

Matthias Johannes Kloor
Dr. med.

Analyse von Veränderungen in der Transkription des Tumor Susceptibility Gene TSG101 und eines neu identifizierten humanen Paralogen, UEV3, in klinischen Proben epithelialer und mesenchymaler Tumoren

Geboren am 24. 09. 1972 in Landau i. d. Pfalz
Reifeprüfung am 22. 6. 1992 in Ludwigshafen a. Rh.
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1993/94 bis SS 2000
Physikum am 28. 8. 1995 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Mannheim
Praktisches Jahr in Mannheim
Staatsexamen am 26. 05. 2000 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Pathologie
Doktorvater: Prof. Dr. med. M. von Knebel Doeberitz

Die homozygote Inaktivierung des *tsg101*-Gens der Maus führt zur malignen Transformation von Fibroblasten und zum Auswachsen von Tumoren in Nacktmäusen. Das humane *TSG101*-Gen war auf dem chromosomalen Locus 11p15.1-2 identifiziert worden, einer Region, die häufig von genetischen Veränderungen in malignen Tumoren betroffen ist. Aberrante Transkriptmuster von *TSG101* wurden in diversen epithelialen Malignomen, aber auch in nicht-tumorösen Geweben beschrieben. In der vorliegenden Arbeit wurden Zelllinien und klinische Proben von Zervixkarzinomen, Weichgewebesarkomen und korrespondierenden Normalgeweben auf die Transkription von *TSG101* untersucht. In allen Proben konnte das Wildtyp-Transkript von *TSG101* detektiert werden. Zusätzlich wurden in der Mehrzahl der Tumorproben, aber auch im Normalgewebe variante Transkripte beobachtet. Insgesamt wurden acht variante Transkripttypen identifiziert. Die identifizierten verkürzten *TSG101*-Transkripte stellen am ehesten alternative Spleißvarianten dar, das relative Expressionsniveau der varianten Transkripte war verglichen mit dem Wildtyp-Transkript gering. Eine Korrelation zwischen der Häufigkeit varianter Transkripte und Tumorprogression bzw. – histologie ergab sich bis auf eine Ausnahme nicht. Transkript A, das eine Deletion weiter Teile des kodierenden Bereichs aufweist, trat mit zunehmendem Dysplasiegrad klinischer Zervixproben in signifikant größerer Häufigkeit auf. Transkript A zeigt möglicherweise einen in Tumorzellen auftretenden Kontrollverlust der zellulären Spleißmaschinerie an und könnte daher eventuell in einer Kombination diagnostischer Marker Verwendung finden.

Größere genomische Deletionen konnten als Ursache verkürzter *TSG101*-Transkripte ausgeschlossen werden. Eine ursächliche Beteiligung von *TSG101*-Veränderungen an der Tumorigenese von Zervixkarzinom und Weichgewebesarkom ist nach den Ergebnissen dieser Arbeit nicht wahrscheinlich. Die Einordnung von *TSG101* als Tumorsuppressorgen erscheint somit nach Bewertung der im Rahmen dieser Arbeit erhaltenen Ergebnisse nicht gerechtfertigt.

Das humane TSG101-Protein war als Mitglied einer Familie varianter Ubiquitin-konjugierender Enzyme (UEV) charakterisiert worden, die zentral an der Interaktion und Sortierung von Proteinen, aber auch an DNA-Reparatur beteiligt sind. Neuere Studien haben gezeigt, dass die Ubiquitinierung darüber hinaus einen essentiellen Faktor bei endosomalen Sortierungsprozessen und Virusassemblierung darstellt. Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine neuartige humane UEV-cDNA isoliert und als partielles Paraloges zu *TSG101* charakterisiert. Die identifizierte Sequenz wurde als *UEV3* unter der Nummer AF503350 in den öffentlichen

Datenbanken abgelegt. Das *UEV3*-Gen konnte auf Chromosom 11p15 in enger Nachbarschaft der Gene TSG101 und LDH-C lokalisiert werden. Die UEV3-Aminosäuresequenz zeigt Homologie zu varianten Ubiquitin-Bindungsdomänen im N-terminalen Bereich und eine konservierte NAD-Bindungsdomäne am C-Terminus, wie man sie in der Familie der Laktat-Dehydrogenasen findet. Die Expression von *UEV3* konnte mit verschiedenen Methoden in allen untersuchten Proben nachgewiesen werden. Die Expressionsdaten und die Sequenzanalyse deuten darauf hin, dass die mRNA von *UEV3* in regulierter Menge vorliegt und für ein funktionelles Protein kodiert, welches ähnlich wie bereits charakterisierte Varianten Ubiquitin-konjugierender Enzyme wichtige Funktionen in der Zelle ausübt, wahrscheinlich aber andere Interaktionspartner besitzt. Weiterführende Analysen müssen das UEV3-Protein direkt nachweisen und seine physiologischen Funktionen aufklären.