

Jiao Yang

Dr. med.

Mediators of the mitotic crosstalk between the Endoplasmic Reticulum and the Kinetochore

Fach/Einrichtung: Zentrum für Molekulare Biologie Heidelberg

Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. Michael Knop

Während der Mitose werden genetisches Material und Organellen gleichmäßig auf zwei Tochterzellen verteilt. Dabei wird das große kontinuierliche endoplasmatische Retikulum (ER), welches aus ER-Tubuli, ER-Blättern und der Kernhülle besteht, mitotisch reorganisiert. Beginnend mit dem Zusammenbruch der Kernhülle in der späten Prophase wird das ER zum größten Teil aus dem zentralen Spindelpolbereich entfernt und um die Zentrosomen konzentriert, die während der Metaphase die ER-Spindelpole bilden. Während der Großteil des ERs in der Mitose von den Chromosomen befreit wird, wurde beobachtet, dass einige ER-Tubuli dynamisch durch den Spindelpolbereich verlaufen. Vorherige Immunfluoreszenz Daten aus dem Schlaitz Labor haben gezeigt, dass das tubuläre ER-Protein GFP-Sec61 β mit dem Kinetochor-Marker CREST in Hela Zellen zu überlappen scheint. Dies weist auf einen möglichen Crosstalk zwischen dem ER und Kinetochor hin. Der Mechanismus des ER-Kinetochor Crosstalks ist jedoch noch unklar.

Diese Arbeit zeigt, dass sich die ER-Tubuli von lebenden Hela Zellen dynamisch dem zentromeren Bereich zu nähern scheinen. In Zellen mit nicht ausgerichteten Chromosomen wurden deutlich mehr ER-Tubuli gefunden als in Zellen mit korrekt ausgerichteten. Diese Ergebnisse legen nahe, dass eine mögliche Interaktion zwischen ER und Kinetochor eine Rolle bei der Ausrichtung der Chromosomen spielen könnte. Es wurde spekuliert, dass mehrere potenzielle Mediatoren am ER-Kinetochor Crosstalk involviert sind. In dieser Arbeit wurde ein *Drosophila*-Embryo-Screening-Tool entwickelt, mit dem die mitotische Dynamik von ER und Kinetochor sichtbar gemacht werden konnte, um potenzielle Mediatoren zu finden. In Anbetracht seiner wichtigen Funktion bei der Membranfusion und Autophagie, macht die Lokalisierung von Snap29 am äußeren Kinetochor in S2-Zellen Snap29 zu einem vielversprechenden Kandidaten als Mediator im

ER-Kinetochor Crosstalk. Interessanterweise zeigten Snap29 RNAi *Drosophila*-Embryonen signifikant höhere Werte an aberranter ER-Morphologie und Segregationsdefekten, wie z.B. zurückbleibende Chromosomen, mitotische Fehler und nukleare Ausfälle. Konsistent hatten Snap29 depletierte Hela Zellen mehr fehlgerichtete bzw. nicht ausgerichtete Chromosomen und einen häufigeren Verlust der ER-Spindelpole. Diese Fakten unterstützen, dass Snap29 eine mögliche Rolle im Crosstalk zwischen ER und dem Kinetochor spielt.

Zw10, ein weiterer potenzieller Mediator, wurde aufgrund seiner Doppelfunktion im Spindel Assembly Checkpoint und Membran Transport im Rahmen dieser Arbeit untersucht. Bemerkenswerterweise führte die Zw10-Depletion in *Drosophila*-Embryonen zu einer erhöhten abnormalen mitotischen ER-Morphologie und mitotischen Defekten, insbesondere das Zurückbleiben der Chromosomen. Darüber hinaus waren fehlgerichtete bzw nicht ausgerichtete Chromosomen und das Versagen der Bildung von ER-Spindelpolen in Zw10-RNAi-Hela Zellen deutlich erhöht. Alle diese Beobachtungen zeigen die vielversprechende Funktion von Zw10 im ER-Kinetochor Crosstalk. Vorläufige Daten aus dem Schlaitz Labor zeigten, dass die Fam134C-Depletion in Hela Zellen signifikant erhöhte fehlgerichtete nicht ausgerichtete Chromosomen und aberrante ER-Morphologie wie konzentrische ER-Schichten und abnormal dichte ER-Bereiche verursachte. Zusätzlich wurden in dieser Studie ein erhöhtes Aufkommen an ER-Blasen, die mit falsch ausgerichteten Chromosomen umhüllt waren, in Abwesenheit von Fam134C in Hela Zellen beobachtet. Das mitotische ER konnte sich nicht um die Zentrosome herum ansammeln. Konsistent wurden in Fam134C-depletierten Hela Zellen mehr falsch / nicht ausgerichtete Chromosomen gefunden. Insgesamt scheint Fam134C eine wichtige Rolle bei der Regulierung des ER-Kinetochor Crosstalks zu spielen.

Zusammenfassend kann ein Crosstalk zwischen ER und Kinetochor durch Zw10, Snap29 oder FAM134C vermittelt werden, wodurch möglicherweise die Chromosomenausrichtung und die mitotische ER-Anordnung reguliert werden. Der Mechanismus ist jedoch noch nicht klar, und in Zukunft müssen weitere Forschungsarbeiten diesbezüglich durchgeführt werden.