

6. Zusammenfassung

Das humane Kernprotein ‚Scaffold Attachment Factor A‘ (SAF-A) ist ein multifunktionelles Zellkernprotein, das sowohl an der mRNA-Reifung als auch an der DNA-Replikation beteiligt ist. Aufgrund seiner Lokalisation in Kernmatrixstrukturen und seiner spezifischen Bindung an SAR/MAR-DNA nimmt SAF-A vermutlich eine strukturierende Aufgabe bei der Organisation des Chromatins im Zellkern ein. In dieser Arbeit wurden drei funktionelle Domänen des Proteins detailliert untersucht, die für die Kernlokalisierung, die spezifische DNA-Bindung und die Multimerisierung des Proteins verantwortlich sind.

In dieser Arbeit konnte erstmals nachgewiesen werden, dass die Kernlokalisierung des SAF-A von einer neun Aminosäuren großen NLS im aminoterminalen Drittel des Proteins vermittelt wird. Ein zweites vorhergesagtes Signal innerhalb der SAF-Box ist nicht funktionell für Gesamt-SAF-A, wie durch fluoreszenzmikroskopische Analysen mutierter SAF-Box- und SAF-A-Proteine gezeigt werden konnte.

Durch Mutationsanalysen der evolutionär konservierten SAF-Box wurden die für die DNA-Bindung des Proteins notwendigen Aminosäurereste bestimmt. Über verschiedene experimentelle Ansätze konnte gezeigt werden, dass bis auf zwei, alle der elf SAF-Box-Mutanten die Fähigkeit zu DNA-Bindung verloren haben. Auf diese Ergebnisse aufbauend wurde die Rolle der DNA-Bindung für die Funktion des Gesamtproteins untersucht. Als Ergebnis dieser Arbeiten konnte ein dominant negatives SAF-A-Konstrukt hergestellt werden, bei dem eine einzige Punktmutation nicht nur zum Verlust der DNA-Bindung, sondern darüber hinaus zu einer Umgestaltung des Kerngerüsts und einer Blockade der DNA-Replikation führt.

In einem weiteren Teil dieser Arbeit wurde die Domäne charakterisiert, die für die Multimerisierung von SAF-A verantwortlich ist. Es zeigte sich, dass die Multimerisierung von SAF-A durch eine direkte Interaktion der carboxyterminalen 84 Aminosäuren vermittelt wird. Vergleichende Analysen mit weiteren carboxyterminalen Teilkonstrukten des SAF-A zeigten, dass die Multimerisierungsdomäne maßgeblich an der Bindung des SAF-A an Kerngerüststrukturen beteiligt ist.

Diese Ergebnisse belegen zum ersten Mal die funktionelle Relevanz der DNA-Bindung und Multimerisierung von SAF-A für die DNA-Replikation und Zellproliferation. Dies stärkt die kontrovers diskutierte Hypothese, dass Gerüststrukturen des Zellkerns in der lebenden Zelle an essentiellen genetischen Prozessen beteiligt sind.