

Zusammenfassung

Die in der vorliegenden Arbeit erstellten Experimente beschreiben Effekte, die durch das kontrollierte Abschalten eines für die Initiation der DNA-Replikation essentiellen Gens in nicht transformierten humanen Zellen hervorgerufen wurden. Das Protein MCM4, Mitglied des heterohexameren MCM-Komplexes mit einer putativen DNA-Helicase-Aktivität, wurde durch Antisense-Technologien in primären humanen Lungenfibroblasten ausgeschaltet. Dieses Phänomen wurde sowohl auf mRNA als auch auf Proteinebene bestätigt. Es konnte erfolgreich gezeigt werden, dass die Abwesenheit von MCM4 zur Degradation anderer Protein des MCM-Komplexes führt. Dieser Prozess läuft mit schneller Kinetik ab. Hierbei handelt es sich um eine bis dahin nicht publizierte Beobachtung. Abschalten des MCM4 löst den Chromatin gebundenen MCM-Komplex auf, Woraus eine Blockade der DNA-Synthese resultiert. Zusätzlich zeigen Zellen ohne MCM-Komplex drastisch verlängerte Verdopplungszeiten, was praktisch zu einer kompletten Proliferationsblockade führt. Der exakte Punkt, an dem die Zellzyklusblockade stattfindet, konnte im Rahmen dieser Arbeit bestimmt werden. Zellen, die durch den Entzug eines mitogenen Stimulus in der G₀-Phase arretiert wurden, Können ohne Neubildung eines funktionellen MCM Komplexes die Proliferation nicht wieder aufnehmen. Zusätzlich zum Beitrag dieser Arbeit zur Klärung einiger essentieller Funktionen der MCM-Proteine können diese Resultate eine Basis für weitere Studien zur Initiation der DNA-Replikation in primären humanen Zellen liefern. Dies ist besonders für medizinische Aspekte, in denen die MCM-Proteine mögliche Angriffspunkte in der Behandlung von Krebserkrankungen darstellen könnten, von großem Interesse.