

Zusammenfassung

Die Integrität des Genoms ist von wesentlicher Bedeutung, um die getreue Weitergabe der genetischen Information zu gewährleisten, die für die Erhaltung aller Lebensformen erforderlich ist. Die Reaktion auf DNA-Schäden (DNA damage response, DDR) ist ein ausgeklügeltes System, das die Integrität des Genoms bewahrt. Die kanonischen DDR-Wege sind daran beteiligt, den Zellzyklus zu stoppen und die DNA-Reparatur oder den programmierten Zelltod (Apoptose) einzuleiten, um DNA-Schäden aus endogenen und exogenen Quellen zu bekämpfen. Der Tumorsuppressor p53 ist ein wichtiger Regulator der DDR und steuert die Apoptose als Reaktion auf irreparable DNA-Schäden, indem er pro-apoptotische Gene transkriptionell aktiviert. p53 ist auch das am häufigsten mutierte Gen bei den meisten menschlichen Krebsarten, und die meisten krebsassoziierten p53-Mutationen sind Missense-Mutationen, die die tumorsuppressive Transkriptionsaktivität beeinträchtigen. Infolgedessen können die geschädigten Zellen die Apoptose nicht durchlaufen, was zu unkontrollierter Vermehrung und Krebsbildung führt.

In dieser Studie verwenden wir *Caenorhabditis elegans*, um ein tieferes Verständnis der Mechanismen zu erlangen, durch die die DNA-Schadens-Checkpoint-Signalwege die apoptotische DNA-Schadensreaktion beeinflussen. Der zentrale apoptotische Signalweg ist in *C. elegans* deutlich konserviert, wobei das Protein „*C. elegans* p53-like“ (CEP-1) die BH3-only-Domäne beinhaltenden pro-apoptotischen Faktoren transkriptionell induziert, um das Apoptosom bei DNA-Schäden zu aktivieren. Dieses Modell bietet eindeutige Vorteile für die genetische Untersuchung der Apoptose - die Keimbahn des Wurms zeigt eine spezifische und leicht zu visualisierende apoptotische Reaktion auf DNA-Schäden, was eine quantifizierbare Bewertung genetischer und chemischer Eingriffe ermöglicht.

Wir haben die am weitesten verbreitete p53-Hotspot-Mutation im Wurm rekapituliert und ein genetisches Werkzeug für das Hochdurchsatz-Screening neuartiger Regulatoren der *cep-1*/p53-abhängigen Apoptose im gesamten lebenden Organismus entwickelt. Die durch ionisierende Strahlung ausgelöste Apoptose wird in Würmern mit der Hotspot-Mutation unterbunden, und in dem durchgeführten genetischen Vorwärtsscreening konnten wir mutierte Würmer isolieren, die trotz eines mutierten p53 eine wiederhergestellte Apoptose aufwiesen. Es wurde festgestellt, dass eine Mutation in einem DNA-Schadensreparaturgen an der Unterdrückung des apoptotischen Defekts in den p53/*cep-1* mutierten Würmern beteiligt ist. Unsere Daten deuten außerdem darauf hin, dass die wiederhergestellte apoptotische Reaktion verzögert auftritt und einen dysregulierten ERK/MAPK-Signalweg beinhaltet. Zusätzlich haben wir ein *in-vitro*-System mit menschlichen Krebszelllinien etabliert, die die p53-Hotspot-Mutation tragen, um die Mechanismen, die diesen Beobachtungen in Krebszellen zugrunde liegen, weiter zu untersuchen. Insgesamt deuten die Ergebnisse dieser Arbeit auf eine sekundäre Welle der DNA-Schadensreaktion hin, die in Gang gesetzt wird, wenn die von *cep-1*/p53 regulierte primäre Reaktion versagt, wenn es mutiert ist.