

## **Zusammenfassung**

In der Tumorgenese des Brustkrebses wird die Onkogen-induzierte Seneszenz als fail-safe Mechanismus betrachtet. Die Induktion der Seneszenz führt zu zahlreichen strukturellen und metabolischen Veränderungen sowie zum Zellzyklus-Arrest der Zelle.

Es wurde untersucht, welche zellulären Veränderungen auftreten, wenn nach ErbB2-Überexpression eine proliferierende Zelle in den seneszenten Zustand übergeht.

Um diese Veränderung zu untersuchen, wurde die onkogene ErbB2-Variante NeuT in die Mammakarzinom-Zelllinie MCF7, unter Verwendung des Doxyzyklin-regulierbaren TET-On-Systems und den Konstrukten zur TET-induzierbaren Co-Expression von NeuT und EGFP exprimiert. Diese onkogene Form des ErbB2 trägt eine Punktmutation in der transmembranen Region, was zur Folge hat, dass es zu einer Liganden-unabhängigen Rezeptordimerisierung kommt und ErbB2/NeuT nach Doxyzyklin-Gabe überexprimiert wird.

In dieser Arbeit wurden Signalwege untersucht, die an dem zellulären Phänomen der Seneszenz beteiligt sind. Der Fokus wurde hier auf die Zellzyklus-regulierenden Cykline gerichtet.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass nach ErbB2-Überexpression es zu einer signifikanten Expressionsveränderung von p21, ein cyklin-abhängiger Kinaseinhibitor (CDKI) kommt. Dies geht einher mit einer Veränderung der Tumorsuppressorgene p53 und PTEN, sowie dem Zellzyklus-Regulator, Cyclin B2. Des Weiteren wurde beobachtet, dass durch den gezielten Knockdown von p21 bei gleichzeitiger ErbB2-Überexpression die Zellen die Seneszenz umgehen und weiter proliferieren.

Darüber hinaus wurde beobachtet, dass dem neu entdeckten Onkogen PTTG1 (pituitary tumour transforming gene 1) eine potenzielle Rolle in der ErbB2-induzierten Seneszenz zugeschrieben werden kann. Da es bei überexprimiertem ErbB2 zu einer Herunterregulation von PTTG1 kommt. Dagegen wurde beim Knockdown von p21 eine Hochregulation von PTTG1 detektiert. Diese Beobachtung lässt den Schluss zu, dass PTTG1 an der Seneszenz und der p21 Regulation beteiligt ist.

Zusätzlich wurde die Technik der Raman-Mikrospektroskopie eingesetzt, um weitere Einblicke in die Onkogen-induzierte Seneszenz zu bekommen. Mittels der Raman-Mikrospektroskopie wurden Unterschiede in der Cytochrom c Expression nach ErbB2

Überexpression detektiert. Diese Beobachtung wurde auch mit der Western Blot-Analyse und mit immunhistologischen Färbungen bestätigt.

Zusammenfassend, die in der Arbeit präsentierten Daten zeigen eine Hoch- oder Herunterregulation der Expression von bekannten Seneszenz und Zellzyklus-Marker nach ErbB2-Überexpression. Diese Marker dienen zur Charakterisierung der MCF7/NeuT-Zellen im seneszenten Zustand. Durch Knockdown-Studien von p21 konnte eine Expressionsveränderung der Zellzyklus-Marker gezeigt werden. Zusätzlich wurde die Raman-Mikrospektroskopie-Technik genutzt, um Veränderungen zwischen nicht seneszent und seneszenten Zellen näher zu charakterisieren.