

Die DNA enthält den Bauplan für jedes Lebewesen, daher müssen Schäden an diesem essenziellen Bestandteil des Lebens repariert werden. Unreparierte DNA-Schäden durch endogene oder exogene Quellen können zu Mutationen und schweren Krankheiten, einschließlich Krebs, führen. Im Menschen existieren mehrere DNA-Reparaturmechanismen, um die Akkumulation von DNA-Schäden zu verhindern. Mutationen dieser DNA-Reparaturmechanismen erhöhen das Risiko für z.B. Brust- und Eierstockkrebs.

Die DNA-Reparatur wird unter anderem initiiert, nachdem DNA-Doppelstrang- oder Einzelstrangbrüche von Poly-(ADP-Ribose)-Polymerasen (PARP) erkannt wurden. PARP1 ist eines der ersten Enzyme, welches solche Brüche erkennt und anschließend umliegende Proteine mit mono- und poly-ADP-Ribose (ADPr) modifiziert. Dadurch bewirkt PARP1 u.a. eine Öffnung des Chromatins, um die Reparatur des DNA-Schadens zu ermöglichen. Da die Inhibition von PARP1 in Krebszellen mit bestimmten Defekten in DNA-Reparaturmechanismen synthetisch letal ist, gilt PARP1 als wichtiges therapeutisches Ziel. PARP1-Inhibitoren nutzen diese synthetische Letalität aus und werden beispielsweise zur Behandlung von Brustkrebs eingesetzt.

Die Erforschung von ADPr ist technisch anspruchsvoll, weshalb die durch PARP1 initiierten Signalwege trotz der biologischen Bedeutung bislang nur unzureichend verstanden sind. So wurde erst spät die wichtige Interaktion von PARP1 mit Histon-Poly-ADP-Ribosylierungsfaktor 1 (HPF1) entdeckt. HPF1 verändert die katalytische Aktivität von PARP1 von poly- zu mono-ADPr und statt Aspartat und Glutamat modifiziert der PARP1-HPF1-Komplex Serine der Substrate.

Serin-ADPr ist die häufigste ADPr-Form auf Proteinen während der DNA-Schadensreaktion und wir konnten zeigen, dass PARP1-HPF1-katalysiertes poly- und mono-Serin-ADPr während der DNA-Schadensreaktion einer komplexen zeitlichen Dynamik in zwei Wellen folgt. Zusätzlich konnten wir zeigen, dass die zweite mono-ADPr-Welle die Ubiquitin-E3-Ligase RNF114 zu DNA-Schäden rekrutiert.

In dieser Arbeit habe ich die zweite ADPr-Welle und die Rolle von RNF114 während der DNA-Schadensreaktion untersucht, indem potenzielle Interaktionspartner und Substrate von RNF114 identifiziert wurden. Dabei wurden direkte Beweise gefunden, dass RNF114 eine unkonventionelle Ubiquitylierung von Serin-mono-ADPr erkennt. Basierend auf den ADPr- und Ubiquitin-bindenden Domänen von RNF114 wurde ein Detektionsreagenz für diese unkonventionelle Ubiquitylierung entwickelt. Schließlich konnten mittels Massenspektrometrie zum ersten Mal die unkonventionelle

Ubiquitylierungen von ADPr auf Serinen von Histonen und PARP1 während der DNA-Schadensreaktion identifiziert und lokalisiert werden.