

C-type lectin domain family 3 member A (CLEC3A) war zu Beginn dieser Arbeit ein wenig charakterisiertes Protein. Es wurde aufgrund seiner strukturellen Homologie zu Tetranectin in die Tetranectin-Gruppe (IX) der C-Type-Lectin-Like Domain Superfamily eingeordnet. Die Tetranectin-Gruppe setzt sich aus Tetranectin (CLEC3B), Stem cell growth factor (SCGF, CLEC11A) und CLEC3A zusammen. CLEC3A besitzt N-terminal eine kurze positiv geladene Sequenz, darauffolgend eine potentielle α -helikale Oligomerisierungs-Domäne und C-terminal eine globuläre *carbohydrate recognition domain* (CTLD/CRD). Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung der Struktur, der Gewebeverteilung und Funktion von CLEC3A.

Die Untersuchung der Struktur erfolgte bisher überwiegend anhand von Gensequenzanalysen. Vorausgesagt wurde, dass die N-terminale α -Helix von CLEC3A eine Coiled-Coil Struktur ausbilden könnte. Über diese potentielle Oligomerisierungsdomäne könnte CLEC3A Di-, Tri- oder höhere Oligomere ausbilden. Zur Untersuchung der Struktur wurde rekombinantes murines und humanes CLEC3A-Volllängenprotein und kürzere Formen von CLEC3A in HEK-293-EBNA-Zellen exprimiert und affinitätsgereinigt. Gegen humanes CLEC3A-Volllängenprotein wurde ein spezifisches Antiserum hergestellt und affinitätsgereinigt. Die Struktur von CLEC3A wurde mittels SDS- Polyacrylamidgelelektrophorese, Immunoblot, MALDI, Größenausschluss-Chromatographie, nativer- Polyacrylamidgelelektrophorese, native composite Agarose/Polyacrylamidgelelektrophorese, Circular-Dichroismus-Spektroskopie und Elektronenmikroskopie untersucht. Die strukturellen Analysen zeigten, dass CLEC3A hauptsächlich als Monomer vorkommt, aber auch Dimere und Trimere ausbilden kann. Vermutlich werden die Oligomere wie bei Tetranectin über eine α -helikale Coiled-Coil Struktur gebildet. Des Weiteren ist CLEC3A in der Lage, höhere Aggregate zu bilden. Weiterhin besitzt CLEC3A zwei potentielle O-Glykosylierungsstellen. Zur Untersuchung wurden mittels enzymatischem Verdau Glykananalysen durchgeführt. Es konnte gezeigt werden, dass CLEC3A-Volllängenprotein vermutlich N-terminal glykosyliert ist und Glykosaminoglykan-Seitenketten vom Chondroitin/Dermatansulfat-Typ besitzt. Die Gewebeverteilung von CLEC3A wurde bisher nur mittels Northern Blot und RT-PCR Analyse untersucht. Es zeigte sich eine knorpelspezifische Expression von CLEC3A. Zur systematischen Analyse der Gewebeverteilung soll die Expression von CLEC3A mittels RT-PCR, Gewebeextraktion und Immunoblot sowie immunhistologisch untersucht werden. Auf Proteinebene konnte CLEC3A nur im Knorpel nachgewiesen werden. In der Epiphyse

sowie in der Wachstumsfuge findet man CLEC3A im ruhenden, proliferierenden und hypertrophen Knorpel. Mittels RT-PCR konnte auch eine ektopische Expression von CLEC3A in verschiedenen Geweben nachgewiesen werden. Dies ließ sich auf Proteinebene jedoch nicht bestätigen. Bisher ist die biologische Funktion von CLEC3A weitestgehend unbekannt. Eine frühere Studie konnte zeigen, dass CLEC3A die Zelladhäsion von Tumorzellen über Laminin und Fibronectin fördert. Einige funktionelle Untersuchungen zeigten eine Wirkung von CLEC3A auf die Zelladhäsion und die Ausbildung von fokalen Adhäsionen auf RCS-Zellen. Weiterhin ist bekannt, dass Tetranectin an die Kringel4-Domäne von Plasminogen bindet und die t-PA-vermittelte Plasminogen-Aktivierung fördert. Die drei für die Plasminogen-Bindung verantwortlichen Aminosäuren sind in der CTLD/CRD von CLEC3A konserviert. Ob CLEC3A als Homolog von Tetranectin ebenfalls an Plasminogen bindet, war bisher unklar. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass CLEC3A spezifisch an Plasminogen bindet und die t-PA-vermittelte Plasminogen-Aktivierung fördert. Eine biologische Funktion von CLEC3A könnte möglicherweise die Beteiligung an der Regulation des Umbaus der extrazellulären Matrix durch eine Förderung der t-PA-vermittelten Plasminogen-Aktivierung sein.