

1 Zusammenfassung

26S Proteasomen übernehmen die spezifische Degradation kurzlebiger Proteine im Zyto- und Nukleoplasma, einen Prozess, der nahezu in alle Zellprozesse eingreift. Das 20S Proteasom bildet den proteolytisch aktiven Kernkomplex, an den sich zwei regulatorische 19S Komplexe anlagern. 20S Proteasomen bestehen aus α - und β -Untereinheiten, die sich in vier Ringen mit $\alpha_{1-7}\beta_{1-7}\beta_{1-7}\alpha_{1-7}$ Konfiguration anordnen. Ein reifes 20S Proteasom entsteht aus zwei Vorläuferkomplexen, die sich aus einem α_{1-7} Ring und Vorläufern der β -Untereinheiten zusammensetzen. Während der Zusammenlagerung zweier Vorläuferkomplexe erfolgt in einer autokatalytischen Reaktion die Prozessierung der β -Untereinheiten unter Freisetzung der aktiven Zentren im Innenraum der Protease. Ein kleines Protein, genannt Ump1, wird mit den Vorläuferkomplexen assoziiert vorgefunden und unterstützt den Reifungsprozess, wobei es im Innenraum eingeschlossen und mit der Vervollständigung der Maturierung als erstes Substrat des 20S Proteasoms verdaut wird. In Hefe, einem Modellorganismus der eukaryontischen Zelle, haben wir 26S Proteasomen vorwiegend im Kern und an der Kernhüllendoppelmembran vorgefunden, so dass wir vermuten, dass proteasomale Proteolyse vorrangig in diesem Zellkompartiment benötigt wird.

Der Import von 26S Proteasomen in den Zellkern findet über Vorläuferkomplexe des 20S Proteasoms und Subkomplexen des regulatorischen 19S Komplexes statt, so dass nukleäre 26S Proteasomen im Kern assembliert werden. Der Rezeptor für klassische Kernlokalisationssequenzen, Karyopherin / Importin $\alpha\beta$, ist für den Import proteasomaler Komponenten verantwortlich. Klassische Kernlokalisationssequenzen proteasomaler Untereinheiten wurden identifiziert. Eine dieser Kernlokalisationssequenzen ist für den Import des Basiskomplexes des regulatorischen 19S Komplexes essentiell und somit für die Funktionalität des nukleären 26S Proteasoms unentbehrlich. Ein weiteres hochmolekulares nukleäres Protein, genannt Blm3, wurde mit einer späten Zwischenstufe der 20S Proteasomenreifung assoziiert vorgefunden und dürfte eine regulatorische Funktion bei der Maturierung des 20S Proteasoms im Kern einnehmen.

Der Einfluss von Blm3 und verwandter Proteine auf die Assemblierung des 26S

Proteasoms wird derzeit untersucht.

Zusammenfassend lassen sich unsere Ergebnisse in folgendem Modell für die Biogenese nukleärer 26S Proteasomen in Hefe veranschaulichen:

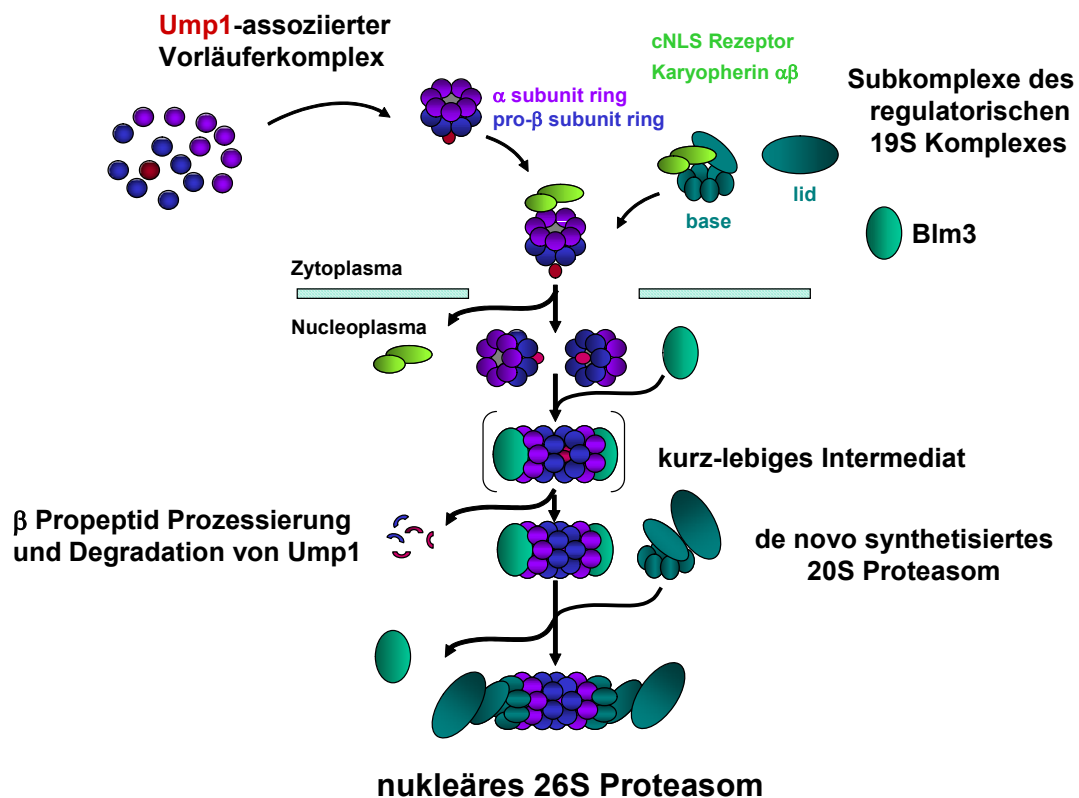


Abb. 1: Modell der nukleären Biogenese von 26S Proteasomen in Hefe. Proteasomale Untereinheiten werden im Zytoplasma in ihre Subkomplexe eingebaut. Vorläuferkomplexe des proteolytisch aktiven Kernkomplexes, des 20S Proteasoms, bestehen aus einem Ring α -Untereinheiten, Vorläufern der β -Untereinheiten und dem Maturierungsfaktor Ump1. Sie werden als halb-assemblierte 20S Proteasomen dargestellt. Subkomplexe des regulatorischen 19S Komplexes, genannt base (Basis) und lid (Deckel), enthalten acht bzw. elf verschiedene Untereinheiten. Vorläuferkomplexe und Basis-Komplexe werden über klassische Kernlokalisationssequenzen von Karyopherin / Importin $\alpha\beta$ erkannt und in den Kern importiert. Der Kernimport des Deckel Komplexes ist ebenso abhängig von Karyopherin $\alpha\beta$. Im Kern erfolgt die Dimerisierung zweier Vorläuferkomplexe zu einem kurzlebigen Intermediat, in dem die Prozessierung der β -Propeptide unter Freisetzung der aktiven Zentren im Innenraum des 20S Proteasoms erfolgt. Hierbei wird der Maturierungsfaktor Ump1 in der inneren Kavität eingeschlossen und zum ersten Substrat des reifen 20S Proteasoms. Ein hochmolekulares, nukleäres Protein, genannt Blm3, wird mit diesem späten Intermediat der 20S Proteasomenmaturierung assoziiert vorgefunden. Blm3 verlangsamt die Prozessierung der β -Untereinheiten und verzögert die Degradation von Ump1, so dass Blm3 eine Checkpoint Funktion bei der Assemblierung nukleärer Proteasomen einnehmen dürfte. Die Regulation der Assemblierung von 26S Proteasomen durch Blm3 und verwandter Proteine wird derzeit untersucht.

Im Ergebnisteil sind Eigenzitate durch einen Stern [Zitat]* markiert.