

6 Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Etablierung eines Testverfahrens, mit dem die Enzymaktivitäten der beiden Zellzykluskontrollproteine Histon H1- und MAP-Kinase in Rindereizellen während der In-vitro-Reifung bestimmt werden können.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde der Einfluß des Proteinsynthesehemmers Cycloheximid auf die Kernreifung und die Kinetik der beiden Enzyme analysiert. Die Untersuchung führte zu folgenden Resultaten:

1. Eine ausreichende Genauigkeit der Meßergebnisse wird erreicht, wenn 10 Eizellen pro Untersuchungsprobe eingesetzt werden.
2. Die Histon H1-Kinase zeigt während der In-vitro-Reifung einen oszillierenden Verlauf. Ihre Aktivität ist in der unreifen Rindereizelle sehr gering ($55,78 \pm 30,26$) und steigt im Verlauf der Reifung bis zur Metaphase I ($845,20 \pm 196,35$) kontinuierlich an. Mit dem Eintritt in die Anaphase I tritt eine deutliche Reduzierung der Aktivität ($579,00 \pm 209,11$) ein, die im weiteren Reifungsverlauf erneut ansteigt und zum Zeitpunkt der Metaphase II ein zweites Maximum ($919,85 \pm 387,60$) aufweist. Dieses Maximum wird während der gesamten Metaphase II aufrechterhalten.
3. Im Gegensatz zur Histon H1-Kinase zeigt die MAP-Kinase während der In-vitro-Reifung keinen oszillierenden Verlauf. Ihre Aktivität ist in der unreifen Eizelle niedrig ($174,83 \pm 80,14$), steigt bis zur Metaphase I an und bleibt bis zur Metaphase II auf diesem hohen Aktivitätsniveau ($1574,38 \pm 614,42$).
4. Nach einer 17- oder 24stündigen In-vitro-Kultivierung mit Cycloheximid weisen die Oozyten stark kondensiertes Chromatin in der intakten Kernmembran auf. Die Enzymaktivität beider Kinasen ist hierbei kaum meßbar. In der sich anschließenden Weiterreifung ohne

Proteinsynthesehemmung treten der GVBD und die Metaphase I, im Gegensatz zur Kontrollgruppe, in einem deutlich verkürztem Zeitintervall auf.

Daraus läßt sich schließen, daß die Aktivitäten der Histon H1- und der MAP-Kinase von der Synthese spezifischer Proteine abhängig ist.

7 SUMMARY

Ulrike Janas: Investigations on histone H1- and MAP kinase in bovine oocytes during *in vitro* maturation

The aim of the present study was to establish a test that ascertains the activity of the key cell cycle regulators histone H1- and MAP kinase in bovine oocytes during the *in vitro* maturation.

Furthermore, the effect of the protein synthesis inhibitor cycloheximide on the nuclear maturation and on the kinetics of both enzymes was determined. The experiments led to the following results:

1. Ten oocytes per sample should be used to get sufficient exact results during SDS gel electrophoresis and counting of the gamma rays.
2. The histone H1 kinase activity oscillates during *in vitro* maturation. The activity is low in oocytes arrested in the GV state of meiosis ($55,78 \pm 30,26$), increases sharply at metaphase I ($845,20 \pm 196,35$), declines during anaphase ($579,00 \pm 209,11$) and telephase and increases again at metaphase II ($919,85 \pm 387,60$). High levels of histone H1 kinase activity are maintained during the metaphase II stage.
3. In contrast to the histone H1 kinase the MAP kinase does not oscillate in the course of nuclear maturation. MAP kinase activity is low in immature oocytes ($174,83 \pm 80,14$) increases at metaphase I and remains high until metaphase II ($1574,38 \pm 614,42$).
4. After incubation for 17 or 24 hours in cycloheximide containing medium, the oocytes show highly condensed chromatin and an intact nuclear membrane. The activity of the two enzymes is barely measurable. After removing of the inhibitor, GVBD and metaphase I occurs faster than in control oocytes.

These observations indicate that histone H1 kinase and MAP kinase depend on the synthesis of short living proteins.