

Summary

Protein quality control mechanisms are essential in coping with protein misfolding and aggregation in order to maintain the cellular proteome. Proteostasis is governed by molecular chaperones and the ubiquitin-proteasome system (UPS). Molecular chaperones recognize hydrophobic regions of misfolded proteins and avoid the formation of irreversible aggregates by assisting their folding. Besides the chaperone system, proteostasis is also supported by the UPS, which degrades misfolded proteins targeted by specific E3 ligases. CHN-1 is the *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) homologue of CHIP (carboxyl terminus of Hsp70-interacting protein) that was described as an E3/E4 enzyme. CHN-1/CHIP was initially characterized as a co-chaperone regulator of the ATPase cycle of Hsp70. Recently, it was shown that CHIP knockout mice live significantly shorter than their wild-type littermates and display premature aging phenotypes. However, the molecular mechanisms affected due to the CHIP deficiency leading to the shortened lifespan still remain to be elucidated. Moreover, CHIP levels also increase under various stress conditions to maintain proteostasis in cells. In this thesis, we addressed the function of CHN-1 in the regulation of lifespan and stress response by using genetic and biochemical approaches. Our findings demonstrated that CHN-1 is a key regulator in stress response, in particular against the oxidative stress during adulthood. The stress response mediated by CHN-1 is required for maintaining the proteostasis in worms. Additionally, *chn-1* null worms display a decreased lifespan phenotype. Tissue-specific knockdown of CHN-1 in various organs revealed that the function of CHN-1 in neurons, intestine and hypodermis is required for the CHN-1-mediated lifespan regulation, whereas CHN-1 function is dispensable in muscle tissues. On molecular level, genetic epistatic analysis suggested that CHN-1 regulates the lifespan of *C. elegans* through its influence on the IIS signaling pathway. Further genetic and biochemical data revealed that CHN-1 controls the insulin receptor DAF-2 protein turnover by acting as an E3 ligase. Indeed, we showed that the direct interaction between DAF-2 and CHN-1 is involved in the regulation of lifespan and CHN-1 dependent stress response for maintaining the proteostasis. Thus, these results suggest a novel molecular mechanism where CHN-1 positively regulates the life span in *C. elegans* by modulating the activation of the insulin signaling pathway via regulating the protein levels of DAF-2. Since IIS signaling and CHN-1/CHIP are highly conserved during evolution, it is possible that CHIP involves in lifespan regulation also in higher organism via regulation of insulin receptor.

Zusammenfassung

Mechanismen der Protein-Qualitätskontrolle sind entscheidend für die Bewältigung von Proteinfehlfaltungen und -aggregation um die Funktionalität des zellulären Proteoms zu erhalten. Proteostase wird durch molekulare Chaperone, sowie das Ubiquitin-Proteasom-System (UPS) reguliert. Molekulare Chaperone erkennen hydrophobe Regionen von fehlgefalteten Proteinen und verhindern irreversible Bildung von Protein Aggregaten, indem sie die Proteinfaltung unterstützen. Neben dem Chaperon-System wird die Proteostase ebenfalls durch das UPS unterstützt, welches fehlgefaltete Proteine abbaut und dabei spezifische E3-Ligasen benötigt. CHN-1 ist das *C. elegans* homolog von CHIP (Carboxyl-Terminus von Hsp70-interagierenden Proteinen), das als E3/E4-Enzym beschrieben ist. CHN-1/CHIP wurde zunächst als Co-Chaperon des ATPase-Zyklus von Hsp70 beschrieben. Durch diese doppelte molekulare Funktion verbindet CHN-1/CHIP das Chaperon-System mit dem UPS. Vor kurzem wurde gezeigt, dass CHIP-Knockout-Mäuse signifikant kürzer als ihre Wildtyp-Wurfgeschwister leben und einen vorzeitig alternden Phänotyp aufweisen. Dennoch ist der molekulare Mechanismus, der von der CHIP-Defizienz betroffen ist und der zu der verkürzten Lebensspanne führt, noch nicht aufgeklärt. Außerdem wurde gezeigt, dass der CHIP Protein-level auch unter verschiedenen Stressbedingungen erhöht wird, um Proteostase in Zellen zu erhalten. In dieser Arbeit wurde die Funktion von CHN-1 in der Regulation der Lebensspanne und Stressantwort durch die Verwendung von genetischen und biochemischen Methoden adressiert. Meine Ergebnisse zeigen, dass CHN-1 ein Schlüsselregulator der Stressantwort darstellt, insbesondere bei oxidativem Stress während des Erwachsenenstadiums. Gewebespezifischer Knockdown von CHN-1 in verschiedenen Organen machte deutlich, dass die Funktion von CHN-1 in Neuronen, dem Darm und der Hypodermis für die CHN-1-vermittelte Regulation der Lebensspanne benötigt wird, wohingegen die CHN-1-Funktion in Muskelgeweben vernachlässigt werden kann. Ergebnisse genetischer Epistaseanalysen deuteten darauf hin, dass CHN-1 die Lebensspanne auf molekularer Ebene durch die Regulation des IIS-Signalweges beeinflusst. Weitere genetische und biochemische Analysen zeigten, dass CHN-1 den Abbau des Insulinrezeptors DAF-2 kontrolliert, in dem es als E3-Ligase fungiert. Tatsächlich haben wir gezeigt, dass die direkte Interaktion zwischen DAF-2 und CHN-1 an der Regulation der Lebensdauer und an der CHN-1-abhängigen Stressantwort zum Aufrechterhalten der Proteostase beteiligt ist. Folglich

enthüllen diese Ergebnisse einen neuen molekularen Mechanismus, in dem CHN-1 die Lebensspanne durch die Regulierung von DAF-2 und IIS in *C. elegans* positiv reguliert. Da die IIS-Signalübermittlung und CHN-1/CHIP evolutionär stark konserviert sind, ist es möglich, dass CHIP ebenfalls die Langlebigkeit höherer Organismen reguliert.