

**Aspekte der zytoplasmatischen Reifung von Eizellen des Rindes:
Regulation der
cap - abhängigen Translation während der meiotischen
Endreifung *in vitro***

**W. Tomek, F. Melo Sterza, W. Kanitz
Abt. für Reproduktionsbiologie, FBN-Dummerstorf, Germany
BVN Neustadt/Aisch, Germany**

Die Neusynthese von Proteinen ist ein hoch regulierter Prozess, der es somatischen Zellen erlaubt, schnell auf eine Vielzahl von Stimuli auch in zeitlicher Trennung von Transkriptionsprozessen zu reagieren. In diesem Fall wird gespeicherte, translatorisch inaktive mRNA zum gegebenen Zeitpunkt aktiv translatiert. Es konnte gezeigt werden, dass die Genexpression während der meiotischen Endreifung (Übergang von der Prophase I, GV Stadium zur Metaphase II) von Rindereizellen hauptsächlich auf Translationsebene kontrolliert wird. Diese Eizellen speichern während ihrer Wachstumsphase große Mengen an mRNA in translatorisch inaktiver Form. Unsere Ergebnisse zeigen, dass die meiotische Endreifung von einem starken Anstieg der Translationsrate begleitet ist. Dabei ist eine 2,5- bis 3-fache Erhöhung während des GVBD bis zum Erreichen der Metaphase I zu verzeichnen. Zu diesem Zeitpunkt findet keine Transkription statt. In GV-Stadium, wie auch in der Metaphase II treten hingegen nur basale Translationsraten auf.

Unsere weiterführenden Untersuchungen hatten zum Ziel, Mechanismen aufzuklären, welche die Stimulation der Translation während GVBD und Metaphase I und die Repression in der Metaphase II regulieren.

Generell kann die Translation auf mehreren Ebene kontrolliert werden. Zu nennen sind hier cytoplasmatische Polyadenylierungsprozesse von mRNAs, die in der Regel mit einer Zunahme der Translation korrelieren. Ferner beinhaltet der Translationsapparat spezifische Initiationsfaktoren, deren Wirkung für die Bindung der ribosomalen Untereinheiten an die mRNA unabdingbar ist und deren Aktivität über durch Phosphorylierung reguliert wird. In diesem Zusammenhang ist der Faktor eIF4E (cap-Bindungsprotein, Teil des Komplexes eIF4F) zu nennen, der als begrenzend für die Initiation der Translation angesehen wird.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass der beschriebene Anstieg der Translation korreliert mit einer Zunahme der Polyadenylierung gespeicherter mRNA, sowie der einsetzenden Phosphorylierung von eIF4E. Diese Phosphorylierung kann durch spezifische M-Phasen Kinaseinhibitoren (Butyrolactone I oder PD 098059) reversible unterdrückt bzw. verzögert

werden. Die weiteren Analysen ergaben, dass MAPK (mitogen aktivierte Proteinkinase) an der Phosphorylierung von eIF4E beteiligt ist. Im Gegensatz zur Abnahme der Translation in der Metaphase II steht allerdings das Ergebnis welches zeigt, dass eIF4E zu diesem Zeitpunkt vollständig phosphoryliert ist und polyadenylierte mRNA akkumuliert ist.

Weiterführende Untersuchungen ergaben, dass in Rindereizellen ein spezifischer Repressor (4E-BP1) existiert, der in der Metaphase II großteils in unphosphorylierter Form vorliegt, die Wirkung von eIF4E unterdrückt und somit maßgeblich an der Repression der Translation zu diesem Zeitpunkt beteiligt ist. Weiter konnte gezeigt werden, dass die Phosphorylierung von 4E-BP1 während des GVBD und der Metaphase I mit der Aktivierung von Akt 1 (Pkb) korreliert. Diese Ergebnisse zeigen, dass die Aktivität von Faktoren (eIF4E, 4E-BP1), welche an der Initiation der Translation beteiligt sind nicht nur über den MAPK-Weg sondern auch gegenläufig über Akt reguliert werden. Weitere Untersuchungen gehen der Hypothese nach, dass 4E-BP1 ein wichtiger Faktor ist, über den die Translation maternaler mRNA nach erfolgter Befruchtung reguliert wird.

Diese Arbeiten werden gefördert durch die DFG, To 178/2-1, 2-2 und durch die Karl-Eibl-Stiftung. FMS ist eine Stipendiatin des KAAD.