

Geleitwort

Grundlage für eine langfristige Verbesserung des Behandlungserfolgs von Krebs ist ein molekulares Verständnis der Mechanismen, welche zur Krankheitsentstehung und Progression beitragen. In diesem Zusammenhang spielt vor allem der Prozess des programmierten Zelltods, der Apoptose eine wichtige Rolle. Neben den pro-apoptotischen Caspasen spielen in diesem stringent regulierten Prozess die anti-apoptotischen Mitglieder der hochkonservierten IAP (*Inhibitors of Apoptosis Proteins*)-Familie eine wichtige Rolle. Dem IAP Survivin wird eine entscheidende Rolle bei der Krebsentstehung sowie der Therapieresistenz zugeschrieben. Abgesehen von seiner Funktion als Apoptose-Inhibitor ist Survivin als Regulator der Zellteilung für eine korrekte Verteilung der Chromosomen verantwortlich, indem es als Teil des *Chromosomal Passenger Complex* (CPC) für dessen Anlagerung an die Zentromere sorgt. Für Survivin's duale Funktion ist ein intrinsisches nukleäres Exportsignal (NES) und dessen Interaktion mit dem Exportrezeptor Crm1 essentiell. Darüberhinaus liegt Survivin in Lösung als Dimer vor, allerdings sind die zugrundeliegenden molekularen Mechanismen sowie die biologische Funktion der Dimerisierung noch unverstanden.

So hat Herr Dannheisig die Auswirkung der Acetylierung von Survivin an Lysin 129 auf die Interaktion mit Crm1 und die Homodimerisierung in einer stabilen, induzierbaren Zelllinie mikroskopisch mittels FRET und Proximity Ligation Assay (PLA)-Analysen sowie funktionell hinsichtlich der Apoptose-Inhibition untersucht. Um einen möglichen Einfluss endogenen Survivins auf die Versuche ausschließen zu können, sollte Herr Dannheisig spezielles HeLa-Derivat, die sogenannte Flp-In T-Rex-Zelllinie verwenden, um die induzierbare Expression der entsprechenden Survivin-Mutanten zu ermöglichen. Nach Transfektion mit den unterschiedlichen Mutanten und anschließender Selektion konnte Herr Dannheisig die korrekte genomische Integration aller myc-getaggten Survivin-Varianten - WT, DIM (F101A + L102A), K129A, K129E, K129Q und K129R - mittels gDNA-Sequenzierung bestätigen. Nach Tetrazyklin-Induktion der Varianten analysierte Herr

Dannheisig die Auswirkungen der Lysin129-Modifikation in unterschiedlichen Experimenten, beginnend mit der Interaktion mit dem Exportrezeptor Crm1 mittels eines sogenannten Proximity Ligation Assays (PLA). Hier konnte Herr Dannheisig zeigen, dass neben Survivin WT nur die K129Q-Mutante in der Lage war, mit Crm1 zu interagieren, nicht aber die Dimerisierungs- oder die Acetylierungs-defizienten Mutanten DIM und K129R. Leider konnten diese äußerst interessanten Ergebnisse in einem Mikroskopie-basierten FRET-Assay mit Survivin-Varianten als Cerulean-Fusionen sowie einem Citrine-Crm1-Expressionskonstrukt bislang nicht bestätigt werden, da wahrscheinlich aufgrund einer ungünstigen Ausrichtung der Interaktionspartner und/oder der Fusionstags kein FRET-Signal detektierbar war. Die Funktionalität der entsprechenden Survivin-FRET-Konstrukte konnte von Herrn Dannheisig allerdings in einem weiteren FRET-Assay zur Homodimerisierung von Survivin eindeutig nachgewiesen werden. Hier zeigte der Wildtyp ein deutliches Interaktionssignal, nicht aber die Dimerisierungs-defiziente Mutante. Die beiden Acetylierungs-Mutanten K129Q und K129R unterschieden sich in ihrem Dimerisierungsverhalten allerdings nicht signifikant vom WT, was im Einklang mit anderen Ergebnissen unserer Arbeitsgruppe bisher publizierten Studien entgegensteht.

Zusammengefasst lässt sich sagen, dass die wirklich überaus umfangreichen experimentellen Daten von Herrn Dannheisig erstmalig eine Quantifizierung der Survivin-Crm1-Interaktion über die Messung des PLA-Signals sowie der Survivin-Homodimerisierung mittels FRET im zellulären Kontext erlauben. Dies ermöglicht uns, aktuell in *in vitro*-Ansätzen untersuchte chemische Modulatoren dieser beiden Interaktionen künftig auch im zellulären System testen zu können – ein essentieller Schritt zur Weiterentwicklung in mögliche Krebstherapeutika. So bleibt der Arbeit von David Dannheisig zu wünschen, dass sie eine breite und fachlich interessierte Leserschaft findet.

Prof. Dr. Shirley Knauer

Impact of Survivin Acetylation on its Biological Function

Dannheisig, D.

2017, XXIII, 104 p. 41 illus., 10 illus. in color., Softcover

ISBN: 978-3-658-18622-7