

# Zusammenfassung

Der Abbau von cyclin A ist seit der Entdeckung dieses mitotischen Cyclins rätselhaft geblieben. Obwohl es ein Substrat des Anaphase Promoting Complex/Cyclosome (APC/C) ist, der den Abbau der mitotischen cycline initiiert, wird cyclin A vor allen anderen Substrate abgebaut. Weiterhin wird der Abbau nicht durch Aktivierung des mitotischen Spindelcheckpoints blockiert, der den Eintritt in die Anaphase verhindert indem der Abbau der anderen APC/C-Substraten verhindert wird. Die Entzifferung des Abbausignals in cyclin A ist dabei das vorrangige Ziel, um dieses Verhalten von cyclin A zu verstehen. Allerdings zeigte sich, dass cyclin A keine einfache Abbausequenz, wie sie zum Beispiel bei cyclin B vorzufinden ist, besitzt. In cyclin A aus *Drosophila* (*CycA*) wurden verschiedene Elemente identifiziert, so eine D-Box und eine KEN-Box, die Inaktivierung beider Elemente führte jedoch zu keiner Stabilisierung. In der vorliegenden Arbeit wurde die Suche nach den Abbausequenzen extensiv erweitert. Dabei zeigte sich dass sowohl N- als auch C-terminale Regionen des Proteins beteiligt sind. Neben der KEN- und D-box spielt dabei auch ein Aspartat an der Position 70 eine Rolle und alle Elemente haben einen additiven Einfluss auf den Abbau. Im C-terminalen Teil konnte die cyclinbox als wichtiges Element identifiziert werden. Punktmutationen in den drei N-terminalen, sowie eine Punktmutation in der cyclinbox führten zur Stabilität in der Mitose. Von entscheidender Bedeutung ist die cyclinbox auch für den Abbau von cyclin A unter Bedingungen in denen der Spindelcheckpoint aktiv ist. Die Ergebnisse zeigen auch, dass diese Funktion der cyclinbox nicht über die konservierte Funktion der Cdk1 Bindung verläuft; wahrscheinlich ermöglicht die cyclinbox einen direkten Kontakt mit dem APC/C. Neben der Erkennung von cyclin A spielen auch bestimmte Lysinreste, die für die Ubiquitylierung benutzt werden, eine Rolle beim Abbau von cyclin A. Es konnten acht Lysinreste, die in der Umgebung der N-terminalen Signale liegen, identifiziert werden, die präferentiell für den Abbau benutzt werden. Werden sie mutiert, kann bei der Anwesenheit eines normalen C-terminus, der Abbau jedoch weiterhin erfolgen. Es wird vermutet, dass die N-terminalen Abbausequenzen unter

diesen Umständen einen guten Kontakt zum APC/C ermöglichen, so dass auch nicht präferentielle Lysinreste als Ubiquitinakzeptoren benutzt werden können. Solch ein Wechsel von präferentiellen zu anderen Ubiquitinakzeptorstellen kann anscheinend nur durch die N-terminalen Abbauerkennungssequenzen ermöglicht werden.

Zusammenfassend konnte in dieser Arbeit die Abbausignale in CycA identifiziert werden und eine Erklärung gefunden werden, wie der Abbau bei Aktivierung des mitotischen Spindelcheckpoints möglich ist.