

7 Zusammenfassung

Der Tumorsuppressor p53 ist ein multifunktionaler Transkriptionsfaktor, der in Abhängigkeit von der Schwere eines DNA-Schadens einen Zellzyklus-Arrest zur Reparatur der Zelle oder die Apoptose auslöst. Der Redox Faktor 1 (Ref-1) ist ein Protein der Basen-Exzisionsreparatur, an der auch p53 aktiv beteiligt ist, und vermag verschiedene Transkriptionsfaktoren, u. a. auch p53, durch Redoxmodulation zu aktivieren. Zur Aktivierung von p53 durch Ref-1 wurde ein Redox-unabhängiger Mechanismus, entsprechend einer Bindung durch den monoklonalen Anti-p53-Antikörper pAb421, vorgeschlagen. pAb421 verhindert die Bindung der regulatorischen Domäne von p53 an DNA, was zu einer effektiven Bindung der p53-Kerndomäne an die p53-Konsensussequenz in linearer Konformation führt (sequenzspezifische DNA-Bindung).

In dieser Arbeit sollte untersucht werden, ob die Ref-1-vermittelte Aktivierung von p53 ausschließlich Redox-reguliert ist oder ob Ref-1 zusätzlich die Bindung der regulatorischen Domäne von p53 an DNA verhindert und dadurch Redox-unabhängig die sequenzspezifische DNA-Bindung von p53 steigert. Zur Klärung der Frage wurde der Einfluss von pAb421, Dithiothreitol (DTT) und Ref-1 auf die spezifische Bindung von p53 an drei verschiedene Nukleinsäuresubstrate untersucht. Während pAb421 die spezifische Nukleinsäurebindung von p53 an ein sequenzspezifisches Substrat steigerte und die Bindung an strukturspezifische Substrate (spezifische DNA und RNA in nicht-linearer Konformation) verminderte, steigerten DTT und Ref-1 die spezifische Nukleinsäurebindung von p53 an alle drei Substrate.

Die signifikant unterschiedlichen Einflüsse von pAb421 und Ref-1 auf die strukturspezifische Nukleinsäurebindung von p53 beweisen, dass Ref-1 nicht wie pAb421 die Bindung der regulatorischen Domäne an DNA verhindert. Die Analogie des Einflusses von Ref-1 und DTT in der Steigerung der spezifischen Nukleinsäurebindung von p53 hingegen legen den Schluss nahe, dass die Interaktion in einer reinen Redoxmodulation von p53 resultiert.

In dieser Arbeit hat sich weiterhin gezeigt, dass Ref-1 die Quartärstruktur von p53 beeinflusst. p53 bildet aus Protomeren Dimere und Tetramere. Diese Assemblierung wird durch die Oligomerisierungsdomäne von p53 vermittelt. Ref-1 wirkt auch als Assemblierungs- und Koordinierungsfaktor für den Proteinkomplex der Basen-Exzisionsreparatur. Diese Arbeit zeigt, dass der Einfluss von Ref-1 zu einer Assemblierung von p53-Dimeren zum Tetramer führt. Die Tetramerisierung von p53 wird von der Redox-Regulationsdomäne vermittelt. Für eine Redox-abhängige Bildung des p53-Tetramers konnten jedoch keine Hinweise gefunden werden.

p53-Tetramere können weiter zu Multimeren assoziieren. Dies wird als Stapelung bezeichnet und wird von der p53-Kerndomäne vermittelt. Die Stapelung von p53 ist ebenfalls ein Redox-unabhängiger Vorgang. Diese Arbeit zeigt, dass der Einfluss von Ref-1 zu einer Entstapelung von p53-Multimeren zum Tetramer führt.

Das Tetramer stellt einen wichtigen Schritt zur Aktivierung von p53 als Tumorsuppressor dar. Die gewonnenen Erkenntnisse unterstützen die Annahme, dass Ref-1 einen „molekularen Schalter“ für die Aktivität des Tumorsuppressors p53 darstellt.