

Common and diverse functions of mammalian coronins

Mammalian coronins can be grouped into two subfamilies: Short coronins (CRN1-6), which contain one WD40-repeat domain and a long coronin species, CRN7, containing two clustered WD40-repeat domains. In coronins each WD40-repeat domain forms a seven-bladed β -propeller structure, which is generally responsible for protein-protein interactions. In this study we investigated new interactions and cellular functions of three coronins, namely CRN2, CRN5 and CRN7.

CRN2 is enriched at F-actin stress fibers and at lamellipodia, where it is involved in events that follow the initial F-actin assembly. Depletion as well as overexpression of CRN2 causes several cellular defects such as a decreased number of cell protrusions and reduced velocity in cell migration. Here, we could show that CRN2 is phosphorylated at serine 463 by CK2 α which inhibits CRN2 trimerization and diminishes its interaction with actin filaments and the Arp2/3 complex. Phosphorylated CRN2 loses the ability to depolymerize and bundle F-actin *in vitro*, and generates similar cellular defects compared to a depletion of CRN2 *in vivo*. Moreover, CRN2 possesses two additional isoforms; the largest isoform, CRN2i3, is part of sarcomeres and can be induced by the myogenic differentiation program.

Secondly, we focused on the so far less investigated CRN5, which is known to be enriched at focal adhesions. CRN5 binds to the Slingshot-1L phosphatase and indirectly regulates the phosphorylation state of cofilin and the focal adhesion turnover. In our studies, we found that CRN5 has several potential and confirmed binding partners such as β -actin, Arp2/3, plectin, and the kinase MAPK14. The latter might be responsible for CRN5 phosphorylation at serine 423. In U373 cells, CRN5 is enriched at F-actin stress fibers and at lamellipodia, and seems to be involved in the disassembly of F-actin similar to other coronins. An overexpression of CRN5 changes the morphology of U373 cells which is mainly due to the disturbed formation of lamellipodia and mis-regulation in the growth of protrusions.

Finally, we have investigated the regulation of mammalian CRN7, which does not seem to have any F-actin-related function but rather plays a role in Golgi trafficking. CRN7 binds the μ 1 subunit of the AP-1 complex and is essential for the maintenance of Golgi apparatus. In our findings CRN7 is phosphorylated at tyrosine 758 by Src that targets CRN7 to the outer membrane of the *trans*-Golgi network. Inhibition of Src leads to the dispersal of CRN7 from the Golgi membranes and a defect in secretion.

Coronine können in zwei Unterfamilien eingeteilt werden, konventionelle Coronine (CRN1-6), die eine WD40-repeat Domäne besitzen, und ein langes Coronin, CRN7, bestehend aus zwei WD40-repeat Domänen. Die WD40-repeat Domäne bildet hierbei einen 7-blättrigen β -Propeller, welcher im Allgemeinen für verschiedene Protein-Protein Interaktionen verantwortlich ist. In dieser Arbeit wurden Wechselwirkungen sowie zelluläre Funktionen von drei Coroninen untersucht, nämlich CRN2, CRN5 und CRN7.

CRN2 ist an F-Aktin Stressfasern sowie Lamellopodien angereichert, wo es zeitlich versetzt der F-Aktin-Bildung folgt. Die Runter- oder Hochregulierung von CRN2 bewirkt eine verminderte Anzahl von Zellfortsätzen sowie eine reduzierte Zellmigrationgeschwindigkeit. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass CRN2 an Serin 463 phosphoryliert wird, wodurch seine Trimerisierung und die Bindung zum Arp2/3 Komplex verhindert werden kann. *In vitro* kann phosphoryliertes CRN2 F-Aktin nicht mehr bündeln und verursacht *in vivo* zelluläre Defekte vergleichbar mit der Herunterregulierung von CRN2. CRN2 exprimiert zwei weitere Isoformen; die größte Isoform CRN2i3 ist hierbei Teil der Sarkomere und wird durch den Transkriptionsfaktor MyoD induziert.

Desweiteren wurde das wenig erforschte CRN5 charakterisiert, welches an Fokalkontakten angereichert ist. CRN5 bindet hierbei an die Slingshot-1L Phosphatase und reguliert dadurch indirekt die Phosphorylierung von Cofilin und die Lebensdauer der Fokalkontakte. In unseren Untersuchungen konnten wir für CRN5 β -Aktin, Arp2/3, Plektin und die Kinase MAPK14 als Bindepartner identifizieren. CRN5 scheint an Serin 423 phosphoryliert zu sein und ist, ähnlich wie CRN2, an F-aktin Stressfasern sowie Lamellopodien angereichert. Die Überexpression von CRN5 in U373 Zellen führt zu einer gestörten Ausbildung von Lamellopodien und einem veränderten Wachstum der Zellfortsätze.

Ebenfalls untersuchten wir die Regulierung von CRN7, welches anscheinend nicht mit dem Aktin Zytoskelett assoziiert ist, sondern vielmehr eine Rolle in der Golgi-abhängigen Proteinverteilung besitzt. CRN7 bindet hierbei an die μ 1-Untereinheit des AP-1 Komplexes und ist essentiell für die Aufrechterhaltung des Golgi Apparates. Wir konnten hierbei zeigen, dass CRN7 durch die Kinase Src an Tyrosin 758 phosphoryliert wird und dadurch cytosoliseitig an das *trans* Golgi Netzwerk bindet.