

Tillman Dahme
Dr. med.

Identifikation und Charakterisierung von E2F6b, einer durch alternatives Spleißen und internen Translationsstart generierten Isoform des transkriptionellen Repressors E2F6

Geboren am 05.02.1976 in Heidelberg
Staatsexamen am 04.10.2004 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: DKFZ
Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. F. Rösl

Die Kontrolle des Zellzyklus unterliegt in eukaryontischen Zellen einer strengen Kontrolle durch verschiedene Regulationsmechanismen. Darunter fällt auch die transkriptionelle Kontrolle vieler Gene, die für die Phase der DNA-Replikation notwendig sind, durch die Familie der E2F-Transkriptionsfaktoren. Diese setzt sich zusammen aus 9 verschiedenen Mitgliedern, E2F1-E2F7 sowie DP1 und DP2. Die DP-Proteine bilden mit E2F1-E2F6 Heterodimere. E2F1-E2F5 können als transkriptionelle Aktivatoren agieren, werden jedoch durch Assoziation mit dem Retinoblastomprotein oder zwei mit diesem verwandten, so genannten Pocket-Proteinen zu transkriptionellen Repressoren. Im Gegensatz dazu sind E2F6 und E2F7 Pocket-Protein unabhängige transkriptionelle Repressoren. In dieser Arbeit wurde bei Expressionsanalysen von E2F6 mRNA in der Maus eine alternative Spleißform, E2F6b, identifiziert. Diese Spleißform enthielt das zuvor unbekannte Exon 2. Durch dieses neue Exon wird ein die Translation terminierendes Stop-Codon, sowie ein potentiell Start-Codon eingeführt. Durch Analyse von verschiedenen Fusions-Protein-Konstrukten, mit und ohne Exon 2, konnte gezeigt werden, dass die E2F6b mRNA durch internen Translationsstart in ein E2F6b Protein translatiert werden kann. Dieses gegenüber E2F6 am Amino-Terminus verkürzte Protein wurde durch Immunpräzipitation *in vivo* nachgewiesen. Bei Analysen der mRNA Expression in verschiedenen Organen und Geweben wurden E2F6 und E2F6b ubiquitär nachgewiesen. Die höchsten Konzentrationen fanden sich in Herz- und Skelettmuskel. Im Zellzyklus zeigte die mRNA Expression von E2F6 und E2F6b ein Maximum während der S-Phase. Insgesamt nahm dabei die Konzentration von E2F6b mRNA von der G₀- bis zur S-Phase stärker zu als die von E2F6. Obwohl zuvor dem in E2F6b fehlenden Amino-Terminus in der Maus eine Repressionsdomäne zugeschrieben worden war, konnte dieses die Transkription von zwei E2F-abhängigen Promotoren in Reporter-Gen Versuchen reprimieren. Durch die hier beschriebene Identifikation und Charakterisierung von E2F6b wird die Komplexität der E2F Transkriptionsfaktoren-Familie weiter erhöht.