

Zusammenfassung

DNS Topoisomerase II ist erforderlich für eine Anzahl von unabhängigen Aufgaben in dem DNS Metabolismus, insbesondere während der Mitose. Das kernständige Enzyme ist in der Lage, die DNS Topologie zu ändern, indem es vorübergehend Doppelstrangbrüche in der DNS erzeugt und eine intakte DNS-Helix durch die Bruchstelle führt, bevor es diese wieder ligiert. Säugtierzellen besitzen zwei eng verwandte aber genetisch verschiedene Isoformen der Topoisomerase II, genannt Topoisomerase II α und Topoisomerase II β . Die exakt Funktion der zwei Isoformen ist bisher unbekannt. Der Unterschied in ihrer Expression im Verlauf des Zellzyklus, in ihrer zellulären Lokalisation und ihrer Bindung an Chromatin weisen auf unterschiedlichen Funktionen von jeder dieser zwei Isoformen während der Mitose hin.

Im Rahmen meiner Arbeit hatte ich die Gelegenheit mit der humanen Zelllinie H69-VP zu arbeiten, die eine homozygote Deletion in der Nukleären Lokalisations Sequenz (NLS) im DNS Topoisomerase II α Gen aufweist. In dieser Zelllinie wurde Topoisomerase II α während der Interphase außerhalb des Kerns exprimiert, wohingegen Topoisomerase II β eine normale Lokalisation im Zellkern zeigte. Während der Mitose diffundierte die gesamte Topoisomerase II β trotz intranukleärem Mangel an II α -Isoform vom Chromatin ab. Dennoch waren 80% dieser Zellen lebensfähig, weil die Kondensation der Chromosomen und die Disjunktion mit der Hilfe von zytosolischen Topoisomerase II α stattfand, die sich mit niedriger Affinität an mitotisches Chromatin bindet. Folglich kann eine zunehmende Rate von non-Disjunktion in diesen Zellen festgestellt werden. Ungefähr 20 % dieser Zellen gingen zu Grunde. Keine der Isoformen war an mitotisches Chromatin gebunden, das als

unstrukturierte sphärische DNS erschien und keiner Disjunktion und Cytokinese unterzogen werden konnte.

In der ursprünglichen Zelllinie H69-WT wurden beide Isoformen innerhalb des Kerns exprimiert. Während der Mitose diffundierte Topoisomerase II β vom Chromatin in diesen Zellen ab, und Topoisomerase II α wurde mit einer hohen Affinität an mitotisches Chromatin gebunden. In diesen Zellen war der Genotyp meistens diploid und stabil. Daraus kann geschlossen werden, daß die hohe Affinität der Chromatin-Bindung von Topoisomerase II α essentiell für die chromosomale Kondensation und Disjunktion ist. Außerdem konnte Topoisomerase II β nicht die Funktionen der II α -Isoform übernehmen.

In Krebszellen wird ein zentrosomales Protein von drei individuellen Epitopen der humanen Topoisomerase II α erkannt. In vielen Aspekten unterscheidet sich das mit den Zentrosomen assoziierte Protein von der normalen kernständigen Topoisomerase II α . Das Topoisomerase II α -ähnliche Protein gleicht einer modifizierten Form von Topoisomerase II α mit einer vermeintlichen Größe von 205 kDa im Vergleich zu 170 kDa. Es ist bisher nicht geklärt, welche zusätzliche Mechanismen zu der beobachteten veränderten elektrophoretischen Mobilität führen. Das zentrosomale Protein ist weder eine Splice Variante noch eine hyperphosphorylierte Form von Topoisomerase II α . Die Expression der Topoisomerase II α ist konstant in allen Phasen des Zellzyklus und es taucht in proliferierenden und in ruhende Zellen auf. Es ist bisher noch nicht geklärt, ob eine Topoisomerase-Aktivität vorliegt. Diese Befunde deuten darauf hin, daß die Zentrosomen mit einer verschiedenen Form von Topoisomerase II α assoziiert sind, die wahrscheinlich von normalen Enzymen durch nicht-phosphorylierende post-translationelle Modifikation ausgeht.

Folglich könnte aktive Topoisomerase II von diesen Pool an aktiven Enzymen bei Anfang der Mitose freigesetzt werden, um die fehlende Enzymaktivität zu ersetzen.