

## Zusammenfassung

Das humane La-Protein ist ein RNA-bindendes Protein, welches nicht nur bei vielen viralen Infektionen, sondern auch bei zellulären Prozessen eine wichtige Rolle spielt. Im Zusammenhang mit einer potentiellen Nutzung des humanen La-Proteins als Zielstruktur für neue antivirale Therapeutika ist die detaillierte Untersuchung seiner zellulären Funktionen unerlässlich. Da von Beginn der Arbeit bis zum heutigen Zeitpunkt keine Daten hinsichtlich der Notwendigkeit des La-Proteins für die Überlebens- und Wachstumsfähigkeit humaner Zellen veröffentlicht wurden, sollte diese Fragestellung in der vorliegenden Arbeit unter Verwendung der RNA-Interferenz-Technik bearbeitet werden.

Um diese außerordentlich wichtigen Gesichtspunkte eingehend untersuchen zu können, wurde die Wirksamkeit der RNA-Interferenz gegen das humane La-Protein in verschiedenen Zelllinien getestet und optimiert. Durch Variation einer Vielzahl von Parametern gelang es, die Proteinexpression effizient und reproduzierbar zu senken. Bereits während der Vorexperimente offenbarte sich bei verminderter La-Proteinexpression ein Zellvermehrungsdefizit, welches in nachfolgenden Studien bestätigt werden konnte. Die schwerwiegenden Defekte bei der Zellvermehrung korrelierten in U2OS-Zellen mit einer erhöhten G1-Population und wurden in HeLa-Zellen auf eine generelle Verlangsamung des Zellzyklus zurückgeführt. Zugleich wurde ein verminderter Proteinspiegel von bestimmten Zyklinen, die für das Fortschreiten des Zellzyklus von besonderer Bedeutung sind, nachgewiesen. Während in U2OS-Zellen eine zeitabhängige Verminderung des Zyklin E-Proteinspiegels beobachtet wurde, zeigte sich in HeLa-Zellen nach der Senkung des hLa-Proteinspiegels eine dauerhafte und drastische Verminderung von Zyklin D1. Ein unspezifischer Effekt der RNA-Interferenz konnte als Ursache hierfür durch die Überexpression eines GFP-La-Fusionsproteins in Zellen mit vermindertem endogenen hLa-Proteinspiegel ausgeschlossen werden, da das GFP-La-Fusionsprotein das Zellvermehrungsdefizit beinahe vollständig ausgleichen konnte und überdies zu einer Normalisierung des Proteinspiegels von Zyklin D1 führte.

Um die Mechanismen der erniedrigten Zyklin D1-Spiegel nach Reduktion der La-Proteinspiegel zu verstehen, wurden Untersuchungen auf molekularbiologischer Ebene durchgeführt. Diese führten eindeutig zu dem Ergebnis, dass die Effekte weder auf einem verminderten *Zyklin D1*-mRNA-Spiegel noch auf einer erniedrigten

Halbwertszeit dieses Proteins beruhen. Vielmehr gelang es, Hinweise auf eine durch Reduktion endogener hLa-Proteinspiegel verminderte Polyribosomeninitiation der *Zyklin D1*-mRNA zu gewinnen. Demzufolge wird der vom hLa-Defizit verursachte Zyklin D1-Proteinmangel sehr wahrscheinlich auf translationeller Ebene durch eine verminderte Proteinbiosynthese verursacht.

Die mit der Verminderung humaner La-Proteinspiegel assoziierten schweren Defizite in der Zellvermehrung lassen schlussfolgern, dass dieses Protein einen wichtigen Beitrag zur Zellvermehrung leistet und seine Funktionen nicht von anderen zellulären Proteinen übernommen werden können. So konnte eindeutig gezeigt werden, dass das humane La-Protein ein essentieller Bestandteil proliferativer Vorgänge ist und die Reduktion seiner Proteinexpression bereits über einen Zeitraum von nur zehn Tagen zu massiven Defekten in humanen Zellen führt.

Diese Arbeit identifizierte das humane La-Protein erstmals als einen essentiellen zellulären Faktor, der eine bedeutende modulierende Funktion im Zellzyklus ausübt. Diese völlig neuen Erkenntnisse über das humane La-Protein leisten dadurch einen wichtigen Beitrag zur Erforschung des humanen Proteoms und können langfristig potentiell für therapeutische Zwecke genutzt werden.