

## **Abstract**

The Par complex, composed of partitioning-defective 3 (Par3), Par6 and atypical protein kinase C (aPKC), is a master regulator of polarization processes in lower organisms. In simple epithelia the Par complex participates in establishment and maintenance of apicobasal polarity, by participating in the formation of intercellular adhesions and instituting an epithelial barrier. While the role of the Par complex in simple epithelia is well established, its role in multi-layered epithelia such as the skin epidermis remains an open question. The epidermis is an apicobasally polarized tissue, which coordinates at its basal layer self-renewal and differentiation processes in order to maintain homeostasis and a functional barrier. During epidermal morphogenesis, oriented cell division is a crucial mechanism of driving tissue-scale fate decisions but its importance during homeostasis is not fully understood. Previously, Par3 was identified to play an essential role during epidermal homeostasis. Specific deletion of Par3 in the epidermis resulted in delayed barrier formation, increased differentiation, and a progressive hair follicle stem cell decline. The aim of this study was to understand how Par3 contributes to the epidermal homeostasis. Measuring spindle orientation in Par3 depleted epidermis revealed a shift towards planar or random divisions, suggesting that spindle orientation might not be the mechanism driving ectopic differentiation following Par3 loss. Surprisingly, Par3 deficient keratinocytes showed lower actomyosin contractility which impaired keratinocyte viscoelastic properties in a RhoA dependent manner. Pharmacologic restoration of actomyosin contractility in Par3-deficient keratinocytes was sufficient to normalize cell mechanics and to recover the barrier formation. Importantly, altered keratinocyte viscoelastic properties following Par3 loss also caused mitotic infidelity which fuelled aneuploidy, genomic instability and ultimately predisposed keratinocytes to differentiation. Restoring actomyosin contractility was sufficient to prevent mitotic errors, DNA accumulation and ectopic differentiation. This study helped to clarify the molecular mechanisms through which Par3 governs epidermal homeostasis. The presented data unveiled a novel mechanism unrelated to spindle orientation, by which Par3 contributes to epithelial fate by regulating keratinocyte mechanics.

## Zusammenfassung

Der Par-Komplex, bestehend aus partitioning-defective 3 (Par3), partitioningdefective 6 (Par6) und atypical protein kinase C (aPKC), spielt eine bedeutende Rolle in Polaritätsprozessen von *Drosophila* und *C. Elegans*. Im einfachen Epithel spielt der Par3-Komplex bei der Etablierung der apikobasalen Polarität eine große Rolle: Die Bildung von speziellen zellulären Verbindungen (tight junctions) unterliegt der Kontrolle durch Proteine des Par Komplexes und ist wichtige Voraussetzung für den Erhalt einer epithelialen Barriere. Die Aufgaben der Proteine des Par-Komplexes im einfachen Epithel wurden bereits eingehend untersucht. Welche Rolle hingegen der Komplex bei der Polarisierung der Haut, einem mehrschichtigen Epithel, spielt, ist bisher noch weitestgehend unverstanden. Die Epidermis, oberste Schicht der Haut, befindet sich in ständiger Balance zwischen Zellerneuerung in der basalen Schicht und Differenzierung in den oberen Schichten, um eine voll funktionsfähige Barriere aufrechtzuerhalten. Die gerichtete Zellteilung spielt während der epidermalen Entwicklung eine entscheidende Rolle. Ob sie jedoch auch wichtiger Bestandteil für den Erhalt der epidermalen Homöostase ist, ist weitestgehend unbekannt. Notwendig für die Aufrechterhaltung der Homöostase innerhalb der Epidermis ist allerdings Par3. In dieser Arbeit dargelegte Studien von einem Mausmodell mit epidermaler Deletion von Par3 zeigten zuletzt einen verzögerten Aufbau der epidermalen Barriere auf. Zusätzlich induzierte Par3-Verlust eine verfrühte Differenzierung von Keratinozyten und einen progressiven Verlust von Haarfollikel-Stammzellen.

Ziel dieser Arbeit war, den Beitrag von Par3 in der Aufrechterhaltung der epidermalen Homöostase zu verstehen. Keratinozyten zeigten nach Verlust von Par3 geringere viskoelastische Eigenschaften, beruhend auf einer Reduktion in Aktomyosin-basierter Kontraktion. Pharmakologische Wiederherstellung der Kontraktion von Par3-deletierten Keratinozyten war ausreichend, um die Fähigkeit zur Bildung der Barriere wiederherzustellen. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass die veränderten viskoelastischen Fähigkeiten (in Abhängigkeit von RhoA) nach Par3-Verlust Defizite in der Mitose mit sich führte. Im Detail zeigten Keratinozyten nach Verlust von Par3 vermehrt Aneuploidie und genomische Instabilität auf, resultierend in verfrühter Differenzierung dieser Zellen.

Zusammenfassend wurde in dieser Studie eine bisher unbekannt, essentielle Rolle von Par3 für die Aufrechterhaltung der epidermalen Barriere durch die Regulation von Aktomyosin identifiziert. Des Weiteren wurde herausgearbeitet, dass Par3 zusammen mit RhoA und Myosin die vollständige Funktion der Mitose von Keratinozyten sichert und somit einen wichtigen Bestandteil der epidermalen Homöostase darstellt.