

6 Zusammenfassung

Krankheitsverursachende Mutationen befinden sich häufig innerhalb des offenen Leserahmens von mRNAs, wo sie Struktur und Funktion des gebildeten Proteins beeinflussen. Eine Reihe von hereditären Erkrankungen wird jedoch nicht durch Mutationen hervorgerufen, die solche offensichtlichen Auswirkungen haben, sondern verschiedene Schritte des mRNA-Metabolismus verändern. In dieser Arbeit wurden am Beispiel zweier krankheitsverursachender Mutationen posttranskriptionale Mechanismen der Genexpressionsveränderung untersucht.

Im ersten Teil wurde der molekulare Mechanismus der Prothrombin 20210 G→A Mutation untersucht. Diese Mutation stellt einen der häufigsten genetischen Risikofaktoren für das Auftreten von Thrombosen dar und betrifft etwa 1-2% der Bevölkerung. Die G→A Transition verändert das letzte Nukleotid der 3'UTR der mRNA und verursacht erhöhte Prothrombin-Plasmakonzentrationen, die eine wichtige Rolle bei der Pathogenese der Krankheit spielen. Meine Untersuchungen zeigen, daß die G→A Mutation eine verstärkte Verwendung der 3'End-Prozessierungsstelle bewirkt, da das normale Prothrombin 3'End-Prozessierungssignal ineffizient erkannt wird. Dies resultiert in einer vermehrten Akkumulation von korrekt 3'End-prozessierter mRNA im Zytoplasma, die in Protein translatiert werden kann. Diese erhöhte Effizienz der 3'End-Prozessierung stellt einen neuartigen molekularen Mechanismus einer hereditären Erkrankung dar und erklärt die Rolle der Prothrombin 20210 G→A Mutation bei der Pathogenese von Thrombosen. Darüber hinaus zeigt diese Arbeit eindrucklich wie bereits eine nur geringe Abweichung der mRNA-Prozessierung für eine verbreitete und gefährliche Krankheit prädisponieren kann.

Im zweiten Teil wurde der Nonsense-vermittelte mRNA-Abbau (NMD), ein hochkonservierter Mechanismus der posttranskriptionalen mRNA-Qualitätskontrolle untersucht. Dieser Mechanismus, der zum raschen Abbau von Nonsense-mutierten mRNAs führt, spielt als modifizierender Faktor eine wichtige Rolle bei zahlreichen hereditären Erkrankungen. Besonders gut belegt ist dieser Effekt des NMD bei Nonsense-Mutationen des β -Globins die zur β -Thalassämie führen. Das β -Globin-Gen diente auch in dieser Arbeit zur Analyse von funktionellen

Charakteristika des NMD. Untersuchungen zur Rolle des Poly(A)-Schwanzes beim NMD zeigten eindeutig, daß der humane NMD poly(A)-unabhängig stattfindet. Weiterhin wurde ein experimentelles System entwickelt um Faktoren des humanen NMD zu identifizieren und charakterisieren. Diverse Deletionsmutanten des humanen NMD-Faktors hUpf3b wurden in diesem System auf ihre NMD-Aktivierung untersucht. Es zeigte sich, daß eine Region, die nachfolgend als Y14 Bindungsstelle identifiziert wurde, eine essentielle Rolle für die NMD-Funktion von hUpf3b spielt. Dies implizierte eine Funktion von Y14 beim NMD. Daher wurde die Wirkung von Y14 im experimentellen System untersucht, was zu einer außergewöhnlich starken Aktivierung des NMD führte. Zusammen definieren diese Experimente also eine wichtige Rolle von Y14 beim humanen NMD.

Die durch diese Arbeit gewonnenen Erkenntnisse zur Veränderung der Genexpression bei hereditären Erkrankungen liefern einen wichtigen Beitrag zum generellen Verständnis von Auswirkungen krankheitsverursachender Mutationen auf Schritte des mRNA-Stoffwechsels. Zusätzlich werden die Ergebnisse einen wesentlichen Einfluß auf zukünftige Untersuchungen der molekularen Pathogenese verschiedener Erbkrankheiten ausüben.