

Dissertation Zusammenfassung

The E3 ubiquitin ligase UFD-2 interactome linked to DNA damage repair and apoptosis

Lylan Bramasole, Thorsten Hoppe

Die Homologe Rekombination (HR) und die Nicht-Homologe Endverknüpfung (NHEJ) sind die beiden Hauptreparaturwege für DNA-Doppelstrangbrüche (DSBs), die durch die Evolution konserviert sind und streng reguliert werden müssen. Die Regulation kann durch verschiedene Posttranslational modifikation erreicht werden, darunter die Proteinubiquitylierung. Die Ubiquitylierung ist dafür bekannt, die Erkennung, Signalisierung und Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen (DSBs) zu unterstützen. Es blieb jedoch wenig verstanden, wie der Reparaturprozess von DSBs mit der durch DNA-Schäden induzierten Apoptose koordiniert wird und wie Ubiquitylierung diese Koordination reguliert. Die E3/E4-Ubiquitinligase UFD-2 wurde als konservierter Regulator der DNA-HR-Reparatur und der durch DNA-Schäden induzierten Apoptose beim Nematoden *Caenorhabditis elegans* und in menschlichen Zellen identifiziert. In Abwesenheit von UFD-2 wird die durch DNA-Schäden induzierte Apoptose reduziert und die Entfernung des Haupt-HR-Faktors RAD-51 als Indikation für eine laufende Reparatur verzögert. Darüber hinaus werden zu Beginn der HR Ubiquitylierungszentren auf dem Chromatin für die Substratverarbeitung durch die folgenden Faktoren des Ubiquitin-Proteasom-Systems (UPS) gebildet: UFD-2, die Ubiquitin-selektive Segregase CDC-48 (p97), das Deubiquitylierungsenzym Ataxin-3 (ATX-3) und das 26S Proteasom.

In dieser Studie identifizierten wir das UFD-2-Interaktom in der Keimbahn von *C. elegans* nach Induktion von DNA-Schäden und enthüllten neue Einblicke in die funktionelle Wechselwirkung von UFD-2 mit DNA-Reparaturfaktoren wie PCN-1 und ABL-1. Darüber hinaus entdeckte diese Arbeit F49C12.9 als neuen physikalischen und funktionellen UFD-2-Interaktor. Wir fanden heraus, dass F49C12.9 Ubiquitin-ähnliche Domänen und Ubiquitin-assoziierte Domänen (UBL-UBA) enthält und das Homolog von DSK2 aus der Hefe und das Paralog des *C. elegans*-Ubiquilins UBQL-1 ist. F49C12.9 erfordert eine UFD-2-Ubiquitylierung für die Stabilisierung und interagiert mit UFD-2 auf dem Chromatin, wenn DSBs induziert werden. Die *f49c12.9(tm7934)*-Deletionsmutant unterdrückte die hohe Empfindlichkeit der *ufd-2(tm1380)*-Deletionsmutant gegenüber ionisierender Strahlung sowie die Verzögerung bei der Entfernung von RAD-51-Foci. Zusätzlich zeigen wir hier, dass F49C12.9 stark im Nucleus von Spermatozyten exprimiert wird und sich bei der Spermatogenese in die Residualkörperchen bewegt. Daher schlagen wir hier eine funktionelle Wechselwirkung zwischen UFD-2, F49C12.9 anderen berichteten UPS-Faktoren bei der Spermatogenese vor.

Insgesamt legt diese Studie nahe, dass UFD-2 mit F49C12.9 und anderen UPS-Faktoren interagiert, um Ubiquitylierungszentren auf dem Chromatin zu bilden, um gemeinsam die Reparaturfaktoren der DSBs und folglich die durch DNA-Schäden induzierte Apoptose zu regulieren. Durch die Entdeckung des neuen Ubiquilins F49C12.9 und die Aufdeckung einer neuartigen UFD-2/F49C12.9-Wechselwirkung und ihrer Rolle bei der Reparatur von DSBs trägt diese Arbeit zu den laufenden globalen Versuchen bei, die zelluläre Regulation von DNA-Reparaturwegen und die Verwendung von UPS-Faktoren zu verstehen und für mögliche therapeutische Behandlungen bei DNA-schädigungsbedingten Erkrankungen nutzbar zu machen.