88-91.
33. **Bazan, J.F., J.C. Timans, and R.A. Kastelein**, *A newly defined interleukin-1?* *Nature*, 1996. **379**(6566): p. 591.
34. **Marshall, J.D., et al.**, *Regulation of human IL-18 mRNA expression*. *Clin Immunol*, 1999. **90**(1): p. 15-21.
35. **Kim, Y.M., et al.**, *IFN-gamma up-regulates IL-18 gene expression via IFN consensus sequence-binding protein and activator protein-1 elements in macrophages*. *J Immunol*, 2000. **165**(6): p. 3198-205.
36. **Tone, M., et al.**, *Regulation of IL-18 (IFN-gamma-inducing factor) gene expression*. *J Immunol*, 1997. **159**(12): p. 6156-63.
37. **Yoshida, A., et al.**, *IFN-gamma induces IL-12 mRNA expression by a murine macrophage cell line, J774*. *Biochem Biophys Res Commun*, 1994. **198**(3): p. 857-61.
38. **Gu, Y., et al.**, *Activation of interferon-gamma inducing factor mediating by interleukin-1 β converting enzyme*. *Science*, 1997. **275**: p. 206-209.
39. **Ghayur, T., et al.**, *Caspase-1 processes IFN-gamma-inducing factor and regulates LPS-induced IFN-gamma production*. *Nature*, 1997. **386**(6625): p. 619-23.
40. **Tamura, T., et al.**, *An IRF-1-dependent pathway of DNA damage-induced apoptosis in mitogen-activated T lymphocytes*. *Nature*, 1995. **376**(6541): p. 596-9.
41. **Akita, K., et al.**, *Involvement of caspase-1 and caspase-3 in the production and processing of mature human interleukin 18 in monocytic THP.1 cells*. *J Biol Chem*, 1997. **272**(42): p. 26595-603.
42. **Micallef, M.J., et al.**, *Interferon-gamma-inducing factor enhances T helper 1 cytokine production by stimulated human T cells: synergism with interleukin-12 for interferon-gamma production*. *Eur J Immunol*, 1996. **26**(7): p. 1647-51.
43. **Kohno, K., et al.**, *IFN-gamma-inducing factor (IGIF) is a costimulatory factor on the activation of Th1 but not Th2 cells and exerts its effect independently of IL-12*. *J Immunol*, 1997. **158**(4): p. 1541-50.
44. **Tominaga, K., et al.**, *IL-12 synergizes with IL-18 or IL-1 β for IFN-gamma production from human T cells*. *Int Immunol*, 2000. **12**(2): p. 151-60.
45. **Barbulescu, K., et al.**, *IL-12 and IL-18 differentially regulate the transcriptional activity of the human IFN-gamma promoter in primary CD4⁺ T lymphocytes*. *J Immunol*, 1998. **160**(8): p. 3642-7.

46. **Robinson, D., et al.**, *IGIF does not drive Th1 development but synergizes with IL-12 for interferon-gamma production and activates IRAK and NFkappaB*. *Immunity*, 1997. **7**(4): p. 571-81.
47. **Yoshimoto, T., et al.**, *IL-12 up-regulates IL-18 receptor expression on T cells, Th1 cells, and B cells: synergism with IL-18 for IFN-gamma production*. *J Immunol*, 1998. **161**(7): p. 3400-7.
48. **Chang, J.T., et al.**, *The costimulatory effect of IL-18 on the induction of antigen-specific IFN-gamma production by resting T cells is IL-12 dependent and is mediated by up-regulation of the IL-12 receptor beta2 subunit*. *Eur J Immunol*, 2000. **30**(4): p. 1113-9.
49. **Szabo, S.J., et al.**, *Regulation of the interleukin (IL)-12R beta 2 subunit expression in developing T helper 1 (Th1) and Th2 cells*. *J Exp Med*, 1997. **185**(5): p. 817-24.
50. **Boehm, U., et al.**, *Cellular responses to interferon-gamma*. *Annu Rev Immunol*, 1997. **15**: p. 749-95.
51. **Valente, G., et al.**, *Distribution of interferon-gamma receptor in human tissues*. *Eur J Immunol*, 1992. **22**(9): p. 2403-12.
52. **Farrar, M.A. and R.D. Schreiber**, *The molecular cell biology of interferon-gamma and its receptor*. *Annu Rev Immunol*, 1993. **11**: p. 571-611.
53. **Takaoka, A., et al.**, *Cross talk between interferon-gamma and -alpha/beta signaling components in caveolar membrane domains*. *Science*, 2000. **288**(5475): p. 2357-60.
54. **Jung, V., et al.**, *Human chromosomes 6 and 21 are required for sensitivity to human interferon gamma*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1987. **84**(12): p. 4151-5.
55. **Pfizenmaier, K., et al.**, *High affinity human IFN-gamma-binding capacity is encoded by a single receptor gene located in proximity to c-ros on human chromosome region 6q16 to 6q22*. *J Immunol*, 1988. **141**(3): p. 856-60.
56. **Mariano, T.M., et al.**, *The mouse immune interferon receptor gene is located on chromosome 10*. *J Biol Chem*, 1987. **262**(12): p. 5812-4.
57. **Soh, J., et al.**, *Identification and sequence of an accessory factor required for activation of the human interferon gamma receptor*. *Cell*, 1994. **76**(5): p. 793-802.
58. **Cook, J.R., et al.**, *Sublocalization of the human interferon-gamma receptor accessory factor gene and characterization of accessory factor activity by yeast artificial chromosomal fragmentation*. *J Biol Chem*, 1994. **269**(9): p. 7013-8.
59. **Hibino, Y., et al.**, *Expression and reconstitution of a biologically active mouse interferon gamma receptor in hamster cells. Chromosomal location of an accessory factor*. *J Biol Chem*, 1991. **266**(11): p. 6948-51.
60. **Schindler, C.**, *Cytokines and JAK-STAT signaling*. *Exp Cell Res*, 1999. **253**(1): p. 7-14.
61. **Imada, K. and W.J. Leonard**, *The Jak-STAT pathway*. *Mol Immunol*, 2000. **37**(1-2): p. 1-11.

62. **Kaplan, D.H., et al.**, *Identification of an interferon-gamma receptor alpha chain sequence required for JAK-1 binding*. J Biol Chem, 1996. **271**(1): p. 9-12.
63. **Igarashi, K., et al.**, *Interferon-gamma induces tyrosine phosphorylation of interferon-gamma receptor and regulated association of protein tyrosine kinases, Jak1 and Jak2, with its receptor*. J Biol Chem, 1994. **269**(20): p. 14333-6.
64. **Sakatsume, M., et al.**, *The Jak kinases differentially associate with the alpha and beta (accessory factor) chains of the interferon gamma receptor to form a functional receptor unit capable of activating STAT transcription factors*. J Biol Chem, 1995. **270**(29): p. 17528-34.
65. **Kotenko, S.V., et al.**, *Interaction between the components of the interferon gamma receptor complex*. J Biol Chem, 1995. **270**(36): p. 20915-21.
66. **Bach, E.A., et al.**, *Ligand-induced assembly and activation of the gamma interferon receptor in intact cells*. Mol Cell Biol, 1996. **16**(6): p. 3214-21.
67. **Briscoe, J., et al.**, *Kinase-negative mutants of JAK1 can sustain interferon-gamma-inducible gene expression but not an antiviral state*. EMBO J., 1996. **15**: p. 799-809.
68. **Greenlund, A.C., et al.**, *Ligand-induced IFN gamma receptor tyrosine phosphorylation couples the receptor to its signal transduction system (p91)*. Embo J, 1994. **13**(7): p. 1591-600.
69. **Lehtonen, A., S. Matikainen, and I. Julkunen**, *Interferons up-regulate STAT1, STAT2, and IRF family transcription factor gene expression in human peripheral blood mononuclear cells and macrophages*. J Immunol, 1997. **159**(2): p. 794-803.
70. **Ouchi, T., et al.**, *Collaboration of signal transducer and activator of transcription 1 (STAT1) and BRCA1 in differential regulation of IFN-gamma target genes*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000. **97**(10): p. 5208-13.
71. **Shuai, K., et al.**, *Activation of transcription by IFN-gamma: tyrosine phosphorylation of a 91-kD DNA binding protein*. Science, 1992. **258**(5089): p. 1808-12.
72. **Shuai, K., et al.**, *Interferon activation of the transcription factor Stat91 involves dimerization through SH2-phosphotyrosyl peptide interactions*. Cell, 1994. **76**(5): p. 821-8.
73. **Sekimoto, T., et al.**, *Interferon-gamma-dependent nuclear import of Stat1 is mediated by the GTPase activity of Ran/TC4*. J Biol Chem, 1996. **271**(49): p. 31017-20.
74. **Decker, T., P. Kovarik, and A. Meinke**, *GAS elements: a few nucleotides with a major impact on cytokine-induced gene expression*. J Interferon Cytokine Res, 1997. **17**(3): p. 121-34.
75. **Wen, Z., Z. Zhong, and J.E. Darnell, Jr.**, *Maximal activation of transcription by Stat1 and Stat3 requires both tyrosine and serine phosphorylation*. Cell, 1995. **82**(2): p. 241-50.

76. **David, M., et al.**, Requirement for MAP kinase (ERK2) activity in interferon alpha- and interferon beta-stimulated gene expression through STAT proteins. *Science*, 1995. **269**(5231): p. 1721-3.
77. **Zhang, X., et al.**, Requirement of serine phosphorylation for formation of STAT-promoter complexes. *Science*, 1995. **267**(5206): p. 1990-4.
78. **Decker, T. and P. Kovarik**, Serine phosphorylation of STATs. *Oncogene*, 2000. **19**(21): p. 2628-37.
79. **Goh, K.C., S.J. Haque, and B.R. Williams**, p38 MAP kinase is required for STAT1 serine phosphorylation and transcriptional activation induced by interferons. *Embo J*, 1999. **18**(20): p. 5601-8.
80. **Kovarik, P., et al.**, Stress-induced phosphorylation of STAT1 at Ser727 requires p38 mitogen- activated protein kinase whereas IFN-gamma uses a different signaling pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999. **96**(24): p. 13956-61.
81. **Takaoka, A., et al.**, Protein tyrosine kinase Pyk2 mediates the Jak-dependent activation of MAPK and Stat1 in IFN-gamma, but not IFN-alpha, signaling. *Embo J*, 1999. **18**(9): p. 2480-8.
82. **Goodbourn, S., L. Didcock, and R.E. Randall**, Interferons: cell signalling, immune modulation, antiviral response and virus countermeasures. *J Gen Virol*, 2000. **81 Pt 10**: p. 2341-64.
83. **Zhang, J.J., et al.**, Two contact regions between Stat1 and CBP/p300 in interferon gamma signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1996. **93**(26): p. 15092-6.
84. **Janknecht, R. and T. Hunter**, Transcription. A growing coactivator network. *Nature*, 1996. **383**(6595): p. 22-3.
85. **Bannasch, D., I. Weis, and M. Schwab**, Nmi protein interacts with regions that differ between MycN and Myc and is localized in the cytoplasm of neuroblastoma cells in contrast to nuclear MycN. *Oncogene*, 1999. **18**(48): p. 6810-7.
86. **Lee, N.D., et al.**, Subcellular localization of interferon-inducible Myc/stat-interacting protein Nmi is regulated by a novel IFP 35 homologous domain. *J Interferon Cytokine Res*, 1999. **19**(11): p. 1245-52.
87. **Zhu, M., et al.**, Functional association of Nmi with Stat5 and Stat1 in IL-2- and IFNgamma-mediated signaling. *Cell*, 1999. **96**(1): p. 121-30.
88. **Schindler, C., et al.**, Proteins of transcription factor ISGF-3: one gene encodes the 91- and 84- kDa ISGF-3 proteins that are activated by interferon alpha. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1992. **89**(16): p. 7836-9.
89. **Der, S.D., et al.**, Identification of genes differentially regulated by interferon alpha, beta, or gamma using oligonucleotide arrays. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998. **95**(26): p. 15623-8.

90. **Shuai, K., et al.**, *A single phosphotyrosine residue of Stat91 required for gene activation by interferon-gamma*. Science, 1993. **261**(5129): p. 1744-6.
91. **Fu, X.Y., et al.**, *ISGF3, the transcriptional activator induced by interferon alpha, consists of multiple interacting polypeptide chains*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1990. **87**(21): p. 8555-9.
92. **Kessler, D.S., et al.**, *Interferon-alpha regulates nuclear translocation and DNA-binding affinity of ISGF3, a multimeric transcriptional activator*. Genes Dev, 1990. **4**(10): p. 1753-65.
93. **Matsumoto, M., et al.**, *Activation of the transcription factor ISGF3 by interferon-gamma*. Biol Chem, 1999. **380**(6): p. 699-703.
94. **Yan, H., et al.**, *Phosphorylated interferon-alpha receptor 1 subunit (IFNaR1) acts as a docking site for the latent form of the 113 kDa STAT2 protein*. Embo J, 1996. **15**(5): p. 1064-74.
95. **Kimura, T., et al.**, *Essential and non-redundant roles of p48 (ISGF3 gamma) and IRF-1 in both type I and type II interferon responses, as revealed by gene targeting studies*. Genes Cells, 1996. **1**(1): p. 115-24.
96. **Blyssens, H.A., et al.**, *Combinatorial association and abundance of components of interferon-stimulated gene factor 3 dictate the selectivity of interferon responses*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1995. **92**(12): p. 5645-9.
97. **Blyssens, A.R., J.E. Durbin, and D.E. Levy**, *ISGF3 gamma p48, a specificity switch for interferon activated transcription factors*. Cytokine Growth Factor Rev, 1996. **7**(1): p. 11-7.
98. **Sato, T., et al.**, *Inhibition of interferon regulatory factor-1 expression results in predominance of cell growth stimulatory effects of interferon-gamma due to phosphorylation of Stat1 and Stat3*. Blood, 1997. **90**(12): p. 4749-58.
99. **Raz, R., J.E. Durbin, and D.E. Levy**, *Acute phase response factor and additional members of the interferon-stimulated gene factor 3 family integrate diverse signals from cytokines, interferons, and growth factors*. J Biol Chem, 1994. **269**(39): p. 24391-5.
100. **Kordula, T., et al.**, *Activation of signal transducer and activator of transcription-3 (Stat3) expression by interferon-gamma and interleukin-6 in hepatoma cells*. Biochem Biophys Res Commun, 1995. **216**(3): p. 999-1005.
101. **Caldenhoven, E., et al.**, *Lineage-specific activation of STAT3 by interferon-gamma in human neutrophils*. J Leukoc Biol, 1999. **65**(3): p. 391-6.
102. **Wang, S., et al.**, *Interferon-mediated activation of the STAT signaling pathway in a human carcinoid tumor*. Ann Surg Oncol, 1998. **5**(7): p. 642-9.
103. **Durbin, J.E., et al.**, *Targeted disruption of the mouse Stat1 gene results in compromised innate immunity to viral disease*. Cell, 1996. **84**(3): p. 443-50.

104. **Barahmand-pour, F., et al.**, *Colony-stimulating factors and interferon-gamma activate a protein related to MGF-Stat 5 to cause formation of the differentiation-induced factor in myeloid cells.* FEBS Lett, 1995. **360**(1): p. 29-33.
105. **Meinke, A., et al.**, *Activation of different Stat5 isoforms contributes to cell-type- restricted signaling in response to interferons.* Mol Cell Biol, 1996. **16**(12): p. 6937-44.
106. **Ramana, C.V., et al.**, *Regulation of cmyc expression by IFN-gamma through Stat1-dependent and -independent pathways.* Embo J, 2000. **19**(2): p. 263-72.
107. **Ramana, C.V., et al.**, *Stat1-independent regulation of gene expression in response to IFN-gamma.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2001. **98**(12): p. 6674-9.
108. **Gil, M.P., et al.**, *Biologic consequences of Stat1-independent IFN signaling.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2001. **98**(12): p. 6680-5.
109. **English, B.K., et al.**, *Bacterial LPS and IFN-gamma trigger the tyrosine phosphorylation of vav in macrophages: evidence for involvement of the hck tyrosine kinase.* J Leukoc Biol, 1997. **62**(6): p. 859-64.
110. **Platanias, L.C., et al.**, *CrkL and CrkII participate in the generation of the growth inhibitory effects of interferons on primary hematopoietic progenitors.* Exp Hematol, 1999. **27**(8): p. 1315-21.
111. **Platanias, L.C. and E.N. Fish**, *Signaling pathways activated by interferons.* Exp Hematol, 1999. **27**(11): p. 1583-92.
112. **Sattler, M. and R. Salgia**, *Role of the adapter protein CRKL in signal transduction of normal hematopoietic and BCR/ABL-transformed cells.* Leukemia, 1998. **12**(5): p. 637-44.
113. **Mogensen, K.E., et al.**, *The type I interferon receptor: structure, function, and evolution of a family business.* J Interferon Cytokine Res, 1999. **19**(10): p. 1069-98.
114. **Lefevre, F., et al.**, *Interferon-delta: the first member of a novel type I interferon family.* Biochimie, 1998. **80**(8-9): p. 779-88.
115. **Hauptmann, R. and P. Swetly**, *A novel class of human type I interferons.* Nucleic Acids Res, 1985. **13**(13): p. 4739-49.
116. **Martal, J.L., et al.**, *IFN-tau: a novel subtype I IFN1. Structural characteristics, non-ubiquitous expression, structure-function relationships, a pregnancy hormonal embryonic signal and cross-species therapeutic potentialities.* Biochimie, 1998. **80**(8-9): p. 755-77.
117. **Diaz, M.O., et al.**, *Structure of the human type-I interferon gene cluster determined from a YAC clone contig.* Genomics, 1994. **22**(3): p. 540-52.
118. **Radhakrishnan, R., et al.**, *Zinc mediated dimer of human interferon-alpha 2b revealed by X-ray crystallography.* Structure, 1996. **4**(12): p. 1453-63.
119. **Klaus, W., et al.**, *The three-dimensional high resolution structure of human interferon alpha-2a determined by heteronuclear NMR spectroscopy in solution.* J Mol Biol, 1997. **274**(4): p. 661-75.

120. **Karpusas, M., et al.**, *The crystal structure of human interferon beta at 2.2-A resolution.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1997. **94**(22): p. 11813-8.
121. **Taniguchi, T., et al.**, *IRF family of transcription factors as regulators of host defense.* Annu Rev Immunol, 2001. **19**: p. 623-55.
122. **Israel, A.**, *The IKK complex: an integrator of all signals that activate NF-kappaB?* Trends Cell Biol, 2000. **10**(4): p. 129-33.
123. **Chu, W.M., et al.**, *JNK2 and IKKbeta are required for activating the innate response to viral infection.* Immunity, 1999. **11**(6): p. 721-31.
124. **Zamanian-Daryoush, M., et al.**, *NF-kappaB activation by double-stranded-RNA-activated protein kinase (PKR) is mediated through NF-kappaB-inducing kinase and IkappaB kinase.* Mol Cell Biol, 2000. **20**(4): p. 1278-90.
125. **Clemens, M.J. and A. Elia**, *The double-stranded RNA-dependent protein kinase PKR: structure and function.* J Interferon Cytokine Res, 1997. **17**(9): p. 503-24.
126. **Thanos, D.**, *Mechanisms of transcriptional synergism of eukaryotic genes. The interferon-beta paradigm.* Hypertension, 1996. **27**(4): p. 1025-9.
127. **Carey, M.**, *The enhanceosome and transcriptional synergy.* Cell, 1998. **92**(1): p. 5-8.
128. **Sato, M., et al.**, *Positive feedback regulation of type I IFN genes by the IFN-inducible transcription factor IRF-7.* FEBS Lett, 1998. **441**(1): p. 106-10.
129. **Yoneyama, M., et al.**, *Direct triggering of the type I interferon system by virus infection: activation of a transcription factor complex containing IRF-3 and CBP/p300.* Embo J, 1998. **17**(4): p. 1087-95.
130. **Lin, R., et al.**, *Virus-dependent phosphorylation of the IRF-3 transcription factor regulates nuclear translocation, transactivation potential, and proteasome-mediated degradation.* Mol Cell Biol, 1998. **18**(5): p. 2986-96.
131. **Hata, N., et al.**, *Constitutive IFN-alpha/beta signal for efficient IFN-alpha/beta gene induction by virus.* Biochem Biophys Res Commun, 2001. **285**(2): p. 518-25.
132. **Barnes, B.J., P.A. Moore, and P.M. Pitha**, *Virus-specific activation of a novel interferon regulatory factor, IRF- 5, results in the induction of distinct interferon alpha genes.* J Biol Chem, 2001. **276**(26): p. 23382-90.
133. **Jacobs, B.L. and J.O. Langland**, *When two strands are better than one: the mediators and modulators of the cellular responses to double-stranded RNA.* Virology, 1996. **219**(2): p. 339-49.
134. **Lenardo, M.J., et al.**, *The involvement of NF-kappa B in beta-interferon gene regulation reveals its role as widely inducible mediator of signal transduction.* Cell, 1989. **57**(2): p. 287-94.

135. **Visvanathan, K.V. and S. Goodbourn**, *Double-stranded RNA activates binding of NF-kappa B to an inducible element in the human beta-interferon promoter*. *Embo J*, 1989. **8**(4): p. 1129-38.
136. **Baldwin, A.S., Jr.**, *The NF-kappa B and I kappa B proteins: new discoveries and insights*. *Annu Rev Immunol*, 1996. **14**: p. 649-83.
137. **Baeuerle, P.A.**, *Pro-inflammatory signaling: last pieces in the NF-kappaB puzzle?* *Curr Biol*, 1998. **8**(1): p. R19-22.
138. **Carpick, B.W., et al.**, *Characterization of the solution complex between the interferon-induced, double-stranded RNA-activated protein kinase and HIV-I trans-activating region RNA*. *J Biol Chem*, 1997. **272**(14): p. 9510-6.
139. **Meurs, E., et al.**, *Molecular cloning and characterization of the human double-stranded RNA-activated protein kinase induced by interferon*. *Cell*, 1990. **62**(2): p. 379-90.
140. **Katze, M.G., et al.**, *Functional expression and RNA binding analysis of the interferon-induced, double-stranded RNA-activated, 68,000-Mr protein kinase in a cell-free system*. *Mol Cell Biol*, 1991. **11**(11): p. 5497-505.
141. **Miyamoto, M., et al.**, *Regulated expression of a gene encoding a nuclear factor, IRF-1, that specifically binds to IFN-beta gene regulatory elements*. *Cell*, 1988. **54**(6): p. 903-13.
142. **Reis, L.F., et al.**, *Critical role of a common transcription factor, IRF-1, in the regulation of IFN-beta and IFN-inducible genes*. *Embo J*, 1992. **11**(1): p. 185-93.
143. **Yoneyama, M., et al.**, *Autocrine amplification of type I interferon gene expression mediated by interferon stimulated gene factor 3 (ISGF3)*. *J Biochem (Tokyo)*, 1996. **120**(1): p. 160-9.
144. **Sato, M., et al.**, *Involvement of the IRF family transcription factor IRF-3 in virus-induced activation of the IFN-beta gene*. *FEBS Lett*, 1998. **425**(1): p. 112-6.
145. **Schafer, S.L., et al.**, *Regulation of type I interferon gene expression by interferon regulatory factor-3*. *J Biol Chem*, 1998. **273**(5): p. 2714-20.
146. **Weaver, B.K., K.P. Kumar, and N.C. Reich**, *Interferon regulatory factor 3 and CREB-binding protein/p300 are subunits of double-stranded RNA-activated transcription factor DRAFI*. *Mol Cell Biol*, 1998. **18**(3): p. 1359-68.
147. **Wathelet, M.G., et al.**, *Virus infection induces the assembly of coordinately activated transcription factors on the IFN-beta enhancer in vivo*. *Mol Cell*, 1998. **1**(4): p. 507-18.
148. **Der, S.D. and A.S. Lau**, *Involvement of the double-stranded-RNA-dependent kinase PKR in interferon expression and interferon-mediated antiviral activity*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1995. **92**(19): p. 8841-5.
149. **de Veer, M.J., et al.**, *Functional classification of interferon-stimulated genes identified using microarrays*. *J Leukoc Biol*, 2001. **69**(6): p. 912-20.

150. **Au, W.C., et al.**, *Identification of a member of the interferon regulatory factor family that binds to the interferon-stimulated response element and activates expression of interferon-induced genes.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1995. **92**(25): p. 11657-61.
151. **Marie, I., J.E. Durbin, and D.E. Levy**, *Differential viral induction of distinct interferon-alpha genes by positive feedback through interferon regulatory factor-7.* Embo J, 1998. **17**(22): p. 6660-9.
152. **Taniguchi, T. and A. Takaoka**, *A weak signal for strong responses: interferon-alpha/beta revisited.* Nat Rev Mol Cell Biol, 2001. **2**(5): p. 378-86.
153. **Erlandsson, L., et al.**, *Interferon-beta is required for interferon-alpha production in mouse fibroblasts.* Curr Biol, 1998. **8**(4): p. 223-6.
154. **Harada, H., et al.**, *Regulation of IFN-alpha/beta genes: evidence for a dual function of the transcription factor complex ISGF3 in the production and action of IFN- alpha/beta.* Genes Cells, 1996. **1**(11): p. 995-1005.
155. **Pitha, P.M., et al.**, *Role of the interferon regulatory factors (IRFs) in virus-mediated signaling and regulation of cell growth.* Biochimie, 1998. **80**(8-9): p. 651-8.
156. **MacDonald, N.J., et al.**, *Different pathways mediate virus inducibility of the human IFN-alpha 1 and IFN-beta genes.* Cell, 1990. **60**(5): p. 767-79.
157. **Uze, G., G. Lutfalla, and I. Gresser**, *Genetic transfer of a functional human interferon alpha receptor into mouse cells: cloning and expression of its cDNA.* Cell, 1990. **60**(2): p. 225-34.
158. **Kim, S.H., et al.**, *Mammalian type I interferon receptors consists of two subunits: IFNAR1 and IFNAR2.* Gene, 1997. **196**(1-2): p. 279-86.
159. **Novick, D., B. Cohen, and M. Rubinstein**, *The human interferon alpha/beta receptor: characterization and molecular cloning.* Cell, 1994. **77**(3): p. 391-400.
160. **Domanski, P., et al.**, *Cloning and expression of a long form of the beta subunit of the interferon alpha beta receptor that is required for signaling.* J Biol Chem, 1995. **270**(37): p. 21606-11.
161. **Lutfalla, G., et al.**, *Mutant U5A cells are complemented by an interferon-alpha beta receptor subunit generated by alternative processing of a new member of a cytokine receptor gene cluster.* Embo J, 1995. **14**(20): p. 5100-8.
162. **Reboul, J., et al.**, *Comparative genomic analysis of the interferon/interleukin-10 receptor gene cluster.* Genome Res, 1999. **9**(3): p. 242-50.
163. **Cheng, S., et al.**, *GART, SON, IFNAR, and CRF2-4 genes cluster on human chromosome 21 and mouse chromosome 16.* Mamm Genome, 1993. **4**(6): p. 338-42.
164. **Russell-Harde, D., et al.**, *Reconstitution of a high affinity binding site for type I interferons.* J Biol Chem, 1995. **270**(44): p. 26033-6.

165. **Cohen, B., et al.**, *Ligand-induced association of the type I interferon receptor components*. Mol Cell Biol, 1995. **15**(8): p. 4208-14.
166. **Colamonici, O.R., et al.**, *p135tyk2, an interferon-alpha-activated tyrosine kinase, is physically associated with an interferon-alpha receptor*. J Biol Chem, 1994. **269**(5): p. 3518-22.
167. **Colamonici, O., et al.**, *Direct binding to and tyrosine phosphorylation of the alpha subunit of the type I interferon receptor by p135tyk2 tyrosine kinase*. Mol Cell Biol, 1994. **14**(12): p. 8133-42.
168. **Gauzzi, M.C., et al.**, *Interferon-alpha-dependent activation of Tyk2 requires phosphorylation of positive regulatory tyrosines by another kinase*. J Biol Chem, 1996. **271**(34): p. 20494-500.
169. **Yan, H., et al.**, *Molecular characterization of an alpha interferon receptor 1 subunit (IFNaR1) domain required for TYK2 binding and signal transduction*. Mol Cell Biol, 1996. **16**(5): p. 2074-82.
170. **Krishnan, K., et al.**, *Dimerization of a chimeric CD4-interferon-alpha receptor reconstitutes the signaling events preceding STAT phosphorylation*. Oncogene, 1996. **13**(1): p. 125-33.
171. **Li, X., et al.**, *Functional subdomains of STAT2 required for preassociation with the alpha interferon receptor and for signaling*. Mol Cell Biol, 1997. **17**(4): p. 2048-56.
172. **Nadeau, O.W., et al.**, *The proximal tyrosines of the cytoplasmic domain of the beta chain of the type I interferon receptor are essential for signal transducer and activator of transcription (Stat) 2 activation. Evidence that two Stat2 sites are required to reach a threshold of interferon alpha-induced Stat2 tyrosine phosphorylation that allows normal formation of interferon-stimulated gene factor 3*. J Biol Chem, 1999. **274**(7): p. 4045-52.
173. **Prejean, C. and O.R. Colamonici**, *Role of the cytoplasmic domains of the type I interferon receptor subunits in signaling*. Semin Cancer Biol, 2000. **10**(2): p. 83-92.
174. **Kotenko, S.V., et al.**, *The intracellular domain of interferon-alpha receptor 2c (IFN-alphaR2c) chain is responsible for Stat activation*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999. **96**(9): p. 5007-12.
175. **Leung, S., et al.**, *Role of STAT2 in the alpha interferon signaling pathway*. Mol Cell Biol, 1995. **15**(3): p. 1312-7.
176. **Qureshi, S.A., et al.**, *Function of Stat2 protein in transcriptional activation by alpha interferon*. Mol Cell Biol, 1996. **16**(1): p. 288-93.
177. **Mowen, K. and M. David**, *Role of the STAT1-SH2 domain and STAT2 in the activation and nuclear translocation of STAT1*. J Biol Chem, 1998. **273**(46): p. 30073-6.
178. **Veals, S.A., et al.**, *Subunit of an alpha-interferon-responsive transcription factor is related to interferon regulatory factor and Myb families of DNA-binding proteins*. Mol Cell Biol, 1992. **12**(8): p. 3315-24.

179. **Pellegrini, S., et al.**, *Use of a selectable marker regulated by alpha interferon to obtain mutations in the signaling pathway.* Mol Cell Biol, 1989. **9**(11): p. 4605-12.
180. **Platanias, L.C., et al.**, *Differences in interferon alpha and beta signaling. Interferon beta selectively induces the interaction of the alpha and betaL subunits of the type I interferon receptor.* J Biol Chem, 1996. **271**(39): p. 23630-3.
181. **Abramovich, C., et al.**, *Differential tyrosine phosphorylation of the IFNAR chain of the type I interferon receptor and of an associated surface protein in response to IFN-alpha and IFN-beta.* Embo J, 1994. **13**(24): p. 5871-7.
182. **Russell-Harde, D., et al.**, *Formation of a uniquely stable type I interferon receptor complex by interferon beta is dependent upon particular interactions between interferon beta and its receptor and independent of tyrosine phosphorylation.* Biochem Biophys Res Commun, 1999. **255**(2): p. 539-44.
183. **Platanias, L.C. and M.E. Sweet**, *Interferon alpha induces rapid tyrosine phosphorylation of the vav proto-oncogene product in hematopoietic cells.* J Biol Chem, 1994. **269**(5): p. 3143-6.
184. **Platanias, L.C., S. Uddin, and O.R. Colamonici**, *Tyrosine phosphorylation of the alpha and beta subunits of the type I interferon receptor. Interferon-beta selectively induces tyrosine phosphorylation of an alpha subunit-associated protein.* J Biol Chem, 1994. **269**(27): p. 17761-4.
185. **Constantinescu, S.N., et al.**, *Expression and signaling specificity of the IFNAR chain of the type I interferon receptor complex.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1995. **92**(23): p. 10487-91.
186. **Darnell, J.E., Jr., I.M. Kerr, and G.R. Stark**, *Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins.* Science, 1994. **264**(5164): p. 1415-21.
187. **Improta, T., et al.**, *Transcription factor ISGF-3 formation requires phosphorylated Stat91 protein, but Stat113 protein is phosphorylated independently of Stat91 protein.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1994. **91**(11): p. 4776-80.
188. **Muller, M., et al.**, *Complementation of a mutant cell line: central role of the 91 kDa polypeptide of ISGF3 in the interferon-alpha and -gamma signal transduction pathways.* Embo J, 1993. **12**(11): p. 4221-8.
189. **Bhattacharya, S., et al.**, *Cooperation of Stat2 and p300/CBP in signalling induced by interferon- alpha.* Nature, 1996. **383**(6598): p. 344-7.
190. **Uddin, S., et al.**, *Activation of the p38 mitogen-activated protein kinase by type I interferons.* J Biol Chem, 1999. **274**(42): p. 30127-31.
191. **Uddin, S., et al.**, *The Rac1/p38 mitogen-activated protein kinase pathway is required for interferon alpha-dependent transcriptional activation but not serine phosphorylation of Stat proteins.* J Biol Chem, 2000. **275**(36): p. 27634-40.

192. **Decker, T., D.J. Lew, and J.E. Darnell, Jr.,** *Two distinct alpha-interferon-dependent signal transduction pathways may contribute to activation of transcription of the guanylate-binding protein gene.* Mol Cell Biol, 1991. **11**(10): p. 5147-53.
193. **Seegert, D., et al.,** *A novel interferon-alpha-regulated, DNA-binding protein participates in the regulation of the IFP53/tryptophanyl-tRNA synthetase gene.* J Biol Chem, 1994. **269**(11): p. 8590-5.
194. **Haque, S.J. and B.R. Williams,** *Identification and characterization of an interferon (IFN)-stimulated response element-IFN-stimulated gene factor 3-independent signaling pathway for IFN-alpha.* J Biol Chem, 1994. **269**(30): p. 19523-9.
195. **Li, X., et al.,** *Formation of STAT1-STAT2 heterodimers and their role in the activation of IRF-1 gene transcription by interferon-alpha.* J Biol Chem, 1996. **271**(10): p. 5790-4.
196. **Ghislain, J.J. and E.N. Fish,** *Application of genomic DNA affinity chromatography identifies multiple interferon-alpha-regulated Stat2 complexes.* J Biol Chem, 1996. **271**(21): p. 12408-13.
197. **Ghislain, J.J., et al.,** *The interferon-inducible Stat2:Stat1 heterodimer preferentially binds in vitro to a consensus element found in the promoters of a subset of interferon-stimulated genes.* J Interferon Cytokine Res, 2001. **21**(6): p. 379-88.
198. **Sims, S.H., et al.,** *A novel interferon-inducible domain: structural and functional analysis of the human interferon regulatory factor 1 gene promoter.* Mol Cell Biol, 1993. **13**(1): p. 690-702.
199. **Harada, H., et al.,** *Structure and regulation of the human interferon regulatory factor 1 (IRF-1) and IRF-2 genes: implications for a gene network in the interferon system.* Mol Cell Biol, 1994. **14**(2): p. 1500-9.
200. **Pine, R., A. Canova, and C. Schindler,** *Tyrosine phosphorylated p91 binds to a single element in the ISGF2/IRF- 1 promoter to mediate induction by IFN alpha and IFN gamma, and is likely to autoregulate the p91 gene.* Embo J, 1994. **13**(1): p. 158-67.
201. **Meraz, M.A., et al.,** *Targeted disruption of the Stat1 gene in mice reveals unexpected physiologic specificity in the JAK-STAT signaling pathway.* Cell, 1996. **84**(3): p. 431-42.
202. **Kaplan, M.H., et al.,** *Impaired IL-12 responses and enhanced development of Th2 cells in Stat4- deficient mice.* Nature, 1996. **382**(6587): p. 174-7.
203. **Teglund, S., et al.,** *Stat5a and Stat5b proteins have essential and nonessential, or redundant, roles in cytokine responses.* Cell, 1998. **93**(5): p. 841-50.
204. **Thierfelder, W.E., et al.,** *Requirement for Stat4 in interleukin-12-mediated responses of natural killer and T cells.* Nature, 1996. **382**(6587): p. 171-4.
205. **Takeda, K., et al.,** *Essential role of Stat6 in IL-4 signalling.* Nature, 1996. **380**(6575): p. 627-30.
206. **Shimoda, K., et al.,** *Lack of IL-4-induced Th2 response and IgE class switching in mice with disrupted Stat6 gene.* Nature, 1996. **380**(6575): p. 630-3.

207. **Yang, C.H., et al.**, *Direct association of STAT3 with the IFNAR-1 chain of the human type I interferon receptor.* J Biol Chem, 1996. **271**(14): p. 8057-61.
208. **Beadling, C., et al.**, *Activation of JAK kinases and STAT proteins by interleukin-2 and interferon alpha, but not the T cell antigen receptor, in human T lymphocytes.* Embo J, 1994. **13**(23): p. 5605-15.
209. **Rani, M.R., et al.**, *Catalytically active TYK2 is essential for interferon-beta-mediated phosphorylation of STAT3 and interferon-alpha receptor-1 (IFNAR-1) but not for activation of phosphoinositol 3-kinase.* J Biol Chem, 1999. **274**(45): p. 32507-11.
210. **Pansky, A., et al.**, *Growth effects of alpha-interferon but not of bombesin or angiotensin II are mediated by activation of STAT proteins.* Eur J Clin Invest, 1998. **28**(5): p. 398-406.
211. **Fasler-Kan, E., et al.**, *Interferon-alpha activates signal transducers and activators of transcription 5 and 6 in Daudi cells.* Eur J Biochem, 1998. **254**(3): p. 514-9.
212. **Matikainen, S., et al.**, *Interferon-alpha activates multiple STAT proteins and upregulates proliferation-associated IL-2Ralpha, c-myc, and pim-1 genes in human T cells.* Blood, 1999. **93**(6): p. 1980-91.
213. **Yang, C.H., A. Murti, and L.M. Pfeffer**, *STAT3 complements defects in an interferon-resistant cell line: evidence for an essential role for STAT3 in interferon signaling and biological activities.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1998. **95**(10): p. 5568-72.
214. **Gupta, S., M. Jiang, and A.B. Pernis**, *IFN-alpha activates Stat6 and leads to the formation of Stat2:Stat6 complexes in B cells.* J Immunol, 1999. **163**(7): p. 3834-41.
215. **Ihle, J.N.**, *The Stat family in cytokine signaling.* Curr Opin Cell Biol, 2001. **13**(2): p. 211-7.
216. **Bacon, C.M., et al.**, *Interleukin 12 induces tyrosine phosphorylation and activation of STAT4 in human lymphocytes.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1995. **92**(16): p. 7307-11.
217. **Farrar, J.D., et al.**, *Recruitment of Stat4 to the human interferon-alpha/beta receptor requires activated Stat2.* J Biol Chem, 2000. **275**(4): p. 2693-7.
218. **Farrar, J.D., et al.**, *Selective loss of type I interferon-induced STAT4 activation caused by a minisatellite insertion in mouse Stat2.* Nat Immunol, 2000. **1**(1): p. 65-9.
219. **Frucht, D.M., et al.**, *Stat4 is expressed in activated peripheral blood monocytes, dendritic cells, and macrophages at sites of Th1-mediated inflammation.* J Immunol, 2000. **164**(9): p. 4659-64.
220. **Jacobson, N.G., et al.**, *Interleukin 12 signaling in T helper type 1 (Th1) cells involves tyrosine phosphorylation of signal transducer and activator of transcription (Stat)3 and Stat4.* J Exp Med, 1995. **181**(5): p. 1755-62.
221. **Cho, S.S., et al.**, *Activation of STAT4 by IL-12 and IFN-alpha: evidence for the involvement of ligand-induced tyrosine and serine phosphorylation.* J Immunol, 1996. **157**(11): p. 4781-9.

222. **Rogge, L., et al.**, *The role of Stat4 in species-specific regulation of Th cell development by type I IFNs*. J Immunol, 1998. **161**(12): p. 6567-74.
223. **Fish, E.N., et al.**, *Activation of a CrkL-stat5 signaling complex by type I interferons*. J Biol Chem, 1999. **274**(2): p. 571-3.
224. **Jaster, R., et al.**, *Role of STAT5 in interferon-alpha signal transduction in Ba/F3 cells*. Cell Signal, 1999. **11**(5): p. 331-5.
225. **Rubin, B.Y., et al.**, *Interferon induces tryptophanyl-tRNA synthetase expression in human fibroblasts*. J Biol Chem, 1991. **266**(36): p. 24245-8.
226. **Wang, I.-M., et al.**, *Interferon regulatory factors TFIIB cooperatively regulate interferon-responsive promoter activity in vivo and in vitro*. Mol. Cell. Biol., 1996. **16**: p. 6313-6324.
227. **Micouin, A., et al.**, *p95(vav) associates with the type I interferon (IFN) receptor and contributes to the antiproliferative effect of IFN-alpha in megakaryocytic cell lines*. Oncogene, 2000. **19**(3): p. 387-94.
228. **Yang, C.H., et al.**, *Interferon alpha /beta promotes cell survival by activating nuclear factor kappa B through phosphatidylinositol 3-kinase and Akt*. J Biol Chem, 2001. **276**(17): p. 13756-61.
229. **Pfeffer, L.M., et al.**, *The short form of the interferon alpha/beta receptor chain 2 acts as a dominant negative for type I interferon action*. J Biol Chem, 1997. **272**(17): p. 11002-5.
230. **Uddin, S., et al.**, *Interferon-dependent activation of the serine kinase PI 3'-kinase requires engagement of the IRS pathway but not the Stat pathway*. Biochem Biophys Res Commun, 2000. **270**(1): p. 158-62.
231. **Uddin, S., et al.**, *Interferon-alpha engages the insulin receptor substrate-1 to associate with the phosphatidylinositol 3'-kinase*. J Biol Chem, 1995. **270**(27): p. 15938-41.
232. **Uddin, S., et al.**, *The IRS-pathway operates distinctively from the Stat-pathway in hematopoietic cells and transduces common and distinct signals during engagement of the insulin or interferon-alpha receptors*. Blood, 1997. **90**(7): p. 2574-82.
233. **Burfoot, M.S., et al.**, *Janus kinase-dependent activation of insulin receptor substrate 1 in response to interleukin-4, oncostatin M, and the interferons*. J Biol Chem, 1997. **272**(39): p. 24183-90.
234. **Platanias, L.C., et al.**, *The type I interferon receptor mediates tyrosine phosphorylation of insulin receptor substrate 2*. J Biol Chem, 1996. **271**(1): p. 278-82.
235. **White, M.F.**, *The IRS-signalling system: a network of docking proteins that mediate insulin action*. Mol Cell Biochem, 1998. **182**(1-2): p. 3-11.
236. **Tanaka, S., et al.**, *Tyrosine phosphorylation and translocation of the c-cbl protein after activation of tyrosine kinase signaling pathways*. J Biol Chem, 1995. **270**(24): p. 14347-51.

237. **Uddin, S., et al.,** *Interaction of the c-cbl proto-oncogene product with the Tyk-2 protein tyrosine kinase.* Biochem Biophys Res Commun, 1996. **225**(3): p. 833-8.
238. **Ahmad, S., et al.,** *The type I interferon receptor mediates tyrosine phosphorylation of the CrkL adaptor protein.* J Biol Chem, 1997. **272**(48): p. 29991-4.
239. **Uddin, S., et al.,** *The vav proto-oncogene product (p95vav) interacts with the Tyk-2 protein tyrosine kinase.* FEBS Lett, 1997. **403**(1): p. 31-4.
240. **Klamp, T., et al.,** *A list of genes regulated by IFN-g* (<http://www.annurev.org/sup/material.htm>). 1997.
241. **Abdollahi, A., et al.,** *Interferon regulatory factor 1 is a myeloid differentiation primary response gene induced by interleukin 6 and leukemia inhibitory factor: role in growth inhibition.* Cell Growth Differ, 1991. **2**(8): p. 401-7.
242. **Fujita, T., et al.,** *Induction of endogenous IFN-alpha and IFN-beta genes by a regulatory transcription factor, IRF-1.* Nature, 1989. **337**(6204): p. 270-2.
243. **Fujita, T., et al.,** *Induction of the transcription factor IRF-1 and interferon-beta mRNAs by cytokines and activators of second-messenger pathways.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1989. **86**(24): p. 9936-40.
244. **Tanaka, N., T. Kawakami, and T. Taniguchi,** *Recognition DNA sequences of interferon regulatory factor 1 (IRF-1) and IRF-2, regulators of cell growth and the interferon system.* Mol Cell Biol, 1993. **13**(8): p. 4531-8.
245. **Kimura, T., et al.,** *Involvement of the IRF-1 transcription factor in antiviral responses to interferons.* Science, 1994. **264**(5167): p. 1921-4.
246. **Harada, H., et al.,** *Structurally similar but functionally distinct factors, IRF-1 and IRF-2, bind to the same regulatory elements of IFN and IFN-inducible genes.* Cell, 1989. **58**(4): p. 729-39.
247. **Pine, R.,** *Constitutive expression of an ISGF2/IRF1 transgene leads to interferon-independent activation of interferon-inducible genes and resistance to virus infection.* J Virol, 1992. **66**(7): p. 4470-8.
248. **Kamijo, R., et al.,** *Requirement for transcription factor IRF-1 in NO synthase induction in macrophages.* Science, 1994. **263**(5153): p. 1612-5.
249. **Lohoff, M., et al.,** *Interferon regulatory factor-1 is required for a T helper 1 immune response in vivo.* Immunity, 1997. **6**: p. 681-689.
250. **Taki, S., et al.,** *Multistage regulation of Th1-Type immune responses by the transcription factor IRF-1.* Immunity, 1997. **6**: p. 673-679.
251. **Xiao, W., et al.,** *CCAAT/enhancer-binding protein beta mediates interferon-gamma-induced p48 (ISGF3-gamma) gene transcription in human monocytic cells.* J Biol Chem, 2001. **276**(26): p. 23275-81.

-
252. **Cha, Y. and A.B. Deisseroth**, *Human Interferon Regulatory Factor-2 Gene - Intron-Exon Organization and Functional-Analysis Of 5'-Flanking Region*. Journal Of Biological Chemistry, 1994. **269**(7): p. 5279-5287.
253. **Weihua, X., V. Kolla, and D.V. Kalvakolanu**, *Interferon γ induced transcription of the murine ISGF3 β (p48) gene is mediated by novel factors*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1997. **94**: p. 103-108.
254. **Roy, S.K., et al.**, *CCAAT/enhancer-binding protein-beta regulates interferon-induced transcription through a novel element*. J Biol Chem, 2000. **275**(17): p. 12626-32.
255. **Driggers, P.H., et al.**, *An interferon gamma-regulated protein that binds the interferon-inducible enhancer element of major histocompatibility complex class I genes*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1990. **87**(10): p. 3743-7.
256. **Nelson, N., et al.**, *Expression of IFN regulatory factor family proteins in lymphocytes. Induction of Stat-1 and IFN consensus sequence binding protein expression by T cell activation*. J. Immunol., 1996. **156**: p. 3711-3720.
257. **Politis, A.D., et al.**, *Modulation of interferon consensus sequence binding protein mRNA in murine peritoneal macrophages. Induction by IFN-gamma and down-regulation by IFN-alpha, dexamethasone, and protein kinase inhibitors*. J Immunol, 1992. **148**(3): p. 801-7.
258. **Harada, H., et al.**, *Absence of the type I IFN system in EC cells: transcriptional activator (IRF-1) and repressor (IRF-2) genes are developmentally regulated*. Cell, 1990. **63**(2): p. 303-12.
259. **Hida, S., et al.**, *CD8(+) T cell-mediated skin disease in mice lacking IRF-2, the transcriptional attenuator of interferon-alpha/beta signaling*. Immunity, 2000. **13**(5): p. 643-55.
260. **Vaughan, P.S., et al.**, *Activation of a cell-cycle-regulated histone gene by the oncogenic transcription factor IRF-2*. Nature, 1995. **377**(6547): p. 362-5.
261. **Fehr, T., et al.**, *Crucial role of interferon consensus sequence binding protein, but neither of interferon regulatory factor 1 nor of nitric oxide synthase for protection against murine listeriosis*. J Exp Med, 1997. **185**(5): p. 921-31.
262. **Blanco, J.C., et al.**, *Interferon regulatory factor (IRF)-1 and IRF-2 regulate interferon gamma-dependent cyclooxygenase 2 expression*. J Exp Med, 2000. **191**(12): p. 2131-44.
263. **Lohoff, M., et al.**, *Deficiency in the transcription factor interferon regulatory factor (IRF)-2 leads to severely compromised development of natural killer and T helper type 1 cells*. J Exp Med, 2000. **192**(3): p. 325-36.
264. **Jesse, T.L., et al.**, *Interferon regulatory factor-2 is a transcriptional activator in muscle where It regulates expression of vascular cell adhesion molecule-1*. J Cell Biol, 1998. **140**(5): p. 1265-76.

265. **Holtshke, T., et al.**, *Immunodeficiency and Chronic Myelogenous Leukemia-Like Syndrome In Mice With a Targeted Mutation Of the Icsbp Gene*. Cell, 1996. **87**(2): p. 307-317.
266. **Scharton-Kersten, T., et al.**, *Interferon consensus sequence binding protein-deficient mice display impaired resistance to intracellular infection due to a primary defect in interleukin 12 p40 induction*. J. Exp. Med., 1997. **186**: p. 1523-1534.
267. **Schmidt, M., et al.**, *Lack of interferon consensus sequence binding protein (ICSBP) transcripts in human myeloid leukemias*. Blood, 1998. **91**(1): p. 22-9.
268. **Giese, N.A., et al.**, *Interferon (IFN) consensus sequence-binding protein, a transcription factor of the IFN regulatory factor family, regulates immune responses in vivo through control of interleukin 12 expression*. J. Exp. Med., 1997. **186**: p. 1535-1546.
269. **Weisz, A., et al.**, *Human interferon consensus sequence binding protein is a negative regulator of enhancer elements common to interferon-inducible genes*. J Biol Chem, 1992. **267**(35): p. 25589-96.
270. **Nelson, N., et al.**, *Interferon consensus sequence-binding protein, a member of the interferon regulatory factor family, suppresses interferon-induced gene transcription*. Mol Cell Biol, 1993. **13**(1): p. 588-99.
271. **Bovolenta, C., et al.**, *Molecular interactions between interferon consensus sequence binding protein and members of the interferon regulatory factor family*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1994. **91**(11): p. 5046-50.
272. **Fu, X.Y.**, *A transcription factor with SH2 and SH3 domains is directly activated by an interferon alpha-induced cytoplasmic protein tyrosine kinase(s)*. Cell, 1992. **70**(2): p. 323-35.
273. **Fu, X.Y., et al.**, *The proteins of ISGF-3, the interferon alpha-induced transcriptional activator, define a gene family involved in signal transduction*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1992. **89**(16): p. 7840-3.
274. **Akira, S. and T. Kishimoto**, *NF-IL6 and NF-kappa B in cytokine gene regulation*. Adv Immunol, 1997. **65**: p. 1-46.
275. **Lekstrom-Himes, J. and K.G. Xanthopoulos**, *Biological role of the CCAAT/enhancer-binding protein family of transcription factors*. J Biol Chem, 1998. **273**(44): p. 28545-8.
276. **Tanaka, T., et al.**, *Targeted disruption of the NF-IL6 gene discloses its essential role in bacteria killing and tumor cytotoxicity by macrophages*. Cell, 1995. **80**(2): p. 353-61.
277. **Tengku-Muhammad, T.S., et al.**, *Differential regulation of macrophage CCAAT-enhancer binding protein isoforms by lipopolysaccharide and cytokines*. Cytokine, 2000. **12**(9): p. 1430-6.
278. **Dlaska, M. and G. Weiss**, *Central role of transcription factor NF-IL6 for cytokine and iron-mediated regulation of murine inducible nitric oxide synthase expression*. J Immunol, 1999. **162**(10): p. 6171-7.

279. **Cantwell, C.A., E. Sterneck, and P.F. Johnson**, *Interleukin-6-specific activation of the C/EBPdelta gene in hepatocytes is mediated by Stat3 and Sp1*. Mol Cell Biol, 1998. **18**(4): p. 2108-17.
280. **Gresser, I.**, *Can interferon induce disease?* Interferon, 1982. **4**: p. 95-127.
281. **Toyonaga, T., et al.**, *Chronic active hepatitis in transgenic mice expressing interferon-gamma in the liver*. Proc Natl Acad Sci USA, 1994. **91**: p. 614-18.
282. **Novick, D., et al.**, *Interleukin-18 binding protein: a novel modulator of the Th1 cytokine response*. Immunity, 1999. **10**(1): p. 127-36.
283. **Aizawa, Y., et al.**, *Cloning and expression of interleukin-18 binding protein*. FEBS Lett, 1999. **445**(2-3): p. 338-42.
284. **Reznikov, L.L., et al.**, *IL-18 binding protein increases spontaneous and IL-1-induced prostaglandin production via inhibition of IFN-gamma*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000. **97**(5): p. 2174-9.
285. **Muhl, H., et al.**, *Interferon-gamma mediates gene expression of IL-18 binding protein in nonleukocytic cells*. Biochem Biophys Res Commun, 2000. **267**(3): p. 960-3.
286. **Bach, E.A., et al.**, *Ligand-induced autoregulation of IFN-g receptor b chain expression in T helper cell subsets*. Science, 1995. **270**: p. 1215-1218.
287. **Sakatsume, M. and D.S. Finbloom**, *Modulation of the expression of the IFN-gamma receptor beta-chain controls responsiveness to IFN-gamma in human peripheral blood T cells*. J Immunol, 1996. **156**(11): p. 4160-6.
288. **Bader, T. and J. Wietzerbin**, *Nuclear accumulation of interferon g*. PNAS, 1994. **91**: p. 11831-11835.
289. **Constantinescu, S.N., et al.**, *Role of interferon alpha/beta receptor chain 1 in the structure and transmembrane signaling of the interferon alpha/beta receptor complex*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1994. **91**(20): p. 9602-6.
290. **Anderson, P., Y.K. Yip, and J. Vilcek**, *Human interferon-gamma is internalized and degraded by cultured fibroblasts*. J. Biol. Chem., 1983. **258**: p. 6497-6502.
291. **Kovanen, P.E. and W.J. Leonard**, *Inhibitors keep cytokines in check*. Curr Biol, 1999. **9**(23): p. R899-902.
292. **Yasukawa, H., A. Sasaki, and A. Yoshimura**, *Negative regulation of cytokine signaling pathways*. Annu Rev Immunol, 2000. **18**: p. 143-64.
293. **Liu, B., et al.**, *Inhibition of Stat1-mediated gene activation by PIAS1*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998. **95**(18): p. 10626-31.
294. **Liu, B., et al.**, *A transcriptional corepressor of Stat1 with an essential LXXLL signature motif*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001. **98**(6): p. 3203-7.

295. **Yoshimura, A., et al.**, *A novel cytokine-inducible gene CIS encodes an SH2-containing protein that binds to tyrosine-phosphorylated interleukin 3 and erythropoietin receptors.* Embo J, 1995. **14**(12): p. 2816-26.
296. **Starr, R., et al.**, *A family of cytokine-inducible inhibitors of signalling.* Nature, 1997. **387**: p. 917-921.
297. **Matsumoto, A., et al.**, *Suppression of STAT5 functions in liver, mammary glands, and T cells in cytokine-inducible SH2-containing protein 1 transgenic mice.* Mol Cell Biol, 1999. **19**(9): p. 6396-407.
298. **Endo, T.A., et al.**, *A new protein containing an SH2 domain that inhibits JAK kinases.* Nature, 1997. **387**(6636): p. 921-4.
299. **Naka, T., et al.**, *Structure and function of a new STAT-induced STAT inhibitor.* Nature, 1997. **387**(6636): p. 924-9.
300. **Yasukawa, H., et al.**, *The JAK-binding protein JAB inhibits Janus tyrosine kinase activity through binding in the activation loop.* Embo J, 1999. **18**(5): p. 1309-20.
301. **Stoiber, D., et al.**, *Lipopolysaccharide induces in macrophages the synthesis of the suppressor of cytokine signaling 3 and suppresses signal transduction in response to the activating factor IFN-gamma.* J Immunol, 1999. **163**(5): p. 2640-7.
302. **Song, M.M. and K. Shuai**, *The suppressor of cytokine signaling (SOCS) 1 and SOCS3 but not SOCS2 proteins inhibit interferon-mediated antiviral and antiproliferative activities.* J Biol Chem, 1998. **273**(52): p. 35056-62.
303. **Alexander, W.S., et al.**, *SOCS1 is a critical inhibitor of interferon γ signaling and prevents the potentially fatal neonatal actions of this cytokine.* Cell, 1999. **98**: p. 597-608.
304. **Igarashi, K., et al.**, *In vitro activation of the transcription factor gamma interferon activation factor by gamma interferon: evidence for a tyrosine phosphatase/kinase signaling cascade.* Mol Cell Biol, 1993. **13**(3): p. 1634-40.
305. **Haque, S.J., et al.**, *Roles of protein-tyrosine phosphatases in Stat1 alpha-mediated cell signaling.* J Biol Chem, 1995. **270**(43): p. 25709-14.
306. **David, M., E. Petricoin, 3rd, and A.C. Lerner**, *Activation of protein kinase A inhibits interferon induction of the Jak/Stat pathway in U266 cells.* J Biol Chem, 1996. **271**(9): p. 4585-8.
307. **David, M., et al.**, *The SH2 domain-containing tyrosine phosphatase PTP1D is required for interferon alpha/beta-induced gene expression.* J Biol Chem, 1996. **271**(27): p. 15862-5.
308. **You, M., D.H. Yu, and G.S. Feng**, *Shp-2 tyrosine phosphatase functions as a negative regulator of the interferon-stimulated Jak/STAT pathway.* Mol Cell Biol, 1999. **19**(3): p. 2416-24.
309. **Yetter, A., et al.**, *Association of the interferon-dependent tyrosine kinase Tyk-2 with the hematopoietic cell phosphatase.* J Biol Chem, 1995. **270**(31): p. 18179-82.

310. **Platanias, L.C., et al.**, *Identification of a domain in the beta subunit of the type I interferon (IFN) receptor that exhibits a negative regulatory effect in the growth inhibitory action of type I IFNs.* J Biol Chem, 1998. **273**(10): p. 5577-81.
311. **Levy, D.E., et al.**, *Cytoplasmic activation of ISGF3, the positive regulator of interferon-alpha-stimulated transcription, reconstituted in vitro.* Genes Dev, 1989. **3**(9): p. 1362-71.
312. **Improta, T., R. Pine, and L.M. Pfeffer**, *Interferon-gamma potentiates the antiviral activity and the expression of interferon-stimulated genes induced by interferon-alpha in U937 cells.* J Interferon Res, 1992. **12**(2): p. 87-94.
313. **Gao, P., et al.**, *Interferon-g priming effects in the activation and deactivation of ISGF3 in K562 cells.* J. Biol. Chem., 1993. **268**: p. 12380-12387.
314. **Karaghiosoff, M., et al.**, *Partial impairment of cytokine responses in Tyk2-deficient mice.* Immunity, 2000. **13**(4): p. 549-60.
315. **Wan, J.S., et al.**, *Cloning differentially expressed mRNAs.* Nature Biotechnology, 1996. **14**: p. 1685-1691.
316. **Früh, K., L. Karlsson, and Y. Yang**, *Gamma interferon in antigen processing and presentation*, in *Gamma interferon in antiviral defense*, G. Karupiah, Editor. 1997, Springer: Heidelberg. p. 39-59.
317. **Snyder, S.R., et al.**, *A 3'-transcribed region of the HLA-A2 gene mediates posttranscriptional stimulation by IFN-gamma.* J Immunol, 2001. **166**(6): p. 3966-74.
318. **Mitchell, T.J., et al.**, *IFN-gamma up-regulates expression of the complement components C3 and C4 by stabilization of mRNA.* Journal of Immunology, 1996. **156**(11): p. 4429-4434.
319. **Ohh, M. and F. Takei**, *Interferon-gamma- and phorbol myristate acetate-responsive elements involved in intercellular adhesion molecule-1 mRNA stabilization.* J Biol Chem, 1994. **269**(48): p. 30117-20.
320. **Curiel, R.E., et al.**, *Enhanced B7-2 gene expression by interferon-gamma in human monocytic cells is controlled through transcriptional and posttranscriptional mechanisms.* Blood, 1999. **94**(5): p. 1782-9.
321. **Condino-Neto, A. and P.E. Newburger**, *Interferon-gamma improves splicing efficiency of CYBB gene transcripts in an interferon-responsive variant of chronic granulomatous disease due to a splice site consensus region mutation.* Blood, 2000. **95**(11): p. 3548-54.
322. **Tolstrup, A.B., et al.**, *Transcriptional regulation of the interferon-gamma-inducible tryptophanyl-tRNA synthetase includes alternative splicing.* J Biol Chem, 1995. **270**(1): p. 397-403.
323. **Cooper, A.M., et al.**, *Disseminated tuberculosis in interferon gamma gene-disrupted mice.* J Exp Med, 1993. **178**(6): p. 2243-7.
324. **Graham, M.B., et al.**, *Response to influenza infection in mice with a targeted disruption in the interferon gamma gene.* J Exp Med, 1993. **178**(5): p. 1725-32.

325. **Dalton, D.K., et al.**, *Multiple defects of immune cell function in mice with disrupted interferon-gamma genes*. Science, 1993. **259**(5102): p. 1739-42.
326. **Huang, S., et al.**, *Immune response in mice that lack the interferon-gamma receptor*. Science, 1993. **259**(5102): p. 1742-5.
327. **van den Broek, M.F., et al.**, *Antiviral defense in mice lacking both alpha/beta and gamma interferon receptors*. J Virol, 1995. **69**(8): p. 4792-6.
328. **Muller, U., et al.**, *Functional role of type I and type II interferons in antiviral defense*. Science, 1994. **264**(5167): p. 1918-21.
329. **Lu, B., et al.**, *Targeted disruption of the interferon-gamma receptor 2 gene results in severe immune defects in mice*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998. **95**(14): p. 8233-8.
330. **Wang, Z.E., et al.**, *CD4+ effector cells default to the Th2 pathway in interferon gamma-deficient mice infected with Leishmania major*. J Exp Med, 1994. **179**(4): p. 1367-71.
331. **Rodig, S.J., et al.**, *Disruption of the Jak1 gene demonstrates obligatory and nonredundant roles of the Jaks in cytokine-induced biologic responses*. Cell, 1998. **93**(3): p. 373-83.
332. **Parganas, E., et al.**, *Jak2 is essential for signaling through a variety of cytokine receptors*. Cell, 1998. **93**(3): p. 385-95.
333. **Park, C., et al.**, *Immune response in Stat2 knockout mice*. Immunity, 2000. **13**(6): p. 795-804.
334. **Shtrichman, R. and C.E. Samuel**, *The role of gamma interferon in antimicrobial immunity*. Curr Opin Microbiol, 2001. **4**(3): p. 251-9.
335. **van den Broek, M.F., et al.**, *Immune defence in mice lacking type I and/or type II interferon receptors*. Immunol Rev, 1995. **148**: p. 6-13.
336. **Dupuis, S., et al.**, *Impairment of mycobacterial but not viral immunity by a germline human STAT1 mutation*. Science, 2001. **293**(5528): p. 300-3.
337. **Janeway, C.A. and P. Travers**, *Immunologie*. 1997, Heidelberg-Berlin-Oxford: Spektrum Akademischer Verlag.
338. **Meurs, E.F., et al.**, *Constitutive expression of human double-stranded RNA-activated p68 kinase in murine cells mediates phosphorylation of eukaryotic initiation factor 2 and partial resistance to encephalomyocarditis virus growth*. J Virol, 1992. **66**(10): p. 5804-14.
339. **Ramaiah, K.V., et al.**, *Expression of mutant eukaryotic initiation factor 2 alpha subunit (eIF-2 alpha) reduces inhibition of guanine nucleotide exchange activity of eIF-2B mediated by eIF-2 alpha phosphorylation*. Mol Cell Biol, 1994. **14**(7): p. 4546-53.
340. **Der, S.D., et al.**, *A double-stranded RNA-activated protein kinase-dependent pathway mediating stress-induced apoptosis*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1997. **94**(7): p. 3279-83.
341. **Jagus, R., B. Joshi, and G.N. Barber**, *PKR, apoptosis and cancer*. Int J Biochem Cell Biol, 1999. **31**(1): p. 123-38.

342. **Tan, S.L. and M.G. Katze**, *The emerging role of the interferon-induced PKR protein kinase as an apoptotic effector: a new face of death?* J Interferon Cytokine Res, 1999. **19**(6): p. 543-54.
343. **Williams, B.R.**, *PKR; a sentinel kinase for cellular stress*. Oncogene, 1999. **18**(45): p. 6112-20.
344. **Wong, A.H., et al.**, *Physical association between STAT1 and the interferon-inducible protein kinase PKR and implications for interferon and double-stranded RNA signaling pathways*. Embo J, 1997. **16**(6): p. 1291-304.
345. **Cuddihy, A.R., et al.**, *Double-stranded-RNA-activated protein kinase PKR enhances transcriptional activation by tumor suppressor p53*. Mol Cell Biol, 1999. **19**(4): p. 2475-84.
346. **Kumar, A., et al.**, *Deficient cytokine signalling in mouse embryo fibroblasts with a targeted deletion in the PKR gene: role of IRF-1 and NF- κ B*. EMBO J, 1997. **16**(2): p. 406-16.
347. **Yang, Y.L., et al.**, *Deficient signaling in mice devoid of double-stranded RNA-dependent protein kinase*. Embo J, 1995. **14**(24): p. 6095-106.
348. **Abraham, N., et al.**, *Characterization of transgenic mice with targeted disruption of the catalytic domain of the double-stranded RNA-dependent protein kinase, PKR*. J Biol Chem, 1999. **274**(9): p. 5953-62.
349. **Rebouillat, D. and A.G. Hovanessian**, *The human 2',5'-oligoadenylate synthetase family: interferon-induced proteins with unique enzymatic properties*. J Interferon Cytokine Res, 1999. **19**(4): p. 295-308.
350. **Iordanov, M.S., et al.**, *Activation of p38 mitogen-activated protein kinase and cJun NH(2)-terminal kinase by double-stranded RNA and encephalomyocarditis virus: involvement of RNase L, protein kinase R, and alternative pathways*. Mol Cell Biol, 2000. **20**(2): p. 617-27.
351. **Haller, O., M. Frese, and G. Kochs**, *Mx proteins: mediators of innate resistance to RNA viruses*. Rev Sci Tech, 1998. **17**(1): p. 220-30.
352. **Horisberger, M.A.**, *Interferons, Mx genes, and resistance to influenza virus*. Am J Respir Crit Care Med, 1995. **152**(4 Pt 2): p. S67-71.
353. **Pavlovic, J., et al.**, *Mx proteins: GTPases involved in the interferon-induced antiviral state*. Ciba Found Symp, 1993. **176**: p. 233-43.
354. **Kochs, G. and O. Haller**, *Interferon-induced human MxA GTPase blocks nuclear import of Thogoto virus nucleocapsids*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999. **96**(5): p. 2082-6.
355. **Kochs, G. and O. Haller**, *GTP-bound human MxA protein interacts with the nucleocapsids of Thogoto virus (Orthomyxoviridae)*. J Biol Chem, 1999. **274**(7): p. 4370-6.

356. **Stranden, A.M., P. Staeheli, and J. Pavlovic**, *Function of the mouse Mx1 protein is inhibited by overexpression of the PB2 protein of influenza virus*. *Virology*, 1993. **197**(2): p. 642-51.
357. **Janzen, C., G. Kochs, and O. Haller**, *A monomeric GTPase-negative MxA mutant with antiviral activity*. *J Virol*, 2000. **74**(17): p. 8202-6.
358. **Flohr, F., et al.**, *The central interactive region of human MxA GTPase is involved in GTPase activation and interaction with viral target structures*. *FEBS Lett*, 1999. **463**(1-2): p. 24-8.
359. **Melen, K. and I. Julkunen**, *Mutational analysis of murine Mx1 protein: GTP binding core domain is essential for anti-influenza A activity*. *Virology*, 1994. **205**(1): p. 269-79.
360. **Toyoda, T., Y. Asano, and A. Ishihama**, *Role of GTPase activity of murine Mx1 protein in nuclear localization and anti-influenza virus activity*. *J Gen Virol*, 1995. **76**(Pt 7): p. 1867-9.
361. **Pitossi, F., et al.**, *A functional GTP-binding motif is necessary for antiviral activity of Mx proteins*. *J Virol*, 1993. **67**(11): p. 6726-32.
362. **Schwemmle, M., et al.**, *Vesicular stomatitis virus transcription inhibited by purified MxA protein*. *Virology*, 1995. **206**(1): p. 545-54.
363. **Jin, H.K., et al.**, *Characterization and expression of the Mx1 gene in wild mouse species*. *Biochem Genet*, 1998. **36**(9-10): p. 311-22.
364. **Staeheli, P., et al.**, *Influenza virus-susceptible mice carry Mx genes with a large deletion or a nonsense mutation*. *Mol Cell Biol*, 1988. **8**(10): p. 4518-23.
365. **Zhou, A., et al.**, *Interferon action in triply deficient mice reveals the existence of alternative antiviral pathways*. *Virology*, 1999. **258**(2): p. 435-40.
366. **Presti, R.M., et al.**, *Novel cell type-specific antiviral mechanism of interferon gamma action in macrophages*. *J Exp Med*, 2001. **193**(4): p. 483-96.
367. **Patterson, J.B., et al.**, *Mechanism of interferon action: double-stranded RNA-specific adenosine deaminase from human cells is inducible by alpha and gamma interferons*. *Virology*, 1995. **210**(2): p. 508-11.
368. **Polson, A.G., B.L. Bass, and J.L. Casey**, *RNA editing of hepatitis delta virus antigenome by dsRNA-adenosine deaminase*. *Nature*, 1996. **380**(6573): p. 454-6.
369. **Scadden, A.D. and C.W. Smith**, *A ribonuclease specific for inosine-containing RNA: a potential role in antiviral defence?* *Embo J*, 1997. **16**(8): p. 2140-9.
370. **Bogdan, C.**, *The function of type I interferons in antimicrobial immunity*. *Curr Opin Immunol*, 2000. **12**(4): p. 419-24.
371. **Bogdan, C., M. Rollinghoff, and A. Diefenbach**, *Reactive oxygen and reactive nitrogen intermediates in innate and specific immunity*. *Curr Opin Immunol*, 2000. **12**(1): p. 64-76.

372. **Shiloh, M.U., et al.**, *Phenotype of mice and macrophages deficient in both phagocyte oxidase and inducible nitric oxide synthase*. *Immunity*, 1999. **10**: p. 29-38.
373. **Nathan, C.**, *Inducible nitric oxide synthase: what difference does it make?* *J Clin Invest*, 1997. **100**: p. 2417-23.
374. **Bellamy, R.**, *The natural resistance-associated macrophage protein and susceptibility to intracellular pathogens*. *Microbes Infect*, 1999. **1**(1): p. 23-7.
375. **Fleming, M.D. and N.C. Andrews**, *Mammalian iron transport: an unexpected link between metal homeostasis and host defense*. *J Lab Clin Med*, 1998. **132**(6): p. 464-8.
376. **Govoni, G. and P. Gros**, *Macrophage NRAMPI and its role in resistance to microbial infections*. *Inflamm Res*, 1998. **47**(7): p. 277-84.
377. **Jabado, N., et al.**, *Natural resistance to intracellular infections: natural resistance-associated macrophage protein 1 (Nrampl) functions as a pH-dependent manganese transporter at the phagosomal membrane*. *J Exp Med*, 2000. **192**(9): p. 1237-48.
378. **Way, S.S., et al.**, *An essential role for gamma interferon in innate resistance to Shigella flexneri infection*. *Infect Immun*, 1998. **66**(4): p. 1342-8.
379. **Hanson, B.**, *Susceptibility of Rickettsia tsutsugamushi Gilliam to gamma interferon in cultured mouse cells*. *Infect Immun*, 1991. **59**(11): p. 4125-33.
380. **Bourne, H., D. Sanders, and F. McCormick**, *The GTPase superfamily: conserved structure and molecular mechanism*. *Nature*, 1991. **349**(6305): p. 117-27.
381. **Dever, T.E., M.J. Glynias, and W.C. Merrick**, *GTP-binding domain: three consensus sequence elements with distinct spacing*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1987. **84**(7): p. 1814-8.
382. **Schweins, T. and A. Wittinghofer**, *GTP-binding proteins. Structures, interactions and relationships*. *Curr Biol*, 1994. **4**(6): p. 547-50.
383. **Bourne, H.**, *GTPases: a family of molecular switches and clocks*. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 1995. **349**(1329): p. 283-9.
384. **Pai, E.F., et al.**, *Structure of the guanine nucleotide-binding domain of the Ha-ras oncogene product p21 in the triphosphate conformation*. *Nature*, 1989. **341**: p. 209.
385. **Pai, E.F., et al.**, *Refined crystal structure of the triphosphate conformation of H-ras p21 at 1.35 Å resolution: implications for the mechanism of GTP hydrolysis*. *EMBO J*, 1990. **9**: p. 2351.
386. **Steimle, V., et al.**, *Regulation of MHC class II expression by interferon-gamma mediated by the transactivator gene CIITA*. *Science*, 1994. **265**(5168): p. 106-9.
387. **Steimle, V., et al.**, *Complementation cloning of an MHC class II transactivator mutated in hereditary MHC class II deficiency (or bare lymphocyte syndrome)*. *Cell*, 1993. **75**(1): p. 135-46.

388. **Rubio, N.**, *Interferon-gamma protects astrocytes from apoptosis and increases the formation of p21ras-GTP complex through ras oncogene family overexpression.* *Glia*, 2001. **33**(2): p. 151-9.
389. **Senju, S. and Y. Nishimura**, *Identification of human and mouse GP-I, a putative member of a novel G- protein family.* *Biochem Biophys Res Commun*, 1997. **231**(2): p. 360-4.
390. **Kudo, H., et al.**, *Mouse and human GTPBP2, newly identified members of the GP-I family of GTPase.* *Biochem Biophys Res Commun*, 2000. **272**(2): p. 456-65.
391. **Mach, B., et al.**, *Regulation of MHC class II genes: lessons from a disease.* *Annu Rev Immunol*, 1996. **14**: p. 301-31.
392. **Chang, C.H. and R.A. Flavell**, *Class II transactivator regulates the expression of multiple genes involved in antigen presentation.* *J Exp Med*, 1995. **181**(2): p. 765-7.
393. **Reuther, G.W. and C.J. Der**, *The Ras branch of small GTPases: Ras family members don't fall far from the tree.* *Curr Opin Cell Biol*, 2000. **12**(2): p. 157-65.
394. **Senju, S., et al.**, *Immunocytochemical analyses and targeted gene disruption of GTPBP1.* *Mol Cell Biol*, 2000. **20**(17): p. 6195-200.
395. **Roberts, R.L., et al.**, *Dynamics of rab5 activation in endocytosis and phagocytosis.* *J Leukoc Biol*, 2000. **68**(5): p. 627-32.
396. **Alvarez-Dominguez, C. and P.D. Stahl**, *Interferon-gamma selectively induces Rab5a synthesis and processing in mononuclear cells.* *J Biol Chem*, 1998. **273**(51): p. 33901-4.
397. **Alvarez-Dominguez, C. and P.D. Stahl**, *Increased expression of Rab5a correlates directly with accelerated maturation of Listeria monocytogenes phagosomes.* *J Biol Chem*, 1999. **274**(17): p. 11459-62.
398. **Prada-Delgado, A., et al.**, *Interferon-gamma listericidal action is mediated by novel Rab5a functions at the phagosomal environment.* *J Biol Chem*, 2001. **276**(22): p. 19059-65.
399. **Boehm, U., et al.**, *Two families of GTPases dominate the complex cellular response to IFN- gamma.* *J Immunol*, 1998. **161**(12): p. 6715-23.
400. **Cheng, Y.S., R.J. Colonna, and F.H. Yin**, *Interferon induction of fibroblast proteins with guanylate binding activity.* *J Biol Chem*, 1983. **258**(12): p. 7746-50.
401. **Cheng, Y.S., C.E. Patterson, and P. Staeheli**, *Interferon-induced guanylate-binding proteins lack an N(T)KXD consensus motif and bind GMP in addition to GDP and GTP.* *Mol Cell Biol*, 1991. **11**(9): p. 4717-25.
402. **Staeheli, P., R. Colonna, and Y. Cheng**, *Different mRNAs induced by interferon in cells from inbred mouse strains A/J and A2G.* *J Virol*, 1983. **47**(3): p. 563-7.
403. **Strehlow, I., M.L. Lohmann-Matthes, and T. Decker**, *The interferon-inducible GBP1 gene: structure and mapping to human chromosome 1.* *Gene*, 1994. **144**(2): p. 295-9.

-
404. **Vestal, D.J., et al.**, *Murine GBP-2: a new IFN-gamma-induced member of the GBP family of GTPases isolated from macrophages*. J Interferon Cytokine Res, 1998. **18**(11): p. 977-85.
405. **Wynn, T., C. Nicolet, and D. Paulnock**, *Identification and characterization of a new gene family induced during macrophage activation*. J Immunol, 1991. **147**(12): p. 4384-92.
406. **Han, B.H., et al.**, *Cloning, expression, and characterization of a novel guanylate-binding protein, GBP3 in murine erythroid progenitor cells*. Biochim Biophys Acta, 1998. **1384**(2): p. 373-86.
407. **Asundi, V.K., et al.**, *Molecular cloning and characterization of an isoprenylated 67 kDa protein*. Biochim Biophys Acta, 1994. **1217**(3): p. 257-65.
408. **Schwemmler, M., et al.**, *Chicken guanylate-binding protein. Conservation of GTPase activity and induction by cytokines*. J Biol Chem, 1996. **271**(17): p. 10304-8.
409. **Boehm, U.**, *Studien zur Charakterisierung der zellulären Antwort auf Interferon-g* Doktorarbeit. Institut für Genetik, Universität zu Köln., 1999.
410. **Cheng, Y.S., et al.**, *Affinity purification of an interferon-induced human guanylate-binding protein and its characterization*. J Biol Chem, 1985. **260**(29): p. 15834-9.
411. **Briken, V., et al.**, *Interferon regulatory factor 1 is required for mouse Gbp gene activation by gamma interferon*. Mol Cell Biol, 1995. **15**(2): p. 975-82.
412. **Decker, T., et al.**, *Interactions of alpha- and gamma-interferon in the transcriptional regulation of the gene encoding a guanylate-binding protein*. EMBO J, 1989. **8**(7): p. 2009-14.
413. **Lew, D.J., et al.**, *Overlapping elements in the guanylate-binding protein gene promoter mediate transcriptional induction by alpha and gamma interferons*. Mol Cell Biol, 1991. **11**(1): p. 182-91.
414. **Lew, D., T. Decker, and J. Darnell JE**, *Alpha interferon and gamma interferon stimulate transcription of a single gene through different signal transduction pathways*. Mol Cell Biol, 1989. **9**(12): p. 5404-11.
415. **Mirkovitch, J., T. Decker, and J. Darnell JE**, *Interferon induction of gene transcription analyzed by in vivo footprinting*. Mol Cell Biol, 1992. **12**(1): p. 1-9.
416. **Praefcke, G.J., et al.**, *Nucleotide-binding characteristics of human guanylate-binding protein 1 (hGBP1) and identification of the third GTP-binding motif*. J Mol Biol, 1999. **292**(2): p. 321-32.
417. **Staheli, P., et al.**, *Genetic control of interferon action: mouse strain distribution and inheritance of an induced protein with guanylate-binding property*. Virology, 1984. **137**(1): p. 135-42.

418. **Schwemmle, M. and P. Staeheli**, *The interferon-induced 67-kDa guanylate-binding protein (hGBP1) is a GTPase that converts GTP to GMP*. J Biol Chem, 1994. **269**(15): p. 11299-305.
419. **Neun, R., et al.**, *GTPase properties of the interferon-induced human guanylate-binding protein 2*. FEBS Lett, 1996. **390**(1): p. 69-72.
420. **Sinensky, M. and R.J. Lutz**, *The prenylation of proteins*. BioEssays, 1992. **14**: p. 331-40.
421. **Clarke, S.**, *Protein isoprenylation and methylation at carboxyl-terminal cysteine residues*. Annu Rev Biochem, 1992. **61**: p. 355-86.
422. **Nantais, D.E., et al.**, *Prenylation of an interferon-gamma-induced GTP-binding protein: the human guanylate binding protein, huGBP1*. J Leukoc Biol, 1996. **60**(3): p. 423-31.
423. **Vestal, D.J., et al.**, *Rat p67 GBP is induced by interferon-gamma and isoprenoid-modified in macrophages*. Biochem Biophys Res Commun, 1996. **224**(2): p. 528-34.
424. **Vestal, D., R. Maki, and J. Buss**, *Induction of a prenylated 65-kd protein in macrophages by interferon or lipopolysaccharide*. J Leukoc Biol, 1995. **58**(5): p. 607-15.
425. **Stickney, J.T. and J.E. Buss**, *Murine guanylate-binding protein: incomplete geranylgeranyl isoprenoid modification of an interferon-gamma-inducible guanosine triphosphate-binding protein*. Mol Biol Cell, 2000. **11**(7): p. 2191-200.
426. **Kashkar, H.**, *Funktionelle Analyse der IFN-g induzierten 65 kDa Guanylat bindenden Proteine*. Diplomarbeit. Institut für Genetik, Universität zu Köln., 2000.
427. **Vestal, D.J., V.Y. Gorbacheva, and G.C. Sen**, *Different subcellular localizations for the related interferon-induced GTPases, MuGBP-1 and MuGBP-2: implications for different functions?* J Interferon Cytokine Res, 2000. **20**(11): p. 991-1000.
428. **Ponten, A., et al.**, *Dominant-negative mutants of human MxA protein: domains in the carboxy-terminal moiety are important for oligomerization and antiviral activity*. J Virol, 1997. **71**(4): p. 2591-9.
429. **Prakash, B., et al.**, *Structure of human guanylate-binding protein 1 representing a unique class of GTP-binding proteins*. Nature, 2000. **403**(6769): p. 567-71.
430. **Prakash, B., et al.**, *Triphosphate structure of guanylate-binding protein 1 and implications for nucleotide binding and GTPase mechanism*. Embo J, 2000. **19**(17): p. 4555-64.
431. **Danino, D. and J.E. Hinshaw**, *Dynamain family of mechanoenzymes*. Curr Opin Cell Biol, 2001. **13**(4): p. 454-60.
432. **Prochazka, M., et al.**, *Interferon-induced guanylate-binding proteins: mapping of the murine Gbp-1 locus to chromosome 3*. Virology, 1985. **145**(2): p. 273-9.
433. **Anderson, S.L., et al.**, *Genomic organization and chromosomal localization of a new member of the murine interferon-induced guanylate-binding protein family*. J Interferon Cytokine Res, 1999. **19**(5): p. 487-94.

434. **Anderson, S.L., et al.**, *Interferon-induced guanylate binding protein-1 (GBP-1) mediates an antiviral effect against vesicular stomatitis virus and encephalomyocarditis virus.* Virology, 1999. **256**(1): p. 8-14.
435. **Gilly, M. and R. Wall**, *The IRG-47 gene is IFN-gamma induced in B cells and encodes a protein with GTP-binding motifs.* J Immunol, 1992. **148**(10): p. 3275-81.
436. **Carlow, D.A., et al.**, *Isolation of a gene encoding a developmentally regulated T cell-specific protein with a guanine nucleotide triphosphate-binding motif.* J Immunol, 1995. **154**(4): p. 1724-34.
437. **Lafuse, W., et al.**, *Cloning and characterization of a novel cDNA that is IFN-g-induced in mouse peritoneal macrophages and encodes a putative GTP-binding protein.* J Leukoc Biol, 1995. **57**(3): p. 477-83.
438. **Sorace, J., et al.**, *Identification of an endotoxin and IFN-inducible cDNA: possible identification of a novel protein family.* J Leukoc Biol, 1995. **58**(4): p. 477-84.
439. **Taylor, G.A., et al.**, *Identification of a novel GTPase, the inducibly expressed GTPase, that accumulates in response to interferon gamma.* J Biol Chem, 1996. **271**(34): p. 20399-405.
440. **Gilly, M., M.A. Damore, and R. Wall**, *A promoter ISRE and dual 5' YY1 motifs control IFN-gamma induction of the IRG-47 G-protein gene.* Gene, 1996. **179**(2): p. 237-44.
441. **Carlow, D.A., S.J. Teh, and H.S. Teh**, *Specific antiviral activity demonstrated by TGTP, a member of a new family of interferon-induced GTPases.* J Immunol, 1998. **161**(5): p. 2348-55.
442. **Taylor, G.A., et al.**, *The inducibly expressed GTPase localizes to the endoplasmic reticulum, independently of GTP binding.* J Biol Chem, 1997. **272**(16): p. 10639-45.
443. **Tazi-Ahnini, R., et al.**, *Structure and polymorphism of the human gene for the interferon-induced p78 protein (MX1): evidence of association with alopecia areata in the Down syndrome region.* Hum Genet, 2000. **106**(6): p. 639-45.
444. **Collazo, C.M., et al.**, *Inactivation of LRG-47 and IRG-47 Reveals a Family of Interferon gamma- inducible Genes with Essential, Pathogen-specific Roles in Resistance to Infection.* J Exp Med, 2001. **194**(2): p. 181-8.
445. **Halonen, S.K., G.A. Taylor, and L.M. Weiss**, *Gamma Interferon-Induced Inhibition of Toxoplasma gondii in Astrocytes Is Mediated by IGTP.* Infect Immun, 2001. **69**(9): p. 5573-6.
446. **Taylor, G.A., et al.**, *Pathogen-specific loss of host resistance in mice lacking the IFN-gamma- inducible gene IGTP.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2000. **97**(2): p. 751-5.
447. **Klamp, T.**, *Zelluläre Antworten auf Interferon-g* Diplomarbeit. Institut für Genetik, Universität zu Köln., 1997.
448. **Reis, L.F., et al.**, *Mice devoid of interferon regulatory factor 1 (IRF-1) show normal expression of type I interferon genes.* Embo J, 1994. **13**(20): p. 4798-806.

-
449. **Pfeffer, K., et al.**, *Mice deficient for the 55 kd tumor necrosis factor receptor are resistant to endotoxic shock, yet succumb to L. monocytogenes infection.* Cell, 1993. **73**(3): p. 457-67.
450. **Sambrook, J., E.F. Fritsch, and T. Maniatis**, *Molecular Cloning. A Laboratory Manual. Second Edition.* 1989: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
451. **Ausubel, F.M., et al.**, *Current Protocols in Molecular Biology.* 1995.
452. **Lieberam, I. and I. Forster**, *The murine beta-chemokine TARC is expressed by subsets of dendritic cells and attracts primed CD4+ T cells.* Eur J Immunol, 1999. **29**(9): p. 2684-94.
453. **Shizuya, H., et al.**, *Cloning and stable maintenance of 300-kilobase-pair fragments of human DNA in Escherichia coli using an F-factor-based vector.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1992. **89**(18): p. 8794-7.
454. **Shizuya, H. and H. Kouros-Mehr**, *The development and applications of the bacterial artificial chromosome cloning system.* Keio J Med, 2001. **50**(1): p. 26-30.
455. **Pierce, J.C., B. Sauer, and N. Sternberg**, *A positive selection vector for cloning high molecular weight DNA by the bacteriophage P1 system: improved cloning efficacy.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1992. **89**(6): p. 2056-60.
456. **Sternberg, N.**, *Bacteriophage P1 cloning system for the isolation, amplification, and recovery of DNA fragments as large as 100 kilobase pairs.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1990. **87**(1): p. 103-7.
457. **Schenk, D.**, *VLIG-1, eine neu identifizierte GTPase. Studien zur Komplexität einer neuen GTPase-Familie.* Diplomarbeit. Institut für Genetik, Universität zu Köln., 2001.
458. **Birnboim, H.C. and J. Doly**, *A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA.* Nucleic Acids Res, 1979. **7**(6): p. 1513-23.
459. **Hohn, B., et al.**, *Cosmids.* Biotechnology, 1988. **10**: p. 113-27.
460. **Ehrich, E., et al.**, *A family of cosmid vectors with the multi-copy R6K replication origin.* Gene, 1987. **57**(2-3): p. 229-37.
461. **Torres, R.M. and R. Kühn**, *Laboratory protocols for conditional gene targeting.* 1997, Oxford: Oxford University Press.
462. **Sanger, F., S. Nicklen, and A.R. Coulson**, *DNA sequencing with chain-terminating inhibitors.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1977. **74**(12): p. 5463-7.
463. **Hall, T.A.**, *BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT.* Nucl Acids Symp Ser, 1999. **41**: p. 95-8.
464. **Altschul, S.F., et al.**, *Basic local alignment search tool.* J Mol Biol, 1990. **215**(3): p. 403-10.
465. **Altschul, S.F., et al.**, *Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs.* Nucleic Acids Res, 1997. **25**(17): p. 3389-402.

466. **Hofmann, K., et al.**, *The PROSITE database, its status in 1999*. Nucleic Acids Res, 1999. **27**(1): p. 215-9.
467. **Bateman, A., et al.**, *The Pfam protein families database*. Nucleic Acids Res, 2000. **28**(1): p. 263-6.
468. **Akiyama, Y.**, *TFSearch: Searching transcription factor binding sites*. <http://www.crbrj.jp/research/db/TFSEARCH.html>, .
469. **Schug, J. and G.C. Overton**, *TESS: Transcription element search software on the WWW*. <http://www.cbil.upenn.edu/tess/>, .
470. **Quandt, K.**, *MatInd and MatInspector - New fast and versatile tools for detection of consensus matches in nucleotide sequence data*. Nucleic Acids Res., 1995. **23**: p. 4878-84.
471. **Heinemeyer, T.**, *Databases on transcriptional regulation: TRANSFAC, TRRD, and COMPEL*. Nucleic Acids Res., 1998. **26**: p. 364-70.
472. **Chomczynski, P. and N. Sacchi**, *Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction*. Anal Biochem, 1987. **162**(1): p. 156-9.
473. **Lehrach, H., et al.**, *RNA molecular weight determinations by gel electrophoresis under denaturing conditions, a critical reexamination*. Biochemistry, 1977. **16**(21): p. 4743-51.
474. **Wilkinson, M., J. Doskow, and S. Lindsey**, *RNA blots: staining procedures and optimization of conditions*. Nucleic Acids Res, 1991. **19**(3): p. 679.
475. **Tamura, T., et al.**, *Striking homology of the 'variable' N-terminal as well as the 'conserved core' domains of the mouse and human TATA-factors (TFIID)*. Nucleic Acids Res, 1991. **19**(14): p. 3861-5.
476. **Harper, S. and D. Speicher**, *Expression and purification of GST fusion proteins*, in *Current protocols in protein science*, J. Coligan, et al., Editors. 1997, John Wiley & Sons, Inc. p. 6.6.1-6.6.21.
477. **Palmer, I. and P. Wingfield**, *Preparation and extraction of insoluble (inclusion-body) proteins from Escherichia coli*, in *Current protocols in protein science*, J. Coligan, et al., Editors. 1995, John Wiley & Sons, Inc. p. 6.3.1-6.3.8.
478. **Laemmli, U.K.**, *Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4*. Nature, 1970. **227**(259): p. 680-5.
479. **Reisner, A.H., P. Nemes, and C. Bucholtz**, *The use of Coomassie Brilliant Blue G250 perchloric acid solution for staining in electrophoresis and isoelectric focusing on polyacrylamide gels*. Anal Biochem, 1975. **64**(2): p. 509-16.
480. **Harlow, E. and D. Lane**, *Antibodies - A laboratory manual*. 1988, Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory.

481. **Towbin, H., T. Staehelin, and J. Gordon**, *Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1979. **76**(9): p. 4350-4.
482. **Cox, G.W., et al.**, *Heterogeneity of hematopoietic cells immortalized by v-myc/v-raf recombinant retrovirus infection of bone marrow or fetal liver*. J Natl Cancer Inst, 1989. **81**(19): p. 1492-6.
483. **Ralph, P. and I. Nakoinz**, *Antibody-dependent killing of erythrocyte and tumor targets by macrophage-related cell lines: enhancement by PPD and LPS*. J Immunol, 1977. **119**(3): p. 950-54.
484. **Familletti, P.C., S. Rubinstein, and S. Pestka**, *A convenient and rapid cytopathic effect inhibition assay for interferon*. Methods Enzymol, 1981. **78**(Pt): p. 387-94.
485. **Rubinstein, S., P.C. Familletti, and S. Pestka**, *Convenient assay for interferons*. J Virol, 1981. **37**(2): p. 755-8.
486. **Carswell, E.A., et al.**, *An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1975. **72**(9): p. 3666-70.
487. **Aggarwal, B.B., et al.**, *Human tumor necrosis factor. Production, purification, and characterization*. J Biol Chem, 1985. **260**(4): p. 2345-54.
488. **Diatchenko, L., et al.**, *Suppression subtractive hybridization: a method for generating differentially regulated or tissue-specific cDNA probes and libraries*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1996. **93**(12): p. 6025-30.
489. **Kozak, M.**, *At least six nucleotides preceding the AUG initiator codon enhance translation in mammalian cells*. J Mol Biol, 1987. **196**(4): p. 947-50.
490. **Kozak, M.**, *An analysis of 5'-noncoding sequences from 699 vertebrate messenger RNAs*. Nucleic Acids Res, 1987. **15**(20): p. 8125-48.
491. **Shapiro, M.B. and P. Senapathy**, *RNA splice junctions of different classes of eukaryotes: sequence statistics and functional implications in gene expression*. Nucleic Acids Res, 1987. **15**(17): p. 7155-74.
492. **Lander, E.S.**, *Initial sequencing and analysis of the human genome*. Nature, 2001. **409**(6822): p. 860-921.
493. **Venter, J.C.**, *The sequence of the human genome*. Science, 2001. **291**(5507): p. 1304-51.
494. **Zozulya, S., F. Echeverri, and T. Nguyen**, *The human olfactory receptor repertoire*. Genome Biol, 2001. **2**(6): p. 0018.
495. **Buettner, J.A., et al.**, *Organization and evolution of olfactory receptor genes on human chromosome 11*. Genomics, 1998. **53**(1): p. 56-68.
496. **Nagase, T., et al.**, *Prediction of the coding sequences of unidentified human genes. XVII. The complete sequences of 100 new cDNA clones from brain which code for large proteins in vitro*. DNA Res, 2000. **7**(2): p. 143-50.

497. **Suzuki, T., P.J. Higgins, and D.R. Crawford**, *Control selection for RNA quantitation*. Biotechniques, 2000. **29**(2): p. 332-7.
498. **Thellin, O., et al.**, *Housekeeping genes as internal standards: use and limits*. J Biotechnol, 1999. **75**(2-3): p. 291-5.
499. **Andersson, A., et al.**, *Early IFN-gamma production and innate immunity during *Listeria monocytogenes* infection in the absence of NK cells*. J Immunol, 1998. **161**(10): p. 5600-6.
500. **Bancroft, G.J.**, *The role of natural killer cells in innate resistance to infection*. Curr Opin Immunol, 1993. **5**(4): p. 503-10.
501. **Sheehan, K.C.F., et al.**, *Monoclonal antibodies specific for Murine p55 and p75 Tumor Necrosis Factor Receptors: Identification of a Novel In Vivo Role for p75*. J. Exp. Med., 1995. **181**: p. 607-617.
502. **Siren, V., et al.**, *Transforming growth factor beta induces urokinase receptor expression in cultured retinal pigment epithelial cells*. Ophthalmic Res, 1999. **31**(3): p. 184-91.
503. **Lin, X.Y., M.S. Choi, and A.G. Porter**, *Expression analysis of the human caspase-1 subfamily reveals specific regulation of the CASP5 gene by lipopolysaccharide and interferon-gamma*. J Biol Chem, 2000. **275**(51): p. 39920-6.
504. **Paludan, S.R.**, *Synergistic action of pro-inflammatory agents: cellular and molecular aspects*. J Leukoc Biol, 2000. **67**(1): p. 18-25.
505. **Ohmori, Y., R.D. Schreiber, and T.A. Hamilton**, *Synergy between interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha in transcriptional activation is mediated by cooperation between signal transducer and activator of transcription 1 and nuclear factor kappaB*. J Biol Chem, 1997. **272**(23): p. 14899-907.
506. **Cheshire, J.L. and A.S.J. Baldwin**, *Synergistic activation of NF- κ B tumor necrosis factor alpha and gamma interferon via enhanced κ Ba degradation and de novo κ Bb degradation*. Mol Cell Biol, 1997. **17**(11): p. 6746-54.
507. **Scheurich, P., et al.**, *Noncytotoxic mechanisms of action of tumor necrosis factor-alpha on human tumor cells: enhancement of HLA gene expression synergistic with interferon-gamma*. Immunobiology, 1986. **172**(3-5): p. 291-300.
508. **Lapierre, L.A., W. Fiers, and J.S. Pober**, *Three distinct classes of regulatory cytokines control endothelial cell MHC antigen expression. Interactions with immune gamma interferon differentiate the effects of tumor necrosis factor and lymphotoxin from those of leukocyte alpha and fibroblast beta interferons*. J Exp Med, 1988. **167**(3): p. 794-804.
509. **Johnson, D.R. and J.S. Pober**, *Tumor necrosis factor and immune interferon synergistically increase transcription of HLA class I heavy- and light-chain genes in vascular endothelium*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1990. **87**(13): p. 5183-7.
510. **Jin, H.K., et al.**, *Identification of the murine Mx2 gene: interferon-induced expression of the Mx2 protein from the feral mouse gene confers resistance to vesicular stomatitis virus*. J Virol, 1999. **73**(6): p. 4925-30.

-
511. **Staheli, P. and J.G. Sutcliffe**, *Identification of a second interferon-regulated murine Mx gene*. Mol Cell Biol, 1988. **8**(10): p. 4524-8.
512. **Nicolet, C. and D. Paulnock**, *Promoter analysis of an interferon-inducible gene associated with macrophage activation*. J Immunol, 1994. **152**(1): p. 153-62.
513. **Staheli, P. and O. Haller**, *Interferon-induced Mx protein: a mediator of cellular resistance to influenza virus*. Interferon, 1987. **8**: p. 1-23.
514. **Gray, N.K. and M. Wickens**, *Control of translation initiation in animals*. Annu Rev Cell Dev Biol, 1998. **14**: p. 399-458.
515. **Macdonald, P.**, *Diversity in translational regulation*. Curr Opin Cell Biol, 2001. **13**(3): p. 326-31.
516. **van der Blik, A.M.**, *Functional diversity in the dynamin family*. Trends Cell Biol, 1999. **9**(3): p. 96-102.
517. **Nuoffer, C. and W.E. Balch**, *GTPases: multifunctional molecular switches regulating vesicular traffic*. Annu Rev Biochem, 1994. **63**: p. 949-90.
518. **Kochs, G., et al.**, *MxA GTPase: oligomerization and GTP dependent interaction with viral RNP target structures*. Methods, 1998. **96**: p. 2082-6.
519. **Downward, J.**, *Control of ras activation*. Cancer Surv, 1996. **27**: p. 87-100.
520. **Kraal, B., C. Lippmann, and C. Kleanthous**, *Translational regulation by modifications of the elongation factor Tu*. Folia Microbiol, 1999. **44**(2): p. 131-41.
521. **Melen, K., et al.**, *Enzymatic characterization of interferon-induced antiviral GTPases murine Mx1 and human MxA proteins*. J Biol Chem, 1994. **269**(3): p. 2009-15.
522. **Richter, M.F., et al.**, *Interferon-induced MxA protein. GTP binding and GTP hydrolysis properties*. J Biol Chem, 1995. **270**(22): p. 13512-7.
523. **Engert, J.C., et al.**, *ARSACS, a spastic ataxia common in northeastern Quebec, is caused by mutations in a new gene encoding an 11.5-kb ORF*. Nat Genet, 2000. **24**(2): p. 120-5.
524. **Brosius, J.**, *Many G-protein-coupled receptors are encoded by retrogenes*. Trends Genet, 1999. **15**(8): p. 304-5.
525. **Gentles, A.J. and S. Karlin**, *Why are human G-protein-coupled receptors predominantly intronless?* Trends Genet, 1999. **15**(2): p. 47-9.
526. **Hug, H., et al.**, *Organization of the murine Mx gene and characterization of its interferon- and virus-inducible promoter*. Mol Cell Biol, 1988. **8**(8): p. 3065-79.
527. **Brosius, J. and H. Tiedge**, *Reverse transcriptase: mediator of genomic plasticity*. Virus Genes, 1995. **11**(2-3): p. 163-79.

528. **Horisberger, M.A., P. Staeheli, and O. Haller**, *Interferon induces a unique protein in mouse cells bearing a gene for resistance to influenza virus*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1983. **80**(7): p. 1910-4.
529. **Taylor, D.R., et al.**, *Inhibition of the interferon-inducible protein kinase PKR by HCV E2 protein*. Science, 1999. **285**: p. 107-110.
530. **Yokoyama, W.M.**, *Natural killer cell receptors*. Curr Opin Immunol, 1998. **10**(3): p. 298-305.
531. **Anderson, S.K., J.R. Ortaldo, and W.W. McVicar**, *The ever-expanding Ly49 family: repertoire and signaling*. Immunol Rev, 2001. **181**: p. 79-89.
532. **Jin, H.K., et al.**, *Mouse Mx2 protein inhibits hantavirus but not influenza virus replication*. Arch Virol, 2001. **146**(1): p. 41-9.
533. **Staeheli, P., et al.**, *Genetic control of interferon action: mouse strain distribution and inheritance of an induced protein with guanylate-binding property*. Virology, 1984. **137**(1): p. 135-42.
534. **Kehlen, A., et al.**, *Regulation of the expression of aminopeptidase A, aminopeptidase N/CD13 and dipeptidylpeptidase IV/CD26 in renal carcinoma cells and renal tubular epithelial cells by cytokines and cAMP-increasing mediators*. Clin Exp Immunol, 1998. **111**(2): p. 435-41.
535. **Wispe, J.R., et al.**, *Tumor necrosis factor-alpha inhibits expression of pulmonary surfactant protein*. J Clin Invest, 1990. **86**(6): p. 1954-60.
536. **Stralin, P. and S.L. Marklund**, *Multiple cytokines regulate the expression of extracellular superoxide dismutase in human vascular smooth muscle cells*. Atherosclerosis, 2000. **151**(2): p. 433-41.
537. **Segade, F., et al.**, *Differential regulation of the murine ribosomal protein L26 gene in macrophage activation*. Life Sci, 1995. **58**(4): p. 277-85.
538. **Simon, A., et al.**, *Interferon-regulated Mx genes are not responsive to interleukin-1, tumor necrosis factor, and other cytokines*. J Virol, 1991. **65**(2): p. 968-971.
539. **Billiau, A.**, *Interferon-gamma: Biology and role in pathogenesis*. Advances in Immunology, 1996. **62**(130): p. 61-130.
540. **Han, B.H.**, *Interferon-gamma and lipopolysaccharide induce mouse guanylate-binding protein 3 (mGBP3) expression in the murine macrophage cell line RAW264.7*. Arch Pharm Res, 1999. **22**(2): p. 130-6.
541. **Gorbacheva, V.Y., et al.**, *The IFN-induced GTPase mGBP-2: role in IFN-g induced murine fibroblast proliferation*. J Biol Chem, 2001. **in press**.
542. **Rubin, B.Y., et al.**, *Tumor necrosis factor and IFN induce a common set of proteins*. J Immunol, 1988. **141**(4): p. 1180-4.

-
543. **Wolf, B.B. and D.R. Green**, *Suicidal Tendencies: Apoptotic cell death by caspase family proteinases*. J Biol Chem, 1999. **274**(29): p. 20049-52.
544. **Martin, S.J., D.R. Green, and T.G. Cotter**, *Dicing with death: dissecting the components of the apoptosis machinery*. Trends Biochem Sci, 1994. **19**: p. 26-30.
545. **Ahmed, S., et al.**, *Breakpoint cluster region gene product related domain of n-chimaerin. Discrimination between Rac-binding and GTPase-activating residues by mutational analysis*. J Biol Chem, 1994. **269**(26): p. 17642-8.
546. **Ridley, A.J.**, *Rho proteins: linking signaling with membrane trafficking*. Traffic, 2001. **2**(5): p. 303-10.
547. **Jans, D.A., C.-Y. Xiao, and M.H.C. Lam**, *Nuclear targeting signal recognition: a key control mpoint in nuclear transport?* BioEssays, 2000. **22**: p. 532-44.
548. **Zhong, S., P. Salomoni, and P. Pandolfi**, *The transcriptional role of PML and the nuclear body*. Nat Cell Biol, 2000. **2**(5): p. E85-90.
549. **Zürcher, T., J. Pavlovic, and P. Staeheli**, *Nuclear localization of mouse Mx1 protein is necessary for inhibition of influenza virus*. J Virol, 1992. **66**(8): p. 5059-5066.
550. **Melen, K., et al.**, *Human MxB protein, an interferon-alpha-inducible GTPase, contains a nuclear targeting signal and is localized in the heterochromatin region beneath the nuclear envelope*. J Biol Chem, 1996. **271**(38): p. 23478-86.
551. **Sandrock, M., et al.**, *Interferon-induced rat mx proteins confer resistance to rift valley fever virus and other arthropod-borne viruses*. J Interferone Cytokine Res, 2001. **21**(9): p. 663-8.
552. **Johannes, L., H. Arnheiter, and E. Meier**, *Switch in antiviral specificity of a GTPase upon translocation from the cytoplasm to the nucleus*. J Virol, 1993. **67**(3): p. 1653-7.
553. **Engelhardt, O.G., et al.**, *Interferon induced antiviral Mx1 GTPase is associated with components of the SUMO-1 system and Promyelocytic Leukemia Protein Nuclear Bodies*. Exp Cell Res, 2001. **271**(2): p. 286-95.
554. **Allen, J.B., et al.**, *Finding propective partners in the library: the two-hybrid system and the phage display find a match*. TIBS, 1995. **20**: p. 511-6.

7. Anhang

Tabelle 7. In dieser Arbeit verwendete Oligonukleotide. Die Orientierung ist immer von 5' nach 3' angegeben. Die Orientierung ist mit U für "upper strand" (kodierend) und L für "lower strand" (nicht kodierend) angegeben. Alle verwendeten Oligonukleotide wurden von ARK Scientific (Darmstadt) bezogen oder waren Bestandteil eines Kits. Das Primerdesign erfolgte teilweise mit Hilfe des Oligo5.0 Programmes (National Biosciences Inc.).

Primer für Sequenzierungen und PCR-Analysen:

Name des Oligos	Sequenz
18.1/6U	5' -GGCAGGCTGGAGGAAGGTGCATGTCC-3'
18.1/51L	5' -AAGCCCAGTTCCAGTCTTCAGATTG-3'
18.1/56L	5' -TTGCTCTAGAGAGTAATTGGAGGTGG-3'
18.1/59U	5' -GACTGGAAGTGGGCTTCAAGCACACA-3'
18.1/242L	5' -CTCAAAGGAAGATGGCGGGGTGG-3'
18.Int/33U	5' -TGCGGAGGGTCTTGTGCCAGCATT-3'
18.Int/319U	5' -CATTTCTTGCCAGAGGAGAGTCAGC-3'
18.Int/841U	5' -TCCAGATGGCAAAAGGCAAACATAA-3'
18.Int/950U	5' -ATCCGAAAAGCAAGAAGCAGATTTA-3'
Int2/89L	5' -GAACACTGCGAAACAGGTGGAAGCC-3'
Int2/120L	5' -GCTTGCTGGCATAACCCTGACTCTCC-3'
Int2/313L	5' -TGAGTGCCAGACCCCTGTGCTCCTA-3'
Int2/381L	5' -ACCCAACACACCTGAAAAGCAAGA-3'
Int1/13U	5' -GAATCCAGCCCTTCAAAGGATAA-3'
Int1/432L	5' -CCGGTTCATACAGAGGATGGAGGG-3'
Int1/540U	5' -ACATGCAAGGGCAGCCACATTCA-3'
Int1/1420U	5' -GCGAACATAAGCAACAGAATACAAG-3'
Int1/3003U	5' -CATAGATGGAGAAACCGCAGTATTC-3'
3'REP	5' -TGTGACAGGCCTAGTATAAAAGGGAT-3'
47L	5' -GCCCAGTTCCAGTCTTCAGATTGTT-3'
130	5' -AAGCAGAAGGAAGCACAAATC-3'
159	5' -GGCTGGGATCTGTTCCGGGTC-3'
183L	5' -CTCAAAGGAAGATGGCGGGGTGG-3'
259	5' -AGGCTCACCTCGGGAACACGG-3'
325	5' -GGACTTCTCACAGCCAAACA-3'
524	5' -CCAACGGCTGAAGTGTCCCT-3'
619L	5' -TGCCCATCTTACCAGGTCTCCATCT-3'
761	5' -GGCACCGAAATAAAAACGAT-3'
937	5' -ATCCATTTCAGAGCAAACCTT-3'
1073L	5' -CGGTGGTCTGTTGCTGCTC-3'
1175	5' -CTGGGTGGAATCTACTGCTG-3'
1413	5' -GTGGACCAGCAGAAGCAGAT-3'
1678	5' -GGATGTGAAATGCTGGGAGG-3'
1967L	5' -TGCTCTTCCCCATACTCTGA-3'
1975	5' -TGGGGAAGAGCAAGTCAAAA-3'
2206	5' -TGCAGGCTATCAGTTGGTAA-3'
2242L	5' -ACTCATCACACCCAGAAGA-3'
2500	5' -CTGGGAAAGTCTGGAGAATG-3'
2661L	5' -AGGTCCATTTTCTATCATTC-3'
2832	5' -TGATGTTGGATTATGGGTTC-3'
3116	5' -CCAAATCCCAACACTTCTCA-3'

3397	5' -GGGAGTGGTGGAAATCTGCT-3'
3491L	5' -AGTTGTTGGGTGTGTTTCCTT-3'
3602	5' -TGGCAGTCATCAACACCTTT-3'
3985	5' -AGAAAAGGGGAATCGGAGCA-3'
4244	5' -ACAGAAAAGCAAAGAGCACA-3'
4462	5' -GCTGATGGACGGGGATGCTT-3'
4748	5' -GCTCCAGAACTCAACAACAA-3'
4921	5' -CCCCAGTTGCCTCTTTGTCC-3'
5145	5' -CTCCTCCAATCCTCGCTAT-3'
5461	5' -GGTCATAGCCATGAGCAAACCTGG-3'
5466	5' -AGGAACCACTTAGCAGGAAA-3'
5469L	5' -TCCTGCTAAGTGGTTCCTCT-3'
5769	5' -AATTCAGGCAACTTTGGACA-3'
5954	5' -CCTCATGTACAGAGCCTAA-3'
6209	5' -TTATTCCAAAGAGCATCCAA-3'
6386	5' -GGCATTCAAGACTGCAAATGACCC-3'
6538	5' -GGAGACATGCGAGCCACCTGCC-3'
6542	5' -TACATTCAAAGCCAGAGGA-3'
6543L	5' -TTCTCTGGCTTTTGAATGT-3'
6734	5' -TGGCTGGATTTGTTCTGTGA-3'
6829	5' -CTGGCTGGATTTGTTCTGTGACC-3'
6829L	5' -TCATGGCTTCTTTGAGGAAC-3'
7030	5' -TGTGCCATTCCACCGTCCTC-3'
7109	5' -CATGAAGGAGACCACAGTGTGC-3'
7135L	5' -CCCGGAAGCCATCTAAAATG-3'
7328	5' -ACCAAATCACAAAGCAAGA-3'
7426	5' -GGGAGCCTAATGGAGAACAC-3'
7604	5' -TGGCCCACTCTATTGGGCAA-3'
7690L	5' -AGGGAAGGTACATTCTGC-3'
7693	5' -GAATGTGACCTTTCCCTTGT-3'
7908	5' -AGGCAAGGTAATAACAAGG-3'
8124	5' -GCTTTAGGTTTGTCTATGGAG-3'
8292	5' -TGCAACTTATGGCTATGAAG-3'
8490	5' -CTTCAACATCCTCATACAAA-3'
8673	5' -TTTGCTTTGGTTGTTTTCTG-3'
4244	5' -ACAGAAAAGCAAAGAGCACA-3'
4244	5' -ACAGAAAAGCAAAGAGCACA-3'
SP1	5' -AGAGGGGGTCAACGGAGAAACAGGTAGTC-3'
SP3	5' -GTCGAGGACTTCCACCTTCTCTGTA-3'
BU284	5' -GCAAAGGAAGCAACAAACAC-3'
BU766	5' -CAAGGAAGCCAAAAGAAAAGG-3'
BL766	5' -CCTTTTCTTTGGCTTCCTTG-3'
BL1178	5' -GTTGCTCTTCTGTGCTCTTT-3'
270U	5' -CTCCCCAGTTGCCTCT-3'
546L	5' -TGGGCAGTTGAAAGAAT-3'
1125U	5' -AGGCAACTTTGGACAAG-3'
1422L	5' -CACGCTTTTGTTCCTAA-3'
11U3417	5' -GGGAGCCTAATGGAGAAC-3'
11U4130	5' -TGGAGAAAAGATGAGAG-3'
11L4124	5' -TCTTTTCTCCATAGCAA-3'
11U3778	5' -TGAAGAAGAAAATAAGC-3'
11U2342	5' -CTTCCTTTGTTGACTTCCTA-3'
11U1591	5' -CTTATTTTCTAGACACCAGACA-3'
PCR116U	5' -GAGCCTCAGCTACAAAGCAGAAGGA-3'
PCR524L	5' -CTTTTAGGGACACTTCAGCCGTTGG-3'
SEQ239L	5' -AGGATGATGTCCCAAATAGG-3'
SEQ760U	5' -TGGCACCGAAATAAAAACGA-3'

2GInsU	5' - CCTTGCCACTCTGGCAAATCAAA-3'
2GInsL	5' - TTTGATTTTGGCAGAGTGGCAAGG-3'
2GIns5U	5' - TAAGAAAGGTAACAGCAACTCCT-3'
2GIns5L	5' - AGGAGTTGCTGTTACCTTTCTTA-3'
2GIns3U	5' - CAGCTTCCAATAAAGATAAAAAGA-3'
2GIns3L	5' - TCTTTTATCTTTATTGGAAGCTG-3'
18.2-200L	5' - GCCTGCCCCCGCTGTTCTTTA-3'
18.2-339L	5' - TGAACTAAACCCCCAGAGTCCATCC-3'
18.2-1529	5' - CCATTTGGGACATCATCC-3'
18.2-2082U	5' - GGATGAGCAGAGCTGACTTCAT-3'
18.2-2393L	5' - GGAATCTATCAGTGCTTCAGC-3'
18.2-2552L	5' - CATGGAGTCTACACACCTGGGCA-3'
18.2-2956	5' - GGACTCTTCATATGGATC-3'
18.2-x2519x	5' - GGAGTTGGCAAGAATTAGGTGAG-3'
G18-306L	5' - GGTCCAGCAGCTTCTCCAGAGCCT-3'
G18-900L	5' - TTCTGTTTGTGTTTGACCCATAC-3'
G18-40414	5' - TATGATTGGTGGGGGAATCC-3'
Aw106860-135U	5' - AGAGGCAGAAGGAGGCATGATCTGG-3'
AA277040-1092U	5' - GGAGCAGACTACACACCA-3'
AA277040-1288U	5' - GTTTACATCAGGAGCAGCT -3'
AA277040-1350U	5' - AACTCTCATTCAAAGG-3'
AA277040-1379L	5' - AGGTAAGATGCTCCTTTTG-3'
AA451504-3090U	5' - TTTATCCAACTGGAAACCAT-3'

Primer zur Herstellung der GST-VLIG-1 Expressions-Konstrukte:

Name des Oligos	Sequenz
GST1A	5' - CCCCCCGTCGACCATGGCAACAGCAAAGTGTTTC-3'
GST1B	5' - CCCCCCGTCGACATAACCAGCTTCTAGACTAAATCC-3'
GST2A	5' - CCCCCCGTCGACTATAGATCAAACGAACAGACAGC-3'
GST2B	5' - CCCCCCGTCGACTCTTCAGGATCAGAAACCTCCCAG-3'
GST3A	5' - CCCCCCGTCGACAGAACAACCTTACAAAGTTATTAAT-3'
GST3B	5' - CCCCCCGTCGACAAATCATTCTCCAGACTTTCCCAG-3'
GST4A	5' - CCCCCCGTCGACTTTGAGACTACTCATTGAGGGG-3'
GST4B	5' - CCCCCCGTCGACTTGGAAGCAGAGAGGTCATTTCC-3'
GST5A	5' - CCCCCCGTCGACCAAATCTCAGATCATGAACCTC-3'
GST5B	5' - CCCCCCGTCGACGAGCGCATTAAATCATTGAGAGG-3'
GST6A	5' - CCCCCCGTCGACCTCTGTTCTCGAACTCCTCCAAG-3'
GST6B	5' - CCCCCCGTCGACTGATGGACAAAGAGGCAACTGGG-3'
GST7A	5' - CCCCCCGTCGACTCAGAAATGTGGGAGAAGTTACAGC-3'
GST7B	5' - CCCCCCGTCGACGATACATCATAAATCCAACCTTGTC-3'
GST8A	5' - CCCCCCGTCGACATCTTCCAATGTTCTCATGTC-3'
GST8B	5' - CCCCCCGTCGACTAATCCCTGAAAATTCCTCTGG-3'
GST9A	5' - CCCCCCGTCGACTTATATTAGAGACCACATTAAG-3'
GST9B	5' - CCCCCCGTCGACTATTTTTTTAAGTCATTCAGGAC-3'

Primer zur Herstellung von pEGFP-VLIG-1:

Name des Oligos	Sequenz
SalI-ATG	5' - CCCCCCGTCGACATGGCAACAGCAAAGTGTTTCACTGATGAGCC-3'
HaeII-ATG-308	5' - GTAACCTCTCCAGCGCCCTTTTCTCCC-3'
PmlI-ATG-994	5' - GATGTGAAAATGGCACGTGGCCAATGGG-3'
Stop-SalI-SpeI	5' - CCCCCCACTAGTCGACTTTTTTTAAGTCATTCAGGACTTCTTGC-3'
SpeI-Stop-7106	5' - TTAATGTTTGTACTAGTAGTGTAGCAAG -3'
Stop-XmaI	5' - CCCCCCGGGTTATTTTTTTAAGTCATTCAGGACTTCTTGC-3'

11441 taatccactatataaacaactcaaaaaacacacatgatcatccttttagatgctaggaaagcatttgacaaaaaccagcacccttcatgataaatgtcatgtaaa 11550
11551 gatcagggaattcaaggcccatacataaacgtaataaaagcaacatacagcaaacagtagccaacatcaaaactaaatggagagaagctggaagcaatcccagtaaaatca 11660
11661 tggactagacaaggctgccacccttctctcaactattcaatatagtagctttagtcttagccagagcaatttgaaaaacaaaaggagatcaagggaatacaaaatggaaa 11770
11771 ggaagatgtcaaaatttctctcttgcagatgatagtagtatataaagtaccctaaaaatccaccagagaactcctaaacctgataaacagctttagtaacagtag 11880
11881 ctagatataaaataactcaacaacatcagtgaccttctctacacaaaggataaacaggatgagaaagaaatagtgaaacaacacctttcacaattgtcacaataat 11990
11991 ataaaactccttggtgtgactctaactaaggaagtgaagatctgtgtgataaagaactcaagctctcaaaagaagaaatctaagaatatactcagaagatgggaaagatc 12100
12101 tccctgctcatggattggcaggattaatatagtaaaaatggctatcctgccgaaagcaatctatacatccaatgcaatccccatcaatccaactaaattcttcaact 12210
12211 gaggtagaaagggcaatttgaaaattcatctggaataaacaacacactagtagcaaaaactattctcaacaataaaagaacctctgctgtaacacctgacctacct 12320
12321 caagctgtactacagagcaatgtgtgataaaaactgcatggtagctgtacacagcagacaggttaaatcaatggaatagaattgaagaccaagaatgaaactcacacacct 12430
12431 atggtcacttgatcttcaacagtgaaactaaaacctccagtggaagaaagcagcattttcaacaaatgttgcctggcacaactgggtgatcatgtagaagcagtagaa 12540
12541 ttgatccattcttctctctgtacaactctcaagtcattgtggatcaaaagatctccatataaaaccagagactcagaaatttagaggagaaagtggtggaaaatctc 12650
12651 taacagaaacagcaatggcctatgtgtgaagatcaagaatcaacaaatgggacctcttaaaatgcaagctctctcggtgaagtagctggatataaaataactcaaa 12760
12761 agtcaatggccttctctcaaaaaagaataaacaggctgagaaagaaatagggaagcaacacctctcaatagtcacaataataaaaaatacttggcatgactcta 12870
12871 actaaggaagtgaagatctgtatgataaaaactcaagctctggaagaaagacatataaacagatctcagaagatggaaagatctccatgctcatggattggcaggat 12980
12981 caactgtgaaaaatggctatcttgcaaaaagcattctacagatcaatgcaatccctatcaaaatccgactcaattcttcaacgaattagaagagcaatctgtaaa 13090
13091 tctgtggaatacaaaaaaacttaggatagcaaaaactctctcaaggacaaaagctctctggtggaatccatgctgacctaaagcttactcaaaagcaattgt 13200
13201 gataaaaactgcatggtagctgctatagtgacagacaagtagaccaatggaatagaattgaagatgcaaaaatgaaccacacacctatggtcaattgctctgcacaag 13310
13311 gaggtaaaacctccagtggaagaaagcagcattttcaacaaatggctggtggcacaactgggtgttatcatgtagaagaatgcaaatgcatccattctctctctgt 13420
13421 actaaggtcaaatctaaaggatcaaggaacttcacataaaaccagagacactgaaacttatagaggagaaagtggaagaaagcttgaagatagggcaggggata 13530
13531 attcctgaatagaacagcaatggctgtgtgtgaagatcgagaatgcaaaatgggacctcatgaaactccaaagctctgcaaggcaaaagacacctcaataagaca 13640
13641 aaagaccaccaacagatgggaaaggatctttacatctcaaatcagataggggactcaatataataaaagaactcaagaagtggaactccagaaaaatcaaat 13750
13751 aaccctataaaaaatgggctcagagctgaaaaagcattctcacctgaggaatcggaatggctgagaagcactgaaaaatgtcaacatccttaactcatcagggaaa 13860
13861 tgcaaatcaaaacacacctgagatccaccacataccagtcagaatggctaagatcaaaaatcaggtgagagcagatgttggttagcatgtgaaaaagaggaacactc 13970
13971 ctccattgttgggtggagtgcaagctgtgacaacctctggaatcagctggaggtctctcagaaaatggacatagtagaccaccagaagatcccacaatctctct 14080
14081 gggcatataatccagaagatgtcccaaccgtaagaaggacacatgctccatctgtctatagcagccttattataatagccagaagctggaagaacccagatgcccct 14190
14191 caacagaggaatggatataaaaaatgtggtacatttcaacaatggagtagctactcagctataaaaaagaatgaattcatgaaatctcaggcaaatggtggacctggag 14300
14301 ggcattatcctgagagaggttaacacaatcaaaaagaactcaataatagtagctactgataagtgatattagcccagaacttagtatagagagatatacggtaaca 14410
14411 ttgcaaacacatgaaactgaagaagaacgaagcaaaagtggtgacactttgcccctctttagaattgtaaaacacacatggaaggagtacagagacaagatt 14520
14521 ggagctgagacaaaaggatggacctcaagagactgcccataccagggatccatccataaaatgcccctcaaatgatgacaccattgcatatactagcaagcttgggt 14630
14631 gcaaggtcctgtatagcctctctgtgagactaggccggggcctaacaacacagaagtggtgctcagctcaactattggatggatcacaggcccccagggag 14740
14741 agctagagaaagatccaaggagataaaggatctgcaacctataggtagaacaacattatgaaactaacctgacctggagctctgactgtagctgcatatgtatca 14850
14851 aaagatggcctagtagggcactcactggaagagagggccactggcagggcaactttatagcccagtagcaggggaatgcccgggcaaaaaatgggaatgggtgggt 14960
14961 ggggagtggggggggtgtgagggcttgggatagcattggaaatgtaattgagaaaaatcaataataaaaaaagaaaaaaatagcaaatgataaaaaaaatt 15070
15071 gcaagctctgtaggcaaaagatctgtcaataagaacaaaaggcccaacagatgggaaaggattttaccaatctcaaatctgtaggggatttaataccaata 15180
15181 atacaagagatcaagaagatggactccagaacagagctaaacaaagaatttcaactgaggaataccaagggctgagaagcactgaaaaatgtcaatactctaa 15290
15291 tcatcagggatatgcaaatcaacaacacctgagattccacctcaccagtcagaatgctaggatcaaaaatcaggtgacagcagatgctggtgaggatagggaaa 15400
15401 gaggaaactcctccattgctgggtgggtgcaagctggtacaactcactctgaaaaacagctctgggtgctcagaaaaactggacatagtagctactactagaccagcaa 15510
15511 tactctctgggcatataccagaaaaatgttcaactagtaattatgacacatgttctactatgtctatagcagcctattataataaccagaaggtggaatgtacc 15620
15621 aacataggaatgaatagaaaaatggtacatttacacaatggagtagctactcagctataaaatcaatgactttatgaaatcttgggcaaatggatatactggaaa 15730
15731 ataacatcctgaggggggaaaccaactctcaaaaaactcattgatagcactcactgataagtggaatattagcccagaacctaaaatacccaagatacaacttccaaa 15840
15841 acacaagaaaatcaagaaggaagcaacacatggatcttcaatctctcttagaatacggaaataaaatccattgaaaggagtgcggagacaagtttggagctaaga 15950
15951 cgaaggttagactatccagagactgccctccgggtggctccatccataatcagccacaaatgcagacactatcgcatatgccagcaagatttctgctgaagggacct 16060
16061 gatatactctctctctgtgagacttgccagtagctggcaaatcagaagtgagccttacagtcactatagtaggaaacacagctcccacaatagtaggttagagaaa 16170
16171 gtaccaagagctgaaaggtctgcaaccaataggtagaacaacaataatgaactaatctgtaccocagacctgtatctctagctgcatatgaacagaagatggcat 16280
16281 agttggccatcattgggaagagagccctaggtctagcaaaccttatagcccagtagagtggaacacagggccaagaaatggaagtagtggtgagggagggaggg 16390
16391 caggtggaaggtataggggacttttaggatagcattgaaatgtaaatgaagaaatctcaataaaaaatgtgggagaaaaaacatttctctcttgggctgtctgtc 16500
16501 tagagtcaacagagagggctatgccagacttactacaacctgataaacagagctgattgatctgtgggtgaccccccttctgagagaaagagagggaggtgaa 16610
16611 tggggagagaggaagaaataagagagagggagagaaaaactaaattgggtataagtaataataaaaataaaaaatgaaaagtagcttgagttataatgtaa 16720
16721 ttacatcatttctctcttttttttccccctcaaacctctccactttaccagcttttactctcttcaaatgcatggcatcttttcttaattgtgtgtgtatatac 16830
16831 gtgtgtgtgtcataatataatgttatataatataatataatataatataatataatataatataatataatataatataatataatataatataatataat 16940
16941 cgaaaaacagctacactagcactagctgtctctctgctgcccagatagagcaaggaactagacataaagaactactcagctggcatccccctctgtctcttactctta 17050
17051 ctctccctgacctcaaccctgtcatttacacttactgtccctcaccctccccctccctccct 17160
17161 tct 17270
17271 atata 17380

17381 actgaagtatatgcatTTTTTTtaagacacaacaacccatgtagtatccaacaaaagagcttatgctgagAACACCCAGGAGGCTTcatacacagaaatggtttta 17490
17491 aaatacaccttgaacaattacacatgatgaacatttagtaattcacatttctagcaagacagctgatgatttcttaaggtcaggacacaacaagaactaacacaatttgtt 17600
17601 cccccacagAGCCATGGCAACAGCAAAGTGTTCCTGATGAGCCTCAGCTACAAGCAGAAAGGAGCACAATCTCCAGGAGATGCTGACAGAAGTGGGACTGCTGTG 17710
17711 ACTACTGGTTACCTAAGCTTCAGGAAGATCTGGGTGTCCCTCGGCCAGGCCCTTACAATATTTAGACAGGAATGACCTCCAGAGCTGAAGTCCAGACACACACACA 17820
17821 TGGGAGAAAAGGGCGCTGGAGAAGTTACTGACTTCTCACAGCCAAACAGTGTGCAGAGCTACAGGAGACTCAAGGGAGATGAAAAGAACAGGCAGAGCCAGCCAGG 17930
17931 ACAAGCACTGCAGGCTCTGAAAGCCTTGCACTCAGAAGGGAAGCACAGAGAGGAAGAGGAGTGGAGAGAAAAGAACAGAGCTGAGACAAGCAATGGAGATCCCTGAGG 18040
18041 AGTGTGGCCAAACGGCTGAAGTGTCCCTAAAAGACATCACTGAAATAATGGAGAGACATCTCAGTACATGGAAACCGACCTGGCTCACAGTCCAAACCTCTCAGATGGA 18150
18151 GACCTGGTAAAGATGGCATCTGGAGGGCTGGCTCTGCAGGGAATTTATAAGACCAACCACCAAGAGCCTGATTGAGAAGAGAGAGCTACTCAGTGTCCCTAAGCA 18260
18261 GTTCTCACTTGTGGCCAGAACATGGCACCAGAAATAAAACGATGGAATTTTCTACTTTTACGAAACAAGCCATGTTTACAGAGACTATAAAGATGATGGGTTTCAGTT 18370
18371 CAACCTCCTTGGTTAAAGCGGAAGGATGGGGATTTAGTCTAGAAGCTGATATAGTCAAAACGAAACAGACAGCATCTGAGAATAACACCAATCCCATTACAGAGCAAAT 18480
18481 TATTTTGTCTCAGCCAGGTTCACTACATCCATTGGCCACGTGCCATTTTACATCAATGATCTTGAAGTCTCCAATGCTGCTCTCCAGGAATAAAACCTATTTGAAGA 18590
18591 ACTCTGGAGCAGACACAGACCACCGAGATGGACTACCTTACTAAGGCACAGGGCTGAAAACCTTTTCCATAGGTTGGCTCTCATGTAAACAGGCCCTCTGCAAC 18700
18701 TGGGTGGAATCTACTGCTGAAAAGCCATTTGAGAAGTTTCAAAGTGGAGCACTTGGCTGATGTAAGCAGCAAAACAGAGAGTCTTTGAATATTTACATTTATGGGCAGT 18810
18811 TATAGTGGCTTGGAGTTAAAGTCGGTGAAGTGTAAATATAGCAAACCTCAAATCAGAAACAGCATCATTAGTACAACCTCATCTACACTCTCAAACCAAGGTACAAC 18920
18921 ATCTGTAGCCAGATAGTGGACAGCAGAAAGCAGATGGAATGCCAGTGGACAGCTGGCCTTGTAGTTAGCAATCAAACCTGGTGTGCTGATGATGGGAACCTGCACT 19030
19031 TGGTACCTATTTGGGACATCATCTGTCTAGCCACAGAACTGATTTTAAGAATGCTCTCAAAGTGGCTAACTGCTAAAAGACAACTACACTGCTCTGACTGAACTAGAT 19140
19141 GCCCAGATTCAAGAGGGGGAAGAATTTCTGACTGTAGAAAAGAGCTAAGCTTTTATAGAGGATGTAAGTCTGGGAGGTTTCTGATCTGAAGAAACAACCTTACAAA 19250
19251 GTTATTAGATTTTATGCAAACTTGAAGTCAAAAAATAAAAGTTATAAATTTGGATTAATACATGTCTCACTGATTGGGATCTGCAGAAATTTCTAATAAATACTGTAA 19360
19361 AGTCTGCAAAACTTCCCCTTATAAAACTCAGTTTATAAATCTCAGTGTGATCCTTCTAGAACCTCATGTCTCAAAGTTACAAACTTTCTGAGGCACACTCC 19470
19471 ATCATAAGTGGATCAATCAGTCAGAGTATGGGGAAGCAAGTCAAATCACCCTCATTTTCTGAATTCATTAAGACCTTAAAGAAAACCCACAAATACCTGATGGAAGT 19580
19581 GAATTTCAAATGAGGCCAGAAACAGTGGAAAGCAGAAAGACGGCTACATATGAGTCCACAGCTCTCAGCTCCTTCTTGAAGTACCTCAAAGAAACAGAAC 19690
19691 AGCCAGACATGCAGCTGTCTGCTTCCATTGCAGCTGGTGCAGGCTATCAGTTGGTAAACAGTATTTTTCAGCATCTTCTGGGGTGTGATGAGTTAAACTTCTCTTG 19800
19801 GATCAAATGCAAGTAAACCAACAAATACCAAGAGCTTAAAAATTTGCAACTACAGAGCCAGGCATTCCTGGTGTCTCACAGCTCTAAGAACCACAGTTGAAATCAC 19910
19911 AGATATTTCTACAGAGAGAAAAGCAACGTTTGGCATTAAATTAACAACATATGGGGCACTGTTGTCTGAAGAAGTGCACATGTTCTCAGAAACATGGAGAACATC 20020
20021 ATGACTGGGAAAGTCTGGAGAATGATTTGAGACTACTCATTGAGGGGGACTATAAAGCCACCACCCATTACTTACAAATGGATGAGTAAAAAACAATTTGCAAGTCTC 20130
20131 TGCCATGGAAAGAAACAGACCTATAAACAATAAAGTAAATGAAAACATCAAAAAGGAATGATAGAAAATGGACCTTCTGAAATTACTCCAACTGCTAGGCTAGACAA 20240
20241 TTAATATCAAAAAGGATGAGCAGAGCTGACTTCCATCTGATCTATAAGACCTCTGTGTAACAATTCACAGCCAAAGGCTGAAAAGGAGCTTCCATTTCTATTCTACAAA 20350
20351 AGCTACTGATGTTGGATTATGGGTTAGACATCTGATAGTCAAAGATGATGAAAACATAAAAAACAATCTCCATAGGTTCTCCAATCACGAAAATGAAGATATTGAT 20460
20461 CCATATGACGATGCTATTATAGACAATGATAGTCTGGTATCTTCCAGCCACTGAGTCTGGGCCACATTCACCCATTGGATATCCAGATGACCATTTTACACTGTGC 20570
20571 AGATGATCTTACCAGCAATATAATTTTCTTAACTTTCCATTTGTCAATATGCACTCCCCCTTGGGTACCAAAATCCCAACACTTCTCAGATTGAATTTTATCTTTGGT 20680
20681 CTCTCAGACAAATTAGAAAAGTTGGCAAGATGCAAGTAAATCTCCACAGGACAAGAGCTACAGTCCAGAAATCAGCAGATGTGTGCTCTTACCCCATTTGTGTC 20790
20791 TTCATTAGAGTTGGAATGACCTCTGCTTCCAAATCTCAGATCATGAATCTCTTCTCAGTAAACGTAACATGACGTTTCTTTCACAGACACTGCAAAAGGAGCAA 20900
20901 CAAACACTGTCTCTGATGAGGAGTGGTGGAAATCTGCTGTTTCTGCTGCGGCCAAAGGTGAGGACAGCTTTGAAAATTTGTCTGACCTTACCAGTCTTCATGGAG 21010
21011 ATGCAAAAGAACACACCCAACTCAGCTTCTCCAACTATGCTCTCTTCTATCATTTGGTCTCATGTGAGTTTCTGATAACAATAAAGAAAACCAAAAGCTTGTGAGA 21120
21121 CACCTCTGGCAGTCAACAACCTTTGATCTGCTGATGATGATGACAAAAGAAAGGCCATAGCAAATACTTCTGGTAAAAGAAATGAGAATGGCATCAAGAATAGAAATGA 21230
21231 GGCAGAAATTAACAGAGGAGCTCACCAATGCCATCAACATTTTCTAGAGCTCTTAACTGTTTCTCAGTTTAGAGGACTGTTTACAGACAGCTAGAGAGCTAGGATTCA 21340
21341 TTATTGATGAAGACAGAGAGACTGCAAGGAAGCCAAAGAAAAGGCTCAGACTGTAATGGCCCTCTG GAGGAATACAAGTTATCTCAGACAAAAGAAAATTTACTACC 21450
21451 CTCAAGGACAACCTTGGCCTTTGGTGAAGAAAGCAAAAGAAATTTCTATCATCTGAGAGAAAAGGGAAATCGGAGCATCGAAACAACAAGAGTGAAGTGAACACA 21560
21561 TAAAAGAAAATTCGACGTCAACAGTTGGAAAAGCCTTCTCTCAATGATTTAATGCGCTCTGTTCTCGAACTCCTCCAAGACTATTCAGAAAACATAACAACCTCT 21670
21671 ACGTTTTCAGTGGCTCACTCTGTTTTTGGACAACCTGCAATAGATCACCTGGACAAATTACATGAAAGGCAGAGATCTTTGTGGTTAAGGATACAAAACAGAAAAGCAA 21780
21781 AGAGCACAGAAGAGCACTCTGTGCAAGATCAGATAGAAGCCATCTCCACAGAGATTCAACTGTACTTTAGGAATTTAGACACTTCTCCGAGAAGTTGGCCAGATCTA 21890
21891 TGAAGCTCTGGAAGAACTTCTCTCTAGAGATAGCCTTTTCTCTGCTCCCTCAAATGCTGCAGACCTGATGATAGTGGTGTCCATTGAGCTGATGGACGGGG 22000
22001 ATGCTTCATATGTGCTCTAAAGTGGGTAGCAGCTATTTTGGACAAGATCAGAGAGAAAGTGGAGACAAAAGGCTGTTGTTCTCTCTGCTTGGCCCTGCAGAGCTCA 22110
22111 GGAAGTCTACCTTACTGAATGCCCTGTTGGCTACAGTTTACAGTCAAGTGCAGGAGGTTACCAAGGGGCTACATGCAGCTCCTGAAGGTGGAAGAGACATTAC 22220
22221 AGAAGAACTTGGCTTTAATATATGCTGTTTATAGACACAGAAGGACTTCGAGCTCCAGAACTCAACAACAAATCCAGAAATTTGGACCATGAGTTGGCAACATTAGTCA 22330
22331 TTGGCTTGGAACTTACTCTGATCAATATTTTGGGAGAATCCCTCAGACATTCAGGACATCTACAATATCTGTTCAAGCATTCTGAGAATGAAACAAGTGA 22440
22441 ATCTCCCCAGTTGCTCTTTGTCCATCAGAAATGGGAGAAGTTACAGCAAAAGACCAAACTATGGAAGGACGGAAGAGACTGGAGCAGAACTGGATGAATGACTGC 22550
22551 ATTGGCTGCTGAGTTGGAAGAGTGTCCAACATAACCCGCTTCAAGTATGTAATTAAGTTGATGCCAATCGACATGTCTACTACTTTGCTCACCTATGGGATGGCAATC 22660
22661 CCCAATGGCTCCTCCAACTCCTCGTATAGCTACAATGTCCAGAACTAAGGAATGAAATCTTTCAACTGCCAGCAGGAATCTAGGGGAAGGATCTTGAAA ATATCA 22770
22771 GATTTCAAATTCAGAGTTCAAGATTTTGGAAAGCCCTTGTGAGTAAAACCTCATTTTCAAGTTTCAAGAACCCCAAGAGTCAATGCCATGAGCAAACTGGAACAAA 22880
22881 GTATAATGAATGGACTGGGAGCTAAGGAGTCACTGACTGACTTACAGAATCAGCTTGAACATCAGATTCAAATGAAAATCTGACACTCACATCTAATTTACTAG 22990
22991 AGGAACCCTTAGCAGGAACTTAAAACCATCAAAGAAGAAATTTGACAATATTTTGAAGAAGACCAGATTGTGAAATATTGGTTCAAGTGAAGCAAAATTTTGAACAC 23100
23101 AAGTTACTAATCTTAAAGATTCACTTATTTTACAGACACAGACAAATGCAATGAACATATCAGTCTTAAAAATAGCCAAAGAAATACTTGATAACAAAAGTCAACAATA 23210
23211 TGAAAATCAGTTGTTAGAGAGGAGCAGAAAGTTAGCTTTAAATTTGAAGGGTAAGGAATTAAGTATGAAAGAGTGCATGAGAAATTCAGGCAACTTTGGACAAGTTGGA 23320

23321 TTTATGATGATCTTCCAATGTTCCCTCATGTACAGAGCCTAACATTGATTTGGACTCTGAAAATATCCTTCTGGAATATTTCAAGAAGGACAAAAATATTGTGAAAGA 23430
 23431 CTAATAAATAAGTCTCAAGGAAAGTTTGAATCATGTATGACAAACATATTTCAAATGAAAAAGAAATACCTTTTACTTAGAAAAGAGTTTAGAAACCTGTCACTGTTGAATC 23540
 23541 CATCAAAAAGACAAACCAACACATTAGTTAAAAATTACAGAAACACTTACAAACATTTGGAAACAAAAGCGTGATTACAGTCAGAATTACTTTTCATGAAATCTTGAGGA 23650
 23651 TCATAGAAAATGAGCTGAAATCTGAACCTGTGAGGGAGACTACACATTTACCAAAGACTACATCATTGACTTATCCTTGTACTTATTCCAAAAGAGCATCCAAGGATTTCC 23760
 23761 AAGAAAATGCACCGGCATTCAAGACTGCAAAATGACCCCTGTGAATCTCTGGAGAGAAAAGAGATGATTTCTTTATGAGTTTAAAGATCTCTGCCAAGGTGCCACTTC 23870
 23871 AATCACTTCTTTGTTGACTTCTATGGCTCAAGCTCACTCCTGCTATCTCTGTGACGATATGAAAAAATAGTTTCAAAAAATAGCTGGAGACATCGGAGCCACTGCC 23980
 23981 CTGAATCAATGAAAACAGAGCTAACCTGGAGATACATATTCTCTACTCTAGCAGAAGAAGAAAAATTTGATAAACTGGAATACATTTCAAAAGCCAGAGGAATTT 24090
 24091 TTCAGGGATTATATTAGAGACCACATTAAAAGATACTGTTTCAGAAAAAGAGAGTAAAAATAAAACTTTTTTAAACATAAGCTTAGGTGACATCAAGAATACATCTCT 24200
 24201 GTCTGCCATTATACTCCACAAAGGTAGCTAAAGCTAAAGGCAGCACTGCATCTCACTGGCTGGATTTGTTCTGTGACCACCTAGGGAGCAACCTGGTCTTCCCAAGGA 24310
 24311 AAGACCTGGTAAGCATAGAGCA CCAGGAGCTAATGGATACTGAGTTTCTCAAGAAAGCCATGAGCAAAAGCTTTGGATCTGCAATGAGGGAAAGTAGAAGAGGATTTGTCA 24420
 24421 AGTAAGCACATAGATGAAATGTTCTGCATTTGAGAAAATCTCTCTGAAACATCTCTGTGGCTGTGGAAACAGTGTCTTTTTGTAAGGCAATTTGTACAAACACCAT 24530
 24531 TCCCCAGCATGAAGGAGACCACAGTGTGCCATTTCCACCTCTCAGGCTGTGAGTGGTGGCATTGGCATAAAAAGAGCCAGTCCACATTAATGTTGTACTAGTAGTG 24640
 24641 TAGCAAGTAATATTTCTTCACTTTTAGATGGCTTCCGGGAATTTCCCAATTAAGAAAATTCGAGAAGCAGGAGGTGATTATGCCACATGGAGCATCACCCAGACTCATCT 24750
 24751 ACCCAGCCATATTGGAATGTTTGTCTGTCATTTAGATCAAACTAGAGAAGTAATGGCAAAAAATTTACAGGGAAGGTAGTCTTCCAGATTTATGGACAAAAAT 24860
 24861 CACAAAGCAAGAAGTCTGAATGACTTAAAAATAATAACTGCCACAGACAGAACACTAGATGGCCACAGAAAATTTACTTACAGCCAAAGGAGCCTAATGGAGAACAC 24970
 24971 CATGCAGGAGATCTGCAGTAGACATTTGAGCTTCTCGATATGGCCACTCTATTGGGCAATTTTTCTGCAGCAATATGAAGTTAACTTTCAAAAATAAGACTGT 25080
 25081 TTAGATGAATTAATGATTTTATAGAAATTTCTGAGTTGATTTAAATAGTTTAAAGCACTAGGTTAATGATAGAAAAGTTAAGGAGATGGCTTAATTTGTTCTGCTAAATA 25190
 25191 GATATGATAAAGTTAGAAATTAAGAGCAGAATGTGACCTTTCCCTTTAGGATAATGAGAGCTACATAGGTTTAAAAAGGAGTACAGTGAAGCTTTTCATGCATTTGCAAGTAT 25300
 25301 GTGATGTACTTGAAGAAGAAAATAGGCTTGGGACAAGTTAATGCTCAAAACATTCATTCTAGGTTGGGTCTGAGTCTCTGGATTTTGTGATCTAGAGACATAGTCACA 25410
 25411 GGTTTTGGTGGCCACCATAAAAAGCAAGGTAATAAAACAGGAGTAAATAATTCGATTTATAGTATAGAAATAGAGATAGATGATTTCCAGTATAGCTGAACAAGACTA 25520
 25521 CAAAAATAAGATGTAAGAGAGATTGTTCTTCGTAATAACAGATTGATCACCATCTAAGCATATGAAAAACTTGTACTGTAGACTTGGCTTGTCTTAAACATTTGTAATC 25630
 25631 AATAACAAAAAATATAGCTTTAGTTTGTCTATGGAGAAAAGATGAGAGAAGCTTA GATGAGAAATGCTTAGGTATGAGTTTCAAAAAGAGAAATACACAATCAATGCT 25740
 25741 CCGTTGTAATCTCTTGTGTGATGATTTTATTGTCTTATTGAAGAACATGTGTTTTGTGATGTTTTTAGAAACTTGCAACTTATGGCTATGAAGTAATTTTGTCAA 25850
 25851 CATAGAACTTTGCTTAGATGGTGTAAAAGGCTAAGAGAACAATAAGATGTTAGAGCTCCTTGTGGAGCTTGGCTTCACTCCAAGTGTATGAGCATGTGCCAGC 25960
 25961 TTTACATTTGATATAAATCACACATGCCCTCTTTGGATCATTGACATAGCTAGTCTTCAACATCTCATACAAAATGAAGTTGCATTATAAATTAATAAGTAAAAATAAA 26070
 26071 TTAGCTACTATTGCAAGACTTGAAGATTTTCTATGAAAATGATTTTACTTCTCTGATTTATTATCTAATGCTTTATTATATATACTAAATATGTTAATGATCTATTG 26180
 26181 TTTTGTATTTTTTTTTTTTGTCTTGGTGTGTTTTCTGTTTTGTCTTATGGAAGAGTATGTTCTCTGATTTCTTATTTTTTGTTTTTTATGTTTGTGTTTTGTTTTA 26290
 26291 TTTGAAAGAAATAAAAAATAAGTAAT 26317

Vergleich der Nukleotid- und vorhergesagten Proteinsequenz der humanen genomischen DNA mit der CDS von mVLIG-1 CDS. Dargestellt sind die beiden mit der VLIG-1 CDS überlappenden ORFs der humanen Sequenz. Stopp-Kodons sind mit einem * gekennzeichnet.

hVLIG-1 Fr.1	1	ATGGCCACAGGAGACACACCTCTGATGACCTCTCTCTCAGAGGCAAAAAGGAGGCAAGACCTCCAAGAGATGCTGAGAGAAGTGGCCCTG	90
mVLIG-1 CDS	1	M A T G E H T P D D P L L R G K R R Q D L Q E M L R E V G L	90
hVLIG-1 Fr.2	1	-----	1
hVLIG-1 Fr.1	91	GATGTTGATCTACTGGTTTACC CAAGCTGCAGGAAACCTGGGTGTGACCTGTGCCAGGCCCTTACAAACCCTAGACAAAACAACCTCAAG	180
mVLIG-1 CDS	91	D V E Y W L P K L Q E H L G V T C A Q A L Q H L D K N N L K	180
hVLIG-1 Fr.2	1	-----	1
hVLIG-1 Fr.1	181	AAGCTGAAATCCAGACACAACATCCATGGGAGA-----AAGCTGCTTAA	225
mVLIG-1 CDS	181	K L K S Q T Q H P W E K A A *	270
hVLIG-1 Fr.2	1	-----AATCCAGACACAACATCCATGGGAGA-----AAGCTGCTTAACTCTCACACTCAAAAAGTCTTTTCAGCTTA	69
mVLIG-1 CDS	271	CAGGAGACTCCAAAGGAGATGAAAAGAACAGGCAGAGCAGGCAGGACAGCAGCTCAGGCTCTGAAGCCTTGCAGTCTCAGAAGGGGAAG	360
hVLIG-1 Fr.2	70	CAGGAGTCTCAGTGGAGAGGCAAGAGAAAGCAGAAAGCAGGAGCAACAGCCACTGCAGGAGCTGAGGSACTTGTCTGACAGAAGGGGAAG	159
mVLIG-1 CDS	361	Q E T P R E M K K N R Q R Q A G Q A L Q A L K A L Q S E G K	450
hVLIG-1 Fr.2	160	CA CAGACAGGAAGAGCAGTGAAGGAAAAGAGCAGAGCTGAGCAAGCAATGGAATCCCTGAGGAGTCTGGCCAAAGGCTCAAGT	249
mVLIG-1 CDS	451	H R E E E A V R R K E A E L R Q A M E I P E E C W P T A E V	540
hVLIG-1 Fr.2	250	CA CAGACAGGAAGAGCAGTGAAGGAAAAGAGCAGAGCTGAGCAAGCAATGGAATCCCTGAGGAGTCTGGCCAAAGGCTCAAGT	339
mVLIG-1 CDS	541	P L R E L M E N L Q R Q L N L M K W T L C H R Q N L P D R D	630
hVLIG-1 Fr.2	340	CTGGTAAGATGGCATCTGGAGGCTGGCTCTCAGGGAATTTAAGACCAACCACCAGAAAGCTGATTCAGAGAGAGAGAGCTA	429
		L V R W A S G G L A L Q G I Y K T N H P R S L I Q K R E E L	
		GTGGTCAAGTGGCATCTGGAGGCTGGCTCTCAGGGAATTTAAGACCAACCACCAGAAAGCTGATTCAGAGAGAGAGAGCTA	
		V V R W A S G G L A L Q G I Y K A S H Q R G L T E K R E E L	

mVLIG-1 CDS	631	CTCAGTGTCCCTAAGCAGTTCCTACTTGTGGCCGACACATGGCACCAATAAAAAAGATGGAATTTTCATCTTTTTCACGAAACGCC	720
		L S V P K Q F S L V G P E H G T E I K T M E F S S F H E Q A	
hVLIG-1 Fr.2	430	CTCAGTGTCCCTAAGCAGTTCCTACTTGTGGCCGACACAAATAAAAAGGAATTCATCTCTCCAGGCTCAATTC	519
		L S V P K E F L L L G P Q Q G T Q M K T K E F T S P Q A E F	
mVLIG-1 CDS	721	ATGTTTACAGAGACTATAAGATGATGGGTTCAGTTCACCTCTTGGTTAAAGCGAAGGATGGGGATTAGTCTAGAAGCTGGTATA	810
		M F T E T E I K M M G F S S T S L V K G E G W G F S L E A G I	
hVLIG-1 Fr.2	520	ATGTTTACAGAGACTATAAGATGATGGGTTCAGTTCACCTCTTGGTTAAAGCGAAGGATGGGGATTAGTCTAGAAGCTGGTITG	609
		M F T Q M V E K L G F R L T T S A K D G N W G F S L E A G L	
mVLIG-1 CDS	811	GATCAAAACGAAACAGACAGCATCTGAGAAACACCAATCCATTCAGAGCAAACTTATTTTGGCTCAGCCAGTTCAGCTACATCCCA	900
		D Q N E Q T A S E N T H Q S H S E Q T Y F C S A R F S Y I P	
hVLIG-1 Fr.2	610	GATCAACAAACATCCAGAAACCAAGCAACCAATCAAGTTCAGAAATTTTATTTTGGCTCAGCCAGTTCAGCTATATCCCC	699
		D H S K H P E S K E T Q Q S S S E N S Y F C S T K F S Y I P	
mVLIG-1 CDS	901	TTGGCCACTGGCCTTTTACATCAATGATCTTGAACCTCTCAATCTGCTCTCCAGGAACTAAAACTTTGAAGAAGCTCTGACCCAG	990
		L A T C H F H I N D L E L S N A A L Q E L K T I E E L L E Q	
hVLIG-1 Fr.2	700	CTGGCCTCTGGCCTTTTACCATGTGATCTCCAGTATCCCAAGCTGCTCTCCAGGAAATGAAATGCAATGAAGAGCTTCTGAGTCAG	789
		L A S C A L P I D Q L Q Y P K P A V Q E L K C I E E L L S Q	
mVLIG-1 CDS	991	ACAACAGCACCCAGATGACTACTTACTAAGGCACAGGGCTGAAAACCTTTTCCATAGGTTTGGCTCTCATGCTAACCAAGGCCCT	1080
		T T D H R D G L P L L R H R A E N F F H R F G S H A N Q G P	
hVLIG-1 Fr.2	790	ACAACAAACCC--AGACAGTCTCTCTTGTGAGGCACAGATCATAACTTTTCCACAGGTTTGGCTCTCATGTTAACCAAGGCCCT	876
		T T N P D R F S L L R H R I I N F F H R F G S H V N Q G P	
mVLIG-1 CDS	1081	CTGCAACTGGGTGGAATCTACTGCTGGAAGGCCATTCAGAAAGGTTTCAAAAAGTGAGCACCTGGCTGATGTAAGCAGCAAAACAGAGAG	1170
		L Q L G G I Y C W K A I S E G F K S E H L A D V K Q T R E	
hVLIG-1 Fr.2	877	CTGCAACTGGGAGGAATCTACTGCTGGAAGGCCATTCAGAAAGGTTATGACAGGAGCAGTGGCAGAAAGTGAAGCAGCAGTCTGAGAG	966
		L H L G G I Y W W K A I S E G Y C T E Q L L A E V R Q Q S A E	
mVLIG-1 CDS	1171	TCITTTGATATTTTACATTTGGGCAGTATAGTGGCTTTGGAGTTAAAGTCTGTCAGTGTGTTAATAAGCAAACTCAAATTCAGAAACA	1260
		S L N I Y I M G S Y S G F G V K V G A S V N I A N S N S E T	
hVLIG-1 Fr.2	967	GCCTTGGACATTTTCATAGGGACAGCTACAGTGGTTGGAGTAAAGTTCGTCAGAGTGTGAATGTTTTCAGACTCTCATTCGAGAGACA	1056
		A L D I F I R D S Y S G G F G V K V A A G V N V S D S H S K T	
mVLIG-1 CDS	1261	GCATATTCACTCAACTCATCTACACTCTCAAAACCAAGGTAACTATCTGTAGCCAGATAGGTTGGACAGCAGAAAGCAGATGGAAT	1350
		A S F S T T H L H S Q T K V Q L S V A Q I G G P A E A D G I	
hVLIG-1 Fr.2	1057	GCATATTCACTCAAACTTCCAAACCTCAAAACCAAGGTAACTATCTGTAGCCAGATAGGTTGGACAGCAGAAAGCAGATGGAAT	1146
		A T Q T K T S Q N L Q T K V Q L S V A Q T G G P P E A D G L	
mVLIG-1 CDS	1351	GCCAGTGGACAGCTGGCCTTGTAGTTAGCAATCAAACTGGTCTGTCATTGATAGGAACTGCAAGTGGTACCTATTTGGGACATCATC	1440
		A Q W T A G L V V S N Q T W S V I D R E L Q L V P I W D I I	
hVLIG-1 Fr.2	1147	GTCCAGTGGAAAGCTGGCCTCATGTCAGCAATCAAACTGGTCTGTCATTGATAGGAACTGCAAGTGGTACCTATTTGGGACATATTC	1236
		V Q W K A G L I A S N Q T W C V I D R G L Q L V P V W D I I	
mVLIG-1 CDS	1441	CTGCTAGCCACAGAACTGATTTAAGATCTCTTCAAGTGGCTAACTGCTTAAAGACAACTACACTGCTCTGACTGAATAGATGGC	1530
		L S S H R T D F K N A L Q V A N C L K D N Y T A L T E L D A	
hVLIG-1 Fr.2	1237	CTCTAGCCACAGAACTGATTTAAGATCTCTTCAAGTGGCTAACTGCTTAAAGACAACTACACTGCTCTGACTGAATAGATGGC	1326
		L S S H R S N F K D P L Q V A N F L K D S Y T A L T S I T A	
mVLIG-1 CDS	1531	CAGATTCAGAGGGGGAAGAATTTCTGACTGTAAGAAAGCTAAGCTTTTCATAGAGGATGTAATGCTGGGAGGTTCTGATCTCT	1620
		Q I Q E G E E F L T A R K E A K L F I E D V K C W E V S D P	
hVLIG-1 Fr.2	1327	CAGATTCAGAGGGGGAAGAATTTCTGACTGTAAGAAAGCTAAGCTTTTCATAGAGGATGTAATGCTGGGAGGTTCTGATCTCT	1416
		Q I Q N G E E L L S A G K E A R V F L E D V K S W E V S D P	
mVLIG-1 CDS	1621	GAAGAACAACCTTCAAAAGTATAGATTTTATGCAAACTTGGTCAAAAAATAAAAGTTATAACATTTGGATTAATACATGCTCTCACT	1710
		E E Q L T K L L D F M Q T L S Q K I K S Y N I W I N T C L T	
hVLIG-1 Fr.2	1417	GAAGAACAACCTTCAAAAGTATAGATTTTATGCAAACTTGGTCAAAAAATAAAAGTTATAACATTTGGATTAATACATGCTCTCACT	1506
		E E Q L T K L L I N F M K M L S Q K L K S Y D T W I N I C L T	
mVLIG-1 CDS	1711	GATTTGGATCTGCAGAAATTTCTAATAAATAGTAAAGTCTGCAAACTTCCACCACTTATAAAACTAGTTATTAATAATCTCAAGTTG	1800
		D W D L Q N F L I N T V K F C K T S P T Y K T Q F I K S Q L	
hVLIG-1 Fr.2	1507	GATTTGGATCTGCAGAAATTTCTAATAAATAGTAAAGTCTGCAAACTTCCACCACTTATAAAACTAGTTATTAATAATCTCAAGTTG	1596
		D * S L Q N F L V N T I A N F C K K S I Y K T K C I K S H L	
mVLIG-1 CDS	1801	TGCATCCTTCTAGAACTCACTGCTACAAAGTTACAACTTCTCTGAGCACACTCCATCATAAGTGGATCAATCAGTCAGAGTATGGC	1890
		C I L L E P H V Y K V T N F P E A H S I I Q W I N Q S E Y G	
hVLIG-1 Fr.2	1597	CGAGCTCTTGGATCTCACTACAGTCAAACTTCTCTGAGCTCACTCATCATGAGTGGATCTTCAGTCAGATTCAGAG	1686
		R S L L D P H I Y R V T N F P Q A H F I M Q W I F Q S D S E	
mVLIG-1 CDS	1891	GAAAGCAGTCAAACTCACTCATTCTCAATTAAGACTTAAAGAAACCCCAAACTCCTGATGGAAGTGAATTTCAAAAT	1980
		E E Q G T K I T S F S E F I K T L L K K T H K Y L M E V N F K N	
hVLIG-1 Fr.2	1687	CAGAGCTCTGATTTTCCAACTTCTCAATTAAGACTTAAAGAAACCCCAAACTCCTGATGGAAGTGAATTTCAAAAT	1776
		Q E Q V N I S Q F S Q L I E I L K E T Q N N L M E V K V K S	
mVLIG-1 CDS	1981	GAGCCCCAGAAACAGTGGAGAAGGACAAAGAACGCTACATATGAGTCACTCAGCTCTCAGCTCTCTTCTGAAGTACTCAAGAA	2070
		E A P E T V E E A R T A T Y E V T T A L S S F L K Y L K E	
hVLIG-1 Fr.2	1777	GAGCCCCAGAAACAGTGGAGAAGGACAAAGAACGCTACATATGAGTCACTCAGCTCTCAGCTCTCTTCTGAAGTACTCAAGAA	1866
		E S P E T V E E A Q R K S T Y E V S L A L S C F L N Y L Q K	
mVLIG-1 CDS	2071	ACAGAACAGCCAGACATGCACTCTGCTCTTCCATTCAGCTGGTGCAGGCTATCAGTTGTAACAGTAATTTTTCAGCATCTCTCTG	2160
		T E Q P D M Q L L L L S I A A A G A G Y Q L V N S I F Q H L L	
hVLIG-1 Fr.2	1867	ACAGAACAGCCAGACATGCACTCTGCTCTTCCATTCAGCTGGTGCAGGCTATCAGTTGTAACAGTAATTTTTCAGCATCTCTCTG	1956
		T E Q T D T Q L L L L S I A A A G A G Y H V I N N T F Q S L L	
mVLIG-1 CDS	2161	GGTGTGATGAGTTAACTTCTCTGGATCAATGCAAACTAACCAACCAATACCAAGAGCTTAAATATTTGGCACTCAGAGCC	2250
		G C D E L N F L L D Q M Q S N Q H K Y Q E L K N I C N Y R A	
hVLIG-1 Fr.2	1957	GGTGTGATGAGTTAACTTCTCTGGATCAATGCAAACTAACCAACCAATACCAAGAGCTTAAATATTTGGCACTCAGAGCC	2046
		G C D E L S F L L D E M Q T A T A Q N K Y Q E L K N I C S Y R A	
mVLIG-1 CDS	2251	CAGGCATTCCTGGTCTCACAGCTCTAAGAACCAACAGTTGAAATCACAGATATTTCTACAGAAGAGAAAAACAACGTTTGGCATTAAAT	2340
		Q A F L V L T A L R T T V E I T D I S T A E E K R Q R L A L I	
hVLIG-1 Fr.2	2047	CAGGCATTCCTGGTCTCACAGCTCTAAGAACCAACAGTTGAAATCACAGATATTTCTACAGAAGAGAAAAACAACGCTTCAATTAAT	2136
		Q A F L V L T G L T C A T V G D T A I S S E E K T Q R M S L M	
mVLIG-1 CDS	2341	AAACAACATATGGGACACTCTTGTCTGAAGAAGTTGCACATGTTCTCACAAAACATGGAGAACATGACTGGGAAAGCTGGAGAAAT	2430
		K Q H M G T L L S E E V A H V L T K H G E H H D W E S L E N	
hVLIG-1 Fr.2	2137	AGACATCAATGGGCAATCAATGTCAGAAAGTTGACATGCTCACCAACCTGGAGCAATCAATGGGAAACCTAGAGAAA	2226
		R H H M G Q S L S K E V A H V L T K P G A D H D W E N L E K	
mVLIG-1 CDS	2431	GATTTGAGACTACTCATTGCGGGGACTATAAG--CCACCCTTACTTCAAAATGGATGAGGTAAAAACAATTCGAAAGTCTC	2517
		D L R L L I E G D Y K A T T H Y L Q M D E V K K Q L Q S L	
hVLIG-1 Fr.2	2227	GATTTGAGACTACTCATTGCGGGGACTATAAG--CCACCCTTACTTCAAAATGGATGAGGTAAAAACAATTCGAAAGTCTC	2310
		D L R L L I N G D Y E E V T I S S L Q M E E V S K Q S L	

mVLIG-1 CDS	2518	TCCTATGGAAGAAACAGACCTATAAACAAAGTAAATGAAACATCACAAAAGGAATGATACAAAATGGACCTTCCTGAAATTACTC	2607
		C H G K K Q T Y K Q K S N E N I T K G M I E N G P F L K L L	
hVLIG-1 Fr.2	2311	TTCTATGGAAGAAACAGACCTCATGAAACCATGACAAATGAAATGAAATGGAGATGATAAAAATGGAGCTTCCTGAGCTTACTC	2400
		F Y G K K Q P H E P H D N E N N K W E M I K N G A F L D L L	
mVLIG-1 CDS	2608	CAACCTCTAGCCTAGACAATTACTATCCAAAAGGATGAGCAGCTCACTCCATCTGATCTATAAGACCTCTGTGTCAATTCACAG	2697
		Q R L G L D N Y Y P K R M S R A D F H L I Y K T S V Y N S Q	
hVLIG-1 Fr.2	2401	CACCATCTAGTCTAGAACATTACTACCCAAAATGACAAAGCTAAATCCATCTACTATAAGACCTCTGTGTAAACCC	2490
		Q H L G L E H Y Y P K K L S K A N F H L I Y K T S V Y N T Q	
mVLIG-1 CDS	2698	CCAAGCTCTGAAAAGGAGCTTCCATTCTATTCTCAAAAAGCTACTGATGTGGATTATGGTTCAGACATCTGATAGTCAAAGATGAT	2787
		P R S E K E L P F Y F L Q K L L M L D Y G F R H L I V K D D	
hVLIG-1 Fr.2	2491	CCAGCTCTGAAAAGGAGCTTCCATTCTATTCTCAAAAAGCTACTGATGTGGATTATGGTTCAGACATCTGATAGTCAAAGATGAT	2580
		P S S E Q E L P F Y F L Q K L L M M D Y E L R Y L V F K D D	
mVLIG-1 CDS	2788	GAAAACATAAAAACAATCTCCATAGGTCTCCCAATCAGAAATGAAGATATGATCCATATGACATGTCATTATAGACAATGAT	2877
		E N I K K Q I S I G S S N H E N E D I D P Y D D V I I D N D	
hVLIG-1 Fr.2	2581	AGAAAACAGAACCAAGTACATCCAAATCTTCAGATCAGGAAATGATGGCTTTTGACCCATATGAAAATCTTTTGAAGACATGAT	2670
		R N T E H Q V H P N A S D Q E D E A F D P Y E N F F E D S D	
mVLIG-1 CDS	2878	AGTCCCTGGCTATCTCTCAGCCACTGAGTCTGGCCCACTTACCCCAATGGATATCCAGATGACATTTTACACTGTGCAGATGATCTT	2967
		S P G Y P S A T E S W P H I H P L D I Q M T I L H C A D D L	
hVLIG-1 Fr.2	2671	AGTCCCACTAATCTTCACTGAGCTAGCCCCACATTCACCAATGGATATTCAGATGACATTTTTCACGTGCAGATGATTTT	2760
		S P T K S S S T E P S P H I H P V D I Q M T I F H C A D N F	
mVLIG-1 CDS	2968	ACCAGCAATATATTTTCTTAACTTTCCATTTGTCATATGACCTCCCTTGTGGTACCAATCCCAACTTCTCAGATTGAATTT	3057
		T R Q Y I F S K L S I C H Y A L P L V V P N P N T S Q I E F	
hVLIG-1 Fr.2	2761	GCCAGCAATATATTTTGGCAAATTTCCACTTTGTCATTTGGCTCCCTTGTGGTAACTTCCCTTACTTCTCAGATTGAATTT	2850
		A R Q Y I L A K R L S T C Q F A L P L L V P N P C T S Q I E F	
mVLIG-1 CDS	3058	TATCTTTGGTCTCTCAGCAAATAGAAAGTGGCAAGATGCAAGTAAATCTCCACAGGACAAGGCTACGTCACAGAAATCAGCAG	3147
		Y L W S L R Q I R K S W Q D A S K S P Q D K S Y S H R N Q Q	
hVLIG-1 Fr.2	2851	TCCTCTGGTCTCTCAGCAAATAGAAAGTGGCAAGATGCAAGTAAATCTCCACAGGACAAGGCTACGTCACAGAAATCAGCAG	2937
		S L W S L R Q I T R S W Q A E A R K S P K G K N Y Y K N Q Q	
mVLIG-1 CDS	3148	ATGTGCTGTCTCTACCCATTGTGTCCTTATAGAGTGGAAATGACCTCTCTGCTTCCAAATCTCAGATCATGAATCTCTCTCTC	3237
		M C R V S T P I V S F I R V G N D L S A S K S Q I M N S L R	
hVLIG-1 Fr.2	2938	ATGTGCTGTCTCTACCCATTGTGTCCTTATAGAGTGGAAATGACCTCTCTGCTTCCAAATCTCAGATCATGAATCTCTCTCTC	3027
		M C C V S T S I V S F V R V G N G L S A S K S Q I M N C L L	
mVLIG-1 CDS	3238	AGTAAACGTAACATGACGTGTTTTTTCACAGACTGCAAGGAAGCAACAACACTGTCTCTGATCAGGGAGTGGTGGAAATCTGC	3327
		S K R K H D V F F H R H C K G S N K H C L L M Q G V V E I C	
hVLIG-1 Fr.2	3028	AGTAAACGTAACATGACGTGTTTTTTCACAGACTGCAAGGAAGCAACAACACTGTCTCTGATCAGGGAGTGGTGGAAATCTGC	3117
		S K R K H D V F F H R H C T G S R K D C L L M G G M V E I C	
mVLIG-1 CDS	3328	TGTTCTGTCTGCCGGCAAGGTGAGGACACCTTTGAAATTTGCTGACCTTCCACATCTTCTGAGAGATGCAAAAGAACACACCCAA	3417
		W F C P A G Q G E D T F E N C L T F T S L H G D A K E H T Q	
hVLIG-1 Fr.2	3118	TGTTCTGTCTGCCGGCAAGGTGAGGACACCTTTGAAATTTGCTGACCTTCCACATCTTCTGAGAGATGCAAAAGAACATGAGCAG	3207
		W F C P G G E D E D R F D N C V T F T N L H G D A K E H E Q	
mVLIG-1 CDS	3418	CAACTCAGCTTCTCCAAATGTCCTCTTATCATTTGGTCTCATGTCAGTTTCTGATAACAATAAAGAAAACAAAAGCTTGTGAGA	3507
		Q L S F L Q H V S S I I V V L M S V S D N N K E N Q K L V R	
hVLIG-1 Fr.2	3208	CACCTCAGCTTCTCCAAATGTCCTCTTATCATTTGGTCTCATGTCAGTTTCTGATAACAATAAAGAAAACAAAAGCTTGTGAGA	3297
		Q L S F L K E V S T V I V V L M S A S D D N E G N R K I V R	
mVLIG-1 CDS	3508	CACCTTGGCAGTCATCAACCTTTGATCTGCTTATGATGACAAAAGAAAGCCATAGCAAAATCTTCTGGTAAAAGAAATGAGAAT	3597
		H L W Q S S T P L I C L I D D K E K A I A N T R I S G K R M R I	
hVLIG-1 Fr.2	3298	AACTTCTGGCAGTCATCAACCTTTGATCTGCTTATGATGACAAAAGAAAGCCATAGCAAAATCTTCTGGTAAAAGAAATGAGAAT	3387
		N L W Q S S R P L I C L L D D K E A T M T N I S G Q R M R M	
mVLIG-1 CDS	3598	GGATCAAGAATAGAAATGAGGAGAAATTAACAGAGGACTCACCAATCCATCAAAACATTTCTAGACTCTTAACTGTCTCTCAGT	3687
		G I K N R N E A E L T E E L T N A I K H F L E L S N T V L S	
hVLIG-1 Fr.2	3388	GGATCAAGAATAGAAATGAGGAGAAATTAACAGAGGACTCACCAATCCATCAAAACATTTCTAGACTCTTAACTGTCTCTCAGT	3477
		G I K N R N E A E L T E E L T T T I R H L L E L S D T A L S	
mVLIG-1 CDS	3688	TTAGAGGACTGTTCAAGACAGCTAGAGAGTAGGATTCATTATGATGAAGACCAGAGACTGCAAGGAAGCCAAAGAAAAGGCTCAG	3777
		L E D C S Q T A R E L G F I I D E D Q R D C K E A K E K A Q	
hVLIG-1 Fr.2	3478	TTGAGGACTGTTCCAGATGCTACCAGGAGGATTTTATTCATGATGAAGACCAGAGACTGCAAGGAAGCCAAAGAAAAGGCTCAG	3567
		L E D C S Q I A H Q Q G F L I D E D Q R D C K E A K E K A Q	
mVLIG-1 CDS	3778	ACTCTAATGGCCCTCTGGAGCAATACAGTTATCTCAGACAAAAGAAATTTACTACCCTTCAAGGACAATTTGGCACCTTTGGTGT	3867
		T V M A C L L E E Y K L S Q T K E N L L P L Q G Q L W H L W C	
hVLIG-1 Fr.2	3568	GCTCTAATGGCCCTCTGGAGCAATACAGTTATCTCAGACAAAAGAAATTTACTACCCTTCAAGGACAATTTGGCACCTTTGGTGT	3657
		A L M A F L G K M K L S Q I K E K L L P L Q G Q L W H H W C	
mVLIG-1 CDS	3868	AAGAAAGACAAAGAAATTTATCATCTCAGAGAAAAGGGAAATCGAGCATCGAACACACAAGAGTGAAGATGAAACATAAAAGAAA	3957
		K K D K E F Y H L R E K G N R S I E Q H K S E I E T H K R K	
hVLIG-1 Fr.2	3658	AAGAAAGACAAAGAAATTTATCATCTTACAGAAAAGGGAAATCGAGCATCGAACACACAAGAGTGAAGATGAAACATAAAAGAAA	3747
		K K D K E L Y H L R E K G N Q S I E Q H K S E I E T D K Q I	
mVLIG-1 CDS	3958	ATTCAGCTCAACAGTTGAAAAGGCTTTCTCTCAATGATTTAATGGCTCTGTTCTCGAACTCTCCAAGACTTTCAGAAACACAT	4047
		I R R Q Q L E K A F P L N D L M R S V L E L L Q D Y S E T H	
hVLIG-1 Fr.2	3748	ATACGCTATGACAGTGGCCAGAGCCCTCTCTCAATGATTTAATGAAATCTGCTCTCAGTTTCTCCAAGACTTTCAGAAATTCAC	3837
		I R H E Q L A R A L P L N D L M Q S V L Q F L Q E H S E I H	
mVLIG-1 CDS	4048	AACAACTCTACCTTTTTCAGTGGCTACTCTCTTTTGGCAACTGACAAATGATCACCTGGAACAATTCATGAAAGGCAGAGATCT	4137
		N K L Y V L Q W L T L F F D N L T I D H L D K L H E R Q R S	
hVLIG-1 Fr.2	3838	ACCAACTCTACTTCTTCAGTGGCTACTCTCTTTTGGCAAACTGACTGCAAGGACTTGGAAAGCTTCATGAAAGCAAAATTA	3927
		T K L Y F L Q W L S V F L D K L T A G H L E E L H E K Q K Y	
mVLIG-1 CDS	4138	TTGTGGTTAAGGATCAAAACAGAAAAGCAAGAGCAGCAGCAACTCTG-----TGCAAACTCAGATAGAAGCCATCTCCACA	4218
		L W L R I Q T E K Q R A Q K S N S V Q N Q I E A I S T	
hVLIG-1 Fr.2	3928	TTGTGGTCTGCTTTCAACAGTAAAGCAAGGCACTTATAGTCACTCCCTGATATGCTGCAAACTCAGATAGAAGCCATCTCCACA	4017
		W W S L V Q T V K Q K A P N S H S L I C L Q S E I E A I S T	
mVLIG-1 CDS	4219	GAGATTCATAACTGTACTTTAGAAATGAGCACTCTCCAGAAAGTGGCCAGATCTATGAAGCTCTGGAAGAACTTCTCTCTCAG	4308
		E I H N C T L G G I E H L R E V G Q I Y E A L E E T S S S R	
hVLIG-1 Fr.2	4018	GAGATTCATAACTGTACTTTAGAAATGAGCACTCTCCAGAAAGTGGCCAGATCTATGAAGCTCTGGAAGAACTTCTCTCAGAAA	4107
		E I S D C T L G I E Q L I R E V G Q I Y E A L E E A S S I K	
mVLIG-1 CDS	4309	GATAGCCCTTTTCTCTCTCCCTCAAAATGCTGCAGACCTGATGATACTGGTGTCCCATTTGAGCTGATGGAAGGGGATGCTTCATAT	4398
		D S L F L C L P Q I A A D L M I A G V P I E L M D G D A S Y	
hVLIG-1 Fr.2	4108	AACTTTTCTCTCTCCCTCAAAATGCTGCAGACCTGATGATACTGGTGTCCCATTTGAGCTGATGGAAGGGGATGCTTCATAT	4194
		K I F F S L P Q I A A D L M I S G V P I E L M D G D A A Y	

mVLIG-1 CDS	4399	GTCCCTCTAAAGTGGGTAGCAGCTATTTTTGACAAGATCACAGAGAAAATTGGAGACAAAAGGCTGTTTGTTCCTCTCTCTCTGGCCCTG	4488
		V P L K W V A A I F D K I T E K V G D K R L F V L S V L G L	
hVLIG-1 Fr.2	4195	GTACCTCTAAACGGTGGGAGCTGTTTTGACAAGCTCTGTGAGAAAATTGGAGACAAAAGGCTATTTTGTTCCTCTCTCTCTGGCTG	4284
		V P L T W V A A V L F D K V S E K L G D K R L F V L S I L G L	
mVLIG-1 CDS	4489	CAGAGCTCAGGGAATCTACCTACTGAATGCCCTGTTGGCCTACAGTTCACAGTCACTGAGTGCAGGCAAGGTACCAGGGGGCCTACATG	4578
		Q S S G K S T L L N A L F G L Q F T V S A G R C T K G A Y M	
hVLIG-1 Fr.2	4285	CAGAGCTCAGGGAATCTACCTACTGAATGCCCTGTTGGCCTACAGTTCACAGTCACTGAGTGCAGGCAAGGTACCAGGGGGCCTATATG	4374
		Q S S G K S T V L N A L F G L Q F T V S A G K C T Q G A Y M	
mVLIG-1 CDS	4579	CAGCTCCTCAAGGTGGAGAGACATTACAGAAAGAACTTGGCTTTAATTAATGCTGTTTATAAGACACAGAAGGACTTCAGACTCCAGAA	4668
		Q L L K V E E T F T E E L G F N Y V L V I D T E G L R A P E	
hVLIG-1 Fr.2	4375	CAGCTCCTCAAGGTGGAGAGACATTACAGAAAGAACTTGGCTTTAATTAATGCTGTTTATAAGACACAGAAGGACTTCAGACTCCAGAA	4464
		Q L L K V E E T F T E E L G F D F V L A V D T E G L R A P E	
mVLIG-1 CDS	4669	CTCAACAACAATCCAGAAATGGGACATGAGTGGCAACATTAGTCATTGGCCTTGGAAACTTGACTCTGATCAATATTTTTGGGGAG	4758
		L N N K S Q N W D H E L A T L V I G L G N L T L I N I F G E	
hVLIG-1 Fr.2	4465	CACAGCAACAATCCAGAAATGGGACATGAGTGGTAACCTTTTGTCACTGGACTTGCAAACTTGACTCTGATCAATATTTTTGGGGAG	4554
		H S N K S K D R D N E L V T F V I G L A N L T L I N I F G E	
mVLIG-1 CDS	4759	AATCCCTCAGACATTGAGCATCTACAAATATCTGTTCAAGCAATTTCTGAGAATGAACAAGTGAATACTCCCCAGTTGCCTCTTT	4848
		N P S D I Q D I L Q I S V Q A F L R M K Q V K I S P S C L F	
hVLIG-1 Fr.2	4555	AATCCCTCAGACATTGAGCATCTACAAATATCTGTTCAAGCAATTTCTGAGAATGAACAAGTGAATACTCCCCAGTTGCCTCTTT	4644
		N P S E M Q D I L Q I V V Q A F L R M K Q V K I F P S C L F	
mVLIG-1 CDS	4849	GTCCATCAGAATGGGGAAGTTACAGCAAAAGACCAAACTATGGAAAGGACGAAAGACA-CTGGAGCAGAAACTGGATGAATGACTGC	4937
		V H Q N V G E V T A K D Q T M E G R K R L E Q K L D E M A T	
hVLIG-1 Fr.2	4645	GTCCATCAGAATGGGGAAGTTACAGCAAAAGACCAAACTATGGAAAGGACGAAAGACA-CTGGAGCAGAAACTGGATGAATGACTGC	4733
		V H Q N V G E A T A T A T D Q T M D G R R R L E Q K L D E M A T	
mVLIG-1 CDS	4938	ATTGGCTGCTGAGTTGGAAGAGTGTTCACATAACCGCTTCAGTGAATTAAGTTTGTGATGCAATCGACATGTCTACTACTTTTCG	5027
		L A A E L E E C S N I T R F S D V I K F D A N R H V Y Y F A	
hVLIG-1 Fr.2	4734	AATAGCTGCTGAGCAAGAACAGTGTTCAGCAAACTTCAGTGAATTAAGTTTGTGATGCAATCGACATGTCTACTACTTTTCG	4823
		I A A E Q E Q C L A D V T C F S D V I R F D V N T H V Y Y F A	
mVLIG-1 CDS	5028	TCACCTATGGGATGGCAATCCCCCAATGGCTCCTCCCAATCCTCGCTATAGCTACAATGCCAGCAACTAAGGAATGAAATTCITTCAC	5117
		H L W D G N P P M A P P N P R Y S Y N V Q E L R N E I L S T	
hVLIG-1 Fr.2	4824	TCACCTATGGGATGGCAATCCCCCAATGGCTCCTCCCAATCCTCGCTATAGCTACAATGCCAGCAACTAAGGAATGAAATTCITTCAC	4913
		H L W D G N P P M A P P N P R Y S H N V Q Q L K S R I L M T	
mVLIG-1 CDS	5118	TGCCAGCAGGAATCAGGGGAAGATCTTGAATATCAGATTTCAAAATTCAGAGTTCAAGATTTTGGAAAGCCCTTGTTCAGTGA	5207
		A Q Q E S R G R I L K I S D F K F R V Q D L W K A L V S E N	
hVLIG-1 Fr.2	4914	TGCCAGCAGGAATCAGGGGAAGATCTTGAATATCAGATTTCAAAATTCAGAGTTCAAGATTTTGGAAAGCCCTTGTTCAGTGA	5003
		A T Q E S R G N I M K I S D V K S R V Q D L W R G L M N E N	
mVLIG-1 CDS	5208	CTTCATTTTCAGTTTCAGGAACACCCAAGA-CTCATGAGCCATGAGCAAACTGGAACAAGTATAATGATGGACCTGGGAGCTAAGGAG	5297
		F I F S F R N T Q E V I A M S K L E T K Y N E W T W E L R S	
hVLIG-1 Fr.2	5004	CTTCATTTTCAGTTTCAGGAACACCCAAGA-CTCATGAGCCATGAGCAAACTGGAACAAGTATAATGATGGACCTGGGAGCTAAGGAG	5093
		F I F S F R N T Q E V M A M N K L E T M Y N H W T W E L R S	
mVLIG-1 CDS	5298	TCATGACTGGACTTACAGAAATCAGCTTGAACAATCAGATTCAAAATGGAAAAATCCTGACACTCACATCTAATTTACTAGAGGAACACT	5387
		H V L D L Q N Q L D N Q I O N G K I L T L T S N L L E E P L	
hVLIG-1 Fr.2	5094	TCATGACTGGACTTACAGAAATCAGCTTGAACAATCAGATTCAAAATGGAAAAATCCTGACACTCACATCTAATTTACTAGAGGAACACT	5183
		H V L G L Q N Q L I N Q I Q N G K I Q T L E A S T F E V L V	
mVLIG-1 CDS	5388	TAGCAGCAAACTTAAACCAATCAAGAAGAATTTGCAAAATTTTCAAGAAGACCCAGATTTGAAATAATGTTCACTGGAAGCAAAA	5477
		S R K L K T I K E E F D K Y F E E D P D C E I L V Q W K A N	
hVLIG-1 Fr.2	5184	TAGCAGCAAACTTAAACCAATCAAGAAGAATTTGCAAAATTTTCAAGAAGACCCAGATTTGAAATAATGTTCACTGGAAGCAAAA	5273
		T E K Y E V V K Q E L E K Y F N E G P C S K I L I Q C K A N	
mVLIG-1 CDS	5478	TTTTGAACACAGTTACTAATTCCTTAAAGATTCCTATTTCAGACACAGACAGAAATGCAATGAACATATCAGTCTTAAAAA---TAG	5564
		F E H K L L I L K D S L I S D T R Q K C N E H I S L K N S	
hVLIG-1 Fr.2	5274	TTTTGAACACAGTTACTAATTCCTTAAAGATTCCTATTTCAGACACAGACAGAAATGCAATGAACATATCAGTCTTAAAAA---TAG	5363
		F E N K L I V L K E K L I T T S I S D S K R Q A N E L I S F L N Q S	
mVLIG-1 CDS	5565	CCAAGAAATCTTGAATCAAAAATCAACAATATGAAATCAGTTCTAGACAGGACGAAAGTTAGCTTAAAAATGAGGGTAAAGGA	5654
		Q E I L D N Q K S Q Y E N Q L L E R S R K L A L N L K G K E	
hVLIG-1 Fr.2	5364	CCAAGAAATCTTGAATCAAAAATCAACAATATGAAATCAGTTCTAGACAGGACGAAAGTTAGCTTAAAAATGAGGGTAAAGGA	5453
		Q E R L N K K K T D Y E K E L L E K S R K L A L T V K G K E	
mVLIG-1 CDS	5655	ATTAAGTGTGAAGATTTCATGAGAAATTCAGCAACTTTGGCAAGTTGATTTATGATGATCTTCCAAATGTTCTCATGTACAGA	5744
		L S D E E L H E K F R Q L W T S W I Y D V S S N V P H V T E	
hVLIG-1 Fr.2	5454	ATTAAGTGTGAAGATTTCATGAGAAATTCAGCAACTTTGGCAAGTTGATTTATGATGATCTTCCAAATGTTCTCATGTACAGA	5543
		L S E E E L H E K F N Q L W K K W V C D V S T T L P Q V T E	
mVLIG-1 CDS	5745	GCCTAACATTGTTGGACTCTGAAAAATCCTCTTGGAAATTTCAAAGGACAAAATATGTTGGAAGACTTAAAAATGAGTCTCA	5834
		P N I D L D S E N I L L E Y F K K D K N I V E R L K I K S Q	
hVLIG-1 Fr.2	5544	GCCTAACATTGTTGGACTCTGAAAAATCCTCTTGGAAATTTCAAAGGACAAAATATGTTGGAAGACTTAAAAATGAGTCTCA	5630
		P D I D L D S E N I L W E Y F K N K T N V V G L L T N S A	
mVLIG-1 CDS	5835	AGGAAAGTTTGAATCATGTATGACAAACATATCAAAATGAAAAGAATA---CCTTTACTTAGAAAGATTGAAACCTGTCTATGT	5921
		G K F E I M Y D K H I Q M K K K Y L L L R K S L E T C H V	
hVLIG-1 Fr.2	5631	AGGAAAGTTTGAATCATGTATGACAAACATATCAAAATGAAAAGAATA---CCTTTACTTAGAAAGATTGAAACCTGTCTATGT	5717
		E K F Q I N Y D K H I K V N K K Y N H I P M T L T V F E K	
mVLIG-1 CDS	5922	TGAATCCTCAAAAGACACCAACACATTCACTTAAATTTTCAGAAAACACTTCAAAACATTTGGAACAAAAGCGTGAATTACA	6011
		E S I K K T T N N I Q L K F T E T L T N I W K Q K R D Y S Q	
hVLIG-1 Fr.2	5718	TGAATCCTCAAAAGACACCAACACATTCACTTAAATTTTCAGAAAACACTTCAAAACATTTGGAACAAAAGCGTGAATTACA	5807
		E F I N M T T D Y I V S R F N K I I N N M W K Q Q C G Y N P	
mVLIG-1 CDS	6012	GAATTACTTTTCATGAATCTTCAAGATCATAGAAATGAGCTGAAATCTGAACCTGTGAGGGAGACTACACATTTACCAAGACTACAT	6101
		N Y F H E I L R I I E N E L K S E P C E G D Y T F T K D Y I	
hVLIG-1 Fr.2	5808	GAATTACTTTTCATGAATCTTCAAGATCATAGAAATGAGCTGAAATCTGAACCTGTGAGGGAGACTACACATTTACCAAGACTACAT	5897
		N Y F H E I L K T I E E V K S A S T Q K R Y T F T N T F I	
mVLIG-1 CDS	6102	CATTGACTTATCCTTGTACTTATTCCAAAGAGCATCCAGGATTTCAAGAAAATGCAACCGGCATTCAGAACTGCAAAATGACCTGTGAA	6191
		I D L S L Y L F Q R A S K D F K K M H A A F K T A N D P V N	
hVLIG-1 Fr.2	5898	CATTGACTTATCCTTGTACTTATTCCAAAGAGCATCCAGGATTTCAAGAAAATGCAACCGGCATTCAGAACTGCAAAATGACCTGTGAA	5987
		I D L C V C L F Q R A R E N F K E M H R A F K R A N D P V N	
mVLIG-1 CDS	6192	CTATCTGAGCAGAAAGAAAGATGATTTCTTATGAGTTTAAAGATCTCCTGCCAAGGTGCACATTCATCACTTCTTTGTGACTCTCT	6281
		Y L E R K K D D F F M S F K I S C Q G A T S I T S F V D F L	
hVLIG-1 Fr.2	5988	CTATCTGAGCAGAAAGAAAGATGATTTCTTATGAGTTTAAAGATCTCCTGCCAAGGTGCACATTCATCACTTCTTTGTGACTCTCT	6077
		Y L E S K K D D F F T S F K I S C Q G A T S I K T F V D V L	

mVLIG-1 CDS	6282	ATGGCTCAAGCTCACTCTCGCTATCTCTGTCTGCTATGGAAAATAATGTTTCAA AAAAT AGCTGGAGACATGGGAGCCACCTGCCCTGA	6371
hVLIG-1 Fr.2	6078	GTGGTATAAGCTCACTCTCGAGTCTCCACTCTATATGGGAGGACATGACCTTTAAAATGGCGGGACATGGGAGCTACCTGCCCTGC	6167
mVLIG-1 CDS	6372	ATTCAATGGAAACAGAGCTAACCTGGAGATACATTTCTCTACTCTCTAGCAGAAGAAGAAAAATTGATAAACTGGAATAACATTC	6461
hVLIG-1 Fr.2	6168	GTTCATGGAAACAGGACTAACCTGGAGAACACTTCTCTCTCTCTGAGCAGAAGAAGAAAACTTGATAATTTCTGGGAATCTGTT	6257
mVLIG-1 CDS	6462	AAAGCCAGAGGAATTTTTAGGGATTTATTTAGGACCCACATTTAAAAGATACTGTTTCAGAAAAAGAGAGTGAAAAAATAAACTTTTT	6551
hVLIG-1 Fr.2	6258	TAATTCAAAATCGTTTTTAGGAGTTACATCAAAAATCATATTAAGAAGATATTGTTTCAGACAAATGGAGGTGAAAAAATGAAGACTTTTT	6347
mVLIG-1 CDS	6552	AAACATAAGCTTAGCTGACATCAAGAATACATCTCTCTCCCATTCATAACTCCACAAGGTAGCTAAAGCTAAAGGCAGCAGCTGCATC	6641
hVLIG-1 Fr.2	6348	TGAAAAAGCTTAAATGATATCAAGAATACATCTCTCTCCCATCCATGAAATCCACATCAGTAGCTAAAGATAAAAGGCAGCAGCTGC	6437
mVLIG-1 CDS	6642	TCACCTGGCTGGATTTCTCTGTGACCACTAGGAGCAACCTGCTCTCCCAAGCAAGAGCTGTAAGCATAAGCACCAGGAGCTAAT	6731
hVLIG-1 Fr.2	6438	TCGCTGGTGGATTTATCTGTGATGCTCGGGTCAACCTGATCTTTCCACGAGGGACTTGAATAGCATTGAACCAGGAGATAAA	6527
mVLIG-1 CDS	6732	GGATACTGAGTCTCTCAAGAAGCCATGAGCAAGCTTTGGATCTGCAATGAGGAAATAGAGAGGATTTTCAAGTAAGCACATAGA	6821
hVLIG-1 Fr.2	6528	ACATACTGAATTTCTTAAAGAAGCCATGAGTGCAGCTTTGGATCTCAAAATGAGAAATAGAACAGAAATATCAAGTAAGCCATAGA	6617
mVLIG-1 CDS	6822	TGAAATTTGTTCTGACATGAGAAAATTTCTCTGAAACATCTCTGTGGCTGTGGAAACAGTGTCTTTTTTGTAAAGCAAATTTGTACAAA	6911
hVLIG-1 Fr.2	6618	AGCAATGGTTTCTAAAATTTGAGAAAATGCTCTCTGAAACATCTCTGTGGCTGTGGAAACAGTGTCTCCAGCTGTGGAGCAAATTTGTACAAA	6707
mVLIG-1 CDS	6912	CACCATTCCTCCAGCATGAAGGAGACCAAGTGTCCATTTCCACCCTCCAGGCTGTGAGTGGTGGCATTTGGCATAAAAACAGACCAGTT	7001
hVLIG-1 Fr.2	6708	CACAATTCCTTACATGAAGGAGACCATAGTGTCTCCATTTCCACCCTCCAGGCTGTCAATGGGAGGAAATGGTATGAAACAGATGATTT	6797
mVLIG-1 CDS	7002	CCACATTAATGTTTGTACTAGTGTAGTACAGTAATATTTCTTTCATTTTGTAGTGGCTTCGGGAATTTCCCATTCAAGAAATATCGAG	7090
hVLIG-1 Fr.2	6798	TGTCATTGATGCTGACTAGTTGTTGTCAGATGATGTTTCTGTTTGGTTTTT-GAGGGAATGCAGGAATTTCCCATTTAAGAACTATTCGAC	6886
mVLIG-1 CDS	7091	AAGCAGGAGTGTATATGCCACATGGAGCATCCCCAGACTCATCTATCCAGCCATAATGGAAATGGTTGTCTGTCACTTTCAGATCAA	7180
hVLIG-1 Fr.2	6887	AAGCAGGAGGCGATATGCCATGGAGCATCCCCAGACTCATCTATCCAGCTATAATGGAAATGGTTGTCTGTCACTTTCAGATCAA	6976
mVLIG-1 CDS	7181	ACCTAGAAGCAATATGCAAAAATTTACAGGCAAGGATGCTCTCCAGATTTATGGCAAAAATCACAAAGCAAGTCTCTGAAATG	7270
hVLIG-1 Fr.2	6977	ATCTAGAAGCAATATGCAAAAATTTGACGTAAGGTAATAATCCCAATCATGGCCAAAATCACAAAGCAAGTGTCTGAAATG	7066
mVLIG-1 CDS	7271	ACTTAAAAAAA 7281	
hVLIG-1 Fr.2	7067	ACTTAAAAAACAG 7080	

Vergleich der Nukleotidsequenz der mVLIG-1 CDS mit der von Celera vorhergesagten hVLIG CDS:

mVLIG-1	1	ATGGCAACAGCAAAGTGTTCCTACTGATGAGCCTCAGCTACAAGCAGAAGGAGCACAATCTCCAGGAGATGCTGACAGAAGTGGGACTGCTCTGTTGACT	100
hVLIG Celera	1	-----	1
mVLIG-1	101	ACTGGTTACCTAAGCTTCAGGAAGATCTGGGTGTACCTCGGCCAGGCTTACAATATTTAGACAGGAATGACCTCCAGAAGCTGAAGTCCCAGACAAC	200
hVLIG Celera	1	-----	1
mVLIG-1	201	ACACACATGGGAAAAAGGGCGCTGGAGAAGTTACTGGACTTCTCACAGCCAAACAGTGTTCAGAGCTACAGGAGACTCCAAGGGAGATGAAAAAGAAC	300
hVLIG Celera	1	-----	1
mVLIG-1	301	AGGCAGAGGCAGGAGGACAGCACTGCAGGCTCTGAAAGCCTTGCAGTCAAGAGGGAAGCACAGAGAGGAAGAGGAGTGGAGAAAAAGAGCAGAGC	400
hVLIG Celera	1	-----	1
mVLIG-1	401	TGAGACAAGCAATGGAATCCCTGAGTCTGTGGCCATCGCTGAAGTCTCCCTAAAAGACATCACTGAAATAATGGAGAGACATCTCAGTCCATGGA	500
hVLIG Celera	1	-----ATGGACATCCCTGAGTCTGTGGCCATCGCTGAAGTCTCCCTAAAAGACATCACTGAAATAATGGAGAGACATCTCAGTCCATGGA 89	
mVLIG-1	501	ACGGAGCTGECTCACAGTCAAAACCTCTCAGATGAGACCTGGTATGATGGGATCTGGAGGGCTGGCTCTCCAGGAAATTTAAAGACCAACCCAC	600
hVLIG Celera	90	GTGGACATGTCGCACAGTCAAAACCTCTCAGATGAGACCTGGTATGATGGGATCTGGAGGGCTGGCTCTCCAGGAAATTTAAAGACCCACCCAC 189	
mVLIG-1	601	AGAAAGCTGATTCAGAAGAGAGAGAGCACTCAGTGTCCCTAAGCAGTTCTCACTTGTGGCCAGAACATGCCACCCGAAATAAAAACAATGGAAATTT	700
hVLIG Celera	190	AGGGCCCTGACAGAGAAGAGAGAGAGTCTCAGTGTCCCTAAGCAGTTCTCACTTGTGGCCAGAACATGCCACCCGAAATAAAAACAATGGAAATTT 289	
mVLIG-1	701	CATCTTTTCACTAACCAATCATGTTTACAGAGATATATAGATGATGGGTTTCACTTCAACTCTCTGTTTAAAGCCGAGAGGATGGGGATTTAGTCTAGA	800
hVLIG Celera	290	CATCTCTCAGCTGAAATCATGTTTACAGAGATATATAGATGATGGGTTTCACTTCAACTCTCTGTTTAAAGCCGAGAGGATGGGGATTTAGTCTAGA 389	
mVLIG-1	801	AGCTGGTATGATCAAAACCAAGACAGCATCTGAGATACACCAATCCATTCAGACCAACTTATTTTGTCTCAACCAAGTTTCAGATACATCCCA	900
hVLIG Celera	390	AGCTGGTATGATCAAAACCAAGACAGCATCTGAGATACACCAATCCATTCAGACCAACTTATTTTGTCTCAACCAAGTTTCAGATACATCCCA 489	
mVLIG-1	901	TTGGCCATCTGCCATTTTCCATTAATGATTTGAACTCTCCAACTCTGCTCTCCAGGAACTAAAACCTATTGAAGAACTCTGAGCAGACACAACACC	1000
hVLIG Celera	490	CTGGCCATCTGCCATTTTCCATTAATGATTTGAACTCTCCAACTCTGCTCTCCAGGAACTAAAACCTATTGAAGAACTCTGAGCAGACACAACACC 589	
mVLIG-1	1001	ACCGAGATGCACTTCCTTACTAGGCACAGGCTGAAAACCTTTTCCATAGTTTGGCTCTCATCTAACCAAGGCCCTCTGCACTGGCTGGAATCTTA	1100
hVLIG Celera	590	C---AGACAGCTCTCTCTGCTGAGGCACAGGATCATAAACTTTTCCATAGTTTGGCTCTCATCTAACCAAGGCCCTCTGCACTGGCTGGAATCTTA 686	
mVLIG-1	1101	CTCTGAAAAGCCATTTCAGAAAGTTTCAAAATGAGCACCTTGGCTGAGATTAAGCAGCAAAACAGAGCTCTTGAATATTACATTAATGGGAGATTA	1200
hVLIG Celera	687	CTCTGAAAAGCCATTTCAGAAAGTTTCAAAATGAGCACCTTGGCTGAGATTAAGCAGCAAAACAGAGCTCTTGAATATTACATTAATGGGAGATTA 786	
mVLIG-1	1201	AGTGGCTTTGGAGTAAAGTCTGTCAGATGTTAATATGCAAACTCAATATTGAAACAGCACTATTGATGAACTCATCTCACTCTCAAACCAAGG	1300
hVLIG Celera	787	AGTGGCTTTGGAGTAAAGTCTGTCAGATGTTAATATGCAAACTCAATATTGAAACAGCACTATTGATGAACTCATCTCACTCTCAAACCAAGG 886	

mVLIG-1	1301	TAACAATATCTCTTGGCCAGATGGCTGGCCAGACAGACAGATGCAATTCCTCCAGTGGACAGTGGCCCTTGTTCTTACCAATCAAACCTGCTCTGTCAAT	1400
hVLIG Celera	887	TCCAATATATCTCTTGGCCAGATGGCTGGCCAGACAGACAGATGCAATTCCTCCAGTGGACAGTGGCCCTCATGGCCAGCAATCAAACCTG-----	977
mVLIG-1	1401	TGATAGGGAACGACAGTGGTACCTATTGGGACATCATCTGTCTAGCCACAGAACTGATTTTAAGAATGCTCTCAAGTGGTAACTGCCTAAAAAGAC	1500
hVLIG Celera	977	-----	977
mVLIG-1	1501	AACTACTGCTCTGACTGAACTAGATGCCAGATTCAAGAGGGGGAAGAATTTCTGACTGCTAGAAAAGAGCTAAGCTTTTCATAGAGGATGTGAAAT	1600
hVLIG Celera	977	-----	977
mVLIG-1	1601	GCTGGGAGGTTTCTGATCCTGAAGAACAACCTTACAAAGTTATTAGATTTTATGCAAAACATTGAGTCAAAAAATAAAAAGTTATAACATTGGATTAATAC	1700
hVLIG Celera	977	-----	977
mVLIG-1	1701	ATGTCTCACTGATTGGGATCTGCAGAAATTTCTAATAAATACTGTAAAGTTCTGCAAAACTTCACCCACTTATAAAAACCTAGTTTATAAATCTCAGTTG	1800
hVLIG Celera	977	-----	977
mVLIG-1	1801	TGCATCTTCTTGAACCTCACTCTACANACTTACAACTTCTCTTAGGCACACTCATCATACAGTGGATCAATCAGTCAGACTATGCGCAAGAGCAAG	1900
hVLIG Celera	977	-----CCTTCTTGAACCTCACTCTACANACTTACAACTTCTCTTAGGCACACTCATCATACAGTGGATCAATCAGTCAGACTATGCGCAAGAGCAAG	1072
mVLIG-1	1901	TCAAAATCACTCATTTTCTCAATTCAATTAGACTTAAAAGAAACCCAAATACTCTATGGAAGTCAATTCAAAATAGAGCCCCAGAAACAGTGGAA	2000
hVLIG Celera	1172	TGAAATTTCCCAATTTTCTCAATTCAATTAGACTTAAAAGAAACCCAAATACTCTATGGAAGTCAATTCAAAATAGAGCCCCAGAAACAGTGGAA	1172
mVLIG-1	2001	AGAAGCAGAAAGAACCTTACATATGAGGTCAACACAGCTCTCAGCTCTTCTTGAAGTACTCTCAAASAAACAGACAGCAGACATGCAGCTGCTGCTG	2100
hVLIG Celera	1173	GAAGCTCAAGAAAGCTTACATATGAGGTCAACAGCTCTCAGCTCTTCTTGAAGTACTCTCAAASAAACAGACAGCAGACATGCAGCTGCTGCTG	1272
mVLIG-1	2101	CTTTCATTGCAGCTGCTGCAGGCTATCAGTTGTTAAACATAATTTTTCAGCACTCTGCGGTGTGATGAGTTAACTTCTCTTGGATCAATATGCAAA	2200
hVLIG Celera	1273	CTTTCATTGCAGCTGCTGCAGGCTATCAGTTGTTAAACATAATTTTTCAGCACTCTGCGGTGTGATGAGTTAACTTCTCTTGGATCAATATGCAAA	1372
mVLIG-1	2201	GTAAACAACAATAACCAAGAGCTTAAATAATTTGCAACTACAGAGCCAGGCATTCCTGGTCTCACAGCTCTTAAACACCAGCTTGAATCACACA	2300
hVLIG Celera	1373	CCGCACCAATAATAACCAAGAGCTTAAATAATTTGCAACTACAGAGCCAGGCATTCCTGGTCTCACAGCTCTTAAACACCAGCTTGAATCACACA	1472
mVLIG-1	2301	TATTTCTCAGAGAGAAAAACAACGTTTGCATTAATTAACACAHATGGGACACTCTTGTCTCAAGAAGTTGCACATGTTCTCACAAACATGGAA	2400
hVLIG Celera	1473	TATTTCTCAGAGAGAAAAACAACGTTTGCATTAATTAACACAHATGGGACACTCTTGTCTCAAGAAGTTGCACATGTTCTCACAAACATGGAA	1572
mVLIG-1	2401	GAACATCATGACTGGGAAGTCTCGAGAAATGATTTGAGACTTCTCATTAGGGGACTATTAAG---CCACCAACCATTTCTCAAAATGGATGAGTAA	2497
hVLIG Celera	1573	GCAGATCAGGATGGGAAGACTGAGAGAAAGCTTCTCATTAGGGGACTATTAAG---CCACCAACCATTTCTCAAAATGGATGAGTAA	1672
mVLIG-1	2498	AAACCAATTCGAAAGTCTCTCTCATGGAAAGAAACAGCTCTAATCAACAAAGAAATGAAAACATCAACAAAGAAATGATAAAATGGACCTTCTCT	2597
hVLIG Celera	1673	GCAA-----CGAAAGTCTCTCTCATGGAAAGAAACAGCTCTAATCAACAAAGAAATGAAAACATCAACAAAGAAATGATAAAATGGACCTTCTCT	1766
mVLIG-1	2598	GAAATTAATCCACCTTAGCTAGCTAGACATTAATAACAAAGAAAGTGCACAGCTCACTCCATCTATCTATAAGACCTCTGTGTCAATTAACAG	2697
hVLIG Celera	1767	AGACTTAATCCACCTTAGCTAGCTAGACATTAATAACAAAGAAAGTGCACAGCTCACTCCATCTATCTATAAGACCTCTGTGTCAATTAACAG	1866
mVLIG-1	2698	CCAGCTCTGAAAGGAGCTTCCATTTCTATTCTCTACAAAACCTACTGATGTTGATTATGGGTTGAGACATCTGATAGCTCAAAGATGATGAAAACATA	2797
hVLIG Celera	1867	CCAGCTCTGAAAGGAGCTTCCATTTCTATTCTCTACAAAACCTACTGATGTTGATTATGGGTTGAGACATCTGATAGCTCAAAGATGATGAAAACATA	1966
mVLIG-1	2798	AAACCAATTCGAAAGTCTCTCTCATGGAAAGAAACAGCTCTAATCAACAAAGAAATGAAAACATCAACAAAGAAATGATAAAATGGACCTTCTCT	2897
hVLIG Celera	1967	AAACCAATTCGAAAGTCTCTCTCATGGAAAGAAACAGCTCTAATCAACAAAGAAATGAAAACATCAACAAAGAAATGATAAAATGGACCTTCTCT	2066
mVLIG-1	2898	CAGTGAAGCTTGCACCCACATTCAACCAATGGATATCCAGATGACATTTTACACTGTGCAGATGATCTTCCAGCAATATATTTTCTCAAACTTTCC	2997
hVLIG Celera	2067	CAGTGAAGCTTGCACCCACATTCAACCAATGGATATCCAGATGACATTTTACACTGTGCAGATGATCTTCCAGCAATATATTTTCTCAAACTTTCC	2166
mVLIG-1	2998	ATTTGTCATTTGCACTCCCTCTTGGTACCAAAATCCCAACTTCTCAGATGAAATTTTACTTGGTCTCTCAGACAAATTAGGAAAGTTGGCAAG	3097
hVLIG Celera	2167	ATTTGTCATTTGCACTCCCTCTTGGTACCAAAATCCCAACTTCTCAGATGAAATTTTACTTGGTCTCTCAGACAAATTAGGAAAGTTGGCAAG	2266
mVLIG-1	3098	ATGCAAGTAAATCCAGACAGACAGACAGTACAGTCAACAAATCCAGACAGATGCTGCTCTCTACCCTATTGCTCTCTCTATAGAGTTGGAATGAA	3197
hVLIG Celera	2267	ATGCAAGTAAATCCAGACAGACAGACAGTACAGTCAACAAATCCAGACAGATGCTGCTCTCTACCCTATTGCTCTCTCTATAGAGTTGGAATGAA	2363
mVLIG-1	3198	CCTCTCTCTTCAAAATCTCAGATCATGAATCTCTTCTCAGTAAACGAAACATGACGTGTTTTTTCACAGACACTGCAAGGAAGCAACAAACTG	3297
hVLIG Celera	2364	CCTCTCTCTTCAAAATCTCAGATCATGAATCTCTTCTCAGTAAACGAAACATGACGTGTTTTTTCACAGACACTGCAAGGAAGCAACAAACTG	2463
mVLIG-1	3298	CTCTGATGCAAGGATGGTGAATCTCTGCT	3397
hVLIG Celera	2464	CTCTGATGCAAGGATGGTGAATCTCTGCT	2563
mVLIG-1	3398	ATGCAAAAGAACACACCCCAACTCAGCTTCTCAACAGATGCT	3497
hVLIG Celera	2564	ATGCAAAAGAACACACCCCAACTCAGCTTCTCAACAGATGCT	2663
mVLIG-1	3498	GAATTTGTCAGACACTCTGGCAGTCAATCAACCTTTGATCT	3597
hVLIG Celera	2664	GAATTTGTCAGACACTCTGGCAGTCAATCAACCTTTGATCT	2763
mVLIG-1	3598	GGATCAAGAAATGAAATCAGGACAGAAATTAACAGAGGACTCAGACACTTCAATCAACAAATTTTCTAGACTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT	3697
hVLIG Celera	2764	GGATCAAGAAATGAAATCAGGACAGAAATTAACAGAGGACTCAGACACTTCAATCAACAAATTTTCTAGACTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT	2863
mVLIG-1	3698	GTTCACAGACAGCTAGAGGCTAGGATTCAATATTGATGAAGACAGAGAGACTGCAAGGAAGCCAAAGAAAAGGCCACACTCTAATAGGCCCTCTCTGA	3797
hVLIG Celera	2864	GTTCACAGACAGCTAGAGGCTAGGATTCAATATTGATGAAGACAGAGAGACTGCAAGGAAGCCAAAGAAAAGGCCACACTCTAATAGGCCCTCTCTGA	2963
mVLIG-1	3798	GAATATCAAGTATCTCAGACAAAGAAAGAAATTTACTACCCCTTCAAGCAACTTTGGCACCTTTGGTGTAGAAAGACAAAGAAATCTATCATCTT	3897
hVLIG Celera	2964	GAATATCAAGTATCTCAGACAAAGAAAGAAATTTACTACCCCTTCAAGCAACTTTGGCACCTTTGGTGTAGAAAGACAAAGAAATCTATCATCTT	3063
mVLIG-1	3898	GAAAGGGCAATCCAGCATCGAACACACACAGAGTGCAGATTGACACATAAAGCAAAATTTGACCTTCAACAGTTGCAAAAGCCCTTCTCTCAATG	3997
hVLIG Celera	3064	GAAAGGGCAATCCAGCATCGAACACACACAGAGTGCAGATTGACACATAAAGCAAAATTTGACCTTCAACAGTTGCAAAAGCCCTTCTCTCAATG	3163
mVLIG-1	3998	ATTTAATGCGCTCTGTTCTCGAACTCTCCAAAGCTTATTCAGAAAACATTAACAAACTCTACGTTTGGCAGTGGCTCACTCTGTTTTTTCACAACTGAC	4097
hVLIG Celera	3164	ATTTAATGCGCTCTGTTCTCGAACTCTCCAAAGCTTATTCAGAAAACATTAACAAACTCTACGTTTGGCAGTGGCTCACTCTGTTTTTTCACAACTGAC	3263
mVLIG-1	4098	AATGATCAGCTGGAACAATTCATGAAAGCAACATTTTGTGTTTACGAAACCAACAGAAAGCAACAGCAAGAGCACTTCTCTCTCTCTCTCTCTCT	4189
hVLIG Celera	3264	TGCAGSACACTGGAACAATTCATGAAAGCAACATTTTGTGTTTACGAAACCAACAGAAAGCAACAGCAAGAGCACTTCTCTCTCTCTCTCTCTCT	3363
mVLIG-1	4189	TGCAGSACACTGATAGAAGCCATCTCCACAGAGATTCACACTGTACTTTAGGAATTTAGCAACTTCTCTGAGAAGTGGCCAGATCATGAAGCTCTGG	4288
hVLIG Celera	3364	TGCAGSACACTGATAGAAGCCATCTCCACAGAGATTCACACTGTACTTTAGGAATTTAGCAACTTCTCTGAGAAGTGGCCAGATCATGAAGCTCTGG	3463
mVLIG-1	4289	AAGAACTTCT	4388
hVLIG Celera	3464	AAGAACTTCT	3560
mVLIG-1	4389	TGCTTCAATGCTCTCTTAAAGTGGTACAGCTTTTGTGCAAGTGTGAGAAAATTTGGAGACAAAAGCTTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT	4488
hVLIG Celera	3561	TGCTTCAATGCTCTCTTAAAGTGGTACAGCTTTTGTGCAAGTGTGAGAAAATTTGGAGACAAAAGCTTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT	3660
mVLIG-1	4489	CAGAGCTCAGGAAATCTACCTTACTGAATGCCCTTTTGGCTCACTAGTTCACAGTCACTGAGGCAAGCTTACCAAGGGGCTCACTCAGCTCTCT	4588
hVLIG Celera	3661	CAGAGCTCAGGAAATCTACCTTACTGAATGCCCTTTTGGCTCACTAGTTCACAGTCACTGAGGCAAGCTTACCAAGGGGCTCACTCAGCTCTCT	3760
mVLIG-1	4589	AGGTGAGCAGACATTCACAGAAACTTGGCTTTTAAATTTCT	4688
hVLIG Celera	3761	AGGTGAGCAGACATTCACAGAAACTTGGCTTTTAAATTTCT	3860
mVLIG-1	4689	TTGGGACATGAGTTGGCAACATTTTCTATTGGCTTGTGAAACTTACTCTGATCAATATTTTGGGGAGAATCCCTCAGACATTCAGGACATCTCACAA	4788
hVLIG Celera	3861	TTGGGACATGAGTTGGCAACATTTTCTATTGGCTTGTGAAACTTACTCTGATCAATATTTTGGGGAGAATCCCTCAGACATTCAGGACATCTCACAA	3960
mVLIG-1	4789	ATATCTGTTCAAGCTTTCTGAGAATGAAACAAAGTAAATCTCTCCCAAGTTGCTCTTGTCCATCAGAAATGGGAGAAAGTTACAGCAAGACCAAA	4888
hVLIG Celera	3961	ATATCTGTTCAAGCTTTCTGAGAATGAAACAAAGTAAATCTCTCCCAAGTTGCTCTTGTCCATCAGAAATGGGAGAAAGTTACAGCAAGACCAAA	4005

mVLIG-1	4889	CTATGGAGGGACGCAAGCGA-CTGAGCAGAACTGATGAATGCTGCAATGCTGCTGATTTGAAAGTGTTCCTACATACCCGCTTCAGTGAT	4986
hVLIG Celera	4006	CTATGGAGGGACGCAAGCGA-CTGAGCAGAACTGATGAATGCTGCAATGCTGCTGATTTGAAAGTGTTCCTACATACCCGCTTCAGTGAT	4104
mVLIG-1	4987	GTATTAAAGTTTGTATGCAATTCGACATGCTACTACTTTGCTCACTTGGGATGGCAATCCCCAATGGCTCCCAATCCTCGCTAGCCACAATG	5086
hVLIG Celera	4105	GTATTAAAGTTTGTATGCAATTCGACATGCTACTACTTTGCTCACTTGGGATGGCAATCCCCAATGGCTCCCAATCCTCGCTAGCCACAATG	4204
mVLIG-1	5087	TCAGCAACTTACGATTAAGAAATTTCTACTGCCCAGCAGGAATCAGGGGAAAGGATCTGAATAATACAGATTTCAAAATTCAGATTCAAGATTGTCG	5186
hVLIG Celera	4205	TCAGCAACTTACGATTAAGAAATTTCTACTGCCCAGCAGGAATCAGGGGAAAGGATCTGAATAATACAGATTTCAAAATTCAGATTCAAGATTGTCG	4304
mVLIG-1	5187	GAGAGCCCTGTGATGAAACTTTCATTTTCAGTTTCAGGAACACCCCAAGAGTGCATACCCATGACCAACTTGAAACATGATATAATGATGGACCTGG	5286
hVLIG Celera	4305	GAGAGCCCTGTGATGAAACTTTCATTTTCAGTTTCAGGAACACCCCAAGAGTGCATACCCATGACCAACTTGAAACATGATATAATGATGGACCTGG	4404
mVLIG-1	5287	GAGCTTAGGAGTCACTACTGGCTTACAGAAACAGCTTGCATCAGATTCAAAATGGAAAAATCCTGACACTCACATCTATTTCATGAGGAAACCAAC	5386
hVLIG Celera	4405	GAGCTTAGGAGTCACTACTGGCTTACAGAAACAGCTTGCATCAGATTCAAAATGGAAAAATCCTGACACTCACATCTATTTCATGAGGAAACCAAC	4504
mVLIG-1	5387	TTACAGCAAACTTAAACCAATCAAGAAAGATTTGCAAAATATTTTCAGGAAGACCCAGATTTGAAATAATTCCTTCACTGCAAGACAAAATTTGAAAC	5486
hVLIG Celera	4505	TTACAGCAAACTTAAACCAATCAAGAAAGATTTGCAAAATATTTTCAGGAAGACCCAGATTTGAAATAATTCCTTCACTGCAAGACAAAATTTGAAAC	4604
mVLIG-1	5487	CAAGTTTAAATCTCTTAAAGATTCCTTATTTCCAGACAACAAGACAAATCAATGAAGATATGAGTCTTAAAAA---TAGCCAAAGAAAATCTTCATAAC	5583
hVLIG Celera	4605	CAAGTTTAAATCTCTTAAAGATTCCTTATTTCCAGACAACAAGACAAATCAATGAAGATATGAGTCTTAAAAA---TAGCCAAAGAAAATCTTCATAAC	4704
mVLIG-1	5584	AAAAGTCAATATATGAAAAATCAATTTTGTAGACAGCAGCAAAAGTGTAGCTTTAAATTTGAAAGGTAAGCAATTAAGTGAAGAGTTTCATGAGAAAT	5683
hVLIG Celera	4705	AAAAGTCAATATATGAAAAATCAATTTTGTAGACAGCAGCAAAAGTGTAGCTTTAAATTTGAAAGGTAAGCAATTAAGTGAAGAGTTTCATGAGAAAT	4804
mVLIG-1	5684	TCAGCAACTTTGGAACAATTTGGATTTATGATGATCTCTCAATTTCTGCTCAGTGCACAGAGCCTTACATTGATTGGAATCTGAAAATATCCTTCTGGA	5783
hVLIG Celera	4805	TCAGCAACTTTGGAACAATTTGGATTTATGATGATCTCTCAATTTCTGCTCAGTGCACAGAGCCTTACATTGATTGGAATCTGAAAATATCCTTCTGGA	4904
mVLIG-1	5784	ATATTTCAAAAGCAAAATATTTGCGAAAGCTAAATAATATACTCTCAAGCAAGTTTAAATCAATGATGCAAAACATATTAATGAAAGAGAAA	5883
hVLIG Celera	4905	ATATTTCAAAAGCAAAATATTTGCGAAAGCTAAATAATATACTCTCAAGCAAGTTTAAATCAATGATGCAAAACATATTAATGAAAGAGAAA	5001
mVLIG-1	5884	TA---CCTTTTACCTTAGAAAAGTTTAGAACCTGTCATGTTGAAATCCATTAANAAGCAACCAACACATTTCAGTTAAATTTTACAGAAAATCTTCAAA	5980
hVLIG Celera	5002	TA---CCTTTTACCTTAGAAAAGTTTAGAACCTGTCATGTTGAAATCCATTAANAAGCAACCAACACATTTCAGTTAAATTTTACAGAAAATCTTCAAA	5098
mVLIG-1	5981	ACATTTGAAACAAGGCTGATTTACACACAGAAATTAATTCATGAAATCTTGGAGTATGAGAAATGAGCTGAAATCTGAAACCTGTCAGGAGACTA	6080
hVLIG Celera	5099	ACATTTGAAACAAGGCTGATTTACACACAGAAATTAATTCATGAAATCTTGGAGTATGAGAAATGAGCTGAAATCTGAAACCTGTCAGGAGACTA	5198
mVLIG-1	6081	CACATTTCACAAAGACTACATCAATGACTTATCCTGTCCTTATTCAAAGAGCAATCCAGCAATTTCAAGCAAAATGCAAGCGGCATTCAAGACGCAAAAT	6180
hVLIG Celera	5199	CACATTTCACAAAGACTACATCAATGACTTATCCTGTCCTTATTCAAAGAGCAATCCAGCAATTTCAAGCAAAATGCAAGCGGCATTCAAGACGCAAAAT	5298
mVLIG-1	6181	GACCTGTAACACTTCTGACAGCAAGAAAGATGATTTCCTTAAGCTTTTAAAGATCTCCTGCAAGGTCGACTTCATCACTTCTCTTTGTTGACTTCTC	6280
hVLIG Celera	5299	GACCTGTAACACTTCTGACAGCAAGAAAGATGATTTCCTTAAGCTTTTAAAGATCTCCTGCAAGGTCGACTTCATCACTTCTCTTTGTTGACTTCTC	5398
mVLIG-1	6281	TATGGCTCAAGCTCACTCCTGCTATCTCTGTCACATATGGAATAAATATGTTTCAAAAATAGTGGAGACATGCGAGCCACCTGCCTGAAATCAATGG	6380
hVLIG Celera	5399	TATGGCTCAAGCTCACTCCTGCTATCTCTGTCACATATGGAATAAATATGTTTCAAAAATAGTGGAGACATGCGAGCCACCTGCCTGAAATCAATGG	5498
mVLIG-1	6381	AAACAGACTTAACCTGGAGAATACATTTCTCTACTCTGACAGAAAGAAAAATTTGATAAATACTGGAAATACATCAAAAACCAAGAAATTTTTC	6480
hVLIG Celera	5499	AAACAGACTTAACCTGGAGAATACATTTCTCTACTCTGACAGAAAGAAAAATTTGATAAATACTGGAAATACATCAAAAACCAAGAAATTTTTC	5598
mVLIG-1	6481	AGGCAATATATTAAGCAACAATTAAAGATACTGTTGAGAAAAAGAGTGAATAAATAAACTTTTAAACAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAG	6580
hVLIG Celera	5599	AGGCAATATATTAAGCAACAATTAAAGATACTGTTGAGAAAAAGAGTGAATAAATAAACTTTTAAACAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAG	5698
mVLIG-1	6581	CTATCCTTCTGCCATTCATTAACCCACAAAGCTAGCTAAAGTAAAGTCAAGCAGCAGCTCTCTCTGCTGGATTTCCTCTGTGACCACTAGGGAACAA	6680
hVLIG Celera	5699	CTATCCTTCTGCCATTCATTAACCCACAAAGCTAGCTAAAGTAAAGTCAAGCAGCAGCTCTCTCTGCTGGATTTCCTCTGTGACCACTAGGGAACAA	5798
mVLIG-1	6681	CTGCTCTTCCACAGCAAGACTGCTAAGCATTGACACCCAGGAGATTAAGCATACTGATGATTTCTTAAAGAGCCATGACCAAGGTTTGGATCTCTCA	6780
hVLIG Celera	5799	CTGCTCTTCCACAGCAAGACTGCTAAGCATTGACACCCAGGAGATTAAGCATACTGATGATTTCTTAAAGAGCCATGACCAAGGTTTGGATCTCTCA	5898
mVLIG-1	6781	ATGAGCAAAATAGAAAGCAATTTTCAAGTAAAGCTTATGAGAAATGAGTGTTCCTGACATTGAGAAAAATCTCTGAAACATCTCTGCTGGCTGTGGAAAC	6880
hVLIG Celera	5899	ATGAGCAAAATAGAAAGCAATTTTCAAGTAAAGCTTATGAGAAATGAGTGTTCCTGACATTGAGAAAAATCTCTGAAACATCTCTGCTGGCTGTGGAAAC	5998
mVLIG-1	6881	AGTGTCCCTTTTGTAGCAATTTGTCAAAACACATTCCTCCAGCATGAGGAGACCAAGTGTGCAATTCACCCCTCTCAGGCTGTCAATGGTTGCA	6980
hVLIG Celera	5999	AGTGTCCCTTTTGTAGCAATTTGTCAAAACACATTCCTCCAGCATGAGGAGACCAAGTGTGCAATTCACCCCTCTCAGGCTGTCAATGGTTGCA	6098
mVLIG-1	6981	TTGGCATTAACAGACAACAATTCACATTAATTTTGTACTAGTGTGTTGCAAGTAAATTTCTCTCAATTTTAAAGCTTCCCGGAATTCACATTCAA	7079
hVLIG Celera	6099	TTGGCATTAACAGACAACAATTCACATTAATTTTGTACTAGTGTGTTGCAAGTAAATTTCTCTCAATTTTAAAGCTTCCCGGAATTCACATTCAA	6197
mVLIG-1	7080	GAAATATCGAAGCAGGAGTGAATATGCCACATGGAGCATCACCCAGACTGATCTACCCAGCATAATGGAAATGTTTGTCTCTCATTTGAGATCA	7179
hVLIG Celera	6198	GAAATATCGAAGCAGGAGTGAATATGCCACATGGAGCATCACCCAGACTGATCTACCCAGCATAATGGAAATGTTTGTCTCTCATTTGAGATCA	6297
mVLIG-1	7180	AACTAGAAAGCAATTAATGCAAAAAATTTCCAGCAAACTTACTCTCCAGATTTATGACCAAAATCACAAGCAAGAAGTCTGAATGACTTAAAAA	7279
hVLIG Celera	6298	AACTAGAAAGCAATTAATGCAAAAAATTTCCAGCAAACTTACTCTCCAGATTTATGACCAAAATCACAAGCAAGAAGTCTGAATGACTTAAAAA	6345
mVLIG-1	7280	AA 7281	
hVLIG Celera	6345	6345	

Vergleich der Aminosäuresequenz von mVLIG-1 mit der des von Celera vorhergesagten hVLIG Proteins:

mVLIG-1	1	MATAKCFTEDEPQLQSRKHNQLQEMLEVLGSLVDYWLPLKQEDLGVTSQAQLQYLDNRDLQKLSQTTHTWEKRALEKLLDFQSPNSVAELQETPREMKKN	100
hVLIG Celera	1	-----	1
mVLIG-1	101	RQRQAGALQALKALQSEGHKREEEAARRKEALRQAMEIPEEHWPTAEVSLKDIETEMERHLSHMERLASHSNLSDCLVVRWASGGLALQGIYKINHP	200
hVLIG Celera	1	-----MFIPEEHWPSPEPLREVMEVNLROLNLKMWLCHRONLPDRVVRWASGGLALQGIYKASHQ	63
mVLIG-1	201	RSLIKREELLSVPKQFSLVCFEHTGTEIKTMEFSSPHEQMFHTETIKMCFSSLSLVKCEGWGFSLEAGLDQNEQTASENTHQSSESEQTYFCSARFSYIF	300
hVLIG Celera	64	RSLIKREELLSVPKQFLLGPOCGTQMKTKETPSQAEMFTQWVEKIGRILTSAKDQWGFSLSEAGLDHSHKHPSEKFTQSSSESNYSYCSKFSYIF	163
mVLIG-1	301	LACHPHFINDLELSNAALQELKTEELLEQOTDHRDGLHLRHRANFFHFRGSHANQGPLDLGGIYCKWAISEGFKSEBLADVQQTRESINLYMGSY	400
hVLIG Celera	164	LACHPHFIDQLQSKPAVQELKQIEELLEQOTTNDRFSLRHRINFFHFRGSHVNOGPLHLGGIYVWKAISEGYCTECLAEVWQGSABALDIFIRDSY	262
mVLIG-1	401	SGFGVKVAVSNVIANSNSETAFTSFTLHLSQTKVOLVAQFCGPEADGLAOWHAGLVSNQTSVSDIRELQVLPWDIILSSHRTDFKNALQVANCLDK	500
hVLIG Celera	263	SGFGVKVAVSNVSDSHSETAFTQIKTSQNLQTKVOLVAQFCGPEADGLVQWVAGLISNOT-----	325
mVLIG-1	501	NYTALTELDQIQEGEFLTARKEAKLFIEDVCKWEVSDPEQLTKLLDFMQTLSQKIKSYNIWINTCLTDWLDQNLINTVKFKCTSPYKTFQIKSQL	600
hVLIG Celera	325	-----	325
mVLIG-1	601	CILLDPHYKVTNFPBAHSILLOWINQSEYGEQKITSFSEFKIKLKKIKHYKLMVNFVFNBAPEVVEEAERTATYEVTTIALSSFLKYLKETEQDMDOLL	700
hVLIG Celera	325	-CLLDPHYKVTNFPQAHFIWQIFQSDSEQEQVNSQESQLIEILKFTQNNLMEVKNVSESPETVEEAQRKSTYEVSLALSCFINLVKQTEQDMDOLL	424
mVLIG-1	701	LSIAAAGYQLVNSIFQHLGCDELNFLLDQMSNCHKYQELKNIQNYRAQFLVLTGATRTVPELIDISTEEKFORLALIKOHMGLLSEVAHVLTKEK	800
hVLIG Celera	425	LSIAAAGYHVINNTFQSLGCDELNFLLDQMSQNKYQELKNIQNYRAQFLVLTGATRTVPELIDISTEEKFORMSLRHMCQSLSEVAHVLTKEK	524

mVLIG-1 CDS	5088	ACAGCAACTTAAACCACTTAAATTCCTTCAACTGCCAGCAGGAATCTAGGGAAAGATCTTGAAATATCAGATTTCAAAATCCGAGTTCAGAGTTTGTGG	5187
hVLIG putative	4926	ACAGCAACTTAAACCACTTAAATTCCTTCAACTGCCAGCAGGAATCTAGGGAAACATCTTGAAATATCAGATTTCAAAATCCGAGTTCAGAGTTTGTGG	5025
mVLIG-1 CDS	5188	AAAGCCTTGTGCACTGAAACTTATTTCAGTTTCAGGAACACCAAGAGATCATGGCCATGACAAACTGGAAACAAAGTATAATCAATGGACCTGGG	5287
hVLIG putative	5026	AAAGCCTTGTGCACTGAAACTTATTTCAGTTTCAGGAACACCAAGAGATCATGGCCATGACAAACTGGAAACAAAGTATAATCAATGGACCTGGG	5125
mVLIG-1 CDS	5288	AGCTTAGGAGTCACTGACTGCACTTCAGAAACAGCTTGACAAACAGATTTCAGGAATGGAATAATCCGACACTCAACATTAATTTACAGGAGCAAC	5387
hVLIG putative	5126	AGCTTAGGAGTCACTGACTGCACTTCAGAAACAGCTTGACAAACAGATTTCAGGAATGGAATAATCCGACACTCAACATTAATTTACAGGAGCAAC	5225
mVLIG-1 CDS	5388	TACAGGAAAATTAACCACTCAAGAGAAATTTGCAAAATATTTTAAAGAACCCAGATTTGTGAAATATGCTTCAGTGCAGAAACAAATTTTGAAACAC	5487
hVLIG putative	5226	TACAGGAAAATTAACCACTCAAGAGAAATTTGCAAAATATTTTAAAGAACCCAGATTTGTGAAATATGCTTCAGTGCAGAAACAAATTTTGAAACAC	5325
mVLIG-1 CDS	5488	AAGTTACTAATTCCTTAAAGATTCCTTATTTCAGATTCAGCAGAGAAATGCAGATGACATATCAGTCTTAAAAA---TAGCCAAGAAATCTGATAACC	5584
hVLIG putative	5326	AAGTTACTAATTCCTTAAAGATTCCTTATTTCAGATTCAGCAGAGAAATGCAGATGACATATCAGTCTTAAAAA---TAGCCAAGAAATCTGATAACC	5425
mVLIG-1 CDS	5585	AAAAGTCACTATGATAAAATCAGTTCTTCACTGACAGCAAGATTGCTTTAAATTTGAGGGTAAAGAAATTAAGTCAAGAAAGTTCATGAGAAAT	5684
hVLIG putative	5426	AAAAGTCACTATGATAAAATCAGTTCTTCACTGACAGCAAGATTGCTTTAAATTTGAGGGTAAAGAAATTAAGTCAAGAAAGTTCATGAGAAAT	5525
mVLIG-1 CDS	5685	CAGCAACTTTGGACCAAGTGGATTTATGATGATCTTCAATCTTCCCAAGTCCACAGAGCCTAACATTGATTGGACTCTGAAAAATATCCTCTGGAA	5784
hVLIG putative	5526	CAGCAACTTTGGACCAAGTGGATTTATGATGATCTTCAATCTTCCCAAGTCCACAGAGCCTAACATTGATTGGACTCTGAAAAATATCCTCTGGAA	5625
mVLIG-1 CDS	5785	TATTTCAAAGAGCAAAATATTTGTCGAAAGACTAATAAATAAGTCTCAAGGAAAGTTTAAATCATCTATGAAACATATCAATGAAAPAGAAAT	5884
hVLIG putative	5626	TATTTCAAAGAGCAAAATATTTGTCGAAAGACTAATAAATAAGTCTCAAGGAAAGTTTAAATCATCTATGAAACATATCAATGAAAPAGAAAT	5722
mVLIG-1 CDS	5885	A---CCTTTACTAGAAAGATTTAAGAACTCTCTGTTGATCATCAAAAGACACACACACATTCACTTAAATTTAAGAAACCTTATCAAA	5981
hVLIG putative	5723	A---CCTTTACTAGAAAGATTTAAGAACTCTCTGTTGATCATCAAAAGACACACACACATTCACTTAAATTTAAGAAACCTTATCAAA	5819
mVLIG-1 CDS	5982	CATTGGAAACAAAGCGTGTATACATCAGAAATTTTATCATGAATCTTCAAGATCAGAAATGAAAGTCAAGAAATGAAAGTCAAGAAAT	6081
hVLIG putative	5820	CATTGGAAACAAAGCGTGTATACATCAGAAATTTTATCATGAATCTTCAAGATCAGAAATGAAAGTCAAGAAATGAAAGTCAAGAAAT	5919
mVLIG-1 CDS	6082	ACATTTCAAGAGCTTCATCATTGACTTATCTTCTGTTTATTCCAAAGAGCAATCCAGGATTTTCAAGAAATGCAAGCAGCATCAAGATGCAAAATG	6181
hVLIG putative	5920	ACATTTCAAGAGCTTCATCATTGACTTATCTTCTGTTTATTCCAAAGAGCAATCCAGGATTTTCAAGAAATGCAAGCAGCATCAAGATGCAAAATG	6019
mVLIG-1 CDS	6182	ACCTGTCAACTACTCGAAGAAAGATGATTCTTCTTCTGAGTTTAAAGATCTCTGCAAGGTGCCTCTCAATCACTCTCTTTGTTGACTCTCT	6281
hVLIG putative	6020	ACCTGTCAACTACTCGAAGAAAGATGATTCTTCTTCTGAGTTTAAAGATCTCTGCAAGGTGCCTCTCAATCACTCTCTTTGTTGACTCTCT	6119
mVLIG-1 CDS	6282	TGCTCTCAAGCTCACTCTGCACTCTCTGATGATGGAATATATGTTTCAAAATAAGCTTGGACATGCGGACACCTGCCCTCAATCAATGGA	6381
hVLIG putative	6120	TGCTCTCAAGCTCACTCTGCACTCTCTGATGATGGAATATATGTTTCAAAATAAGCTTGGACATGCGGACACCTGCCCTCAATCAATGGA	6219
mVLIG-1 CDS	6382	AACAGCACTAACCTGGAGAACATTTCTCTCTCTCTCCAGAGAAGAAAAATTTGATAATTAAGTCAATCAATCAATCAATCAATCAATCAAT	6481
hVLIG putative	6220	AACAGCACTAACCTGGAGAACATTTCTCTCTCTCTCCAGAGAAGAAAAATTTGATAATTAAGTCAATCAATCAATCAATCAATCAATCAAT	6319
mVLIG-1 CDS	6482	GGATTAATTAAGCAACCATTAAGATACTGTCAGAAAGAGAGTGAAGAAATTAAGTCAATCAATCAATCAATCAATCAATCAATCAAT	6581
hVLIG putative	6320	GGATTAATTAAGCAACCATTAAGATACTGTCAGAAAGAGAGTGAAGAAATTAAGTCAATCAATCAATCAATCAATCAATCAATCAAT	6419
mVLIG-1 CDS	6582	TATCCTCTGCTGCCATTCATAATCCACAAGTAGCTAAAGTAAAGCAGCACTGGATCTCAATGGCTGGATTTGCTGTGATCAACCTAGGAGCAAC	6681
hVLIG putative	6420	TATCCTCTGCTGCCATTCATAATCCACAAGTAGCTAAAGTAAAGCAGCACTGGATCTCAATGGCTGGATTTGCTGTGATCAACCTAGGAGCAAC	6519
mVLIG-1 CDS	6682	CTGCTCTCCCAAGCAAGCTGCTAAGCATAGCAACCCAGGAGTAAATGGATACTGATCTCTCAAGAAAGCCATGACAGACTTTGGATCTCTCAA	6781
hVLIG putative	6520	CTGCTCTCCCAAGCAAGCTGCTAAGCATAGCAACCCAGGAGTAAATGGATACTGATCTCTCAAGAAAGCCATGACAGACTTTGGATCTCTCAA	6619
mVLIG-1 CDS	6782	TGAAGGAAATAGAAAGCAATTTCAAGTAAAGCATATAGAAAGCAATTTGTTCTCAATTGAGAAATCTCTCTGACATCTCTGTGGCTGTGGAAACA	6881
hVLIG putative	6620	TGAAGGAAATAGAAAGCAATTTCAAGTAAAGCATATAGAAAGCAATTTGTTCTCAATTGAGAAATCTCTCTGACATCTCTGTGGCTGTGGAAACA	6719
mVLIG-1 CDS	6882	GTGCTCTTTTCTAAGCAATTTGACAAAGCATTTCTCCAGCATGAAGGAGACCACTGCTCTCTCCACCGCTCTCAGGCTGTCACTGGTGGCAAT	6981
hVLIG putative	6720	GTGCTCTTTTCTAAGCAATTTGACAAAGCATTTCTCCAGCATGAAGGAGACCACTGCTCTCTCCACCGCTCTCAGGCTGTCACTGGTGGCAAT	6819
mVLIG-1 CDS	6982	TGGCATTAAGCAAGCAATTTGATTAATGTTGCTACTAGTGTGATCAAGTAAATTTCTCTCTTTTGAAGGCTCTCCGGAATTCGCATTAAG	7080
hVLIG putative	6820	TGGCATTAAGCAAGCAATTTGATTAATGTTGCTACTAGTGTGATCAAGTAAATTTCTCTCTTTTGAAGGCTCTCCGGAATTCGCATTAAG	6918
mVLIG-1 CDS	7081	AAATATCGAAGCAGGAGGATTAATGATGCAATGAGGAGCATCACCAGACTCTCTCAATCCAGCATATGGAATGTTTGTCTCTCAATTCAGATCAA	7180
hVLIG putative	6919	AAATATCGAAGCAGGAGGATTAATGATGCAATGAGGAGCATCACCAGACTCTCTCAATCCAGCATATGGAATGTTTGTCTCTCAATTCAGATCAA	7018
mVLIG-1 CDS	7181	ACCTAGAAGAAATATATGCAAAAAATTTACAGCAAGAGGATGCTTCCAGATTTATGGAACCAAAATCAAAAGCAAGAGTCTGATTAAGTCAATTA	7280
hVLIG putative	7019	ACCTAGAAGAAATATATGCAAAAAATTTACAGCAAGAGGATGCTTCCAGATTTATGGAACCAAAATCAAAAGCAAGAGTCTGATTAAGTCAATTA	7118
mVLIG-1 CDS	7281	A 7281	
hVLIG putative	7119	ACAG 7122	

Vergleich der Aminosäuresequenz von mVLIG-1 mit der des selber vorhergesagten hVLIG Proteins, unter ausschließlicher Berücksichtigung der humanen Genomsequenz des "International human genome sequencing consortium":

mVLIG-1	1	MATAKCFIDDEPQLQSRKHNLOEMLREVLGSLVDYWLPKQLQELGVTSQAQLQYLDNRDLQKLKSSQTHHTWEKRALEKLLDLSQPNVAVLQETPRBMRKN	100
hVLIG putative	1	MATSEHTPDDPDLRGRERODLOEMLREVLGSLVDYWLPKQLQELGVTS-----LQESQVERAKR	58
mVLIG-1	101	KORQAQALQALKALQSEKGRHEEAVRKEAELRQAMDIPPEWPTAVSVSKDITSEMERLISHMERTLAESPNSLSDLDLVRWASGGLALQGIYKTHPE	200
hVLIG putative	59	KOKQAQALQALQALQSEKGRHEEAVRKEAELRQAMDIPPEWPTAVSVSKDITSEMERLISHMERTLAESPNSLSDLDLVRWASGGLALQGIYKASHQ	158
mVLIG-1	201	RSLLQKREBLLSVPKQFSLVGEHGTETIKTFEFSFPEQAMFETETIKMGGFSSLSLVKGGEGWGFSLKLEAGLDQNEQASENTHQSSEHIVYFCARFSYIP	300
hVLIG putative	159	RSLLPKREBLLSVPKQFSLVGEHGTETIKTFEFSFPEQAMFETETIKMGGFSSLSLVKGGEGWGFSLKLEAGLDHSHKHPBSEKETQSSSESNVYFCSTKFSYIP	258
mVLIG-1	301	LAIICHFHINDLELNSAHLQELKTIPELLBOTTDRHGLFLLRHRABNFHFRFGSHANQGPLLGGIYWKAISEGFCSHLADLVKQOITRSLNIVIMGSI	400
hVLIG putative	259	LASCALPFDQLOYPKPAVQELKTEPELLSOTTNPDFFRFLRHRITNFHFRFGSHVNOGPLLGGIYWKAISEGFCSHLADLVKQOITRSLNIVIMGSI	357
mVLIG-1	401	SGFGVKVGSVNIANSNSHETASFSSTHLSHQTQVLSVAQITGGPEADLCIAGVWAGLIVSNQTVSVIDRELQQLVPIWDIILSHRSTFKNALOVANLKD	500
hVLIG putative	358	SGFGVKVAAQVNVSDSESKTATQKTSQNLQTKVLSVAQITGGPEADLCIAGVWAGLIVSNQTVSVIDRELQQLVPIWDIILSHRSTFKNALOVANLKD	457
mVLIG-1	501	NVTALPELDAQIQEGRFETLAKKELIFEDVKKWEVSDPDEQIKKILDFMWTLSQKIKSYNIINVTCLTDWDLQNFLLNTVFKKFSPTYKTFIKSQI	600
hVLIG putative	458	SYTALPSTLDAQIQEGRFETLAKKELIFEDVKKWEVSDPDEQIKKILDFMWTLSQKIKSYNIINVTCLTDWDLQNFLLNTVFKKFSPTYKTFIKSHI	546
mVLIG-1	601	CILLEPHVYRVNFPFAHSITLQWVNSQSEYGEQVKTISFSEFIKTLRKHVYKLVMEVNFKNPEPETVEEABRTATYEVTTALSSFLKVIKETECPDMQLL	700
hVLIG putative	547	RSLLDPEHYRVNFPFAHSITLQWVNSQSEYGEQVKTISFSEFIKTLRKHVYKLVMEVNFKNPEPETVEEABRTATYEVTTALSSFLKVIKETECPDMQLL	746
mVLIG-1	701	LSIAAAGYQVLYNISFCHLLGCDELNELLDOMSQNKYQELKKNICNYRAQAFVLVLTALRTVEITHTISEEKQRORLALIKQHMGTLSREVAHVLTKE	800
hVLIG putative	647	LSIAAAGYHVINMTFQSLGCDLSELLDEWDAQNKYQELKKNICNYRAQAFVLVLTALRTVEITHTISEEKQRORLALIKQHMGTLSREVAHVLTKE	746
mVLIG-1	801	EHDWESLENDRLLEGDYKATHTYLOMDEVKQQLSCLGKQOYKQKSNENITKEMINCPFKLLQRLGLDNNYPRKRSRADFHLIYKTSVYNSC	899
hVLIG putative	747	ADHDWENLEKDLRLLLEGDYBEVITSSLOMDEVKQQLSCLGKQOYKQKSNENITKEMINCPFKLLQRLGLDNNYPRKRSRADFHLIYKTSVYNSC	844

mVLIG-1	900	RSERKLPFPYFLOKLLMFDYGRHLLVKKDDENIKKQHSIGSSNHNENEDIDPDDVDIINDNSEGYPSSTPSWPHIHFDTIOMTTLHCADDLTROYIFSKLS	999
rVLIG putative	845	ESSEOLPFPYFLOKLLMFDYIRHLLVFKDDNRTSHQWHNPNASDQEDDAPDPENFFEDSDSTKSSSTPSPHIHFDTIOMTTLHCADNFAROYLAKLS	944
mVLIG-1	1000	ICHYALPLVFNPNNTSQIEFYLWSLRQITRKSQWADSKSPDQKSYSHRNQMQORVSTIVSFRVGNLSASKSQIMNLLSKRKHVDFPHRHKGSNKH	1099
rVLIG putative	945	TCQFALPLVFNPNNTSQIEFSLWSLRQITRFSQWADSKSPDQKSYSHRNQMQOVSTIVSFRVGNLSASKSQIMNLLSKRKHVDFPHRHKGSNKH	1043
mVLIG-1	1100	LLMGHVEICWFCBQAGEDHFNENCTFTSLHGDAKEHFOQLSFLQHVSSILVWVMSVSDNNKBNQHLVRLHWQSSPLICLIDDKKKAIAANHSGKRMRF	1199
rVLIG putative	1044	LLMGHVEICWFCBQAGEDHFNENCTFTSLHGDAKEHFOQLSFLKRVSTVIVWVMSVSDNNEGNRHRVRLHWQSSPLICLIDDKKATMTNHSQGRMRM	1143
mVLIG-1	1200	GIKNRNEABLTEBLTNAIKHFLSLSNIVLSLEDSCDIAARELGFIDEDQDCKEAKAKAQTVMALLEVYKLSQIKENLLPLOGQLWHVCKKDKBFLYHLR	1299
rVLIG putative	1144	GIKNRNEABLTEBLTTRHFLSLSNIVLSLEDSCDIAHQOQFIDEDQDCKEAKAKAQAIAIMAFCKMKLSQIKERLLPLOGQLWHVCKKDKBFLYHLR	1243
mVLIG-1	1300	BKGNRSIEQKSEIETKRRKIRROLEKAFPLNDLMSVLELQDVMSETHNKLYVLOWLTIHFNLTIDHLKLEHRCRSLNLRITQTEKQRAKSNST---	1396
rVLIG putative	1244	BKGNRSIEQKSEIETKQIRHFLQARALPLNDLMSVLELQDVESETHNKLYVLOWLTIHFNLTIDHLKLEHRCRSLNLRITQTEKQRAKSNST---	1343
mVLIG-1	1397	WQNTAIAISTEHNCTLGIEHLREVGOIYEALBEETSSRDSFLPLCPQIAADLMIAGVPIELMDGDAAYVPLKVVAMIFDKIHKYGDKRLFLVLSVLGI	1496
rVLIG putative	1344	LOSEIAISTEISTCTLGIEHLREVGOIYEALBEASSIK-KLFLPQIAADLMIAGVPIELMDGDAAYVPLTWVAVFVDFVSEKGDKRLFLVLSVLGI	1442
mVLIG-1	1497	QSSGKSTLNLALFGLQFTVSAGRCTKAYMQLLKVEETFEELGFNVLVITDEGLRAPELNKNSQNWDBEITATLVIGENLTLINIFGENPSEDIQDILQ	1596
rVLIG putative	1443	QSSGKSTLNLALFGLQFTVSAGRCTKAYMQLLKVEETFEELGFNVLAVITDEGLRAPEHNSKSKDRDNEIVTFVIGENLTLINIFGENPSEMQDILQ	1542
mVLIG-1	1597	ISVOAFLRMKQVKISPSCLFVHQNVEVFAKDOTMGERKRLQKLEDEMATAABELECSNITRFSDVIRKFDNRHVYVFAHLWDGNPPMAPNPRYSNIV	1696
rVLIG putative	1543	IVVOAFLRMKQVKIFPSCLFVHQNVEVFAKDOTMGERKRLQKLEDEMATAABOELCLDVIQFSDVIRKFDNRHVYVFAHLWDGNPPMAPNPRYSNIV	1642
mVLIG-1	1697	ELRNELISLTAQESRGRILKISDFKFRVQDLWKAQVSNENFISFRNTQEVVAMSKLETKYNBWTWELRSHVLDLQNLQDNQIONGKILTLTSLNLEPEL	1796
rVLIG putative	1643	QLKSRILMTAQESRGNIMKISDVKFRVQDLWRGLMNBFIISFRNTQEVVAMSKLETMYNBWTWELRSHVLDLQNLQDNQIONGKILTLTSLNLEPEL	1742
mVLIG-1	1797	SRKLRITKEEFDFYFEEEDDCEILVQKANKFHKLLKLDLSDTRQCNHISLKN-SQHLDNKSOYENOLLEBSRKLALNLGKELSEBELHEKF	1895
rVLIG putative	1743	TEKYVYVKQELKYNFEBCEKILIQKANKFHLVLEKELISDSKROANLISFRNOSQHLNKKRKYDYEKLEBSRKLALNLGKELSEBELHEKF	1842
mVLIG-1	1896	NOLMTNLYVDVSNVPEVTEPNIDLDSENLVYFKKDNINVERIKKISQKQFELVMDKHIQMKKMLLRKSLBETHVESIKTNTNOLNIFTEITLNI	1995
rVLIG putative	1843	NOLKRWQCDVSTILQVTEPELDLDSENLVYFKKNTNIVV-GLTINABKQIINVDKHIQVKKNHIPMLIVFEKELNMTIDYVSRFNKIINNV	1941
mVLIG-1	1996	WKQRYISQNYFHEILRIEENELKSEPCGDYFTKDYIIDLISLYLQFQASDKFRKMHAAFTANDPVNYLERKDDDFMSFKISCOGATSIISFVDELW	2095
rVLIG putative	1942	WKQCCYFNPNYFHEILKLEBEVKSASTQKRYFTNTIIDLICVCLFQARANKFMHRAFRRANDPVNYLESKDDDFMSFKISCOGATSIISFVDELW	2041
mVLIG-1	2096	KLTPAIVSIVKIMVCKTAGDMRATCPAFNGNRANLEHIIYSLAEBEKKFKYKWKIQKPEFFRYYIRDHIKRYCSKESKIKTFLNLSIDPIKNTI	2195
rVLIG putative	2042	KLTPAIVSITLWEDMFKTAGDMRATCPAFNGNRANLEHIIYSLAEBEKKFKYKWKIQKPEFFRYYIRDHIKRYCSKESKIKTFLNLSIDPIKNTI	2141
mVLIG-1	2196	LSAIHSTKVAKRCSTASHWLDLFCDFGLSNVFRKDLVSEIHOELMDFEFLKEAMSKALDPAMREVBEDCSSKEDDEIVPEIKLSEHLGCGKQC	2295
rVLIG putative	2142	LSAIHSTKVAKRCSTASWLDLFCDFGLSNVFRPRDLVSEIHOELMDFEFLKEAMSKALDLTKKLEQNYSSKLEAMVSEIKLSEHLGCGKQC	2241
mVLIG-1	2296	FCFCAICTNTIPIQHEGDHSVFFHRPOAVSGWHWHKTDQEHINVTCSVANSISFILDGFREFFPKVREAGGDYATWSITPDSSTOPYKWKVCFHFRSNL	2395
rVLIG putative	2242	SCFCAICTNTIPIQHEGDHSVFFHRPOAVNGEWEYEDDDEIVLDCSTSVASDCLLVLRDGRNFFPKVREAGGDYATWSITPDSSTOPYKWKVCFHFRSNL	2341
mVLIG-1	2396	EEVYKSKKFTKGSIPDILWIKITKQEVNLDLKK	2427
rVLIG putative	2342	EKVYKSKKFTKGSIPDILWIKITKQDVLVLDLKK	2374

Vergleich der Nukleotidsequenz der mVLIG-1 CDS mit der des putativen Ratten VLIG Homologes:

mVLIG-1	1	ATGCCA	CAGAAAGT	STTTC	CTGATGAGCCTCAGCTA	CAAGCA	CAAGAA	GCACAT	CTCCAGGAGATCCTCAGACAAGT	CGACTCT	CTGTGTGACTACTGGT	TAC	110	
rVLIG	1	ATGCCA	CAGAAAGT	ACTTC	CTGATGAGCCTCAGCTA	CAAGCA	AAGGAG	GCACAT	CTCCAGGAGATGCTCAGACAAGT	CGACTCT	CTGTGTGACTACTGGT	TACC	110	
mVLIG-1	111	TAAGCT	TCCAGGAAGA	CTGGGT	GTACCTC	GGCC	AGGCTT	ACAATAT	TAGACAGGA	TGACCT	CACAGAGCTGAAGT	CCCAGACA	CA	220
rVLIG	111	TAAGCT	TCCAGGAAGA	CTGGGT	GTACCTC	TGCT	AGGCTT	ACAATAT	TAGACAAA	TGACCT	CACAGAGCTGAAGT	CCCAGACA	CA	220
mVLIG-1	221	CGCTGG	AGAGT	CTACT	GCAC	CTCT	CACA	CCCAA	ACTGTTG	CAGAGCT	CAAGAG	CTCAAGAGGAGATAAAGA	TCAGGC	330
rVLIG	221	CTCTGG	AGAGT	CTACT	GCAC	CTCT	CACA	CCCAA	ACTGTTG	CAGAGCT	CAAGAG	CTCAAGAGGAGATAAAGA	TCAGGC	330
mVLIG-1	331	GCTCTG	AAAGCCTT	GCAGT	CAGAAGGGAAG	CA	CAGACA	GAAGAG	GCAGT	GAGGAGAA	AGAAGC	CAGAGCTGAGA	CAAGCA	440
rVLIG	331	GCTCTG	AAAGCCTT	GCAGT	CAGAAGGGAAG	TC	CAGAGA	GAAGAG	GCAGT	GAGGAGAA	AGAAGC	CAGAGCTGAGC	CAAGCA	440
mVLIG-1	441	GGCTGA	AGT	TCCTT	AAAAGACAT	CACTGA	TATAAT	TGGAGA	CACATCT	CAGT	CACAT	TGAAC	CGACCT	550
rVLIG	441	GGCTGA	AGT	TCCTT	AAAAGACAT	CACTGA	TATAAT	TGGAGA	CACATCT	CAGT	CACAT	TGAAC	CGACCT	550
mVLIG-1	551	GGCATCT	GAGGGCT	TGGCT	CTG	CAGGAA	TTTATA	TAAGCA	CAAC	CCACC	AAA	AAGCCT	GATT	660
rVLIG	551	GGCATCT	GAGGGCT	TGGCC	CTG	CAGGAA	TTTATA	TAAGCA	CAAC	CCACC	AAA	AAGCCT	GATT	660
mVLIG-1	661	GGCCAG	AAC	TGGCA	TGTGGATA	AAACA	AAAGAA	TTTCACT	CTTTCA	CAACA	AGCC	CA	TTTACA	770
rVLIG	661	GGCCAG	AAC	TGGCA	TGTGGATA	AAACA	AAAGAA	TTTCACT	CTTTCA	CAACA	AGCC	CA	TTTACA	770
mVLIG-1	771	TAAAGC	GGAAGT	TGGGAT	TTAGT	CTAGA	AGCT	GTATG	ST	CAAA	CAAC	CA	CA	880
rVLIG	771	TAAAGC	GGAAGT	TGGGAT	TTAGT	CTAGA	AGCT	GTATG	ST	CAAA	CAAC	CA	CA	880
mVLIG-1	881	CCAGTT	CAGT	TAC	TCCAT	TGGCC	AC	TGCC	ATTT	CACAT	CAAT	GAT	CTT	990
rVLIG	881	CCAGTT	CAGT	TAT	TCCAT	TGGCC	AC	TGCC	ATTT	CACAT	CAAT	GAT	CTT	990
mVLIG-1	991	ACBACA	SACC	ACCAG	GATGGA	CT	ACCCT	TACT	AAGC	CAGG	CT	GAAA	ACT	1100
rVLIG	991	ACBACA	ACCCT	---	AGATGGA	CT	ACCCT	TACT	AAGC	CAGG	CT	GAAA	ACT	1097
mVLIG-1	1101	CTGCTG	GAAGCC	ATT	T	CAGA	GGTT	T	CAAA	AGT	GAG	CA	CT	1210
rVLIG	1098	CTGCTG	GAAGCC	ATT	T	CAGA	GGTT	T	CAAA	AGT	GAG	CA	CT	1207
mVLIG-1	1211	GAGT	TAAAGT	CGT	GCAAGT	GT	AAAT	ATAG	CAAA	CT	CAAT	TT	CA	1320
rVLIG	1208	GAGT	TAAAGT	CGT	GCAAGT	GT	AAAT	ATAG	CAAA	CT	CAAT	TT	CA	1317
mVLIG-1	1321	ATAGT	TGAC	AGCA	CAAG	CAGAT	TGAAT	TG	CC	AGT	CACT	GGT	CT	1430
rVLIG	1318	ACAGT	TGAC	AGCA	CAAG	CAGAT	TGAAT	TG	CC	AGT	CACT	GGT	CT	1427
mVLIG-1	1431	GGACAT	CT	CTCT	CTC	CTC	CTC	CTC	CTC	CTC	CTC	CTC	CTC	1540
rVLIG	1428	GGACAT	CT	CTCT	CTC	CTC	CTC	CTC	CTC	CTC	CTC	CTC	CTC	1537
mVLIG-1	1541	AGG	GAAGA	ATTT	CT	ACT	GCT	AG	AA	AGCT	AA	CTTT	TC	1650
rVLIG	1538	AGG	GAAGA	ATTT	CT	ACT	GCT	AG	AA	AGCT	AA	CTTT	TC	1647
mVLIG-1	1651	ATGCAAA	CATT	GACT	CAAAA	ATAAA	AGTT	TATA	CA	TTT	GGAT	TATA	CAT	1760
rVLIG	1648	ATGCAAA	CATT	GACT	CAAAA	ATAAA	AGTT	TATA	CA	TTT	GGAT	TATA	CAT	1757
mVLIG-1	1761	TTCA	CCCACT	TATA	AACT	CAGTT	TATA	AAAT	CT	CAGT	TG	GCAT	CT	1870
rVLIG	1758	TTCA	CCCACT	TATA	AACT	CAGTT	TATA	AAAT	CT	CAGT	TG	GCAT	CT	1867

mVLIG-1	5822	AAATAAAGTCTCTAGCAAAAGTTTGAATCATCTATGCAAAACATATCAAATGAAAAA	5931
rVLIG	5828	AAATAAAGTCTCTAGCAAAAGTTTGAATCATCTATGCAAAACATATCAAATGAAAAA	5937
mVLIG-1	5932	AAAAAGACACACCAACAAATCACTTTAAAAATTACAGAAACACTTCAAAA	6041
rVLIG	5938	AAAGAGATTACTAAATAATCACTTTAAAAATTACAGAAACACTTCAAAA	6047
mVLIG-1	6042	AGAAAATGAGCTGAAATCTGAACCTGTGAGCGAGACTACACATTACCA	6151
rVLIG	6048	AGAAAATGAGCTGAAATCTGAACCTGTGAGCGAGACTACACATTACCA	6157
mVLIG-1	6152	AAATACACGAGGCATTCAAGACTGCAATGACCTGTGAACATCTGGAGAGAAAGAA	6261
rVLIG	6158	AAATACACGAGGCATTCAAGACTGCAATGACCTGTGAACATCTGGAGAGAAAGAA	6267
mVLIG-1	6262	ACTCCTTTGTGACTTCTATGGCTCAAGCTCACTCTGCTATCTCTGTGAC	6371
rVLIG	6268	ACTCCTTTGTGACTTCTATGGCTCAAGCTCACTCTGCTATCTCTGTGAC	6377
mVLIG-1	6372	ATTCAATGGAAAAGAGCTAACCTGGAGATACATATTCTCTACTCTCTAGCAG	6481
rVLIG	6378	ATTCAATGGAAAAGAGCTAACCTGGAGATACATATTCTCTACTCTCTAGCAG	6487
mVLIG-1	6482	GGATTATATTAGAGACCACATTAAGATACTGTTTCAGAAAAGCACTCAAAAA	6591
rVLIG	6488	GGATTATATTAGAGACCACATTAAGATACTGTTTCAGAAAAGCACTCAAAAA	6597
mVLIG-1	6592	GCCATTTCATCACTCCACAAGAGCTAAAGCTAAAGGAGCAGCTGCATCT	6701
rVLIG	6598	GCCATTTCATCACTCCACAAGAGCTAAAGCTAAAGGAGCAGCTGCATCT	6707
mVLIG-1	6702	CCTGTAAGCATGAGCACCAGGAGCTAATGGAACTGAGTTCTCAAAAGCCAT	6811
rVLIG	6708	CCTGTAAGCATGAGCACCAGGAGCTAATGGAACTGAGTTCTCAAAAGCCAT	6817
mVLIG-1	6812	AGCAATATGATGAAATCTCTCTGACATTTGAGAAAATCTCTCTGAACTCT	6921
rVLIG	6818	AGCAATATGATGAAATCTCTCTGACATTTGAGAAAATCTCTCTGAACTCT	6927
mVLIG-1	6922	CAATCATGAAGGAGACACAGTGTGCAATTCACCCGCTCAGGCTGTGAGT	7031
rVLIG	6928	CAATCATGAAGGAGACACAGTGTGCAATTCACCCGCTCAGGCTGTGAGT	7037
mVLIG-1	7032	AAGTAATATTTCTTATTTTAATGCTCTCCGGAATTCACATCAAGAAAT	7141
rVLIG	7038	AAGTAATATTTCTTATTTTAATGCTCTCCGGAATTCACATCAAGAAAT	7147
mVLIG-1	7142	AGCCATATTTGAAATGGTTTGTCTGTGCAATTCATCAATCACTAGAAA	7251
rVLIG	7148	AGCCATATTTGAAATGGTTTGTCTGTGCAATTCATCAATCACTAGAAA	7257
mVLIG-1	7252	AAGCAAGACTCTGATGACTTCAAAAA	7281
rVLIG	7258	AAGCAAGACTCTGATGACTTCAAAAA	7335

Vergleich der Nucleinsäuresequenz von mVLIG-1 mit dem putativen VLIG Homolog der Ratte:

mVLIG-1	1	MATAKCFDDEPQISRRKKNLQEMLFEVLSVDYWLKPLQEDLGVTSQAALQYLD	110
rVLIG	1	MATAKCFDDEPQISRRKKNLQEMLFEVLSVDYWLKPLQEDLGVTSQAALQYLD	110
mVLIG-1	111	ALKALQSEKGRREEEAVRRKEAELRQAMEIPEECWPAEVLKLDITEIME	220
rVLIG	111	ALKALQSEKGRREEEAVRRKEAELRQAMEIPEECWPAEVLKLDITEIME	220
mVLIG-1	221	GPBHCPEKTKVBFSSSEPOAFTFTIKMNGFSSTSLVKGEWGC	330
rVLIG	221	GPBHCPEKTKVBFSSSEPOAFTFTIKMNGFSSTSLVKGEWGC	330
mVLIG-1	331	TTDHRDGLPLLRHRANFFHFRFGSHANQGPLLGGIYCWKAISEGFKSE	440
rVLIG	331	TTDHRDGLPLLRHRANFFHFRFGSHANQGPLLGGIYCWKAISEGFKSE	439
mVLIG-1	441	IGGPAADGIAQWNTAGLVSNQVSWIDREQLVPIWDIILSSHRTDFKAL	550
rVLIG	440	TGGPAADGIAQWNTAGLVSNQVSWIDREQLVPIWDIILSSHRTDFKAL	549
mVLIG-1	551	MQLTSQIKSYNFIWINTCLTDWDLQNFNLINIVKFCNKSPTTKQFQK	660
rVLIG	550	MQLTSQIKSYNFIWINTCLTDWDLQNFNLINIVKFCNKSPTTKQFQK	659
mVLIG-1	661	BAPETVEEARTRTATYEVTTALSSFKYLKETEOPDMQLLILSIAAGAGY	770
rVLIG	661	BAPETVEEARTRTATYEVTTALSSFKYLKETEOPDMQLLILSIAAGAGY	769
mVLIG-1	771	DEKQRLPLIKQHMCLLSEEVAVHLLTKHCHHDWENLNDLRLLIDGDKAT	880
rVLIG	770	DDKQRLPLIKQHMCLLSEEVAVHLLTKHCHHDWENLNDLRLLIDGDKAT	879
mVLIG-1	881	RMSRADFHLIYKTSVYNSQPRSEKELPPFYFLQKLLMLDYGFRHLIVK	990
rVLIG	880	RMSRADFHLIYKTSVYNSQPRSEKELPPFYFLQKLLMLDYGFRHLIVK	989
mVLIG-1	991	KOYIISKLSICQVALPLVVPNPNSIQIFYLWLSLRQIRKSWQDASK	1100
rVLIG	990	KOYIISKLSICQVALPLVVPNPNSIQIFYLWLSLRQIRKSWQDASK	1099
mVLIG-1	1101	LMGCVVEICWFCPAGQGEDTEENCLFTTSLHCDAKEHTQQLSFLQVSS	1210
rVLIG	1100	LMGCVVEICWFCPAGQGEDTEENCLFTTSLHCDAKEHTQQLSFLQVSS	1209
mVLIG-1	1211	BELTNAIKHFLSNTVLSLEDQSDARELGFTHIDEDQDCEBAKKAQOT	1320
rVLIG	1210	BELTNAIKHFLSNTVLSLEDQSDARELGFTHIDEDQDCEBAKKAQOT	1319
mVLIG-1	1321	RQOLEKAPFLNDLMRSVILQLQYSETHNMLYVQLWLTLPFDNLTIDH	1427
rVLIG	1320	RQOLEKAPFLNDLMRSVILQLQYSETHNMLYVQLWLTLPFDNLTIDH	1429
mVLIG-1	1428	ALEETSRRDLSFLCLPQIAADLMIAQVPIELMDGDASYVPLKVAAM	1537
rVLIG	1430	ALEETSRRDLSFLCLPQIAADLMIAQVPIELMDGDASYVPLKVAAM	1539
mVLIG-1	1538	ELGFNVVLVHDTREGLRAPELNNKSNWDHELATFVIGLGNLTLLINIF	1646
rVLIG	1540	ELGFDFVLVHDTREGLRAPELNNKSNWDHELATFVIGLGNLTLLINIF	1648
mVLIG-1	1647	LAFLBECNSNITFSDVTKFDANFHVYFAHLWDGNPMPAPPNFRSYN	1756
rVLIG	1649	LAFLBECNSNITFSDVTKFDANFHVYFAHLWDGNPMPAPPNFRSYN	1758
mVLIG-1	1757	YNWVWELRSHVLDLQNLQDNIQNGKTLTSLNLEPLSRKDKTKRBF	1866
rVLIG	1759	YNWVWELRSHVLDLQNLQDNIQNGKTLTSLNLEPLSRKDKTKRBF	1868
mVLIG-1	1867	ENLLEERSRKLAINLKEKELDEELBEKFRQLWTSYIYVSSNVPVHT	1976
rVLIG	1869	ENLLEERSRKLAINLKEKELDEELBEKFRQLWTSYIYVSSNVPVHT	1978
mVLIG-1	1977	IKKTTNNIQLKFTFELDNIWQKRDYSQNYFHEILRIENELKSE	2086
rVLIG	1979	IKKTTNNIQLKFTFELDNIWQKRDYSQNYFHEILRIENELKSE	2088

mVLIG-1	2087	ITSFVDFLWLKLTPAISVSIWQKLAGDMRATPEFNGNRRANLEHILYSLAEEEFDKYKYLQHPPEFFRDIYRDHHRKYCSKESKIKTFLNISLGDIKNTII	2196
rVLIG	2089	ITSFVDFLWLKLTPAISVSIWQKLAGDMRATPEFNGNRRANLEHILYSLAEEEFDKYKYLQHPPEFFRDIYRDHHRKYCSKESKIKTFLNISLGDIKNTII	2198
mVLIG-1	2197	SAIHNSTKVAKAKGSTASEWLDLFCDHLSGNLVPFRKDLVSIHQELMDTEFLKEAMSALDPAMREVEEDCSSKHIDEIIPDIEKILSEHLGCWKCQPFCKAICTNTII	2306
rVLIG	2199	SAIHNSTKVAKAKGSTASEWLDLFCDHLSGNLVPFRKDLVSIHQELMDTEFLKEAMSALDPAMREVEEDCSSKHIDEIIPDIEKILSEHLGCWKCQPFCKAICTNTII	2308
mVLIG-1	2307	PQHEGDHSVDFPHRPAQVSGWHWHKTDQFHNINVTSSVASNLSFILDGFREFFPKKYREAGGDVAIWSITPDSSTQPYWKWFVCHRSNLEENYKGGKFTGKGSIPDLWTKI	2416
rVLIG	2309	PQHEGDHSVDFPHRPAQVSGWHWHKTDQFHNINVTSSVASNLSFILHDLQKFPYKKYREAGGDVAIWSITPDSSTQPYWKWFVCHRSNLEENYKGGKFTGKGSIPDLWTKI	2418
mVLIG-1	2417	TKQEVLDLKK	2427
rVLIG	2419	TKQEVLDLRLNNTCHKYDTRWAADFSL	2445

Vergleich der vorhergesagten Proteinsequenz des Zebrafisch VLIG-Homologs mit der mVLIG-1 CDS:

1sthalf	Zebr	1	-----PIAMTSLLRARYPV	15
mVLIG-1	Prot	1621	VGEVTAKDQTEGRKLEQLKDEMTALAAELEECNSNITRFSVDFKFDANRHVYFAHLWDGNPFMAPPNPRYSYNVQELRNEILSTAQQE	1710
2ndhalf	Zebr	1	-----	1
1sthalf	Zebr	16	SRSDCLLTLHLKDCIKDLWELNRFVFSFRNSLEISVYRKLLETYSKWWYSLRRCVMETENRHNQENEAHKVAEIDLYNEKKTTS	105
mVLIG-1	Prot	1711	SRGRILKISDFKFRVQDLKALVSENFHFSFRNIDQVIAMSKLETAYNEWFWBERSHVLDLQNGLDNQIQNSKLLTILNSNLEEFKSRKL	1800
2ndhalf	Zebr	1	-----	1
1sthalf	Zebr	106	EEVEKRMTEFFKDDPADILHQRWTSFEHKSKBLQENIVRETKKENDLQQRIMKKKIDDAORTHEENLYEKRKELALKLDKANNDDT	195
mVLIG-1	Prot	1801	KTIKBEFKYFEBDDPCILVQWGANFBEKLLILKDSLISDTRCKNEHISLKNSEQEILDNOKSQVENCLLERSRRLALNLKQKELSDDE	1890
2ndhalf	Zebr	1	-----	1
1sthalf	Zebr	196	LKAEFDSFWKQCMN-----	209
mVLIG-1	Prot	1891	LHEKFRQIWTSWIYDVSSNVPHVTEPNIDLSENILEYFKKDKNIVERLKIKSQGFIMYDKHIQMKKYLKLLRSLETCHVESIKKT	1980
2ndhalf	Zebr	1	-----	1
1sthalf	Zebr	209	-----	209
mVLIG-1	Prot	1981	TNNIQKFTELTINIWQKRDYSQNYFHEILRIIENELKSEPCGYTFTKDYIIDLSLYLQFASKDFKKMHAAPKTANDPVNYLERKK	2070
2ndhalf	Zebr	1	-----	1
1sthalf	Zebr	209	-----	209
mVLIG-1	Prot	2071	DDFFMSFKISCGQATSITSFVDFLWLKLTPAISVSEWIKIMVQKIAQDMRATPEFNGNRRANLEHILYSLAEEEFDKYKYLQHPPEFFR	2160
2ndhalf	Zebr	1	-----CQKIKKFLKESVYKKTARDIADEMRSNCESLNGNRSNLEHILKILAEEDFDKYMNYIHNKDH	66
1sthalf	Zebr	209	-----	209
mVLIG-1	Prot	2161	RDNIIRDHKKRYCSEKESSEKIKTFLNISLGDIKNTILSAIHNSTKVAKAKGSTASHWLDLFCDHLSGNLVPFRKDLVSIHQELMDTEFLK	2250
2ndhalf	Zebr	67	KSFIRDEVSRVIRKFSISVLPKMEENKLLLOOKIMNAHOSSTHVOVNSGDVGLWIKSFTQQLSDQLFSEKDLSGVKEDDVIDFRLLE	156
1sthalf	Zebr	209	-----	209
mVLIG-1	Prot	2251	EAMSKALDPAMREVEEDCSSKHIDEIVP---DIEKILSEHLGC-CWKQCPFCKAICTNTIIPQHEGDHSVDFPHRPAQVSGWHWHKTDQFHI	2336
2ndhalf	Zebr	157	DVIRQELPAVMSDSSRFNIDTFPVKLDYKFRPDELLIDHFCRCQWVQCPFCVICTNIRENHGDHSPPFHRVIGLNGQFCAGKKNLSI	246
1sthalf	Zebr	209	-----	209
mVLIG-1	Prot	2337	NVCTSSVASNLSFILLDG-FREFPKKYREAGGDVAIWSITPDSSTQPYWKWFVCHRSNLEENYKGGKFTGKGSIPDLWTKI	2425
2ndhalf	Zebr	247	NICTSAVASDQSENPASTKSVBNGDYRAGGVVADLSITPDLF-IPYWKWFVSRQKILKRYNSKTEKRCG--YTSMGRVYNGAVKRT	333
1sthalf	Zebr	209	-----	209
mVLIG-1	Prot	2426	KK-----	2427
2ndhalf	Zebr	334	QYTSIGGGENGNSVLPV	350

Danksagungen

Diese Arbeit wurde am Institut für Genetik der Universität zu Köln unter der Anleitung von Prof. Dr. Jonathan C. Howard durchgeführt. Jonathan Howard danke ich für das in mich gesetzte Vertrauen und die ständige Diskussionsbereitschaft.

Prof. Dr. Jürgen Dohmen danke ich für die Übernahme des Zweitgutachtens und die Möglichkeit der Beteiligung an der Publikation.

Mein besonderer Dank geht an Uli Boehm und Michael Knittler. Ohne ihre Ratschläge und Unterstützung wäre vieles nicht möglich gewesen.

Daniela Schenk danke ich für die Bereitstellung ihrer Daten zur Analyse der genomischen Struktur von VLIG-1 und der VLIG-Familie. Ich hoffe es hat trotz allem ein bißchen Spaß gemacht.

Prof. Dr. Klaus Pfeffer und Annette Schaub sowie den anderen Münchenern danke ich für die nette Zusammenarbeit und natürlich für die Überlassung des Ursprungklons von VLIG-1.

Steffi Könen-Waismann, Rita Lange, Bodo Ortmann, Revathy Uthaiyah, Sascha Martens, Jann Thorsten Martinsohn, Gaby Vopper, Andreas Ehlich, Christine Kocks, sowie allen anderen Mitarbeitern und ehemaligen Mitarbeitern des Institutes für Genetik danke ich für die zur Verfügung gestellten Puffer und ihre Hilfsbereitschaft.

Dr. Matthias Cramer danke ich ebenfalls für seine Hilfsbereitschaft insbesondere in verwaltungstechnischen Angelegenheiten.

Ich versichere, daß ich die von mir vorgelegte Dissertation selbständig angefertigt, die benutzten Quellen und Hilfsmittel vollständig angegeben und die Stellen der Arbeit –einschließlich Tabellen, Karten und Abbildungen-, die anderen Werken im Wortlaut oder dem Sinn nach entnommen sind, in jedem Einzelfall als Entlehnung kenntlich gemacht habe; daß diese Dissertation noch keiner anderen Fakultät oder Universität zur Prüfung vorgelegen hat; daß sie abgesehen von den unten angegebenen Teilpublikationen noch nicht veröffentlicht worden ist, sowie, daß ich eine solche Veröffentlichung vor Abschluß des Promotionsverfahrens nicht vornehmen werde.

Die von mir vorgelegte Dissertation ist von Prof. Dr. Jonathan C. Howard betreut worden.

Köln, im Dezember 2001

Teilpublikationen:

Boehm, U., Klamp, T., Groot, M. and Howard, J. (1997). Cellular responses to interferon- γ . *Annu. Rev. Immunol.* **15**, 749-95

Klamp, T., Boehm, U., Groot, M. and Howard, J. C. (1997). A list of genes regulated by IFN- γ . (<http://www.annurev.org/sup/material.htm>).

Boehm, U., Guethlein, L., Klamp, T., Ozbek, K., Schaub, A., Futterer, A., Pfeffer, K. and Howard, J. C. (1998). Two families of GTPases dominate the complex cellular response to IFN- γ . *J. Immunol.* **161**, 6715-6723.

Curriculum Vitae

Persönliche Angaben

Name: Klamp
Vorname: Thorsten
Geburtsdatum: 08.03.1970
Geburtsort: Aachen
Staatsangehörigkeit: Deutsch
Familienstand: Ledig

Ausbildung

1976-1980 Besuch der Gemeinschaftsgrundschule in Aachen
1980-1989 Besuch des Rhein-Maas-Gymnasium in Aachen
1989 Allgemeine Hochschulreife
1989-1990 Grundwehrdienst
WS 1990/1991 Immatrikulation an der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität zu Köln. Diplomstudiengang: Biologie
1990-1996 Studium der Biologie an der Universität zu Köln
1996-1997 Diplomarbeit Biologie (Fachrichtung Genetik) am Institut für Genetik, Universität zu Köln, in der Abteilung von Prof. Dr. Jonathan C. Howard
ab WS 1997/1998 Promotionsstudiengang Biologie (Fachrichtung Genetik) am Institut für Genetik, Universität zu Köln, in der Abteilung von Prof. Dr. Jonathan C. Howard

Eine Liste IFN- γ regulierter Gene, Version 2.0

Viele der durch IFN- γ regulierten Gene lassen sich spezifischen zellulären Programmen der IFN- γ Antwort zuordnen, oftmals erfolgt jedoch auch eine gleichzeitige Zuordnung in mehrere Programme. Um Mehrfachnennungen zu vermeiden wurde die Liste daher in alphabetischer Reihenfolge ausgedruckt.

Da die Liste als FileMaker-Pro Datenbank vorliegt konnten keine Seitenzahlen eingefügt werden.

Die Liste gliedert sich in:

- Name(n) des Gens + Programmklassifizierung(en) (Gene name)
- untersuchter Zelltyp (Cell type)
- Art der Regulation (Induction)
- Funktion des Proteins (falls bekannt) (Function)
- Referenzen (Reference)

Verwendete Abkürzungen:

- (u) positive Regulation der Expression (upregulated)
- (d) negative Regulation der Expression (downregulated)
- (e) positive Interaktion mit anderen Zytokinen (enhanced)
- (r) negative Interaktion mit anderen Zytokinen (repressed)
- (uu) synergistischer Effekt bei der positiven Regulation der Expression
- (dd) synergistischer Effekt bei der negativen Regulation der Expression
- a), b), c).... wurden einerseits angewandt um konträre Ergebnisse innerhalb einer Spezies kenntlich zu machen und andererseits um eine unterschiedliche Speziesherkunft aufzuzeigen
- M0 Makrophagen
- EF embryonale Fibroblasten

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
1-8D Interferon induced transmembrane protein 2 (IFTM2) Lymphocyte activation Proliferation ?	h: various cell lines	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u)	Member of the 1-8 family, 1-8D is very similar to 1-8U, but less inducible by IFNs. The promoter region contains two ISRE-elements.	Lewin, Eur J Biochem, 1991, 199, 417
1-8U Interferon induced transmembrane protein 3 (IFTM3) Lymphocyte activation Proliferation ?	h: various cell lines	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u)	Member of the 1-8 family, 1-8U is very similar to 1-8D. The promoter region contains two ISRE-elements.	Lewin, Eur J Biochem, 1991, 199, 417
12(S)-HETE receptor 12(S)-Hydroxycosetetraenoic acid receptor Cell migration Proliferation ?	h: squamous cell carcinoma cells (SCL-II); foreskin keratinocytes	IFN- γ (u)	Involved in keratinocytes chemotaxis toward 12(S)-HETE, the main arachidonic acid metabolite in skin. It participates probably in wound healing and other functions.	Suss, Exp Cell Res, 1990, 191, 204
149.53 antigen MMA Antigen Unclassified	h: melanoma cells	IFN- γ (d)	The function is unknown.	Mortarini, Int J Cancer, 1990, 45, 334
15-lipoxygenase Lipid transport/metabolism Steroids	h: monocytes	IL-4 (u) + IFN- γ (f)	15-lipoxygenase is involved in the biosynthesis of bioactive metabolites from free arachidonic acid, such as lipoxins. It is capable of oxygenating polyenoic fatty acids esterified to membrane lipids or lipoproteins.	Sigal, Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res, 1994, 22, 309 Conrad, PNAS, 1992, 89, 217
2'-5' OAS p100 2'-5' oligoadenylate synthetase p100 Antiviral	h: various cell lines	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u), TNF- α (u), all trans RA (u)	Activated by dsRNAs, 2'-5' OAS converts ATP into pppA(2'p5'A), n \geq 1 oligomers, that bind and activate latent RNase L, which degrades single-stranded viral and cellular RNAs, inhibiting protein synthesis and viral growth. Direct antiviral action also shown in rat hepatoma cells. The major forms of 2'-5' OAS are encoded by three distinct genes clustered on chromosome 12, p100, 2'-5' OAS consists of three 2'-5' OAS domains and synthesizes preferentially a dimeric form of 2'-5'A that is not able to activate RNase L. <i>in vitro</i> , p100 2'-5' OAS is associated with ribosomal fractions and also localized in the nucleus. The promoter region contains ISRE, two IRF-1 binding motifs, two GAS elements and one NF κ B site. The p100 2'-5' OAS induction by dsRNA is indirect and mediated by an autocrine IFN type 1 production.	Rebouillat, Genomics, 2000, 70, 232 Rebouillat, J Biol Chem, 1999, 274, 1557 Hovanessian, J Biol Chem, 1988, 263, 4945 Witt, J Interferon Res, 1993, 13, 17 Chebath, J Biol Chem, 1987, 262, 3852
2'-5' OAS p40/p46 2'-5' oligoadenylate synthetase p40/p46 Antiviral	h: various cell lines	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u)	Activated by dsRNAs, 2'-5' OAS converts ATP into pppA(2'p5'A), n \geq 1 oligomers, that bind and activate latent RNase L, which degrades single-stranded viral and cellular RNAs, inhibiting protein synthesis and viral growth. Direct antiviral action also shown in rat hepatoma cells. The major forms of 2'-5' OAS have been described in human cells, that are encoded by three distinct genes clustered on chromosome 12, p40, p46, and p100. The p40/p46 2'-5' OAS is associated with mitochondrial, nuclear and rough/smooth microsomal fractions. The promoter region contains ISRE-element.	Truve, Biotechnology, 1993, 11, 1048 Williams, Nature, 1978, 276, 38 Hovanessian, J Interferon Res, 1991, 11, 199 Chen, EMBO J, 1986, 7, 417 Chebath, J Biol Chem, 1987, 262, 3852 Stark, Nature, 1979, 278, 471
2'-5' OAS p69/71 2'-5' oligoadenylate synthetase p69/71 Antiviral	h: various cell lines	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u)	Activated by dsRNAs, 2'-5' OAS converts ATP into pppA(2'p5'A), n \geq 1 oligomers, that bind and activate latent RNase L, which degrades single-stranded viral and cellular RNAs, inhibiting protein synthesis and viral growth. These major forms of 2'-5' OAS have been described in IFN-treated human cells, that are encoded by three distinct genes clustered on chromosome 12. The p69/71 2'-5' OAS consists of two 2'-5' OAS domains and the rough ER membranes, and the rough ER membranes and the rough ER membranes. The promoter region contains ISRE and two IRF-1-like motifs, that are required for maximal activity after IFN treatment. Binding of ISGF3 and IRF-1 to these elements could be confirmed.	Hovanessian, J Biol Chem, 1988, 263, 4945 Hovanessian, EMBO J, 1987, 6, 273 Chebath, J Biol Chem, 1987, 262, 3852 Floyd-Smith, Exp Cell Res, 1999, 246, 138
2'-5' oligoadenylate synthetase related p30 protein (p30OASL) Antiviral	h: HeLa cells	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u)	The N-terminal end of p30 protein is identical to p56, whereas they differ at their C-termini. p30 contains only an incomplete 2'-5' OAS domain, therefore it is likely to consider that p30 has no 2'-5' OAS activity, p30 is localized in the cytoplasm. The induction by IFN- γ is only very weak.	Rebouillat, Eur J Biochem, 1998, 257, 319
2'-5' oligoadenylate synthetase related p56 protein (p56OASL) Antiviral	h: HeLa cells; AMA cells	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u)	The p56 protein cross-reacts with anti-2'-5' OAS p100 polyclonal antibodies and contains one 2'-5' OAS domain. Nevertheless, p56 lacks the typical catalytic activity to synthesize 2'-5' linked oligoadenylate molecules and is not able to oligomerize. As well as the 2'-5' OAS family, p56 is located on chromosome 12. The C-terminal domain shows homology to the ubiquitin-like protein ISG15. p56 has cytoplasmic and nuclear localization. The induction by IFN- γ is weaker than by IFN type I. The promoter region contains several putative ISRE-elements.	Rebouillat, Eur J Biochem, 1998, 257, 319 Hartmann, Eur J Biochem, 1998, 257, 319
28S rRNA RNA Translation	m: peritoneal IMO	IFN- γ (d), IFN- β (d)	Component of the 60S ribosomal subunit of the 80S eukaryotic ribosome.	Varesio, J Immunol, 1987 139, 2332

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
32S pre-rRNA	r: pancreatic β- cells	IL-1β + IFN-γ (u)	The 32S pre-rRNA is processed into 28S and 5.8S rRNA that form together the large subunit of the eukaryotic ribosome.	Cardozo, Diabetes, 2001, 50, 909
RNA Translation				
36S pre-rRNA	m: peritoneal M0	IFN-γ (u), IFN-β (u), IFN-α (u)		Radzioch, J Immunol, 1987, 139, 805
RNA Translation				
37 kDa Laminin receptor precursor/p40 (37LRP/p40)	a) h: cervix carcinoma-derived cell line, SiHa b) monocytes	a) IFN-γ (d), TNF-α (d), IFN-γ + TNF-α (dd) b) TGF-β (u) + IFN-γ (f)	Bifunctional protein, that is intracellularly a ribosomal-associated protein possibly involved in the cell translation machinery and extracellularly a cell adhesion molecule. The expression of 37LRP/p40 is increased in a large variety of cancers in association with their metastatic phenotype. Constitutive expression in cervix carcinoma cells is only slightly downregulated by the potentially anticarcinogenic cytokines IFN-γ and TNF-α, although a strong reduction in promoter activity could be observed.	a) Clauss, Biochem Biophys Res Commun, 1998, 256, 667 b) Bauvois, J Immunol, 1992, 148, 3912
Extracellular matrix Translation				
3C10 antigen	r: lymph nodes high endothelium venules	IFN-γ (u), TNF-α (u), TGF-β (d)	Lymphocytes migrate from blood into lymph nodes of rats specifically at segments of venules lined by high endothelium (HEV). Monoclonal antibody immunoprecipitates 2 proteins with apparent molecular weights of 90 and 50kDa. 3C10 recognizes tissue-specific ligands for lymphocyte adhesion.	Chin, Immunology, 1996, 87, 559
CAM Antigen				
41S pre-rRNA	m: peritoneal M0	IFN-γ (u), IFN-β (u), IFN-α (u)		Radzioch, J Immunol, 1987, 139, 805
RNA				
45S pre-rRNA	m: peritoneal M0	IFN-γ (u), IFN-β (u), IFN-α (u)	Mammalian cells transcribe ribosomal DNA into a 45S rRNA precursor that matures into 28S, 18S, and 5.8S rRNA after sequential cleavage by endonucleases of internal and external transcribed spacer sequences. The mechanism of interferon action involves post-transcriptional control of ribosomal gene expression. The level of 32S pre-rRNA and of the mature rRNA species 5.8S, 18S and 28S is not affected by IFN treatment.	Radzioch, J Immunol, 1987, 139, 805
RNA				
4A2 antigen	r: brain microvascular endothelial cells	IFN-γ (u)	The 4A2 antigen is involved in the control of lymphocyte migration into the brain and is expressed near inter-endothelial cell junctions. Shares some similar functions with PECAM-1, but 4A2 antigen is not the rat homologue of PECAM-1.	Male, Immunology, 1995, 84, 453
Cell migration CAM Antigen				
52-kD SS-A/Ro	h: fibrosarcoma cell line HT1080 m: bone marrow derived M0	IFN-γ (u), IFN-α (u), IFN-β (u)	Ro is a member of the RBCB-B30.2 protein family containing the RING finger-B box-coiled coil domain and the B30.2 domain. SS-A/Ro shares homologies to Stat50, Rpt-1 and RNF21. The induction level upon IFN type I stimulation of human cells is higher than after IFN-γ treatment.	Der, PNAS, 1998, 95, 15623 Gil, PNAS, 2001, 98, 6680
Ro autoantigen; Ro protein Transcription factor ?				
6-16	h: various cell types	IFN-α (u), IFN-γ (u)	6-16 protein has been implicated in growth inhibition. The induction by IFN-γ is much weaker than by IFN type I.	Giermandsen, Cytokine, 2000, 12, 233 Ackrill, Nucleic Acid Res, 1991, 19, 591
Proliferation ?				
60S ribosomal protein L26 (RPL26)	m: RAW264.7 M0	IFN-γ (u), LPS (u), TNF-α (d)	L26 belongs to the L24p family of ribosomal proteins.	Segade, Life Sci, 1995, 58, 277
RNA Translation				
63D3 antigen	a) h: monocytes b) h: HL-60 cells	a) IFN-γ (d) b) IFN-γ (u)	The function is unknown.	a) Firestein, Cell Immunol, 1987, 104, 343 b) Bail, J Clin Invest, 1983, 73, 1072
Antigen Unclassified				
763.74T antigen MAA	h: melanoma cells	IFN-γ (d)	The function is unknown.	Mortarini, Int J Cancer, 1990, 45, 334
Antigen Unclassified				
9-27	h: various cell lines	IFN-γ (u), IFN-α (u), IFN-β (u)	Member of the 1-8 family. 9-27 is identical to the Leu-13 gene, coding for a transmembrane molecule present in the B-cell receptor signaling complex in association with the tetraspan CD81 (TAPA-1). It was suggested that Leu-13 is involved in the transduction of antiproliferative and homotypic adhesion signals. 9-27 has also been (probably erroneously) supposed to be a HIV RNA-binding protein. Furthermore, 9-27 has been implicated in direct antiviral activities against VSV, but not influenza virus. The promoter region contains one ISRE element.	Lewin, Eur J Biochem, 1991, 199, 417 Constantoulakis, Science, 1993, 259, 1314 retacted by Campbell in: Science, 1994, 264, 952. Landre, J Biol Chem, 1995, 270, 23860 Alber, J Interferon Cytokine Res, 1996, 16, 375 Hayzer, Gene, 1992, 117, 277 Ackrill, Nucleic Acid Res, 1991, 19, 591 Jaffe, J Immunol, 1989, 143, 3961 Friedman, Cell, 1984, 38, 745 Reid, PNAS, 1989, 86, 840 Der, PNAS, 1996, 95, 15623
Antiviral				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
α -myosin heavy chain α MHC, MyH6	r: cardiac myocytes	IFN- γ (d), IL-1 β (u)	MyH6 is a contractile protein and acts as a "fast" ATPase myosin, while the beta isoform is a "slow" ATPase.	Patten, <i>Pluggers Arch</i> , 2001, 442, 920
Cytoskeleton				
α -smooth muscle actin (α -SM A)	a) r: arterial smooth muscle cells; hepatic lipocytes b) h: fibroblasts	a) IFN- γ (d) b) IFN- γ (d)	Actins are highly conserved proteins that are involved in various types of cell motility and are ubiquitously expressed in all eukaryotic cells. Polymerization of globular actin (G-actin) leads to a structural filament (F-actin) in the form of a two-stranded helix. Each actin can bind to 4 others. α -SM A is a secondary response gene, dependent on <i>de novo</i> protein synthesis.	a) Hansson , <i>Pathol Res Pract</i> , 1994, 190, 891 Hansson , <i>J Exp Med</i> , 1989, 170, 1595 Hansson , <i>Circ Res</i> , 1988, 63, 712 Rockey , <i>Hepatology</i> , 1992, 16, 776 b) Tanaka , <i>Int Immunopharmacol</i> , 2001, 1, 769
Cytoskeleton				
α -Tubulin	h: lung squamous cell carcinoma cell line, KNS-62	IFN- γ (u)	The initial growth arrest in the continuous presence of IFN- γ turned to cytopathic effects after 2 days of treatment. The remaining viable cells showed grossly distorted morphology and the presence of apoptotic cells was shown 3 days after stimulation with IFN- γ . The microtubular structures appeared augmented and highly aggregated. The α -tubulin mRNA level was distinctly increased after IFN- γ treatment. The induced effects suggest interference with assembly or maintenance of the tubulin cable network, presumably associated with cell deformation and cytotoxicity.	Everding , <i>J Interferon Cytokine Res</i> , 2000, 20, 983
Cytoskeleton				
α -X actin	m: bone marrow derived M0 from Stat1 ^{-/-} mice	IFN- γ (d)	Involved in cytoskeleton organization and biogenesis.	Gil, <i>PNAS</i> , 2001, 98, 6680
Cytoskeleton				
α -antichymotrypsin ACT; α -ACHY; AACT; SerpinA3	h: hepatoma cell line HepG2	IL-6 (u) + IFN- γ (f)	Acute phase reactants are predominantly synthesized in the liver and their serum levels are increased or reduced already approximately 90 min after the onset of an inflammatory reaction. They function as mediators or inhibitors of inflammation, act as transport proteins for products synthesized during inflammatory processes and/or play an important role in tissue repair and remodeling. α -antichymotrypsin functions as a protease inhibitor with specificity towards leukocyte derived caseinase G and mast cell chymase, both of which can convert angiotensin I to the active form angiotensin II.	Koj , <i>Toikai J Exp Clin Med</i> , 1988, 13, 255
Acute phase				
α 1-antitrypsin (α 1-AT) serin proteinase inhibitor α 1-antitrypsin (AAT)	h: A649 alveolar epithelial cells	oncostatinM (u) + IFN- γ (f)	α 1-AT plays a key role in lung homeostasis. Soluble fragments released by serine proteases-mediated CD23 proteolysis stimulates resting monocytes to produce oxidative burst and proinflammatory cytokine without any co-stimulatory signal.	Boutten , <i>Am J Respir Cell Mol Biol</i> , 1998, 18, 511
Inflammation				
α -macroglobulin (α 2 M)	h: a) astrocytoma cell line T67, glioma cell lines T70, ADF, fetal astrocyte cells b) hepatoma cell line HepG2	a) IFN- γ (u) b) IL-6 (u) + IFN- γ (e)	Acute phase reactants are predominantly synthesized in the liver and their serum levels are increased or reduced already approximately 90 min after the onset of an inflammatory reaction. They function as mediators or inhibitors of inflammation, act as transport proteins for products synthesized during inflammatory processes and/or play an important role in tissue repair and remodeling. α -macroglobulin is one of the major plasma components that binds to all known proteinases, thereby inhibiting their proteolytic activity (proteinase inhibitor). α 2 M-proteinase complexes (activated α 2 M) are recognized by the low density lipoprotein receptor-related protein. It also functions as a binding and carrier protein for cytokines and growth factors and activated α 2 M can enhance the M0 antigen processing. The promoter contains IL-6 response element.	Koj , <i>J Exp Clin Med</i> , 1988, 13, 255 Fabrizi , <i>J Neuroimmunol</i> , 1994, 53, 31
Acute phase				
A_{α} adenosine receptor	m: bone marrow derived M0	IFN- γ (u)	Adenosine is a potent endogenous anti-inflammatory agent and is capable to modulate several functions of M0, such as regulation of nitrite production, inhibition of TNF- α production or inhibition of proliferation. The A_{α} adenosine receptor is a G protein coupled receptor with the functional ability to modulate adenylylate cyclase activity and the interaction of the receptor with adenosine induces the production of cAMP. The stimulation of the receptor inhibits IFN- γ induced MHC class II and iNOS production. The up-regulation of the receptor by IFN- γ itself, thus might be a negative feedback mechanism to deactivate M0.	Xaus , <i>J Immunol</i> , 1999, 162, 3607
Inflammation				
Absent in melanoma-2 (AIM2)	h: HL60 cells	IFN- γ (u)	Member of the HIN-200 family of proteins, consisting of AIM-2, MNDA and IFI16. The HIN-200 family is the human homologue to the murine p200 family, consisting of p202a, p202b, p203, p204 and D3. Unlike other members of this family, AIM2 is localized primarily in the cytoplasm. HIN-200/p200 family proteins participates in the regulation of the cell cycle, differentiation and apoptosis by interacting with transcription factors and growth regulatory proteins. This could be also observed for AIM2, as AIM2 overexpression inhibits cell growth.	De Young , <i>Oncogene</i> , 1997, 15, 453 Choubey , <i>FEBS Lett</i> , 2000, 474, 38 Johnstone , <i>Mol Cell Biol</i> , 1999, 19, 5833 Dawson , <i>J Leukoc Biol</i> , 1996, 60, 310
Proliferation Transcription regulator HIN-200 family				
Absent in melanoma-2 (AIM2)	h: HL60 cells	IFN- γ (u)	Member of the HIN-200 family of proteins, consisting of AIM-2, MNDA and IFI16. The HIN-200 family is the human homologue to the murine p200 family, consisting of p202a, p202b, p203, p204 and D3. Unlike other members of this family, AIM2 is localized primarily in the cytoplasm. HIN-200/p200 family proteins participates in the regulation of the cell cycle, differentiation and apoptosis by interacting with transcription factors and growth regulatory proteins. This could be also observed for AIM2, as AIM2 overexpression inhibits cell growth.	De Young , <i>Oncogene</i> , 1997, 15, 453 Choubey , <i>FEBS Lett</i> , 2000, 474, 38 Johnstone , <i>Mol Cell Biol</i> , 1999, 19, 5833 Dawson , <i>J Leukoc Biol</i> , 1996, 60, 310
Proliferation Transcription regulator HIN-200 family				
Acetylcholin receptor alpha subunit (AChR α); Cholinergeric receptor, Nicotinic, alpha polypeptide 1 (muscle) (CHRNA1)	h: thymic epithelial cell line TEC9	IFN- γ (u)	After binding acetylcholine, the AChR responds by an extensive change in conformation that affects all subunits and leads to opening of an ion-conducting channel across the plasma membrane.	Zheng , <i>Clin Immunol</i> , 1999, 91, 170
Unclassified				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
ActC Cardiac α -actin	r: cardiac myocytes	IFN- γ (u), IL-1 β (u)	Actins are highly conserved proteins that are involved in various types of cell motility and are ubiquitously expressed in all eukaryotic cells. In vertebrates 3 main groups of actin isoforms, α , β and γ have been identified. The α -actins are found in muscle tissues and are a major constituent of the contractile apparatus. The β - and γ -actins co-exist in most cell types as components of the cytoskeleton and as mediators of internal cell motility.	Patten , <i>Pluggers Arch</i> , 2001, 442, 920
Cytoskeleton				
Activin A	a) h: monocytes b) h: bone-marrow derived stromal fibroblasts	a) IFN- γ (u), GM-CSF (u), LPS (u) b) IFN- γ (d), IL-1 β (u)	Member of the activin/inhibin family that consists of two β ₁ subunits and has significant homology with TGF- β . It mediates different functions in a tissue specific manner. Activin A is a multi-functional cytokine with potent stimulation on epithelial cell differentiation in bone marrow. Its activation is inhibited by follistatin. Activin A exhibits anti-inflammatory effects in various tissues.	a) Shao , <i>Exp Hematol</i> , 1992, 20, 1235 b) Abe , <i>Clin Exp Immunol</i> , 2001, 126, 64
Cytokine				
Acyl-Coenzyme A:cholesterol-O-acyltransferase (ACAT)	m: M0 derived foam cells	IFN- γ (u)	Cholesterol efflux is a fundamental process that serves to migrate cholesterol accumulation and M0 foam cell formation. IFN- γ treatment reduces cholesterol efflux and can therefore shift the equilibrium between M0 and foam cells and thus impact the progression of an atherosclerotic lesion. IFN- γ can contribute to the progression of an atherosclerotic lesion by altering the pathway of intracellular cholesterol trafficking in M0 derived foam cells.	Panousis , <i>J Lipid Res</i> , 2000, 41, 75
Lipid transport/metabolism				
Adrenomedullin (AM)	r: endothelial cells (EC)	IFN- γ (d), TGF- β 1 (d), FCS (d), TNF- α (u), IL-1 (u), LPS (u)	Adrenomedullin is a potent vasorelaxant peptide that is constitutively secreted. The IFN- γ mediated downregulation of transcription was not shown but IFN- γ inhibits the secretion of adrenomedullin.	Isumi , <i>Endocrinology</i> , 1998, 139, 838
Inflammation				
Aggrecan (AGC); MSK16; Chondroitin sulfate proteoglycan 1 (CSPG1)	h: chondrocytes	IFN- γ (d), TNF- α (d)	Aggrecan is a proteoglycan and it is a major component of extracellular matrix of cartilaginous tissues. A major function of this protein is to resist compression in cartilage. It binds avidly to hyaluronic acid via an amino-terminal globular region and is cleaved by MMPs and ADAMs.	Dodge , <i>Arthritis Rheum</i> , 1998, 41, 274
Extracellular matrix				
Albumin	h: hepatoma cell lines HepG2 and KYN-2	IFN- γ (u), IL-1 β (u), IL-2 (d), IL-6 (d), TNF- α (d)	Serum albumin, the main protein of plasma, has a good binding capacity for water, Ca ²⁺ , Na ⁺ , K ⁺ , fatty acids, hormones, bilirubin and drugs. Its main function is the regulation of the colloidal osmotic pressure of blood.	Brahimi , <i>Cell Biochem Funct</i> , 2001, 19, 51
Lipid transport/metabolism?				
Alcose reductase	a) h: transitional cell carcinoma b) h: peripheral blood mononuclear cells	a) IFN- γ (d) b) IFN- γ (u)	Alcose reductase is a member of the aldo-keto reductase superfamily. It is a monomeric NADPH-dependent oxidoreductase with broad substrate specificity for carbonyl compounds. The role of alcose reductase in immune responses is not known, but it might function as a detoxification system that degrades aldehydes formed during oxidative damage.	a) Abogayve-Mathiesen , <i>Electrophoresis</i> , 1999, 20, 344 b) Rittner , <i>J Clin Invest</i> , 1999, 103, 1007
Inflammation ?				
Aminopeptidase A (APA); ENPEP; gp160; Glutamyl aminopeptidase	?: renal tubular epithelial cells renal cell carcinoma (RCC)	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u), TNF- α (d), TGF- β 1 (d)	Aminopeptidase A is a membrane ectopeptidase that cleaves acidic amino acid residues from the amino terminal of polypeptide substrates such as angiotensin II and cholecystokinin-8. It plays a role in the catabolic pathway of the renin-angiotensin system and probably also in the regulation of growth and differentiation of early B-lineage cells.	Kehlen , <i>Clin Exp Immunol</i> , 1998, 111, 435
Proliferation ?				
Extracellular matrix				
Aminopeptidase N (APN); ANPEP; Alanyl aminopeptidase; gp150; E.C.3.4.11.2; CD13	h: renal tubular epithelial cells; bronchial epithelial cells	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u), IL-4 (u), IL-13 (u)	CD13 is a membrane ectopeptidase expressed on a variety of cells. It is involved in HIV-1 entry, degradation of extracellular matrix components, processing of peptides and plays a role in control of growth and differentiation of haemopoietic and non-haemopoietic cells. It acts furthermore as a chemoattractant for T-cells.	Kehlen , <i>Clin Exp Immunol</i> , 1998, 111, 435 van der Velden , <i>Cytokine</i> , 1998, 10, 35 Tani , <i>Am J Respir Crit Care Med</i> , 2000, 161, 1636 van Halbeek , <i>J Immunol</i> , 1992, 149, 685 Harris , <i>J Biol Chem</i> , 1992, 267, 6885
Proliferation ?				
Chemoattractant				
Extracellular matrix				
Amphiregulin (AREG); Schwannoma-derived growth factor (SDGF)	h: bronchial epithelial cells	IFN- γ (u)	Amphiregulin is a bifunctional growth-modulating glycoprotein. It inhibits growth of several human carcinoma cells in culture and stimulates proliferation of human fibroblasts and certain other tumor cells. Amphiregulin serves as a ligand of the EGF-R.	Asano , <i>J Clin Invest</i> , 1997, 99, 1057
Growth factor				
Anandamide Hydrolase Fatty acid amide hydrolase (FAAH)	h: peripheral lymphocytes	IFN- γ (d), IL-12 (d), IL-4 (u), IL-10 (u)	Endocannabinoids can act as immunomodulators after binding to their specific cannabinoid receptors. Their intracellular degradation occurs by uptake through a specific transporter, followed by FAAH mediated degradation. Th1-type cytokines down-regulate, whereas Th2-type cytokines up-regulate FAAH. The expression of cannabinoid receptors or transporters is not affected. The role this regulation within the cellular response to IFN- γ is not known, but might be related to the immunomodulatory activities of endocannabinoids.	Maccarrone , <i>J Immunol</i> , 2001, 166, 7183
Inflammation				
Angiotensin II type 1 receptor (AT1R)	r: vascular smooth muscle cells	IL-1 α (u); TNF- α + IFN- γ (d bind.); IL-1 α + TNF- α , IFN- γ (d)	AT1R is an hormone receptor involved in the downregulation of AT1 receptors by a nitricoxide-dependent mechanism.	Sasamura , <i>Hypertension</i> , 1997, 30, 35
Hormone/ Hormone metabolism				
Angiotensin II type 1 receptor (AT1R)	r: vascular smooth muscle cell	IFN- γ (d)	AT1R is a receptor for angiotensin II and mediates its action by association with G-proteins that activate a phosphatidylinositol-calcium second messenger system. Angiotensin II causes potent vasoconstriction, aldosterone secretion and sympathetic activation. All of these actions contribute to the development of hypertension. The promoter region contains multiple GAS-like elements. Transcription suppression is dependent on MAP kinase and JAK-2.	Ikeeda , <i>Biochem Biophys Res Commun</i> , 1999, 262, 494
Hormone/ Hormone metabolism				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
Angiotensin II type 2 receptor (AT2R)	m: R3T3 fibroblasts	see remarks	AT2R is a receptor for angiotensin II and may have a role in cell morphogenesis and related events in growth and development. The AT2R promoter region does contain an ISRE element to which the binding of IRF-1 and IRF-2 was shown. The IFN- γ mediated upregulation was not shown.	Horiuchi, <i>Circ Res</i> , 2000, 86, 233 Horiuchi, <i>J Biol Chem</i> , 1995, 270, 20225
Hormone/ Hormone metabolism				
Apolipoprotein E (ApoE)	a) h: hepatoma cell lines; a) h: fibroblasts; b) CCF-STTG1 monocytes; M0 c) h: primary astrocytes	a) IFN- γ (d) b) IFN- γ + IL-1 α / β (d) c) IFN- γ (du)	ApoE is a secreted protein mainly produced by the liver and in circulating M0. It is a major constituent of various lipoproteins of the blood. It is also secreted by fibroblasts, macrophages, and endothelial cells. ApoE is secreted through its specific receptors with lipoprotein receptors of hepatic and extrahepatic tissues. It is also implicated in reverse cholesterol transport from peripheral tissues to the liver, and participates in several other processes such as immunoregulation (regulation of lymphocyte proliferation and NO production), peripheral nerve regeneration, and synaptic plasticity. Furthermore ApoE has been implicated in major age-related disorders such as atherosclerosis or Alzheimer's disease. The inhibiting effect mediated by IFN- γ occurs by posttranslational mechanisms.	a) Brahimi , <i>Cell Biochem Funct</i> , 2001, 19, 51 Stern, <i>Cell Biochem Funct</i> , 2000, 18, 9 Brand, <i>J Clin Invest</i> , 1993, 91, 2031 Garner, <i>Atherosclerosis</i> , 1997, 128, 47 b) Baskin , <i>J Neurol Sci</i> , 1997, 148, 15 c) Oropeza , <i>Brain Res</i> , 1987, 410, 45 Colton , <i>Biochim Biophys Acta</i> , 2001, 1535, 134
Arginase type II	f: aortic smooth muscle cells, RASMCs	LPS (u), LPS + IFN- γ (d)	Arginase type II is involved in the first step in arginine degradation in the urea cycle. It may play a role in the regulation of extra-urea cycle arginine metabolism and also in down-regulation of nitric oxide synthesis. Arginase type II mRNA levels decreased more rapidly in cells treated with LPS + IFN- γ . This may be one mechanism by which IFN- γ decreases arginase activity in LPS treated RASMC.	Rastogi , http://www.apnet.com/www/journal/inox/9005.html
Nitric oxide related Antiviral Antimicrobial				
Argininosuccinate synthetase (AS); ASS	a) m: RAW264.7 M0 b) m: vascular smooth muscle cells c) f: brain glial cells	a) IFN- γ (u) b) LPS (u), LPS + IFN- γ (uu) c) LPS + IFN- γ (u)	AS is an enzyme of the urea cycle, involved in the "citrulline-NO cycle". This metabolic pathway enables cells to regenerate L-arginine (substrate of NOS) from L-citrulline (product of NOS).	a) Morris , <i>Am J Physiol</i> , 1994, 266, E829 b) Hattori , <i>J Biol Chem</i> , 1994, 269, 9405 c) Heneka , <i>J Cereb Blood Flow Metab</i> , 1999, 19, 898
Nitric oxide related Antiviral Antimicrobial				
ARL4 ADP-ribosylation factor-like 4	f: pancreatic β - cells	IL-1 β + IFN- γ (u)	ARL4 belongs to the ARF family of GTP-binding proteins that are involved in vesicle budding and remodeling of the actin cytoskeleton.	Cardozo , <i>Diabetes</i> , 2001, 50, 909
GTPase Cytoskeleton				
Anylhydrocarbon receptor AIP; ARA9; XAP2	m: bone marrow derived M0	IFN- γ (u)	AIP may play a positive role in AHR-mediated (aromatic hydrocarbon receptor) signaling, possibly by influencing its receptivity for ligand and/or its nuclear targeting. AIP is also a cellular negative regulator of the hepatitis B virus X protein.	Gil , <i>PNAS</i> , 2001, 98, 6680
Signal transduction Antiviral ?				
ATP-binding-cassette transporter 1 (ABC1)	m: M0; M0 derived foam cells	IFN- γ (d)	Cholesterol efflux is a fundamental process that serves to migrate cholesterol accumulation and M0 foam cell formation. IFN- γ treatment reduces cholesterol efflux and can therefore shift the equilibrium between M0 and foam cells and thus impact the progression of an atherosclerotic lesion. The ABC1 gene is responsible for the defect in Tangier disease.	Panousis , <i>Arterioscler Thromb Vasc Biol</i> , 2000, 20, 1565
Lipid transport/metabolism				
Autotaxin Nucleotide pyrophosphatase/ Phosphodiesterase-2 (NPP-2)	h: fibroblast-like synoviocytes (SFC)	IFN- γ (d)	Autotaxin is a membrane-bound ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase and is a potent tumor cell motility-stimulating protein. Downregulation occurs at the mRNA level. May be part of the IFN- γ function in rheumatoid arthritis.	Santos , <i>Biochem Biophys Res Commun</i> , 1996, 228, 419
Unclassified				
B lymphocyte stimulator (BLYS)	h: monocytes	IFN- γ (u)	BLYS is a member of the TNF-family, that induces B-cell proliferation and immunoglobulin secretion.	Moore , <i>Science</i> , 1999, 285, 260
Cytokine				
β -amyloid precursor protein (β -APP)	h: SKNMC neuroblastoma cells	IFN- γ (d)	Proteolytic fragments of the β -APP glycoprotein have been implicated in the neuropathology of Alzheimer's disease. Proteolytic fragments are neurotoxic, induce proinflammatory cytokines, destabilize neuronal calcium levels, and increase neuronal vulnerability to excitatory aa neurotoxicity. The promoter region contains binding motifs for USF, AP-family members and NFkB. The promoter activity is up-regulated by PMA, IL-1 β , NGF and bFGF. IFN- γ stimulation leads to a dose-dependent down-regulation of the promoter activity.	Ringheim , <i>Biochem Biophys Res Commun</i> , 1996, 224, 246
Unclassified				
B-lymphocyte-induced maturation protein-1 (blimp-1); PRD1BF1	h: Raji cells	(Estradiol + ZnFERD (u) + IFN- γ (e)	Blimp-1 is a transcriptional repressor and the major regulator of terminal differentiation of B-cells and myeloid cells. Enhancement of blimp-1 upregulation by IFN- γ was only observed when a dominant-negative BCL-6 protein (ZnFERD) was activated by estradiol. Suggesting that IFN- γ is not involved in blimp-1 regulation under physiological conditions.	Shaffer , <i>Immunity</i> , 2000, 23, 199
Transcriptional repressor Proliferation				
β -myosin heavy chain β MHC; MYH7	r: cardiac myocytes	IFN- γ (u), IL-1 β (u)	MYH7 is a contractile protein and acts as a "slow" ATPase myosin, while the alpha isoform is a "fast" ATPase.	Patten , <i>Plugers Arch</i> , 2001, 442, 920
Cytoskeleton				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
β_2 -microglobulin (β_2m)	various cell types of different origin (except its very early embryonic cells and some tumors)	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u), TNF- α (u)	β_2m is non-covalently bound to MHC class I heavy chains and the expression of MHC class I molecules on the cell surface depends on coexpression of the non MHC-encoded β_2m chain. Therefore the expression of β_2m is largely coordinated with MHC class I heavy chain genes. The promoter is unrelated to MHC class I but has adjacent ISRE and NF- κ B sites.	Kimura, Cell, 1986, 44, 261 Farber, Mol Cell Biol, 1992, 12, 1535
Antigen presentation				
BaK	h: colon adenocarcinoma cell line HT-29; fibrosarcoma cell line HT1080	IFN- γ (u)	BaK belongs to the apoptosis related gene families of p53 independent apoptosis genes. It is a Bcl-2 family member. In the presence of an appropriate stimulus, it accelerates programmed cell death by binding to, and antagonizing the a repressor Bcl-2 or its adenovirus homolog E1b 19k protein.	Ossina, J Biol Chem, 1997, 272, 16351 Der, PNAS, 1998, 95, 15623 Shyu, J Surg Oncol, 2000, 75, 122
Apoptosis				
Basigin	rab: cortical collecting duct cell line RC.SV3	IFN- γ (d)	Basigin is a member of the immunoglobulin superfamily, its ligand is not identified but it seems to be involved in development or cell-cell signalling. Decreased mRNA level after IFN- γ stimulation.	Schuster, Biochim Biophys Acta, 1996, 1311, 13
Basic immunoglobulin superfamily; Membrane glycoprotein gp42; Glycoprotein CE-9; Leukocyte activation antigen M6; Collagenase stimulatory factor; 4D4 antigen; NRP1; OX-47; HT7; 9A11; Neurothelin				
Extracellular matrix				
CAM				
bax	h: epithelial conjunctival cell line Chang	IFN- γ (u)	Bax accelerates programmed cell death by binding to, and antagonizing the apoptosis repressor bcl-2 or, its adenovirus homolog E1b 19k protein. It induces the release of cytochrome c, activation of caspase-3, and thereby apoptosis.	De Saint, Invest Ophthalmol Vis Sci, 1999, 40, 2199
Apoptosis				
Bcl-2	a) h: normal keratinocytes b) h: psoriatic keratinocytes	a) IFN- γ (d) b) IFN- γ (u)	BCL-2 suppresses apoptosis in a variety of cell systems including factor-dependent lymphematopoietic and neural cells. It regulates cell death by controlling the mitochondrial membrane permeability. It appears to function in a feedback loop system with caspases. It inhibits caspase activity either by preventing the release of Cytochrome C from the mitochondria and/or by binding to the apoptosis-activating factor (apaf-1).	Chen, FASEB J, 2000, 14, 565 Schny, J Surg Oncol, 2000, 75, 122
Apoptosis				
Bcl-2 binding component 3 (BBC3)	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN- γ (u), IFN- α (u)	BBC3 is a pro-apoptotic member of the Bcl-2 family. It is a direct transcriptional target of p53.	Der, PNAS, 1998, 95, 15623
Apoptosis				
BCR	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN- γ (d), IFN- α (d)	BCR is a GTPase-activating protein for Rac1 and Cdc42. It promotes the exchange of Rac or Cdc42-bound GDP by GTP, thereby activating them. It displays serine/threonine kinase activity.	Der, PNAS, 1998, 95, 15623
Breakpoint cluster region; D22S11; D22S62; BCR1				
GTPase activating protein Proliferation				
Best5	h: osteosarcoma cell line MG63 (best5 was identified in rat)	IFN- γ (u), IFN- α (u)	Best5 shows high homology to vlg-1 and to the human c1g5 gene. It is predominantly expressed in bone marrow and spleen. IFN- γ induces a continued and prolonged induction of best5 mRNA, whereas IFN- α elicited only a transient induction. Thus, IFN- γ inhibits bone resorption and exhibits antiproliferative actions on bone-derived cells. Immunolocalization studies show that Best5 protein is specifically localized to cells of the periosteum and osteoblasts lining forming bone surfaces on periosteal and endosteal surfaces. Best5 is normally expressed by actively forming osteoblasts.	Grewal, FASEB J, 2000, 14, 523 Boudinot, J Virol, 1999, 73, 1846 Sofia, Nucl Acid Res, 2001, 29, 1097 Zhu, PNAS, 1997, 94, 13885
Proliferation				
Biglycan (BGN)	h: chondrocytes	TNF- α (d) TNF- α + IFN- γ (dd)	BGN is found in the extracellular matrices of several connective tissues, specially in articular cartilages. BGN specifically forms a ternary complex with tropoelastin and MAGP-1. BGN may have a specific role in the elastogenic phase of elastic fiber formation.	Dodge, Arthritis Rheum, 1998, 41, 274
Extracellular matrix				
Biliary glycoprotein-1 (BGP-1); CD66a; Cell CAM-1 (C-CAM-1)	a) h: colon cancer cell lines; HEL cells b) im: MO	a) IFN- γ (u) b) IFN- γ (d)	BGP-1 is a member of the carcinoembryonic antigen (CEA) family including BGP-1, CEA, NCA and PSG. Furthermore it is a member of the immunoglobulin superfamily. It exists as two isoforms, one encoding for a single gene, and another one encoding for a double gene. The two genes are regulated by the same promoter after induction by the activation of the insulin receptor. The mouse and human BGP forms act as Ca^{2+} -dependent adhesion molecules <i>in vitro</i> and furthermore, the murine isoform BGP1a is the main receptor for murine hepatitis virus 3 (MHV3). BGP-1 is expressed on luminal surface and has tumor suppressor properties. The human BGP-1 promoter region contains ISRE, Sp1 and Sp1-like binding sites. The binding of IRF-1 to the ISRE-element was confirmed. The Sp1-like complex was also induced by IFN- γ treatment of HT-29 cells and may be a second point of transcriptional control for the BGP gene. The down-regulation of BGP1a in MHV3 resistant MO of AJ mice participates in IFN- γ induced antiviral effects.	a) Takahashi, Cancer Res, 1993, 53, 1612 Yoshida, Anticancer Res, 1994, 14, 292 Chen, J Biol Chem, 1996, 271, 28181 b) Vassao, Virology, 2000, 274, 278
CAM				
CEA family				
Antiviral				
Bradykinin B1 receptor	a) h: T-cells b) h: brain endothelial cells	a) IFN- γ + TNF- α (u) b) IFN- γ (u)	Membrane-bound G protein-coupled receptor. Upregulated on the surface of various cell types during inflammation.	a) Prat, Neurology, 1999, 53, 2087 b) Prat, J Neuroimmunol Exp Neurol, 2000, 59, 896
Inflammation				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
BS4 NUB1 homologue	m; ?	?	BS4 belongs to the mmp/ubp35 family of ATP-binding proteins. It is homologous to NUB1 which possesses a ubiquitin-like domain and may play a role in the proteasomal degradation pathway.	Shan, 1996, NCBI protein database
Antigen processing ?				
BSC2 Methanide-sensitive Na-K-Cl Cotransporter, NKCC1	h: HUVEC	(IL-1 β) (u), TNF- α (u) + IFN- γ (f) LPS (u) in vivo, mouse	Member of the superfamily of 12 membrane-spanning transporters. Regulation occurs at the transcriptional level. The Na-K-Cl cotransporter is thought to support the cell's ionic conditions; vectorial transport of ions across certain polarized epithelia and regulation of intracellular volume of many cell types.	Topper, J Clin Invest, 1997, 99, 2941
Unclassified				
BTG1 B-cell translocation gene 1	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN- γ (u), IFN- β (u), IFN- α (u)	BTG-1 acts as an anti-proliferative protein. Its expression is associated with the early G ₁ phase of the cell cycle.	Der, PNAS, 1998, 95, 15623
Proliferation				
Bullous pemphigoid antigen 1 (BPAG1); BPA, BP antigen, Hemidesmosomal plaque protein; BP240	a) h: epidermal keratinocytes b) m: keratinocyte cell line PAM 212	a) IFN- γ (d) b) IFN- γ (u)	BPAG1 is a component of hemidesmosome plaques. It probably self-aggregates to form filaments or a two-dimensional meshwork with potential interactions with keratin intermediate filaments. Terminal differentiation of epidermal keratinocytes from the proliferative basal phenotype to formation of the cornified envelope involves activation and inactivation of a variety of genes. One of the markers of the mitotic basal cell phenotype is the expression of BPAG, two proteins that were initially recognized as autoantigens in the subepidermal blistering skin disease bullous pemphigoid. IFN- γ has direct inhibitory effects on keratinocytes growth and induces terminal differentiation. IFN- γ mediated down-regulation occurs primarily at the transcriptional level and is independent of <i>de novo</i> protein synthesis. The promoter element responsible for the IFN- γ mediated down-regulation does not show any homology to GAS- or ISRE-elements.	a) Tamai, J Biol Chem, 1995, 270, 392 b) Sugita, Br J Dermatol, 1992, 126, 468
Extracellular matrix Cytoskeleton				
c-erbB-2 Receptor protein tyrosine kinase precursor; HER-2/neu; NGL	h: ovarian carcinoma cell lines; prostate cancer cell lines DU145 and PC-3	IFN- γ (d)	c-erbB-2 is a proto-oncogene. Its downregulation by IFN- γ might be a part of the antitumor effect of IFN- γ . A significant effect on the expression occurs at a late time point and is due to transcriptional regulation. Furthermore IFN- γ also depresses the erbB-2 kinase activity.	Marth, Cancer Res, 1990, 50, 7037 Marth, Gynakol Geburtshilfliche Rundsch, 1992, 32, 31 Mishra, Int J Cancer, 1994, 58, 538
Transcription factor ? Proliferation Protein-Tyrosin kinase Oncogene				
c-fos c- fos proto-oncogene	a) h: monocytes b) h: monocytes c) m: M0 d) m: astrocytes; M0, sertoli cells e) m: bone marrow derived M0	a) IFN- γ (u), TNF- α (u), LPS (u) b) IFN- γ + LPS (d) c) IPA (u) + IFN- γ (f) d) IFN- γ (u) e) IFN- γ (d)	c-fos is a proto-oncogene and a member of the activator protein-1 (AP-1) family of transcription factors. The regulation may involve transcriptional as well as posttranscriptional events leading to increased or decreased c-fos expression and DNA binding capacity.	a) Kaminska, Cell Biol Int Rep, 1992, 16, 37 b) de Wit, Exp Hematol, 1996, 24, 228 c) Ratzloch, Mol Cell Biol, 1991, 11, 2718 d) Rubio, Immunology, 1997, 91, 560 Tengku-Muhammad, Cytokine, 2000, 12, 720 Jenab, Endocrinology, 1997, 138, 2740 e) Gill, PNAS, 2001, 98, 6680
Oncogene				
c-jun c-jun proto-oncogene	a) h: monocytes b) h: monocytes c) m: EF derived from Stat1 ^{-/-} astrocytes, M0 cell line J774.2	a) IFN- γ + LPS (d) b) IFN- γ (u), LPS (u) c) IFN- γ (u)	c-jun is a proto-oncogene and a member of the activator protein-1 (AP-1) family of transcription factors. The regulation probably occurs mainly at the transcriptional level, leading to a increased or reduced DNA binding capacity.	a) de Wit, Exp Hematol, 1996, 24, 228 b) Kaminska, Cell Biol Int Rep, 1992, 16, 37 c) Ratzloch, Mol Cell Biol, 1991, 11, 2718 d) Rubio, Immunology, 1997, 91, 560 Tengku-Muhammad, Cytokine, 2000, 12, 720
Transcription factor Oncogene				
c-myc c-myc proto-oncogene	a) h: epidermal keratinocytes b) h: mammary epidermal cells; vascular smooth muscle cells c) h: HeLa cells d) m: M0 e) m: astrocytes	a) IFN- γ (u) b) IFN- γ (d) c) IFN- γ + TNF- α (d) d) GSF-1 (u) + IFN- γ (f) e) IFN- γ (u)	The proto-oncogene c-myc is involved in the cell proliferation and cell growth. The IFN- γ mediated regulation of c-myc might be involved in the anti-proliferative or cell differentiation effect of IFN- γ . The repression of transcription occurs at the proximal region of the c-myc P2 promoter via the repression of E2F factor binding to its promoter motif.	a) Arany, In Vivo, 1997, 11, 157 b) Harvat, Cell Growth Differ, 1996, 7, 289 c) Hasegawa, J Biol Chem, 1994, 269, 674 d) Bensch, J Biol Chem, 1994, 269, 30270 e) Carlberg, Int J Oncol, 1999, 15, 121 f) Dey, J Cell Biol, 1999, 72, 232 g) Rubio, Brain Res Mol Brain Res, 1999, 71, 104
Transcription factor Proliferation Oncogene				
C/EBP α CCAAT-enhancer binding protein α	m: M0 J774.2	IFN- γ (d), TNF- α (d), IL-1 (d), LPS (d)	Transcription factor. C/EBP isoform. C/EBP proteins consist of an activation domain, a basic leucine zipper dimerization domain, by which they form homo- and heterodimers with other C/EBP family members, and a DNA binding domain. They are involved in a variety of regulatory functions, including normal tissue development, cellular proliferation and differentiation.	Tengku-Muhammad, Cytokine, 2000, 12, 1430
Transcription factor				
C/EBP β CCAAT-enhancer binding protein β ; NF-IL6	a) m: J774.2 M0; 3T3 fibroblasts; J774.A1 M0; pentononal M0 b) EF derived from Stat1 ^{-/-} mice c) h: THP-1 derived M0; fibrosarcoma cell line HT1080	a) IFN- γ (u), TNF- α (u), IL-1 (u), IL-6 (u), LPS (u) b) IFN- γ (u) c) IFN- γ (u)	Transcription factor. C/EBP isoform. C/EBP β is essential for M0 function and is strongly induced during M0 differentiation and activation. Binding motifs for C/EBP β have been found in the promoter regions of genes specially induced in activated M0, like IL-6, IL-8, IL-1 α , G-CSF or NO synthase. Mice deficient for the C/EBP β gene showed that C/EBP β plays an essential role in the cellular immune defense system, such as against foreign pathogens. Promoter region contains GAS element. C/EBP β is mediating transcriptional activation of the IRF-9 gene, both by maintaining the basal level and elevating the expression of IRF-9 in response to IFN- γ stimulation. This occurs by binding to the IFN- γ response element GATE within the IRF-9 promoter. C/EBP β acts together with a not yet identified dimerization partner.	a) Tengku-Muhammad, Cytokine, 2000, 12, 1430 Xiao, J Biol Chem, 2001, 276, 23275 DiSanto, J Immunol, 1999, 162, 6171 Hirayama, PNAS, 2001, 98, 5039 Tengku-Muhammad, Cytokine, 2000, 12, 1430 c) Cantwell, Mol Cell Biol, 1998, 18, 2108 Der, PNAS, 1998, 95, 15623
Transcription factor				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
C/EBP δ CCAAT-enhancer binding protein δ	a) M0 J774.2 b) h: hepatoma cell lines Hep3B and HepG2	a) IFN- γ (u), TNF- α (u), IL-1 (u), IL-6 (u) b) IFN- γ (u), IL-6 (u)	C/EBP isoform implicated as the most important C/EBP family member in activating acute phase response genes. Other reports show that C/EBP δ is specifically upregulated by IL-6 but not IFN- γ .	a) Tongku-Muhammad , <i>Cytokines</i> , 2000, 12, 1430 b) Cartwright , <i>Mol Cell Biol</i> , 1998, 18, 2108 c) Granger , <i>Biochem Biophys Acta</i> , 2000, 1501, 171
Transcription factor				
C1 inhibitor (C1Inh); Complement component C1 inhibitor	h: hepatoma cell lines; peripheral blood monocytes; peritoneal M0; Kupffer cells; skin fibroblasts; HUVEC	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u), IL-6 (u)	C1Inh is a member of the serpin family of serin proteinase inhibitors and regulates activation of the complement system, the contact system of kinin generation, and the intrinsic coagulation pathway. C1Inh blocks the catalytic activity of C1r and C1s and is the major regulator of factors XI and XII and of plasma kallikrein. It binds to activated C1r and C1s and removes them from C1q. IFN- γ stimulation mediates an increased transcription rate and increased mRNA stability. The TATA-less promoter contains two ISRE- and two GAS-motifs. The binding of GAF to the GAS elements was shown.	Lappin , <i>Biochem J</i> , 1990, 268, 387 Lappin , <i>Biochem J</i> , 1992, 281, 437 Heda , <i>Blood</i> , 1990, 75, 2401 Zuraw , <i>J Biol Chem</i> , 1990, 268, 387 Lappin , <i>Eur J Biochem</i> , 1990, 194, 177 Zuraw , <i>J Immunol</i> , 1989, 143, 3859 Zuraw , <i>J Immunol</i> , 1987, 138, 3901 Zahedi , <i>J Biol Chem</i> , 1994, 269, 9669 Zahedi , <i>J Immunol</i> , 1999, 162, 7249
C1-tetrahydrofolate synthase (C1-Hfolate synthase)	r: pancreatic β - cells	IL-1 β + IFN- γ (u)	Belongs to the cyclo-ligase family. Transcript levels are highest in kidney and liver with liver transcripts reduced about 30% relative to the control. Testis, testis and skeletal muscle display even lower transcript levels, reductions range from 70 to 80% of transcript levels found in kidney.	Cardozo , <i>Diabetes</i> , 2001, 50, 909
Unclassified				
C1qR Complement component C1q receptor; C1q receptor	r: microglia	IFN- γ (u)	C1qR is involved in the binding of immune complexes to phagocytes and modulates phagocytosis.	Kortzer , <i>Exp Neurol</i> , 1995, 134, 214
Acute phase Complement system				
C3aR Complement component C3a receptor; C3a receptor, C3a anaphylatoxin chemotactic receptor	h: monocytic cell lines	IFN- γ (u)	C3aR acts as a receptor for the chemotactic and inflammatory peptide anaphylatoxin C3a. It stimulates chemotaxis, granule enzyme release and superoxide anion production. IFN- γ potentiated the activation of C3aR but not the C3aR, as measured by an increase in free cytosolic Ca ²⁺ upon ligand activation.	Burg , <i>J Immunol</i> , 1996, 157, 5574
Acute phase Complement system				
Ca ²⁺ -ATPase type 2	r: pancreatic β - cells	IL-1 β + IFN- γ (d)	Ca ²⁺ -ATPase type 2 belongs to the cation-transporting ATPases of the aspartylphosphate class.	Cardozo , <i>Diabetes</i> , 2001, 50, 909
Unclassified				
Ca ²⁺ ATPase	r: astrocytes	IFN- γ (u)	This magnesium dependent enzyme catalyzes the hydrolysis of ATP coupled with the transport of the calcium. It transports calcium ions from the cytosol into the sarcoplasmic/endoplasmic reticulum lumen. It contributes to calcium sequestration involved in muscular excitation/contraction.	Kuchinke , <i>Neuroimmunomodulation</i> , 1995, 2, 347
Unclassified				
Calpain EC 3.4.22.17	a) h: monocytic cell line U937; THP-1 cells b) r: C6 glioma cells	a) IFN- γ (u) b) IFN- γ (u)	Calpains are neutral Ca ²⁺ activated cysteine protease that has been implicated in apoptosis of immune cells. It also may play a role in demyelination observed in experimental allergic encephalomyelitis (EAE) and multiple sclerosis (MS).	a) Deshpande , <i>J Biol Chem</i> , 1995, 270, 2497 b) Ray , <i>Brain Research</i> , 1999, 829, 18
Apoptosis				
CAP-like protein	r: astrocytes	IFN- γ (u)	CAP-like protein is similar to the catabolite activation factor (CAP) and may play a role in the regulation of phytopathogenicity.	Kuchinke , <i>Neuroimmunomodulation</i> , 1995, 2, 347
Unclassified				
Carcinoembryonic antigen (CEA); CD66e; Mesontium Antigen 100; CEACAM1	h: colon tumor cell lines : lung cancer cell line GLL-1; HUVEC; endothelial cell line Ea.hy926	IFN- γ (u), IFN- α (u), TNF- α (u), IL-6 (u)	CEA is a member of the carcinoembryonic antigen (CEA) family including BGP-1, CEA, NCA and PSG. Furthermore it is a member of the immunoglobulin superfamily. It is attached to the membrane by a GPI-anchor. It is found in adenocarcinomas of endodermally derived digestive system epithelia and foetal colon. It was suggested that CEA might participate in cell adhesion, IFN- γ mediated antiproliferative effects, or in anti-bacterial mechanisms, as it binds to bacteria. The up-regulation of CEA is dependent on <i>de novo</i> protein synthesis. The promoter region contains an ISRE-element. Posttranscriptional mechanisms, as increased mRNA stability, may be also involved in the up-regulation.	Guadagni , <i>J Natl Cancer Inst</i> , 1989, 81, 502 Guadagni , <i>Cancer Res</i> , 1990, 50, 6248 Takahashi , <i>Cancer Res</i> , 1993, 53, 1612 Hauck , <i>Cancer Res</i> , 1991, 51, 3526 Kantor , <i>Cancer Res</i> , 1989, 49, 2651 Masumoto , <i>Anticancer Res</i> , 1999, 19, 307 Bombardieri , <i>J Biol Regul Homeost Agents</i> , 1987, 1, 133 Verhaar , <i>Cancer Lett</i> , 1999, 139, 67 Zhou , <i>Gene</i> , 2001, 264, 105 Majuri , <i>APMIS</i> , 1994, 102, 432
CAM CEA family Fibrinolytic ? Antimicrobial ?				
CAS Cellular apoptosis susceptibility; Homologous to the Yeast chromosome segregation gene CSE1	h: HT-29 colon carcinoma cells	IFN- γ (u)	CAS is a nuclear transport factor that plays a role in proliferation and apoptosis and is associated with microtubules and mitotic spindle. The IFN- γ induced expression of CAS is mediated by IRF-1	Jiang , <i>Mol Cell Biol Res Commun</i> , 2001, 4, 353
Apoptosis Proliferation				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
Caspase-1 Interleukin-1 β converting enzyme (ICE); p45	a) h: colon adenocarcinoma cell line HT-29; erythroid progenitor cells; pancreatic islet cells, histiocytic lymphoma cells b) m: HeLa cells; A431 cells; activated lymphoid cells	a) IFN- γ (u) b) IFN- γ (u)	Caspases are a family of aspartic acid-specific proteases that are involved in apoptosis and activation of cytokines. Caspase-1 is involved in apoptosis and plays a central role as an essential mediator of inflammation and immune regulation. Through the proteolytic processing and activation of IL-1 β and IL-18. The Caspase-1 promoter has a canonical ISRE core sequence and the induction of caspase-1 is completely dependent on IRF-1.	a) Ossina , J Biol Chem, 1997, 272, 16351 b) Dai , Blood, 1999, 93, 3309 Karlsmen , J Clin Endocrinol Metab, 2000, 85, 830 Lin , J Biol Chem, 2000, 275, 39920 Tamura , Biochem Biophys Res Comm, 1996, 229, 21 Chin , Mol Cell Biol, 1997, 17, 5328 b) Karlsmen , J Clin Endocrinol Metab, 2000, 85, 830 Tamura , Nature, 1995, 376, 596
Apoptosis				
Caspase-10 Mch-4	h: colon adenocarcinoma cell line HT-29	IFN- γ (u)	Caspases are a family of aspartic acid-specific proteases that are involved in apoptosis and activation of cytokines. Caspase-10 is involved in apoptosis and plays a central role as an essential mediator of inflammation and immune regulation. Through the proteolytic processing and activation of IL-1 β and IL-18. The Caspase-10 promoter has a canonical ISRE core sequence and the induction of caspase-10 is completely dependent on IRF-1.	Ossina , J Biol Chem, 1997, 272, 16351
Apoptosis				
Caspase-11	a) m: primary cultured hepatocytes of IRF-1 deficient mice b) r: astrocytes; glial cells	a) IFN- γ (u) b) IFN- γ (u), LPS (u), TNF- α (u)	Caspases are a family of aspartic acid-specific proteases that are involved in apoptosis and activation of cytokines. Caspase-11 is an upstream activator of caspase-1, that is required for the maturation of proinflammatory cytokines (i.e. IL-1 and IL-18) and also activates caspase-3, leading to apoptosis under pathological conditions. No counterpart of caspase-11 exists in human. Mice deficient in caspase-11 have a very similar phenotype to caspase-1 deficient mice. Caspase-11 is upregulated by an IRF-1 independent mechanism. Caspase-11 might be the mouse ortholog of human caspase-4.	a) Kano , Biochem Biophys Res Commun, 1999, 257, 672 b) Hur , FEBS Lett, 2001, 507, 157
Apoptosis				
Caspase-2 Nedd2; ICH-1	h: erythroid progenitor cells (erythroid colony-forming cells, ECFC)	IFN- γ (u)	Caspases are a family of aspartic acid-specific proteases that are involved in apoptosis and activation of cytokines. Caspase-2 may function as both an upstream activator of the caspase activation cascade (instigator) and a downstream killer (terminator). It might function by either activating proteins required for cell death or inactivating proteins necessary for cell survival.	Dai , Blood, 1999, 93, 3309
Apoptosis				
Caspase-3 CPP32; Yama; Apopain	a) h: colon adenocarcinoma cell line HT-29; erythroid progenitor cells (erythroid colony-forming cells, ECFC) b) m: primary cultured hepatocytes of IRF-1 deficient mice	a) IFN- γ (u) b) IFN- γ (u)	Caspases are a family of aspartic acid-specific proteases that are involved in apoptosis and activation of cytokines. Caspase-3 functions as a terminator caspase and furthermore proteolyzes and activates caspase-6, -7 and -9. It is cleaved and activated by granzyme B, Apaf-1, caspase-6, -8 and -10. The induction of caspase-2 is IRF-1 independent.	a) Ossina , J Biol Chem, 1997, 272, 16351 Dai , Blood, 1999, 93, 3309 b) Kano , Biochem Biophys Res Commun, 1999, 257, 672
Apoptosis				
Caspase-4 ICH-2; ICE $_{m11}$; TX	h: HT-29 colon carcinoma cells	IFN- γ (u)	Caspases are a family of aspartic acid-specific proteases that are involved in apoptosis and activation of cytokines. Caspase-4 could be the human ortholog of mouse caspase-11. It is activated by autocatalytic cleavage or by cleavage by caspase-8 and plays an essential role in the generation of inflammatory responses as well as in apoptosis under pathological conditions. Caspase-4 is an upstream activator of caspase-1.	Ossina , J Biol Chem, 1997, 272, 16351
Apoptosis				
Caspase-5 ICE $_{m13}$; TY	h: HT-29 colon carcinoma cells	IFN- γ (u)	Caspases are a family of aspartic acid-specific proteases that are involved in apoptosis and activation of cytokines. Caspase-5 plays an essential role in the generation of inflammatory responses as well as in apoptosis under pathological conditions and might act as both an initiator and effector of the caspase cascade. Only the mRNA level is upregulated upon IFN- γ stimulation, whereas the protein level remained unaffected.	Lin , J Biol Chem, 2000, 275, 39920
Apoptosis				
Caspase-6 Mch-2	h: erythroid progenitor cells (erythroid colony-forming cells, ECFC)	IFN- γ (u)	Caspases are a family of aspartic acid-specific proteases that are involved in apoptosis and activation of cytokines. Caspase-6 functions as a terminator caspase cleaving poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) as well as nuclear lamins. It is proteolyzed and activated by caspase-3, -8 or -10.	Dai , Blood, 1999, 93, 3309
Apoptosis				
Caspase-7 Mch-3; ICE-LAP3; CMH-1	h: colon adenocarcinoma cell line HT-29	IFN- γ (u)	Caspases are a family of aspartic acid-specific proteases that are involved in apoptosis and activation of cytokines. Caspase-7 acts as a terminator caspase cleaving sterol regulatory element binding proteins (SREBPS) and poly(ADP-ribose) polymerase (PARP). It is proteolytically activated by granzyme B and caspase-3, -8 or -10.	Ossina , J Biol Chem, 1997, 272, 16351
Apoptosis				
Caspase-8 FLICE; Mch-5; MACH	h: colon adenocarcinoma cell line HT-29; erythroid progenitor cells (erythroid colony-forming cells, ECFC)	IFN- γ (u)	Caspases are a family of aspartic acid-specific proteases that are involved in apoptosis and activation of cytokines. Caspase-8 is an instigator caspase and together with caspase-10 the most upstream protease of the activation cascade of caspases responsible for the Fas-receptor mediated (CD95) and TNFR-1 induced cell death. Binding to the adaptor molecule FADD/MORT1 recruits it to either receptors. The resulting aggregate called the death-inducing signaling complex (DISC) performs caspase-8 proteolytic activation. The active enzyme is liberated from the DISC and activates downstream instigator as well as terminator proteases. It proteolyzes and activates caspases-3, -4, -6, -7, -9, and -10. Furthermore caspase-8 may participate in the granzyme B apoptotic pathways.	Ossina , J Biol Chem, 1997, 272, 16351 Dai , Blood, 1999, 93, 3309 Der , PNAS, 1998, 95, 15623
Apoptosis				
Caspase-9 Mch-6; ICE-LAP6; APAF3	h: erythroid progenitor cells (erythroid colony-forming cells, ECFC)	IFN- γ (u)	Caspase-9 is involved in the activation cascade of caspases responsible for apoptosis execution. After receiving apoptotic stimuli, mitochondria releases cytochrome C, that is forming a complex with Apaf-1 (the mammalian CED-4 orthology), dATP and procaspase-9. This complex activates caspase-9, which in turn activates caspases-3, -6 and -7, that kill cells by cleaving various key intracellular proteins.	Dai , Blood, 1999, 93, 3309
Apoptosis				
Cathepsin B (CB)	a) h: histiocytic lymphoma U937; EBV transformed B cell line b) m: A3.1A1.7 monocytic line	a) IFN- γ (u) b) IFN- γ (u)	Cathepsin B is an acid-optimal cysteine proteinase in the endosomal-lysosomal compartments that is believed to participate in intracellular degradation and turnover of proteins but has also been implicated in tumor invasion and metastasis. A 2-6 fold stimulation of this cathepsin occurs only after 3 days stimulation with IFN- γ in both monocytic cell lines.	a) Lah , FEBS Lett, 1995, 363, 85 Dai , Cell Biol Int, 1999, 23, 791 b) Lah , FEBS Lett, 1995, 363, 85
Antigen processing ? Apoptosis ?				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
Cathepsin D	a) h: normal keratinocytes; EBV transformed B cell line b) h: psoriatic keratinocytes	a) IFN- γ (u) b) IFN- γ (d)	Cathepsin D is an aspartic protease, ubiquitously expressed in mammalian cells, that is thought to play a role in protein catabolism via the degradation of intracellular and extracellular endocytosed proteins. Cathepsin D has been implicated in the activation of transglutaminase. It may contribute to catalyzing enzymatic processes during cornification.	a) Chen, FASEB J, 2000, 14, 565 C'Neil, J Immunol, 1993, 162, 701 b) Chen, FASEB J, 2000, 14, 565
Cathepsin H	m: peritoneal M0	IFN- γ (u)	Cathepsin H is a lysosomal cysteine protease that is important for the overall degradation of proteins in lysosomes. It hydrolyzes proteins but acts also as an aminopeptidase on peptide substrates with free N-termini. The IFN- γ mediated induction is dependent on <i>de novo</i> protein synthesis. No induction by LPS, IL-2, IL-4, IL-10 or TNF- α .	Lafuse, J Leukoc Biol, 1995, 57, 663
Antigen processing ? Apoptosis ?				
Cathepsin K	m: osteoclasts	IFN- γ (d)	Cathepsin K is the major protease responsible for osteoclastic bone resorption and it may participate partially in the disorder of bone remodeling. It has a potent endoprotease activity against fibrinogen. IFN- γ was shown to inhibit bone resorption and this effect might be mediated by downregulation of Cathepsin K.	Kamolmatyakul, J Dent Res, 2001, 80, 351
Apoptosis ?				
Cathepsin L	a) h: histiocytic lymphoma U937 b) m: A3.1A1.7 monocyte line	a) IFN- γ (u) b) IFN- γ (u)	Cathepsin L is an acid-optimal cysteine proteinase in the endosomal-lysosomal compartments that is important for the overall degradation of proteins in lysosomes. A 2-6 fold stimulation of this cathepsin occurs only after 3 days stimulation with IFN- γ in both monocytic cells lines.	a/b) Loh, FEBS Lett, 1995, 363, 85
Antigen processing ? Apoptosis ?				
Cathepsin S	h: lymphoblastoid cell line HOM2	IFN- γ (u)	Cathepsin S is a lysosomal protease that is required for degradation of the MHC class II accessory protein invariant chain (Ii).	Riese, Immunity, 1996, 4, 367 Shi, J Biol Chem, 1992, 267, 7258 Shi, J Biol Chem, 1994, 269, 11530
Antigen processing				
Cationic amino acid transporter-1 (CAT-1)	r: cardiac myocytes	IFN- γ (u), IL-1 β (u), insulin (u)	High affinity transporter for cationic amino acids that is widely expressed in murine tissues. Changes in the activity of CAT transporters could potentially alter NO production, as cellular NO production by iNOS is dependent on extracellular arginine obtained via CAT transporters.	Simmons, J Biol Chem, 1996, 271, 11694
Respiratory burst				
Cationic amino acid transporter-2 (CAT-2)	m: RAW264.7 M0	IFN- γ (u)	Arginine uptake across the plasma membrane in M0s is dependent on the activity of system γ^+ transporters, also known as CAT. Arginine is needed for NO production.	Colton, Biochim Biophys Acta, 2001, 1535, 134
Respiratory burst				
Cationic amino acid transporter-2A (CAT-2A)	r: cardiac myocytes	IFN- γ + IL-1 β (u)	Low affinity transporter for cationic amino acids. CAT-2A activity has been detected only in the liver of adult rodents. Changes in the activity of CAT transporters could potentially alter NO production, as cellular NO production by iNOS is dependent on extracellular arginine obtained via CAT transporters.	Simmons, J Biol Chem, 1996, 271, 11694
Respiratory burst				
Cationic amino acid transporter-2B (CAT-2B)	r: cardiac myocytes	IFN- γ + IL-1 β (u)	CAT-2B is a high affinity transporter for cationic amino acids that has been identified only in activated murine M0s and lymphocytes. Changes in the activity of CAT transporters could potentially alter NO production, as cellular NO production by iNOS is dependent on extracellular arginine obtained via CAT transporters.	Simmons, J Biol Chem, 1996, 271, 11694
Respiratory burst				
CBF-1 α RUNX2; SL3-3 enhancer factor 1; Polyomavirus enhancer binding factor 2 (PEBP2 α 1)	m: EF derived from Stat1 ^{-/-} mice	IFN- γ (u)	CBF is a transcription factor involved in osteoblastic differentiation and skeletal morphogenesis. It is essential for the maturation of osteoblasts and both intramembranous and endochondral ossification.	Ramana, PNAS, 2001, 98, 6674
Transcription factor				
CCL11 Eotaxin; Small inducible cytokine A11 (SCYA11)	a) h: lung fibroblast cell line HFL-1 b) h: endothelial cells; epithelial cells c) m: endothelial cells	a) (IL-1 β (u) or TNF- α (u)) + IFN- γ (u) b) IFN- γ (u), TNF- α (u), IL-1 (u) c) IFN- γ (u)	CC chemokine. Chemotactic activity for eosinophils, basophils, activated T-cells, NK-cells and immature dendritic cells. Ligand for CCR3. The human and mouse promoter region contain both several putative ISRE elements and NF κ B binding sites.	a) Sato, Exp Lung Res, 2001, 27, 173 b) Garcia-Zepeda, Nature Med, 1996, 4, 449 Garcia-Zepeda, Genomics, 1997, 41, 471 Luster, J Leukoc Biol, 1997, 62, 620 c) Rothenberg, PNAS, 1995, 92, 8960
Cell migration Chemokine				
CCL13 Monocyte-chemotactic protein-4 (MCP-4); Small inducible cytokine A13 (SCYA13); NCC-1; CX310	a) h: dermal fibroblasts b) endothelial cells	a) IFN- γ (u), TNF- α (u), IL-1 α (u) b) TNF- α (u) + IFN- γ (enh)	CC chemokine. Chemotactic activity for eosinophils, basophils, monocytes, activated T-cells, NK-cells, and immature dendritic cells. Ligand for CCR2 and CCR3. The promoter region contains an ISRE element.	a) Hein, Biochem Biophys Res Comm, 1999, 255, 470 b) Garcia-Zepeda, J Immunol, 1996, 157, 5613
Cell migration Chemokine				
CCL17 Thymus- and activation-regulated chemokine (TARC); ABCD-2	h: bronchial epithelial cells	IFN- γ (u)	CC chemokine. Chemotactic activity for monocytes and activated T-cells. Ligand for CCR4.	Sekiya, J Immunol, 2000, 165, 2205
Cell migration Chemokine				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
CCL18 Alternative macrophage activation-associated CC-chemokine (AMAC-1); DC-CK1; PARC; MIP-4; CKβ7	h: M0	(IL-4 (u), IL-10 (u), IL-13 (u)) + IFN-γ (f)	CC chemokine. Chemotactic activity for resting and activated T-cells and immature dendritic cells. Receptor not known. CCL18 has several unconventional features: it is induced in alternatively activated M0 by Th2-associated cytokines <i>in vitro</i> and is naturally present in alveolar M0 <i>in vivo</i> . CCL18 shows high homology to MIP-1α. The promoter contains several putative regulatory sequences for IL-4 and IFN-γ dependent transcriptional pathways, including STAT6 and STAT1 binding sites, as well as AP-1 and CREB elements. Combined STAT6/STAT1 binding element located in the direct vicinity of the first putative transcription start point. Competitive binding of STAT6 versus STAT1 may explain the antagonistic effects that IL-4 and IFN-γ exert on AMAC-1 expression.	Kodajla, J Immunol, 1998, 160, 1411 Politz, Cytokine, 2000, 12, 120
Cell migration Chemokine				
CCL19 Small inducible cytokine A19 (SCYA19); Macrophage inflammatory protein 3-β (MIP-3β); EB1-ligand chemokine (ELC); Exodus-3	h: monocytes	LPS + IFN-γ (u)	CC chemokine. Chemotactic activity for resting and activated T-cells. Ligand for CCR7. It may play also a role in normal lymphocyte recirculation and homing.	Rossi, J Immunol, 1997, 158, 1033
Cell migration Chemokine				
CCL2 Monocyte-chemotactic protein-1 (MCP-1); Monocyte chemotactic and activating factor (MCAF); GDCF-2; JE; HCC1; LDCP-1; DC-CK2; TSG-6 (SCYA2); HC11; LDCP-1; DCP-1; TSG-6	various cell types of different origin	IFN-γ (u), TNF-α (u), IL-1 (u) and other inducers	CC chemokine. Chemotactic activity for basophils, monocytes, activated T-cells, NK-cells and immature dendritic cells. Ligand for CCR2. CCL2 regulates cytokine and adhesion molecule expression in monocytes. The IFN-γ mediated upregulation can also be found in bone marrow derived M0 from Stat1 ^{-/-} mice.	Proost, J Leukoc Biol, 1996, 59, 67 Chang, Int Immunol, 1989, 1, 388 Brown, Am J Pathol, 1994, 145, 913 Hechicha, Arthritis Rheum, 1993, 36, 26 Schwarz, Kidney Int, 1987, 52, 1521 Strydom, J Leukoc Biol, 1998, 63, 364 Gill, PNAS, 2001, 98, 6660 and others
Cell migration Chemokine				
CCL20 Small inducible cytokine A20 (SCYA20); Macrophage inflammatory protein-3α (MIP-3α); Liver and activation-regulated chemokine (LARC); Exodus-1	a) h: monocytes b) h: bone marrow stromal cells	a) LPS + IFN-γ (u) b) IFN-γ (u), LPS (u), TNF-α (u)	CC chemokine. Chemotactic activity for immature dendritic cells and T-cells. Ligand for CCR6.	a) Rossi, J Immunol, 1997, 158, 1033 b) Kim, J Immunol, 1998, 161, 2580
Cell migration Chemokine				
CCL22 Macrophage-derived chemokine (MDC); STCP-1; ABCD-1	h: monocytes	(IL-4 (u), IL-13 (u)) + IFN-γ (f)	CC chemokine. Chemotactic activity for immature dendritic cells, monocytes and Th2-cells. Ligand for CCR4. CCL22 is mainly involved in Th2 immune responses.	Bonecchi, Blood, 1998, 92, 2668
Cell migration Chemokine				
CCL23 Mucoid progenitor; inhibitory factor-1 (MPE-1); MIP3; CKβ8	h: dendritic cells	IFN-γ (d), CD40 ligation (d)	CC chemokine. Chemotactic activity for monocytes, resting T-cells and neutrophils. Ligand for CCR1.	Nardelli, J Leukoc Biol, 1999, 65, 822
Cell migration Chemokine				
CCL3 Macrophage inflammatory protein-1α (MIP-1α); SCI; SISα; SISβ; Tonsillar lymphocyte LD-78α protein; Small inducible cytokine A3 (SCYA3); Heparin-binding chemotaxis protein; PAT 368.1; GOS-19-1 protein; TY-5; LZ9256	a) h: polymorphonuclear b) h: polymorphonuclear neutrophils c) h: M0 d) h: mononuclear phagocytes	a) LPS (u) + IFN-γ (f), LPS (u) + IFN-γ (e) b) IFN-γ + TNF-α (u) c) IFN-γ (d) d) IFN-γ (u)	CC chemokine. Chemotactic activity for activated T-cells, monocytes, NK-cells and eosinophils. Ligand for CCR1 and CCR5. CCL3 inhibits early haematopoietic stem cell proliferation. IFN-γ exerts a biphasic effect on the expression of CCL3 in human neutrophils: it inhibits LPS stimulated mRNA expression at earlier phases but increases it at later times. This effect is regulated by transcriptional or post-transcriptional mechanisms.	a) Kasama, J Investig Med, 1995, 43, 58 b) Kasama, J Investig Med, 1996, 49, 1137 c) Schwarz, Kidney Int, 1997, 52, 1521 d) Hodge-Dufour, PNAS, 1998, 95, 13806 During, Blood, 1998, 92, 3073 d) Hariharan, Blood, 1999, 93, 1137
Cell migration Chemokine				
CCL4 Macrophage inflammatory protein-1β (MIP-1β); T-cell activation protein 2; V (SCYA4); G26 T-lymphocytes-secreted protein; Act-2; PAT744; H400; SIS-γ; HC21; LAG-1; MAD-5	a) h: peripheral blood b) polymorphonuclear neutrophils c) h: M0	a) LPS (u) + IFN-γ (f), LPS (u) + IFN-γ (e) b) IFN-γ (d) c) IFN-γ (u)	CC chemokine. Chemotactic activity for monocytes, activated T-cells, NK-cells and immature dendritic cells. Ligand for CCR5. CCL4 induces adhesion of T-cells. IFN-γ exerts a biphasic effect on the expression of CCL4 in human neutrophils: it inhibits LPS stimulated mRNA expression at earlier phases but increases it at later times. This effect seems to be regulated via the mRNA stability.	a) Kasama, J Investig Med, 1995, 43, 58 b) Hariharan, Blood, 1999, 93, 1137 c) Hodge-Dufour, PNAS, 1998, 95, 13806
Cell migration Chemokine				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
CCL5 Regulated upon activation in normal T cells expressed and secreted chemokine (RANTES); Small inducible cytokine A5 (SCYA5); SIS-8	a) h: HUVEC; glomerular mesangial cells b) h: M0; synovial fibroblasts; mononuclear phagocytes	a) IFN- γ + TNF- α (u) b) IFN- γ (u)	CC chemokine. Chemotactic activity for eosinophils, monocytes, activated T-cells, NK-cells and immature dendritic cells. Ligand for CCR1, CCR3 and CCR5. CCL5 stimulates the release of histamine from basophils and can activate eosinophils.	a) Morishige-Kata , J Immunol, 1995, 154, 1870 b) Schwartz , Kidney Int, 1997, 52, 1521 c) Devergne , J Exp Med, 1994, 179, 1689 Rathnaswami , J Biol Chem, 1993, 268, 5834 Hariharan , Blood, 1999, 93, 1137
Cell migration Chemokine Antiviral				
CCL6 C10; MRP-1	m: M0	(IL-3 (u), GM-CSF (u)) + IFN- γ (f)	CC chemokine. Chemotactic activity mainly for M0s and weaker for T- and B-cells. Receptor is not known. CCL6 induction by Th ₂ derived cytokines in M0s is late and requires protein synthesis. IFN- γ mediated inhibition of CCL6 production is not NO dependent. CCL6 expression characteristics are similar to CCL18. CCL6 is potentially involved in the modulation of immune reactions of Th ₂ type.	Orlitsky , Cytokine, 2000, 12, 220
Cell migration Chemokine				
CCL7 Monocyte-chemotactic protein-3 (MCP-3); MARC; NC28; FIC protein; Small inducible cytokine A7 (SCYA7)	a) h: fibroblasts b) h: peripheral blood mononuclear cells c) h: HUVEC; monocytes	a) IFN- γ (u), IL-1 β (u) b) IFN- α (u), IFN- β (u), dsRNA (u), measles virus (u) (IFN- γ NOT) c) LPS (u), IL-1 (u), TNF- α (u), IFN- γ (u)	CC chemokine. Chemotactic activity for most leukocyte cell types. Ligand for CCR1, CCR2 and CCR3. CCL7 is differentially regulated in different cell types and induces the release of Gelatinase B (MMP-9).	a) Menton , Eur J Immunol, 1999, 29, 678 b) Probst , J Leukoc Biol, 1995, 59, 67 c) Minty , Eur Cytokine New, 1993, 4, 99 Polentarutti , Eur Cytokine New, 1997, 8, 271
Cell migration Chemokine Extracellular matrix				
CCL8 Monocyte-chemotactic protein-2 (MCP-2); HC14; Small inducible cytokine A8 (SCYA8)	h: peripheral M0; fibroblasts; MG-63 osteosarcoma cells	IL-1 β (u), IFN- γ (u), IL-1 β + IFN- γ (uu)	CC chemokine. Chemotactic activity for monocytes, activated T-cells, NK-cells, eosinophils and basophils. Ligand for CCR3.	Probst , J Leukoc Biol, 1996, 59, 67 Chang , Int Immunol, 1989, 1, 388 Van Damme , J Immunol, 1994, 152, 5495 Srnyf , J Leukoc Biol, 1998, 63, 364 Van Coillie , Biochem Biophys Res Commun, 1997, 231, 720
Cell migration Chemokine receptor				
CCR1 Cell migration Chemokine receptor	a) h: monocyte cell line U937; mesangial cells b) h: monocytes	a) IFN- γ (u) b) IFN- γ + LPS (d)	CC chemokine receptor. Chemokine ligands: CCL3, CCL5, CCL7, CCL14, CCL15, CCL16 and CCL23. Decreased mRNA expression only at optimal doses of IFN- γ and LPS (500U/ml and 100ng/ml respectively). No inhibition at lower concentrations.	a) Zella , Blood, 1998, 91, 4444 Banas , J Am Soc Nephrol, 1999, 10, 2314 b) Penton-Rol , J Immunol, 1998, 160, 3869
Cell migration Chemokine receptor				
CCR2 Cell migration Chemokine receptor	h: monocytes	IFN- γ (d), LPS (d), IFN- α (d), IL-1 β (d), TNF- α (d)	CC chemokine receptor. Chemokine ligands: CCL2, CCL7, CCL12 and CCL13. Furthermore CCR2 serves as a coreceptor for HIV-1 entry. Decreased mRNA expression due to decreased mRNA half life, transcription rate is unaffected. Receptor and divergent effect of IFN- γ on chemokine production and receptor expression (increase of the ligands vs decrease of the receptor), that is also observed for other pro- and antiinflammatory signals. This effect may be involved in retaining monocytes at sites of inflammation or may also act as a negative feedback loop for monocyte recruitment.	Penton-Rol , J Immunol, 1998, 160, 3869
Cell migration Chemokine receptor				
CCR3 Cell migration Chemokine receptor	a) h: mononuclear phagocytes; cell line U937 b) peripheral blood leukocytes from atopic asthmatics	a) IFN- γ (u) b) IFN- γ (d)	CC chemokine receptor. Chemokine ligands: CCL5, CCL7, CCL8, CCL11, CCL13, CCL15, CCL24 and CCL26. CCR3 is furthermore a coreceptor for HIV-1 entry.	a) Hariharan , Blood, 1999, 93, 1137 b) Leifer , Blood, 1996, 91, 4441 c) Bello , Clin Exp Med, 2001, 1, 75
Cell migration Chemokine receptor				
CCR5 Cell migration Chemokine receptor	a) h: mononuclear phagocytes; cell line U937 b) r: macroglia c) m: bone marrow derived M0	a) IFN- γ (u) b) IFN- γ (u) c) IFN- γ (u)	CC chemokine receptor. Chemokine ligands: CCL3, CCL4 and CCL5. CCR5 is furthermore a coreceptor for HIV-1 entry.	a) Hariharan , Blood, 1999, 93, 1137 b) Leifer , Blood, 1996, 91, 4441 c) Gilj , FNAS, 2001, 98, 6680
Cell migration Chemokine receptor				
CCR6 Cell migration Chemokine receptor	h: neutrophils	IFN- γ (u), TNF- α (u), IFN- γ + TNF- α (uu)	CC chemokine receptor. Chemokine ligands: CCL20.	Yamashiro , Blood, 2000, 96, 3958
Cell migration Chemokine receptor				
CD14 gp85 Lymphocyte activation	h: monocytes; M0	IFN- γ (d), IL-4 (d)	CD14 is a receptor for the lipopolysaccharide-binding protein (LBP) when this is complexed with lipid A. When LPS binds to CD14, the cells become activated and release cytokines, and up-regulate cell surface molecules, including adhesion molecules. Both the soluble and membrane bound form of CD14 are downregulated by IFN- γ . The regulation occurs probably at the transcriptional level.	Landmann , Cancer Immunol Immunother, 1990, 31, 292 Landmann , Pathobiology, 1991, 59, 131 Landmann , Pathobiology, 1992, 52, 323 Frieslein , Cell Immunol, 1987, 104, 343
Cell migration ? Selectin ligand	h: breast carcinoma cell line MDX-MB-466	IFN- γ (d), TNF- α (d), IL-1 α (d), TPA (d)	CD15 inhibits neutrophil phagocytosis and bacterial activity. It may catalyse glycosidic linkages involved in the expression of Lewis X and Vlnr-2 antigens.	Sedlak , Chemotherapy, 1994, 40, 51

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
CD156 A disintegrin and metalloprotease 8 (ADAM8); MS2 antigen;	m; MO	IFN- γ (u), LPS (u)	CD156 is a type I transmembrane glycoprotein found on myelomonocytic cell lineage. The extracellular domain consists of a metalloprotease and a disintegrin domain whereas the cytoplasmic region contains a consensus SH3 (Src homology 3) binding sequence. CD156 is involved in infiltration of leukocytes by leukocyte adhesion to endothelial cells and degradation of vascular basement membrane. The promoter contains several elements that are involved in IFN- γ inducibility (ISRE, NF- κ B binding sites).	Yoshida, Int Immunol, 1999, 2, 585 Katochka, J Biol Chem, 1997, 272, 18209
Cell migration Extracellular matrix				
CD155 Sialyl Lewis X, S/Le ^x	h: bone marrow derived dendritic epidermal Langerhans cells (prototype of mature dendritic cells)	IFN- γ (u) (in vivo)	Ligand for selectins.	Ross, Immunology, 1994, 81, 303
Cell migration ? Selectin ligand				
CD163 M130	h: monocytes; MO	IFN- γ (d), LPS (d), TNF- α (d), IL-6 (u), IL-10 (u)	CD163 is a member of the scavenger receptor cysteine-rich family (SRCR) and is exclusively expressed on cells of the monocyte lineage. Proinflammatory mediators suppress CD163 expression, whereas antiinflammatory mediators up-regulate the expression. This pattern implies a functional role of CD163 in the antiinflammatory response of monocytes.	Buechler, J Leukoc Biol, 2000, 67, 97
Inflammation				
CD1a	?: dendritic cells	IFN- γ (d)	CD1a is a MHC class I like, type I membrane protein that acts as an accessory protein for the recognition of MHC class I molecules. It belongs to the immunoglobulin superfamily and associates non-covalently with β 2-microglobulin.	Rongguncu, Cytokine, 1998, 10, 747
Antigen presentation				
CD34 Hemopoietic progenitor cell antigen CD34; Sgp90	h: HUVEC	IFN- γ (d), TNF- α (d), IL-1 β (d)	CD34 is a ligand for L-selectin on endothelial cells and is required for lymphocyte homing to lymph nodes.	Delia, Blood, 1993, 81, 1001
Cell migration Selectin ligand				
CD38 T10	?: leukemic B cells	IFN- γ (u), IFN- β (u), IFN- α (u)	Activation antigen CD38 has NAD ⁺ glycohydrolase activity in its extracellular domain. Promoter contains potential IRF-1 binding sites, but induction is independent of protein synthesis.	Bauvois, J Interferon Cytokine Res, 1999, 19, 1059
Lymphocyte activation ?				
CD4 T-cell surface glycoprotein CD4 precursor; T-cell surface antigen; 14;Leu-3	a) h: ML3 promyelocytic cell line b) h: HL60 promyelocytic cell line; dendritic cells; Langerhans cells; monocytes c) r: monocytes	a) IFN- γ (u) + TNF- α (e) b) IFN- γ (d) c) IFN- γ (d)	CD4 belongs to the immunoglobulin superfamily and acts as an accessory protein for MHC class-II antigen/T-cell receptor interaction. It is associated with tyrosine kinase p56- <i>lck</i> . Furthermore CD4 serves as the main HIV-1 entry receptor. TNF- α and IFN- γ synergized in the induction of CD4 surface expression and steady-state mRNA levels in ML3, which has a very low constitutive expression. In other cells, which have a high constitutive level of CD4 expression, IFN- γ induced a modest to strong decrease in surface expression.	a) Cassatella, Immunology, 1992, 76, 55 b) Cassatella, Immunology, 1992, 76, 55 Rongguncu, Cytokine, 1998, 10, 747 Zoetewijl, Immunol, 1998, 161, 3219 Pacharatan, Blood, 1995, 86, 72 c) Scriba, J Leukoc Biol, 1997, 62, 741
Antigen presentation Lymphocyte activation				
CD40 Bp50	a) h: fibroblasts; B-cells; dendritic cells; endothelial cells; monocytes	IFN- γ (u), various other cytokines (u)	Member of the TNF- α -receptor superfamily. CD40 ligand (CD40L) is expressed on activated T-cells. CD40-CD40L interactions induce ICAM-1 (CD54), VCAM-1 (CD106) and E-selectin (CD62E) upregulation on fibroblasts and endothelial cells. CD40 serves as a costimulating survival receptor (rescue from apoptosis) and is involved in B-cell activation and proliferation.	Fries, Clin Immunol Immunopathol, 1995, 77, 42 Karmann, PNAS, 1995, 92, 4345 Yellin, J Leukoc Biol, 1995, 58, 209 Banchereau, Annu Rev Immunol, 1994, 12, 881 Stamenkovic, EMBO J, 1989, 8, 1403
Apoptosis Proliferation				
CD41 Integrin α _{IIb} chain	h: myelogenous leukaemia cell line HLWeg-1 cells	IFN- γ (u), TNF- α (u)	CD41 associated with CD61 (Integrin β ₃ chain), which binds to fibrinogen, fibronectin, thrombospondin and von-Willebrand-factor. Furthermore, CD41 is a specific marker for megakaryocytic differentiation. Megakaryocytes are platelets producing cells. IFN- γ and TNF- α were shown to be able to induce megakaryocytic differentiation of an established cell line.	Li, Cytokine, 1998, 10, 880
CAM Extracellular matrix				
CD42 Glycoprotein I (Gp)	h: myelogenous leukaemia cell line HLWeg-1 cells	IFN- γ (u), TNF- α (u)	CD42 binds to von-Willebrand factor and thrombin. It plays an important role in adhesion of platelets to wounded blood vessels. Furthermore, CD42 is a specific marker for megakaryocytic differentiation. Megakaryocytes are the platelets producing cells. IFN- γ and TNF- α were shown to be able to induce megakaryocytic differentiation of an established cell line.	Li, Cytokine, 1998, 10, 880
CAM				
CD43 Leukosialin; Sialophorin	r: monocytes	IFN- γ (d)	CD43 is one of the major glycoproteins of thymocytes and T-cells. It plays a role in the physicochemical properties of the T-cell surface and in lectin binding. It presents carbohydrate ligands to selectins. It has an extended rodlike structure that could protrude above the glycocalyx of the cell and allow multiple glycan chains to be accessible for binding. CD43 is a ligand for ICAM-1 (CD54).	Scriba, J Leukoc Biol, 1997, 62, 741
CAM Cell migration				
CD44 H-CAM; Phagocytic glycoprotein 1 (FSP-1); Extracellular matrix receptor-III (EMR-III); Glycocalyx-associated adhesion receptor; Hermes antigen; Hutch-1	h: myelomonocytic cell lines; epithelial cells	IFN- γ (u), TNF- α (u)	CD44 is an ubiquitous expressed surface molecule that mediates cell-cell and cell matrix adhesion. CD44 is expressed in variant isoforms and IFN- γ preferentially upregulates the expression of the CD44-6v isoform on myelomonocytic or epithelial cells.	Mackay, J Cell Biol, 1994, 124, 71
Extracellular matrix CAM				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
CD48 TCT-1; Blast-1; BCM-1	h: Daudi cells; various other cell lines	IFN- γ (u), IFN- β (u), IFN- α (u)	CD48 belongs to the immunoglobulin superfamily and is a ligand for CD2. It might facilitate interaction between activated lymphocytes and is probably involved in the regulation of T-cell activation.	Tissot, J Interferon Cytokine Res. 1997, 17, 17
CAM Lymphocyte activation				
CD49a Integrin α_5 subunit	h: dermal fibroblasts; synovial fibroblasts; uveal melanoma cell lines	IFN- γ (u), IL-1 β (u), TNF- α (u)	Integrin mediated cell attachment to extracellular matrix triggers signal transduction cascades that regulate numerous complex biological processes including cell proliferation, differentiation and migration, as well as tissue organization. CD49a forms a heterodimer with β_5 subunit. Ligands: laminin and collagens.	Galit, J Cell Physiol. 1996, 169, 281 Pirita, J Rheumatol. 1996, 23, 1691 Creighton, Melanoma Res. 1995, 5, 235
Cell migration Integrin Extracellular matrix				
CD49b Integrin α_5 subunit	h: uveal melanoma cell lines	IFN- γ (u), IFN- α (u), TNF- α (u)	Integrin mediated cell attachment to extracellular matrix triggers signal transduction cascades that regulate numerous complex biological processes including cell proliferation, differentiation and migration, as well as tissue organization. CD49b forms a heterodimer with the β_5 subunit. Ligands: laminin and collagens.	Creighton, Melanoma Res. 1995, 5, 235
Cell migration Integrin Extracellular matrix				
CD49c Integrin α_5 subunit	h: uveal melanoma cell lines	IFN- γ (u), IFN- α (u), TNF- α (u)	Integrin mediated cell attachment to extracellular matrix triggers signal transduction cascades that regulate numerous complex biological processes including cell proliferation, differentiation and migration, as well as tissue organization. CD49c forms a heterodimer with the β_5 subunit. Ligands: fibronectin, laminin and collagens.	Creighton, Melanoma Res. 1995, 5, 235
Cell migration Integrin Extracellular matrix				
CD49d Integrin α_5 subunit	h: promonocytic cell line, U937	IFN- γ (d)	Integrin mediated cell attachment to extracellular matrix triggers signal transduction cascades that regulate numerous complex biological processes including cell proliferation, differentiation and migration, as well as tissue organization. CD49d forms a heterodimer with the β_5 subunit. Ligands: fibronectin and VCAM-1.	Bauvois, J Immunol. 1992, 148, 3912
Cell migration Integrin Extracellular matrix				
CD49e Integrin α_5 subunit	a) h: dermal fibroblasts b) h: promonocytic cell line U937; monocytes	a) IFN- γ (u), IL-1 β (u), TNF- α (u) b) IFN- γ (d), TGF- β 1 (u)	Integrin mediated cell attachment to extracellular matrix triggers signal transduction cascades that regulate numerous complex biological processes including cell proliferation, differentiation and migration, as well as tissue organization. The regulation occurs at the posttranscriptional level. CD49e forms a heterodimer with the β_5 subunit. Ligands: fibronectin.	a) Galit, J Cell Physiol. 1996, 169, 281 b) Bauvois, J Immunol. 1992, 148, 3912 Creighton, Melanoma Res. 1995, 5, 235 Bauvois, Exp Cell Res. 1996, 222, 209
Cell migration Integrin Extracellular matrix				
CD49f Integrin α_5 subunit	h: monocytic cell line THP-1	TGF- β (u), IFN- γ + TNF- α (d)	Integrin that binds CD29 and laminin. Integrin mediated cell attachment to extracellular matrix triggers signal transduction cascades that regulate numerous complex biological processes including cell proliferation, differentiation and migration, as well as tissue organization.	Pirita, J Rheumatol. 1996, 23, 1691
Cell migration Integrin Extracellular matrix				
CD51 Vitronectin receptor (VNR); $\beta_3\alpha_5$ integrin	h: HUVEC	IFN- γ + TNF- α (d)	Integrin mediated cell attachment to extracellular matrix triggers signal transduction cascades that regulate numerous complex biological processes including cell proliferation, differentiation and migration, as well as tissue organization. CD51 is a receptor for vitronectin, fibrinogen, von Willebrand factor, thrombospondin, fibronectin, osteopontin, collagen. Regulation: decreased synthesis of the β_3 subunit; regulation at the translational level.	DeFilippi, J Biol Chem. 1991, 266, 7638 DeFilippi, Exs. 1992, 61, 193 Tarone, J Lipid Mediat. 1990, 2, Suppl. S45 Beacham, Blood. 1991, 69, 40771
Cell migration Integrin Extracellular matrix				
CD59 Prolectin	a) h: HT29 gastro- intestinal mucosal cells b) murine cell lines c) vascular smooth muscle cells	a) IFN- γ (u) b) IFN- γ (u), TNF- α (u), LPS (u)	CD59 is a GPI linked membrane protein, like the Ly-genes. It binds complement components C8 and C9 and inhibits the assembly of the membrane attacking complex. Thus it protects tumor cell lines against lysis by activated complement (complement inhibitor). Upregulation occurs at the mRNA and protein level.	a) Schmitt, Eur J Cancer. 1999, 35, 117 b) Li, Microbiol Immunol. 1999, 43, 585
Apoptosis Acute phase Complement system				
CD80 B7-1; B7/BB1	a) m: Langerhans cells; dendritic cells b) m: resting monocytes c) h: monocytes; brain microvessel endothelial cells; monocytic cell line MonoMac6	a) IFN- γ (d), IL-10 (d) b) IFN- γ (u) c) IFN- γ (u)	The proper T-cell mediated antigen-specific immune response needs two signals. The initial signal is provided by the engagement of the T-cell receptor (TCR) with an antigenic peptide in the context of the MHC. A costimulatory signal is provided by interaction of the CD28 T-cell receptor with one of the B7 family members (CD80, CD86) expressed on APCs. CD86 seems to be more important in T-cell costimulation than CD80. Engagement of the CD152 (CTLA-4) T-cell receptor leads to negative regulatory signals. The B7 family is also essential for T-cell proliferation. Primary response gene, increase of mRNA level and mRNA stability (transcriptional and posttranscriptional mechanism of upregulation).	a) Ozawa, Eur J Immunol. 1996, 26, 648 Rencagn, Cytokine. 1998, 10, 747 b) Creery, Eur J Immunol. 1996, 26, 1273 Kawamura, C Eur J Immunol. 1995, 25, 1913 Aicher, J Immunol. 2000, 164, 4889 c) Freedman, Cell Immunol. 1991, 137, 429 Onari, J Neuroimmunol. 2001, 113, 129 Currie, Blood. 1999, 94, 1782 Yokozeki, Arch Dermatol Res. 1998, 290, 547
Lymphocyte activation				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
CD83 BL11-PEN; HB15; BL11 Lymphocyte activation Antigen presentation	h: neutrophils	IFN- γ (d), TNF- α (u)	CD83 is a type I membrane protein and may play a significant role in antigen presentation or the cellular interactions that follow lymphocyte activation.	Yamashiro, Blood, 2000, 96, 3958
CD86 B7-2; B70 Lymphocyte activation	h: colonic epithelial cell line HT29-18A2; monocytes; epidermal keratinocytes; Langerhans cells; brain microvessel endothelial cells	IFN- γ (u)	The proper T-cell mediated, antigen-specific, immune response needs two signals. The initial signal is provided by the engagement of the T-cell receptor (TCR) with an antigenic peptide in the context of the MHC. A costimulatory signal is provided by interaction of the CD28 T-cell receptor with one of the B7 family members (CD80, CD86) expressed on APCs. CD86 seems to be more important in T-cell costimulation than CD80. Engagement of the CD152 (CTLA-4) T-cell receptor leads to negative regulatory signals. The B7 family is also essential for T-cell proliferation. The promoter region contains two functional GAS elements.	Nakazawa, Gastroenterology, 1999, 117, 536 Aicher, J Immunol, 2000, 164, 4889 Yokozeki, Arch Dermatol Res, 1998, 290, 547 Li, Hum Immunol, 2000, 61, 486 Onari, J Neuroimmunol, 2001, 113, 129
CD88 C5a anaphylatoxin chemotactic receptor (C5a-R)	a) h: promonocytic cell lines b) h: monocytes	a) IFN- γ (u) b) IFN- γ (d), GM-CSF (d)	G-proteins coupled receptor for the chemotactic and inflammatory peptide anaphylatoxin C5a. Maximal induction in immature monocytes after 48 to 72 h of stimulation. Reduced expression of C5a-R in mature monocytes is accompanied by a defective chemotactic response to C5a.	a) Burg, J Immunol, 1995, 155, 4419 Katona, J Immunol, 1991, 146, 708 Burg, J Immunol, 1996, 157, 5574 b) Wahl, J Immunol, 1992, 146, 95
Cell migration Chemottractant receptor				
cdk2 Cell division cycle 2; Cyclin-dependent kinase 1 (cdk1); p34 Proliferation	a) h: bronchial epithelial cells; mammary epithelial cells; MECs; epidermal keratinocytes; renal epithelial cell line; TC-1 b) h: epidermal keratinocytes	a) IFN- γ (d) b) IFN- γ (u)	Cyclins associate with and positive regulate cyclin-dependent kinases (cdk) that act as proliferative proteins. cdk2 is negatively regulated by phosphorylation or by association with inhibitory proteins, known as cdk inhibitors (cdki), that act as antiproliferative proteins. cdk2 (cdk1) is a major regulator in cell cycle control for G ₂ -M and G ₁ -S transition. It is maintained in an inactive state by phosphorylation by Wee1 and Myt1.	a) Saunders, Am J Respir Cell Mol Biol, 1994, 11, 147 Saunders, J Biol Chem, 1994, 269, 2016 Arany, In Vivo, 1996, 10, 405 Harvat, Cell Growth Differ, 1996, 7, 289 Yamada, Mol Cell Biochem, 1994, 136, 117 Hall, Anticancer Res, 1996, 16(4A), 1755 b) Arany, In Vivo, 1997, 11, 157
cdk4 Cyclin-dependent kinase 2 Proliferation	h: Daudi Burkitt lymphoma cells	IFN- γ (d)	Cyclins associate with and positive regulate cyclin-dependent kinases (cdk) that act as proliferative proteins. cdk4 is negatively regulated by phosphorylation or by association with inhibitory proteins, known as cdk inhibitors (cdki), that act as antiproliferative proteins. cdk4 interacts with cyclins A, D, or E. The activity of cdk4 is maximal during S phase and G ₂ . cdk4 is regulated mainly by phosphorylation.	Yamada, Mol Cell Biochem, 1994, 136, 117
cdk4 Cyclin-dependent kinase 4 Proliferation	h: mammary epithelial cells	IFN- γ (d)	Cyclins associate with and positive regulate cyclin-dependent kinases (cdk) that act as proliferative proteins. cdk4 is negatively regulated by phosphorylation or by association with inhibitory proteins, known as cdk inhibitors (cdki), that act as antiproliferative proteins. cdk4 forms a stable complex with D-type G ₁ cyclins and is inhibited by cdkn2B. cdk4 protein levels were reduced by IFN- γ only at longer (48h) incubation times.	Harvat, Oncogene, 1997, 14, 2111
cdk6 Cyclin-dependent kinase 6 Proliferation	r: vascular smooth muscle cells	IFN- γ (u)	Cyclins associate with and positive regulate cyclin-dependent kinases (cdk) that act as proliferative proteins. cdk6 is negatively regulated by phosphorylation or by association with inhibitory proteins, known as cdk inhibitors (cdki), that act as antiproliferative proteins. cdk6 interacts with D-type G ₁ cyclins and is inhibited by cdkn2B.	Sibinga, J Biol Chem, 1999, 274, 12139
cdkn1A Cyclin-dependent kinase inhibitor 1A; cdk-inhibiting protein 1 (Cip1); Sdi1; CIP20; Melanoma differentiation associated protein 6 (mda-6); p21Waf1/Cip1 Proliferation	a) h: mammary epithelial cells MECs b) h: prostate cancer cell lines DU145 and PC-3; hepatocytes; epidermal keratinocytes c) tm: M0	a) IFN- γ (d) b) IFN- γ (u) c) IFN- γ (u)	Cyclins associate with and positive regulate cyclin-dependent kinases (cdk) that act as proliferative proteins. cdk6 is negatively regulated by phosphorylation or by association with inhibitory proteins, known as cdk inhibitors (cdki), that act as antiproliferative proteins. p21 has got antiproliferative activity and acts as a cyclin-dependent kinase inhibitor. It may be an important intermediate of the p53 mediated inhibition of cell proliferation. The promoter region contains GAS elements to which GAF binds. After IFN- γ treatment, induction of p21 is synergistically activated by the breast cancer susceptibility gene BRCA1, that has been implicated in nuclear function, growth control, DNA repair processes and as a transcriptional regulator. The synergism is due to cooperation between STAT1 α and BRCA1 by direct binding or phosphorylated STAT1 α to BRCA1.	a) Harvat, Cell Growth Differ, 1996, 7, 289 b) Kominsky, Cancer Res, 2000, 60, 3904 Kano, J Biochem, 1997, 121, 877-83 Harvat, J Invest Dermatol, 2001, 117, 1274 Harvat, J Invest Dermatol, 1997, 109, 103 Ouchi, PNAS, 2000, 97, 5206
cdkn1B Cyclin-dependent kinase inhibitor 1B; p27Kip1 Proliferation	h: mammary epithelial cells; epidermal keratinocytes	IFN- γ (u)	Cyclins associate with and positive regulate cyclin-dependent kinases (cdk) that act as proliferative proteins. cdk6 is negatively regulated by phosphorylation or by association with inhibitory proteins, known as cdk inhibitors (cdki), that act as antiproliferative proteins. p27Kip1 is involved in G ₁ arrest. It is an inhibitory protein for cdk2 and cyclin E associated kinase activity. It binds to and inhibits complexes formed by cyclin E-cdk2, cyclin A-cdk2, and cyclin D1-cdk4. The IFN- γ mediated upregulation occurs by a post-transcriptional mechanism.	Harvat, Oncogene, 1997, 14, 2111 Harvat, J Invest Dermatol, 2001, 117, 1274
cdkn2A Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A; p16; Clnk2; Ink4; INK4 Proliferation	h: epidermal keratinocytes	IFN- γ (u)	Cyclins associate with and positive regulate cyclin-dependent kinases (cdk) that act as proliferative proteins. cdk6 is negatively regulated by phosphorylation or by association with inhibitory proteins, known as cdk inhibitors (cdki), that act as antiproliferative proteins. cdkn2A interacts strongly with cdk4 and cdk6 and inhibits its ability to interact with cyclins D.	Harvat, J Invest Dermatol, 2001, 117, 1274
cdkn2B Cyclin-dependent kinase inhibitor 2B; INK4B; Multiple tumor suppressor 2 (MTS2); p15 Proliferation	r: vascular smooth muscle cells	IFN- γ (u)	Cyclins associate with and positive regulate cyclin-dependent kinases (cdk) that act as proliferative proteins. cdk6 is negatively regulated by phosphorylation or by association with inhibitory proteins, known as cdk inhibitors (cdki), that act as antiproliferative proteins. cdkn2B interacts strongly with and inhibits cdk4 and cdk6.	Sibinga, J Biol Chem, 1999, 274, 12139

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
<p>CIITA</p> <p>MHC class II transactivator</p> <p>Transcription factor</p> <p>Antigen presentation</p> <p>GTPase</p>	various cell types of different origin	IFN- γ (u)	CIITA is the obligatory transcriptional co-activator for constitutive and IFN- γ /inducible expression of all components of the class II antigen presentation pathway. Furthermore it is capable to differentially suppress the expression of thyroid specific genes. The CIITA protein is a complex protein and contains GAS elements. Inducible tissue-specific enhancers regulate constitutive levels. CIITA interacts with obligatory constitutive transcription factor RFX-3 and possibly others.	<p>Mech. Annu Rev Immunol, 1996, 14, 301</p> <p>Chang, Immunity, 1996, 4, 167</p> <p>Wu, Clin Exp Immunol, 1999, 116, 62</p> <p>Mori-Aoki, Biochem Biophys Res Commun, 2000, 278, 58</p> <p>Lee, J Immunol, 1996, 157, 1559</p>
<p>CIS1</p> <p>Cytokine-inducible Src homology 2-domain-containing protein-1</p> <p>Signal transduction</p> <p>Transcription factor</p>	h: bone marrow cells; granulocytes	IFN- γ (u) and various other cytokines (u)	CIS1 binds to activated cytokine receptors, thereby inhibiting the recruitment and activation of STAT proteins. Although its expression is upregulated also by IFN- γ , it seems to be specifically involved only in the negative regulation of the STAT5 dependent signal transduction pathway of IL-2, IL-3, Epo and various growth factors.	<p>Dogusan, J Neuroimmunol, 2000, 109, 34</p>
<p>Cla-1</p> <p>Lipid transport/metabolism</p>	h: monocytes; M0	IFN- γ (d), LPS (d), TNF- α (d)	Human Cla-1 is the likely homologue of the murine scavenger receptor class B type I (SR-BI), that mediates selective transfer of cholesterol to high-density lipoprotein (HDL) and the efflux of endogenously synthesized and plasma membrane sterols to HDL. HDL protects against atherosclerosis but also neutralizes LPS.	<p>Buechler, Biochem Biophys Res Commun, 1999, 262, 251</p>
<p>CLIP 115</p> <p>Unclassified</p>	r: pancreatic β - cells	IL-1 β + IFN- γ (u)	CLIP 115 is a brain-specific cytoplasmic linker protein that mediates the localization of dendritic lamellar bodies.	<p>Cardozo, Diabetes, 2001, 50, 909</p>
<p>Collagenase</p> <p>Extracellular matrix</p>	a) h: dermal fibroblasts b) h: dermal fibroblasts	a) IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u) b) IL-1 β (u) + IFN- γ (f)	Matrix metalloproteinase. The exact type of this collagenase was not given. Probably identical to one of the MMPs. Cleaves collagens of type I, II, and III at one site in the helical domain. Cleaves also collagens of types VII and X. Inhibition of expression is associated with activation of IDO and enhanced cellular tryptophan metabolism.	<p>a) Duncan, J Exp Med, 1995, 162, 516</p> <p>Duncan, Arch Dermatol Res, 1989, 281, 11</p> <p>Varga, J Clin Invest, 1995, 96, 475</p>
<p>Collagenase type IV</p> <p>Gelatinase</p> <p>Extracellular matrix</p>	a) h: alveolar M0 b) h: monocytes; M0 c) h: MA-381 cells	a) LPS (u) + IFN- γ (f) b) ConA (u) + IFN- γ (f) c) IFN- γ (u), IFN- α (u)	Matrix metalloproteinase. Probably identical to MMP-2 or MMP-9. Repression occurs only at higher concentrations of IFN- γ . The inhibition of expression occurred at a pretranslational level.	<p>a) Shapiro, J Clin Invest, 1990, 86, 1204</p> <p>b) Wahl, J Periodontol, 1993, 64, 467</p> <p>c) Luo, Chung Hua Chung Liu Tsa Chih, 1997, 19, 184</p>
<p>Colony stimulating factor-1 receptor (CSF-1R); c-fms proto-oncogene</p> <p>Cytokine receptor</p> <p>Oncogene</p>	m: BAC-1.2F5 M0; ANA-1 M0	LPS (d) + IFN- γ (e)	Member of a subfamily of tyrosine kinase receptors that includes the A and B isoforms of the PDGF-R, the c-kit proto-oncogene product and the FGF-R. The CSF-1 receptor is encoded by c-fms proto-oncogene. In mouse ANA-1 M0, IFN- γ enhances down-regulation of CSF-1R at the transcriptional level. In BAC-1.2F5 M0, enhancement of LPS-mediated down-regulation is PKC-dependent and may involve selective degradation of cell-surface CSF-1R.	<p>Gusella, J Immunol, 1990, 144, 3574</p> <p>Baccarini, J Immunol, 1992, 149, 2656</p>
<p>Complement component C1</p> <p>C1q and C1r</p> <p>Acute phase</p> <p>Complement system</p>	h: fibrosarcoma cell line HT1080; monocytic cell line THP-1; scleral fibroblasts	IFN- γ (u), IFN- β (u), IFN- α (u)	C1 is the first component in the activation of the classical pathway of the complement system. C1q binds to antigen bound antibodies and activates C1r. In turn C1r activates C1s. C1s is a serine protease that cleaves and thereby activates C2 and C4.	<p>Der, PNAS, 1988, 95, 15623</p> <p>Walker, Mol Chem Neurobiol, 1998, 34, 197</p> <p>Harrison, Invest Ophthalmol Vis Sci, 1990, 31, 2412</p>
<p>Complement component C2</p> <p>Acute phase</p> <p>Complement system</p>	h: monocytes; fibroblasts; HUVEC; hepatoma cell line Hep G2; astrogloma U105-MG	IFN- γ (u)	C2 is a serine protease and is involved in the classical pathway of the complement system. It is activated by C1s, functions as a C3/C5 convertase catalytic subunit and is homologous to Factor B from the alternative complement pathway. IFN- γ mediates an increased transcription rate but decreased mRNA stability.	<p>Lappin, Biochem J, 1992, 281, 437</p> <p>Lappin, Eur J Biochem, 1990, 268, 387</p> <p>Harrison, Invest Ophthalmol Vis Sci, 1990, 31, 2412</p>
<p>Complement component C3</p> <p>Acute phase</p> <p>Complement system</p>	a) h: various cell types b) h: various cell types; hepatoma cell line HepG2 c) E: vascular smooth muscle cells; astrocytes d) m: bone marrow derived M0	a) IFN- γ (d) b) IFN- γ (u) c) IFN- γ (u), TNF- α (u), LPS (u) d) IFN- γ (u)	C3 is the major complement protein in the plasma and a part of the C3/C5 convertase. It is cleaved and activated by C2, C3b and Factor B. The cleavage products C3a and C3b are involved in the alternative complement pathway by binding to Factor Bb. In complex with C3a also serves as a C3/C5 convertase. It also binds to C5 for its cleavage by C2 and to Factor B for its cleavage by Factor D. C3a is a peptide mediator of inflammation and attracts phagocytes. The IFN- γ mediated increased mRNA expression is due to increased half life of the mRNA (posttranscriptional event). C3 is completely absent in STAT1-deficient mice.	<p>a) Lappin, Eur J Biochem, 1990, 194, 177</p> <p>Lappin, Biochem J, 1990, 268, 387</p> <p>Lappin, Biochem J, 1992, 281, 437</p> <p>Rothman, Exp Eye Res, 1991, 53, 353</p> <p>Barnum, Neurosci Lett, 1995, 197, 121</p> <p>Tsukamoto, Immunology, 1992, 75, 565</p> <p>van den Dobbelsteen, Clin Exp Immunol, 1994, 95, 173</p> <p>Durbin, Cell, 1996, 84, 443</p> <p>Meraz, Cell, 1996, 84, 431</p> <p>b) Saunders, Am J Respir Cell Mol Biol, 1994, 11, 147</p> <p>Mitchell, J Immunol, 1996, 156, 4429</p> <p>c) Li, Microbiol Immunol, 1999, 43, 585</p> <p>Kochinke, Neuroimmunomodulation, 1995, 2, 347</p> <p>d) Gadaa, Eur J Immunol, 1999, 19, 1103</p>
<p>Complement component C4-binding protein (C4bp)</p> <p>Acute phase</p> <p>Complement system</p>	h: blood monocytes; hepatoma cells	IFN- γ (u), IFN- α (u), IL-6 (u), TNF- α	C4-bp functions as a decay/dissociation accelerator of the C3/C5 convertase. It binds to C4b and removes C2b. Furthermore it serves as a cofactor for the plasminogen activator C4b that cleaves and inhibits C4b.	<p>Lappin, Biochem J, 1990, 271, 767</p> <p>Lappin, Biochem J, 1992, 281, 437</p>

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
Complement component C4 C4A and C4B	a) h: hepatocyte cell line Hep G2; intestinal epithelial cell line Caco2; scleral fibroblasts; b) r: vascular smooth muscle cells	a) IFN- γ (u) b) IFN- γ (u), TNF- α (u), LPS (u)	C4 is a component of the classical complement pathway. Both isoforms, C4A and C4B, generate C4b upon activation. C4b binds to C3 for cleavage and activation by C1q. C4b covalently binds to pathogens and opsonizes them. C4a acts as a peptide mediator of inflammation and attracts phagocytes. The C4 TATA-less promoter does contain binding motifs for NF- κ B, Sp1 and bHLH like transcription factors (E-box) but no ISRE or GAS motifs. This correlates with the finding, that IFN- γ induced expression is based on increased mRNA half-life and not on increased transcription rate. However, direct transcriptional activation was also reported with the E-box, as the major element mediating IFN- γ responsiveness. The identity of the transcription factors binding to this element is not known.	a) Mitchell, J Immunol, 1996, 156, 4429 Zambaras, J Biol Chem, 1996, 271, 1237 Vaishnaw, J Immunol, 1998, 160, 4353 Collins, Clin Diagn Lab Immunol, 1996, 3, 1996 Harrison, Invest Ophthalmol Vis Sci, 1990, 31, 2412 Tsukamoto, Immunology, 1992, 75, 565 Kulics, J Clin Invest, 1990, 85, 943 Ulgiani, J Immunol, 2000, 164, 300 b) Li, Microbiol Immunol, 1999, 46, 565
Complement component C9	r: vascular smooth muscle cells	IFN- γ (u), TNF- α (u), LPS (u)	C9 acts as a terminal complement component. It polymerizes with C5b, C6, C7 and C8 as the membrane attacking complex, forming a membrane spanning channel leading to membrane lysis and finally to the lysis of pathogens and cells.	Li, Microbiol Immunol, 1999, 43, 565
Complement system				
Complement Factor B	h: various cell types	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u)	Factor B is involved in the alternative pathway of the complement system. Factor Bb functions as the C3/C5 convertase catalytic subunit and is homologous to C2 from the classical complement pathway. The promoter contains ISRE and GAS elements.	Lappin, Biochem J, 1990, 268, 387 Lappin, Biochem J, 1992, 280, 397 Zambaras, J Biol Chem, 1996, 271, 1237 Lappin, Eur J Biochem, 1990, 194, 177 Ripoche, J Exp Med, 1988, 168, 1917
Complement Factor H	various cell types of different origin	IFN- γ (u)	Factor H is involved in the alternative pathway of the complement system. It functions as a decay/dissociation accelerator of the C3/C5 convertase. Factor H binds to C3b and removes Factor Bb. The Factor H gene is alternatively spliced into 2 unique transcripts, either Factor H or FHL-1/reconectin. The same promoter and the same transcription start site is used for both transcripts. Dose-dependent increase of Factor H mRNA is dependent on <i>de novo</i> protein synthesis. The promoter contains an ISRE element as well as putative GAS elements.	van den Dobbelsteen, Clin Exp Immunol, 1994, 95, 173 Lappin, Biochem J, 1990, 271, 767 Ripoche, J Exp Med, 1988, 168, 1917 Luo, Scand J Immunol, 1999, 49, 487 Friesse, Clin Exp Immunol, 2000, 121, 406 Lappin, Biochem J, 1992, 281, 437 Wilmans, J Immunol, 1990, 144, 3835 Wilk, Scand J Immunol, 1996, 44, 215
Connexin 43	m: microglia	IFN- γ + TNF- α (u), IFN- γ + LPS (u)	Microglia are the main immune effector of the central nervous system. They communicate with one another and with other brain cells through specific extracellular signals, such as cytokines, neurotransmitters and/or adhesion molecules, including integrins and their associated signaling pathways. These signals are transmitted to each other by the establishment of physical contacts and formation of cell debris junctions, such as gap junctions that are formed by connexins. IFN- γ + TNF- α treatment <i>in vitro</i> induces gap junctional communication between rat cortical microglia. Increased protein level and translocation to cell-cell contacts.	Eugenin, PNAS, 2001, 98, 4190
Cell migration CAM				
Corrinin	h: epidermal keratinocytes; bronchial epithelial cells	IFN- γ (u)	IFN- γ is a potent inducer of squamous differentiation in normal human epidermal keratinocytes and bronchial epithelial cells. This induction is characterized by a decrease in the mRNA level of two growth regulatory genes, cdc2 and E2F-1, and a increase in the expression of two squamous cell-specific genes, transglutaminase type I and corrinin. Corrinin is a member of the small proline-rich family of cornified cell envelope precursor proteins and is strictly linked to keratinocyte terminal differentiation. It is thought to be linked to membrane proteins by transglutaminase. The promoter region contains ISRE element that is bound by IRF-1 and IRF-2.	Saunders, J Biol Chem, 1994, 269, 2016 Saunders, An J Respir Cell Mol Biol, 1994, 11, 477 Fischer, Mol Cell Biol, 1996, 16, 5365
Extracellular matrix				
Cot proto-oncogene Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 6 (MAP3K6)	m: bone marrow derived M0	IFN- γ (u)	Cot is able to activate NF κ B by stimulating proteasome-mediated proteolysis of NF κ B/p105 and plays a role in the cell cycle. The longer form of cot has some transforming activity, though it is much weaker than the activated cot oncoprotein.	Gil, PNAS, 2001, 98, 6680
Proliferation Oncogene				
COX-2 Cyclooxygenase-2 Prostaglandin G/H synthase 2 (PGHS-2); Prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (PES-2); TIS 10; Macrophage activation-associated marker protein P7173	a) m: M0 b) h: monocytic cell line U937; M0 c) h: bronchial epithelial cells; keratinocytes d) m: EF; EF derived from Stat1 ⁺ mice	a) IFN- γ (u), IL-1 β (u) b) IL-1 β (u) + IFN- γ (u) c) IFN- γ (u) d) IFN- γ (u)	COX are rate-limiting enzymes that initiate the conversion of arachidonic acid to prostanooids. They may have a role as a major mediator of inflammation and a role for prostanooid signaling in activity-dependent plasticity. In M0, COX-2 is responsible for the high output prostaglandin (PG) production during inflammation and immune responses. In turn, PG inhibits the production of T _H 1-type cytokines, favoring the synthesis of T _H 2-type cytokines. Thus COX-2 is involved via PG in an autocrine inhibitory loop. The induction of COX-2 in human epithelial cells and keratinocytes seems to be mediated by an autocrine loop via the EGFR. Both the human and mouse COX-2 promoter contain two ISRE elements to which the binding of IRF-1 as an transcriptional activator as well as IRF-2 as an transcriptional repressor was confirmed.	a) Phillips, J Leukoc Biol, 1993, 53, 411 Blanco, J Exp Med, 2000, 191, 2131 Farber, Mol Cell Biol, 1992, 12, 1535 b) Barriss-Rodiles, J Immunol, 1998, 161, 2441 c) Asano, J Clin Invest, 1997, 99, 1057 Matsura, J Biol Chem, 1999, 274, 29138 d) Ramana, PNAS, 2001, 98, 6674
Hormone/ Hormone metabolism Inflammation				
COX17 Cytosome C oxidase assembly protein	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN- β (u), IFN- γ (d)	COX17 is a copper metallophore for delivery of copper ions to the mitochondrion for assembly of cytochrome C oxidase. It binds two copper ions and delivers them to the Cu(a) site of COX.	Der, PNAS, 1998, 95, 15623
Unclassified				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
CR1 Complement receptor 1; C3b/C4b receptor; CD35	h: monocytes	IFN- γ (d)	CR1 functions as a decay/dissociation accelerator of the C3/C5 convertase. It binds to complement components C4b and removes C2b or it binds to C3b and removes Factor Bb. Furthermore it serves as a cofactor for the plasma protein that degrades C4b. Therefore CR1 is involved in the regulation of phagocytosis. CR1 is also involved in the erythrocyte transport of immune complexes. IFN- γ stimulation decreases its mRNA stability.	Esparza , J Immunol, 1986, 136, 1360 Firestein , Cell Immunol, 1987, 104, 343
Acute phase Complement system				
CR3 Complement receptor 3; β_2 α_5 integrin (CD18 + CD11b); MAC-1	a) h: promonocytic cell line U937; monocytes b) m: M0	a) IFN- γ (u) b) (IFN- γ + MCSF + GM-CSF) (u)	Integrin mediated cell attachment to extracellular matrix triggers signal transduction cascades that regulate numerous complex biological processes including cell proliferation, differentiation and migration, as well as tissue organization. Ligands: fibrinogen, ICAM-1, factor X and complement component C3b. CR3 is involved in the regulation of phagocytosis.	a) Molina , Cell Immunol, 1991, 134, 241 Bohbot , Exp Hematol, 1993, 21, 564 b) Bauvois , J Immunol, 1992, 148, 3912
β_2 subunit: CD18 α_5 subunit: CD11b				
Acute phase Complement system Integrin				
CR4 Complement receptor 4; β_2 α_6 integrin (CD18 + CD11c); gp150/95;	h: monocytes	IFN- γ (u) (IFN- γ + MCSF + GM-CSF) (u)	Integrin mediated cell attachment to extracellular matrix triggers signal transduction cascades that regulate numerous complex biological processes including cell proliferation, differentiation and migration, as well as tissue organization. Ligands: fibrinogen and complement component C3b. CR4 is involved in the regulation of phagocytosis.	Bohbot , Exp Hematol, 1993, 21, 564
β_2 subunit: CD18 α_6 subunit: CD11c				
Acute phase Complement system Integrin				
Crg-5	m: RAW 264.7 M0	IFN- γ (u)	CRG-5 matches precisely the sequence of the rat LRF-1, a novel leucine zipper protein, that is induced as part of the initial events during liver regeneration.	Farber , Mol Cell Biol, 1992, 12, 1535
Oncogene				
CRFL1 Cytokine receptor-like factor 1; CLF-1	h: primary fibroblasts	IFN- γ (u), TNF- α (u), IL-6 (u)	CLF-1 is a secreted protein and shares significant homology with many cytokine type I receptors. Therefore CLF-1 was suggested to be either a soluble subunit within a receptor complex, or a subunit of a multimeric cytokine. Highly conserved homologues exist in mouse, monkey, rat, rabbit, cow and chicken.	Eison , J Immunol, 1998, 161, 1371
Cytokine				
Cry	r: vascular smooth muscle cells	IFN- γ (u), TNF- α (u), LPS (u)	Cry may be involved in atherosclerosis.	Li , Microbiol Immunol, 1999, 43, 585
Unclassified				
csk c-src; Tyrosine-Protein kinase csk; c-src Kinase; Protein-Tyrosine kinase csl	h: monocytes	IFN- γ (u)	csk is involved in the downregulation of src-family protein-tyrosine kinase activity. It specifically phosphorylates a tyrosine on the src kinase and this tyrosine acts as a negative regulatory site. It can also act on the lyn and fyn kinases. Stimulation with IFN- γ results in an increased level of mRNA and protein.	Musso , J Exp Med, 1994, 180, 2383
Protein-Tyrosin kinase Oncogene				
CX3CL1 Fractalkine	h: HUVEC	IFN- γ (u)	CX3C chemokine. Ligand for CX3CR, CX3CL is a potent agonist for the chemotaxis and adhesion of monocytes and lymphocytes. Primary response gene, no inhibition by CHX.	Imatsumi , Tohoku, J Exp Med, 2000, 192, 127
Cell migration Chemokine				
CXCL1 Melanoma growth-stimulatory activity- α (MGSa- α); Neutrophil-activating protein 3 (NAP-3); Growth regulated protein (GRO α); Platelet-derived growth factor-inducible protein KC; Secretory protein NS1; GRO1	a) h: monocytes b) m: mononuclear phagocytes; peritoneal M0 c) m: bone marrow derived M0	a) IL-1 β (u) + IFN- γ (f) b) LPS (u) + IFN- γ (f) c) IFN- γ (d)	CXC chemokine. Chemotactic activity for neutrophils. Ligand for CXCR2 and CXCR1. ELR-motif containing CXC chemokine. CXCL1 is involved in neutrophil activation.	a) Schnyder-Candrian , J Leukoc Biol, 1995, 57, 929 Yu , J Leukoc Biol, 1990, 48, 412 b) Ohmori , J Immunol, 1994, 153, 2204 c) Gil , PNAS, 2001, 98, 6680
Cell migration Chemokine				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
CXCL10 interferon-inducible protein-10 (IP-10); IP-2-C7; mdo-1; Small cytokine B subfamily member 10 (SCYB10)	various cells of different origin	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u), LPS (u), TNF- α (u)	CXC chemokines. Chemotactic activity for activated T-cells and NK-cells. Ligand for CXCR3. CXCL10, like CXCL11, CXCL12 and CXCL9, lacks the ELR-motif that CXC chemokines normally contain. The ELR motif is associated with neutrophil specificity. It promotes T-cell adhesion to endothelial cells and is a potent inhibitor of angiogenesis. Furthermore CXCL10 has direct antimicrobial effects, similar to defensins. The promoter region contains one ISRE and two NF- κ B sites. IL-4 can inhibit IFN- γ induction by activation of a negative regulator that competes for the ISRE.	Luster, Nature, 1995, 375, 672 Luster, J Exp Med, 1997, 186, 1084 Vanguri, J Biol Chem, 1990, 265, 5049 Gomez-Chiarri, Am J Pathol, 1993, 142, 433 Gomez-Chiarri, Am J Pathol, 1996, 148, 301 Cantillon, J Immunol, 1997, 159, 2325 Cantillon, J Immunol, 1997, 159, 623 Farber, Mol Cell Biol, 1992, 12, 1535
Cell migration Chemokine Antimicrobial				
CXCL11 H174; IFN-inducible T cell α chemoattractant (I-TAC); interferon- γ inducible protein-9 (IP-9); β -R1; Small cytokine B subfamily member 11 (SCYB11)	a) h; various cell types b) h; epithelio-nuclear neutrophils c) m; RAW264.7 M0; 3T3 fibroblasts	a) IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u) b) IFN- γ (+ TNF- α or LPS) (u) c) IFN- γ (u), LPS (u), IFN- α (u), IFN- β (u)	CXC chemokines. Chemotactic activity for activated T-cells and NK-cells. Ligand for CXCR3. CXCL11, like CXCL10, CXCL12 and CXCL9, lacks the ELR-motif that CXC chemokines normally contain. The ELR motif is associated with neutrophil specificity. CXCL11 stimulates calcium flux response and is a potent inhibitor of angiogenesis. Furthermore it has a direct antimicrobial effect, similar to the defensins. The promoter region contains ISRE, GAS and NF κ B sites.	a) Luo, J Neurovirol, 1998, 4, 575 Luo, J Neurovirol, 1999, 112, 716 Tjenssen, Biochim Biophys Acta, 1999, 1446, 167 Lalich, J Interferon Cytokine Res, 1999, 19, 505 Cole, J Exp Med, 1988, 187, 2009 Cole, J Immunol, 2001, 167, 623 b) Gasperini, J Immunol, 1999, 162, 4928 c) Widney, J Immunol, 2000, 164, 6322 Meyer, Cytogenet Cell Genet, 2000, 86, 278
Cell migration Chemokine Antimicrobial				
CXCL3 MIP-2 β ; GRO γ ; MGS-A- γ ; GRO3; Small cytokine B subfamily member 2 (SCYB2)	m; bone marrow derived M0	IFN- γ (d)	CXC chemokine. Chemotactic activity for neutrophils. Ligand for CXCR2. ELR-motif containing CXC chemokine. CXCL3 is involved in neutrophil activation.	Gil, PNAS, 2001, 98, 6680
Cell migration Chemokine				
CXCL5 Epithelial cell-derived neutrophil activating protein-78 (ENA-78); AMCF-II; LIX	a) h; monocytes b) h; fibroblast cell line E6SM	a) IL-1 β (u) + IFN- γ (f) b) IFN- γ (d)	CXC chemokine. Chemotactic activity for neutrophils. Ligand for CXCR2. ELR-motif containing CXC chemokine. CXCL5 is involved in neutrophil activation.	a) Schwyder-Candrian, J Leukoc Biol, 1995, 57, 329 b) Froyen, Eur J Biochem, 1997, 243, 762
Cell migration Chemokine				
CXCL6 Granulocyte chemotactic protein-2 (GCP-2); CKA3	h; osteosarcoma cell line MG-63; monocytic leukemia cell line THP-1	IFN- γ (d)	CXC chemokine. Chemotactic activity for neutrophils. Ligand for CXCR1 and CXCR2. ELR-motif containing CXC chemokine.	Froyen, Eur J Biochem, 1997, 243, 762
Cell migration Chemokine				
CXCL8 interleukin-8 (IL-8); Monocyte derived chemotactic protein-1; MIP-1 α ; (MDC1); Neutrophil activating protein-1 (NAP-1); Lymphocyte-derived neutrophil activating protein (LYNAP); T-cell chemotactic factor; Protein 3-10C; Neutrophil activating factor (NAP) ; Granulocyte chemotactic protein-1 (GCP-1); Enoxactin; MONAP	see remark	see remark	CXC chemokine. Chemotactic activity for neutrophils, basophils and T-cells. Ligand for CXCR1 and CXCR2. It is also involved in neutrophil activation. The observed effects of IFN- γ on the expression of IL-8 are inconsistent, see references for details.	Brown, Am J Pathol, 1994, 145, 913 Pisama, J Invest Biol Chem, 1993, 268, 5834 Barber, J Clin Invest, 1990, 85, 605 Cassatella, Biochem J, 1995, 310, 751 Cassatella, Immunology, 1993, 78, 177 Galy, J Immunol, 1991, 147, 3823 Bosco, Blood, 1994, 83, 537 Lee, Mol Cell Biol, 1990, 10, 1982 Yasumoto, J Biol Chem, 1992, 267, 22506 Gusella, J Immunol, 1993, 151, 2725 Musso, Blood, 1995, 86, 1961 Seitz, J Immunol, 1994, 152, 2060 Teunissen, J Invest Dermatol, 1998, 111, 645 Meda, Cell Immunol, 1994, 157, 448
Cell migration Chemokine				
CXCL9 Monokine induced by γ -interferon (Mig); Crg-10	a) m; RAW 264.7 M0 b) h; monocytes	a) IFN- γ (u) b) IFN- γ (u)	CXC chemokine. Chemotactic activity for activated T-cells and NK-cells. Ligand for CXCR3. CXCL9, like CXCL10, CXCL12 and CXCL11, lacks the ELR-motif that CXC chemokines normally contain. The ELR motif is associated with neutrophil specificity. It is a potent inhibitor of angiogenesis and has direct antimicrobial effects, similar to defensins. CXCL9 is a primary response gene and its promoter region contains a GAS element.	a) Farber, PNAS, 1990, 87, 5238 Farber, Biochem Biophys Res Commun, 1993, 192, 223 Farber, Mol Cell Biol, 1992, 12, 1535 Liao, J Exp Med, 1995, 182, 1301 b) Wright, J Exp Med, 1991, 173, 417 Wong, Mol Cell Biol, 1994, 14, 914 Cole, J Immunol, 2001, 167, 623
Cell migration Chemokine Antimicrobial				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
CXCR4 Fusin	a) h: peripheral blood mononuclear cells; monocytes; Langerhans cells; endothelial cells b) h: eosinophils c) m: bone marrow derived M0	a) IFN- γ (d), IFN- β (d), IFN- α (d), IL-4 (u), TGF- β 1 (u) b) IFN- γ (u), TGF- β 1 (u), TNF- α (u), IL-4 (d), IL-5 (d) c) IFN- γ (d)	CXC chemokine receptor. Chemokine ligands: CXCL12. CXCR4 is one of the major HIV-1 entry coreceptors. The decreased expression upon IFN- γ stimulation leads also to the inhibition of HIV-1 entry. The observed upregulation by IFN- γ in human eosinophils is unaffected by an increased mRNA expression. The promoter region contains an ISRE element.	a) Shirazi, J Hum Virol, 1998, 1, 69 Zachewski, J Immunol, 1998, 161, 3219 Wegner, J Biol Chem, 1998, 273, 4754 Penton-Rol, J Immunol, 1998, 160, 3669 Gupta, J Biol Chem, 1998, 273, 4282 b) Nagase, J Immunol, 2000, 164, 5935 Nagase, Int Arch Allergy Immunol, 2001, 125, 29 c) Gill, PNAS, 2001, 98, 6680
CYBZ7B1 25-hydroxyvitamin D3 1 α -hydroxylase	a) h: peripheral blood monocytes; differentiated THP-1 b) m: M0	a) IFN- γ (u), TNF- α (u), IL-1 (u), IL-2 (u) b) IFN- γ (u), LPS (u)	CYBZ7B1 catalyzes the conversion of 25-hydroxyvitamin D3 to 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 and plays an important role in normal bone growth, calcium metabolism, and tissue differentiation.	a) Gytko, J Leukoc Biol, 1993, 54, 17 b) Overbergh, Clin Exp Immunol, 2000, 120, 139
Lipid transport/metabolism				
Steroids				
Cyclin A CCNA	a) h: mammary epithelial cells b) EC3 c) r: vascular smooth muscle cells	IFN- γ (d)	Cyclins associate with and positive regulate cyclin-dependent kinases (cdk) that act as proliferative proteins. cdk5 are negatively regulated by phosphorylation of the cdk. Cyclin A promotes cell cycle progression by associating with, and stimulating cyclin-dependent kinases, cdk2 and cdc2 and is a critical regulator of the cell cycle at both the G $_1$ -S junction and during the G $_2$ -M transition. The cyclin A mRNA level, protein level and activity are downregulated by IFN- γ . The transcriptional inhibition is independent of cis-acting elements in the cyclin A promoter; thus it may depend on inhibition of co-activators or general transcription factors.	a) Harvat, Cell Growth Differ, 1996, 7, 289 b) Sribing, J Biol Chem, 1997, 272, 12137 c) Sribing, J Biol Chem, 1999, 274, 12139
Proliferation				
Cyclin B CCNB	h: renal carcinoma cell line TC-1	IFN- γ (d)	Cyclins associate with and positive regulate cyclin-dependent kinases (cdk) that act as proliferative proteins. cdk5 are negatively regulated by phosphorylation or by association with inhibitory proteins, known as cdk inhibitors (ckis), that act as antiproliferative proteins. Cyclin B is an G $_2$ -M cell cycle transition regulatory protein and is involved in cell cycle arrest when DNA damage has occurred or when unligated DNA is present. It binds to and phosphorylates cdc25a, cdc25b, and cdc25c. Phosphorylation of cdc25c creates a binding site for 14-3-3 protein which inhibits cdc25c. This prevents activation of the cdc2-cyclin B complex and prevents mitotic entry.	Hall, Anticancer Res, 1996, 16, 1755 Yamada, Mol Cell Biochem, 1994, 136, 117
Proliferation				
Cyclin D1 CCND1; Parathyroid adenomatosis 1 (PRAD1)	a) r: vascular smooth muscle cells b) m: bone marrow derived M0	a) IFN- γ (u) b) CSF-1 (u) + IFN- γ (f)	Cyclins associate with and positive regulate cyclin-dependent kinases (cdk) that act as proliferative proteins. cdk5 are negatively regulated by phosphorylation or by association with inhibitory proteins, known as cdk inhibitors (ckis), that act as antiproliferative proteins. Cyclin D1 is essential for the control of the cell cycle at the G $_1$ -S (start) transition and interacts with the cdk5 and cdk6 protein kinases to form a serine/threonine kinase holoenzyme complex. The cyclin subunit imparts substrate specificity to the complex.	a) Sribing, J Biol Chem, 1999, 274, 12139 b) Vadiveloo, Oncogene, 1996, 13, 599 Cocks, J Biol Chem, 1992, 267, 12307
Proliferation				
Cyclin D3 CCND3	h: Daudi Burkitt lymphoma cells	IFN- γ (d)	Cyclins associate with and positive regulate cyclin-dependent kinases (cdk) that act as proliferative proteins. cdk5 are negatively regulated by phosphorylation or by association with inhibitory proteins, known as cdk inhibitors (ckis), that act as antiproliferative proteins. Cyclin D3 is essential for the control of the cell cycle at the G $_1$ -S (start) transition. It interacts with the cdk5 and cdk6 protein kinases to form a serine/threonine kinase holoenzyme complex. The cyclin subunit imparts substrate specificity to the complex.	Yamada, Mol Cell Biochem, 1994, 136, 117
Proliferation				
CYP17 Steroid 17 α -hydroxylase C17 α lyase, P450c17	p: primary Leydig cells	IFN- γ (d)	Steroidogenic enzyme that is involved in the conversion of pregnenolone and progesterone to their 17 α -hydroxylated products and subsequently to dehydroepiandrosterone and androstenedione. CYP17 catalyzes both the 17 α -hydroxylation and the 17,20-lyase reaction. It is involved in sexual development during fetal life and at puberty.	Orava, Mol Endocrinol, 1989, 3, 887
Lipid transport/metabolism				
Steroids				
Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR); ATP-binding cassette sub-family C, member 7; MRP7	h: epithelial cells HT-29 and T84	IFN- γ (d), TNF- α (d)	CFTR is a cAMP regulated Cl ion channel located in the apical membrane of normal epithelial cells that acts also as an ATPase. A defect of CFTR leads to the inherited disorder cystic fibrosis. The role of CFTR and the inhibition of Cl fluxes within the IFN- γ response are not known. The IFN- γ mediated downregulation of CFTR occurs by a decreased mRNA stability.	Besancon, Am J Physiol, 1994, 267C, 1398
Unclassified				
Cytokeratin 17 K17; Keratin; Type I cytoskeletal 17; K17	h: HeLa cells; HaCAT keratinocytes	IFN- γ (u)	Cytokeratin 17 is required for normal filament assembly. The promoter contains three putative GAS-elements (GAS 1-3). Although only GAS3 is capable of competing for or binding to GAF in competition EMSAs, its activity could not be detected in CAT assays. Furthermore, another region (-111 - +15) seems to confer to inducibility by IFN- γ , despite lacking GAS- or ISRE-elements (273).	Vogel, Eur J Biochem, 1995, 227, 143 Bonneloh, J Invest Dermatol, 1995, 104, 58 Föhr, Eur J Immunol, 1992, 22, 975 Trojanovsky, Eur J Cell Biol, 1992, 59, 127 Vogel, 1995, Immunobiology, 193: 322 Shaw, Electrophoresis, 1989, 20, 984
Cytoskeleton				
Cytolysin	r: microglia; astrocytes; oligodendrocytes	IFN- γ (u) + LPS (f)	Up-regulation of cytolysin mRNA is markedly more prominent in oligodendrocytes than in microglia or astrocytes. Inducible cytolysin may play a role in destruction of oligodendrocytes or clearance of infiltrating cells within the CNS in inflammatory diseases such as multiple sclerosis or experimental allergic encephalomyelitis.	Xiao, Neuroreport, 1996, 8, 329
Apoptosis				
D3 Proliferation regulator HIN-200 family	m: peritoneal M0; fibroblasts; 70Z/3 pre B-cells	IFN- γ (u), IFN- β (u), LPS (u), TNF- α (u)	Member of the p200 family of proteins consisting of p202a, p202b, p203, p204 and D3 that are homologues of the human HIN-200 family. HIN-200/p200 family proteins participates in the regulation of the cell cycle, differentiation and apoptosis by interacting with transcription factors and growth regulatory proteins. This could be also observed for AIM2, as AIM2 overexpression inhibits cell growth.	Hamilton, J Immunol, 1989, 142, 2325 Tannenbaum, J Leukoc Biol, 1993, 53, 563 Lundholm, Biochim Biophys Acta, 1999, 147 Srinivasan, J Biol Chem, 1998, 273, 6408 Patrone, Mol Immunol, 2001, 38, 587

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
DAF Decay accelerating factor; CD55	a) h: gastro-intestinal tumor cell line HT-29 b) r: vascular smooth muscle cells	a) IFN- γ (u) b) IFN- γ (u), TNF- α (u), LPS (u)	DAF is a membrane protein involved in apoptosis. It protects cells against lysis by activated complement (complement inhibitor). DAF functions as a decay/association accelerator of the C3/C5 convertase and removes the complement component Factor Bb from C3b as well as C2b from C4b. IFN- γ stimulation leads to upregulation of mRNA and protein levels.	a) Schmitt , Eur J Cancer, 1999, 35, 117 Nesher , Clin Exp Immunol, 1999, 113, 379 b) Li , Microbiol Immunol, 1999, 43, 585
Apoptosis Acute phase Complement system				
DAP-2 Death associated protein kinase (DAPk)	h: HeLa cells	IFN- γ (u)	Ca ²⁺ /calmodulin dependent cytoskeletal-associated serine/threonine protein kinase, initially identified as a gene, whose anti-sense mediated reduced expression protected cells from IFN- γ -induced cell death.	Deiss , EMBO J, 1996, 15, 3861 Deiss , Genes Dev, 1995, 9, 15 Kissil , J Biol Chem, 1995, 270, 27932 Cohen , EMBO J, 1997, 16, 998 Levy-Strumpf , Oncogene, 1998, 17, 3331
Apoptosis				
Decorin (DCN) Extracellular matrix CAM	h: chondrocytes	IFN- γ (d), TNF- α (u) TNF- α + IFN- γ (db)	DCN binds to type I and type II collagen and affects the rate of fibrils formation. It also binds to fibronectin and TGF- β .	Dodge , Arthritis Rheum, 1998, 41, 274
Desquamin Extracellular matrix CAM	h: keratinocytes	IFN- γ (u)	Cell adhesion molecule, found only in terminally differentiated epidermis; endogenous lectin specific for amino sugars.	Brysk , Exp Cell Res, 1991, 197, 140 Brysk , J Interferon Cytokine Res, 1995, 15, 1029
DF3 antigen Antigen Unclassified	h: primary and metastatic breast tumor cells	IFN- γ (u)	Breast tumor associated DF3 antigen. The function is unknown.	Spaggiari , Cancer Biother Radiopharm, 1996, 11, 177
Dipeptidylpeptidase IV (DPP IV); THAM; CD26 CAM Lymphocyte activation	h: chronic B lymphocytic leukemia cell B-CLL; renal tubular epithelial cells	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u)	CD26 is a type II transmembrane glycoprotein, functioning as a membrane ectopeptidase, involved in extracellular adhesion and cell activation. CD26 may be also involved in the entrance of HIV into the host cell. The promoter contains GAS site to which STAT1 α binds.	Bauvois , Oncogene, 2000, 19, 265 Kehlen , Clin Exp Immunol, 1998, 111, 435
Dubiquitin FAT10 Antigen processing Proliferation	h: various cell types	IFN- γ (u), TNF- α (u), IFN- γ + TNF- α (uu)	Ubiquitin conjugation is a rate-limiting step in antigen presentation. Dubiquitin consists of two ubiquitin-like domains in head-to-tail arrangement and is encoded at the telomeric end of the MHC class I locus. It is constitutively expressed in some lymphoblastoid cell lines and DCs. Its expression is controlled at several levels, including transcription, translation and protein stability. Dubiquitin is noncovalently associated with MAD2, that is implicated in a cell cycle checkpoint for spindle assembly during anaphase and might therefore also be implicated in the regulation of cell proliferation.	Raasi , Eur J Immunol, 1999, 29, 4030 Liu , PNAS, 1999, 96, 4313
DLM-1 Signal transduction ?	m: peritoneal M0	IFN- γ (u), LPS (u)	Up-regulation is not blocked by cycloheximide. The DLM-1 amino acid sequence contains multiple potential protein kinase C and casein kinase II phosphorylation sites. Thus, DLM-1 might be involved in cellular signal transduction. Furthermore DLM-1 expression is up-regulated in tumor stromal cells, suggesting that it plays a role in host defense against tumors.	Fu , Gene, 1999, 240, 157
DNA-binding protein Transcription factor ? Proliferation ?	m: bone marrow derived M0	IFN- γ (u)	Zinc finger protein with homology to the Krüppel family of Z1 proteins. Might be involved in processes of differentiation or transformation.	Gil , PNAS, 2001, 98, 6680
DPYD Dihydropyrimidine dehydrogenase Unclassified	see remarks	see remarks	DPYD is the rate-limiting enzyme in the degradation of pyrimidine bases and the disruption of this element leads to reduced DPYD activity. The Remark: The promoter contains a putative ISRE element and the disruption of this element leads to reduced DPYD activity. The inducibility of DPYD by IFN was not directly analyzed.	Collie-Dugguid , Biochem Biophys Res Commun, 2000, 271, 28
dsRNA-specific adenosine deaminase (dsRNAAdd); ADAR1; IFI4 Antiviral	a) h: aminion cells; fibrosarcoma cell line HT1080; alveolar M0; neuroblastoma cells b) r: fibroblasts	a) IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u) b) IFN- γ (u)	ADAR1 catalyzes the site-selective deamination of adenosine to inosine in viral and cellular RNAs, a process known as RNA editing. RNA editing leads to an alteration of the coding capacity of the RNA and thus the function of the encoded product. Viral RNAs are hypermutated during lytic and persistent infection, suggesting the involvement of ADAR-1 in antiviral activities. ADAR1 exists in two major isoforms, ADAR1p150 and ADAR1p130, which are encoded by the same gene but are alternatively spliced from different promoters. The IFN- γ inducible ADAR1 promoter contains an ISRE element and a Kinase Conserved Sequence (KCS) previously only detected in PKR gene promoters.	a) George , PNAS, 1999, 96, 4621 George , Gene, 1999, 229, 203 Patterson , Mol Cell Biol, 1999, 15, 5376 De , J Biol Chem, 1999, 274, 4419 De , PNAS, 1998, 95, 15623 Liu , J Virol, 1996, 70, 1961 Patterson , Virology, 1995, 210, 508 Wathelet , Somatic Cell Mol Genet, 1988, 14, 415 b) Rabinovici , Circ Res, 2001, 88, 1066
E-cadherin Cell migration CAM	h: intestinal epithelial cell line Caco2	IFN- γ (d), IL-1 (d), TNF- α (d)	Morphoregulatory cell adhesion molecule, forms complexes with β -catenin.	Perry , Lab Invest, 1999, 79, 1489

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
E-selectin Endothelial leukocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1); Leukocyte-endothelial cell adhesion molecule-2 (LECAM-2); CD62E	a) h: HUVEC b) h: HUVEC c) h: dermal microvascular endothelial cells d) dsRNA (u) + IFN-γ (f)	a) (TNF-α (u), IL-1 (u), LPS (u)) + IFN-γ (e) b) (L-1β (u), TNF-α (u), PMA (u)) + IFN-γ (f) c) IFN-γ (f)	E-selectin is a cell surface lectin-like adhesion molecule expressed on cytokine induced endothelial cells, mediating their binding to leukocytes. It is a strong adhesion receptor for neutrophils and a small subset of memory T-cells but not naive T-cells or eosinophils and participates in neutrophil recruitment into inflammatory sites. Ligands: sialyl Lewis-X, sialyl Lewis-A, cutaneous lymphocyte associated antigen (CLA). IFN-γ alone does not affect the expression of E-selectin but it enhances and prolongs its expression in combination with other cytokines. The effect of IFN-γ on cytokine induced E-selectin synthesis is controversially discussed.	a) Loewenber , J Immunol, 1990, 145, 2110 b) Loewenber , J Immunol, 1990, 145, 2110 c) Loewenber , J Immunol, 1990, 145, 2110 d) Loewenber , J Immunol, 1997, 46, 338 e) Loewenber , J Immunol, 1997, 46, 338 f) Loewenber , J Immunol, 1997, 46, 338 g) Loewenber , J Immunol, 1997, 46, 338 h) Loewenber , J Immunol, 1997, 46, 338 i) Loewenber , J Immunol, 1997, 46, 338 j) Loewenber , J Immunol, 1997, 46, 338 k) Loewenber , J Immunol, 1997, 46, 338 l) Loewenber , J Immunol, 1997, 46, 338 m) Loewenber , J Immunol, 1997, 46, 338 n) Loewenber , J Immunol, 1997, 46, 338 o) Loewenber , J Immunol, 1997, 46, 338
Cell migration Selectin				
EZF-1 Retinoblastoma binding protein 3 (rbp-3); pRB-binding protein 3 (pbr3); Retinoblastoma-associated protein 1 (rbp-1)	h: bronchial epithelial cells; epidermal keratinocytes	IFN-γ (f)	EZF binds DNA cooperatively with DP proteins through the EZ recognition site found in the promoter region of a number of genes whose products are involved in cell cycle regulation or in DNA replication. The dtrf1/EZF complex functions in the control of cell-cycle progression from G ₁ to S phase. EZF-1 binds preferentially retinoblastoma protein 1, in a cell-cycle dependent manner. It can mediate both cell proliferation and p53-dependent apoptosis and is phosphorylated by cdk2 and cyclin A-cdk2 in the S-phase.	Saunders , Am J Respir Cell Mol Biol, 1994, 11, 147 Saunders , J Biol Chem, 1994, 269, 2016
Proliferation Apoptosis Transcription factor				
Early growth response protein 1 (EGR-1); Krox-24 protein; zif/288; TIS8; NGF-A; Crg-3	a) m: RAW 264.7 M0; 3T3 fibroblasts b) h: foreskin fibroblasts FS-4 c) m: EF; EF derived from Stat1 ⁺ mice	a) IFN-γ (u), IFN-α (u) IFN-β (u), TNF-α (u) b) IFN-γ (u), IL-1 (u) c) IFN-γ (u)	Transcriptional regulator that recognizes and binds to the EGR site. It activates transcription of target genes whose products are required for mitogenesis and differentiation. EGR-1 is a zinc finger-containing protein.	a) Ferber , Mol Cell Biol, 1992, 12, 1535 b) Cao , J Biol Chem, 1992, 267, 1345 c) Ramana , PNAS, 2001, 98, 6674
Transcription factor Oncogene	m: EF derived from Stat1 ⁺ mice	IFN-γ (u)	EGR-2 is a sequence specific DNA-binding transcription factor. It binds to two specific DNA sites located in the promoter region of Irfx-1,4.	Ramana , PNAS, 2001, 98, 6674
EGFR Epidermal growth factor receptor; c-erbB Growth factor receptor Antiviral ?	a) h: amniotic cells WISH b) h: melanoma cell lines MDA 468; squamous cell line A431	a) TPA (d) + IFN-γ (e) b) IFN-γ (d) c) IFN-γ (u)	EGF-R is a type I membrane protein, mediating the biological signal of EGF, and also of TGF-α, amphiregulin, heparin-binding EGF, gp30 and vaccinia virus growth factor. Binding of EGF to the receptor leads to internalization of the EGF-receptor complex, induction of the tyrosine kinase activity, stimulation of cell DNA synthesis, and cell proliferation. Furthermore EGF-R is involved in bacterial and viral invasion of cells.	Sedlak , Chemotherapy, 1994, 40, 51 Witek , Blood, 1992, 80, 1536 Worm , Exp Cell Res, 1995, 30 Karasaki , J Biol Chem, 1999, 274, 6158 Karasaki , J Interferon Res, 1992, 12, 185 Katoh , Sangyo Ika Daigaku Zasshi, 1992, 14, 165 Hamburger , Anticancer Res, 1991, 11, 1891
EGF-response factor 1 (ERF-1); ZFP35	m: EF derived from Stat1 ⁺ mice	IFN-γ (u)	TIS11 is probably a regulatory protein with a novel zinc finger structure involved in regulating the response to growth factors. It has been experimentally shown to be able to bind zinc.	Ramana , PNAS, 2001, 98, 6674
Transcription factor Proliferation				
EGF-response factor 2 (ERF-2); Tis11f; Buytrate response factor 2	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN-γ (u), IFN-α (u), IFN-β (u)	ERF-2 is a member of the TIS11 family of early response genes. Family members are induced by various agonists such as the phorbol ester TPA and the polypeptide mitogen EGF. ERF-2 contains a putative zinc finger domain with a repeating cys-his motif. This putative transcription factor most likely functions in regulating the response to growth factors.	Der , PNAS, 1998, 95, 15623
Transcription factor Proliferation	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN-γ (u)	eIF-2B is a translation initiation factor complex of five different subunits; alpha, beta, gamma, delta and epsilon. The α subunit catalyzes the exchange of eukaryotic initiation factor 2-bound GDP for GTP.	Der , PNAS, 1998, 95, 15623
Translation	r: pancreatic β- cells	IL-1β + IFN-γ (u)	NBC constitutes the major route for HCO ₃ ⁻ reabsorption and assists in Na ⁺ reabsorption across the basolateral membrane of the renal proximal tubule.	Cardozo , Diabetes, 2001, 50, 909
Unclassified				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
Endothelin (ET-1) Acute phase Proliferation	a) h: monocytes b) h: vascular smooth muscle cells; HUVEC c) h: glioblastoma cell line T98G d) r: inner medullary collecting duct cells, alveolar epithelial cell line L2 e) h: aortic and pulmonary aortic endothelial cells f) h: aortic endothelial cells	a) IFN- γ (u), LPS (u) b) IFN- γ + TNF- α (u) c) IFN- γ (d), TNF- α (u), IL-1 β (u) d) IFN- γ (d), TNF- α (u), IL-1 (u), TGF- β (u), LPS (u) e) IFN- γ (u), TNF- α (u), TGF- β (u) f) TNF- α (u) + IFN- γ (e)	Endothelin is a vaso- bronchoconstrictor and has mitogenic activity on smooth muscle cells and fibroblasts. It is generated by the vascular cell wall and appears to be the most important peptide involved in the regulation of cardiovascular disease. Elevated mRNA expression of prepro-ET-1 and release of ET-1 into the culture medium, secreted by glioblastoma cells, it may act locally on tumor cells, possibly as a growth modulator. ET-1 activates M0 and stimulates chloride secretion. Pretreatment of BAEC with IFN- γ inhibits TNF- α stimulated increases in ET-1 expression.	a) Sath , Immunology, 1998, 95, 472 b) Woods , Mol Pharmacol, 1999, 55, 902 c) Melet , J Allergy Clin Immunol, 2000, 105, 333 d) Sone , J Cardiovasc Pharmacol, 2000, 36, S390 e) Kohan , Am J Physiol, 1994, 266, F291 f) Markewitz , Am J Physiol, 1995, 268, L192 g) Kanse , Life Sci, 1991, 48, 1379 h) Lamas , J Clin Invest, 1992, 90, 879
Endothelin-converting enzyme 1 (ECE-1) Acute phase Proliferation	h: HUVEC	MCP-1 (u), RANTES (u), MIP-1 α (u), TNF- α + IFN- γ (u)	Expression of ECE-1, the major big endothelin-processing enzyme, is controlled by alternative promoters; association with post-inflammatory hyperpigmentation. ECE-1 is expressed at significant levels in various types of human skin cells (including keratinocytes) and that it plays a constitutive role in the processing and secretion of ET-1 by human keratinocytes, which leads to the stimulation of pigmentation in the epidermis.	Melet , J Allergy Clin Immunol, 2000, 105, 333
Erythropoietin receptor (EPO receptor) Growth factor receptor	h: erythroid colony-forming cells	IFN- γ (d)	The EPO receptor belongs to the hematopoietin receptor family. EPO is an unusual cytokine in that it is not produced by hematopoietic cells, only by liver and kidney. EPO acts as a true hormone, stimulating erythroid precursors to generate red blood cells. It also stimulates platelet generation.	Taniguchi , Blood, 1997, 90, 2244
ESM-1 Endothelial cell specific molecule-1 CAM	h: HUVEC	TNF- α (u) + IFN- γ (f)	ESM-1 may have potent implications in lung endothelial cell- leukocyte interactions. The cysteine-rich protein has a functional NH2-terminal hydrophobic signal sequence.	Lassalle , J Biol Chem, 1996, 271, 20458
Extracellular superoxide dismutase (EC-SOD) Extracellular matrix	? : vascular smooth muscle cells	IFN- γ (u), IL-4 (u), TNF- α (d)	SOD isoenzyme. Oxygen free radicals as well as immunological reactions have been suggested to play important roles in atherogenesis and other pathological processes of the blood vessel wall.	Stralin , Atherosclerosis, 2000, 151, 433
Factor I Plasma protein factor I Acute phase Complement system	h: HUVEC	IFN- γ (u)	Factor I cleaves C4b into C4c and C4d thereby inactivating C4b. It also functions as a decay/dissociation accelerator of the C3/C5 convertase by cleaving and deactivating of C3b.	Ripoche , J Exp Med, 1988, 168, 1917
Fas Apo-1; CD95 Apoptosis Proliferation	a) h: various cell types b) h: primary cultured hepatocytes of IRF-1 deficient mice	a) IFN- γ (u) b) IFN- γ (u)	The Fas/Apo-antigen is a membrane glycoprotein belonging to the TNF receptor family. Ligation of Fas results in aggregation of the intracellular death domains, leading to the recruitment of a set of signaling proteins, which includes Fas, FADD, FLICE and an adaptor molecule. After binding of FLICE to FADD, FLICE can produce an activation of proteolytic activity and trigger the ICE-like protease cascade (caspases). Caspases cleave a variety of substrates that is finally leading to apoptosis independent of p53.	a) Takahashi , J Invest Dermatol, 1995, 105, 810 b) Snoeck , Exp Hematol, 1993, 21, 1480 c) Maciejewski , Blood, 1995, 85, 3183 d) Xu , Cancer Res, 1996, 56, 2852 e) Ossina , J Biol Chem, 1997, 272, 16351 f) Kato , Pathol Int, 1997, 47, 230 g) Wang , Blood, 1998, 91, 3339 h) Bernassola , Cell Death Differ, 1999, 6, 652 i) Kano , Biochem Biophys Res Commun, 1999, 257, 672 j) Der , PNAS, 1998, 95, 15623
Fas-ligand (FasL) Apoptosis Proliferation	see remark	see remark	The Fas mediated apoptosis involves a variety of signaling molecules, including Fas, FADD, FLICE and an adaptor molecule leading to the activation of caspases and finally to cell death without involvement of p53. The signaling cascade is triggered by FasL. The FasL promoter region does contain an IRF-1, IRF-2 binding site and both activate expression. An IFN- γ mediated upregulation was not shown.	Chow , J Immunol, 2000, 164, 3512
Fox receptor (Fox-R) Immunoglobulin receptor	h: mesangial cells	IFN- γ (u), TNF- α (u), IL-6 (u)	IgA receptor.	Bagheri , Clin Exp Immunol, 1997, 107, 404
Fox receptor II (FoxRII) Low affinity immunoglobulin ϵ Fc receptor; Lymphocyte IgE receptor; BLAST-2, Immunoglobulin E-binding factor (IgEBF); CD23; Immunoglobulin receptor	a) h: normal B cells, monocytes b) h: neutrophils isolated from RA patients	a) IL-4 (u) + IFN- γ (f) b) 24 h incubation in RPMI (u) + (IFN- γ or GM-CSF or IL-4) (f)	Fc ϵ -R1 binds to the Fc portion of monomeric IgG with low affinity. It mediates mainly allergen-dependent allergic responses and plays an essential role in the regulation of IgE production and in the differentiation of B-cells. Ligand for the CD19/CD21/CD81-coreceptor complex.	a) Lee , Mol Immunol, 1993, 30, 301 b) Verde , J Immunol, 1994, 153, 3052 c) Vella , Inflammation, 1999, 23, 471

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
Fcγ receptor 1 (Fcγ-R1); High affinity IgG receptor; CD64	h: monocytes; monocyte cell line U937; mast cells; glomerular mesangial cells; neutrophils	IFN-γ (u)	Fcγ-R1 binds to the Fc portion of monomeric IgG with high affinity. It mediates phagocytosis, antibody dependent cellular cytotoxicity, superoxide production, antigen presentation and cytokine release. Fcγ-R1 is a classical early response gene, induction mediated through GAS. Promoter and induction mechanism is much studied.	Comber, Cell Immunol, 1992, 145, 324 Okuyama, J Immunol, 2000, 164, 4332 Pearse, PNAS, 1991, 68, 13305 Pearse, PNAS, 1993, 90, 4314 Paquette, Mol Immunol, 1995, 32, 841 Wilson, PNAS, 1992, 89, 11964 Uciechowski, Eur J Immunol, 1998, 28, 2928 te Velde, J Immunol, 1990, 144, 3046 Bovolenta, J Immunol, 1998, 160, 911 Perussia, J Exp Med, 1983, 158, 1092 Cayre, Clin Invest, 1983, 167, 266 Stern, J Biol Chem, 1967, 242, 22079 Aste-Amezaga, Blood, 1992, 79, 735 Huizinga, Blood, 1991, 77, 2088 Perez, Mol Cell Biol, 1993, 13, 2182
Immunoglobulin receptor				
Fcγ receptor II (Fcγ-RII)	h: monocytes monocyte cell line U937	IFN-γ (u)	Cell surface receptor for the Fc portion of IgG that mediates phagocytosis and other effector functions.	Comber, Cell Immunol, 1992, 145, 324
Immunoglobulin receptor				
Ferritin	h: monocytes	IFN-γ (d)	Acute phase reactants are predominantly synthesized in the liver and their serum levels are increased or reduced already approximately 90 min after the onset of an inflammatory reaction. They function as mediators or inhibitors of inflammation, act as transport proteins for products synthesized during inflammatory processes and/or play an important role in tissue repair and remodeling. Ferritin is an intracellular molecule that stores iron in a soluble, nontoxic, readily available form. The functional molecule, which is composed of 24 chains, is roughly spherical and contains a central cavity in which the polymeric ferric iron core is deposited.	Byrd, J Clin Invest, 1993, 91, 969
Acute phase iron metabolism				
FEZ1-T	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN-γ (d), IFN-α (d)	FEZ1-T may be involved in axonal outgrowth as component of the network of molecules that regulate cellular morphology and axon guidance machinery. It is able to restore partial locomotion and axonal fasciculation to C. elegans UNC-76 mutants in germ-line transformation experiments.	Der, PNAS, 1998, 95, 15623
Proliferation ?				
FGF-R1	h: endothelial cells; HUVEC	IFN-γ + IL-1 (d)	FGF family members promote proliferation of many cell types but inhibit some stem cells. They induce mesoderm formation in early embryos. FGF-R1 is a type I membrane protein and the receptor for basic FGF (FGF2). A shorter form of the receptor could be a receptor for acidic FGF (FGF1). FGF-R1 is furthermore an entry receptor for herpes virus. IFN-γ mediated downregulation of FGF-R leads to the inhibition of basic FGF inducible angiogenesis.	Norioika, Jpn J Cancer Res, 1994, 85, 522
Growth factor receptor				
fgf	h: peripheral blood monocyte-derived M0	IFN-γ + LPS (d)	fgf is a member of the src subfamily of protein-tyrosine kinases. Although structurally similar, src family kinases are thought to subserve distinct functions since the level of transcripts of fgf and hck are reciprocally regulated in the same cell type.	Ziegler, J Exp Med, 1988, 168, 1801
c-igf proto-oncogene; Tyrosine-Protein kinase (fgf; SRC2; p55 ^{src})				
Protein-Tyrosin kinase Oncogene				
Fibrinogen (Fβ3)	h: hepatoma cell line HepG2	IL-6 (u) + IFN-γ (l)	Acute phase reactants are predominantly synthesized in the liver and their serum levels are increased or reduced already approximately 90 min after the onset of an inflammatory reaction. They function as mediators or inhibitors of inflammation, act as transport proteins for products synthesized during inflammatory processes and/or play an important role in tissue repair and remodeling. Fibrinogen is responsible for clotting formation of fibrin matrix for tissue repair and acts as a cofactor in platelet adreacration. It can be recognized by several integrins. The promoter contains an L-E response element.	Koj, Tokai J Exp Clin Med, 1988, 13, 255
Acute phase				
Fibrinogen like protein (FBLP)	m: peritoneal M0	IFN-γ (u)	Acute phase reactants are predominantly synthesized in the liver and their serum levels are increased or reduced already approximately 90 min after the onset of an inflammatory reaction. They function as mediators or inhibitors of inflammation, act as transport proteins for products synthesized during inflammatory processes and/or play an important role in tissue repair and remodeling. FBLP is also expressed in cytotoxic T-cells but not in helper T-cells or B-cells and shows high homology to fibronogen β and γ subunits. Regulation: requires <i>de novo</i> protein synthesis (secondary response gene).	Lafuze, Cell Immunol, 1995, 163, 187
Cytotoxic T-lymphocyte specific protein				
Acute phase				
Fibronectin	a) h: neuroblastoma cell lines; fibroblast cell lines; fibroblast-like cell lines; b) T _H hepatic lipocytes c) m: bone marrow derived M0	a) IFN-γ (u), TNF-α (u), IFN-γ (u) + IFN-α (l), b) IFN-γ (d), TGF-β (u) c) IFN-γ (u)	Acute phase reactants are predominantly synthesized in the liver and their serum levels are increased or reduced already approximately 90 min after the onset of an inflammatory reaction. They function as mediators or inhibitors of inflammation, act as transport proteins for products synthesized during inflammatory processes and/or play an important role in tissue repair and remodeling. Fibronectin is an extracellular matrix glycoprotein. It is involved in cell adhesion, cell motility, opsonization, wound healing, and maintenance of cell shape. IFN-γ mediates an increased transcription rate, but decreased mRNA stability, leading to a decreased overall production.	a) Yasutaro, Int J Oncol, 1999, 12, 895 Nizmit J, J Hepatology, 1997, 25, 251 Ditzel, J Biol Chem, 1997, 272, 251 Rockey, Hepatology, 1992, 16, 776 Varani, Am J Pathol, 1989, 134, 827 DiProspero, Exp Neurol, 1997, 148, 628 b) Ramadori, Gastroenterology, 1992, 103, 1313 Herkonen, Am J Respir Cell Mol Biol, 1995, 13, 109 c) Gill, PNAS, 2001, 98, 6680
Acute phase Extracellular matrix				
Fmet-leu-phe receptor (IMLP-R); N-formyl peptide receptor	h: HL-60 granulocytes	IFN-γ (u)	FMLP is a strong neutrophil chemotactic factor and the binding to its receptor causes the activation of neutrophils. This activation is mediated via a coupled G-protein. IFN-γ increases the expression of both IMLP-R and coupled G-proteins.	Klein, J Immunol, 1992, 148, 2483
Chemoattractant receptor				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
Folate binding protein 2	m: bone marrow derived M0	IFN- γ (d)	Specifically down-regulated in M0 (not in EFs).	Presti, J Exp Med, 2001, 193, 483
Unclassified				
Follistatin (FS)	h: bonemarrow derived stromal fibroblasts	IFN- γ (u), IL-1 β (d)	Activin A is a multi-functional cytokine with potent stimulation on erythroid cell differentiation in bone marrow. Its activation is inhibited by follistatin.	Abe, Clin Exp Immunol, 2001, 126, 64
Hormone/ Hormone metabolism				
Cytokine inhibitor				
fra-1 fos-like antigen-1 (fos1)	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN- γ (u), IFN- β (u)	fra-1 belongs to the bZip family of transcription factors basic domain proteins. It might be involved in monocyte-macrophage differentiation.	Der, PNAS, 1998, 95, 15623
Transcription factor				
fra-2 fos-like antigen 2 (fos2)	m: EF derived from Stat1 ^{-/-} mice	IFN- γ (u)	Fra-2 belongs to the bZip family, fos subfamily. Its function is unknown.	Ramana, PNAS, 2001, 98, 6674
Transcription factor				
FRAG-6	m: EF; EF of IRF-1 deficient mice	IFN- γ (u), IFN- α (u)	The function is not known. Stronger induction with IFN type I. Induction is IRF-1 and protein synthesis independent.	Silva, Cytokine, 1999, 11, 813
Unclassified				
Fumarylacetoacetate hydrolase (FAH)	m: bone marrow derived M0	IFN- γ (d)	FAH is involved in the catabolism of tyrosine and catabolism of phenylalanine.	Gil, PNAS, 2001, 98, 6680
Unclassified				
γ 1	M0; M0 lines; HUVEC. Not T; B-cells or fibroblasts	IFN- γ (u), IFN- α (u)	Very long 3'UT in mRNA with AUAA sequences. Rapidly degraded message. IFN- γ effect much stronger than that of IFN- α . Regulator: maximal level at 3 h; cycloheximide insensitive. Requires protein kinase C activity for IFN- γ regulation.	Fan, PNAS, 1988, 85, 5122 Fan, Mol Cell Biol, 1989, 9, 1922
Unclassified				
G protein-coupled receptor kinase 2 (GRK2)	see remark	see remark	GRK2 plays a key role in the regulation of a variety of G protein-coupled receptors, and its cardiac expression levels are altered in pathological situations such as chronic heart failure. Remark: The promoter activity is increased by phorbol ester and is decreased by proinflammatory cytokines, like IL-1 β , TNF- α or IFN- γ . A direct downregulation by IFN- γ was however not analyzed.	Ramos-Ruiz, Circulation, 2000, 101, 2083
Signal transduction				
G-CSF	h: thymic epithelial cells	h: IL-1 (u) + IFN- γ (f)	G-CSF is a hematopoietic growth factor, that increases the production of neutrophils, maturation and differentiation of neutrophil precursors and physiologic activation of mature neutrophils. It also synergizes with IL-3 to stimulate growth of hematopoietic progenitors and causes proliferation and migration of endothelial cells. Regulation: decreased mRNA and protein level.	Galy, J Immunol, 1991, 147, 3823 Galy, Lymphokine Cytokine Res; 1993, 12, 265
Granulocyte colony stimulating factor; Granulocyte macrophage differentiation factor (GM-DF); Pluripoietin; CSF- β				
Growth factor				
GABA transaminase gamma-aminobutyrate transaminase 4-aminobutyrate aminotransferase	r: pancreatic β - cells	IL-1 β + IFN- γ (d)	GABA is involved in miscellaneous metabolism pathways.	Cardozo, Diabetes, 2001, 50, 909
Unclassified				
GADD45	m: EF derived from Stat1 ^{-/-} mice	IFN- γ (u)	GADD45 binds to proliferating cell nuclear antigen. It might affect PCNA interaction with some cdk (cell division protein kinase) complexes, stimulates DNA excision repair <i>in vitro</i> and inhibits entry of cells into S phase.	Ramana, PNAS, 2001, 98, 6674
Growth arrest and DNA-damage-inducible 45 alpha; DDIT1				
Proliferation				
Galectin-3	h: peritoneal mesothelial cells; mesothelial and ovarian cancer cells; monocytes; M0	IFN- γ (u)	Galectin-3 is a secreted protein known to possess cytokine-like modulatory properties on the cellular immune system, whereby accessory cells are the primary target for this molecule. It belongs to the SRCR (not gene family) and plays possibly a role in the immune defense against pathogens and cancer cells. The promoter of Galectin-3 contains an ISRE element.	Zelinet, Anticancer Res, 2000, 20, 4507 Ulrich, J Biol Chem, 1994, 269, 16401 Barth, Int J Cancer, 1994, 59, 268 Bar-Ja, J Cell Physiol, 1995, 165, 11 Liu, Am J Pathol, 1995, 147, 1016
Extracellular matrix				
Antimicrobial				
Gamma-inducible factor-1 (GIF-1)	m: RAW 264.7 M0	IFN- γ (u)	Putative transcription factor for IRF-9, recognizing GATE consensus sequence. C/EBP β was identified to bind together with unknown dimerization partners to the GATE promoter element and thereby mediating the transcriptional activation of the IRF-9 gene, therefore GIF-1 might be identical to this complex.	Weihua, PNAS, 1997, 94, 103
Transcription factor				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
Gamma-inducible factor-2 (GIF-2)	m: RAW 264.7 M0	IFN- γ (u)	Putative transcription factor for IRF-9, recognizing GATE consensus sequence. C/EBP β was identified to bind together with unknown dimerization partners to the GATE promoter element and thereby mediating the transcriptional activation of the IRF-9 gene, therefore GIF-2 might be identical to this complex.	Weihua, PNAS, 1997, 94, 103
Transcription factor				
Ganglioside GM2	h: lung cancer cell line SBC-3 and A549	IFN- γ (u)	GM2 binds gangliosides and stimulates ganglioside GM2 degradation. It stimulates only the breakdown of ganglioside GM2 and glycolipid GM2, but does not affect ganglioside GM1. It affects the GM2 molecule from the membrane and presents them in soluble form to beta-hexosaminidase A for cleavage of N-Acetyl-D-Galactosamine and conversion to GM3.	Hanibuchi, Oncol Res, 2000, 12, 173
Unclassified				
GDF15 Cytokine with differentiation factor 15 MIF1	m: EF derived from Stat1 ^{-/-} mice	IFN- γ (u)	The function is unknown.	Ramana, PNAS, 2001, 98, 6674
Growth factor				
GIF TGF- β -inducible early growth response (IER6)	m: EF derived from Stat1 ^{-/-} mice	IFN- γ (u)	GIF is a transcriptional repressor involved in the regulation of cell growth, by inhibiting cell growth.	Ramana, PNAS, 2001, 98, 6674
Transcription factor Proliferation				
Glia-derived neurotrophic factor (GDNF)	m: astrocytes; C6 glial cells	IFN- γ (u), LPS (u), TNF- α (u), IL-1 β (u)	Neurotrophic factor. GDNF promotes the survival of postnatal- but not embryonic-mouse dorsal root ganglion cells in vitro. GDNF stimulates the cell cycle progression, leading to neuroblast proliferation at early stages of development, and delays the onset of apoptosis later on, improving differentiation and acting as a trophic factor for photoreceptors.	Appel, Neuroreport, 1997, 8, 3309
Apoptosis Proliferation				
Glucocorticoid receptor (GR)	m: RAW 264.7 M0; primary peritoneal M0 from C3H/HeJ and C3H/OJ mice	IFN- γ (u)	The steroid hormones, and their receptors are involved in the regulation of eukaryotic gene expression and affect cellular proliferation and differentiation in target tissues. Glucocorticoids can negatively regulate M0 functions: upregulation of GCR could therefore serve as a feedback inhibition. Regulation: the number of GCR is doubled after 24 h of treatment with IFN- γ with a maximal effect after 36 h.	Salkowski, J Immunol, 1992, 148, 2770
Lipid transport/metabolism				
GLUT2	r: pancreatic β - cells	IL-1 β + IFN- γ (d)	GLUT2 likely mediates the bidirectional transfer of glucose across the plasma membrane of hepatocytes and is responsible for the uptake of glucose by the beta cells. It may comprise part of the glucose-sensing mechanism of the beta cell, and it also may participate with the Na ⁺ /glucose cotransporter in the transcellular transport of glucose in the small intestine and kidney.	Cardozo, Diabetes, 2001, 50, 909
Carbohydrates metabolism				
Glutamine Glu Proliferation ?	h: foreskin fibroblast, HFF, colon adenocarcinoma cell line Caco-2	IFN- γ (d), TNF- α (d), IL-1 (d), IL-6 (d)	Hydrolyzes glutamine to supply energy and intermediates for cell growth. Regulation: decrease of mRNA and protein level.	Sarantos, Ann Surg Oncol, 1994, 1, 428 Sarantos, Surgery, 1994, 116, 276
Glutamine repeat protein-1 (GRP-1)	m: ANA-1 M0	IFN- γ (u), LPS (u)	GRP-1 may act as a transcription factor. It is localized in the nucleus and constitutively expressed in some M0 cell lines and B-, T-cell lines.	Cox, J Biol Chem, 1996, 271, 25515
Transcription factor				
Glutathione S-transferase pi (GSTP1); GST3; Glutathione S-transferase pi; P1 (FAES3)	h: renal carcinoma cell line ACHN	IFN- γ (u)	GSTP1 plays a role in the conjugation of reduced glutathione to a wide number of exogenous and endogenous hydrophobic electrophiles. It may be also involved in anti-proliferative effects of IFN- γ .	Sullivan, Cancer Res, 1997, 57, 1137
Proliferation ?				
GLY96 immediate early response 3 (IER3); cl-3; cAMP inducible gene 3	m: EF derived from Stat1 ^{-/-} mice	IFN- γ (u)	IER3 is a type II membrane protein (potential). It is induced by radiation, TPA, okadaic acid and TNF- α . Its function is still unknown.	Ramana, PNAS, 2001, 98, 6674
Unclassified				
Glycoprotein 75 (gp75); Tyrosinase related protein 1 (TRP-1)	h: melanoma cell lines	IFN- γ (u)	Melanosomal glycoprotein, expressed in both melanomas and normal melanocytes. Intracellular protein that can be recognized by both antibodies and T-cells.	Takechi, Clin Cancer Res, 1996, 2, 1837
Unclassified				
Glycan Extracellular matrix Cytokine ??	h: periodontal ligament cells	IFN- γ (d)	Cell-surface proteoglycans represent a heterogeneous group of receptors involved in many cellular functions. They interact with components of the extracellular microenvironment and act as co-receptors which bind and modify the action of various growth factors, cytokines, enzymes and enzyme inhibitors.	Worapaporn, J Cell Physiol, 2001, 186, 448

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
GM-CSF Granulocyte macrophage colony stimulating factor; CSF- α	a) m: epidermal cells b) h: thymic epithelial cells	a) IFN- γ (d) b) IL-1 (u) + IFN- γ (f)	GM-CSF is a hematopoietic growth factor that stimulates growth and differentiation of multipotential hematopoietic progenitor cells. Increases physiologic activity of neutrophils, eosinophils, monocytes and macrophages and promotes normal surfactant turnover. Regulation: decreased mRNA and protein level.	a) Galy, J Immunol, 1991, 147, 3823. b) Galy, Lymphokine Cytokine Res, 1993, 12, 265
Growth factor				
GM-CSF R β Granulocyte macrophage colony stimulating factor receptor subunit β	h: monocytes	IFN- γ (u)	GM-CSF is a hematopoietic growth factor that stimulates growth and differentiation of multipotential hematopoietic progenitor cells. Increases physiologic activity of neutrophils, eosinophils, monocytes and macrophages and promotes normal surfactant turnover. The GM-CSF R β chain is common to IL-3 and IL-5 receptors. Regulation: increase of the transcription rate and posttranscriptional mRNA stabilization, not inhibited by cytoheximide. No effect of IFN- γ on receptor α chain expression. Small induction of functional surface receptor protein.	Hallek, Blood, 1992, 80, 1735
Growth factor receptor				
gp91-phox (Heavy chain of cytochrome b558)	h: human neutrophils; M0	IFN- γ (u)	Component of the respiratory burst oxidase, involved in the production of superoxide and related radicals. Cellular membrane-associated component, primary response gene. Sequence-analysis did not reveal any known IFN- γ response elements within the gp91-phox promoter.	Cassatella, J Biol Chem, 1990, 265, 20241 Cassatella, J Clin Invest, 1989, 83, 1570 Eklund, J Biol Chem, 1995, 270, 8267 Gupta, Cancer Res, 1992, 52, 2530
Respiratory burst Antimicrobial				
gp96 ERp99	h: Daudi cells; HeLa cells	IFN- γ (u), IFN- α (u)	The ER luminal stress protein GP96 is an abundant ER chaperone. With other chaperones it has been implicated in the MHC class I antigen presentation pathway as an immunogenic peptide carrier, perhaps with the role of protecting peptides entering the ER from degradation or loss by default secretion.	Anderson, J Exp Med, 1994, 180, 1565
Antigen presentation				
Granzyme B	m: anti-CD3-activated killer T-cells	IFN- γ (u), IL-10 (d)	Granzyme B is a granule serine protease that plays a central role in apoptosis induced by cytotoxic T-cells. It can induce apoptosis of many if not all cell types in the presence of pore forming protein perforin. Granzyme B is not able to activate caspase-1 directly, but caspase-1 is required for granzyme B/perforin-induced apoptosis in certain cell. Granzyme B cleaves and activates caspase-3, -7, -9 and 10, that in turn activate directly or indirectly caspase-1.	Fitzpatrick, J Interferon Cytokine Res, 1996, 16, 537
Apoptosis				
Growth arrest-specific1 (GAS1)	m: EF derived from Stat1 ⁺ mice	IFN- γ (d)	GAS1 is a specific growth arrest protein involved in growth suppression. It blocks entry to S phase and prevents cycling of normal and transformed cells.	Ramana, PNAS, 2001, 98, 6674
Proliferation				
Growth factor-inducible 3CH134 erp, mkp-1; Protein tyrosine phosphatase non-receptor type 16 (Ptpn16)	m: bone marrow derived M0	IFN- γ (d)	Etp is a phosphatase with dual specificity that dephosphorylates map kinase erk2 on both thr-183 and tyr-185.	Gil, PNAS, 2001, 98, 6680
Unclassified				
GTP-cyclohydrolase (GTP-CH)	m: RAW264.7 M0, hepatocytes	IFN- γ (u)	First and rate-limiting enzyme in the <i>de novo</i> synthesis of tetrahydrobiopterin (BH ₄), an essential cofactor for iNOS, from GTP.	Kwon, J Biol Chem, 1989, 264, 20496 Di Silvio, Adv Exp Med Biol, 1993, 338, 305
Nitric oxide related Antimicrobial				
GTP-cyclohydrolase I	?; hepatocytes	LPS (u), IFN- γ (u), TNF- α (u), IL-1 β (u)	First and rate-limiting enzyme in the <i>de novo</i> synthesis of tetrahydrobiopterin (BH ₄), an essential cofactor for iNOS, from GTP.	Cailler, Biochem Biophys Res Commun, 2000, 276, 633
Respiratory burst				
GTPBP1 GTP binding protein1	h: monocytic leukemia cell line THP-1; m: peritoneal M0	IFN- γ (u)	Member of the GP-1 family. GTPBP1 encodes for a protein bearing GTP-binding motifs and is structurally related to peptidyl elongation factors like elongation factor 1 α , a key component of the protein biosynthesis machinery. Nucleotide sequence is highly conserved (97%) between human and mouse. mRNA is readily detected in mouse brain, thymus, lung and kidney while human GTPBP1 mRNA is expressed in the thymus, lung, spleen, testis, and placenta. Northern blot analysis revealed GTPBP1 expression in smooth muscle cells of different organs as well as M0. GTPBP1 is localized exclusively in cytoplasm and shows a diffuse granular network forming a gradient from the nucleus to the periphery. GTPBP1-deficient mice do not show an eminent phenotype, that is may be due to functional compensation by GTPBP2. Not inducible in HeLa cells unlike GTPBP2.	Sanju, Biochem Biophys Res Commun, 1997, 236, 256 Kudo, Biochem Biophys Res Commun, 2000, 272, 456 Senju, Mol Cell Biol, 2000, 20, 6195
GTPase GP-1 family				
GTPBP2 GTP binding protein2	h: monocytic leukemia cell line THP-1; HeLa cells m: peritoneal M0	IFN- γ (u)	Member of the GP-1 family. The amino acid sequence of mouse GTPBP2 is 44% similar to mouse GTPBP1 and 99% identical to human GTPBP2. mRNA is readily detectable in mouse brain, thymus, kidney and skeletal muscle, but is scarce in liver. The GTPBP2 gene is mapped to mouse chromosome 17, region C-D and human chromosome 6p21-12.	Kudo, Biochem Biophys Res Commun, 2000, 272, 456
GTPase GP-1 family				
GTP1	m: EF; M0	IFN- γ (u), IFN- β (u)	GTP1 is a member of the p47 GTPase family consisting of IIGP, GTP1, IRG-47, LRG-47 and TGTP/Mg21. The involvement in IFN mediated cell autonomous resistance programmes was shown for some of the family members. The p47 GTPases as well as the non-related p65 GTPases seem to dominate the cellular response to IFN- γ in EF and M0. The induction of GTP1 was not dependent on IRF-1, thus it might be classified as a primary response gene. The induction by IFN type I is much weaker than by IFN- γ .	Boehm, PNAS, 1998, 161, 6715
GTPase p47 family Antimicrobial ? Antiviral ?				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
Gut-enriched Krüppel-like factor (GKLF)	h: colon carcinoma cell line HT-29	IFN- γ (u)	Eukaryotic zinc finger transcription factor, widely distributed in the gastrointestinal tract. GKLF might be an important factor in controlling cell growth. Upregulation of GKLF expression by IFN- γ is time- and dose-dependent and does not depend on p53 and de novo protein synthesis. GKLF induction is associated with IFN- γ -promoted growth inhibition and programmed cell death.	Chen, FEBS Lett, 2000, 477, 87
Transcription factor				
H-2 α	a) m: most adult cell types b) m: resting B-cells	a) IFN- γ (u) + IFN type I (r) b) IL-4 (u) + IFN- γ (r)	MHC class II gene. IFN type I antagonises IFN- γ induction. IFN- γ fails to induce MHC class II on resting B-cells, and antagonises IL-4 which does. All MHC class II chains share a highly conserved promoter and are regulated coordinately in man and mouse. They are constitutively expressed at a high level on dendritic cells and B-cells, furthermore on thymic cortical epithelium and by activated T-cells.	a/b) Mach, Annu Rev Immunol, 1996, 14, 301 Gonsky, J Immunol, 1998, 161, 1837 Celada, Eur J Immunol, 1989, 19, 1103
Antigen presentation				
H-2A β	a) m: most adult cell types b) m: resting B-cells	a) IFN- γ (u) + IFN type I (r) b) IL-4 (u) + IFN- γ (r)	MHC class II gene. IFN type I antagonises IFN- γ induction. IFN- γ fails to induce MHC class II on resting B-cells, and antagonises IL-4 which does. All MHC class II chains share a highly conserved promoter and are regulated coordinately in man and mouse. They are constitutively expressed at a high level on dendritic cells and B-cells, furthermore on thymic cortical epithelium and by activated T-cells.	a/b) Mach, Annu Rev Immunol, 1996, 14, 301 Gonsky, J Immunol, 1998, 161, 1837 Celada, Eur J Immunol, 1989, 19, 1103
Antigen presentation				
H-2D	a) m: various cell types b) m: EF	a) IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u), TNF- α (u) b) IFN- γ (d)	Classical MHC class I gene with canonical MHC class I promoter containing ISRE and Enhancer A element. H-2D ^b allele is extensively studied. Downregulation by IFN- γ was shown to be specific for embryonic fibroblasts.	a) Korber, PNAS, 1987, 84, 3380 and others b) Presti, J Exp Med, 2001, 193, 483
Antigen presentation				
H-2E α	a) m: most adult cell types b) m: resting B-cells	a) IFN- γ (u) + IFN type I (r) b) IL-4 (u) + IFN- γ (r)	MHC class II gene. IFN type I antagonises IFN- γ induction. IFN- γ fails to induce MHC class II on resting B-cells, and antagonises IL-4 which does. All MHC class II chains share a highly conserved promoter and are regulated coordinately in man and mouse. They are constitutively expressed at a high level on dendritic cells and B-cells, furthermore on thymic cortical epithelium and by activated T-cells.	a/b) Mach, Annu Rev Immunol, 1996, 14, 301
Antigen presentation				
H-2E β	a) m: most adult cell types b) m: resting B-cells	a) IFN- γ (u) + IFN type I (r) b) IL-4 (u) + IFN- γ (r)	MHC class II gene. IFN type I antagonises IFN- γ induction. IFN- γ fails to induce MHC class II on resting B-cells, and antagonises IL-4 which does. All MHC class II chains share a highly conserved promoter and are regulated coordinately in man and mouse. They are constitutively expressed at a high level on dendritic cells and B-cells, furthermore on thymic cortical epithelium and by activated T-cells.	a/b) Mach, Annu Rev Immunol, 1996, 14, 301
Antigen presentation				
H-2K	m: various cell types including erythrocytes	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u), TNF- α (u)	Classical MHC class I gene with canonical MHC class I promoter containing ISRE and Enhancer A element. H-2K ^b allele is extensively studied.	Bianar, EMBO J, 1989, 8, 1139 Kimura, Cell, 1986, 44, 261
Antigen presentation				
H-2K	m: various cell types including erythrocytes	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u), TNF- α (u)	Classical MHC class I gene with canonical MHC class I promoter containing ISRE and Enhancer A element. H-2K ^b allele is extensively studied.	Bianar, EMBO J, 1989, 8, 1139 Kimura, Cell, 1986, 44, 261
Antigen presentation				
H-2L	m: various cell types including erythrocytes	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u), TNF- α (u)	Classical MHC class I gene with canonical MHC class I promoter containing ISRE and Enhancer A element. H-2L ^b allele extensively studied.	Korber, PNAS, 1987, 84, 3380 Drew, J Immunol, 1993, 150, 3300
Antigen presentation				
H-2M α	m: various cell types	IFN- γ (u)	Essential component of the MHC class II loading compartment (MILC), where it is required for unloading II chain CLIP peptide. Both M α and M β are encoded in the class II region of the MHC. Expression occurs co-regulated with MHC class II.	Harding, Crit Rev Immunol, 1996, 16, 13 Busch, Curr Opin Immunol, 1996, 8, 51
Antigen presentation				
H-2M β	m: various cell types	IFN- γ (u)	Essential component of the MHC class II loading compartment (MILC), where it is required for unloading II chain CLIP peptide. Both M α and M β are encoded in the class II region of the MHC. Expression occurs co-regulated with MHC class II.	Harding, Crit Rev Immunol, 1996, 16, 13 Busch, Curr Opin Immunol, 1996, 8, 51
Antigen presentation				
H-2O α	m: L929 fibroblasts; M0	IFN- γ (u)	The H-2O heterodimer (encoded by H-2O α and H-2O β) is able to physically interact with H-2M, that catalyzes the peptide binding to MHC class II molecules, and to downregulate its function. IFN- γ treatment of L929 fibroblasts did only result in H-2O α induction by CIITA but not in H-2O β induction.	Walter, Immunogenetics, 2000, 51, 794 Luder, Eur J Immunol, 2001, 31, 1475
Antigen presentation				
H-rev 107	r: astrocytes	IFN- γ (u)	H-rev 107 is a class II tumor suppressor gene with homology to human RIG1 and TIG3.	Kuchinke, Neuroimmunomodulation, 1995, 2, 347
Proliferation ?				
HADHB	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN- γ (u), IFN- β (u)	HADHB belongs to the thiolase family, localizes at the mitochondrial matrix and mediates the third step of the fatty acid β -oxidation cycle.	Der, PNAS, 1988, 95, 15623
Hydroxyacyl-Coenzyme A dehydrogenase/3-ketoacyl-Coenzyme A thiolase/enoyl-Coenzyme A hydratase: Mitochondrial 3-ketoacyl-CoA thiolase				
Lipid transport/metabolism				
Haptoglobin (HP); HPY	h: hepatoma cell line HepG2	IL-6 (u) + IFN- γ (r)	Acute phase reactants are predominantly synthesized in the liver and their serum levels are increased or reduced already approximately 90 min after the onset of an inflammatory reaction. They function as mediators or inhibitors of inflammation, act as transport proteins for products synthesized during inflammatory processes and/or play an important role in tissue repair and remodeling. Haptoglobin function as a hemoglobin scavenger and removes hemoglobin. The promoter region contains an IL-6 response element.	Kojai J Exp Clin Med, 1988, 13, 255
Acute phase				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
HR-EGF Heparin binding epidermal growth factor-like growth factor (Hegfl)	a) m: EF derived from Stat1 ^{-/-} mice b) h: bronchial epithelial cells	a) IFN- γ (u) b) IFN- γ (u)	HB-EGF may be involved in macrophage-mediated cellular proliferation. It is mitogenic for fibroblasts and smooth muscle but not endothelial cells. It is able to bind EGF receptors with higher affinity than EGF itself and is a far more potent mitogen for smooth muscle cells than EGF.	a) Ramana, PNAS, 2001, 98, 6674 b) Asano, J Clin Invest, 1997, 99, 1057
Growth factor				
hck Tyrosine-Protein Kinase hck, p56 ^{hck} , p59 ^{hck} ; Hemopoietic cell kinase hck	h: peripheral blood monocyte-derived M0	IFN- γ + LPS (u)	hck is a member of the src subfamily of protein-tyrosine kinases. It is primarily expressed in myeloid cells. The tyrosine kinases hck and lyn are thought to be involved in the respiratory burst.	Ziegler, J Exp Med, 1988, 168, 1801
Protein-Tyrosin kinase Respiratory burst				
Heme oxygenase-1 (HO-1)	h: glioblastoma cell line T98G b) r: glial cells	a) IFN- γ (d), IL-1 β (d) b) IFN- γ (u), LPS (u)	Acute phase reactants are predominantly synthesized in the liver, and their serum levels are increased or reduced already approximately 90 min after the onset of an inflammatory reaction. They function as mediators or inhibitors of inflammation, act as transport proteins for products synthesized during inflammatory processes and/or play an important role in tissue repair and remodeling. Heme oxygenase is the rate-limiting enzyme in heme catabolism that cleaves heme to form biliverdin, carbon monoxide and iron. IFN- γ mediates downregulation of mRNA and protein expression, whereas IL-1 β only affects the mRNA level.	a) Takahashi, J Neurochem, 1999, 72, 2356 b) Kitamura, Neurosci Lett, 1999, 262, 129
Acute phase				
Hepatocyte nuclear factor-3 β (HNF-3 β)	h: hepatoma cell line HepG2	IFN- γ (u)	HNF-3 β is a transcription factor that can activate various liver genes that are involved in the acute phase response. The IFN- γ mediated transcriptional activation occurs by IRF-1.	Samadani, Cell Growth Differ, 1995, 6, 879
Acute phase Transcription factor				
Hexokinase II (HK2)	m: EF derived from Stat1 ^{-/-} mice	IFN- γ (u)	Hexokinase is an allosteric enzyme inhibited by its product glc-6-p.	Ramana, PNAS, 2001, 98, 6674
Unclassified				
hGBP-1 Human Guanylate-binding protein-1 Antiviral ? Proliferation ? GTPase p65 family	h: epithelial cells; M0; fibroblasts; keratinocytes; endothelial cells; monocytes	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u)	Human member of the p65 GTPase family. p65 GTPase have the unusual property to bind to GTP, GDP, GMP with equal affinities and to hydrolyze GTP into GDP and GMP. p65 GTPases are biochemically and structurally related to the Dynamain family (like Mx GTPases). hGBP-1 was shown to have specific antiviral activity against VSV and EMCV <i>in vitro</i> . Furthermore it was shown that the helical domain of hGBP-1 is sufficient to inhibit endothelial cell proliferation.	Cheng, Mol Cell Biol, 1991, 11, 4717 Bandopadhyay, Cell Growth Differentiation, 1992, 309 Briken, Mol Cell Biol, 1995, 15, 975 Decker, EMBO J, 1989, 8, 2009 Lizanders, Am J Respir Cell Mol Biol, 1994, 11, 14 Saunders, J Invest Dermatol, 1999, 112, 977 Anderson, Virology, 1999, 256, 8 Guenzi, EMBO J, 2001, 20, 5568
hGBP-2 Human Guanylate-binding protein-2 GTPase p65 family	h: fibrosarcoma cell line HT1080; FS-2 fibroblasts	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u)	Human member of the p65 GTPase family. p65 GTPase have the unusual property to bind to GTP, GDP, GMP with equal affinities and to hydrolyze GTP into GDP and GMP. p65 GTPases are biochemically and structurally related to the Dynamain family (like Mx GTPases). Regulation: transcriptional activation via IRF-1; the existing GAS is dispensable.	Der, PNAS, 1988, 95, 15623 Cheng, Mol Cell Biol, 1991, 11, 4717 Briken, Mol Cell Biol, 1995, 15, 975 Decker, EMBO J, 1989, 8, 2009
HGF Hepatocyte growth factor; Scatter factor (SF); Hepatopoietin A Cytokine Growth factor Proliferation Oncogene Chemottractant	h: skin fibroblasts; leukemia cell lines KG-1; myeloid cells; B-cells	IFN- γ (u), IFN- β (u), IFN- α (u), IL-1 (u), TNF- α (u)	HGF is a multifunctional cytokine that exerts after binding to its receptor, which is identified as the c-Met proto-oncogene product, a variety of biological activities on different cell types. Examples are its mitogenic, morphogenic and tumorigenic effects. Furthermore HGF is involved in organ regeneration, wound healing, embryogenesis and is a potent promoter of DNA-synthesis. Apoptotic effects mediated by IFN- γ can be overcome by induced HGF expression.	Masumoto, Biochem Biophys Res Commun, 1992, 188, 235 Gohda, J Cell Physiol, 1998, 174, 107
HGF-R Hepatocyte growth factor receptor; c-Met proto-oncogene Growth factor receptor Proliferation Oncogene	h: A549 alveolar epithelial cells; monocyte M0	IFN- γ (u)	HGF-R, that is encoded by the c-Met proto-oncogene, is predominantly expressed in various types of epithelium. HGF is a potent mitogen for alveolar epithelial cells and capable of repressing the fibrosing process by connecting to HGF-R. The IFN- γ mediated upregulation of HGF-R suggests a role of IFN- γ in the repair process after lung injury. Regulation: increased mRNA and protein expression. Enhancement of the transcription of the c-met proto-oncogene, no prolongation of mRNA stability. Upregulation occurs also <i>in vivo</i> .	Nagahori, Am J Respir Cell Mol Biol, 1999, 21, 100 Chen, Cell Growth Differ, 1996, 7, 821-32
High density lipoprotein receptor (HDL-receptor); CD36L Acute phase Proliferation	h: cultured skin fibroblasts	IFN- γ (u)	High affinity cell surface HDL receptor mediating relevant selective cholesterol transport. Involved in controlling HDL cholesterol concentration, HDL structure and delivery of cholesterol to steroidogenic tissues. Regulation is associated with a decrease in the rate of cell proliferation.	Oppenheimer, J Biol Chem, 1988, 263, 19318

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
Histidine decarboxylase (HDC); L-histidine carboxyl-lyase; EC 4.1.1.22	h: HT168 melanoma cell line	IFN- γ (d), IFN- α (d)	HDC is the enzyme solely responsible for the generation of the biogenic amine, histamine (by converting the amino acid L-histidine to histamine) which is ubiquitously distributed in mammalian tissues and that plays an important role in a series of processes including inflammation, allergy, gastric acid secretion, neurotransmission, embryogenesis and in various tumours. (Involved in cell proliferation). Decreased mRNA and protein expression. Histamine itself exerts an inhibitory effect on IFN- γ gene expression. Reciprocal inhibition between histamine and IFN- γ . IFN- γ as an inhibitor of cell proliferation. Interferons as growth inhibitors.	Heminger, <i>Inflamm Res</i> , 2000, 49, 393
Proliferation				
Histone H4				
Proliferation	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN- γ (d), IFN- α (d), IFN- β (d)	Histones are the primary proteins whose properties mediate the folding of DNA into chromatin. Histone H4, along with histone H3, plays a central role in nucleosome formation.	Der, <i>PNAS</i> , 1988, 95, 15623
Transcription regulator				
DNA				
HLA-A				
Antigen presentation	h: various cell types except on erythrocytes	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u), TNF- α (u)	Classical MHC class I gene with canonical MHC class I promoter containing ISRE and Enhancer A element, but relatively weakly induced by IFN- γ . The ISRE is responsible for ISRE response in keratinocytes and the ISRE is responsible for ISRE response in lymphomyeloid system.	David-Watine, <i>Immunol Today</i> , 1990, 11, 286 Singer, <i>Crit Rev Immunol</i> , 1990, 10, 235
HLA-B				
Antigen presentation	h: various cell types except on erythrocytes	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u), TNF- α (u)	Classical MHC class I gene with canonical MHC class I promoter containing ISRE and Enhancer A element and strongly induced by IFN- γ . Sites are highly conserved and encoded in the class I region of the MHC. The constitutive expression is low to very low in most tissues except in keratinocytes and the lymphomyeloid system.	David-Watine, <i>Immunol Today</i> , 1990, 11, 286 Singer, <i>Crit Rev Immunol</i> , 1990, 10, 235
HLA-C				
Antigen presentation	h: various cell types except on erythrocytes	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u)	Classical MHC class I gene. The enhancer A sequence is modified away from the ideal NFkB site. HLA-C shows a lower constitutive expression than HLA-A and HLA-B in all tissues.	David-Watine, <i>Immunol Today</i> , 1990, 11, 286 Singer, <i>Crit Rev Immunol</i> , 1990, 10, 235
HLA-DMA				
Antigen presentation	h: various cell types	IFN- γ (u)	Essential component of the MHC class II loading compartment (MILC), where this chaperone is required for unloading II chain CLIP peptide. Both DMA and DMB are encoded in the class II region of the MHC. Expression occurs co-regulated with MHC class II.	Harding, <i>Crit Rev Immunol</i> , 1996, 16, 13 Busch, <i>Curr Opin Immunol</i> , 1996, 8, 51
HLA-DMB				
Antigen presentation	h: various cell types	IFN- γ (u)	Essential component of the MHC class II loading compartment (MILC), where this chaperone is required for unloading II chain CLIP peptide. Both DMA and DMB are encoded in the class II region of the MHC. Expression occurs co-regulated with MHC class II.	Harding, <i>Crit Rev Immunol</i> , 1996, 16, 13 Busch, <i>Curr Opin Immunol</i> , 1996, 8, 51 Wu, <i>Clin Exp Immunol</i> , 1999, 116, 62
HLA-DNA				
HLA-DZA				
Antigen presentation	h: fibrosarcoma cell line 2TGH	IFN- γ (u)	The heterodimer of HLA-DNA and HLA-DOB, that catalyzes the peptide binding to MHC class II molecules, and to downregulate its function. IFN- γ treatment did only result in HLA-DNA induction by CIITA but not in HLA-DOB induction.	Taxman, <i>J Immunol</i> , 2000, 165, 1410 Tonnelle, <i>EMBO J</i> , 1985, 4, 2839
HLA-DPA				
Antigen presentation	a) h: most adult cell types b) h: resting B-cells	a) IFN- γ (u) + IFN type I (r) b) IL-4 (u) + IFN- γ (r)	MHC class II gene. IFN type I antagonises IFN- γ induction. IFN- γ fails to induce MHC class II on resting B-cells, and antagonises IL-4 which does. All MHC class II chains share a highly conserved promoter and are regulated coordinately in man and mouse. They are constitutively expressed at a high level on dendritic cells and B-cells, furthermore on thymic cortical epithelium and by activated T-cells.	a) Mach, <i>Annu Rev Immunol</i> , 1996, 14, 301
HLA-DPB				
Antigen presentation	a) h: most adult cell types b) h: resting B-cells	a) IFN- γ (u) + IFN type I (r) b) IL-4 (u) + IFN- γ (r)	MHC class II gene. IFN type I antagonises IFN- γ induction. IFN- γ fails to induce MHC class II on resting B-cells, and antagonises IL-4 which does. All MHC class II chains share a highly conserved promoter and are regulated coordinately in man and mouse. They are constitutively expressed at a high level on dendritic cells and B-cells, furthermore on thymic cortical epithelium and by activated T-cells.	a) Mach, <i>Annu Rev Immunol</i> , 1996, 14, 301
HLA-DOA				
Antigen presentation	a) h: most adult cell types b) h: resting B-cells	a) IFN- γ (u) + IFN type I (r) b) IL-4 (u) + IFN- γ (r)	MHC class II gene. IFN type I antagonises IFN- γ induction. IFN- γ fails to induce MHC class II on resting B-cells, and antagonises IL-4 which does. All MHC class II chains share a highly conserved promoter and are regulated coordinately in man and mouse. They are constitutively expressed at a high level on dendritic cells and B-cells, furthermore on thymic cortical epithelium and by activated T-cells.	a) Mach, <i>Annu Rev Immunol</i> , 1996, 14, 301
HLA-DOB				
Antigen presentation	a) h: most adult cell types b) h: resting B-cells	a) IFN- γ (u) + IFN type I (r) b) IL-4 (u) + IFN- γ (r)	MHC class II gene. IFN type I antagonises IFN- γ induction. IFN- γ fails to induce MHC class II on resting B-cells, and antagonises IL-4 which does. All MHC class II chains share a highly conserved promoter and are regulated coordinately in man and mouse. They are constitutively expressed at a high level on dendritic cells and B-cells, furthermore on thymic cortical epithelium and by activated T-cells.	a) Mach, <i>Annu Rev Immunol</i> , 1996, 14, 301
HLA-DRA				
Antigen presentation	a) h: most adult cell types b) h: resting B-cells c) h: EBV transformed B-cell line	a) IFN- γ (u) + IFN type I (r) b) IL-4 (u) + IFN- γ (r) c) IFN- γ (d)	MHC class II gene. IFN type I antagonises IFN- γ induction. IFN- γ fails to induce MHC class II on resting B-cells, and antagonises IL-4 which does. All MHC class II chains share a highly conserved promoter and are regulated coordinately in man and mouse. They are constitutively expressed at a high level on dendritic cells and B-cells, furthermore on thymic cortical epithelium and by activated T-cells. The IFN- γ mediated downregulation in the EBV transformed B-cell line occurs at the post-transcriptional level.	a) Mach, <i>Annu Rev Immunol</i> , 1996, 14, 301 Saunders, <i>Am J Respir Cell Mol Biol</i> , 1994, 11, 147 De Saint, <i>Invest Ophthalmol Vis Sci</i> , 1999, 40, 2199 Rongcum, <i>Cytokine</i> , 1998, 10, 747 Wu, <i>Clin Exp Immunol</i> , 1999, 9, 662 O'Neill, <i>J Immunol</i> , 1999, 162, 791

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
HLA-DRB Antigen presentation	a) h: most adult cell types b) h: resting B-cells	a) IFN- γ (u) + IFN types I (r) b) IL-4 (u) + IFN- γ (r)	MHC class II gene. IFN type I antagonises IFN- γ induction. IFN- γ fails to induce MHC class II on resting B-cells, and antagonises IL-4 which does. All MHC class II chains share a highly conserved promoter and are regulated coordinately in man and mouse. They are constitutively expressed at a high level on dendritic cells and B-cells, furthermore on thymic cortical epithelium and by activated T-cells.	al) Mech , Annu Rev Immunol, 1996, 14, 301
HLA-E Antigen presentation	h: monocytic cell line U937	IFN- γ (u)	Non-classical MHC class I gene. MHC-class Ib gene. Transactivation of classical MHC class I genes is mediated by two groups of juxtaposed cis-acting elements. The most upstream element consists of the enhancer A and ISRE, and mediates constitutive and cytokine induced expression, whereas the SXY element is important for the constitutive and CIITA-mediated transactivation. Nucleotide sequence divergence in these regulatory elements in the promoters of MHC-class Ib genes determines their differential responsiveness to NF κ B, IRF-1, and CIITA-mediated induction. HLA-E is not inducible by NF κ B or IRF-1, but is responsive to IFN- γ without the need of <i>de novo</i> protein synthesis, through an upstream GAS-like element, to which the binding of STAT1 α was shown.	Gobin , Hum Immunol, 2000, 61, 1102 Gustafson , J Biol Chem, 1996, 271, 20035 Ulbrecht , J Immunol, 1992, 149, 2945
HLA-F Antigen presentation	h: B-cells	IFN- γ (u)	Non-classical MHC class I gene. MHC-class Ib gene that is predominantly expressed in B-cells as an empty intracellular molecule. Transactivation of classical MHC class I genes is mediated by two groups of juxtaposed cis-acting elements. The most upstream element consists of the enhancer A and ISRE, and mediates constitutive and cytokine induced expression, whereas the SXY element is important for the constitutive and CIITA-mediated transactivation. Nucleotide sequence divergence in these regulatory elements in the promoters of MHC-class Ib genes determines their differential responsiveness to NF κ B, IRF-1, and CIITA-mediated induction. HLA-F is inducible by NF κ B through the κ B1 site of enhancer A, is responsive to IFN- γ through IRF-1 binding to ISRE, and is inducible by CIITA.	Gobin , Hum Immunol, 2000, 61, 1102
HLA-G Antigen presentation	h: various cell types	IFN- γ (u)	Non-classical MHC class I gene. MHC-class Ib gene. Transactivation of classical MHC class I genes is mediated by two groups of juxtaposed cis-acting elements. The most upstream element consists of the enhancer A and ISRE, and mediates constitutive and cytokine induced expression, whereas the SXY element is important for the constitutive and CIITA-mediated transactivation. Nucleotide sequence divergence in these regulatory elements in the promoters of MHC-class Ib genes determines their differential responsiveness to NF κ B, IRF-1, and CIITA-mediated induction. Both regulatory elements are divergent in HLA-G rendering this gene unresponsive to NF κ B, IRF-1, and CIITA-mediated induction pathways. Nevertheless cytokine-induced expression could be observed, depending on the cell lineage. The IFN- γ induction of HLA-G expression is mediated at the transcriptional level. All different isoforms, membrane-bound and soluble, are up-regulated by IFN- γ .	Yang , J Immunol, 1996, 156, 4224 Lefebvre , Hum Immunol, 2000, 61, 1095 Lefebvre , J Reprod Immunol, 1999, 43, 213 Yang , J Reprod Immunol, 1995, 29, 179 Chu , J Reprod Immunol, 1999, 42, 1 Chu , Hum Immunol, 1999, 59, 435 Rodasseau , Hum Immunol, 2000, 61, 1132 Gobin , Hum Immunol, 2000, 61, 1102
HLH ep1; Basic helix-loop-helix domain containing, class B, 2 (BHLHB2)	m: EF derived from Stat1 ^{-/-} mice	IFN- γ (u)	The function is unknown.	Ramana , PNAS, 2001, 98, 6674
Transcription factor ?				
Homeo box A2 HOXA2	m: EF	IFN- γ (d)	The HOXA2 is a sequence-specific transcription factor which is part of a developmental regulatory system that provides cells with specific positional identities on the anterior-posterior axis.	Presti , J Exp Med, 2001, 193, 483
Transcription factor				
Hsp27 Heat shock protein 27; Heat shock 27kD protein 1 (HSPB1)	h: renal carcinoma cell line ACHN	IFN- γ (u), IL-4 (u)	The HSP proteins are a group of proteins that act as intracellular chaperone molecules facilitating protein folding and assembly but also degradation. These stress proteins are selectively expressed in cells in response to a range of stimuli, including heat, oxidative stress, hypoxia, and heavy metal ions. HSPs are also involved in protein transport, protein degradation, and regulation of cellular proteins. Hsp27 is involved in stress resistance and actin organization. It may be also involved in anti-proliferative effects of IFN- γ .	Sullivan , Cancer Res, 1997, 57, 1137
Unclassified				
Hsp70 Heat shock protein 70	h: hepatoma cell line HepG2	IFN- γ (u)	The HSP proteins are a group of proteins that act as intracellular chaperone molecules facilitating protein folding and assembly but also degradation. These stress proteins are selectively expressed in cells in response to a range of stimuli, including heat, oxidative stress, hypoxia, and heavy metal ions. HSPs are also involved in protein transport, protein degradation, and regulation of cellular proteins. The Hsp70 promoter contains a GAS element. STAT1 and HSF-1 (heat shock transcription factor-1) interact directly via protein-protein interaction.	Stephanou , J Biol Chem, 1999, 274, 1723
Unclassified				
Hsp90 β Heat shock protein 90 β	h: hepatoma cell line HepG2	IFN- γ (u)	The HSP proteins are a group of proteins that act as intracellular chaperone molecules facilitating protein folding and assembly but also degradation. These stress proteins are selectively expressed in cells in response to a range of stimuli, including heat, oxidative stress, hypoxia, and heavy metal ions. HSPs are also involved in protein transport, protein degradation, and regulation of cellular proteins. The Hsp90 β promoter contains a GAS element. STAT1 and HSF-1 (heat shock transcription factor-1) interact directly via protein-protein interaction.	Stephanou , J Biol Chem, 1999, 274, 1723
Unclassified				
HTF4a Helix-loop-helix transcription factor 4; Transcription factor 12 (TCF12)	h: HeLa cells	?	Transcription factor that belongs to the basic helix-loop-helix family of transcription factors. HTF binds specifically to oligomers of E-box motifs and may play important roles during development of the nervous system as well as in other organ systems.	? 2000. NCBI protein database
Transcription factor				
Human beta-defensin 3 hBD-3	h: ?	IFN- γ (u)	hBD-3 shows a strong antimicrobial activity against gram-positive and gram-negative bacteria and fungi. Furthermore is capable to activate monocytes.	Garcia , Cell Tissue Res, 2001, 306, 257
Antimicrobial				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
Hyaluron synthase 2 (HAS2)	a) m: kidney tubular epithelial cell line b) h: peridomal ligament cells	a) IFN- γ (u), TNF- α (u), IFN- γ + TNF- α (uu) b) IFN- γ (u), TNF- α (u)	Hyaluron is a component of the extracellular matrix and its accumulation and fragmentation accompanies inflammation. HAS2 is one of the key enzymes involved in Hyaluron synthesis, mainly synthesizing high-molecular weight hyaluron. The effect of IFN- γ on the upregulation of HAS2 is only weak.	a) Fujist, Naphon, 1999, 63, 66 b) Jluht, Arch Oral Biol, 2001, 46, 767
Extracellular matrix				
Hyaluronic acid (HA)	h: lung fibroblasts	IFN- γ (u), TNF- α (u), IL-1 (u)	Hyaluronic acid is a component of the extracellular matrix and one of the CD44 ligands.	Sampson, J Clin Invest, 1992, 90, 1492
Extracellular matrix CAM				
ICAM-1 Intercellular adhesion molecule-1; Major group rhinovirus receptor; MALA-2; CD54	a) various cell types of different origin b) h: airway epithelial cells infected with rhinovirus c) h: keratinocytes	a) IFN- γ (u), TNF- α (u), IL-1 (u), IL-6 (u), LPS (u), PMA (u) b) IFN- γ (d) c) IFN- γ (u)	ICAM-1 mediates immune and cell adhesion. Ligands: LFA-1 (CD11a/CD18), Mac-1 (CD11b/CD18) and CD43. The regulation of ICAM-1 synthesis by IFN- γ occurs at the transcriptional and posttranscriptional level. The response classification of ICAM-1 is controversially discussed. The promoter region contains GAS and NFkB elements. IFN- γ induces both the expression of the membrane bound form and the soluble form of ICAM-1. Rhinovirus attaches to ICAM-1. IFN- γ mediated downregulation of ICAM-1 in human airway epithelial cells leads to reduced viral titers.	a) Dustin, J Immunol, 1996, 137, 245 Chh, Leukemia and Lymphomas, 1996, 20, 223 Suzuki, Immunobiology, 1995, 193, 293 Burdick, Eur J Haematol, 1996, 24, 352 Der, PNAS, 1998, 95, 15623 Tessitore, Eur J Biochem, 1998, 258, 968 Rongkun, Cytokine, 1998, 10, 747 Rosebuck, J Leukoc Biol, 1999, 66, 876 Sethi, Clin Exp Immunol, 1997, 110, 362 c) Kashihara-Swami, J Invest Dermatol, 1992, 98, 741
Cell migration CAM				
ICH-3	m: bone marrow derived M0	IFN- γ (u)	Member of the ICE/Ced-3 family of apoptosis related genes. The protein shares 54% identity with ICE and its overexpression leads to apoptosis. ICH-3 protein can be cleaved by cytotoxic T-cells granule serine protease granzyme B, suggesting that it mediates apoptosis induced by granzyme B. It does not process directly proIL-1 β , but promotes processing by ICE, thus it might be an upstream regulator of ICE.	Gil, PNAS, 2001, 98, 6680
Apoptosis				
ICOS ligand (ICOSL); Inducible costimulator ligand	?; monocytes	IFN- γ (u)	ICOS is a member of the CD28/CD152 receptor family that plays a key role in regulating T-cell activation. Interaction of B7 family members (CD80, CD86) on APCs with the receptors CD28 and CD152 (CTLA-4) on T-cells results in signaling events that regulate immune responses, including the balance between Th1 and Th2 responses. ICOS is unlike CD28 not constitutively expressed; rather it is induced after T-cell activation. ICOSL is different from CD80/CD86 and is upregulated on monocytes by IFN- γ by a different signaling pathway.	Aicher, J Immunol, 2000, 164, 6489
Lymphocyte activation				
ID1 inhibitor of DNA binding 1	m: EF derived from Stat1 ⁺ mice	IFN- γ (u)	ID (inhibitor of DNA binding) HLH proteins lack a basic DNA-binding domain but are able to form heterodimers with other HLH proteins, thereby inhibiting DNA binding.	Ramana, PNAS, 2001, 98, 6674
Transcription factor DNA				
IF16	h: fibrosarcoma cell line HT1080; myeloid cell lines HL-60 and U937	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u)	Member of the HIN-200 family of proteins, consisting of AIM-2, MND4 and IF16. The HIN-200 family is the human homologue to the murine p200 family, consisting of p202a, p202b, p203, p204 and D3. The murine p202 can indirectly interact with various transcription factors including p53. Interaction with p54 occurs via the p53 binding protein (p53bp) and inhibits p53-mediated transcriptional activation. IF16 is localized in the nucleus and can directly bind to the C-terminal region of p53 and augment p53-mediated transcriptional activation without altering the steady state levels of p53. HIN-200/p200 family proteins participates in regulation of the cell cycle, differentiation and apoptosis by interacting with transcription factors and growth regulatory proteins.	De Young, Oncogene, 1997, 15, 453 Der, PNAS, 1998, 95, 15623 Davson, J Leukoc Biol, 1996, 60, 310 Trapani, Immunogenetics, 1992, 36, 369 Davson, J Cell Biochem, 1995, 57, 39 Johnstone, Oncogene, 2000, 19, 6033 Selling, Clin Immunol Immunopathol, 1995, 37, 1673 Johnstone, Mol Cell Biol, 1999, 19, 3653
Proliferation Transcription regulator HIN-200 family				
IFM41 interferon-inducible protein 41; IFN-induced nuclear phosphoprotein	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN- γ (u), IFN- β (u), IFN- α (u)	The function is unknown.	Der, PNAS, 1998, 95, 15623
Unclassified				
IF166K Glucocorticoid-attenuated response gene-16 (GARG-16)	a) m: RAW264.7 M0 b) ? c) r: astrocytes	a) IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u), LPS (u) b) IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u) c) IFN- γ (u)	Member of a highly conserved family of proteins containing multiple tetrapeptide repeat (TPR) domains. Other family members include p53, p54, p55, p56, p57, p58, p59, p60, p61, p62, p63, p64, p65, p66, p67, p68, p69, p70, p71, p72, p73, p74, p75, p76, p77, p78, p79, p80, p81, p82, p83, p84, p85, p86, p87, p88, p89, p90, p91, p92, p93, p94, p95, p96, p97, p98, p99, p100, p101, p102, p103, p104, p105, p106, p107, p108, p109, p110, p111, p112, p113, p114, p115, p116, p117, p118, p119, p120, p121, p122, p123, p124, p125, p126, p127, p128, p129, p130, p131, p132, p133, p134, p135, p136, p137, p138, p139, p140, p141, p142, p143, p144, p145, p146, p147, p148, p149, p150, p151, p152, p153, p154, p155, p156, p157, p158, p159, p160, p161, p162, p163, p164, p165, p166, p167, p168, p169, p170, p171, p172, p173, p174, p175, p176, p177, p178, p179, p180, p181, p182, p183, p184, p185, p186, p187, p188, p189, p190, p191, p192, p193, p194, p195, p196, p197, p198, p199, p200, p201, p202, p203, p204, p205, p206, p207, p208, p209, p210, p211, p212, p213, p214, p215, p216, p217, p218, p219, p220, p221, p222, p223, p224, p225, p226, p227, p228, p229, p230, p231, p232, p233, p234, p235, p236, p237, p238, p239, p240, p241, p242, p243, p244, p245, p246, p247, p248, p249, p250, p251, p252, p253, p254, p255, p256, p257, p258, p259, p260, p261, p262, p263, p264, p265, p266, p267, p268, p269, p270, p271, p272, p273, p274, p275, p276, p277, p278, p279, p280, p281, p282, p283, p284, p285, p286, p287, p288, p289, p290, p291, p292, p293, p294, p295, p296, p297, p298, p299, p300, p301, p302, p303, p304, p305, p306, p307, p308, p309, p310, p311, p312, p313, p314, p315, p316, p317, p318, p319, p320, p321, p322, p323, p324, p325, p326, p327, p328, p329, p330, p331, p332, p333, p334, p335, p336, p337, p338, p339, p340, p341, p342, p343, p344, p345, p346, p347, p348, p349, p350, p351, p352, p353, p354, p355, p356, p357, p358, p359, p360, p361, p362, p363, p364, p365, p366, p367, p368, p369, p370, p371, p372, p373, p374, p375, p376, p377, p378, p379, p380, p381, p382, p383, p384, p385, p386, p387, p388, p389, p390, p391, p392, p393, p394, p395, p396, p397, p398, p399, p400, p401, p402, p403, p404, p405, p406, p407, p408, p409, p410, p411, p412, p413, p414, p415, p416, p417, p418, p419, p420, p421, p422, p423, p424, p425, p426, p427, p428, p429, p430, p431, p432, p433, p434, p435, p436, p437, p438, p439, p440, p441, p442, p443, p444, p445, p446, p447, p448, p449, p450, p451, p452, p453, p454, p455, p456, p457, p458, p459, p460, p461, p462, p463, p464, p465, p466, p467, p468, p469, p470, p471, p472, p473, p474, p475, p476, p477, p478, p479, p480, p481, p482, p483, p484, p485, p486, p487, p488, p489, p490, p491, p492, p493, p494, p495, p496, p497, p498, p499, p500, p501, p502, p503, p504, p505, p506, p507, p508, p509, p510, p511, p512, p513, p514, p515, p516, p517, p518, p519, p520, p521, p522, p523, p524, p525, p526, p527, p528, p529, p530, p531, p532, p533, p534, p535, p536, p537, p538, p539, p540, p541, p542, p543, p544, p545, p546, p547, p548, p549, p550, p551, p552, p553, p554, p555, p556, p557, p558, p559, p560, p561, p562, p563, p564, p565, p566, p567, p568, p569, p570, p571, p572, p573, p574, p575, p576, p577, p578, p579, p580, p581, p582, p583, p584, p585, p586, p587, p588, p589, p590, p591, p592, p593, p594, p595, p596, p597, p598, p599, p600, p601, p602, p603, p604, p605, p606, p607, p608, p609, p610, p611, p612, p613, p614, p615, p616, p617, p618, p619, p620, p621, p622, p623, p624, p625, p626, p627, p628, p629, p630, p631, p632, p633, p634, p635, p636, p637, p638, p639, p640, p641, p642, p643, p644, p645, p646, p647, p648, p649, p650, p651, p652, p653, p654, p655, p656, p657, p658, p659, p660, p661, p662, p663, p664, p665, p666, p667, p668, p669, p670, p671, p672, p673, p674, p675, p676, p677, p678, p679, p680, p681, p682, p683, p684, p685, p686, p687, p688, p689, p690, p691, p692, p693, p694, p695, p696, p697, p698, p699, p700, p701, p702, p703, p704, p705, p706, p707, p708, p709, p710, p711, p712, p713, p714, p715, p716, p717, p718, p719, p720, p721, p722, p723, p724, p725, p726, p727, p728, p729, p730, p731, p732, p733, p734, p735, p736, p737, p738, p739, p740, p741, p742, p743, p744, p745, p746, p747, p748, p749, p750, p751, p752, p753, p754, p755, p756, p757, p758, p759, p760, p761, p762, p763, p764, p765, p766, p767, p768, p769, p770, p771, p772, p773, p774, p775, p776, p777, p778, p779, p780, p781, p782, p783, p784, p785, p786, p787, p788, p789, p790, p791, p792, p793, p794, p795, p796, p797, p798, p799, p800, p801, p802, p803, p804, p805, p806, p807, p808, p809, p810, p811, p812, p813, p814, p815, p816, p817, p818, p819, p820, p821, p822, p823, p824, p825, p826, p827, p828, p829, p830, p831, p832, p833, p834, p835, p836, p837, p838, p839, p840, p841, p842, p843, p844, p845, p846, p847, p848, p849, p850, p851, p852, p853, p854, p855, p856, p857, p858, p859, p860, p861, p862, p863, p864, p865, p866, p867, p868, p869, p870, p871, p872, p873, p874, p875, p876, p877, p878, p879, p880, p881, p882, p883, p884, p885, p886, p887, p888, p889, p890, p891, p892, p893, p894, p895, p896, p897, p898, p899, p900, p901, p902, p903, p904, p905, p906, p907, p908, p909, p910, p911, p912, p913, p914, p915, p916, p917, p918, p919, p920, p921, p922, p923, p924, p925, p926, p927, p928, p929, p930, p931, p932, p933, p934, p935, p936, p937, p938, p939, p940, p941, p942, p943, p944, p945, p946, p947, p948, p949, p950, p951, p952, p953, p954, p955, p956, p957, p958, p959, p960, p961, p962, p963, p964, p965, p966, p967, p968, p969, p970, p971, p972, p973, p974, p975, p976, p977, p978, p979, p980, p981, p982, p983, p984, p985, p986, p987, p988, p989, p990, p991, p992, p993, p994, p995, p996, p997, p998, p999, p1000, p1001, p1002, p1003, p1004, p1005, p1006, p1007, p1008, p1009, p1010, p1011, p1012, p1013, p1014, p1015, p1016, p1017, p1018, p1019, p1020, p1021, p1022, p1023, p1024, p1025, p1026, p1027, p1028, p1029, p1030, p1031, p1032, p1033, p1034, p1035, p1036, p1037, p1038, p1039, p1040, p1041, p1042, p1043, p1044, p1045, p1046, p1047, p1048, p1049, p1050, p1051, p1052, p1053, p1054, p1055, p1056, p1057, p1058, p1059, p1060, p1061, p1062, p1063, p1064, p1065, p1066, p1067, p1068, p1069, p1070, p1071, p1072, p1073, p1074, p1075, p1076, p1077, p1078, p1079, p1080, p1081, p1082, p1083, p1084, p1085, p1086, p1087, p1088, p1089, p1090, p1091, p1092, p1093, p1094, p1095, p1096, p1097, p1098, p1099, p1100, p1101, p1102, p1103, p1104, p1105, p1106, p1107, p1108, p1109, p1110, p1111, p1112, p1113, p1114, p1115, p1116, p1117, p1118, p1119, p1120, p1121, p1122, p1123, p1124, p1125, p1126, p1127, p1128, p1129, p1130, p1131, p1132, p1133, p1134, p1135, p1136, p1137, p1138, p1139, p1140, p1141, p1142, p1143, p1144, p1145, p1146, p1147, p1148, p1149, p1150, p1151, p1152, p1153, p1154, p1155, p1156, p1157, p1158, p1159, p1160, p1161, p1162, p1163, p1164, p1165, p1166, p1167, p1168, p1169, p1170, p1171, p1172, p1173, p1174, p1175, p1176, p1177, p1178, p1179, p1180, p1181, p1182, p1183, p1184, p1185, p1186, p1187, p1188, p1189, p1190, p1191, p1192, p1193, p1194, p1195, p1196, p1197, p1198, p1199, p1200, p1201, p1202, p1203, p1204, p1205, p1206, p1207, p1208, p1209, p1210, p1211, p1212, p1213, p1214, p1215, p1216, p1217, p1218, p1219, p1220, p1221, p1222, p1223, p1224, p1225, p1226, p1227, p1228, p1229, p1230, p1231, p1232, p1233, p1234, p1235, p1236, p1237, p1238, p1239, p1240, p1241, p1242, p1243, p1244, p1245, p1246, p1247, p1248, p1249, p1250, p1251, p1252, p1253, p1254, p1255, p1256, p1257, p1258, p1259, p1260, p1261, p1262, p1263, p1264, p1265, p1266, p1267, p1268, p1269, p1270, p1271, p1272, p1273, p1274, p1275, p1276, p1277, p1278, p1279, p1280, p1281, p1282, p1283, p1284, p1285, p1286, p1287, p1288, p1289, p1290, p1291, p1292, p1293, p1294, p1295, p1296, p1297, p1298, p1299, p1300, p1301, p1302, p1303, p1304, p1305, p1306, p1307, p1308, p1309, p1310, p1311, p1312, p1313, p1314, p1315, p1316, p1317, p1318, p1319, p1320, p1321, p1322, p1323, p1324, p1325, p1326, p1327, p1328, p1329, p1330, p1331, p1332, p1333, p1334, p1335, p1336, p1337, p1338, p1339, p1340, p1341, p1342, p1343, p1344, p1345, p1346, p1347, p1348, p1349, p1350, p1351, p1352, p1353, p1354, p1355, p1356, p1357, p1358, p1359, p1360, p1361, p1362, p1363, p1364, p1365, p1366, p1367, p1368, p1369, p1370, p1371, p1372, p1373, p1374, p1375, p1376, p1377, p1378, p1379, p1380, p1381, p1382, p1383, p1384, p1385, p1386, p1387, p1388, p1389, p1390, p1391, p1392, p1393, p1394, p1395, p1396, p1397, p1398, p1399, p1400, p1401, p1402, p1403, p1404, p1405, p1406, p1407, p1408, p1409, p1410, p1411, p1412, p1413, p1414, p1415, p1416, p1417, p1418, p1419, p1420, p1421, p1422, p1423, p1424, p1425, p1426, p1427, p1428, p1429, p1430, p1431, p1432, p1433, p1434, p1435, p1436, p1437, p1438, p1439, p1440, p1441, p1442, p1443, p1444, p1445, p1446, p1447, p1448, p1449, p1450, p1451, p1452, p1453, p1454, p1455, p1456, p1457, p1458, p1459, p1460, p1461, p1462, p1463, p1464, p1465, p1466, p1467, p1468, p1469, p1470, p1471, p1472, p1473, p1474, p1475, p1476, p1477, p1478, p1479, p1480, p1481, p1482, p1483, p1484, p1485, p1486, p1487, p1488, p1489, p1490, p1491, p1492, p1493, p1494, p1495, p1496, p1497, p1498, p1499, p1500, p1501, p1502, p1503, p1504, p1505, p1506, p1507, p1508, p1509, p1510, p1511, p1512, p1513, p1514, p1515, p1516, p1517, p1518, p1519, p1520, p1521, p1522, p1523, p1524, p1525, p1526, p1527, p1528, p1529, p1530, p1531, p1532, p1533, p1534, p1535, p1536, p1537, p1538, p1539, p1540, p1541, p1542, p1543, p1544, p1545, p1546, p1547, p1548, p1549, p1550, p1551, p1552, p1553, p1554, p1555, p1556, p1557, p1558, p1559, p1560, p1561, p1562, p1563, p1564, p1565, p1566, p1567, p1568, p1569, p1570, p1571, p1572, p1573, p1574, p1575, p1576, p1577, p1578, p1579, p1580, p1581, p1582, p1583, p1584, p1585, p1586, p1587, p1588, p1589, p1590, p1591, p1592, p1593, p1594, p1595, p1596, p1597, p1598, p1599, p1600, p1601, p1602, p1603, p1604, p1605, p1606, p1607, p1608, p1609, p1610, p1611, p1612, p1613, p1614, p1615, p1616, p1617, p1618, p1619, p1620, p1621, p1622, p1623, p1624, p1625, p1626, p1627, p1628, p1629, p1630, p1631, p1632, p1633, p1634, p1635, p1636, p1637, p1638, p1639, p1640, p1641, p1642, p1643, p1644, p1645, p1646, p1647, p1648, p1649, p1650, p1651, p1652, p1653, p1654, p1655, p1656, p1657, p1658, p1659, p1660, p1661, p1662, p1663, p1664, p1665, p1666, p1667, p1668, p1669, p1670, p1671, p1672, p1673, p1674, p1675, p1676, p1677, p1678, p1679, p1680, p1681, p1682, p1683, p1684, p1685, p1686, p1687, p1688, p1689, p1690, p1691, p1692, p1693, p1694, p1695, p1696, p1697, p1698, p1699, p1700, p1701, p1702, p1703, p1704, p1705, p1706, p1707, p1708, p1709, p1710, p1711, p1712, p1713, p1714, p1715, p1716, p1717, p1718, p1719, p1720, p1721, p1722, p1723, p1724, p1725, p1726, p1727, p1728, p1729, p1730, p1731, p1732, p1733, p1734, p1735, p1736, p1737, p1738, p1739, p1740, p1741, p1742, p1743, p1744, p1745, p1746, p1747, p1748, p1749, p1750, p1751, p1752, p1753, p1754, p1755, p1756, p1757, p1758, p1759, p1760, p1761, p1762, p1763, p1764, p1765, p1766, p1767, p1768, p1769, p1770, p1771, p1772, p1773, p1774, p1775, p1776, p1777, p1778, p1779, p1780, p1781, p1782, p1783, p1784, p1785, p1786, p1787, p1788, p1789, p1790, p1791, p1792, p1793, p1794, p1795, p1796, p1797, p1798, p1799, p1800, p1801, p1802, p1803, p1804, p1805, p1806, p1807, p1	

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
IL-12 p35 Interleukin-12 p35 subunit Cytokine	a) h: monocytes infected with Mycobacterium tuberculosis H37Ra; splenic adherent cells b) h: monocytes; polymorphonuclear cells	a) IFN- γ (u) b) LPS (u) + IFN- γ (e)	IL-12 is a heterodimeric cytokine (p70) made up of two independently regulated subunits (p35 and p40) important in defence against intracellular pathogens. It induces IFN- γ production (often in combination with IL-18) by immune cells, enhances NK-cell activity and co-stimulates peripheral blood lymphocyte proliferation. IL-12 also stimulates proliferation and induces differentiation of the T _H 1 subset of T-cells, thereby shifting the balance of an immune response toward a T _H 1 phenotype. IFN- γ and IL-12 form an important autostimulatory loop which is crucial for the development of cell-mediated immunity.	a) Fulton , J Infect Dis, 1998, 178, 1105 Vidvanathan , Cytokine, 2001, 16, 1 b) Ma , J Exp Med, 1996, 183, 147 Hayes , Blood, 1998, 12, 4645 Snijders , J Immunol, 1996, 156, 1207 Cassatella , Eur J Immunol, 1995, 25, 1
IL-12 p40 Interleukin-12 p40 subunit Cytokine	a) h: peripheral blood mononuclear cells; monocytes polymorphonuclear cells	a) IFN- γ (u), IL-4 (u), Bacteria derived stimuli (u) b) LPS (u) + IFN- γ (e)	IL-12 is a heterodimeric cytokine (p70) made up of two independently regulated subunits (p35 and p40) important in defence against intracellular pathogens. It induces IFN- γ production (often in combination with IL-18) by immune cells, enhances NK-cell activity and co-stimulates peripheral blood lymphocyte proliferation. IL-12 also stimulates proliferation and induces differentiation of the T _H 1 subset of T-cells, thereby shifting the balance of an immune response toward a T _H 1 phenotype. IFN- γ and IL-12 form an important autostimulatory loop which is crucial for the development of cell-mediated immunity. The promoter region contains an ISRE element.	a) Marshall , Clin Immunol, 1999, 90, 15 b) Ma , J Exp Med, 1996, 183, 147 Ma , Ann N Y Acad Sci, 1996, 795, 357 Snijders , J Immunol, 1996, 156, 1207 Hayes , Blood, 1998, 12, 4645 Cassatella , Eur J Immunol, 1995, 25, 1
IL-12 p70 Interleukin-12 Cytokine	a) h: M0; dendritic cells; keratinocytes; mast cells; b) h: monocytes; polymorphonuclear cells	a) IFN- γ (u) b) LPS (u) + IFN- γ (e)	IL-12 is a heterodimeric cytokine (p70) made up of two independently regulated subunits (p35 and p40) important in defence against intracellular pathogens. It induces IFN- γ production (often in combination with IL-18) by immune cells, enhances NK-cell activity and co-stimulates peripheral blood lymphocyte proliferation. IL-12 also stimulates proliferation and induces differentiation of the T _H 1 subset of T-cells, thereby shifting the balance of an immune response toward a T _H 1 phenotype. IFN- γ and IL-12 form an important autostimulatory loop which is crucial for the development of cell-mediated immunity.	Yoshida , Biochem Biophys Res Commun, 1994, 198, 697 Yoshida , J Immunol, 1996, 156, 1082 Yoshida , J Immunol, 1996, 156, 1222 Hodge-Dufour , PNAS, 1998, 95, 13806 Jiang , J Interferon Cytokine Res, 1998, 18, 697 Toft , Scand J Immunol, 2000, 52, 385 b) Snijders , J Immunol, 1996, 156, 1207 b) Ma , J Exp Med, 1996, 183, 147 Cassatella , Eur J Immunol, 1995, 25, 1 Kubin , Blood, 1994, 83, 1847
IL-12R β 2 subunit Interleukin-12 receptor β 2 subunit Cytokine receptor	m: early developing T _H 2 cells	IFN- γ (u), IL-4 (d)	IL-12R β 2 subunit is necessary for IL-12 signaling through the JAK-STAT pathway. T _H 2 cells do not respond due to specific downregulation of IL-12R β 2. IFN- γ treatment of Th-cells developing in Th2-inducing conditions induces the expression of IL-12R β 2 thereby restoring the ability of these T-cells to respond to IL-12.	Szabo , J Exp Med, 1997, 185, 817
IL-15 Interleukin-15 Cytokine	a) h: monocytes; monocyte cell lines; keratinocytes; retinal pigment epithelial cells b) m: M0	a) IFN- γ (u) b) IFN- γ + pathogen stimulus (u)	IL-15 shares many of the biological properties of IL-2, including induction of T-cell proliferation and chemotaxis, stimulation of NK-cell growth and IFN- γ production, generation of cytokine effector cells, and costimulation of B-cell expansion and Ig production. Additionally, IL-15 induces cytokine production by monocytes and polymorphonuclear cells and stimulates the antimicrobial activity of phagocytes. The IL-15 signalling pathway includes the IL-2R β and IL-2R γ chain as well as the specific IL-15R α chain.	a) Musso , Blood, 1999, 93, 3531 Teunissen , J Invest Dermatol, 1998, 111, 645 Kumaki , Curr Eye Res, 1996, 15, 876 b) Doherty , J Immunol, 1996, 156, 735
IL-15R α Interleukin-15 receptor α chain Cytokine receptor	a) h: fibrosarcoma cell line HT1080 b) m: ?	a) IFN- γ (u) b) IFN- γ (u)	IL-15 shares many of the biological properties of IL-2, including induction of T-cell proliferation and chemotaxis, stimulation of NK-cell growth and IFN- γ production, generation of cytokine effector cells, and costimulation of B-cell expansion and Ig production. Additionally, IL-15 induces cytokine production by monocytes and polymorphonuclear cells and stimulates the antimicrobial activity of phagocytes. The IL-15 signalling pathway includes the IL-2R β and IL-2R γ chain as well as the specific IL-15R α chain.	a) Der , PNAS, 1998, 95, 15623 b) Giri , EMBO J, 1995, 14, 3654
IL-17R Interleukin-17 receptor Cytokine receptor	h: fetal intestinal epithelial cells	IFN- γ (u)	IL-17 is produced by a restricted set of cells, like human memory T-cells or mouse $\alpha\beta$ TCRCD4CD8 ⁺ thymocytes, whereas the IL-17 receptor is ubiquitously distributed but apparently more abundant in spleen and kidney. IL-17 is involved in various inflammatory processes and stimulates the secretion of different cytokines and chemokines from a variety of cells.	Andoh , Clin Exp Immunol, 2001, 125, 56
IL-18 Interleukin-18; Interferon-gamma inducing factor (IGIF) Cytokine	a) h: peripheral blood monocytes b) m: RAW264.7 M0; islet cells	a) IFN- γ (u), IL-4 (u), Bacteria derived stimuli (u); IL-10 (d) b) IFN- γ (u)	IL-18 plays a crucial role in the generation of protective immunity against microbial infections. The IL-18 gene expression is regulated by two different promoters (p1 and p2). IFN- γ activates only the inducible promoter p1 but not the constitutive promoter p2. An ICSPB binding site, to which IRF-1 and/or ICSPB are able to bind, is critical for IFN- γ inducibility. Furthermore IFN- γ treatment increases the AP-1 binding activity to an AP-1 element in p1. The IFN- γ mediated induction of IL-18 is a positive feedback mechanism to further enhance the IFN- γ response.	a) Marshall , Clin Immunol, 1999, 90, 15 Kimura , J Immunol, 2000, 165, 3199 Hong , Eur Cytokine Netw, 2000, 11, 183
IL-18BP Interleukin-18 binding protein Cytokine repressor	h: keratinocyte cell line HaCAT; colon carcinoma cell line DLD-1; primary renal mesangial cells	IFN- γ (u)	IL-18BP is a soluble decoy receptor for IL-18 which efficiently antagonizes biological functions of IL-18. IL-18 itself is a pivotal mediator of IFN- γ production. Activity of IL-18 might be modulated by a negative feedback mechanism which is mediated by IFN- γ induced IL-18BP expression.	Muhl , Biochem Biophys Res Commun, 2000, 267, 960
IL-1 α Interleukin-1 α Cytokine	h: glioma cells	IFN- γ (u)	IL-1 α is produced by activated M0s and stimulates thymocyte proliferation by inducing IL-2 release. B-cell maturation and proliferation, and fibroblast growth factor activity. IL-1 α proteins are involved in the inflammatory response, being identified as endogenous pyrogens, and are reported to stimulate the release of prostaglandin and collagenase from synovial cells.	Hoffelder , Anticancer Res, 2000, 20, 4445
IL-1 β Interleukin-1 β Cytokine	a) h: HUVEC b) h: glioma cells c) m: M0	a) (LPS (u), IL-1 (u)) + IFN- γ (e) b) IFN- γ (u) c) (LPS + TNF- α (u)) + IFN- γ (f)	IL-1 plays an important role in the initiation, maintenance, or both of inflammation and allergic reactions. The suppression of IL-1 β by IFN- γ neither requires <i>de novo</i> protein synthesis nor involved destabilization of mRNA transcripts. The upregulatory effect in human glioma cell was only detectable at the mRNA level but not the protein level. The inhibitory effect was specific for mouse M0 and involves STAT1.	a) Suzuki , Am J Pathol, 1989, 134, 35 b) Hoffelder , Anticancer Res, 2000, 20, 4445 c) Chujo , Eur J Immunol, 1996, 26, 1253 De Boer , J Interferon Cytokine Res, 2001, 21, 485

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
IL-1H1 Interleukin-1 homologue 1 Cytokine	?; keratinocytes	IFN- γ (u), TNF- α (u)	IL-1 homologue, constitutively expressed only in placenta and the squamous epithelium of the esophagus. Inducible <i>in vivo</i> via a contact hypersensitivity or herpes simplex virus infection. IL-1H1 may be involved in pathogenesis of immune mediated disease processes. IL-1H1 is most related to IL-1RA and is expressed in testis, thymus and uterus with relatively high levels in testis, thymus and uterus. It binds to the IL-1/18 receptor, but not the IL-1 receptor.	Kumar, J Biol Chem, 2000, 275, 10308 Pan, Cytokine, 2000, 13, 1
IL-1R type I Interleukin-1 receptor type I; CDw121a Cytokine receptor	a) h; monocytes b) r; L6 myotubes	a) IFN- γ (d), IL-4 (u) + IFN- γ (f), IL-13 (u) + IFN- γ (f) b) (IFN- γ + TNF- α + LPS) (u)	Cytokine receptor that binds IL-1 α , IL-1 β and IL-1Ra mature proteins. CDw121a is functional in signal transduction.	a) Dickensheets, J Immunol, 1997, 159, 6226 b) Zhang, Am J Physiol Endocrinol Metab, 2000, 279, E196
IL-1R type II Interleukin-1 receptor type II; CDw121b Cytokine receptor	a) h; monocytes b) r; L6 myotubes	a) IFN- γ (d), IL-4 (u) + IFN- γ (f), IL-13 (u) + IFN- γ (f) b) (IFN- γ + TNF- α + LPS) (u)	Cytokine receptor that binds IL-1 α , IL-1 β and IL-1Ra mature proteins. CDw121b is non-functional in signal transduction and acts as a decoy-receptor.	a) Dickensheets, J Immunol, 1997, 159, 6226 b) Zhang, Am J Physiol Endocrinol Metab, 2000, 279, E196
IL-2R γ Interleukin-2 receptor γ chain Cytokine receptor	h; monocytes	IFN- γ (u), IL-2 (u), TGF- β 1 (d)	IL-2R γ is a component of the IL-2 receptor of lymphoid cells that is required for their response to IL-2. IL-2 stimulates i.e. growth and differentiation of T-cells, B-cells, NK cells, monocytes, M ϕ s and oligodendrocytes. Furthermore IL-2 induces T-cell chemotaxis, NK cell IFN- γ production and B-cell Ig production. The observed upregulation of mRNA expression was due to mRNA stabilization, suggesting that the regulation occurs at the posttranscriptional level.	Bosco, Blood, 1984, 83, 3482 Bosco, Blood, 1994, 83, 2995
IL-4R Interleukin-4 receptor Cytokine receptor	a) h; peripheral blood lymphocytes; chronic lymphocytic leukaemia b) m; M0-like cell line J774	a) IFN- γ (d) b) IFN- γ (u)	IL-4 is a pleiotropic cytokine derived from T-cells and mast cells with multiple biological effects on B-cells, T-cells and many non-lymphoid cells. It often exerts antagonistic functions to IFN- γ and promotes a Th2 based immune response. The molecular basis for the reduction in the number of IL-4 binding sites on human peripheral blood lymphocytes after IFN- γ stimulation is not clear. The rapid increase in IL-4 binding sites on J774 can be inhibited by actinomycin D and cycloheximide.	a) Byron, Clin Exp Immunol, 1991, 85, 307 Mosley, Cell, 1989, 59, 335 b) Feldman, J Immunol, 1990, 145, 854
IL-5 Interleukin-5 colony-stimulating factor; eosinophil Cytokine	h; eosinophilic leukemia cell line EoL-1	IFN- γ (u)	IL-5 is a T-cell derived cytokine that induces eosinophil colony formation and is an eosinophil differentiation factor in humans and mice. Pzuerthermore in mice it induces terminal differentiation of late-developing B-cells to immunoglobulin secreting cells.	Ishizuka, Inflammation, 1996, 20, 151
IL-6 Interleukin-6; BSF-2; BDNF Cytokine	a) h; thymic epithelial cells; intestinal epithelial cell line Caco-2 b) h; THP-1 monocytic cell; T98G and U87-MG glioma cells; keratinocytes; bronchial epithelial cells; HeLa cells c) m; B-cells	a) IL-1 (u) + IFN- γ (e) b) IFN- γ (u) c) CpG DNA + IFN- γ (e)	IL-6 is a multifunctional cytokine which plays a central role in host defence mechanisms and in hematopoiesis. It induces acute phase protein synthesis, activation of neuronal differentiation and activation of NGF secretion by astrocytes, differentiation of B-cells into plasma cells, maturation of megakaryocytes, activation of hematopoietic stem cells. Furthermore, IL-6 acts as a growth factor for T-cells and B-cells. The human IL-6 promoter contains ISRE elements. The full IFN- γ mediated transcriptional activation requires co-operation between IRF-1 and NF- κ B.	a) Parikh, Shock, 1997, 8, 249 Galy, J Immunol, 1991, 147, 3823 b) Teunissen, J Invest Dermatol, 1998, 111, 645 Striz, Int J Immunopharmacol, 2000, 22, 573 Sanceau, J Immunol, 1991, 147, 2630 Horfelder, Anticancer Res, 2000, 20, 4445 Faggioli, Eur J Immunol, 1997, 27, 3022 c) Yi, J Immunol, 1996, 156, 558
IL-6R Interleukin-6 receptor Cytokine receptor	r; L6 myotubes	(TNF- α + IFN- γ + LPS) (u)	IL-6R is composed of the IL-6Ra chain that binds to IL-6 and of two gp130 molecules that are necessary for signal transduction. The activation may lead to the regulation of the immune response, acute-phase reactions and hematopoiesis.	Zhang, Am J Physiol Endocrinol Metab, 2000, 279, E196
IL-7 Interleukin-7; Lymphopoietin 1 (LP-1) Cytokine Growth factor	m; Pam 212 keratinocytes	IFN- γ (u)	IL-7 is a hematopoietic growth factor that plays a central role in regulating the growth and differentiation of T-cells. It is also important for proliferation during certain stages of B-cell maturation.	Arizumi, J Immunol, 1995, 154, 6031
Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO); INDO; Indoleamine-Pyrrole 2,3-Dioxygenase Tryptophan metabolism Antimicrobial ? Apoptosis ?	various cells of different origin	IFN- α (u), IFN- γ (u), LPS (u)	IDO is responsible for the conversion of tryptophan and other indole derivatives to kynurenine. Elevated kynurenine levels have been found in humans in a number of diseases. IDO is thought to play a role in tumor rejection process. A possible role for IDO in C \cdot -radical scavenging and in inflammation is discussed. Induction of IDO leads to cell death by starvation for tryptophan. IDO gene regulation depends on <i>de novo</i> protein synthesis. The 5' flanking promoter-enhancer contains ISRE and GAS elements. STAT1 α , IRF-1, NF κ B and PKR might be involved in IDO regulation.	Pfefferkorn, J Interferon Res, 1986, 6, 267 Takiwawa, J Biol Chem, 1988, 263, 2041 Du, J Interferon Cytokine Res, 2000, 20, 133 Yuan, J Cell Physiol, 1998, 177, 74 Holmes, J Interferon Cytokine Res, 1998, 18, 509
iNOS Inducible nitric oxide synthase; NOS (II) Nitric oxide related Antiviral Antimicrobial	various cell types of different origin	IFN- γ (u), TNF- α (u), LPS (u), microbes and microbial products (u), IFN- α / β (d), TGF- β (d), IL-4 (d), IL-8 (d), IL-10 (d)	Production of Nitric Oxide (NO), direct antimicrobial activity toward certain pathogens, cytostatic/cytotoxic as well as cytoprotective actions in mammalian tissues. Regulation: new mRNA synthesis required; induction via IRF-1; mRNA stability is a major control point (TGF- β destabilizes iNOS mRNA). Reference b): iNOS mRNA was induced by IFN- γ without the need of <i>de novo</i> protein synthesis.	Kamijo, Science, 1994, 263, 1612 Xie, J Exp Med, 1993, 177, 1779 Deguchi, J Interferon Cytokine Res, 1995, 15, 977 MacMicking, Annu Rev Immunol, 1997, 15, 323 b) Chavez, Gut, 1999, 44, 659
Inositol polyphosphate 5-phosphatase (INPP5A); inositol triphosphate-5-phosphatase Signal transduction	h; fibrosarcoma cell line HT1080	IFN- γ (d)	INPP5A is the major isoenzyme hydrolyzing the calcium-mobilizing second messenger INS(1,4,5)p $_3$, this is a signal-terminating reaction.	Der, PNAS, 1988, 95, 15623

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
<p>IRF-2 Interferon regulatory factor-2 Transcription factor</p>	various cell types of different origin	IFN- α (u), IFN- γ (u)	IRF-2 belongs to the IRF-family of transcription factors recognizing cons. ISRE and PRD-1 elements. It acts as a putative antagonist of IRF-1 but is also able to activate gene transcription. The IRF-2 promoter contains an ISRE element and the transcription is regulated by IRF-1, IRF-2, genomic knockout mice show haematopoietic failure and immunodeficiency. IRF-2 seems to play a key role in resistance to <i>Listeria</i> .	<p>Tanaka, Mol Cell Biol, 1993, 13, 4531 Hirata, Mol Cell Biol, 1994, 14, 1500 Matsuda, Mol Cell Biol, 1993, 13, 75-83 Harada, Cell, 1989, 58, 729 Cha, J Biol Chem, 1994, 269, 5279 Fehr, J Exp Med, 1987, 185, 921</p>
<p>IRF-8 Interferon regulatory factor-8; Interferon consensus sequence binding protein (ICSBP) Transcription factor</p>	Expression restricted to cells of hematopoietic origin.	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u), IFN- γ + LPS (uu)	IRF-8 belongs to the IRF-family of transcription factors recognizing cons. ISRE elements. It acts as a putative antagonist of IRF-1 and ISGF3. It is also able to activate gene transcription. The IRF-8 promoter contains an ISRE element and studies revealed that IRF-8 plays a critical role in hematopoiesis and virus susceptibility (especially in resistance to <i>Listeria</i>).	<p>Fehr, J Exp Med, 1987, 185, 921 Kanno, Mol Cell Biol, 1993, 13, 3951 Fischer, Cell, 1998, 96, 337 Fischer, Cell, 1998, 96, 337 Paulnock, J Leukoc Biol, 2000, 67, 677 Kantakamalaki, J Immunol, 1999, 162, 7417 Politis, J Immunol, 1994, 152, 2270</p>
<p>IRF-9 Interferon regulatory factor-9; Interferon-stimulated gene factor 3-γ (ISGF3-γ); p48 Transcription factor</p>	various cell types of different origin	IFN- γ (u), IFN- β (u), IFN- α (u)	IRF-9 belongs to the IRF-family of transcription factors and is in complex with STAT1 (or β) and STAT2; the ISRE or PRD-1 binding component of ISGF3. IRF-9 also interacts with STAT1 (GAF/AAF) and STAT2 homodimers, redirecting GAF from GAS to ISRE promoter elements. The induction of IRF-9 appears to be quite slow and the IFN- γ -inducible transcription factor C/EBP β was identified to bind together with unknown dimerization partners to the GATE promoter element, and thereby mediating the transcriptional activation of the IFN- γ gene. Mouse genetic knockout studies have shown that IRF-9 plays an essential role in both type I and type II IFN responses for activation of IFN-inducible genes and establishment of the anti-viral state.	<p>Wojhna, PNAS, 1997, 94, 103 Suhara, J Biochem, 1996, 119, 231 Kimura, Genes Cells, 1996, 1, 115 Der, PNAS, 1998, 95, 15823 Lehtonen, J Immunol, 1997, 159, 794 Wong, J Immunol, 1998, 160, 5475</p>
<p>IRG-2 Glucocorticoid-attenuated response gene-49 (GARG-49) Translation ?</p>	a) m: RAW264.7 MO b) m: EF derived from Stat1 ^{-/-} mice	a) IFN- γ (u), IFN type I (u), LPS (u) b) IFN- γ (d)	Members of a highly conserved family of proteins containing multiple tetratricopeptide repeat (TPR) domains. Other family members: ISG-54K and IFI-56K. May participate in multicomponent assemblies via their TPR domains. Known glucocorticoid-attenuated primary response gene products include IL-1 β , TNF- α and other cytokines, as well as intracellular enzymes such as PGSS an NOS.	<p>a) Smith, Arch Biochem Biophys, 1996, 330, 290 b) Ramana, PNAS, 2001, 98, 6674</p>
<p>IRG-47 Antimicrobial GTPase p47 family</p>	m: pre-B-cells; B-cells; myeloblastoids; stromal cells; fibroblasts; MO	IFN- γ (u)	IRG-47 is a member of the p47 GTPase family consisting of IIGP, IGTP, IRG-47, LRG-47 and TGP/Mg21. The involvement in IFN mediated cell autonomous resistance programmes was shown for some of the family members. The p47 GTPases as well as the non-related p66 GTPases seem to dominate the cellular response to IFN- γ in EF and MO. The induction of IRG-47 was not dependent on IRF-1, thus it might be classified as a primary response gene. The induction by IFN type I is much weaker than by IFN- γ . An ISRE and a dual 5' YY1 motif control the IFN- γ induction of IRG-47. IRG-47 deficient mice display partially decreased resistance to the <i>T. gondii</i> infection. IRG-47 plays a vital role in immune defence against protozoan parasite infection.	<p>Gilly, J Immunol, 1992, 148, 3275 Boehm, PNAS, 1998, 161, 8715 Chilozo, J Exp Med, 2001, 194, 181 Gilly, Gene, 1996, 173, 237</p>
<p>IRT-1 Interferon-responsive transcript-1; Allograft inflammatory factor 1 (AIF1) Transcription factor Proliferation ?</p>	h: vascular smooth muscle cells	IFN- γ (u)	IRT-1 encodes a basic protein that contains a leucine zipper motif, a core nuclear localization sequence and a single strongly hydrophobic region. It may be involved in the regulation of cell proliferation as overexpression leads to inhibition of cell growth. The induction of IRT-1 is dependent on <i>de novo</i> protein synthesis.	<p>Autieri, J Biol Chem, 1998, 273, 14731</p>
<p>ISG-54K Glucocorticoid-attenuated response gene-39 (GARG-39); Interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 2 (IFIT2); Interferon-inducible protein 54 (IFI54); G10P2; c1g42 Unclassified</p>	a) h: fibrosarcoma cell line b) T102 c) RAW264.7 MO; bone marrow derived MO	a) IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u) b) IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u), LPS (u)	ISG-54K is a member of a highly conserved family of proteins containing multiple tetratricopeptide repeat (TPR) domains. Other family members: IFI-56K and IRG-2. It may participate in multicomponent assemblies via their TPR domains. ISG-54K is a known glucocorticoid-attenuated primary response gene product, like IL-1 β , TNF- α and other cytokines, as well as intracellular enzymes such as PGSS an NOS.	<p>a) Der, PNAS, 1998, 95, 15823 Smith, J Invest Dermatol, 1993, 100, 288 Smith, J Biol Chem, 1993, 268, 6680 Gill, PNAS, 2001, 98, 6680</p>
<p>ISG12 p27 Proliferation</p>	h: various cell types	IFN- γ (u), IFN- α (u)	ISG12 encodes a putative hydrophobic protein that harbours 33% overall similarity with the mainly IFN type I induced 6-16 protein. It was speculated that the 6-16 protein might be involved in growth inhibition and ISG12 may play a related role. The inducibility by IFN- γ is rather weak compared to IFN type I.	<p>Gjermandsen, Cytokine, 2000, 12, 233</p>
<p>Isq20 Interferon-stimulated gene product of 20 kDa; HeLa estrogen-modulated, band 45 (Hem45) Nuclear dot associated Transcription regulator Antiviral</p>	h: HeLa cells	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u)	Nuclear dot (ND, ND10, nuclear bodies, POD, Kr bodies) associated protein. Isq20 is closely associated with PML, Sp140 and Sp100 within large nuclear matrix-associated multiprotein complexes. Nuclear dots may be preferential targets for viral infection and thus could play a mechanistic role in the antiviral action of IFNs. Additionally, PODs have been implicated in transcriptional regulation, apoptosis, maintenance of genomic stability and telomere length by a telomerase independent process, p53 acetylation, and p53-dependence cellular senescence upon oncogene expression. Furthermore Isq20 acts as a 3 to 5' exonuclease <i>in vitro</i> , with a preference for RNA over single-stranded DNA. The TATA-box less promoter region contains an ISRE. Induction after type I or type II IFN stimulation is strictly dependent upon IRF-1. Induction by type I IFN stronger than by type II.	<p>Gongora, J Biol Chem, 1997, 272, 19457 Gongora, Nucleic Acids Res, 2000, 28, 2333 Nguyen, Biochemistry, 2001, 40, 7174</p>
<p>JunB Transcription factor</p>	m: MO cell line J774.2	IFN- γ (u), LPS (u), TNF- α (u), IL-1 (u)	Member of the activator protein-1 (AP-1) family of transcription factors. Increased expression and DNA-binding activity upon cytokine stimulation.	<p>Tengku-Muhammed, Cytokine, 2000, 12, 720</p>

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
k-ras proto-oncogene	m: EF derived from Stat1 ^{-/-} mice	IFN- γ (u)	Ras proteins bind GDP/GTP and possess intrinsic GTPase activity. They are activated by guanine nucleotides-exchange factors (GEF) and inactivated by GTPase-activating proteins (GAP). Ras proteins are involved in the signal transduction of cell surface receptors, such as growth factor receptors, G-protein coupled receptors and integrins. Ras proteins possess strong transforming potential.	Ramana, PNAS, 2001, 98, 8674
Signal transduction				
Proliferation				
Oncogene				
GTPase				
Keratin 17 (K17); Pachonychia congenita 1 (Jackson-Lawler type) (PGHC1)	?; keratinocytes	IFN- γ (u)	K17 may be a marker of basal cell differentiation in complex epithelia and therefore indicative of a certain type of epithelial "stem cells". There are two types of cytoskeletal and microfilillar keratin: I (acidic) and II (neutral to basic). Both a basic and an acidic keratin are required for filament assembly. The K17 promoter contains IFN- γ response site to which STAT1 can bind.	Jiang, Mol Cell Biol, 1994, 14, 4759
Cytoskeleton				
Keratin K5	h: epidermal cells	?	K5 belongs to the belongs to the intermediate filament family. It forms a heterotrimer of two type I and two type II keratins. Keratin 5 associates with keratin 14.	Arany, in Vivo, 1996, 10, 405
Cytoskeleton				
Keratinocyte growth factor receptor (KGF1); Fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2)	h: keratinocytes	IFN- γ (d), IL-6 (d), phorbol ester (d)	KGFR is the receptor for acidic and basic fibroblast growth factors and is involved in psoriasis.	Finch, Am J Pathol, 1997, 151, 1619
Growth factor receptor				
Kinesin light chain-C	r: pancreatic β - cells	IL-1 β + IFN- γ (d)	Movement of membrane-bound organelles to intracellular destinations requires properly oriented microtubules and force-generating enzymes, such as the microtubule-stimulated ATPase Kinesin. Kinesin is a heterotrimer with two heavy chain and two light chain subunits. Kinesin heavy chains contain both ATP- and microtubule-binding domains and are capable of force generation <i>in vitro</i> . Functions of the light chains are undetermined, although evidence suggests they interact with membrane surfaces.	Cardozo, Diabetes, 2001, 50, 909
Cytoskeleton				
L-3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase (HADHSC); SCHAD	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN- γ (u), IFN- β (u)	SCHAD is the short chain of the L-3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase. Low activity of L-3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase leads to hypoglycemia. SCHAD plays an important role in fatty acid beta-oxidation.	Der, PNAS, 1988, 95, 15623
Lipid transport/metabolism				
L-Cysteine oxygen oxidoreductase	r: pancreatic β - cells	IL-1 β + IFN- γ (d)		Cardozo, Diabetes, 2001, 50, 909
Unclassified				
L-myc	m: astrocytes	IFN- γ (u)	Member of the myc proto-oncogene family that is probably involved in cell proliferation and differentiation.	Rubio, Brain Res Mol Brain Res, 1999, 71, 104
Transcription factor				
Proliferation				
Oncogen				
L-selectin	h: B-cell chronic lymphocytic leukemia cells; eosinophils	IFN- α (u), IFN- γ (u), IL-4 (u)	L-selectin is a cell surface adhesion protein expressed on circulating leukocytes. It mediates the adherence of lymphocytes to endothelial cells of high endothelial venules in peripheral lymph nodes and plays a crucial role in the infiltration of eosinophils. Regulation: dependent on <i>de novo</i> protein synthesis (secondary response gene).	Jewell, Leukemia, 1992, 6, 400 Monose, Int Arch Allergy Immunol, 1999, 120, 30
Lactoylceramide synthase ST3GALV; SIATGM5	r: pancreatic β - cells	IL-1 β + IFN- γ (d)	ST3GALV hydrolyzes the lactose ester bonds of lactosylceramide.	Cardozo, Diabetes, 2001, 50, 909
Lipid transport/metabolism				
Laminin B1 lam B1	h: skin fibroblasts	IFN- γ (d)	Complex glycoprotein, consisting of three different polypeptide chains (A, B1, B2), which are bound to each other by disulfide bonds.	Lankat-Buttgereit, J Dermatol Sci, 1991, 2, 300
Extracellular matrix				
Laminin	h: neuroblastoma cell lines, astrocytes	IFN- γ (u)	Laminin is an extracellular matrix glycoprotein that mediates binding to cells via a high affinity receptor. It is thought to mediate the attachment, migration, and organization of cells into tissues during embryonic development by interacting with other extracellular matrix components.	Vasaturo, Int J Oncol, 1998, 12, 895 DiProspero, Exp Neurol, 1997, 148, 628
Extracellular matrix				
Laminin receptor-like protein	r: astrocytes	IFN- γ (u)	The function is unknown.	Kuchinke, Neuroimmunomodulation, 1995, 2, 347
Extracellular matrix				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
Lck Proto-oncogene Tyrosine kinase E.C.2.7.1.2 T-Cell specific Protein-Tyrosine kinase Oncogene	h: monocytes	IL-4 (u) + IFN- γ (f)	Lck is a member of the src subfamily of protein-tyrosine kinases. It is bound to the cytoplasmic domain of either CD4 or CD8. Lck is involved in the downregulation of Src-family protein tyrosine kinases activity. It may participate in antigen-induced T-Cell activation. Expression is dose dependent down-regulated after IL-4 induction.	Musso, J Exp Med, 1994, 180, 2383
Leptin Lipid transport/metabolism? Hormone/ Hormone metabolism	h: bone marrow adipocytes	IFN- γ (d), IL-6 (d), TNF- α (d), IL-1 β (d)	Leptin is a hormone secreted by adipocytes and is controlling appetite and body weight. Furthermore it has been suggested that leptin may play a role in inflammation and hemopoiesis.	Laharrague, Horm Metab Res, 2000, 32, 381
Leucine aminopeptidase (LAP) ; E.C.3.4.11.1 Antigen processing	h: HS153 fibroblasts; ACHN renal carcinoma; A549 lung carcinoma; A375 melanoma; HeLa cells	IFN- γ (u)	LAP is a cytosolic exopeptidase, involved in antigen presentation, where it is responsible for removing of N-terminal flanking residues of antigenic peptides. The IFN- γ mediated induction is dependent on <i>de novo</i> protein synthesis, therefore LAP is classified as a secondary response gene.	Harris, J Biol Chem, 1992, 267, 6865 Bentega, J Biol Chem, 1998, 273, 18734
Lewis Y Unclassified	h: colorectal carcinoma cell lines HT29, LoVo, SW480	IFN- γ (u), IFN- α (u), IL-4 (d)	Tumor-associated antigen (?)	Flegler, Clin Exp Immunol, 2000, 123, 9
LF113 Unclassified	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN- γ (u)	LF113 is homologue to the mouse vesicle amine transport protein1 homolog (Vat1), an abundant membrane protein of cholinergic synaptic vesicles.	Der, PNAS, 1998, 95, 15623
LFA-1 Lymphocyte function- associated antigen-1, β_2 integrin (CD18 + CD11a) β_2 subunit; CD18 α subunit; CD11a Cell migration Integrin Extracellular matrix	a) m: bone marrow derived MO; dendritic cells b) h: promonocytic cell line, U937; epidermal Langerhans cells	a) IFN- γ (u) b) (IFN- γ + M-CSF + GM-CSF) (u)	Integrin mediated cell attachment to extracellular matrix triggers signal transduction cascades that regulate numerous complex biological processes including cell proliferation, differentiation and migration, as well as tissue organization. LFA-1 binds to ICAM-1, ICAM-2 and ICAM-3. LFA-1 is induced by separate and multiple second messenger systems.	a) Lee, J Immunol, 1994, 152, 4597 Rongcun, Cytokine, 1998, 10, 747 Shackelford, Biochem Biophys Res Comm, 1999, 257, 635 b) Molina, Cell Immunol, 1991, 134, 241 Bobbot, Exp Hematol, 1993, 21, 564 Barker, J Invest Dermatol, 1999, 93, 439
LFA-3 Lymphocyte function- associated antigen-3; CD58 CAM Lymphocyte activation	h: melanoma cells; brain microvessel endothelial cells	IFN- γ (u)	LFA-3 mediates the interaction of APC and target cells. Ligand: T-cells CD2 glycoprotein. It is involved in antigen independent T-cell activation and proliferation (cell surface glycoprotein) and serves as costimulatory molecule (CD4 ⁺ T-cells).	Montarini, Int J Cancer, 1990, 45, 334 Zanetti, Cell Mol Biol (Naisy Le Grand), 1999, 45, 25 Kirby, Cell Adhes Commun, 2000, 7, 453
Lice2 cysteine protease Apoptosis	m: bone marrow derived MO from Stat ⁺ mice	IFN- γ (u)	The function is unknown.	Gil, PNAS, 2001, 98, 6680
Lipocortin I Annexin I Lymphocyte activation	h: HeLa cells	IFN- γ (u)	Lipocortin I is an inhibitor of inflammation and mediates effects of glucocorticoids, a group of hormones, that are involved in inhibition of T-cell proliferation and in their production of various cytokines, including IFN- γ .	Shaw, Electrophoresis, 1999, 20, 984
Lipoprotein lipase (LPL) Lipid transport/metabolism	a) h: MO b) m: MO	a) IFN- γ (d) b) LPS (d), IFN- γ (d), IL-11 (d), TNF- α (d), LPS + IFN- γ (dd), IFN- γ + TNF- α (dd)	Human monocyte-derived MOs cultured in human serum are rapidly converted to lipid filled foam cells. The human serum induced lipid accumulation was potently inhibited, though not reversed, by IFN- γ . This inhibition was associated with decreased ApoE production, LPL secretion, and expression of LRP. LPL hydrolyzes triacylglycerols of very low density lipoproteins and chylomicrons. Transcriptional and post-transcriptional processes are involved in the IFN- γ mediated downregulation.	a) Garner, Atherosclerosis, 1997, 128, 47 Jonasson, Biochim Biophys Acta, 1990, 1053, 43 b) Tengku-Muhammad, Cytokine, 1999, 11, 408 Tengku-Muhammad, Cytokine, 1998, 10, 38
Lipoxin A₂ receptor LXA ₂ receptor Cell migration Inflammation	h: enterocytes (epithelial cells ?)	IL-13 (u) + IFN- γ (f)	Lipoxin A ₂ inhibits the action of proinflammatory stimuli and is a potent inhibitor of neutrophil adhesion and transmigration across endothelia or epithelia. It also inhibits TNF- α induced IL-8 release.	Gronert, J Exp Med, 1998, 187, 1285
LMP-10 Multicatalytic Endo- peptidase Complex-like 1 (MECL-1) Antigen processing	various cell types of different origin	IFN- γ (u)	MHC class I accessory molecule. LMP-10 is a not MHC-linked proteasome β -subunit that competitively replaces the homologous constitutive proteasome LMP-9 (β -subunit) after IFN- γ induction. Together with LMP-7 and LMP-2 the integration of LMP-10 modifies the proteolytic cleavage preferences of the proteasome. The promoter contains two ISREs, bound by IRF-1.	Nandi, J Immunol, 1996, 156, 2361 Hiematsu, J Exp Med, 1996, 183, 1807 Foss, J Biol Chem, 1999, 274, 35196 Der, PNAS, 1996, 93, 15623

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
LMP-17 Proteasome β -subunit X	h: ?	IFN- γ (d)	The constitutive proteasome LMP-17 (X) β -subunit is replaced after IFN- γ induction in the immunoproteasome by LMP-7.	Akiyama, Science, 1994, 265, 1231
Antigen processing				
LMP-19 Proteasome β -subunit Y PSMB6	h: HeLa cells	IFN- γ (d)	The constitutive proteasome LMP-19 (Y) β -subunit is replaced after IFN- γ induction in the immunoproteasome by LMP-2.	Shaw, Electrophoresis, 1999, 20, 984 Shaw, Electrophoresis, 1999, 20, 977 Akiyama, Science, 1994, 265, 1231
Antigen processing				
LMP-2 RING12, Proteasome chain 7 Mec1, Mps7, Multicatalytic endopeptidase complex chain 7 (MECL-7)	various cell types of different origin	IFN- γ (u)	MHC class I accessory molecule. LMP-2 is a MHC-linked proteasome β -subunit, that competitively replaces the homologous constitutive proteasome LMP-19 (V) β -subunit after IFN- γ induction. Together with LMP-7 and LMP-10 the integration of LMP-2 modifies the proteolytic cleavage preferences of the proteasome. LMP-2 shares its promoter with TAP1.	Kelly, Nature, 1991, 353, 667 Wang, J Immunol, 1996, 156, 3174 Belich, Curr Biol, 1994, 4, 1459 Shaw, Electrophoresis, 1999, 20, 984 Der, PNAS, 1998, 95, 15623
Antigen processing				
LMP-7 RING10, Proteasome component C13 precursor; Macropain subunit C13; Multicatalytic endopeptidase complex subunit C13 (MECL-13)	various cell types of different origin	IFN- γ (u)	MHC class I accessory molecule. LMP-7 is a MHC-linked proteasome β -subunit, that is encoded between TAP1 and TAP2. LMP-7 competitively replaces the homologous constitutive proteasome LMP-17 (X) β -subunit after IFN- γ induction. Together with LMP-2 and LMP-10 the integration of LMP-7 modifies the proteolytic cleavage preferences of the proteasome.	Belich, Curr Biol, 1994, 4, 769 Ghyme, Nature, 1991, 353, 357 Der, PNAS, 1998, 95, 15623
Antigen processing				
LMP-9 Proteasome β -subunit Z	h: ?	IFN- γ (d)	The constitutive proteasome LMP-9 (Z) β -subunit is replaced after IFN- γ induction in the immunoproteasome by LMP-10.	Hiramatsu, J Exp Med, 1996, 183, 1807
Antigen processing				
Low density lipoprotein receptor-related protein (LRP)	a) h: monocyte-derived M0 b) m: RAW 264.7 M0	a) IFN- γ (d) b) IFN- γ (d)	Human monocyte-derived M0s cultured in human serum are rapidly converted to lipid filled foam cells. The human serum induced lipid accumulation was potently inhibited, though not reversed, by IFN- γ . This inhibition was associated with decreased ApoE production, LPL secretion and expression of LRP. LRP is a member of the LDL receptor supergene family. It serves as a receptor for proteinases, lipoprotein lipase, α_2 macroglobulin-proteinase complexes, PAI-1 complexed with urokinase or tissue-type plasminogen activator, ApoE-enriched lipoproteins, bacterial toxins and viruses. LRP-ligand complexes undergo endocytosis via clathrin-coated pits, ligands are shuttled to lysosomes while the receptor is recycled back to the cell surface. Downregulation occurs at the level of transcription.	a) Garner, Atherosclerosis, 1997, 128, 47 b) Hussaini, J Leukoc Biol (United States), 1996, 59, 733
Acute phase Lipid transport/metabolism				
LRF-1 Leukemia/lymphoma related factor-1	m: RAW 264.7 M0	IFN- γ (u)	LRF-1 is a C2H2 zinc finger protein able to interact with Bcl-6 in the nucleus.	Farber, Mol Cell Biol, 1992, 12, 1535
Transcription factor				
LRG-21	m: RAW 264.7 M0; peritoneal M0; EF; EF derived from Start ⁺ mice	IFN- γ (u), LPS (u), IL-4 (u)	LRG-21 is a transcription factor with homology to rat LRF-1 and human ATF3. It contains basic and leucine zipper regions (cFos, cJun, and cMyb) but not a zinc finger domain. Regulation: no <i>de novo</i> protein synthesis needed (primary response gene).	Drysdale, Mol Immunol, 1996, 33, 989 Ramana, PNAS, 2001, 98, 8674
Transcription factor				
LRG-47 Antimicrobial GTPase p47 family	m: peritoneal M0; B-cell lymphoma; 70Z/3 pre B-cells	IFN- γ (u), IFN- β (u), IFN- α (u), LPS (u)	LRG-47 is a member of the p47 GTPase family consisting of IIGP, IGTP, GTP1, IRG-47, LRG-47 and TGTP/Mg21. The involvement in IFN mediated cell autonomous resistance programmes was shown for some of the family members. The p47 GTPases as well as the non-related p65 GTPases seem to dominate the cellular response to IFN- γ in EF and M0. The induction of LRG-47 was not dependent on IRF-1, thus it might be classified as a primary response gene. The induction by IFN type 1 is much weaker than by IFN- γ . LRG-47 deficient mice lack resistance to <i>T.gondii</i> and <i>L.monocytogenes</i> infection. LRG-47 has a vital role in immune defense against protozoan and bacterial infection. The inducibility by IFN type 1 is only weak.	Sorace, J Leukoc Biol, 1995, 58, 477 Boehm, PNAS, 1996, 161, 5715 Coltazo, J Exp Med, 2001, 194, 181
Unclassified				
LST-1 OATP2	m: monocytes (?)	IFN- γ (u)	LST-1 is located in the TNF-region of the HLA complex. Different LST-1 transcripts are achieved through extensive alternative splicing. IFN- γ enhances the expression of short LST-1 transcripts. LST-1 is a liver-specific transporter.	de Baey, Genomics, 1997, 45, 591
Unclassified				
Lupus p70 (ku) autoantigen; G22P1; thyroid autoantigen; DZ2S671; ML8; DZ2S731	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u)	Lupus p70 is a single stranded DNA-dependent, ATP-dependent helicase. It has a role in chromosome translocation. The DNA helicase II complex binds preferentially to fork-like ends of double-stranded DNA in a cell cycle-dependent manner. It works in the 3-5' direction. Binding to DNA may be mediated by p70.	Der, PNAS, 1998, 95, 15623
Proliferation ? DNA				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
<p>LY-6A/E Sca-1; T-cell activation protein (TAP) CAM Signaling Lymphocyte activation</p>	<p>m; T-cells; fibroblasts; thymocytes</p>	<p>IFN-γ (u), IFN-α (u), IFN-β (u)</p>	<p>Ly-6 molecules are a family of GPI-anchored cell surface glycoproteins that belong within a superfamily that includes CD59, leukinase receptor (uPAR) and the sperm antigen SP10. The biologic role for Ly-6 molecules is not well understood but mounting evidence indicates that they participate in intercellular adhesion and signaling, furthermore they may be involved in the control of leukocyte development and activation. The Ly-6A/E promoter contains a GAS-element to which the binding of GAF was confirmed in fibroblasts.</p>	<p>Dumont, J Immunol, 1987, 139, 4088 Dumont, Eur J Immunol, 1987, 17, 1183 Khan, Mol Cell Biol, 1990, 10, 5150 Le Clair, EMBO J, 1986, 5, 3227 Melek, J Immunol, 1989, 142, 1929 Khan, PNAS, 1993, 90, 6806 Sinclair, Blood, 1996, 87, 2750 Mc Grew, J Immunol, 1991, 146, 3633 Toulon, Eur J Immunol, 1988, 18, 937 Ma, B, J Haematol, 2001, 114, 724</p>
<p>Ly-6C CAM Signaling Lymphocyte activation</p>	<p>m; monocytes</p>	<p>IFN-γ (u), IFN-α (u), IFN-β (u)</p>	<p>Ly-6 molecules are a family of GPI-anchored cell surface glycoproteins that belong within a superfamily that includes CD59, leukinase receptor (uPAR) and the sperm antigen SP10. The biologic role for Ly-6 molecules is not well understood but mounting evidence indicates that they participate in intercellular adhesion and signaling, furthermore they may be involved in the control of leukocyte development and activation. Furthermore Ly-6C is a strong marker for memory T-cells. The promoter region contains an ISRE-element.</p>	<p>Mc Grew, J Immunol, 1991, 146, 3633 Dumont, Eur J Immunol, 1988, 18, 937 Bothwell, J Immunol, 1988, 140, 2615</p>
<p>Sca-2; TSA-1; Ly-67 CAM Signaling Lymphocyte activation</p>	<p>m; T-cells; B-cells</p>	<p>IFN-γ (u), IFN-α (u), IFN-β (u)</p>	<p>Ly-6 molecules are a family of GPI-anchored cell surface glycoproteins that belong within a superfamily that includes CD59, leukinase receptor (uPAR) and the sperm antigen SP10. The biologic role for Ly-6 molecules is not well understood but mounting evidence indicates that they participate in intercellular adhesion and signaling, furthermore they may be involved in the control of leukocyte development and activation. Promoter contains ISRE-element to which the binding of STAT1 containing complexes was confirmed (most likely ISGF3). In response to IFN treatment of T-cells, a high mobility group (HMG) protein-dependent complex involving multiple regulatory factors is assembled and required for IFN inducibility of the Ly-6E gene.</p>	<p>Khodadoust, J Immunol, 1999, 163, 811 Khodadoust, Blood, 1998, 92, 2399 Dumont, Eur J Immunol, 1987, 17, 1183 Sinclair, Blood, 1993, 82, 3052</p>
<p>lyn Tyrosine kinase lyn Protein-Tyrosin kinase Oncogene Respiratory burst</p>	<p>h; bone marrow M0</p>	<p>IFN-γ (u)</p>	<p>lyn is a member of the src subfamily of protein tyrosine kinases family. It is highly expressed in the central nervous system, physically linked to AMPA receptor and activated following stimulation of the receptor, then activating the MAP Kinase pathway. The tyrosine kinases hck and lyn are thought to be involved in the respiratory burst.</p>	<p>Boulet, Oncogene, 1992, 7, 703</p>
<p>Lyszyme (LZM) Antimicrobial</p>	<p>h; mononuclear phagocytes; M0</p>	<p>IFN-γ (u), TNF-α (u), LPS (u)</p>	<p>Lysozymes have primarily bacteriolytic function; those in tissues and body fluids are associated with the monocyte-macrophage system and enhance the activity of immunoglobulins. The IFN-γ mediated stimulation of LZW secretion may be dependent upon the state of maturation and/or differentiation of the cells.</p>	<p>Lewis, Immunology, 1990, 69, 402 Pizzurra, Infect Immun, 1993, 61, 3605</p>
<p>Lysyl oxidase Extracellular matrix</p>	<p>a) r; aortic smooth muscle cells b) m; fibroblasts</p>	<p>a) IFN-γ (d) b) IFN-γ (u)</p>	<p>Lysyl oxidase is a copper-dependent metalloenzyme secreted by fibroblasts and vascular smooth muscle cells and is an essential catalyst for the cross-linking of collagen and elastin in the extracellular matrix. Diminished cross-linking appears to increase the susceptibility of collagen and elastin to degradation by metalloproteinases. IFN-γ exerts a transcriptional down-regulation as well as a decrease in the mRNA half life (posttranscriptional mechanism) of lysyl oxidase. The promoter region does contain an ISRE element to which the binding of IRF-1 was shown.</p>	<p>a) Song, Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2000, 20, 982 b) Tan, Cancer Res, 1996, 56, 2417</p>
<p>M-CSF Macrophage colony stimulating factor; CSF-1 Growth factor</p>	<p>a) h; thymic epithelial cells b) m; mesangial cells</p>	<p>a) IFN-γ (u), TNF-α (u), IL-1 (u) b) IFN-γ (u), TNF-α (u)</p>	<p>Hematopoietic growth factor; modulates physiologic activation of monocytes and macrophages; increases production of monocytes; homodimeric glycoprotein growth factor, stimulates the survival, proliferation and differentiation of mononuclear phagocytes from bone marrow progenitor cells to mature macrophages. Regulation: occurs at the transcriptional level but is also influenced by posttranscriptional events.</p>	<p>a) Galy, Lymphokine Cytokine Res, 1993, 12, 265 Satriano, J Immunol, 1993, 150, 1971 b) Mori, J Immunol, 1990, 144, 4697 Gautam, Exp Hematol, 1995, 23, 482</p>
<p>Macrophage insulin-like growth factor-1 (mIGF-1) Growth factor</p>	<p>m; M0</p>	<p>IFN-γ (d)</p>	<p>The insulin-like growth factors, isolated from plasma, are structurally and functionally related to insulin but have a much higher growth-promoting activity, its regulation is dependent on <i>de novo</i> protein synthesis.</p>	<p>Arkins, Mol Endocrinol, 1995, 9, 350</p>
<p>Macrophage mannose receptor (MMR) Acute Phase Antimicrobial</p>	<p>m; M0 cell line J774E; astrocytes</p>	<p>IFN-γ (d)</p>	<p>Acute phase reactants are predominantly synthesized in the liver and their serum levels are increased or reduced already approximately 90 min after the onset of an inflammatory reaction. They function as mediators or inhibitors of inflammation, act as transport proteins for products synthesized during inflammatory processes and/or play an important role in tissue repair and remodeling. MMR mediates first-line defense against pathogens by direct phagocytosis. It binds to sugars which are not common in terminal positions on mammalian oligosaccharides but are often found on the surfaces of microorganisms.</p>	<p>Harris, Blood, 1992, 80, 2363 Schreiber, J Immunol, 1993, 151, 4973 Stein, J Exp Med, 1992, 176, 287 Burudi, Glia, 1999, 25, 44</p>
<p>Macrophage-inducible C-type lectin Mincle Unclassified</p>	<p>m; peritoneal M0</p>	<p>IFN-γ (u), TNF-α (u), LPS (u), IL-6 (u)</p>	<p>Mincle belongs to the group II C-type lectins, most of which mediate glycoprotein endocytosis and is a transcriptional target of NF-IL6. Promoter contains NF-IL6, NFkB, AP-1 and cEts binding motifs; NF-IL6 site is indispensable. Cytoplasmic region of Mincle does not contain a C-type lectin specific tyrosine residue, therefore Mincle probably can not mediate efficient endocytosis.</p>	<p>Matsumoto, J Immunol, 1999, 163, 5039</p>
<p>mad max dimerizer Transcription factor Oncogene</p>	<p>h; myeloid cell line U937-1</p>	<p>IFN-γ (u), TPA (u), RA (u), Vitamin D3 (u)</p>	<p>mad belongs to the myc proto-oncogene family and acts as a transcriptional repressor.</p>	<p>Larsson, Oncogene, 1994, 9, 1247</p>

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
Mad1 Max dimerizing protein; Max binding protein	?; M0 cell line; primary bone marrow derived M0	IFN- γ (u)	Mad1 belongs to the basic helix-loop-helix (bhlh) family of transcription factors and is able to inhibit the activity of colony-stimulating factor-1 (CSF-1). The antiproliferative effect of IFN- γ mediated by Mad1 is achieved by shifting the Myc-Max complex to the Mad1-Max complex in cells (antagonist of Myc).	Dey, J Cell Biol, 1999, 72, 232
Transcription factor Transcriptional repressor Proliferation				
MAdCAM-1 Mucosal addressin cell adhesion molecule-1; MECA-367 antigen	a) m: endothelioma cell line b) m: primary choroid plexus epithelial cells; pancreas of Ins-IFN- γ mice and Ins-IFN- γ /SCID mice	a) (TNF- α (u), IL-1 (u), LPS (u)) + IFN- γ (f) b) TNF- α (u), IFN- γ (u), IL-1 (u), LPS (u), IFN- γ (u) (in vivo)	Ligand for L-selectin and β - α integrin. MAdCAM-1 is required for lymphocyte homing to Peyer's patches.	a) Sikorski, J Immunol, 1993, 151, 5239 b) Lee, J Immunol, 1994, 152, 4597 Steffen, Am J Pathol, 1996, 148, 1819
Cell migration Selectin ligand CAM				
mag-2 Macrophage-activated gene 2	m: M0; primary fibroblasts; 70Z/3 pre B-cells	IFN- γ (u)	Murine member of the p65 GTPase family. p65 GTPase have the unusual property to bind to GTP, GDP, GMP with equal affinities and to hydrolyze GTP to GDP and GMP. p65 GTPases are found ubiquitously and are related to the Dynamitin family (like Ikk GTPases). mGBP-1 was shown to have antiviral activity. The regulation is strictly dependent on IRF-1.	Wynn, J Immunol, 1991, 147, 4384 Parron, PNAS, 1993, 16, 67 Patrone, 2001, Mol Immunol, 38, 597
GTPase p65 family				
Manganese superoxide dismutase (Mn-SOD) Acute phase Respiratory burst Antimicrobial	a) b: fibroblasts; melanoma renal and lung-carcinoma cells b) r: neuronal and glial cells	a) IFN- γ (u), TNF- α (u) + IL-1 (u) b) IFN- γ (u), LPS (u), IL-1 β (u), TNF- α (u)	Acute phase reactants are predominantly synthesized in the liver, and their serum levels are increased or reduced already approximately 90 min after the onset of an inflammatory reaction. They function as mediators or inhibitors of inflammation, act as transport proteins for products synthesized during inflammatory processes and/or play an important role in tissue repair and remodeling. Mn-SOD is a mitochondrial protective enzyme that scavenges toxic reaction compounds produced by M0s and neutrophils during an immune response. It binds to copper and zinc and is involved in the formation of reactive oxygen species. Cooperative interaction of NF- κ B and C/EBP binding sites is necessary for Mn-SOD transcription mediated by LPS and IFN- γ	a) Harris, J Immunol, 1991, 147, 149 Abocayge-Mathiesen, Electrophoresis, 1999, 20, 344 Sullivan, Cancer Res, 1997, 57, 1137 Maebara, FEBS Lett, 1999, 449, 115 b) Kflie, J Neurochem, 1996, 66, 2128
MAP3K10 Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 10; MST; Serine/threonine kinase, non-receptor type; Mixed lineage kinase 2 (MLK2)	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN- γ (u), IFN- β (u), IFN- α (u)	MAP3K10 belongs to the Ser/Thr family of protein kinases and probably acts between Rac1/Cdc42 and MKK4 and -7 in death signaling. MAP3K10 functions signaling through MAP kinase kinase 4 and/or MAP kinase kinase 7 to the SAPK/JNK, resulting in phosphorylation of transcription factors including the oncogene c-Jun.	Der, PNAS, 1998, 95, 15623
Apoptosis Transcription regulator				
max interacting protein1 mx1	h: myeloid cell line U937-1	IFN- γ (u), TPA (u), RA (u), Vitamin D3 (u)	mx1 belongs to the myc proto-oncogene family and acts as a transcriptional repressor.	Larsson, Oncogene, 1994, 9, 1247
Transcription factor Oncogene				
Max-interacting transcriptional repressor MAD-4	m: EF derived from Stat1 ^{-/-} mice	IFN- γ (d)	MAD-4 is a transcriptional repressor. MAD4 binds with MAX to form a sequence-specific DNA-binding protein complex. MAD4 thus antagonizes myc transcriptional activity by competing for MAX.	Ramana, PNAS, 2001, 98, 6674
Transcription factor				
mBPA Membrane bound erythroid burst-promoting activity	h: A-1 leukemic cell line	IFN- γ (u)	mBPA is present on normal B-cells and some activated T-cells. It induces burst-forming units-erythroid (BFU-E) when cultured with erythropoietin.	Guha, Leukemia, 1994, 8, 227
Unclassified				
Mcl-1 Myeloid cell leukemia sequence 1	h: cord blood eosinophils	IFN- γ (u)	Mcl-1 belongs to the Bcl-2 family and is involved in programming of differentiation and concomitant maintenance of viability but not of proliferation. Mcl1 isoform 1 inhibits apoptosis while isoform 2 promotes it.	Druilhe, Am J Respir Cell Mol Biol, 1998, 18, 315
Apoptosis Proliferation Differentiation				
mda-9 Melanoma differentiation associated gene-9	h: SV40 immortalized normal melanoma cells	IFN- γ (u)	mda-9 might be involved in growth suppression without leading into terminal differentiation.	Lin, Gene, 1998, 207, 105
Proliferation				
mdr1 Unclassified	h: multidrug-resistant colon carcinoma cells HCT15 and HCT116	IFN- γ (?), TNF- α (?), IL-2 (?)	Cytokine-induced reversal of multi-drug resistant phenotype.	Stein, Br J Cancer, 1996, 74, 1384

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
MECA-325 antigen	m: pulmonary or bone marrow derived endothelial cells	IFN- γ (u)	MECA-325 antigen is selectively expressed <i>in vivo</i> on high endothelial cells.	Duijvestijn, PNAS, 1986, 83, 9114
Cell migration Selectin ligand				
Melan-N1 Nervous system-specific RNA binding protein Mel-N1	m: bone marrow derived M0	IFN- γ (d)	Homologous to human Hc-H1, Mel-N1 can bind to its own 3' UTR, as well as to the c-fos 3' UTR. It is localized predominantly in the cytoplasmic region in cells. RNA-binding proteins play important roles in various aspects of post-transcriptional regulation of gene expression.	Gil, PNAS, 2001, 98, 6680
Transcription regulator				
Melan-A MART-1	h: melanoma cells	IFN- γ (d)	Melan-A is a melanoma associated antigen whose function is unknown.	Hofbauer, Melanoma Res, 2001, 11, 213
Antigen Unclassified				
Melanoma X actin A-X actin-like protein	m: bone marrow derived M0 from Statt ⁺ mice	IFN- γ (d)	Involved in cytoskeleton organization and biogenesis.	Gil, PNAS, 2001, 98, 6680
Cytoskeleton				
Metabotropic glutamate receptor 8 (mGluR8)	m: bone marrow derived M0 from Statt ⁺ mice	IFN- γ (d)	The function is unknown.	Gil, PNAS, 2001, 98, 6680
Unclassified				
Metiodobenzylguanidine receptor (MIBG receptor); Noradrenaline receptor	h: neuroblastoma cell line LAN-5	IFN- γ (u)	Belongs to the family of Na ⁺ /K ⁺ dependent ATPase pump transporters: iodine labeled MIBG is a radiopharmaceutical for diagnosis and biologically targeted radiotherapy of neuroblastoma, metabolically similar to noradrenaline. Regulation: <i>de novo</i> synthesis of mRNA; increased mRNA level.	Mentaldò, Cytotechnology, 1983, 11, S140 Mentaldò, Cancer Res, 1992, 52, 4960
Lipid transport/metabolism				
Metalloelastase	m: peritoneal M0	IFN- γ (d), LPS (d), M-CSF (d), GM-CSF (u)	Metalloproteinase that degrades elastin. Inhibition of metalloelastase production is independent of nitric oxide, superoxide and hydrothen peroxide. The inhibition of elastase activity occurs at the level of transcription.	Kumar, J Immunol, 1996, 157, 5104
Extracellular matrix				
Metallothionein II Ctg-4	m: RAW 264.7 M0	IFN- γ (u)	Metallothioneins contain an unusual high amount of cysteines and bind to various heavy metals. They have been implicated in different physiological functions, such as zinc and copper metabolism, protection against reactive oxygen species, or adaptation to stress.	Farber, Mol Cell Biol, 1992, 12, 1535
Respiratory burst Antimicrobial				
Metallothionein (MT1)	m: EF; EF derived from Statt ⁺ mice	IFN- γ (u)	Metallothioneins have a high content of cysteine residues that bind various heavy metals.	Ramana, PNAS, 2001, 98, 6674
Unclassified				
mg11 SAM domain and HD domain 1 (SAMHD1); DCIP	a) t: astrocytes b) h: dendritic cells	a) IFN- γ (u) b) IFN- γ (u)	The function is unknown.	a) Kuchinke, Neuroimmunomodulation, 1995, 2, 347 b) Li, Immunol Lett, 2000, 74, 221
Unclassified				
mGBP-1 Mouse guanylate-binding protein-1; Macrophage-activated gene 1 (mag-1)	m: RAW 264.7 M0; primary fibroblasts	IFN- γ (u), IFN- β (u), IFN- α (u)	Murine member of the p65 GTPase family. p65 GTPase have the unusual property to bind to GTP, GDP, GMP with equal affinities and to hydrolyze GTP into GDP and GMP. p65 GTPases are biochemically and structurally related to the Dynammin family (like Mx GTPases). mGBP-1 is polymorphic, as specific mice strains either contain an inducible or a non-inducible allele. The regulation is strictly dependent on IRF-1 binding on an ISRE element. The induction by IFN type I is much weaker than by type II. mGBP-1 contains a Caax motif but is only poorly prenylated in cells where it is homogeneously distributed in the cytoplasm.	Stacheli, J Virol, 1983, 47, 563 Stacheli, Virology, 1984, 137, 135 Cheng, Mol Cell Biol, 1991, 11, 4717 Wynn, J Immunol, 1991, 147, 4384 Briken, Mol Cell Biol, 1995, 15, 693 Briken, Mol Cell Biol, 1995, 15, 575 Boehm, PNAS, 1998, 161, 6715 Vestal, Biochem Biophys Res Commun, 1996, 224, 528 Anderson, J Interferon Cytokine Res, 1999, 19, 487 Vestal, J Interferon Cytokine Res, 2000, 20, 991
GTPase p65 family				
mGBP-2 Mouse guanylate-binding protein-2 Proliferation ? CTP6 GTPase p65 family	m: M0; primary fibroblasts; 70Z/3 pre B-cells	IFN- γ (u), IFN- β (u)	Murine member of the p65 GTPase family. p65 GTPase have the unusual property to bind to GTP, GDP, GMP with equal affinities and to hydrolyze GTP into GDP and GMP. p65 GTPases are biochemically and structurally related to the Dynammin family (like Mx GTPases). The regulation is strictly dependent on IRF-1. The induction by IFN type I is much weaker than by type II. mGBP-2 contains a Caax motif and isoprenylation is necessary for its targeting to intracellular vesicle-like structures. mGBP-2 might participate in a IFN- γ mediated cell growth-promoting effect.	Briken, Mol Cell Biol, 1995, 15, 975 Boehm, PNAS, 1998, 161, 6715 Vestal, J Interferon Cytokine Res, 1998, 18, 977 Anderson, J Interferon Cytokine Res, 1999, 19, 487 Vestal, J Interferon Cytokine Res, 2000, 20, 991 Patrone, Mol Immunol, 2001, 38, 597 Gorbacheva, J Biol Chem, 2001, epub ahead of print

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
mGBP-3 Mouse guanylate-binding protein-3; Purine nucleotide binding protein	a) m: RAW 264.7 MO; primary fibroblasts b) m: primary fibroblasts	a) LPS (u), IFN- γ (u) b) IFN- γ (d)	Murine member of the p65 GTPase family. p65 GTPase have the unusual property to bind to GTP, GDP, GMP with equal affinities and to hydrolyze GTP into GDP and GMP. p65 GTPases are biochemically and structurally related to the Dinmanin family (like Mx GTPases). CHX had no effect on IFN- γ or LPS-induced mGBP-3 expression, but no induction occurs in IRF-1 deficient fibroblasts. mGBP-3 is also upregulated by Epo in FVA cells and megakaryocytes.	a) Hsu, Biochim Biophys Acta, 1998, 1384, 373 Boehm, PNAS, 1998, 95, 6715 Hsu, Arch Pharm Res, 1999, 22, 130 b) Presti, J Exp Med, 2001, 193, 483
GTPase p65 family				
Mitrosomal aldehyde dehydrogenase (msALDH)	r: pancreatic β - cells	IL-1 β + IFN- γ (d)	ALDHs represent a superfamily of NAD(P) ⁺ -dependent enzymes having similar primary structures, that oxidize a wide spectrum of endogenous and exogenous aliphatic and aromatic aldehydes. ALDHs isozymes may form a superfamily consisting of class 1, 2, and 3 ALDHs. msALDH may be classified as a class 4 ALDH.	Cardozo, Diabetes, 2001, 50, 909
Lipid transport/metabolism				
Mitochondrial tricarboxylate carrier	r: pancreatic β - cells	IL-1 β + IFN- γ (d)	The citrate (tricarboxylate) carrier transports citrate (or other tricarboxylates) across the inner membranes of mitochondria in an electroneutral exchange for malate (or other dicarboxylic acids). It is important for the bioenergetics of hepatic cells as it provides a carbon source for fatty acid and sterol biosyntheses, and NAD ⁺ for the glycolytic pathway.	Cardozo, Diabetes, 2001, 50, 909
Lipid transport/metabolism				
MMP-1 Matrix metalloproteinase-1; Collagenase-1; Interstitial collagenase	a) h: cutaneous SCC cells; ras-transformed epidermal keratinocytes b) h: keratinocytes	a) IFN- γ (d), TGF- β (u) + IFN- γ (f), TNF- α (u) + IFN- γ (f) b) IFN- γ (u)	Matrix metalloproteinases. MMPs constitute a family of proteolytic enzymes degrading extracellular matrix components. Their activity is inhibited by tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP). IFN- γ stimulation appears to stabilize the MMP-1 mRNA, resulting in reduced turnover of the transcript. Other reports show that their IFN- γ mediated inhibition of expression occurred at a pretranslational level	a) Ahs-Aho, Oncogene, 2000, 19, 248 Wahl, J Perichonol, 1993, 64, 467 Shapiro, J Clin Invest, 1990, 86, 1204 b) Tamai, J Invest Dermatol, 1995, 104, 384
Extracellular matrix				
MMP-13 Matrix metalloproteinase-13; Collagenase-3	h: cutaneous SCC cells; ras-transformed epidermal keratinocytes	IFN- γ (d), TGF- β (u) + IFN- γ (f), TNF- α (u) + IFN- γ (f)	Matrix metalloproteinase. MMPs constitute a family of proteolytic enzymes degrading extracellular matrix components. Their activity is inhibited by tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP). The inhibition of MMP-13 expression by IFN- γ involves activation of ERK1/2 and STAT1.	Ahs-Aho, Oncogene, 2000, 19, 248
Extracellular matrix				
MMP-2 Matrix metalloproteinase-2; Gelatinase A	a) h: salivary gland cell line; A2058 melanoma cells b) h: T-24 bladder cancer cell line	a) IFN- γ (u) b) IFN- γ (d), TNF- α (d)	Matrix metalloproteinase. MMPs constitute a family of proteolytic enzymes degrading extracellular matrix components. Their activity is inhibited by tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP). The upregulation of MMP-2 occurs after short time treatment with IFN- γ . After long-term treatment (7 days), IFN- γ markedly down-regulated the gene expression.	a) Wu, J Cell Physiol, 1997, 171, 117 Hujanen, Int J Cancer, 1994, 58, 582 b) Shin, Cancer Lett, 2000, 159, 127
Extracellular matrix				
MMP-3 Matrix metalloproteinase-3; Stromelysin-1	a) h: fibroblasts b) h: dermal fibroblasts; keratinocytes c) h: alveolar M0 d) h: dermal fibroblasts	a) IFN- γ (d) (diff. cell types u or d) b) IFN- γ (u), TGF- β (d) c) LPS (u) + IFN- γ (f) d) IL-1 β (d) + IFN- γ (f)	Matrix metalloproteinase. MMPs constitute a family of proteolytic enzymes degrading extracellular matrix components. Their activity is inhibited by tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP). The AP-1 element in the promoter region of MMP-3 seems to be central for the upregulation, as well as inhibition of MMP-3. The inhibition of the expression is associated with activation of IDO and enhanced cellular tryptophan metabolism.	a) Lewis, J Cell Biochem, 1999, 72, 373 Annaldi, J Immunol, 1989, 142, 939 b) Lee, Exp Mol Med, 1998, 30, 59 Tamai, J Invest Dermatol, 1995, 104, 384 c) Shapiro, J Clin Invest, 1990, 86, 1204 d) Varga, J Clin Invest, 1995, 96, 475
Extracellular matrix				
MMP-9 Matrix metalloproteinase-9; Gelatinase B	h: salivary gland cell line; A2058 melanoma cells; J-82bladder cancer cell line	IFN- γ (u)	Matrix metalloproteinase. MMPs constitute a family of proteolytic enzymes degrading extracellular matrix components. Their activity is inhibited by tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP). The upregulation of MMP-9 occurs after short time treatment with IFN- γ . After long-term treatment (7 days), IFN- γ markedly down-regulated the gene expression.	Wu, J Cell Physiol, 1997, 171, 117 Hujanen, Int J Cancer, 1994, 58, 582 Shin, Cancer Lett, 2000, 159, 127
Extracellular matrix				
MNDA Myeloid nuclear differentiation antigen	h: HL60 cells	IFN- γ (u)	Member of the HIN-200 family of proteins, consisting of AIM-2, MNDA and IFI16. The HIN-200 family is the human homologue to the murine p200 family, consisting of p202a, p203, p204 and D3. HIN-200/p200 family proteins participates in the regulation of the cell cycle, differentiation and apoptosis by interacting with transcription factors and growth regulatory proteins. MNDA is localized in the nucleus.	De Young, Oncogene, 1997, 15, 453 Johnstone, Mol Cell Biol, 1999, 19, 5833 Dawson, J Leukoc Biol, 1996, 60, 310
Proliferation Transcription regulator HIN-200 family				
MNSF Monoclonal nonspecific suppressor factor	m: splenocytes	IFN- γ (u), concavalin A (u)	MNSF is involved in the inhibition of the immune response in an antigen nonspecific manner; ubiquitin-like protein (Ubi-L).	Narai, J Immunoassay, 1998, 19, 49
Inflammation ?				
M, 110,000 antigen	h: gastric carcinoma cell lines KATO III, ZAL 521	IFN- γ (u)	The M, 110,000 tumor antigen is an highly glycosylated integral membrane glycoprotein and is cross-reactive with CE4 monoclonal antibodies. Nevertheless it does not show any significant homology to members of the CE4 gene family. The IFN- γ mediated up-regulation is due to an increased mRNA level. The function is unknown.	Shimada, Cancer Res, 1994, 54, 3831 Shimada, In Vivo, 1993, 7, 1
CAM CEA family				
MIRG1 Melanocyte-specific gene (msg) related gene	m: T _H -cells	a) IFN- γ (u) and various other cytokines (u)	MIRG1 is a ubiquitously expressed transcription factor that interacts with p300/CBP. TATA-binding protein and Lhx2 and is the founding member of a new family of transcription factors. MIRG1 can be induced by various biological stimuli.	Sun, PNAS, 1998, 95, 13555
Transcription factor				
mTGIF TGF- β -induced factor	m: bone marrow derived M0	IFN- γ (d)	mTGIF binds to a retinoid x receptor (rxr) responsive element from the cellular retinoid-binding protein II promoter. It inhibits the 9-cis-retinoic acid-dependent rxr- α transcription activation of the retinoic acid responsive element. It is an active transcriptional co-repressor of Smad2 and may participate in the transmission of nuclear signals during development and in the adult.	Gil, PNAS, 2001, 98, 6680
Transcription factor Proliferation				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
MUC1 Mucin 1; Episialin; PEM; EMA; CA 15-3 antigen Extracellular matrix CAM	h: mammary epithelial cell line	IFN- γ (u)	Mucins are transmembrane glycoproteins characterized by a large mucin-like domain. MUC1 is an epithelial mucin highly overexpressed in various carcinomas. Overexpression leads to masking of other cell surface molecules, including cell adhesion molecules. The promoter contains a STAT element to which STAT3 and STAT1 are able to bind.	Crunberg , Tumor Biol. 2000, 21, 211 www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10689076
MUC4 Mucin 4 Extracellular matrix Anticellular matrix	h: pancreatic duct cancer cell line CAPAN-1	TNF- α + IFN- γ (uu), TGF- α + IFN- γ (uu)	Mucins are large glycoproteins that can be classified in secreted mucins and membrane bound mucins. MUC4 is a large transmembrane mucin which is thought to play important roles in tumor cell biology, in ErbB2/Neu signaling, and that is overexpressed in human pancreatic carcinomas. The promoter contains AP-family, NFkB and PEA3 binding sites, as well as two GAS elements.	Perrais , J Biol Chem, 2001, 276, 30923
MUMP-1 Murine microbicidal protein-1; γ -interferon-activated antimicrobial protein-1 Antimicrobial	m: RAW 264.7 MO	IFN- γ (u)	MUMPs are able to kill different microbial pathogens <i>in vitro</i> . MUMP-1 resembles a H1 histone but was unusual because its N-terminal residue (serine) was not N acetylated.	Hiemstra , Infect Immun, 1993, 6, 3038
MUMP-2 Murine microbicidal protein-2 Antimicrobial	m: RAW 264.7 MO	IFN- γ (u)	MUMPs are able to kill different microbial pathogens <i>in vitro</i> . MUMP-2 probably also belongs to the H1 histone family.	Hiemstra , Infect Immun, 1993, 6, 3038
MUMP-3 Murine microbicidal protein.3 Antimicrobial	m: RAW 264.7 MO	IFN- γ (u)	MUMPs are able to kill different microbial pathogens <i>in vitro</i> . MUMP-3 was identical to histone H2B at the N-terminal end.	Hiemstra , Infect Immun, 1993, 6, 3038
Muscle LIM protein (MLP); Cysteine and glycine-rich protein 3 (CSRP3); LIM domain only 4 (LMO4); CLP Cytoskeleton	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u)	MLP is a positive regulator of myogenesis. Its subcellular location is nuclear where it associates with the actin cytoskeleton (potential). It is expressed in cardiac and slow-twitch skeletal muscles. MLP contains 2 LIM domains each of which bind 2 zinc ions.	Der , PNAS, 1998, 95, 15623
Myelin-associated glycoprotein (MAG); SIGLEC-4A, CMA CAM Proliferation	r: Schwann cell line MT4SV-H1	IFN- γ (d), TNF- α (d)	MAG is a type I membrane protein involved in neurite outgrowth and myelination. It serves as a cell adhesion molecule for postnatal neural development and belongs to the immunoglobulin superfamily.	Schneider-Schaulies , Neuron, 1991, 7, 995 Agrasti , Eur J Neurosci, 1996, 8, 1106
Myeloperoxidase (MPO) Respiratory burst Antimicrobial	h: HL60 (acute promyelocytic leukemia)	IFN- γ (d), TNF- α (d)	This enzyme is present in primary granules of neutrophilic granulocytes and plays a major role in the oxygen-dependent microbicidal system of granulocytes. Regulation: decreased mRNA level.	Kawano , Hum Cell, 1992, 5, 282 Kawano , Lymphokine Cytokine Res, 1993, 12, 81
Myosin V Cytoskeleton	m: J774 MO	IFN- γ (u)	Myosins are actin-based motor proteins, hydrolyze ATP to produce mechanical force, playing important roles in cell motility, vesicle transport, membrane traffic and phagocytosis. Myosin V is implicated in organelle movement and vesicle transport in various organisms.	Reis , Braz J Med Biol Res, 2001, 34, 221
N-myc N-myc proto-oncogene Transcription factor Proliferation Oncogene	h: neuroblastoma cell line KP-N-RT	IFN- γ (d)	Member of the myc proto-oncogene family that is probably involved in cell proliferation and differentiation.	Shikata , Jpn J Cancer Res, 1994, 85, 122 Watanabe , Jpn J Cancer Res, 1989, 80, 1072 Wada , Cancer Lett, 1991, 121, 181
NDP52 Nuclear dot associated	see remark	see remark	Nuclear dot (ND, ND10, nuclear bodies, POD, Kr bodies) associated protein. NDP52 contains an extended central coiled coil domain containing a leucine zipper motif. The C-terminus shows homology with LIM domains, that mediate protein interactions. NDP52 contains a nuclear dot association domain. Remark: NDP52 is probably not a nuclear dot associated protein. Monoclonal antibody cross reacts with Sp100 and the observed effects are Sp100 dependent. NDP52 shows no upregulation after IFN type I or type II stimulation.	Koroth , J Cell Biol, 1995, 130, 1 Stensdottir , J Cell Biol, 1997, 138, 435
NEDD8 ultimate buster-1 (NUB1); BSA homologue Proliferation	h: HeLa cells	IFN- γ (u), IFN- β (u)	NUB1 predominantly localizes in the nucleus. It binds to the ubiquitin-like protein NEDD8 (member of the family of ubiquitin-like proteins that include UCRP, SUMO1 (seitin1), seitin-2 and seitin-3) that covalently conjugates to cullin family members (Cul-1 catalyzes the ubiquitination of I κ B α (NFkB-signalling) p21, cyclin D and p27 cell-cycle regulation). NUB1 overexpression leads to severe reduction of NEDD8 monomer and NEDD8 conjugates in the cell. Reduction is due to post-transcriptional mechanism. NUB1 overexpression has a profound growth-inhibitory effect.	Kito , J Biol Chem, 2001, 276, 20603

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
Neural cell adhesion molecule (NCAM), NKH-1, CD56 Extracellular matrix CAM	h: glioma cell line; thymocytes	IFN- γ (u)	NCAM is involved in cell-cell and cell-extracellular matrix interactions, especially of importance in neuron-neuron adhesion, neurite fasciculation and neurite outgrowth. Ligands: NCAM, type 1 collagen, heparan sulphate, spectrin and fodrin.	Yamanaka , <i>Neuro Med Chir (Tokyo)</i> , 1983, 33, 749 Vargas , <i>Clin Exp Immunol</i> , 1994, 98, 478
Neutral endopeptidase (NEP); Membrane metallo-endopeptidase (MME); CD10; CALLA Unclassified	h: bronchial epithelial cells BEAS 2B cells	IFN- γ (u), IL-1 β (u), TNF- α (u), IL-4 (u)	NEP belongs to the zinc metalloprotease family. Its function is thermolysin-like specific, but is almost confined on acting on polypeptides of up to 30 aa. NEP is biologically important in the destruction of opioid peptides such as Met- and Leu-enkephalins.	van der Velden , <i>Cytokine</i> , 1998, 10, 55
Neural sphingomyelinase Apoptosis	h: myelocytic leukemia cells HL 60	IFN- γ (u), TNF- α (u), IL-1 (u)	Cytosolic, Mg ²⁺ -independent enzyme with a neutral pH optimum. Hydrolysis of sphingomyelin to ceramide and phosphocholine.	Kim , <i>J Biol Chem</i> , 1991, 266, 484
NF- κ B subunit p65 Transcription factor Apoptosis Immune modulation	h: monocytes	IFN- γ (u), IFN- γ + LPS (uu)	NF- κ B is an important transcription factor whose activation is mediated by several cytokines as well as by PKR after viral infection and that is involved in various important immunological processes.	de Wit , <i>Exp Hematol</i> , 1996, 24, 228
NF-X1 Transcription factor Antigen presentation	h: ?	IFN- γ (u)	Cysteine rich transcription factor that binds to the conserved X-box motif of MHC class II genes. Acts as a transcriptional repressor of HLA-DR gene expression. NF-X1 is markedly induced late after induction with IFN- γ .	Song , <i>J Exp Med</i> , 1994, 180, 1763
NGF-R Nerve growth factor-receptor; TrkA Growth factor receptor	h: colorectal carcinoma cell line SW1116; neuroblastoma cells	IFN- γ (u)	NGF-R serves as a cell surface as well as a nuclear receptor. Both forms can be upregulated by IFN- γ . It is a low affinity receptor for NGF but also weakly binds to BDNF, NT-3 and NT-4/5. NGF-R can mediate cell survival as well as cell death of neural cells. It can interact with the p75NTR- associated cell death executor.	Rakowicz-Szulczynska , <i>Growth Factors</i> , 1992, 6, 337 Shikata , <i>Med Ped Oncol</i> , 2000, 34, 394
NIS Na/I symporter Sodium/iodide symporter Thyroid specific	a) r: Fisher rat thyroid cell line (FRTL-5) b) r: Fisher rat thyroid cell line (FRTL-5) c) h: primary thyroid follicular cells	a) TSH (u) + (IL-1 α or + TNF- α or + IFN- γ) (u) b) TSH (u) c) TSH (u) + (IL-1 α or + TNF- α or + IFN- γ) (u)	Iodide transporter. Iodide concentration essential for thyroid hormone synthesis. Transports iodide in the thyroid gland. Iodide uptake by the thyroid gland is an essential step for the formation of thyroid hormones and is mediated by the sodium/iodide symporter (NIS). The NIS is localised to the basolateral membrane of thyroid follicular cells, transporting extracellular iodide using the sodium gradient generated by the Na ⁺ /K ⁺ ATPase as an energy source. Cytokines seem to have an important role in autoimmune hypothyroidism and Graves' disease.	Ajjan , <i>J Endocrinol</i> , 1998, 158, 351 b) Spitzweg , <i>Thyroid</i> , 1999, 9, 821 c) Ajjan , <i>Clin Endocrinol</i> , 1998, 49, 517
NKR-P1A Killer cell lectin-like receptor subfamily B, member 1 (KLRB1) Unclassified	r: monocytes	IFN- γ (u)	NKR-P1 belongs to the natural killer cell activation receptor NKR-P family. It is the major activating receptor at the surface of rat natural killer cells. Rats were treated for 3 days intravenously with IFN- γ . Afterwards monocytes were purified and analyzed in comparison to monocytes of untreated rats.	Scriba , <i>J Leukoc Biol</i> , 1997, 62, 741
nm23 Nucleoside diphosphate kinase type 6 Proliferation Transcription factor	h: renal carcinoma cell line TC-1; melanoma cell line B16F10	IFN- γ (d)	nm23 was identified as an antimetastatic gene. Furthermore it is involved in cell growth and differentiation and acts as a transactivator that modulates the expression of the retinoblastoma protein/p130, a negative regulator of cell cycle progression.	Hall , <i>Anticancer Res</i> , 1996, 16, 1755 Shi , <i>Br J Cancer</i> , 1994, 70, 440
Nmi N-myc interacting factor Transcription regulator	?; Kelly cells	IFN- γ (u)	Nmi interacts with many transcription factors like myc, N-myc, max, fos and STAT proteins and modulates their transcriptional activity by enhancing the interaction of transcription factors with the basal transcription machinery like CBP/p300. Nmi shares homology with the N-terminal domain of the cyclin dependent kinase 2. Nmi is involved in the cytoplasmic localization of Nmi. N-terminal Nmi fragments without NIDs are nuclear in tandem in each protein. NIDs mediate the cytoplasmic localization of Nmi. N-terminal Nmi fragments without NIDs are nuclear in Besides subcellular localization, NID mediates Nmi-Nmi protein interactions and Nmi-IFP35 interactions. Nmi and IFP35 coimmunoprecipitate and colocalize in large cytoplasmic speckles of 300-400 kDa, in which Nmi-IFP35 interaction prevents IFP35 degradation.	Bannasch , <i>Oncogene</i> , 1999, 18, 6810 Lee , <i>J Interferon Cytokine Res</i> , 1999, 19, 1245 Chen , <i>J Biol Chem</i> , 2000, 275, 36278
Non-specific cross-reacting antigen (NCA); CD66c CAM CEA family	h: colon carcinoma cell lines	IFN- γ (u)	NCA is a member of the carcinoembryonic antigen (CEA) family including BGP-1, CEA, NCA and PSG. Furthermore it is a member of the immunoglobulin superfamily. The function is unknown.	Takahashi , <i>Cancer Res</i> , 1993, 53, 1612 Hauck , <i>Cancer Res</i> , 1991, 51, 3526 Hinoda , <i>J Gastroenterol</i> , 1997, 32, 200
NRAMP1 Natural-resistance-associated macrophage protein Antimicrobial	Expression restricted to reticulo-endothelial organs (probably M0 as expressing cells). m: IM0	IFN- γ (u), LPS (u)	NRAMP1 is an integral membrane protein expressed exclusively in the lysosomal compartment of phagocytic cells. After phagocytosis it is recruited to the phagosomal membrane and inhibits the intraphagosomal replication of pathogens by regulating the concentration of divalent cations within the phagosome.	Vidal , <i>J Exp Med</i> , 1995, 182, 655 Govoni , <i>Genomics</i> , 1995, 27, 9 Atkinson , <i>Biochem J</i> , 1997, 325, 779

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
Nup475 Growth factor-inducible nuclear protein Nup475; Tristetraprolin (TTP); TPA induced sequence 11 (TIS11); ZFP-36 Transcription factor ? Proliferation ?	m: MO	IFN- γ (u)	Nuclear protein that has probable regulatory functions in the response to growth factors. Contains a novel zinc finger structure and is able to bind zinc.	DuBois, J Biol Chem, 1990, 265, 19185
Osteocalcin precursor gamma-carboxyglutamic acid-containing protein, Bone GLA protein (BGLAP); BGP Extracellular matrix	r: osteoblastic ROS 17/2.8 cells	IFN- γ (f)	A 1,25-dihydroxyvitamin D3 dependent noncollagen protein unique to bone and dentin (bone metabolism marker). IFN- γ may inhibit bone formation by selective inhibition of osteoblast matrix protein production. Regulation: secondary response gene, inhibitory effect maximal after 48 h.	Nanes, Endocrinology, 1990, 127, 588
Osteopontin Spp1 Extracellular matrix	m: EF; EF derived from Stat1 ^{-/-} mice	IFN- γ (u)	Spp1 binds tightly to hydroxyapatite. It appears to form an integral part of the mineralized matrix. It is probably important to cell-matrix interaction and ossification.	Ramana, PNAS, 2001, 98, 8674
P-glycoprotein P-gp (Product of the multidrug resistance; MDR1, gene) Unclassified	h: peripheral blood monocyte-derived MO (MDM)	IFN- γ (u)	Upregulation of mRNA level specific in primary MO.	Puddu, Lab Invest, 1999, 79, 1299
P-selectin Cell migration Selectin	h: HUVEC	IL-4 (u) + IFN- γ (f)	Cell surface lectin that mediates leukocyte endothelial cell adhesion and participates in neutrophil recruitment into inflammatory sites.	Meirose, J Immunol, 1998, 161, 2457
p202 IFI202 Proliferation Transcription regulator HIN-200 family	m: bone marrow derived MO; fibroblasts; 70Z/3 pre B-cells	IFN- γ (u), IFN- β (u), IFN- α (u)	Member of the p200 family of proteins consisting of p202a, p202b, p203, p204 and D3 that are homologues of the human HIN-200 family. p202 is a nuclear DNA-binding protein that is able to interact and modulate the activity of a variety of transcription factors and growth regulatory proteins, like E2F, MyoD, AP-1, c-fos, c-jun, NFkB and members of the "pocket" family of proteins (i.e. retinoblastoma tumor suppressor protein) that links the HIN-200 family genes to cell-cycle regulation. The p202 mediated downregulation of transcription factors induces the G1/S phase arrest and cell cycle arrest. p202 also regulates cell cycle, differentiation and apoptosis by interacting with transcription factors and growth regulatory proteins. The regulation of p202 by IFN- γ occurs at the level of transcription.	D'Souza, J Biol Chem, 2001, 276, 298 Gil, PNAS, 2001, 98, 6680 Fairbairn, J Leukoc Biol, 1996, 60, 310 Landofo, Biochimie, 1998, 80, 721
p203 IFI203 Proliferation Transcription regulator HIN-200 family	m: bone marrow derived MO	IFN- γ (u)	Member of the p200 family of proteins consisting of p202a, p202b, p203, p204 and D3 that are homologues of the human HIN-200 family. HIN-200/p200 family proteins participates in the regulation of the cell cycle, differentiation and apoptosis by interacting with transcription factors and growth regulatory proteins. p203 shows a nuclear localization.	Gil, PNAS, 2001, 98, 6680 Landofo, Biochimie, 1998, 80, 721
p204 IFI204 Proliferation Transcription regulator HIN-200 family	m: bone marrow derived MO; fibroblasts; 70Z/3 pre B-cells	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u)	Member of the p200 family of proteins consisting of p202a, p202b, p203, p204 and D3 that are homologues of the human HIN-200 family. HIN-200/p200 family proteins participates in the regulation of the cell cycle, differentiation and apoptosis by interacting with transcription factors and growth regulatory proteins. p204 shows a nuclear localization.	Gil, PNAS, 2001, 98, 6680 Dawson, J Leukoc Biol, 1996, 60, 310 Lambo, Biochem Biophys Res Commun, 1992, 187, 628
P2X7 nucleotide receptor Antimicrobial	h: THP-1 monocytic cell line	IFN- γ + TNF- α (uu), IFN- γ + LPS (uu)	Activation of this receptor by extracellular ATP triggers maturation and release of the pro-inflammatory cytokine IL-1 β in macrophages and monocytes. Treatment of mycobacterium infected MO induces both cell apoptosis and rapid killing of intracellular mycobacteria. P2X7(7) receptor activation is essential for effective ATP-induced mycobacterial killing. Neither Niamp1, iNOS, nor p47(phox) are involved in this process.	Opdenakker, Virology, 1989, 171, 568 Choubey, J Cell Biol, 1992, 116, 1333 Landofo, Biochimie, 1998, 80, 721 Gariglio, J Leukoc Biol, 1998, 64, 608
P2Y2 nucleotide receptor Unclassified	h: ?	IL-1 β (u) + IFN- γ (e), IL-1 β (u) + TNF- α (uu), LPS (u)	P2Y(2) receptors mediate contractile and mitogenic effects of extracellular nucleotides in vascular smooth muscle cells and may playing a role in the development of atherosclerosis.	Hou, Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2000, 20, 2064
P450 isoform CYP3A1-like Hormone/ Hormone metabolism	r: hepatocytes	IFN- γ (d)	Cytochromes p450 are a group of heme-thiolate monooxygenases. In liver microsomes, this enzyme is involved in an NADPH-dependent electron transport pathway. It oxidizes a variety of structurally unrelated compounds, including steroids, fatty acids, and xenobiotics.	Tapner, Hepatology, 1996, 24, 367
P450 isoform CYP3A2 cytochrome P450, subfamily IIIa Hormone/ Hormone metabolism	r: hepatocytes	IFN- γ (d)	Cytochromes p450 are a group of heme-thiolate monooxygenases. In liver microsomes, this enzyme is involved in an NADPH-dependent electron transport pathway. It oxidizes a variety of structurally unrelated compounds, including steroids, fatty acids, and xenobiotics.	Tapner, Hepatology, 1996, 24, 367

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
P450 isoform CYP4A Cytochrome P450, subfamily IVA, polypeptide 11 Hormone/ Hormone metabolism	m: RAW 264.7 MO	IFN- γ + LPS (d)	Cytochromes p450 are a group of heme-thiolate monooxygenases. In liver microsomes, this enzyme is involved in an NADPH-dependent electron transport pathway. It oxidizes a variety of structurally unrelated compounds, including steroids, fatty acids, and xenobiotics. CYP4A is a membrane bound ER-Protein. It catalyze the omega- and (omega-1)-hydroxylation of various fatty acids such as laurate, myristate and palmitate. It has little activity towards prostaglandins a1 and e1.	Nakamura, Biochim Biophys Acta, 1998, 1385, 101
P450ssc Cytochrome P450 side-chain cleavage enzyme Cholesterol side-chain cleavage enzyme Hormone/ Hormone metabolism	a) f: Leydig cells b) p: primary Leydig cells	a) hCG (u) + IFN- γ (f) b) IFN- γ (d)	P450ssc is a steroidogenic enzyme, converts cholesterol to pregnenolone. It is located at the inner mitochondrial membrane and is involved in steroidogenesis. The cholesterol side-chain cleavage reaction catalyzed by cytochrome P450ssc comprises three consecutive monooxygenase reactions that produce pregnenolone. The electron equivalents necessary for the oxygen activation are supplied from a 2Fe-2S type ferredoxin, adrenodoxin. Its regulation is through the decrease of the mRNA level.	a) Lin, Endocrinology, 1998, 139, 2217 b) Orava, Mol Endocrinol, 1993, 3, 887
p47-phox Respiratory burst Antimicrobial	h: a) mature neutrophils, monocytes b) promyelocytic leukemia HL-60 and ML3	a) IFN- γ + TNF- α (d) b) IFN- γ + TNF- α (u)	Component of the respiratory burst oxidase. Involved in the production of superoxide and related radicals. Cytosolic component.	
p53 Tumor protein p53 Proliferation Apoptosis Transcription factor	a) h: mammary epithelial cells MECs; bronchial epithelial cells b) h: epidermal keratinocytes c) m: primary cultured hepatocytes of IRF-1 deficient mice	a) IFN- γ (d) b) IFN- γ (u) c) IFN- γ (u)	p53 is an tumor suppressor gene and induces cell growth arrest or apoptosis depending on the physiological circumstances or cell type. It negatively acts in cell cycle regulation by regulating the expression and activity of several transcription factors, such as the induction of p21Waf1/Cip1. The p53 mediated apoptosis induction seems to be occur either by stimulation of Bax and Fas antigen expression, or by repression of Bcl-2 expression.	a) Harvat, Cell Growth Differ, 1996, 7, 289 Saunders, Am J Respir Cell Mol Biol, 1994, 11, 147 b) Arany, In Vivo, 1997, 11, 157 Arany, In Vivo, 1996, 10, 405 Kano, J Biochem Biophys Res Commun, 1999, 257, 672 Kano, J Biochem, 1997, 121, 677
p67-phox Respiratory burst Antimicrobial	h: promyelocytic cell lines	IFN- γ + TNF- α (u)	Component of the respiratory burst oxidase. Involved in the production of superoxide and related radicals. Cytosolic component.	
PA28 α Proteasome activator 28 subunit- α IFN- γ upregulated I-5111 protein (IGUP I-5111); REG α Antigen processing	various cell types of different origin	IFN- γ (u)	MHC class I accessory molecule. Proteasome regulator. Inducible supernumerary proteasome component. PA28 is a proteasome activator composed of homologous alpha- and beta-subunits and predominantly found in the cytosol. PA28 increases the ability of the proteasome to perform double endopeptidase cleavages, thus enhancing yield of peptides of size and structure optimal for TAP transport and MHC class I loading.	Realini, J Biol Chem, 1994, 269, 20727 Am, FEBS Lett, 1993, 336, 37 Hoyt, J Biol Chem, 1993, 268, 421 Hoyt, Eur J Biochem, 1993, 218, 421 Shaw, Electrophoresis, 1999, 20, 984 Der, PNAS, 1998, 95, 15623 Tanahashi, Genes Cells, 1997, 2, 195
PA28 β Proteasome activator 28 subunit- β ; REG β Antigen processing	various cell types of different origin	IFN- γ (u)	MHC class I accessory molecule. Proteasome regulator. Inducible supernumerary proteasome component. PA28 is a proteasome activator composed of homologous alpha- and beta-subunits and predominantly found in the cytosol. PA28 increases the ability of the proteasome to perform double endopeptidase cleavages, thus enhancing yield of peptides of size and structure optimal for TAP transport and MHC class I loading.	Ahn, FEBS Lett, 1995, 266, 37 Shaw, Electrophoresis, 1999, 20, 977 Zalss, J Mol Biol, 1999, 287, 829 Tanahashi, Genes Cells, 1997, 2, 195
PA28 γ Proteasome activator 28 subunit- γ ; KI antigen; REG γ Antigen processing	a) h: ? b) m: H6 hepatoma cells	a) IFN- γ (d) b) IFN- γ (u)	In contrast to PA28 α or PA28 β , PA28 γ is predominantly localized in the nucleus. Recombinant PA28 γ stimulates the proteasome-mediated hydrolysis of synthetic substrates containing hydrophobic, basic, and acidic amino acids in the P1 position. Stimulation is dependent on substrate size. PA28 γ may facilitate the later stages of protein metabolism in the nucleus and/or have a more specialized role in controlling the levels of biologically active peptides in the nucleus. The IFN- γ mediated downregulation of PA28 γ did not affect the mRNA level, nevertheless IFN- γ causes nearly a complete loss of PA28 γ protein. The IFN- γ mediated upregulation of PA28 γ was transient and weaker than for PA28 α or PA28 β .	a) Tanahashi, Genes Cells, 1997, 2, 195 b) Ahn, FEBS Lett, 1995, 266, 37
Pancreatitis associated protein I (PAP I) Acute phase	r: pancreatic acinar cell line AR-42J	IFN- γ (u), TNF- α (u)	Exocrine pancreatic protein, increases rapidly and strongly in acinar cells during the acute phase of pancreatitis; constitutively expressed by epithelial cells of the intestinal tract. Regulation: increased mRNA level; two IL-6 response elements within the PAP I promoter.	Dusetti, J Biol Chem, 1995, 270, 22417
PD-ECGF/TP Platelet derived endothelial cell growth factor/thymidine phosphorylase Growth factor Chemoattractant	a) h: normal endometrial epithelial cells b) h: normal endometrial stromal cells	a) IFN- γ + TNF- α (u) b) IFN- γ (u)	PD-ECGF is an angiogenic enzyme it may have a role in maintaining the integrity of the blood vessels. It has growth promoting activity on endothelial cells, angiogenic activity <i>in vivo</i> and chemotactic activity on endothelial cells <i>in vitro</i> . It catalyses the reversible phosphorylation of thymidine. The produced molecules are then utilized as carbon and energy sources or in the rescue of pyrimidine bases for nucleotide synthesis.	Zhang, Endocrinology, 1997, 136, 4921
PDGF- α Platelet derived growth factor- α Growth factor Chemoattractant	a) h: vascular endothelial cells b) m: EF derived from Start- mice c) m: vascular smooth muscle cells	a) IL-1 β (u), TNF- α (u)+IFN- γ (f) b) IFN- γ (u) c) IFN- γ (u)	PDGF is composed of two distinct polypeptide chains that form homo- or heterodimers. It acts as a potent mitogen for cells of mesenchymal origin. Binding of this growth factor to its affinity receptor elicits a variety of cellular responses. It is released by platelets, endothelial cells, and smooth muscle cells. Furthermore it is released by endothelial cells and placenta. PDGF stimulates fibroblast, connective tissue, glial and smooth muscle cell proliferation. It is chemotactic for fibroblasts, smooth muscle cells and possibly also for M0 and stimulates fibroblast-mediated tissue contraction. PDGF induces the expression of a variety of proto-oncogenes, like fos, myc and jun.	a) Suzuki, Am J Pathol, 1989, 134, 35 b) Ramana, PNAS, 2001, 98, 9674 c) Tellez, Nature, 2000, 405, 207

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
PDGF-β Platelet-derived growth factor-β; c-sis	a) h: vascular endothelial cells b) h: alveolar M0	a) (IL-1β (u), TNF-α(u) + IFN-γ (f) b) IFN-γ (u)	PDGF is composed of two distinct polypeptide chains that form homo- or heterodimers. It acts as a potent mitogen for cells of mesenchymal origin. Binding of this growth factor to its specific receptor elicits a variety of cellular responses. It is released by platelets upon wounding and plays an important role in stimulating adjacent cells to grow and thereby heal the wound. Furthermore it is released by endothelial cells and placenta. PDGF stimulates fibroblast, connective tissue, glial and smooth muscle cell proliferation. It is chemotactic for fibroblasts, smooth muscle cells and possibly also for M0 and stimulates fibroblast-mediated tissue contraction. PDGF induces the expression of a variety of proto-oncogenes, like fos, myc and jun.	a) Suzuki, Am J Pathol, 1989, 134, 35 b) Wangoo, Clin Exp Immunol, 1993, 94, 43
Growth factor Chemottractant Oncogene				
Pentraxin 3 (TX3); TNF-stimulated gene 14 (TSG-14)	a) h: fibrosarcoma cell line HT1080; rheumatoid arthritis b) m: peritoneal M0 c) m: EF derived from Stat1 deficient mice	a) IFN-γ (d), TGF-β (d) b) LPS (u) + IFN-γ (f) c) IFN-γ (d)	Pentraxin 3 is a secreted glycoprotein whose carboxy-terminal half shares sequence similarity with the pentraxin family of acute phase proteins (C-reactive protein and serum amyloid P component). The IFN-γ mediated inhibitory effect was independent of protein translation and the inhibition occurs also in cells from STAT1 null mice, suggesting and unconventional inhibitory mechanism of IFN-γ on Pentraxin 3 expression. The STAT1 independent down-regulation by IFN-γ was further confirmed in c).	a) Der, PNAS, 1998, 95, 15623 Pichetti, Clin Exp Immunol, 2000, 119, 496 Pichetti, Clin Exp Immunol, 2000, 128, 496 b) Goodman, J Leukoc Biol, 2000, 67, 387 c) Ramana, PNAS, 2001, 98, 6674
Acute phase				
Perlecan heparan sulfate proteoglycan 2 (perlecan); PLC	h: colon carcinoma cells	TGF-β (u) + IFN-γ (f)	This protein is an integral component of basement membranes. It is responsible for the fixed negative electrostatic charge and is involved in the charge-selective ultrafiltration properties. It interacts with other basement membrane components such as laminin and collagen type IV and serves as an attachment substrate for cells.	Sharma, J Biol Chem, 1998, 273, 4642
Extracellular matrix				
PGE2	h: monocytes; M0	ConA (u) + IFN-γ (f)	PEG2 is a receptor for prostaglandin e2. The activity of this receptor is mediated by G-S proteins that stimulates adenylate cyclase. The subsequent raise in intracellular cAMP is responsible for the relaxing effect of this receptor on smooth muscle.	Wahl, J Periodontol, 1993, 64, 467
Hormone/ Hormone metabolism				
PHLDA1 Pleckstrin homology-like domain, family A, member 1; T-cell death associated gene 51 (TDAG51); DT1P1B11	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN-γ (u), IFN-β (u)	PHLDA1 has been shown to be required for T-cell receptor dependent induction of Fas/Apo1/CD95 expression <i>in vitro</i> . This result could not be confirmed <i>in vivo</i> , as homologues may substitute the PHLDA1 function. It was suggested that PHLDA1 couples TCR signaling to inhibition of protein biosynthesis in activated T-cells, thus it may play a role in ribosome biogenesis and/or translation regulation.	Der, PNAS, 1998, 95, 15623
Apoptosis ? Translation ?				
Phospholipase A2 (PLA2); Phosphatidylcholine 2-acetylhydrolase, Group II phospholipase A2	a) h: neuroblastoma cell line; bronchial epithelial cell line BEAS-2B b) m: BALB/c 3T3 fibroblasts	a) IFN-γ (u), IFN-β (u), IFN-α (u) b) IFN-γ (u), IFN-β (u), IFN-α (u)	PLA2 preferentially catalyzes the hydrolysis of phospholipids, resulting in the production of free fatty acids and lysophospholipids, that partially act as lipid mediators of inflammation. Regulation: primary response gene, independent of <i>de novo</i> protein synthesis.	a) Wu, J Clin Invest, 1994, 93, 571 b) Ponzoni, Biochem J, 1993, 294, 893 Ponzoni, FEBS Lett, 1992, 310, 17
Lipid transport/metabolism Inflammation				
Phospholipid scramblase 2 (PLSC2); PL scramblase	m: EF derived from Stat1 ^{-/-} mice	IFN-γ (d)	PL scramblase 2 mediates Ca ²⁺ -dependent transbilayer movement of lipid.	Ramana, PNAS, 2001, 98, 6674
Lipid transport/metabolism Apoptosis				
Phospholipid scramblase (PLSCR)	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN-γ (u), IFN-β (u), IFN-α (u)	PLSCR belongs to the type II membrane protein family and may mediate accelerated ATP-independent bidirectional transbilayer migration of phospholipids upon binding calcium ions that results in a loss of phospholipid asymmetry in the plasma membrane. It may play a central role in the initiation of fibrin clot formation, in the activation of mast cells and in the recognition of apoptotic and injured cells by the reticuloendothelial system.	Der, PNAS, 1998, 95, 15623
Apoptosis Extracellular matrix				
pim-1 proto-oncogene	h: M07e cell line m: bone marrow derived M0; bone marrow derived M0 from STAT1 deficient mice	IFN-γ (u)	pim-1 is a cytoplasmic protein serine/threonine kinase, involved in proliferation and induced by myeloid cytokines. In mice, pim-1 is frequently activated by provirus insertion in murine leukemia virus-induced T-cell lymphomas. The human promoter contains GAS sequence and <i>de novo</i> protein synthesis is not needed for the IFN-γ mediated up-regulation. Studies using STAT1 deficient mouse M0, showed that the up-regulation occurs by an STAT1 independent mechanism.	Yip-Schneider, Blood, 1995, 85, 3494 Gil, PNAS, 2001, 98, 6680
Transcription Factor Transcriptional activator Oncogene				
PIP2 immediate early response 2 (IER2)	m: EF derived from Stat1 ^{-/-} mice	IFN-γ (u)	The function is unknown.	Ramana, PNAS, 2001, 98, 6674
Unclassified				
PKR dsRNA-activated protein kinase; p68 kinase	various cell types of different origin	IFN-γ (u), IFN-α (u), IFN-β (u)	PKR is a serine/threonine kinase, that phosphorylates and inactivates the α-subunit of eukaryotic initiation factor 2 (eIF2) leading to the inhibition of translation initiation factor recycling and resulting in a decrease in total cellular protein synthesis. PKR also phosphorylates IκB, resulting in activation of NFκB. PKR acts furthermore as a signal transducing kinase for interferon-stimulated genes dependent on the transcription factors IRF-1 and NFκB. May also be involved as a regulator of apoptosis. The IFN type I mediated upregulation of PKR is stronger than by type II. The TATA-box less promoter contains an ISRE element and a unique KCS element.	Kumar, EMBO J, 1997, 16, 406 Hovanessian, Virology, 1993, 4, 237 Tanaka, PNAS, 1994, 91, 7995 Beretta, Oncogene, 1996, 12, 1593 Yang, EMBO J, 1995, 14, 6095 Kuhlen, J Virol, 1998, 72, 9934
Antiviral Signal transduction Translation				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
PML Promyelocytic leukemia protein; TRIM19	a) m: various cell types b) h: fibro sarcoma cell line HT1080	a) IFN- γ (u), IFN- β (u), IFN- α (u) b) IFN- γ (u), IFN- β (u), IFN- α (u)	Nuclear dot (ND, ND10, nuclear bodies, POD, Kr bodies) associated protein, PML, is closely associated with Isp20, Sp140 and Sp100 within large nuclear matrix-associated multiprotein complexes. Nuclear dots may be preferential targets for viral infection and thus could play a mechanistic role in the antiviral action of IFNs. Additionally, PODs have been implicated in transcriptional regulation, apoptosis, maintenance of genomic stability and telomere length by a telomerase independent process, p53 acetylation and p53-dependent cellular senescence upon oncogene expression. PML is a specific target for adenovirus and herpes simplex virus. PML deficient mice show normal resistance to viral infection conferred by IFN- α . mRNA and protein levels are upregulated after stimulation. Upregulation is protein-synthesis independent (primary response gene). Synergistically activated by type-I and type-II IFN.	a) Crotzinger , Eur J Biochem, 1996, 238, 554 Layau , Oncogene, 1995, 11, 871 b) Der , PNAS, 1988, 95, 15623 Chelbi-Alix , Leukemia, 1995, 9, 1027-33
Nuclear dot associated Transcription regulator Antiviral Apoptosis				
PNAd Periphal lymph node addressin; MECA-79 antigen	m: pancreas of Ins-IFN- γ mice and Ins-IFN- γ /SCID mice	IFN- γ (u) (in vivo)	Ligand for L-selectin. PNAd is required for lymphocyte homing to peripheral lymph nodes.	Lee , J Immunol, 1994, 152, 4597
Cell migration Selectin ligand				
Poly (ADP-ribose) polymerase PARP: ADPRT; NAD⁺ ADP-Ribosyltransferase; Poly (ADP-ribose) synthetase	a) m: M0 tumor cell line P388D1 b) h: fibro sarcoma cell line HT1080	a) IFN- γ (d) b) IFN- γ (u), IFN- β (u)	The nuclear protein PARP modifies various nuclear proteins by poly (ADP-ribose) ation. Modification is dependent on DNA and is involved in the regulation of different cellular processes, like differentiation, proliferation, tumor transformation and also in the regulation of the molecular events involved in the recovery of cell from DNA damage.	a) Taniguchi , Eur J Biochem, 1988, 171, 571 b) Der , PNAS, 1988, 95, 15623
Proliferation				
Poly(cystic kidney disease 1 protein (PKD1)	h: fibro sarcoma cell line HT1080	IFN- γ (d)	PKD1 and PKD2 may function through a common signalling pathway that is necessary for normal tubulogenesis. They are involved in adhesive protein-protein and protein-carbohydrate interactions.	Der , PNAS, 1988, 95, 15623
CAM Extracellular matrix				
PPP3CA protein phosphatase 3 (formerly 2B), catalytic subunit (calcineurin A, alpha) PPP2B;CNA1; CCN1; CALN; CALNA	h: fibro sarcoma cell line HT1080	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (d)	PPP3CA is a calcium-dependent, calmodulin-stimulated protein phosphatase. This subunit may have a role in the calmodulin activation of calcineurin.	Der , PNAS, 1988, 95, 15623
Unclassified				
PR 264 Splicing factor arginine/serine-rich 2; Splicing factor sc35; Splicing component 35kDa (SC35)	h: fibro sarcoma cell line HT1080	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u)	PR 264 is a RNA binding protein. It is necessary for the splicing of pre-mRNA. It is required for formation of the earliest ATP-dependent splicing complex and interacts with spliceosomal components bound to both the 5' and 3' splice sites during spliceosome assembly. It also is required for ATP-dependent interactions of both U1 and U2 snmps with pre-mRNA. Interacts with other spliceosomal components, via the RS domains, to form a bridge between the 5' and 3' splice site binding components, U1 snmp and U2AF.	Der , PNAS, 1988, 95, 15623
Transcription regulator RNA				
PRAME Preferentially expressed antigen of melanoma; OIP4; IMAPE	h: fibro sarcoma cell line HT1080	IFN- γ (u)	PRAME was identified as a melanoma antigen recognized by cytotoxic T-cells (CTLs) and found to be expressed in a variety of cancer cells including leukaemic cells. It belongs to the MAGE family and is a tumor antigen recognized by cytolytic T-cells.	Der , PNAS, 1988, 95, 15623
Unclassified				
Procollagen type α(I) COL1A1	a) h: lung fibroblasts b) h: skin fibroblasts	a) IFN- γ (d) b) IFN- γ (d), TGF- β (u), IFN- γ + TNF- α (dd)	Extracellular matrix component. Type I collagen is the major structural component of the connective tissue of the skin and other organs. Excessive accumulation results in fibrosis. It has to be tightly regulated by history and inhibitory signals. The IFN- γ mediated downregulation is due to a decreased transcription rate and a decreased mRNA stability. The repression in skin fibroblasts is mediated through a proximal promoter segment (contains Sp1, Sp3 and NF-1 binding sites), that has no homology to previously characterized ISREs.	a) Diaz , Int J Biochem Cell Biol, 1997, 29, 251 Rockey , Hepatology, 1992, 16, 78 Law , Invest Ophthalmol Vis Sci, 1991, 32, 2964 Chakar-Burgholtz , J Dermatol Sci, 1991, 2, 300 Czaja , J Biol Chem, 1997, 262, 13346 Hwang , J Biol Chem, 1997, 262, 13346 Granzstein , J Invest Dermatol, 1990, 95, 75S Granzstein , J Invest Dermatol, 1990, 95, 75S b) Yuan , J Cell Physiol, 1999, 179, 97
Extracellular matrix				
Procollagen type α1(III) COL3A1	h: fibroblasts	IFN- γ (d)	Extracellular matrix component. The IFN- γ mediated downregulation is due to a decreased transcription rate and decreased mRNA stability.	Diaz , Int J Biochem Cell Biol, 1997, 29, 251 Czaja , J Biol Chem, 1997, 262, 13346 Parrop , J Surg Res, 1993, 56, 71 Granzstein , J Invest Dermatol, 1990, 95, 75S
Extracellular matrix				
Procollagen type α1(IV) COL4A1	r: hepatic lipocytes	IFN- γ (d), TGF- β (u), TNF- α (u), IL-1 α (u)	Extracellular matrix component. COL4A1 is an interstitial connective tissue protein, released during wound healing and inflammation.	Rockey , Hepatology, 1992, 16, 776 Low , Invest Ophthalmol Vis Sci, 1991, 32, 2964
Extracellular matrix				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
Procollagen type $\alpha 1(XVI)$ COL16A1	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN- γ (u), IFN- α (u)	COL16A1 is an extracellular matrix component. Numerous interruptions in the triple helix may make it either elastic or flexible.	Der, PNAS, 1998, 95, 15623
Extracellular matrix				
Procollagen type $\alpha 1(XVII)$ COL17A1; Endostatin	m: EF derived from Stat1 ^{-/-} mice	IFN- γ (d)	Extracellular matrix component. Endostatin potently inhibits endothelial cell proliferation and angiogenesis. It may inhibit angiogenesis by binding to the heparan sulphate proteoglycans involved in growth factor signalling.	Ramana, PNAS, 2001, 98, 8674
Extracellular matrix				
Proliferation				
Procollagen type $\alpha 2(I)$ COL1A2	h: fibroblasts	IFN- γ (d), TGF- β (u)	Extracellular matrix component. Type I collagen is the major structural component of the connective tissue of the skin and other organs. Because its expression accumulates in tumor tissues it has to be tightly regulated by stimulatory and inhibitory signals. IFN- γ abrogates the COL1A2 stimulation by TGF- β . This abrogation occurs via competition between IFN- γ activated Stat-1 α and TGF- β activated Smad3 for interaction with limiting amounts of cellular p300/CBP. The COL1A2 promoter region contains an ISRE element.	Ghosh, J Biol Chem, 2001, 15, 11041 Higashi, Matrix Biol, 1998, 16, 447
Extracellular matrix				
Prohormone convertase-1	r: pancreatic β - cells	IL-1 β + IFN- γ (d)	Prohormone convertase-1 belongs to the peptidase family S8, also known as the SUBTILASE family. Furin subfamily. It is involved in the processing of hormone and other protein precursors at sites comprised of pairs of basic amino acid residues.	Cardozo, Diabetes, 2001, 50, 909
Hormone/ Hormone metabolism				
Proliferating cell nuclear antigen (PCNA)	h: mammary epithelial cells MECs; renal carcinoma cell line TC-1	IFN- γ (d)	PCNA is a cell-cycle regulated nuclear protein and an auxiliary protein of DNA polymerase- δ or ϵ . It is involved in the control of eukaryotic DNA replication by increasing the polymerase's processibility during elongation of the leading strand.	Harvat, Cell growth Differ, 1996, 7, 289 Hall, Anticancer Res, 1996, 16, 1755
Proliferation				
DNA				
Prolyl 4-Hydroxylase (P4HA)	h: dermal fibroblasts (Systemic sclerosis patients)	IFN- γ (d), TNF- α (u), TGF- β (u)	Prolyl 4-Hydroxylase catalyzes the formation of 4-hydroxyproline in procollagens and is involved in collagen maturation.	Kawaguchi, J Rheumatol, 1992, 19, 1195
Extracellular matrix				
Proteasome subunit C3	h: ME-180 cervical carcinoma cells	IFN- γ + TNF- α (u)	C3 is a constitutive proteasome subunit, involved in protein degradation.	Matsui, Electrophoresis, 1997, 18, 409
Antigen processing				
Protein Kinase C inhibitor-1 (PKC1-1); Histidine triad nucleotide-binding protein (HINT); PRKCNH1	h: reanal carcinoma cell line ACHN	IFN- γ (u), IL-4 (u)	PKC1-1 is an intracellular receptor for purine mononucleotides. It possesses an enzymatic activity for cleaving ADP into AMP and inorganic phosphate. It may be also involved in anti-proliferative effects of IFN- γ .	Sullivan, Cancer Res, 1997, 57, 1137
Proliferation ?				
Protein phosphatase 5 (PPP5C); Serine/threonine protein phosphatase 5; Proteinphosphatase t (pp-t)	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN- γ (u), IFN- β (u)	PPP5C localizes in the nucleus but also in the cytoplasm. It may play a role in the regulation of RNA biogenesis and/or mitosis.	Der, PNAS, 1998, 95, 15623
Proliferation				
Proton-ATPase-like-protein (ATP6F); ATPase, H ⁺ transporting, lysosomal (vacuolar proton pump) 21kD	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN- γ (u), IFN- α (u)	ATP6F is a proton-conducting pore forming subunit of the membrane integral ν_0 complex of vacuolar ATPase. V-ATPase is responsible for acidifying a variety of intracellular compartments in eukaryotic cells.	Der, PNAS, 1998, 95, 15623
Unclassified				
PRP8	m: bone marrow derived MO from Stat1 ^{-/-} mice	IFN- γ (u)	The function is unknown	Gil, PNAS, 2001, 98, 6680
Unclassified				
PrP ^{Sc} Cellular prion-related protein	h: peripheral blood CD14 ⁺ monocytes; keratinocytes	IFN- γ (u)	The cellular isoform of the prion protein is a cell surface glycoprotein that has been shown to play a role in haemopoietic cell activation and proliferation. IFN- γ increased the expression in a time- and dose dependent manner. CHX partially abrogates this effect, indicating the role of protein synthesis in this process.	Durig, Br J Haematol, 2000, 108, 488 Pammer, An J Pathol, 1998, 153, 1353
Proliferation				
PTH-related protein (PTHrP)	m: spleen	(TNF- α (u), IL-1 β (u), LPS (u)) + IFN- γ (d)	PTHrP plays a physiological role in lactation, possibly as a hormone for the mobilization and/or transfer of calcium to the milk.	Funk, Endocrinology, 1994, 135, 351
Hormone/ Hormone metabolism				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
PUMA-G Protein upregulated in macrophages by IFN- γ	m: M0	IFN- γ (u)	PUMA-G is a member of the seven transmembrane GPCR superfamily. It has high similarity to the human orphan GPCR HM74. It is specifically upregulated in M0, no upregulation was observed in fibroblasts.	Schaub, Eur J Immunol, 2001, 31, 3714
Unclassified				
Pyruvate dehydrogenase-like protein (PDK4)	m: EF derived from Stat1 ^{-/-} mice	IFN- γ (u)	It inhibits the mitochondrial pyruvate dehydrogenase complex by phosphorylation of the e1 alpha subunit, thus contributing to the regulation of glucose metabolism.	Ramana, PNAS, 2001, 98, 6674
Unclassified				
R24 antigen MMA	h: melanoma cells	IFN- γ (d)	The function is unknown.	Mortarini, Int J Cancer, 1990, 45, 334
Antigen Unclassified				
Rab3A GTPase	r: pancreatic β - cells	IL-1 β + IFN- γ (d)	Rab3a is similar to the ras proteins. It belongs to the Rab subfamily that generally functions in regulating of vesicle trafficking. Rab3a is involved in regulated secretion and plays a key role in Ca ²⁺ dependent exocytosis, particularly in neurotransmitter release from nerve terminals.	Cardozo, Diabetes, 2001, 50, 909
Rab5A Antimicrobial GTPase	h: mononuclear cells	IFN- γ (u)	Rab5a is GTPase involved in endocytosis and phagocytosis. Rab5a is an isoform of Rab5. IFN- γ induces at least two Rab5a functions. Rab5a prenylation activity and Rab5a guanine nucleotide exchange activity. Active Rab5a causes remodeling of the phagosomal environment, facilitates the translocation of Rac2 to LM phagosomes and regulates the activity of this G-Protein. Rac2 activation and translocation governs the phagocyte NADPH oxidase activity and the consequent reactive oxygen intermediate production that leads to killing of the pathogen.	Alvarez-Dominguez, J Biol Chem, 1998, 273, 20990 Prada-Delgado, J Biol Chem, 2001, 276, 19059
Raf-1 kinase Raf-1	m: NIH 3T3	IFN- γ (d), IFN- β (d), IFN- α (d)	Antiproliferative effect. Regulation: inhibition of PKC-dependent (not PKC-independent) activation of Raf-1.	Xu, Mol Cell Biol, 1994, 14, 8018 Xu, Blood, 1995, 86, 2774
Proliferation LPS response				
RAP46 Glucocorticoid receptor-associated protein Bag-1; BCL2-associated athanogene 1	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN- γ (u), IFN- β (u), IFN- α (u)	RAP46 inhibits the chaperone activity of Hsc70/Hsc70 by promoting substrate release. It has anti-apoptotic activity and markedly increases the anti-cell death function of Bcl-2 induced by various stimuli.	Der, PNAS, 1998, 95, 15623
Apoptosis				
Retinal S-antigen Unclassified	h: retinoblastoma cell line Y-79	IFN- γ (u)	Neutral, photoreceptor cell protein involved in vision, binds to photoactivated-phosphorylated rhodopsin preventing the transducin-mediated activation of phosphodiesterase.	Hoeks, J Neuroimmunol, 1990, 26, 245 Deirick, Invest Ophthalmol Vis Sci, 1991, 32, 1714
Unclassified				
Retinal short-chain dehydrogenase/reductase (Rsdrl1-pending); retSDR1	m: EF derived from Stat1 ^{-/-} mice	IFN- γ (d)	The function is unknown.	Ramana, PNAS, 2001, 98, 6674
Unclassified				
Retinal taurine transporter; solute carrier family 6 (neurotransmitter transporter, taurine), member 6	a) m: bone marrow derived M0 from Stat1 ^{-/-} mice b) r: pancreatic β -cells	a) IFN- γ (u) b) IL-1 β +IFN- γ (d)	This transporter is required for the uptake of taurine.	Gil, PNAS, 2001, 98, 6680 Cardoso, Diabetes, 2001, 50, 909
Unclassified				
Retinoblastoma protein p130; pRB130 Proliferation	h: epidermal keratinocytes	IFN- γ (u)	Cyclins associate with and positive regulate cyclin-dependent kinases (cdk) that act as proliferative proteins. cdk5 are negatively regulated by phosphorylation or by association with inhibitory proteins, known as cdk inhibitors (ckis), that act as antiproliferative proteins. p130 binds to cyclins A and E and is a potent inhibitor of E2F-mediated trans-activation.	Harvat, J Invest Dermatol, 2001, 117, 1274
Retinoblastoma protein pRB Proliferation	h: renal carcinoma cell line TC-1	IFN- γ (d)	Cyclins associate with and positive regulate cyclin-dependent kinases (cdk) that act as proliferative proteins. cdk5 are negatively regulated by phosphorylation or by association with inhibitory proteins, known as cdk inhibitors (ckis), that act as antiproliferative proteins. pRBs bind to cyclins A and E and are potent inhibitors of E2F-mediated trans-activation.	Hall, Anticancer Res, 1996, 16, 1755
Retinoblastoma susceptibility protein (RB1) Transcription factor Proliferation	m: bone marrow derived M0 from Stat1 ^{-/-} mice	IFN- γ (d)	RB1 is a transcription regulator involved in cell growth and/or maintenance. It forms a complex with adenovirus E1A and with sv40 large T-antigen. It acts as a tumor suppressor and may bind and modulate functionally certain cellular proteins with which T and E1A compete for pocket binding. RB1 is a potent inhibitor of ezr-mediated trans-activation and interacts preferentially with transcription factor ezr1.	Gil, PNAS, 2001, 98, 6680

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
Retinoblastoma-binding protein 4 (RBBP4) Proliferation DNA	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN- γ (u), IFN- β (u), IFN- α (u)	The RBBP4 complex that assembles histone octamers onto replicating DNA <i>in vitro</i> . It performs the first step of the nucleosome assembly process, bringing newly synthesized histones H3 and H4 to replicating DNA. Histones H2a/H2b can bind to this chromatin precursor subsequent to DNA replication to complete the histone octamer. p48 can bind to histone H4 in the absence of RBBP4 p150 and p160. It is also a known subunit of a histone deacetylase.	Der, PNAS, 1998, 95, 15623
Retinoic acid receptor- β (RAR- β) Apoptosis Proliferation	?; tongue squamous carcinoma cell line Tca8113	IFN- γ (u), retinoic acid (u)	Interferons and ATRA have been proven to synergistically amplify growth inhibition and apoptosis in Tca8113 cells. RAR- β was the key gene that mediated retinoid activity for squamous carcinoma cells. ATRA and IFN- γ mediated upregulation of RAR- β may play an important role in synergistic inhibition of proliferation in Tca8113 cells.	Chen, Chin J Dent Res, 1999, 2, 25
Retinoid X receptor- α (RXR- α) Proliferation	h: keratinocytes	IFN- γ (u)	IFN- γ is a potent inducer of keratinocyte differentiation. Nuclear receptor whose expression seems to be associated with the differentiation state of keratinocytes (expressed only in differentiated keratinocytes).	Segaert, J Invest Dermatol, 2000, 114, 494
RhoB Apoptosis ras-related homolog B (Arhb) Signal transduction Cytoskeleton GTPase	m: EF derived from Stat1 ⁺ mice	IFN- γ (u)	Rho-B is an GTP-binding protein that regulates a signal transduction pathway linking plasma membrane receptors to the assembly of focal adhesions and actin stress fibers. Rho proteins regulate actin cytoskeletal organization, secretion, pinocytosis and clathrin coat-mediated endocytosis, transcriptional activation and stimulation of DNA synthesis. In addition, they might play a role in cell transformation.	Ramana, PNAS, 2001, 98, 6674
RhoC GTPase Signal transduction Cytoskeleton GTPase	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN- γ (u)	RhoC regulates a signal transduction pathway linking plasma membrane receptors to the assembly of focal adhesions and actin stress fibers. Rho proteins regulate actin cytoskeletal organization, secretion, pinocytosis and clathrin coat-mediated endocytosis, transcriptional activation and stimulation of DNA synthesis. In addition, they might play a role in cell transformation.	Der, PNAS, 1998, 95, 15623
RIG-E Retinoic acid-induced gene E protein; 9804 gene CAM Signaling Lymphocyte activation	h: monocytic cell line U-937, peripheral blood mononuclear cells	IFN- γ (u), IFN- α (u)	RIG-E is the human homologue of Ly-6 genes and is most similar to Ly-6E. Ly-6 molecules are a family of GPI-anchored cell surface glycoproteins that belong within a superfamily that includes CD59, urokinase receptor (uPAR) and the sperm Ag SP10. The biologic role for Ly-6 molecules is not well understood but mounting evidence that they participate in intercellular adhesion and signaling. RIG-E, Spt1 and retinoic acid response elements (RARE).	Shan, J Immunol, 1998, 160, 197
RIG-G Retinoic acid-induced gene G protein; interferon induced protein with tetraatricopeptide repeats 4 (IFIT4); ISG60; IFI60; CIG-49 Unclassified	h: fibrosarcoma cell line HT1080; breast cancer cell lines T474D and MDA-MB-231	IFN- γ (u), IFN- β (u), IFN- α (u)	RIG-G shows high homology to ISG-54K and ISG-56K and is probably not a human homologue of the Ly6 genes as it was suggested for RIG-E. RIG-G is localized in the cytoplasm, with an enhancement in the perinuclear region and was suggested to play a role in the cytosolic signal transduction network. The promoter region contains an ISRE and several putative GAS elements.	Der, PNAS, 1998, 95, 15623 Yu, PNAS, 1997, 94, 7406
RNA helicase A Transcription ? Cell cycle ? Proliferation ? RNA	see remark	see remark	RNA helicase A unwinds double-stranded DNA and RNA in a 3' to 5' direction. It generates multiple secondary structures that influence RNA-binding proteins. The RNA helicase A inducibility was not shown, but the TATA-box less promoter region contains putative ISRE.	Lee, Genomics, 1998, 47, 365
RNF21 RING finger protein 21; interferon-responsive finger protein1 (ifp1) Transcription factor	h: HeLa cells	IFN- γ (u), IFN- α (u)	Member of the RBCC-B30.2 protein family containing the RING finger-B box-coiled coil domain and the B30.2 domain. RNF21 interacts with Stat6, Rb and Sp1. The RNF21 protein consists of at least 3 domains. The B30.2 domain is strongly up-regulated by IFN type I and type II.	Orlino, Genomics, 2000, 69, 143
RNU1P Rat isoprenylated 67 kDa protein GTPase p65 family	r: bone marrow-derived M0; microglia	IFN- γ (u), LPS (u)	Rat member of the p65 GTPase family. p65 GTPases have the unusual property to bind to GTP, GDP, GMP with equal affinities and to hydrolyze GTP into GDP and GMP. p65 GTPases are biochemically and structurally related to the Dynammin-family (like Mx GTPases).	Vestal, Biochem Biophys Res Commun, 1996, 224, 528
Rpt-1 Regulatory protein T-lymphocyte-1 Transcription factor	m: ?	IFN- γ (u)	Member of the RBCC-B30.2 protein family containing the RING finger-B box-coiled coil domain and the B30.2 domain. Rpt-1 shares homologies to RNF21, Stat50 and SS-A/Ro. Similar to STAT50, Rpt-1 is able to attenuate the expression of the long terminal repeat promoter of HIV type-1.	Congora, J Interferon Cytokine Res, 2000, 20, 955

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
RTEF-1 TEA domain family member 4 (TEAD4); TEF-3; Transcription factor 13 (SV40 transcriptional enhancer factor)-like 1 (TEFR-1); EFTR-2	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN- γ (u), IFN- α (u)	RTEF-1 binds specifically and noncooperatively to the SPH and GT-IIC "enhancers" and activates transcription. It also binds to the m-C AT motif.	Der, PNAS, 1998, 95, 15623
Transcription factor				
S-100 related protein	r: pancreatic β - cells	IL-1 β + IFN- γ (u)	The function is unknown.	Cardozo, Diabetes, 2001, 50, 909
Unclassified				
S-100 β S-100 calcium-binding protein β	r: astrocytes	IFN- γ (u)	S-100 β weakly binds calcium but binds zinc very tightly. Distinct binding sites with different affinities exist for both ions on each monomer. The physiological concentrations of potassium ion antagonize the binding of both divalent cations, especially affecting high-affinity calcium-binding sites.	Kuchinke, Neuroimmunomodulation, 1995, 2, 347
Calcium binding Chemokine ? Inflammation				
S-adenosyl(methionine) decarboxylase (AdoMetDC)	r: pancreatic β - cells	IL-1 β + IFN- γ (d)	AdoMetDC is a ubiquitous enzyme in eukaryotic cells and responds to a wide variety of stimuli affecting growth.	Cardozo, Diabetes, 2001, 50, 909
Unclassified				
S100A4 S-100 calcium-binding protein A4	h: colon adenocarcinoma cells (WiDr); HT-29 cells	IFN- γ (d)	Belongs to the S100 subfamily of EF domain calcium-binding proteins and has been suggested to be directly involved in invasion and metastasis of rodent and human tumor cells. No reduction of the transcription rate but reduced mRNA stability.	Takenaga, Br J Cancer, 1999, 80, 127
Chemoattractant Inflammation				
S100A8 S-100 calcium-binding protein A8; CP-10; MRP8; Calgranulin, Cystic fibrosis antigen	m: M0	IFN- γ (u), TNF- α (u), LPS (u)	S100A8 belongs to the S100 family of EF domain calcium-binding proteins and is a potent chemoattractant for neutrophils and monocytes in mice but may also play a protective role by promoting and modulating inflammatory responses. Deletion of the S100A8 gene is lethal to embryos at mid-gestation when it is expressed by migrating trophoblasts. Increased mRNA levels are due to increased transcription rate. Half-lives of mRNA induced by IFN- γ and TNF- α are similar but markedly shorter than that induced by LPS. PKC and MAP kinase pathways seem to be involved in the regulation of transcriptional events leading to S100A8 gene expression. The promoter region contains C/EBP, NF- κ B, AP-1 and ISRE sequence motifs.	Xu, J Immunol, 2000, 164, 4916 Passey, J Leukoc Biol, 1999, 66, 549 Yen, Blood, 1997, 90, 4812
Chemoattractant Inflammation				
SAP-1 Serum response factor accessory protein-1; ETS-domain protein 4 (ELR-4)	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN- γ (u), IFN- β (u)	SAP-1 forms a ternary complex with the serum response factor (SRF). It requires DNA-bound SRF for ternary complex formation and makes extensive DNA contacts to the 5' side of SRF, but does not bind DNA autonomously.	Der, PNAS, 1998, 95, 15623
Transcription factor ? DNA				
SC (pIgR) Secretory component (polymeric immunoglobulin receptor)	h: Calu-3 airway epithelial cells; HT-29 colon carcinoma cells; bronchial epithelial cells	IFN- γ (u), TNF- α (u), IL-4 (u), IL-4 + IFN- γ (u)	pIgR binds polymeric IgA and IgM at the basolateral surface of epithelial cells. The complex is afterwards transported across the cell to be secreted at the apical surface. During this process a cleavage occurs that separate the extracellular (secretory component) from the transmembrane segment. The promoter region contains three ISRE elements. One of them is bound by IRF-1 (secondary response gene).	Loman, Immunology, 1999, 96, 537 Piskurich, Mol Immunol, 1997, 34, 75 Youngman, J Immunol, 1994, 153, 675 Phillips, J Immunol, 1990, 145, 1740 Sollid, J Immunol, 1987, 138, 4303 Piskurich, Mol Immunol, 1998, 35, 113 Kvale, Scand J Immunol, 1998, 28, 351 Gooding, Eur Respir J, 1998, 11, 1043
Immunoglobulin receptor				
Scaffold protein Pbp1	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN- γ (u), IFN- α (u)	The function is unknown.	Der, PNAS, 1998, 95, 15623
Unclassified				
Scavenger receptor (SCR); Acetyl-LDL receptor; CD36R	a) h: M0 derived foam cells; monocyte derived mature M0 cells; b) aortic smooth muscle	a) IFN- γ (d) b) IFN- γ (u), TNF- α (u) c) IFN- γ (u)	CD36R is an integral membrane protein, functioning as an adhesive receptor for thrombospondin-1 and collagen and as a scavenger receptor for oxidized low density lipoprotein (LDL) and photoreceptor outer segments. The human scavenger receptor A promoter contains a GAS element.	a) Panoulis, J Lipid Res, 2000, 41, 75 Grewal, Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2001, 21, 25 Clegg, J Clin Invest, 1992, 89, 1322 b) Li, J Clin Invest, 1995, 95, 122 c) Swerlick, J Immunol, 1992, 148, 78 Grewal, Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2001, 21, 825
Acute phase Extracellular matrix Lipid transport/metabolism	b) h: dermal microvascular endothelial cells; early differentiation stages of THP-1 and blood monocytes			
SCF Stem cell factor; c-kit ligand; Mast cell growth factor (MGF); Steel factor (SLF)	m: bone marrow stromal cell line α H/-LDA11	IFN- γ (u), IL-1 α (u), LPS (u)	SCF is involved in the development of hematopoietic, gonadal and pigment cell lineages. It has a broad range of activities with direct effects on myeloid and lymphocyte development and strong synergistic effects with other growth factors. SCF is the ligand for the c-kit proto-oncogene. Biologically SCF exists as membrane bound and soluble form.	Gautam, Exp Hematol, 1995, 23, 482
Growth factor				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
Secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC); Osteonectin; Basement protein (BM-40)	h: skin fibroblasts	IFN- γ (d), TGF- β (u)	Expressed at high levels in tissues undergoing morphogenesis, remodeling and wound repair.	Lankat-Butgereit, J Dermatol Sci. 1991, 2, 300
Extracellular matrix				
Secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI)	a) m: peritoneal M0 b) m: M0	a) IFN- γ (d), LPS (u) b) (IL-10 (u), IL-6 (u)) LPS (u) + IFN- γ (f)	SLPI is one of the few genes whose expression in M0 is induced by LPS and suppressed by IFN- γ . SLPI acts as a regulator of inflammation. LPS response inhibitor and lipoteichoic acid response inhibitor. The human SLPI promoter contains two ISRE-sites. IRF-1 represses the gene transcription of SLPI.	Jin, Cell. 1997, 88, 417 Jin, Methods. 1998, 16, 396 Nguyen, Oncogene. 1999, 18, 5455
Inflammation LPS response				
Selenoprotein-P	a) h: ? b) m: bone marrow derived M0	a) IFN- γ (d), IL-1 β (d), TNF- α (d) b) IFN- γ (d)	Acute phase reactants are predominantly synthesized in the liver and their serum levels are increased or reduced already approximately 90 min after the onset of an inflammatory reaction. They function as mediators or inhibitors of inflammation, act as transport proteins for products synthesized during inflammatory processes and/or play an important role in tissue repair and remodeling. Selenoprotein-P might react as a negative acute phase protein. The promoter contains a GAS-element.	a) Dreher, J Biol Chem. 1997, 272, 29364 b) Presti, J Exp Med. 2001, 193, 483
Acute phase				
Serine protease inhibitor (SPI-3)	a) m: pancreatic beta-cells b) m: IRF-1 ⁺ pancreatic beta-cells c) r: hepatoma cells H-35	a) IL-1 β (u) + IFN- γ (f) b) IFN- γ (u) c) IFN- γ (u)	Putative cellular "defense" protein. IRF-1 may mediate an inhibitory effect of IFN- γ on SPI-3 expression. c) Barely expressed in healthy animals, strongly induced during the acute-phase reaction; rat SPI-3 genes show high homology to the human α -antitrypsin. Regulation: binding of STAT1 to the IL-6 responsive element within the SPI-3 promoter.	a) Pavlovic, Eur Cytokine New. 1999, 10, 403 b) Pavlovic, Eur Cytokine New. 1999, 10, 403 c) Kordula, Biochem Biophys Res Commun. 1995, 216, 999
Acute phase				
Sialoadhesin	r: isolated M0; M0 cell line R2	Glucocorticoids (u) + IFN- γ (e)	Sialoadhesin is a M0 restricted member of the Ig superfamily that mediates adhesion with lymphoid and myeloid cells. It is expressed on a subpopulation of M0 in lymphoid tissues and in chronic inflammation. IFN- β and IL-4 are more potent in the enhancement of sialoadhesin expression than IFN- γ or LPS.	van den Berg, J Immunol. 1996, 157, 3130
CAM				
SLC3A2	h: colonic epithelial cells	IFN- γ (u)	SLC3A2 is a type II membrane glycoprotein, involved in normal and neoplastic cell growth. It was originally identified as an early activation antigen for human T-cells.	Fais, Gastroenterology. 1989, 97, 1435
Solute carrier family 3 (activators of dibasic and neutral amino acid transport), member 2, 4F2 antigen; NCAAE; 4F2HC; MDU1				
Proliferation ?				
Smad7	h: monocytic leukemia cell line U937; epidermoid carcinoma cell line A431	IFN- γ (u)	Smad proteins are essential components of the intracellular signaling pathway utilized by members of the TGF- β superfamily. Smad7 is an antagonistic Smad that interferes with the intracellular signaling of the TGF- β superfamily by binding to the TGF- β receptor complex, thereby preventing the interaction with, and phosphorylation of Smad transcription factors responsible for the activation of TGF- β responsive genes. The induction of Smad7 is independent of <i>de novo</i> protein synthesis, but dependent on functional JAK-STAT signalling pathway. The promoter region contains a GAS element. The IFN- γ mediated induction of Smad7 followed by a loss of TGF- β signalling to the nucleus may explain the antagonistic effects of IFN- γ and TGF- β on diverse cellular functions.	Ulloa, Nature. 1998, 397, 710 Stopa, Mamm Genome. 2000, 11, 169
Transcription factor				
SOCS-1 Suppressor of cytokines signaling-1; (SOCS1); JAK2 inhibitor-1 STAT1-induced STAT1-inhibitor-1 (SSI-1)	various cell types of different origin	IFN- γ (u) and various other cytokines (u)	SOCS-1 directly binds to JAK tyrosine kinases and inhibits their catalytic activity, resulting in the suppression of all cytokine signaling using JAKs. IFN- γ mediated upregulation of SOCS-1 contributes to a negative feedback loop. The TATA-less SOCS-1 promoter contains SP1, ISRE and GAS sites. The GAS elements do not contribute to the IFN- γ responsiveness, whereas ISRE elements, to which IRF-1 binds, are required for the activation of the mouse SOCS-1 promoter.	Schluter, Biochem Biophys Res Commun. 2000, 268, 235 Sakamoto, J Immunol. 2000, 164, 5833 Sakamoto, Blood. 1998, 92, 1668
Transcription factor				
SOCS-2 Suppressor of cytokines signaling-2; Cytokine-inducible Src homology 2-domain-containing protein-2 (CIS2); STAT1-induced STAT1-inhibitor-2 (SSI-2)	a) h: bone marrow cells; granulocytes; b) m: EF; EF derived from Stat1 ⁺ mice	a) IFN- γ (u) and various other cytokines (u) b) IFN- γ (u)	SOCS-2 directly binds to JAK2 tyrosine kinase and inhibits their catalytic activity, resulting in the suppression of all cytokine signaling using JAKs.	a) Dogusan, J Neuroimmunol. 2000, 109, 34 b) Ramana, PNAS. 2001, 98, 6674
Transcription factor				
SOCS-3 Suppressor of cytokines signaling-3; Cytokine-inducible Src homology 2-domain-containing protein-3 (CIS3); STAT1-induced STAT1-inhibitor-3 (SSI-3)	a) peripheral blood mononuclear cells b) m: bone marrow derived M0 from Stat1 ⁺ mice; EF; EF derived from Stat1 ⁺ mice	a) IFN- γ (u) and various other cytokines (u) b) IFN- γ (u)	SOCS-3 belongs to the suppressor of cytokine signaling family. This proteins play key roles in the negative regulation of cytokine signal transduction.	a) Dogusan, J Neuroimmunol. 2000, 109, 34 b) Gil, PNAS. 2001, 98, 6650 Ramana, PNAS. 2001, 98, 6674
Transcription factor				
Somatostatin (SOM)	m: peritoneal M0	IFN- γ (u), LPS (u)	Neuropeptide that is able to act as an immunomodulator to mediate changes in the pattern of cytokine production.	Ryu, Neuroimmunomodulation. 2000, 8, 25
Cytokine ?				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
Sp100 Nuclear dot associated Transcription regulator Antiviral	h: HeLa cells; Hep2 cells HL-60	IFN- γ (u), IFN- β (u), IFN- α (u)	Nuclear dot (ND, ND10, nuclear bodies, POD, Kr bodies) is closely associated with Isg20, Sp140 and PML within large nuclear matrix-associated multiprotein complexes. Nuclear dots may be preferential targets for viral infection and thus could play a mechanistic role in the antiviral action of IFNs. Additionally, PODs have been implicated in transcriptional regulation, apoptosis, maintenance of genomic stability and telomere length by a telomerase independent process, p53 activation and p53-dependent cellular senescence upon oncogene expression. Sp100 mRNA and protein levels are upregulated after stimulation. Upregulation is protein-synthesis independent (primary response gene). Synergistically activated by type-I and type-II IFN. The TATA-box less human and mouse Sp100 promoter contains an ISRE element bound by IRF-2 and a GAS element.	Grotzinger , Eur J Biochem, 1996, 238, 554 Grotzinger , Mol Cell Biol, 1996, 16, 1150 Grotzinger , J Immunol, 1992, 149, 4067 Grotzinger , J Biol Chem, 1996, 271, 25253 Weichenhan , Genomics, 1997, 43, 298
Sp140 Nuclear dot associated	h: myeloid precursor cell line HL-60	IFN- γ (u)	Nuclear dot (ND, ND10, nuclear bodies, POD, Kr bodies) is closely associated with Isg20, Sp140 and PML within large nuclear matrix-associated multiprotein complexes. Nuclear dots may be preferential targets for viral infection and thus could play a mechanistic role in the antiviral action of IFNs. Additionally, PODs have been implicated in transcriptional regulation, apoptosis, maintenance of genomic stability and telomere length by a telomerase independent process, p53 activation and p53-dependent cellular senescence upon oncogene expression. Sp140 mRNA and protein levels are upregulated after stimulation.	Bloch , J Biol Chem, 1996, 271, 29198
Splicing factor 3a120 (SF3a120), SF3A1 (splicing factor 3a, subunit 1, SAP114, PFPZ1)	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN- γ (u)	SF3a120 is a subunit of the SF3a complex required for A ⁺ complex assembly formed by the stable binding of U2 snRNP to the branchpoint sequence in pre-mRNA. The sequence independent binding of SF3a/SF3b complex upstream of the branch site is essential, it may anchor U2 snRNP to the pre-mRNA.	Der , PNAS, 1998, 95, 15623
Transcription regulator RNA				
SR-cyclophilin Natural killer tumor recognition protein-1 (NK-TR1); Peptidyl-prolyl isomerase G (cyclophilin G) (PPIG)	h: peripheral blood monocytes	IFN- γ + LPS (u)	NKTR-1 might be involved in the progression of monocytes towards a mature differentiated phenotype. The IFN- γ mediated upregulation was consistent with the kinetics of monocyte differentiation. Furthermore NK-TR expression is important for maintaining the lytic activity of natural killer cells.	Giardina , Blood, 1996, 87, 2289
Proliferation Inflammation				
Stat50 Stimulated trans-acting factor of 50 kDa	h: HeLa cells	IFN- γ (u), IFN- β (u), IFN- α (u)	Member of the RBCB-B30.2 protein family containing the RING finger-B box-coiled coil domain and the B30.2 domain. Stat50 shares homologies to RNF21, Rpt-1 and SSA-Ro. Stat50 contains all the features of a transcriptional regulator able to initiate a second cascade of gene induction (secondary response). Stat50 down-regulates the transcription directed by the long terminal repeat promoter region of HIV type-1 in transfected cells. The induction of Stat50 by interferons is not affected by CHX (treatment impairing protein synthesis) and is not blocked by cyclosporin A. The expression of Stat50 is strongly induced during T cell activation by anti-CD28 and anti-CD2 monoclonal antibodies.	Tissot , J Biol Chem, 1995, 270, 14891 Gongora , J Interferon Cytokine Res, 2000, 20, 955
Transcription factor				
SIAR Steroidogenic acute regulatory protein Hormone/ Hormone metabolism	r: Leydig cells	hCG (u) + IFN- γ (f)	SIAR facilitates the efficient production of steroid hormone by regulating the translocation of cholesterol from the outer to the inner mitochondrial membrane and is involved in steroidogenesis.	Lin , Endocrinology, 1998, 139, 2217
STAT1 α Signal transducer and activator of transcription 1 α ; STAT1 91kDa	various cell types of different origin	IFN- γ (u), IFN- β (u), IFN- α (u)	STAT1 α and STAT1 β are derived from differentially spliced mRNA products of the same gene. STAT1 α homodimer, also called GAF or AAF, is transcriptionally active and binds to GAS promoter elements. STAT1 (α or β) in complex with STAT2 and IRF-9 is also a component of ISGF3, the main IFN type I but also type II inducible transcription factor recognizing ISRE promoter elements. STAT1 α homodimers in association with IRF-9 may be redirected to ISRE elements. Regulation: primary response gene.	Der , PNAS, 1998, 95, 15623 DeChi , J Biol Chem, 2000, 275, 927 DeChi , J Biol Chem, 1997, 272, 927 Burstein , PNAS, 1995, 92, 5645 Lehtonen , J Immunol, 1997, 159, 794 Wong , J Immunol, 1998, 160, 5475 Lee , J Immunol, 1996, 157, 1559
Transcription factor				
STAT1 β Signal transducer and activator of transcription 1 β ; STAT1 84kDa	various cell types of different origin	IFN- γ (u), IFN- β (u), IFN- α (u)	STAT1 β and STAT1 α are derived from differentially spliced mRNA products of the same gene. Due to a C-terminal deletion STAT1 β is still able to bind to DNA but is transcriptionally inactive. However STAT1 β in complex with STAT2 and IRF-9 forming ISGF3 is capable to activate transcription of genes containing ISRE elements. Potential STAT1 β /STAT1 α heterodimers or STAT1 β homodimers might be involved in transcriptional repression.	Der , PNAS, 1998, 95, 15623 Cuchi , PNAS, 2000, 97, 5208 Lehtonen , J Immunol, 1997, 159, 794 Wong , J Immunol, 1998, 160, 5475
Transcription factor				
STAT2 Signal transducer and activator of transcription 2	h: primary blood mononuclear cells; M0; melanoma cell lines	IFN- γ (u), IFN- α (u)	Activated STAT2 and STAT1 (α or β) bind to each other and, in combination with IRF-9 DNA-binding protein, form the ISGF3 complex that is the major, ubiquitously activated transcription factor complex of the cellular response to IFN type I. However it was also reported that IFN- γ is capable to activate ISGF3. STAT1,2 heterodimers, recognizing GAS elements, are only activated after IFN type I stimulation and are the central transcription factor complex for IFN type I mediated IRF-1 induction. The formation of STAT2 homodimers or STAT2 IRF-9 complexes were only observed <i>in vitro</i> .	Lehtonen , J Immunol, 1997, 159, 794 Wong , J Immunol, 1998, 160, 5475
Transcription factor				
STAT4 Signal transducer and activator of transcription 4	h: peripheral blood monocytes; dendritic cells	IFN- γ (u), LPS (u)	STAT4 is a key molecule in the intracellular signal transduction cascade activated in response to IL-12 stimulation. Activation of STAT4 leads to the transactivation of genes that presumably promote T _H 1 differentiation. STAT4 knockout mice have major defects in IFN- γ production, NK cell activity, IL-12 mediated proliferation and T _H 1 differentiation.	Frucht , J Immunol, 2000, 164, 4659
Transcription factor				
Stem cell factor receptor (SCF receptor) Growth factor receptor Apoptosis	h: erythroid colony-forming cells (ECFC)	IFN- γ (d)	Receptor ligand and activity protect human erythroid colony-forming cells (ECFC) from apoptosis.	Taniguchi , Blood, 1997, 90, 2244

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
Substance P receptor Lymphocyte activation Cell migration Proliferation	m: peritoneal M0	IFN- γ (u), IL-4 (u)	Substance P is a neuropeptide that is able to act as an immunomodulator to mediate changes in the pattern of cytokine production. It can act synergistically with other factors to stimulate M0 activity and is able to activate T-cells, B-cells, monocytes, and granulocytes to respectively proliferate, immunoglobulin synthesis, cytokine production, and chemotaxis. <i>In vivo</i> blocking of substance P interactions with its receptor profoundly affects immunity against <i>Salmonella</i> . The upregulation of substance P receptor expression by IL-4 or IFN- γ suggests that substance P contribute to T _H 1 or T _H 2 mediated immune responses.	Marriott , J Immunol, 2000, 165, 482 Marriott , Adv Exp Med Biol, 2001, 493, 247
Substance P (SP) Lymphocyte activation Cell migration Proliferation	m: peritoneal M0	IFN- γ (u), LPS (u)	Substance P is a neuropeptide that is able to act as an immunomodulator to mediate changes in the pattern of cytokine production. It can act synergistically with other factors to stimulate M0 activity and is able to activate T-cells, B-cells, monocytes, and granulocytes to respectively proliferate, immunoglobulin synthesis, cytokine production, and chemotaxis. <i>In vivo</i> blocking of substance P interactions with its receptor profoundly affects immunity against <i>Salmonella</i> .	Ryu , Neuroimmunomodulation, 2000, 8, 25
Sucrase-isomaltase Unclassified	h: intestinal epithelial cell line Caco2	IFN- γ (d), IL-6 (d), TNF- α (u)	Sucrase-isomaltase is an enterocyte-specific, differentiation dependent integral membrane protein, expressed in the adult small intestine. It is involved in the final steps of digestion of sucrose, starch and glycogen. The observed down regulation of sucrase-isomaltase expression by IFN- γ might be mediated indirectly through growth factors.	Ziambaras , J Biol Chem, 1996, 271, 1237
Surfactant protein A receptor (SP-A) Antimicrobial Antiviral	r: bone marrow derived M0	IFN- γ (u)	Surfactant proteins are able to bind and opsonizes bacteria and viruses via their lectinlike domains. Two carbohydrate-dependent mechanisms exist on alveolar macrophages to clear mannose-containing pathogens: receptor-mediated entry of non-opsonized microorganisms via the mannose receptor and receptor recognition of pathogens opsonized with surfactant protein A (SP-A). Whereas the mannose-receptor is down-regulated by IFN- γ , the SP-A receptor activity is increased after IFN- γ stimulation.	Chroneos , Am J Physiol, 1995, 269, L721
Surfactant protein A1 Antimicrobial Antiviral	a) h: fetal lung cells; pulmonary adenocarcinoma cell line H441 b) pulmonary cells c) h: pulmonary adenocarcinoma cell line H441	a) IFN- γ (u) b) IFN- γ (u) c) IFN- γ (u), TNF- α (d)	SP-A is a member of the collectin family of proteins, that are involved in host defense. Collectins bind pathogens with their lectinlike domains and are, in turn, recognized by cells of the immune system and the serum complement system through their collagen triplehelix domains. SP-A binds to bacteria and viruses and is recognized by various immune effector cells, whose responses can be modulated by SP-A. The first intron of SP-A1 and SP-A2 contain an ISRE element.	a) Scavo , Am J Physiol, 1999, 275, L653 b) Beillard , Am J Respir Cell Mol Biol, 1990, 2, 13 c) Wispe , J Clin Invest, 1990, 86, 1954
Surfactant protein A2 (SP-A2) Antimicrobial Antiviral	h: fetal lung cells; H441 cells	IFN- γ (u)	SP-A is a member of the collectin family of proteins, that are involved in host defense. Collectins bind pathogens with their lectinlike domains and are, in turn, recognized by cells of the immune system and the serum complement system through their collagen triplehelix domains. SP-A binds to bacteria and viruses and is recognized by various immune effector cells, whose responses can be modulated by SP-A. The first intron of SP-A1 and SP-A2 contain an ISRE element.	Scavo , Am J Physiol, 1998, L663
Survival motor neuron gene (centromeric copy) (SMNc) Unclassified	?; various cell lines	IFN- γ (u), IFN- β (u)	Deletions, conversions or mutations in the SMN gene are responsible for spinal muscular atrophy (SMA), characterized by degeneration of motor neurons of the spinal cord. The SMNc gene remains intact in SMA, but there is an inverse correlation between the amount of the SMNc gene product and the clinical severity of the disease. mRNA and protein levels are induced in various cell lines. The promoter contains an ISRE and an overlapping IRF binding motif (IRF-E). IRF-1 binds to the ISRE/IRF-E and induces the gene expression.	Baron-Deleage , Mol Med, 2000, 6, 957
Syndecan-1 Extracellular matrix Cytokine coreceptor Growth factor coreceptor	a) h: hepatoma cell lines; peridontal ligament cells b) r: Kupffer cells	a) IFN- γ (d), IL-1 β (d), IL-6 (d), TNF- α (d) b) IFN- γ (d)	Cell-surface heparan sulfate proteoglycan, Syndecan-1 can immobilize cells by interacting with extracellular matrix constituents. In addition it acts as a co-receptor, that binds various growth factors, cytokines, enzymes and enzyme inhibitors, thereby modifying their biological activities. Regulation occurs at the transcriptional level. The promoter region contains NF- κ B, Sp1 and C/EBP β binding motifs.	a) Sebestyen , Cytokine, 2000, 12, 1557 b) Worapamorn , J Cell Physiol, 2001, 186, 448 c) Kovalszky , Biochem Biophys Res Commun, 1994, 204, 944
Syndecan-2 Extracellular matrix Cytokine coreceptor Growth factor coreceptor	h: peridontal ligament cells	IFN- γ (d), TGF- β 1 (u), IL-1 β (u)	Cell-surface heparan sulfate proteoglycan, Cell-surface proteoglycans represent a heterogeneous group of receptors involved in many cellular functions. They interact with components of the extracellular microenvironment and act as co-receptors which bind and modify the action of various growth factors, cytokines, enzymes and enzyme inhibitors.	Worapamorn , J Cell Physiol, 2001, 186, 448
Talin CAM Extracellular matrix	m: bone marrow derived M0	IFN- γ (u)	Talin is a structural component of focal adhesion sites and is thought to be engaged in multiple protein interactions at the cytoplasmic face of cell/matrix contacts. It is the major link between integrin and the actin cytoskeleton and was shown to play an important role in focal adhesion assembly. The high molecular weight cytoskeletal protein concentrated at regions of cell-substratum contact and in lymphocytes at cell-cell contacts. Talin binds with low affinity to integrins and with high affinity to vinculin, another cytoskeletal protein concentrated at cell adhesion points. Furrnermore talin is a substrate for the Cdk2 activated cysteine protease calpain II, implicated in apoptosis of immune cells. Talin is apparently involved in connections to the plasma membrane.	Gil , PNAS, 2001, 98, 6680
TAP1 Transmembrane associated with antigen presentation (TAP1) transported 1 (APT1); Peptide supply factor 1 (PSF1); Histocompatibility antigen modifier 1 (HAM-1); RING4; Y3 Antigen presentation	various cell types of different origin	IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u), TNF- α (u), LPS (u)	MHC class I accessory molecule. ER peptide transporter subunit. MHC-linked in class II region. GAS sequence in promoter domain with LMP-2. The GAS element is critical for the rapid induction of the bidirectional promoter by IFN- γ . ISRE enhances the response to IFN- γ and LPS.	Trowsdale , Nature, 1990, 348, 741 Eperson , J Immunol, 1994, 153, 2937 Eperson , J Clin Invest, 1996, 100, 1333 Cramer , J Immunol, 2000, 165, 3190

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
TAP2 Transporter associated with antigen processing 2; Antigen peptide transporter 2 (APT2); Peptide supply factor 2 (PSF2); Histocompatibility antigen modifier-2 (HAM-2); RING11; Y1	various cell types of different origin	IFN- γ (u)	MHC class I accessory molecule. ER peptide transporter subunit. MHC-linked in class II region. Promoter and induction less well-studied than TAP1.	Botem-Yahvadar , J Exp Med, 1996, 183, 499 Powis , PNAS, 1992, 89, 1463
Antigen presentation				
Tapsin TAP binding protein (TAPBP); gp48	various cell types of different origin	IFN- γ (u), IFN- β (u), TNF- α (u)	MHC class I accessory molecule. Chaperone. Required for normal loading and maturation of MHC class I molecules in the ER, but the exact function is not known. Primary and secondary transcription factors seem to be involved in the IFN- γ mediated upregulation.	Sedasisvan , Immunity, 1996, 5, 103
Antigen presentation				
TDAG51 T-cell death associated gene	m: bone marrow derived MO from Stat1 ^{-/-} mice	IFN- γ (u)	The function is unknown.	Gil , PNAS, 2001, 98, 6680
Apoptosis				
Tenascin (N1); Fibronectin; Cytolactin; Nectin; GMEV; Glioma-associated- extracellular matrix antigen	a) h; bronchial epithelial cells b) FS ZB c) h; astrocytes d) ?; astrocytes Glioma-associated- extracellular matrix antigen	a) IFN- γ (u), TNF- α (u) b) IFN- γ (u)	Tenascin is a glycoprotein that appears in extracellular matrices. It is a SAM (substrate-adhesion molecule) able to bind to vascular endothelial growth factors. It may contribute to tumor-induced immunosuppression <i>in vivo</i> .	a) Herkonen , Am J Respir Cell Mol Biol, 1995, 13, 1019 b) DiProspero , Exp Neurol, 1997, 148, 628
Extracellular matrix				
TGF-α Tumor growth factor- α ; Sarcoma growth factor	h: bronchial epithelial cells	IFN- γ (u)	TGF- α is a small integral membrane protein which shares biological and structural properties with EGF. It binds to its own receptor but is also a ligand of the EGF-R. TGF- α can act as an autocrine growth factor and may be important for normal wound healing.	Asano , J Clin Invest, 1997, 99, 1057
Growth factor				
TGF-β Tumor growth factor β 2	h: glioma cells	IFN- γ (u)	TGF- β is a pleiotropic cytokine involved in tissue remodeling, wound repair, development and hematopoiesis. The predominant function is to inhibit cell growth. Furthermore it is a switch factor for IgA and has general antiinflammatory properties. The IFN- γ mediated upregulation was only detectable at the mRNA level but not on protein level.	Hoffler , Anticancer Res, 2000, 20, 4445
Cytokine Growth factor				
TGF-β3 Transforming growth factor- β 3	m: EF derived from Stat1 ^{-/-} mice	IFN- γ (d)	TGF- β is a pleiotropic cytokine involved in tissue remodeling, wound repair, development and hematopoiesis. The predominant function is to inhibit cell growth. Furthermore it is a switch factor for IgA and has general antiinflammatory properties.	Ramana , PNAS, 2001, 98, 6674
Cytokine Growth factor				
TGTP/Mg21 Antiviral GTPase p47 family	m: T-cells; embryonic fibroblasts; M0; 70Z/3 pre B-cells	IFN- γ (u), IFN- α (u), LPS (u), TCR-crosslinking (u)	TGTP/Mg21 is a member of the p47 GTPase family consisting of IIGP, IGTP, GTP1, IRG-47, LRG-47 and TGTP/Mg21. The p47 GTPases as well as the non-related p65 GTPases seem to dominate the cellular response to IFN- γ in EF and M0. The induction of TGTP/Mg21 was not dependent on IRF-1, thus it might be classified as a primary response gene. TGTP/Mg21 is a functional GTPase and showed <i>in vitro</i> a specific antiviral activity against vesicular stomatitis virus (VSV). The inducibility by IFN type I is very weak or not detectable.	Lafuse , J Leukoc Biol, 1995, 57, 477 Boehm , PNAS, 1998, 161, 6715 Carlow , J Immunol, 1995, 154, 1724 Carlow , J Immunol, 1998, 161, 2348 Patrone , Mol Immunol, 2001, 38, 597
Thimet oligopeptidase EC 3.4.24.15	h: ?	IFN- γ (d)	Metallo-proteinase, that actively destroys many antigenic peptides. Therefore thimet oligopeptidase might be involved in antigen presentation. IFN- γ increases the supply of antigenic peptides, by stimulating their generation (induction of proteasome components, LAP and others) and simultaneously decreasing their destruction (downregulation of thimet oligopeptidase).	York , Immunol Rev, 1999, 172, 49 Silva , Biochem Biophys Res Commun, 1999, 255, 591 Portaro , Biochem Biophys Res Commun, 1999, 255, 596
Antigen processing				
Thrombospondin-1 (TSP-1)	h: peripheral blood monocytes; smooth muscle cells	IFN- γ (u)	TSP-1 is a matrix glycoprotein that inhibits angiogenesis and blocks microvascular EC proliferation by angiogenic factors. It is a ligand for CD36 and the CD36-TSP-1 interaction is involved in platelet-monocyte adhesion, platelet-tumor cell adhesion, platelet aggregation, M0 uptake of apoptotic cells and M0 activation of latent TGF- β and thus may play a critical role in initiating and regulating inflammation, atherogenesis and tumor metastasis. TSP-1 also enhances SMC proliferation and migration in response to FGFs and PDGF.	Yesner , Arteriosclerosis Thrombosis Vasc Biol, 1996, 16, 1019
Cell migration Extracellular matrix Proliferation				
Thymidine phosphorylase (dHdPase); Platelet-derived endothelial cell growth factor (PDECGF)	h: colorectal mucosa and adenocarcinoma cells; monocytic U937 cells	IFN- γ (u)	Stimulation of endothelial cell growth, chemotaxis and angiogenesis. Involved in the reversible conversion of thymidine to thymine. TP expression in cancer cells and/or infiltrated M0 is associated with microvessel density and poor clinical prognosis in patients with various tumor types. Promoter contains GAS element to which STAT1 binds which is essential for IFN- γ dependent activation.	Iwagaki , Res Commun Mol Pathol Pharmacol, 1995, 67, 343 Goel , Cancer Res, 2001, 61, 469
Growth factor				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
Thyroglobulin (TG)	a) h: thyrocytes b) r: FRTL-5 cell line derived from thyroids	a) IFN- γ (d), TNF- α (d) b) IFN- γ (d), TNF- α (d)	Thyroglobulin, a dimeric glycoprotein, is specifically expressed in thyroid gland. After stimulation with thyrotropin (Thyrotrope stimulating hormone, TSH), IFN- γ and TNF- α treated thyrocytes show a decreased level of Thyroglobulin mRNA. Thyroid specific gene; suppression at least partly mediated by IFN- γ suppression of the gene promoter activity, in part by reducing TTF-1 (thyroid transcription factor-1) binding to its recognition site	a) Tang, Endocrinology, 1995, 136, 881 Kung, Endocrinology, 1995, 136, 5028 Kung, J Clin Endocrinol Metab, 1990, 70, 1512 Ohe, Mol Endocrinol, 1996, 10, 826
Thyroid specific	r: Fisher rat thyroid cell line (FRTL-5)	IFN- γ (d), IFN- γ + TNF- α (dd)	Modulates the expression of thyroglobulin and TPO. The expression of both can be suppressed by IFN- γ and/or TNF- α . Reduced mRNA level.	Miyazaki, Endocrinology, 1999, 140, 4214
Transcription factor Thyroid specific	a) r: thyroid cells (FRT) b) h: thyrocytes r: thyroid cell line FRTL-5	a) IFN- γ (d) b) Thyrotropin (u) + (IFN- γ or + TNF- α) (d)	TPO is a thyroid specific gene coding for a membrane protein, which catalyses the iodination and coupling of the hormogenic tyrosines of Thyroglobulin to yield the thyroid hormones T3 and T4. The suppression is at least partly mediated by IFN- γ suppression of the gene promoter activity, in part by reducing TTF-1 (thyroid transcription factor-1) binding to its recognition site. After stimulation with thyrotropin (Thyrotrope stimulating hormone, TSH), IFN- γ and TNF- α treated thyrocytes show a decreased level of Thyroglobulin mRNA.	a) Ohe, Mol Endocrinol, 1996, 10, 826 b) Tang, Endocrinology, 1995, 136, 881 Kung, Endocrinology, 1995, 136, 5028 Kung, J Clin Endocrinol Metab, 1990, 70, 1512 Ashizawa, J Clin Endocrinol Metab, 1989, 69, 475
Thyrotropin receptor (TSH receptor)	a) h: orbital preadipocyte fibroblasts b) r: thyroid cells (FRT)	a) IFN- γ (d), TNF- α (d) b) IFN- γ (d)	Putative orbital autoantigen. Inhibition of TSH-dependent cAMP production and morphological adipocyte differentiation. Thyroid specific gene; suppression at least partly mediated by IFN- γ suppression of the gene promoter activity, in part by reducing TTF-1 (thyroid transcription factor-1) binding to its recognition site.	a) Vallyasevi, J Clin Endocrinol Metab, 2001, 86, 303 b) Ohe, Mol Endocrinol, 1996, 10, 826
Thyroid specific	h: alveolar M0	LPS (u) + IFN- γ (f)	TIMPs are involved in the inhibition of matrix metalloproteinases (MMPs) and contribute to the regulation of extracellular matrix remodeling associated with various physiological conditions. The repression occurs only at higher concentrations of IFN- γ .	Shapiro, J Clin Invest, 1990, 86, 1204
TIMP Tissue inhibitor of metalloproteinases	Cell migration Extracellular matrix			
TIMP-1	a) m: brain microvascular endothelial cells b) r: astrocytes	a) IFN- γ (u), TNF- α (u), IL-1 β (u), IFN- γ + TNF- α (uu) b) IFN- γ (u), TNF- α (u), IL-1 β (u), IFN- γ + TNF- α (uu)	TIMPs are involved in the inhibition of matrix metalloproteinases (MMPs) and contribute to the regulation of extracellular matrix remodeling associated with various physiological conditions. Furthermore MMPs and TIMPs contribute to immunoregulatory processes, such as cytokine and cytokine receptor turnover. They may also participate in the proteolytic remodeling of the endothelial basement membrane of the brain microvascular system, a key step during leukocyte migration into the brain perivascular tissue.	a, b) Bugno, FEBS Lett, 1999, 448, 9
Cell migration Extracellular matrix	a) m: brain microvascular endothelial cells b) r: astrocytes	a) IFN- γ + IL-1 β (d) b) IFN- γ + TNF- α (d)	TIMPs are involved in the inhibition of matrix metalloproteinases (MMPs) and contribute to the regulation of extracellular matrix remodeling associated with various physiological conditions. Furthermore MMPs and TIMPs contribute to immunoregulatory processes, such as cytokine and cytokine receptor turnover. They may also participate in the proteolytic remodeling of subendothelial basement membrane of the brain microvascular system, a key step during leukocyte migration into the brain perivascular tissue. Unlike other TIMP proteins, TIMP-3 is associated with the extracellular matrix.	a, b) Bugno, FEBS Lett, 1999, 448, 9
Tissue inhibitor of metalloproteinases-3	Cell migration Extracellular matrix			
Tissue factor mtf	m: bone marrow derived M0	IFN- γ (u)	Cell surface protein, expressed by fibroblasts, endothelial cells, monocytes and smooth muscle cells in response to a variety of stimuli. The main function of tissue factor is the binding of coagulation factor VII, leading to activation of the intrinsic, as well as extrinsic blood coagulation cascades. It is important in maintaining vascular integrity in response to injury, but may also be involved in cell growth.	Gil, PNAS, 2001, 98, 6680
Proliferation ?				
TNF- α	a) m: microglia b) m: M0; monocytes c) m: bone marrow derived M0	a) IFN- γ (u), LPS (u) b) LPS (u) + IFN- γ (e) c) IFN- γ (d)	Pro-inflammatory cytokine with a variety of functions in inflammation as well as apoptosis. LPS induces TNF- α gene expression and secretion, whereas IFN- γ induces only the gene expression. The enhancement by IFN- γ occurs at the level of transcription.	a) Abolsi, J Neurosci Res, 1999, 56, 571 b) Suk, Immunology, 1996, 87, 551 Koerner, Cell Immunol, 1997, 109, 437 Lee, Infect Immun, 2001, 69, 2847 c) Calada, Eur J Immunol, 1989, 19, 1103 Philip, Nature, 1986, 323, 86
Tumor necrosis factor- α ; Cachectin	Cytokine			
TNF- α	a) h: colon adenocarcinoma cell line HT-29; HeLa cells b) r: L6 myotubes	a) IFN- γ (u) b) (TNF- α + IFN- γ + LPS) (u)	Cytokine receptor that binds TNF- α as well as TNF- β . TNFR-I differs from TNFR2 in the intracellular domain and mediates distinct cellular response. Most of the known TNF- α responses including effects in host defence against pathogens are mediated by TNFR-I. TNFR-I is also known as an apoptosis signalling receptor that mediated p53 independent apoptosis. Mice deficient for TNFR-I are resistant against septic shock and have a increased susceptibility against <i>Listeria monocytogenes</i> . Some reports showed that both chains are upregulated by IFN- γ .	a) Ossina, J Biol Chem, 1997, 272, 16351 Pandita, FEBS Lett, 1992, 312, 87 b) Zhang, Am J Physiol Endocrinol Metab, 2000, 279, E196
Tumor necrosis factor receptor type I; p75; CD120a	Cytokine Apoptosis			
TNFR-I	a) h: eosinophilic leukemia cell line EoL-HL60 cells; THP-1 cells; melanin pigment epithelial cells b) r: L6 myotubes c) m: peritoneal M0	a) IFN- γ (u) b) (IFN- γ + TNF- α + LPS) (u) c) IFN- γ (u), IFN- α (u), IFN- β (u)	Cytokine receptor that binds TNF- α as well as TNF- β . Differs from TNFR-I in the intracellular domain and mediates distinct cellular response. TNFR-II is strongly involved in growth-promoting and growth-inhibiting activities. The regulatory effect depends on <i>de novo</i> protein synthesis. The pretreatment of EoL with IFN- γ followed by TNF- α stimulation, inhibited the TNF- α induced apoptosis.	a) Horie, Exp Hematol, 1999, 27, 512 Hynes-Spencer, Eur Cytokine New, 1997, 8, 351 Muller, J Clin Exp Opin Immunol, 2001, 239, 294 b) Zhang, Am J Physiol Endocrinol Metab, 2000, 279, E196 c) Pandita, FEBS Lett, 1992, 312, 87
Tumor necrosis factor receptor type II; p75; CD120b	Cytokine receptor Proliferation			
TNFR-II				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
Toll-like receptor 2 (TLR2)	a) r: RAW264.7 MO b) h: dermal microvessel endothelial cells; HUVEC; peripheral blood monocytes c) h: monocytes	a) IFN- γ (d), TNF- α (u), LPS (u) b) IFN- γ (u), TNF- α (u), LPS (u), LPS + IFN- γ (uu) c) LPS (u), IFN- γ (d), TNF- α (d), IL-4 (d)	TLRs are type I transmembrane proteins with leucine-rich repeat extracellular domains and conserved cytoplasmic domains with homology to the mammalian IL-1R. TLRs are involved in innate immune recognition and cellular activation in response to microbial antigens. Ligand engagement of TLRs results in activation of NF- κ B and induction of the cytokines and costimulatory molecules required for the activation of the adaptive immune response. TLR2 does not play a role in LPS signaling in the absence of contaminating endotoxin proteins. TLR2 has been implicated as the signaling receptor for Gram-positive and fungal cell wall components and for bacterial, mycobacterial, and spirochetal lipoproteins. TLR2 gene expression, but not TLR4, is induced after various stimulations and suggest that although TLR2 is dispensable for the initial host responses against LPS, it may contribute to the accelerated MO responses seen at subsequent stages of infection.	a) Matsuguchi , J Immunol, 2000, 165, 5767 b) Faure , J Immunol, 2001, 166, 2018 c) Flo , J Leukoc Biol, 2001, 69, 474
Toll-like receptor 4 (TLR4)	h: dermal microvessel endothelial cells; HUVEC; peripheral blood monocytes	IFN- γ (u), LPS (u)	TLRs are type I transmembrane proteins with leucine-rich repeat extracellular domains and conserved cytoplasmic domains with homology to the mammalian IL-1R. TLRs are involved in innate immune recognition and cellular activation in response to microbial antigens. Ligand engagement of TLRs results in activation of NF- κ B and induction of the cytokines and costimulatory molecules required for the activation of the adaptive immune response. TLR4 is the primary signaling receptor for enterobacterial LPS and for the recognition of Gram-negative bacteria. The IFN- γ mediated upregulation of TLR4 is stronger than of TLR2.	Faure , J Immunol, 2001, 166, 2018 Mita , Immunol Lett, 2001, 78, 97
Antimicrobial		IFN- γ + TNF- α (u)	TPI-1 is a glycolytic pathway enzyme playing an important role in several metabolic pathways.	Matsui , Electrophoresis, 1997, 18, 409
Unclassified				
TRAF6 TNF receptor-associated factor 6	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN- γ (d), IFN- β (d)	TRAFs were initially discovered as adaptor proteins that couple the tumor necrosis factor receptor family to signaling pathways. More recently they have also been shown to signal and induce the transcription of cytokines and chemokines. TRAF proteins share a conserved domain with TRAF1 and TRAF3. TRAF6 has a unique domain of binding to the cytosolic chain of I κ B proteins. TRAF proteins are thought to be important regulators of cell death and cellular responses to stress, and TRAF2, TRAF5 and TRAF6 have been demonstrated to mediate activation of NF- κ B and JNK. TRAF proteins play an important role in physiological and pathological processes.	Der , PNAS, 1998, 95, 15623
Apoptosis				
TRAIL Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand; Apo2L	a) h: various cell types b) h: Jurkat T-cells	a) IFN- γ (u), IL-1 β (u), TNF- α (u) b) IFN- α (u), IFN- β (u), no induction by IFN- γ	TRAIL is a member of a family of apoptosis inducing ligands, that includes TNF- α and CD95L (FasL). Like the other family members, it has a membrane-bound and soluble form and acts through type I membrane receptors (TRAIL-R1 and TRAIL-R2) that recognize the extracellular domain. In addition they are two receptors (TRID and TRUND) that act as decoy receptors and inhibit TRAIL-induced cell death induction of TRAIL by IFN- γ is much weaker than by IFN type I. The TATA less promoter region contains GAS, ISRE, C/EBP and AP-1 motifs.	a) Bretz , J Biol Chem, 1999, 274, 23627 Sedger , J Immunol, 1999, 163, 920 Wang , Biochem Biophys Res Commun, 2000, 276, 466 Fanger , J Exp Med, 1999, 190, 1155 Griffith , J Exp Med, 1999, 189, 1343 Shin , Int J Cancer, 2001, 93, 262 Phillips , J Immunol, 1999, 162, 6063 Phillips , J Immunol, 1999, 162, 6063
Apoptosis				
TRAIL-R1 Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand receptor-1; DR4	a) h: fibroblasts b) h: THP-1 MO	a) IFN- γ (d), CMV-infection (u) b) IFN- γ (u)	TRAIL-R1 is a death-domain-containing proapoptotic receptor that binds to the cytotoxic ligand TRAIL. TRAIL specifically kills virus-injected cells while leaving uninfected cells intact, and IFN- γ potentiates these effects by dynamic modulation of TRAIL and TRAIL-R expression and by sensitizing cells to apoptosis.	a) Sedger , J Immunol, 1999, 163, 920 b) Phillips , J Immunol, 1999, 162, 6063
Apoptosis				
TRAIL-R2 Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand receptor-2; DR5; TRICK2; KILLER/DR5	a) h: fibroblasts b) m: carcinoma cell lines; p53 mutant cell lines	a) IFN- γ (d), CMV-infection (u) b) IFN- γ (u)	TRAIL-R2 is a death-domain-containing proapoptotic receptor that binds to the cytotoxic ligand TRAIL. IFN- γ is able to induce apoptosis and TRAIL-R2 mRNA in cell lines with mutant p53. This induction is delayed in cells lacking STAT1.	a) Sedger , J Immunol, 1999, 163, 920 b) Meng , Exp Cell Res, 2001, 262, 154
Apoptosis				
TRAIL-R3 DcR1; TRID; LIT	h: hepatoma cell line SNU-354	IFN- γ (u)	TRAIL-R3 is able to bind TRAIL but lacks functional death domains. Therefore TRAIL-R3 acts as a decoy-receptor, inhibiting TRAIL induced cell death.	Shin , Int J Cancer, 2001, 93, 262
Apoptosis				
TRAIL-R4 DcR2; TRUND	h: hepatoma cell line SNU-368	IFN- γ (d)	TRAIL-R4 is able to bind TRAIL but lacks functional death domains. Therefore TRAIL-R4 acts as a decoy-receptor, inhibiting TRAIL induced cell death.	Shin , Int J Cancer, 2001, 93, 262
Apoptosis				
Transferrin receptor (TfR)	a) h: monocytes b) h: WISH cells c) h: chronic myelocytic leukemia cell line K562 d) m:MO e) r: epiplexus cells, pancreatic β -cells	a) IFN- γ (d), IFN- γ (u) b) IFN- γ (d) c) IFN- γ (u) d) m:MO e) IFN- γ (u), IL-1 β + IFN- γ (u)	Expression of TfR reduced on normal M0 activated with IFN- γ for 5 days <i>in vitro</i> . This and the following studies are part of an analysis of the control of intracellular infection of M0 by <i>Legionella</i> mediated by a coordinated programme of iron depletion. Another study assayed TfR expression and mRNA levels after 14-16 hr exposure of 4-6 day cultured monocytes to IFN- γ , and observed TfR induction. The significance of the discrepant results is unclear. b) Antagonist effect of IFN- γ is at least partly due to its inhibitory action on transferrin receptor expression leading to iron starvation.	a) Byrd , J Clin Invest, 1989, 83, 1457 Byrd , J Clin Invest, 1993, 91, 969 Taetle , Blood, 1988, 71, 1590 b) Bourgeade , Biochem Biophys Res Commun, 1988, 153, 897 Bourgeade , Nucleic Acids Res, 1992, 20, 2997 c) Djena , FEMS Microbiol Immunol, 1992, 5:279 Sedger , Res Com Mol Pathol Pharmacol, 1996, 92, 61 d) Hamilton , Cell Immunol, 1984, 89, 478 e) Lu , J Anat, 1995, 187, 803 Cardozo , Diabetis, 2001, 50, 909
Iron metabolism				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
Transferrin (TF)	h: peritoneal M0 elicited with thio glycolate broth	IFN- γ (u)	Transferrins are iron binding transport proteins which can bind two atoms of ferric iron in association with the binding of an anion, usually bicarbonate. It is responsible for the transport of iron from sites of absorption and bone degradation to those of storage and utilization. Serum transferrin may also have a further role in stimulating cell proliferation. Increased Tf synthesis measured at 24 h after increasing doses of IFN- γ (max dose 500 U/ml). No increased synthesis detected in human M0 or histiocytic lymphoma cells.	Saunders , Am J Respir Cell Mol Biol, 1994, 11, 147 Saunders , J Biol Chem, 1994, 269, 216
Iron metabolism				
Transglutaminase type 1 (TGM1); IC92; TGASE	h: bronchial epithelial cells; epidermal keratinocytes	IFN- γ (u)	Transglutaminase type 1 is a squamous specific marker gene and catalyzes the cross-linking of proteins and the conjugation of polymers. It is induced in the epidermal keratinocytes in the presence of the natural and synthetic retinoids. The expression of epidermal keratinocytes by IFN- γ is a potent inducer of several different human epidermal keratinocytes. This induction is characterized by a decrease in the mRNA level of two growth regulatory genes, cdc2 and E2F-1 and a increase in the expression of two squamous cell-specific genes, transglutaminase type 1 and corfilin. The promoter does not contain GAS elements.	Saunders , Am J Respir Cell Mol Biol, 1994, 11, 147 Saunders , J Biol Chem, 1994, 269, 216
Proliferation				
Trappin-2 (Trappin-2) Protein kinase substrate, and wap domain containing protein-2; Skin-derived anti-leukoproteinase (SKALP); elafin; ESI		IFN- γ (u); TNF- α (u)	Inhibitor of leukocyte elastase and proteinase-3; substrate for transglutaminases.	Schaikwijk , Biochem J, 1999, 340, 569
Unclassified				
trk Tyrosine-Protein kinase trk p140 ^{trkA} ; NTRK1; tk proto-oncogene	h: neuroblastoma cell lines	IFN- γ (u)	trk is a proto-oncogene that is required for binding of nerve growth factor (NGF) and functional NGF signal transduction. It binds to NGF via low affinity, monomeric (75 kDa) or high affinity, dimeric (140 kDa) form. trk is involved in the regulation of cell proliferation.	Shikata , Jpn J Cancer Res, 1994, 85, 122
Proliferation Protein-Tyrosin kinase Oncogene				
Tropomyosin (TPM)	h: renal carcinoma cell line ACHN; HeLa cells	IFN- γ (u); IL-4 (u)	Tropomyosin in striated muscle works together with the troponin complex to regulate vertebrate muscle contraction in a Ca ²⁺ -dependent fashion. It may be also involved in anti-proliferative effects of IFN- γ .	Sullivan , Cancer Res, 1997, 57, 1137 Shaw , Electrophoresis, 1999, 20, 977
Cytoskeleton Proliferation ?				
Tryptophanyl tRNA synthetase WRS; WARS; Tryptophan- tRNA Ligase; γ 2; IGUP I-3524; γ 3; IGUP I-3421	various cells of different origin	IFN- γ (u); IFN- α (u)	The housekeeping enzyme WRS catalyzes the aminoacylation of tRNA to tryptophan. The induction of the gene by interferons is regulated at the transcriptional level. For gene activation, a <i>de novo</i> synthesized protein(s) is required. The 5' flanking promoter-enhancer contains ISRE and GAS elements. Isoforms exist as a result of alternative splicing, identified as part of 2D-gel-electrophoresis of interferon induced human keratinocytes. Interferon induced accumulation of WRS is accompanied by a parallel accumulation of Ap3A. Ap3A accumulation in cells could be related to cell growth retardation induced by interferons. Probably the expression of all WRS variants is regulated by IFN- γ .	Honore , Eur J Biochem, 1993, 216, 421 Rubin , J Biol Chem, 1991, 266, 24245 Fleckner , PNAS, 1991, 88, 111520 Buwitt , EMBO J, 1992, 11, 489 Kisselev , Trends Biochem Sci, 1993, 18, 263 Shaw , Electrophoresis, 1999, 20, 984 Apocgye-Mathlesen , Electrophoresis, 1999, 20, 984 Ruscidlo , J Vasc Surg, 1999, 29, 317 Yuan , J Cell Physiol, 1998, 177, 174
Translation Tryptophan metabolism				
Tumor-associated glycoprotein-72 TAG-72; CA 72-4	h: colon tumor cell line HT29	IFN- γ (u)	TAG 72 is a high molecular weight mucin, the expression has been observed in a wide range of human carcinomas. The function of TAG-72 is unknown.	Greiner , Cancer Res, 1993, 53, 600
CAM CEA family				
TWEAK Tumor necrosis factor (ligand) superfamily member 12 (TNFSF12); DR3LG; APO3L	h: peripheral blood mononuclear cells	IFN- γ (u)	TWEAK is a member of the TNF family that induces cell death in some tumor cell lines. Additionally it activates NF- κ B in some tumor cells, induces proliferation of endothelial cells and angiogenesis and leads to the secretion of IL-8 from various cell types. Thus it might act as an apoptosis inducing factor but also as a proinflammatory cytokine.	Nakayama , J Exp Med, 2000, 192, 1373
Apoptosis Cytokine				
Type V acid phosphatase (PPAS) ACPS	h: M0	IFN- γ (d); LPS (d)	Iron-binding protein. This relatively minor intracellular isozyme of acid phosphatase can become the dominant isozyme in certain pathological states (gaucher's and hodgkin's diseases, the hairy cell, the B-cell, and the T-cell leukemias). ACP-5 is localized in lysosomes.	Bevilacqua , Mol Biol Med, 1991, 8, 135
Iron metabolism				
Type-1 5 α deiodinase Type-1 D1; Type 1 levothyronine deiodinase, D101, 5 D-1	r: FRTL-5 cell line derived from thyroids	Thyrotropin + IFN- γ or + TNF- α (d)	5 α -D-1 catalyzes the deiodination of T4 (3,5,3',5'-tetraiodothyronine) into T3 (3,5,3'-triiodothyronine) and of T3 into T2 (3,3'-diiodo-L-thyronine). It plays a role in providing a source of plasma T3 by deiodination of T4 in peripheral tissues such as liver and kidney. The enzyme is anchored to the endoplasmic reticulum.	Tang , Endocrinology, 1995, 136, 881
Thyroid specific			After stimulation with thyrotropin (Thyrotrocyte stimulating hormone, TSH), IFN- γ and TNF- α treated thyrocytes show a decreased level of Thyroglobulin mRNA.	

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
U2 RNA-associated B antigen Small nuclear ribonucleoprotein polypeptide B1 (SNRPB2)	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN- γ (d)	SNRPB2 is associated with snmp U2. It binds stem loop IV of U2 snRNA only in presence of the A' protein.	Der, PNAS, 1998, 95, 15623
RNA Proliferation ?				
Ubiquitin Ribosomal protein S30 (posttranslational processed Fau protein)	m: RAW 264.7 M0	IFN- γ (u)	Ubiquitin has a marked antimicrobial activity against <i>Listeria monocytogenes</i> and <i>Salmonella typhimurium</i> . Ubiquitin is most likely identical to the ribosomal protein S30. This protein is produced by posttranslational processing of the Fau protein, that has significant homology to ubiquitin.	Hiemstra, J Leukoc Biol, 1999, 66, 423
RNA Antimicrobial				
Ubiquitin cross-reactive protein (UCRP); ISG15	a) h: various cell types b) h: peripheral blood mononuclear cells	a) IFN- γ (u), IFN- β (u), IFN- α (u) b) no effect by IFN- γ	Ubiquitin conjugation is a rate-limiting step in antigen presentation. UCRP acts intracellularly as ubiquitin by conjugation to intracellular target proteins, through an enzyme pathway distinct from that of ubiquitin, differing in substrate specificity and interaction with ligating enzymes. It may act as a trans-acting binding factor directing the association of ubiquitin with target proteins. Immediate elements of UCRP function intracellularly as a cytokine that induces IFN- γ and augments NK cytotoxicity against cells. UCRP also mediates UCRP binding to cells and mediates UCRP binding to cells. Therefore UCRP is also a novel member of the cytokine cascade. The induction by IFN type I is much stronger than by type II. The promoter region contains an ISRE element.	a) Haas, J Biol Chem, 1987, 262, 11315 Reich, PNAS, 1987, 84, 6394 Taylor, J Interferon Cytokine Res, 1996, 16, 937 b) D Cunha, J Immunol, 1996, 157, 4100
Antigen processing Cytokine				
Ubiquitin-conjugating enzyme H5 (UbcH5)	h: M0	IFN- γ (u), IFN- α (u), Sendai virus (u)	UbcH proteins are involved in protein degradation by ubiquitin system. Ubiquitin conjugation is a rate-limiting step in antigen presentation and therefore the upregulation of UbcHs may contribute to the enhanced antigen presentation by macrophages.	Nyman, Eur J Biochem, 2000, 267, 4011
Antigen processing				
Ubiquitin-conjugating enzyme H6 (UbcH6)	h: M0	IFN- γ (u), IFN- α (u), Sendai virus (u)	UbcH proteins are involved in protein degradation by ubiquitin system. Ubiquitin conjugation is a rate-limiting step in antigen presentation and therefore the upregulation of UbcHs by IFNs may contribute to the enhanced antigen presentation by macrophages.	Nyman, Eur J Biochem, 2000, 267, 4011
Antigen processing				
Ubiquitin-conjugating enzyme H8 (UbcH8)	h: M0; A549 alveolar epithelial cells; hepatoma cell line HepG2; NK-92 cells	IFN- γ (u), IFN- α (u), Sendai virus (u)	UbcH proteins are involved in protein degradation by ubiquitin system. Ubiquitin conjugation is a rate-limiting step in antigen presentation and therefore the upregulation of UbcHs by IFNs may contribute to the enhanced antigen presentation by macrophages. Cycloheximide did not block the IFN-induced upregulation of UbcH8 mRNA (primary response gene).	Nyman, Eur J Biochem, 2000, 267, 4011
Antigen processing				
UMP1 Ubiquitin-mediated proteolysis	h: HeLa m: primary fibroblasts	IFN- γ (u)	The UMP1 protein might be involved in the maturation of standard proteasome and immunoproteasome. It is a homologue of the yeast proteasome maturing factor Ump1p.	Burri, PNAS, 2000, 97, 10348
Antigen processing				
Uridine phosphorylase (URPASE)	h: HCT-116 cells	IFN- γ (u), TNF- α (u), IL-1 α (u), Vitamin D3 (u)	The uridine phosphorylase catalyses the reversible phosphorolysis of uridine. The produced molecules are then utilized as carbon and energy sources or in the rescue of pyrimidine bases nucleotide synthesis.	Watanabe, Biochem Biophys Res Comm, 216, 285
Unclassified				
Urokinase receptor CD87; M03; Urokinase-type plasminogen activator receptor (UPAR)	h: myeloid cell line U937; retinal pigment epithelial cells	IFN- γ (u), TNF- α (u)	CD87 serves as a receptor for urokinase plasminogen activator and plays a role in localizing and promoting plasmin formation. CD87 regulates the invasiveness of activated M0, regulates M0-mediated plasminogen activation and mediates the proteolysis-independent signal transduction activation effects of u-PA. u-PA cleaves CD87 into the inactive form. IFN- γ increases surface expression of CD87, while TNF- α enhances its release.	Strim, Blood, 1994, 84, 1268 Gyetko, J Leukoc Biol, 1992, 51, 256 Gyetko, J Clin Invest, 1994, 93, 1380 Kirchheimer, J Immunol, 1993, 141, 4229 Siren, Ophthalmic Res, 1993, 32, 184
Acute phase Blood clotting Plasminogen related				
Urokinase-type plasminogen activator (uPA)	h: myeloid cell line U937	IFN- γ (u), TNF- α (u)	Acute phase reactants are predominantly synthesized in the liver and their serum levels are increased or reduced already approximately 90 min after the onset of an inflammatory reaction. They function as mediators or inhibitors of inflammation, act as transport proteins for products synthesized during inflammatory processes and/or play an important role in tissue repair and remodeling. uPA is a serine protease that converts plasminogen into the active protease plasmin. Regulation: increased protein and mRNA level.	Gyetko, J Leukoc Biol, 1992, 51, 256 Gyetko, J Clin Invest, 1994, 93, 1380 Kirchheimer, J Immunol, 1988, 141, 4229
Acute phase Plasminogen related				
Uteroglobin Clara cell secretory protein (CCSP); Clara cell 10 kDa protein (CC10); CC16; CC17; Polychlorinated biphenyl (PCB)-binding protein; Urinary protein-1 Lipid transport/metabolism Inflammation	a) h: bronchial epithelial cell line BEAS-2B; Clara cells b) m: lung (in vivo); Clara cell line mCC1-2	a) IFN- γ (u) b) IFN- γ (u)	Uteroglobin is an inhibitor of secretory phospholipase A ₂ and has immunosuppressive, anti-inflammatory, antiproteinase and progesterone-binding activities. Furthermore uteroglobin potentially inhibits IFN- γ production and therefore might be involved in a negative feedback mechanism protecting the lung for inflammation and disease. The promoter region contains a GAS element and HNF-3 β binding sites. The upregulation of CCSP by IFN- γ involves transcriptional and post-transcriptional mechanisms and might be mediated by the upregulation of HNF3 β .	a) Chang, Ann N Y Acad Sci, 2000, 923, 181 Yao, Am J Physiol, 1998, 274, L864 b) Maggialeno, Am J Physiol, 1997, 272, L1142

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
VCAM-1 Vascular cell adhesion molecule-1; INCAM-110; L1-CAM; CD106	a) m: endothelioma cell line b) r: retinal pigment epithelial cells c) h: astrocytoma cell lines, CRT and STT; dermal endothelial cells; synovial and dermal fibroblasts d) h: endothelial cells	a) IFN- γ (u), TNF- α (u), IL-1 (u), LPS (u) b) IFN- γ (u) c) IFN- γ (u) d) TNF- α (u) + IFN- γ (e)	VCAM-1 is expressed on the cell surface of endothelial cells and is involved in the recruitment of leukocytes to sites of inflammation and injury. Furthermore it may play an important role in the genesis of atherosclerosis and rheumatoid arthritis. Ligand: VLA-4 (CD49b). The promoter region contains a NF- κ B, Sp1 and ISRE site close to the TATA-box. The IFN type I and type II mediated amplification of the TNF- α induced VCAM-1 expression is based on an IRF-1 dependent pathway.	a) Sikorski, J Immunol, 1993, 151, 5239 b) Roseman, J Immunol, 1995, 154, 1888 Groves, J Am Acad Dermatol, 1993, 29, 67 Li, Am J Pathol, 1993, 143, 1551 c) Merales-Ducrot, J Immunol, 1992, 149, 1424 Tessier, Arthritis and Rheumatism, 1996, 39, 226 Devine, Immunology, 1996, 88, 456 Geo, Immunology, 1996, 89, 375 d) Lechleitner, J Exp Med, 1998, 12, 2023
VEGF Vascular endothelial growth factor	a) h: endometrial stromal cells b) h: T98G melanoma fibrosarcoma cell line HT1080	a) IFN- γ (d) b) IFN- γ (u)	VEGF is a heparin-binding, dimeric protein. It functions as a mitogen for endothelial cells, activates and is chemoattractant for monocytes, increases blood vessel permeability and is a procoagulant. Regulation: IFN- γ mediated inhibition occurs at mRNA and protein level.	a) Kuvshinov, Am J Reprod Immunol, 2000, 43, 47 b) Hoffman, Anticancer Res, 2000, 20, 4445 Der, PNAS, 1988, 95, 15623
Growth factor Chemoattractant				
Very low density lipoprotein receptor (VLDL receptor)	h: IM0	IFN- γ (d)	The VLDL receptor pathway may be involved in the foam cell formation mechanism in IM0. IFN- γ inhibits the VLDL receptor expression in a time- and dose-dependent manner and also inhibits the foam cell formation by β -VLDL.	Kosaka , Circulation, 2001, 103, 1142
Lipid transport/metabolism				
Vimentin	h: HeLa cells	IFN- γ (u)	Vimentin is an intermediate filament protein normally expressed in cells of mesenchymal origin. Induction is mediated by STAT1 α .	Izmailova , J Interferon Cytokine Res, 2000, 20, 13
Cytoskeleton ?				
Vitamin D receptor	h: keratinocytes	IFN- γ (d)	IFN- γ is a potent inducer of keratinocyte differentiation. Nuclear receptor whose expression seems to be associated with the differentiation state of keratinocytes (expressed only in undifferentiated, proliferating keratinocytes).	Segaert , J Invest Dermatol, 2000, 114, 494
Proliferation				
VLA-1 Very late antigen-1, $\beta_1\alpha_5$ integrin (CD29 + CD49a) β_1 subunit: CD29 α_5 subunit: CD49a	a) h: monocytes b) h: neuroblastoma cell line LAN-5	a) IFN- γ (u), LPS (u) b) IFN- γ (u), RA (u)	Integrin mediated cell attachment to extracellular matrix triggers signal transduction cascades that regulate numerous complex biological processes including cell proliferation, differentiation and migration, as well as tissue organization. Ligands: laminin and collagen.	Rubio , Eur J Immunol, 1995, 25, 2701 Rozzo , FEBS Lett, 1993, 332, 263
Cell migration Integrin Extracellular matrix				
VLA-2 Very late antigen-2, $\beta_1\alpha_5$ integrin (CD29 + CD49b); Extracellular matrix receptor-1 (ECMR-1) β_1 subunit: CD29 α_5 subunit: CD49a	h: lung fibroblasts, neuroblastoma cell line LAN-5	IFN- γ (u)	Integrin mediated cell attachment to extracellular matrix triggers signal transduction cascades that regulate numerous complex biological processes including cell proliferation, differentiation and migration, as well as tissue organization. Ligands: laminin and collagen.	Rozzo , FEBS Lett, 1993, 332, 263
Cell migration Integrin Extracellular matrix				
VLA-3 Very late antigen-3, $\beta_1\alpha_5$ integrin (CD29 + CD49c); Extracellular matrix receptor-1 (ECMR-1) β_1 subunit: CD29 α_5 subunit: CD49c	h: neuroblastoma cell line LAN-5	IFN- γ (u)	Integrin mediated cell attachment to extracellular matrix triggers signal transduction cascades that regulate numerous complex biological processes including cell proliferation, differentiation and migration, as well as tissue organization. Ligands: fibronectin, laminin and collagen.	Rozzo , FEBS Lett, 1993, 332, 263
Cell migration Integrin Extracellular matrix				
VLA-4 Very late antigen-4, $\beta_1\alpha_5$ integrin (CD29 + CD49d); LPAM-2 β_1 subunit: CD29 α_5 subunit: CD49d	h: a) monocytes b) melanoma cell line Mel10538	a) IFN- γ (u), IFN- β (d) b) IFN- γ (d), TNF- α (d), IL-1 β (d)	Integrin mediated cell attachment to extracellular matrix triggers signal transduction cascades that regulate numerous complex biological processes including cell proliferation, differentiation and migration, as well as tissue organization. Ligands: fibronectin and VCAM-1.	Sotlu-Hanninen , J Neuroimmunol, 1995, 60, 99 Mortarini , Int J Cancer, 1991, 47, 551
Cell migration Integrin Extracellular matrix				

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
VLA-5 Very late antigen-5; $\beta_1\alpha_5$ integrin (CD29 + CD49e); Fibronectin receptor (FNR) β_1 subunit: CD29 α_5 subunit: CD49e	a) h: vascular smooth muscle cells b) h: monocytes	a) IFN- γ (u), IL-1 β (u), TNF- α (u) b) IFN- γ (d), LPS (d), TGF- β (u) + IFN- γ (f)	VLA-5 is the main fibronectin receptor. The formation of atherosclerotic lesions requires the migration of vascular smooth muscle cells from the media into the intima of the artery and their proliferation. These events, which are preceded and accompanied by inflammation, are modulated by integrin receptors linking vascular smooth muscle cells to extracellular matrix molecules. Among them, fibronectin induces vascular smooth muscle cells to acquire the phenotype they show in atherosclerotic plaques. IFN- γ or LPS do not alter the expression of both mRNA subunits in monocyte derived M0. The gene regulation is dependent on the differentiation stage of the cells.	a) Battilani , <i>Atherosclerosis</i> , 2001, 154, 377 b) Kohn , <i>Exp Hematol</i> , 1991, 19, 653 c) Wang , <i>Exp Hematol</i> , 1991, 19, 653 d) Bauvois , <i>J Immunol</i> , 1992, 148, 3912
Cell migration Integrin Extracellular matrix				
VLA-6 Very late antigen-6; $\beta_1\alpha_6$ integrin, IC/IIa, CD29 + CD49f β_1 subunit: CD29 α_6 subunit: CD49f	m: lung fibroblasts	IFN- γ (u), TNF- α (u)	Integrin mediated cell attachment to extracellular matrix triggers signal transduction cascades that regulate numerous complex biological processes including cell proliferation, differentiation and migration, as well as tissue organization. Ligand: laminin. Regulator: increased α_6 subunit mRNA level.	Felch , <i>Reg Immunol</i> , 1992, 4, 363
Cell migration Integrin Extracellular matrix				
Wee1 Proliferation	h: Daudi Burkitt lymphoma cells	IFN- γ (d)	Wee1 act as a negative regulator of entry into mitosis (G \rightarrow M transition) by protecting the nucleus from cytoplasmically activated cyclin B1-complexed cdc2 before the onset of mitosis. Its activity increases during S and G $_2$ phases and decreases at M phase when it is hyperphosphorylated. A correlated decrease in protein level occurs at M-G $_2$ phase, probably due to its degradation. Specifically phosphorylates and inactivates cyclin B1-complexed cdc2 reaching a maximum during G $_2$ phase and a minimum as cells enter M phase.	Yamada , <i>Mol Cell Biochem</i> , 1994, 136, 117
Xanthine dehydrogenase Xanthine oxidoreductase	a) m: fibroblasts b) b: renal epithelial cells MDBK c) r: lung endothelial cells; hepatic cells (<i>in vivo</i>) d) h: mammary epithelial cells	a) IFN- γ (u), IFN- α (u), b) IFN- γ (u), TNF- α (u) c) IFN- γ (u) d) IFN- γ (u)	This enzyme can be converted from the dehydrogenase form to the oxidase form irreversibly by proteolysis or reversibly through the oxidation of sulfhydryl groups. The two forms differ mainly in their oxidizing substrate specificity. Both contain purine catabolic and salvage enzyme activities and can produce reactive oxygen forms that can be pathogenic. The IFN- γ mediated upregulation is independent of de novo protein synthesis. Inducible nitric oxide in M0 leads to post-transcriptional inhibition of xanthine dehydrogenase.	a) Falciani , <i>Biochem J</i> , 1992, 285, 1001 b) Pfeffer , <i>J Immunol</i> , 1994, 153, 1789 c) Dupont , <i>J Clin Invest</i> , 1992, 89, 197 d) Montano , <i>Biochim Biophys Acta</i> , 1989, 1427, 385 e) Page , <i>Biochim Biophys Acta</i> , 1990, 1381, 191
XPE UV-damaged DNA binding factor DDb1 DNA	m: bone marrow derived M0 from Stat1 $^{-/-}$ mice	IFN- γ (d)	Involved in the repair of UV-damaged DNA. Binds to pyrimidine dimers.	Gil , <i>PNAS</i> , 2001, 98, 6680
Zfx zinc finger protein Transcription factor	m: bone marrow derived M0 from Stat1 $^{-/-}$ mice	IFN- γ (d)	ZFX belongs to the krueppel family of c2h2-type zinc finger proteins and is probably a transcriptional activator.	Gil , <i>PNAS</i> , 2001, 98, 6680
Zic-1 Zinc finger protein of the cerebellum 1; ZNF201 Transcription factor	r: astrocytes	IFN- γ (u)	zic-1 may play a role in cerebellar development. zic-1 shows homology to the Drosophila pair-rule gene Opa (odd paired).	Kuchinke , <i>Neuroimmunomodulation</i> , 1995, 2, 347
Zinc-α_2-glycoprotein ZAG Lipid transport/metabolism? Extracellular matrix? Proliferation?	a) h: normal keratinocytes; mucosal and epidermoid epithelial cells b) h: psoriatic keratinocytes	a) IFN- γ (u) b) IFN- γ (d)	Soluble protein that is found in body fluids and in glandular epithelia. Participates in desquamation of normal skin. ZAG expresses enzymatic activity and plays a role in stratum corneum cohesion, furthermore it has a ribonuclease activity and it participates in the destruction of nuclei in terminally differentiating keratinocytes. ZAG stimulates lipid degradation in adipocytes and causes the extensive fat losses associated with some advanced cancers.	a) b) Chen , <i>FASEB J</i> , 2000, 14, 565 a) Brysk , <i>Anticancer Res</i> , 1997, 17, 3387
ZNF173 Zinc finger protein-173 Transcription factor?	h: fibrosarcoma cell line HT1080	IFN- γ (u), IFN- β (u), IFN- α (u)	The function is unknown.	Der , <i>PNAS</i> , 1998, 95, 15623
Zonula occludens-1 (ZO-1) Cell migration CAM	h: intestinal epithelial cells T84	IFN- γ (d)	ZO-1 is associated with tight junctions. IFN- γ decreases barrier function in T84 cells.	Youakim , <i>Am J Physiol</i> , 1999, 276, G1279
ZW1-homolog (Drosophila) centromere/kinetochore protein Unclassified	m: bone marrow derived M0	IFN- γ (d)	Specifically down-regulated in M0 (not in EFs).	Presti , <i>J Exp Med</i> , 2001, 193, 483

Gene name	Cell type	Induction	Function	Reference
Zyxin Proliferation ?	m: bone marrow derived M0	IFN- γ (d)	Zyxin is a phosphoprotein concentrated at adhesion plaques and along the actin filament bundles near where insert at the adhesive plaques. It has the molecular features of an intracellular signal transducer. The protein contains a proline-rich domain, shown to associate with SH3 domains of signal transduction proteins, that is also related to sequences in the ActA protein of <i>Listeria monocytogenes</i> . Furthermore the protein contains three LIM motifs, that are involved in protein-protein interactions, a nuclear export signal and a double zinc-finger domain found in many proteins that are involved in cell differentiation regulation. Zyxin is also able to interact with α -actinin and Ena/VASP family members. It has been implicated in the spatial control of actin filament assembly and in pathways important for cell differentiation.	Gil, PNAS, 2001, 98, 6680