



Doctoral Thesis

Functional characterization of RuvB-like 1 during cell division Dennis Castor

Author(s):

Castor, Dennis

Publication Date:

2009

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-005939239> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

DISS. ETH Nr. 18608

FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF
RUVB-LIKE 1 DURING CELL DIVISION

ABHANDLUNG
zur Erlangung des Titels

DOKTOR DER WISSENSCHAFTEN
der
ETH ZÜRICH

vorgelegt von

DENNIS CASTOR
Dipl. Biol. Friedrich-Alexander Universität Erlangen-Nürnberg

geboren am
15.04.1980

in
Deutschland

Angenommen auf Antrag von

Prof. Josef Jiricny
Prof. Hans Hengartner
Prof. Ruedi Aebersold

2009

ZUSAMMENFASSUNG

Um die korrekte Weitergabe des genetischen Materials von einer Zelle auf ihre Tochterzellen zu gewährleisten, ist eine fehlerfreie Verteilung der Chromosomen während der Mitose unverzichtbar. Fehler dieser Verteilung können eine chromosomale Instabilität zur Folge haben, wobei die so genannte Aneuploidie eine der möglichen Folgen darstellt. Aneuploidie wird häufig in entarteten Krebszellen beobachtet, aber sie kennzeichnet auch andere Krankheiten. Einerseits lässt sich eine Aneuploidie sehr leicht durch das Auftreten einer veränderten Anzahl an Chromosomen in einem Karyogramm diagnostizieren, andererseits jedoch sind die der Aneuploidie zugrunde liegenden molekularen Mechanismen sehr komplex und bisher noch nicht vollkommen verstanden. Bevor die Chromosomen, bestehend aus zwei Schwesterchromatiden mit der zuvor vervielfältigten DNA, während der Anaphase verteilt werden, müssen sich die Chromosomen zunächst in der Metaphaseplatte anordnen. Gelingt eine fehlerfreie Anordnung nicht, so verhindert ein zellulärer Kontrollpunkt ein weiteres Voranschreiten der Zellteilung.

Während des Studiums zweier Proteine, RuvB-like 1 und RuvB-like 2, habe ich die unerwartete Entdeckung gemacht, dass sich diese Proteine an verschiedene Strukturen des Mitoseapparates anlagern. Die Reduzierung der Proteinlevel von RuvB-like 1 und RuvB-like 2 mit Hilfe der Technik der RNAi führte zu einer fehlerhaften Anordnung der Metaphasechromosomen und einer damit verbundenen Verzögerung im Übergang der Metaphase zur Anaphase. Darüber hinaus, wurde eine fehlerhafte Verteilung der Chromosomen beobachtet, welche letztendlich zu einer chromosomalen Instabilität führen könnte. Obwohl beide RuvB-like Proteine als integrale Komponenten in verschiedenen höhermolekularen Proteinkomplexen beschrieben wurden, scheint sich die Interaktion zwischen RuvBL1 und RuvBL2 während der Zellteilung aufzulösen. Dies führt möglicherweise dazu, dass beide Proteine ihrer designierten Rolle während der Mitose nachgehen können. Daher habe ich versucht, einen möglichen Mechanismus zu untersuchen, welcher zu einer Dissoziation der beiden Proteine während der Mitose führt und es den Proteinen erlaubt, ihre Mitose-spezifischen Funktionen auszuführen. Ich konnte zeigen, dass RuvB-like 1 durch die Polo-like Kinase 1, ein Schlüsselenzym während der Mitose, *in vitro* und *in vivo* phosphoryliert wird. Diese Modifikation war zudem abhängig von

der Phase des Zellzyklus. Zudem konnte ich phosphoryliertes RuvB-like Protein an speziellen Strukturen des Mitoseapparates nachweisen. Auch wenn ich bisher die exakten funktionellen Konsequenzen dieser Phosphorylierung nicht erörtern konnte, so nehme ich dennoch an, dass diese für die spezifischen Funktionen von RuvB-like 1 während der Zellteilung von Nöten ist.

Alles zusammengekommen beschreibe ich eine neue Funktion von RuvB-like 1 während der Mitose und habe erste Hinweise gewinnen können, wie die RuvB-like Proteine durch postranslationelle Modifikationen reguliert werden können.

SUMMARY

To ensure the correct propagation of the genetic material from a cell to its daughters, a faithful segregation of chromosomes during mitosis is indispensable. Segregation defects might lead to chromosomal instability, of which aneuploidy is one possible consequence. Aneuploidy is frequently detected in cancer, but also in other severe diseases. While, by analyzing the karyotype of a cell, one can easily detect aneuploidy by an abnormal number of chromosomes, the underlying molecular mechanisms leading to aneuploidy are complex and still not fully understood. Prior to segregation in anaphase, the chromosomes, present as two identical daughter chromatids containing the duplicated DNA, align at the metaphase plate. When this alignment does not occur, a checkpoint is activated that prevents further progression of mitosis.

Studying two proteins, namely RuvB-like 1 and RuvB-like 2, I made the unexpected finding that these proteins localize to different structures of the mitotic apparatus. Downregulation by RNAi led to the misalignment of metaphase chromosomes that was associated with a delay of the metaphase to anaphase transition. Furthermore, I observed segregation defects that might ultimately lead to chromosomal instability. Although the RuvB-like proteins were found together as integral components of several macromolecular protein complexes that are involved in diverse DNA metabolic pathways, both proteins seem to separate during mitosis and are thought to have unique roles in cell division. I set out to investigate a potential mechanism that leads to the dissociation of the proteins and that endows them with their mitotic functions. I observed phosphorylation of RuvB-like 1 by polo-like kinase 1 – a mitotic key regulator – *in vitro* and *in vivo*. This modification was cell cycle regulated and the phosphorylated protein was restricted to specialized structures of the mitotic apparatus. Although I have not yet identified the functional consequences of this phosphorylation, I speculate that this modification is needed for the mitotic functions of RuvB-like 1.

Taken together, I describe a novel function of RuvB-like 1 during mitosis and provide first evidence of the regulation of RuvB-like proteins through posttranslational modification.