

Aus dem Institut für Pharmakologie/ Center for Cardiovascular
Research
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

„Molekulare, evolutionäre und klinische Charakterisierung
eines CpG-Mikrosatelliten-bindenden
Transkriptionsfaktorkomplexes und seines polymorphen *cis*-
Elements“

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Yaosi Li

aus Harbin/ China

Datum der Promotion: 25.10.2013

Inhaltsverzeichnis

Eidesstattliche Versicherung	I
Anteilerklärung	II
Publikation: „A polymorphic microsatellite repeat within the ECE-1c promoter is involved in transcriptional start site determination, human evolution, and Alzheimer's disease“	16807
Lebenslauf	IV
Publikationsliste	V
Danksagung	VI

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Yaosi Li, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Molekulare, evolutionäre und klinische Charakterisierung eines CpG-Mikrosatelliten-bindenden Transkriptionsfaktorkomplexes und seines polymorphen *cis*-Elements“ selbstständig und ohne nicht offen gelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Mein Anteil an der ausgewählten Publikation entspricht dem, der in der unten stehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Betreuer angegeben ist.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.

25.02.2013

Yaosi Li

Ausführliche Anteilserklärung an der erfolgten Publikation

Li Y, Seidel K, Marschall P, Klein M, Hope A, Schacherl J, Schmitz J, Menk M, Scheffe JH, Reinemund J, Hugel R, Walden P, Schlosser A, Volkmer R, Schimkus J, Kölsch H, Maier W, Kornhuber J, Frölich L, Klare S, Kirsch S, Schmerbach K, Scheele S, Grittner U, Zollmann F, Goldin-Lang P, Peters O, Kintscher U, Unger T, Funke-Kaiser H. A polymorphic microsatellite repeat within the ECE-1c promoter is involved in transcriptional start site determination, human evolution, and Alzheimer's disease. *J. Neurosci.* 2012 Nov; 32(47):16807-16820.

Der experimentelle Anteil der Promovendin an dieser Publikation lag im Bereich der Identifikation der ECE-1c Promotormikrosatelliten-bindenden Proteine bei 95 % (Zellkultur, fraktionierte Proteinisolierung, Gelfiltration, DNA-Affinitätschromatographie, *electromobility shift assay*, Transfektion), im Bereich des Nachweises der Funktionalität des polymorphen ECE-1c Promotor-*repeat* bei 95 % (Klonierung, Zellkultur, Transfektion) und im Bereich der Genotypisierung, Betrachtung des evolutionären Aspektes sowie Assoziation mit Alzheimer bei 60 % (Klonierung, Auswertung). Somit hat die Promovendin folgende experimentelle Anteile an den Abbildungen im Paper: Fig. 2 (100%), Fig. 4 (100%), Fig. 3 (95%), Fig. 6 (90%), Tab. 4 (80 %), Fig. 1B (70%) und Tab. 3 (70%).

Die strukturelle sowie inhaltliche Planung und das Verfassen des Papers erfolgte gemeinsam mit dem Letztautor.

Die große Zahl an Koautoren lässt sich unter anderem damit erklären, dass fünf Autoren (Kölsch H, Maier W, Kornhuber J, Frölich L, Peters O) dem Kompetenznetz Demenzen angehören, welches uns das genetische Material von 444 Alzheimer-Patienten und 403 Kontrollen zur Verfügung gestellt hat. Die Patienten und Kontrollpersonen dieses Netzwerkes sind umfangreich durch neuropsychologische Tests, Biomarker und radiologisch untersucht worden.

Drei weitere Autoren (Kintscher U, Unger T, Schimkus J) verdanken wir das Material aus der kardiovaskulären Population (Valsartan Studie) inkl. Blutabnahmen und Fettbiopsien für RNA-Spiegel-Bestimmungen bzgl. ECE-1c.

Vier weitere Autoren (Hugel R, Walden P, Schlosser A, Volkmer R) waren mit der Massenspektrometrie zur Identifizierung der *repeat*-bindenden Proteine betraut. Diese gehören zwei verschiedenen Arbeitsgruppen an, da es nicht viele MS-Geräte an der Charité gibt und diese zum Teil nur zeitweise genutzt werden konnten.

Somit verbleiben von den 30 Autoren noch 18, darunter eine Statistikerin (Grittner U), welche noch einmal die Auswertung kontrolliert hat.

Hr. Zollmann und Fr. Goldin-Lang haben beim Schreiben von Drittmittel- und Ethikanträgen geholfen, bei der Datenanalyse mitgearbeitet und weitere administrative Projektarbeiten wie z.B. das Einreichen des Manuskripts betreut.

Der Letztautor, Hr. Funke-Kaiser, hat das Projekt initiiert und konzeptioniert, die Finanzierung durch Einwerben von Drittmitteln gesichert, die Kooperationspartner rekrutiert, die Projektleitung inkl. inhaltlicher Betreuung der Mitarbeiter übernommen, Daten analysiert und das Manuskript mitverfasst.

An den eigentlichen experimentellen Aufgaben hatten die übrigen 13 Personen folgende Anteile an den Daten und Abbildungen, welche nicht durch die Erstautorin (Li Y) generiert wurden:

Fr. Seidel und Hr. Marschall sind maßgeblich an umfangreichen Analysen, die Fig. 1A und 1C zu Grunde liegen, beteiligt, mit Unterstützung von Fr. Schmerbach. Fr. Seidel hat zudem bei der Erstellung von Tabelle 3 mitgeholfen. Hr. Marschall hat die restlichen Anteile an Fig. 3 beigetragen.

Hr. Klein hat Daten für die Tabelle 3 generiert und bei den Transfektionen für die Daten zu Tabelle 4 mitgeholfen.

Fr. Hope hat in erster Linie Klonierungen und Sequenzierungen bzgl. der in Tabelle 3 genannten Daten durchgeführt.

An der Tabelle 3 haben insgesamt vier Personen (inkl. der Erstautorin) gearbeitet, da es sich dabei um Klonierungen und Sequenzierungen der Promotor-*repeats* von 111 ausgewählten Patienten bzw. Kontrollen sowie Schimpansen handelt, wobei Mehrfachbestimmungen von insgesamt 245 klonierten haplotypspezifischen Plasmiden zu Grunde lagen

Hr. Schacherl hat zusammen mit Hrn. Menk und Hrn. Scheffe die Daten der RACE (Fig. 5A,B) und des RPA (Fig. 5C) generiert. Zudem hat Hr. Schacherl die Erstautorin in fast alle wesentlichen Labormethoden eingearbeitet, bis auf die Methoden der Proteinchemie, welche ihr durch Fr. Schmitz vermittelt wurden

Fr. Reinemund hat zusammen mit Fr. Scheele, Hrn. Kirsch und Fr. Klare Daten der Tabelle 2 erhoben. In diese Tabelle sind 298 RT-PCR-Läufe in Triplika-Messung eingeflossen. Ferner haben Fr. Reinemund und Fr. Scheele die in Tabelle 1 aufgeführten Genotypisierungen durchgeführt.

Yaosi Li

Publikation

„A polymorphic microsatellite repeat within the ECE-1c promoter is involved in transcriptional start site determination, human evolution, and Alzheimer's disease“

Quelle: doi: 10.1523/JNEUROSCI.2636-12.2012

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Publikationsliste

1. Reinemund J, Seidel K, Steckelings UM, Zaade D, Klare S, Rompe F, Katerbaum M, Schacherl J, **Li Y**, Menk M, Schefe JH, Goldin-Lang P, Szabo C, Olah G, Unger T, Funke-Kaiser H. Poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) transcriptionally regulates angiotensin AT2 receptor (AT2R) and AT2R binding protein (ATBP) genes. *Biochem Pharmacol.* 2009 Jun 15;77(12):1795-805.
2. Seidel K, Kirsch S, Lucht K, Zaade D, Reinemund J, Schmitz J, Klare S, **Li Y**, Schefe JH, Schmerbach K, Goldin-Lang P, Zollmann FS, Thöne-Reineke C, Unger T, Funke-Kaiser H. The promyelocytic leukemia zinc finger (PLZF) protein exerts neuroprotective effects in neuronal cells and is dysregulated in experimental stroke. *Brain Pathol.* 2011 Jan; 21(1):31-443.
3. **Li Y**, Seidel K, Marschall P, Klein M, Hope A, Schacherl J, Menk M, Schefe JH, Reinemund J, Hugel R, Walden P, Schlosser A, Volkmer R, Schimkus J, Kölsch H, Maier W, Kornhuber J, Frölich L, Klare S, Kirsch S, Schmerbach K, Scheele S, Grittner U, Zollmann F, Goldin-Lang P, Peters O, Kintscher U, Unger T, Funke-Kaiser H. A polymorphic microsatellite repeat within the ECE-1c promoter is involved in transcriptional start site determination, human evolution, and Alzheimer's disease. *J Neurosci.* 2012 Nov 21;32(47):16807-20.

Danksagung

Mein größter Dank sowie meine größte Bewunderung gehören meinen Eltern für all die Liebe, die sie mir gegeben haben, all die Werte, die sie mir vermittelt haben, und all die Möglichkeiten im Leben, die sie mir ermöglicht haben.

Des Weiteren möchte ich mich bei Hrn. PD Dr. Funke-Kaiser, meinem Betreuer und Doktorvater, für seine Betreuung, seine Begeisterung für das Projekt, die anregenden Diskussionen und Gespräche sowie sein stets offenes Ohr bedanken. Ein Paper ist mit Abschluss der Experimente und des Verfassens noch lange nicht fertig. Vielen Dank, Petra, dass Du das Paper unzählige Male umformatiert und bei den Journals hochgeladen hast.

Bei experimentellen Doktorarbeiten läuft in der Regel nicht immer alles glatt. Meist sind Erfolge kleine Lichtpunkte zwischen langen Strecken des Herumirrens in der Düsternis. Was wären diese Zeiten ohne Kollegen/-innen, die einem mit Rat und Tat, einer helfenden Hand an der Bench, mit tröstenden Worten oder auch einem flüssigem Antidepressivum in Form von Bockbier, mit Eisorgien und kiloweise Malteser zu Seite stehen? Auch an Euch - Danke!