

Celebi Oktay
Dr.med.

Ein Beitrag zur Charakterisierung des Centromere Proteins C (CENP C) durch Vergleich der DNA-Sequenzen verschiedener Spezies

Geboren am 05.11.1971
Reifeprüfung am 6/1991
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS/1992 bis WS2000
Physikum 04/1994 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Mannheim/Heidelberg
Praktisches Jahr in Mannheim
Staatsexamen am 02.05.2000 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: DKFZ (Deutsches Krebsforschungszentrum)
Doktervater: Prof. Dr. Neidhard Paweletz

Aufgabe dieser Arbeit war es, in verschiedenen Spezies nach einem Gen zu suchen, das homolog zum CENP C-Gen des Menschen ist und ein Protein der inneren Kinetochorplatte des Centromer-Kinetochor-Komplexes kodiert. Das Auffinden homologer Regionen aus verschiedenen Organismen hat besondere Bedeutung für die Erkennung evolutionär konservierter Bereiche, da aus deren Vorliegen Rückschlüsse auf erhaltene Funktionen des Proteins gemacht werden können.

Mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) und dem Screening von cDNA-Genbibliotheken wurden Zellen von der Ratte, dem Hamster, dem Rind, dem Huhn und der Fruchtfliege auf die Existenz des CENP C-Gens untersucht.

Die Basensequenzen für die notwendigen PCR-Primer wurden in einem Homologievergleich aus den konservierten Regionen bekannter CENP Cs von Mensch und Maus abgeleitet.

Das Screening von cDNA-Genbibliotheken von Hamster und Fruchtfliege wurde mit Digoxigenin markierten Sonden durchgeführt.

Es gelang mit Hilfe der PCR-Methode ca. 80% des kodierenden Hamster-CENP C-Gens zu entschlüsseln. Außerdem wurde das kodierende CENP C-Gen der Ratte mittels (nested)-PCR gänzlich beschrieben. Das Screening der Fruchtfliegen-cDNA-Genbibliothek brachte keinen Erfolg, vermutlich weil die DNA-Sonde die Sequenz des Fruchtfliege-CENP C-Gens nicht erkennen konnte.

Der Homologievergleich mit der Sequenzinformation von CENP C von Mensch und Maus und der Sequenz von Hamster und Ratte, läßt eine hochgradige Konservierung am Carboxy-Ende des Proteins erkennen, welche auch für mif2 aus Hefe und das CENP C aus Huhn gelten. Der aminoternale Bereich zeigt bis auf wenige Sequenzen eine geringgradige Homologie.

Der Homologievergleich gibt keinen Hinweis auf Phosphorylierungsstellen für p34^{CDC2} oder nukleoplasminähnliche Zellkernlokalisationssignale. Da keine bekannten Motive für eine DNA-Bindung gefunden wurden, wird die Hypothese aufgestellt, daß ein neues bisher unbekanntes DNA-Bindungsmotiv vorhanden sein könnte.

Die funktionelle Bedeutung einiger Lysine für die Erkennung des Ubiquitin-Proteasom-Systems zum Zweck der Degradation des Proteins konnte präzisiert werden. Gleichzeitig

wurde das Vorhandensein einer PEST-Sequenz und damit das Vorliegen eines alternativen Abbauweges ausgeschlossen.