

## Zusammenfassung (GERMAN)

Selbsterneuernde Gewebe benötigen ein Gleichgewicht zwischen Proliferation und Differenzierung, um die Homöostase aufrechtzuerhalten. Eine Hypothese besagt, dass die Spindelpositionierung dieses Gleichgewicht durch gleiche oder ungleiche Verteilung von Zellschicksalsdeterminanten innerhalb der Tochterzellen reguliert und gleichzeitig die Tochterzellen physisch in unterschiedlichen Schicksalsdomänen positioniert. Der Mechanismus dieser Regulierung ist jedoch nicht vollständig geklärt. Das Niessen-Labor identifizierte zuvor mithilfe eines unvoreingenommenen Phosphoproteom-Screenings das Protein 1 des nukleären mitotischen Apparats (NuMA) S1221 als Ziel von aPKC und zeigte, dass der humanäquivalente phosphomimetische Mutant NuMA-S1225D (NuMA-SD) in der Lage ist, die Spindelorientierung, die LGN-Lokalisierung und die Ausbreitung von Tochterzellen in Abwesenheit von aPKC zu retten. Zusätzlich identifizierte ein Pulldown unter Verwendung dieses phosphomimetischen Mutanten das CLIP-assoziiierende Protein 2 (CLASP2) als stark angereicherten Interaktionspartner im Vergleich zum phosphodefizienten NuMA-S1225A (NuMA-SA)-Mutanten. Mit dem Ziel, die Zellschicksalsregulation in Bezug auf die Spindelorientierung besser zu verstehen, wurde die Rolle der NuMA-Phosphorylierung und der CLASP2-Interaktion bei der Spindelorientierung untersucht. In silico-Experimenten wurde zunächst die Tumor Overgrowth Gene 1 (TOG1)-Domäne von CLASP2 als potenzieller Interaktionspartner von phosphoryliertem NuMA identifiziert und In-vitro-Experimente bestätigten diese Interaktion. Während der Verlust von CLASP2 allein weder den Spindelwinkel noch die bipolare LGN-Lokalisierung beeinflusste, war NuMA-SD nicht in der Lage, die erhöhte Spindel vor einer Kombination aus aPKC<sup>KO</sup> und CLASP2<sup>KO</sup> zu retten, was die Bedeutung dieser Interaktion für die planare Spindelorientierung bestätigt. Ein Vergleich von MDCK Ctr-, aPKC<sup>KO</sup>-, CLASP2<sup>KO</sup>- und aPKC CLASP2<sup>dKO</sup>-Zellen identifizierte eine unterschiedliche kortikale Lokalisation von Protein 4.1G in Ctr- bzw. CLASP2<sup>KO</sup>- gegenüber aPKC<sup>KO</sup>- bzw. aPKC CLASP2<sup>dKO</sup>-Zellen und verdeutlichte damit das Vorhandensein eines potenziellen Rettungsmechanismus. Während der Verlust von 4.1G in Kombination mit CLASP2 ausreichte, um senkrechte Spindeln anzutreiben, zeigte eine Analyse der LGN-Lokalisation keinen Anstieg monopolarer LGN in den CLASP2 4.1G<sup>dKO</sup>-Zellen. Dies deutet darauf hin, dass LGN und Spindelorientierung in diesem Fall entkoppelt sein könnten. Darüber hinaus zeigten reduzierte LGN-Werte in CLASP2 4.1G<sup>dKO</sup>-Zellen keine planare Spindelrettung, was darauf hindeutet, dass LGN in diesem Fall für die senkrechte Spindelorientierung möglicherweise nicht essentiell ist. Da sich sowohl die Spindelorientierung als auch die LGN-Lokalisierung durch den Verlust von CLASP2 allein nicht veränderten, wurde die differenzielle Tochterzellausbreitung, die bei der Lebendzellbildung beobachtet wurde, weiter untersucht. Hierzu wurden Unterschiede in der postmitotischen Tochterzell-β1-Integrin-Expression bei CLASP2<sup>KO</sup> im Vergleich zu Ctr identifiziert. Zusammengefasst deuten diese Ergebnisse auf einen Mechanismus hin, bei dem aPKC die NuMA/CLASP2-Interaktion reguliert, um planare Spindeln, bipolare LGN und gleichmäßige Tochterzellausbreitung zu fördern. Ohne diese Regulierung könnten planare Spindeln und LGN-Lokalisierung (aber nicht die Ausbreitung) weiterhin über einen 4.1G-abhängigen Signalweg aufrechterhalten werden.