
2 ZIELSETZUNG

In Anbetracht der sehr ähnlichen DNA-Bindungsspezifität von GAF und Psq muß die Frage gestellt werden, in welcher funktionellen Beziehung die beiden Proteine zueinander stehen. Um diese Frage zu beantworten, sollte zunächst geprüft werden, ob beide Proteine in vivo an gemeinsame chromosomale Loci binden. Durch Doppelfärbung polytärer Chromosomen sollten diese Bindungsstellen lokalisiert und so gemeinsame Zielgene identifiziert werden.

Desweiteren sollte geprüft werden, ob Psq und GAF gemeinsam in vivo in einem Proteinkomplex vorliegen. Diese Frage sollte über Immunpräzipitationsexperimente geklärt werden.

Beide Faktoren haben neben ihren DNA-Bindungsdomänen eine BTB/POZ-Domäne. Es ist bekannt, daß diese hochkonservierte Domäne Protein-Protein-Interaktionen vermittelt. In-vitro-Bindungsstudien sollten zeigen, ob Psq und GAF direkt aneinander binden können und wenn ja, ob die BTB/POZ-Domäne für die Bindung verantwortlich ist.

GAF bindet an centromerischem Heterochromatin mitotischer Chromosomen. Durch eine Analyse von Mutanten konnte gezeigt werden, daß diese Bindung eine Rolle des GAF bei der Kondensierung und Trennung von Chromosomen bei der Mitose reflektiert. Ob Psq gemeinsam mit GAF ebenfalls an centromere Regionen bindet, sollte durch Immundoppelfärbungen mitotischer Chromosomen getestet werden.

Weitere Experimente sollten die funktionelle Beziehung zwischen Psq und GAF näher beleuchten. Ein Ansatz, dies zu tun, ist die Analyse einer möglichen genetischen Interaktion zwischen beiden Genen. Einem Beitrag dazu könnte die Untersuchung einer möglichen Rolle von Psq bei der Kontrolle homöotischer Genexpression liefern, denn die Funktion von GAF bei der Regulation der Expression homöotischer Gene ist besonders gut untersucht. Diese Untersuchung könnte einen Hinweis auf eine mögliche Kooperation beider Proteine geben. Der kooperative Charakter von Psq und GAF könnte dann durch die Immunlokalisationsstudien polytärer Chromosomen auf gemeinsame andere Bindungsloci übertragen werden.

Ein weiteres Indiz, das für eine funktionelle Beziehung zwischen Psq und GAF sprechen würde, wäre ein möglicher Einfluß von psq-Mutanten auf die PEV. Die Verwendung dieses genetischen Systems könnte auf einfache Weise demonstrieren, ob psq ähnliche Funktionen wie Trl bei der Genregulation durch Veränderung der Chromatinstruktur ausübt.

Über die Wirkungsweise vieler Mitglieder der Psq-Proteinfamilie ist bisher wenig bekannt. Es liegen nur für einige der Mitglieder der Psq-Proteinfamilie experimentelle Daten vor, die belegen, daß die Psq-Domäne eine funktionelle DNA-Bindungsdomäne ist. Die Charakterisierung eines weiteren Mitglieds der Psq-Proteinfamilie sollte dazu beitragen, die Wirkungsweise der Proteine dieser Familie näher zu bestimmen. Außerdem sollte dies helfen, die funktionellen Besonderheiten der Psq-Domäne als neuartige DNA-Bindungsdomäne besser zu verstehen.

Als weiteres Mitglied der Psq-Familie wurde Piefke (Pfk) zur weiteren Charakterisierung gewählt, wobei zunächst eine vollständige pfk-cDNA isoliert werden sollte.

Um die Expression und intrazelluläre Lokalisierung von Pfk zu analysieren, sollten Antikörper gegen das Protein erzeugt werden. Hierzu sollte Pfk zunächst rekombinant bakteriell exprimiert werden und das gereinigte Protein zur Generierung von Antikörpern eingesetzt werden.

Ob Pfk eine Chromatinkomponente ist, sollte durch Immunfärbung polytärer Chromosomen geprüft werden. Eine Bindung an polytäre Chromosomen würde zudem ein Indiz dafür liefern, daß Pfk DNA-bindende Fähigkeiten besitzt. Bindungsloci von Pfk könnten dann mit der Bindung anderer DNA-Bindungsproteine verglichen und so mögliche Zielgene von Pfk identifiziert werden.