

## Abstract

Schäden der DNA können durch eine Reihe von Umwelteinflüssen entstehen. Durch das zelleigene Kontrollsystem sollen diese Schäden durch zelluläre Reparaturmechanismen behoben werden. Bei weiterhin teilungsfähigen Zellen würde sich sonst der Schaden auf die Tochterzellen übertragen und somit eine carcinogen Transformation begünstigen.

In sich teilenden Zellen werden durch Zellzykluskontrollpunkte die Zellen nach DNA Schädigung im Zyklus angehalten bis die Schäden repariert sind. Die am besten untersuchten Zellzykluskontrollpunkte sind am G1/S Übergang, unmittelbar vor der DNA Replikation und in der G2-Phase, vor der Mitose. Bisher weitgehend unklar ist, ob die in den Zellen in der S-Phase Reparatur stattfindet.

Diese Arbeit beschäftigt sich mit zellulären Proteinen, die in der DNA Replikation, der Tumorentstehung und der Zellzykluskontrolle eine Rolle spielen.

Der Zellzyklus wird durch verschiedene Cycline und deren regulatorischen Untereinheiten, den Cdks, die deren Aktivität und Substratspezifität regulieren, kontrolliert. Die DNA Polymerase  $\alpha$ -Primase ist das einzige Enzym, das die Initiation der DNA Synthese *de novo* katalysieren kann. Das Enzym besteht aus vier Untereinheiten, wobei die 180 kDa Untereinheit die katalytische ist und in der Zelle in zwei verschiedenen Phosphorylierungsstufen existiert, die durch die Cyclin/Cdk Komplexe synthetisiert werden.

Das Tumorsuppressorprotein p53 ist in über 50% der menschlichen Tumoren mutiert. Funktionsfähiges, wtp53, ist in DNA geschädigten Zellen an dem Zellzyklusarrest am G1/S Übergang und auch in der G2-Phase mitbeteiligt. Durch Komplexbildung von p53 mit Cyclin/Cdk werden für das voranschreiten im Zellzyklus notwendige Proteine nicht in ihre aktive Form überführt.

In dieser Arbeit konnte *in vitro* und *in vivo* eine bisher noch nicht untersuchte Komplexbildung der 180 kDa Untereinheit der DNA Polymerase  $\alpha$ -Primase mit dem Tumorsuppressor p53 in verschiedenen humanen Zelllinien gezeigt werden. p53 bindet an die hypophosphorylierte Untereinheit, die für die Initiation an den *origins* zuständig ist. Dieser Komplex ist bei wtp53 nur in der S-Phase von DNA geschädigten Zellen nachweisbar. Durch diese Komplexbildung wird in den Zellen eine S-Phasen Attenuation erzeugt, die eine reparaturgekoppelte DNA Replikation ermöglicht. Erst nach vollendeter Reparatur wird dieser Komplex durch Phosphorylierung durch einen Cyclin/Cdk Komplex gesprengt und die Zelle kann im Zellzyklus voranschreiten.