

Zusammenfassung

Der Aufbau und Erhalt myofibrillärer Strukturen ist ein hochkomplexer Vorgang, welcher auch über den regulierten, proteasomalen Abbau beteiligter Komponenten kontrolliert wird. Im Nematoden *Caenorhabditis elegans* spielt bei der Assemblierung der dicken Filamente während der Muskelentwicklung das Myosin-spezifische Chaperon UNC-45 eine tragende Rolle. Neuere Erkenntnisse lassen den Schluss zu, dass UNC-45 einer stringenten Kontrolle durch die beiden Ubiquitinligasen CHN-1 und UFD-2 unterliegt.

Besonderer Schwerpunkt dieser Arbeit hinsichtlich des mechanistischen Ablaufs der Ubiquitinierung und der Frage, warum zwei E3-Ligasen zur Regulation von UNC-45 nötig sind, lag hierbei auf der Analyse von CHN-1 und dessen Fähigkeit zur Dimerisierung. So konnte gezeigt werden, dass die Dimerisierung von CHN-1, entgegen der publizierten Annahme, keine Voraussetzung für dessen primäre Ubiquitinierungsaktivität ist. Stattdessen fanden sich Indizien dafür, dass die Dimerisierung einen Einfluss auf die Art der Verknüpfung der Ubiquitinketten durch die E3-Ligase haben könnte. Dies ist vor allem im Hinblick darauf interessant, dass das homologe Protein CHIP neben seiner Funktion als Kochaperon in der Proteinqualitätskontrolle auch mit anderen Ubiquitinligasen interagiert und somit an der Regulation einer Vielzahl von Proteinen beteiligt ist. Diesbezüglich ergaben sich durch diese Arbeit auch Hinweise darauf, dass die Funktionalität von CHN-1 in verschiedenen Komplexen durch dessen quartäre Struktur bestimmt sein könnte. Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass im Falle der Ubiquitinierung von UNC-45 offenbar monomeres CHN-1 ausreichend ist. Aus den vorliegenden Daten wurde schließlich ein mögliches Modell der Regulation von UNC-45 entworfen und diskutiert. Einen weiteren Schwerpunkt dieser Arbeit bildete die Struktur-Funktions-Analyse des Myosinchaperons UNC-45. Hierfür wurde ein Protokoll zur Reinigung von UNC-45 etabliert und ein polyklonaler Antikörper dagegen generiert. Aus der detaillierten, biochemischen Analyse phänotypisch relevanter UNC-45 Mutationen konnte geschlussfolgert werden, dass UNC-45 in einem oligomeren Zustand vorliegt und dies offenbar Voraussetzung für dessen korrekte Funktion ist. In Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Dr. Tim Clausen vom IMP in Wien wurde schließlich die erste vollständige Struktur eines UNC-45 Proteins entschlüsselt.