

# Zusammenfassung

Post-translationale Modifikationen von Proteinen sind unerlässlich für die Regulation von zellulären Stimuli, meist gefolgt vom Abbau oder der Translokation des modifizierten Proteins. Die zwei verwandten Proteine Ubiquitin und SUMO gehören zu einer Gruppe kleiner Proteine, die kovalent an die Seitenketten von Lysin anderen Proteine (Substrate) konjugiert werden können. Modifikation durch Ubiquitin und SUMO verändern die Funktion, Lokalisation, Interaktion und Stabilität ihrer Substrate, ohne die Mitwirken in Signaltransduktionskaskaden und ähnliche zellulären Prozessen nicht möglich wären. Das promyelozytische Leukämie Protein (PML) bildet sub-nucleäre Strukturen, bekannt als PML-Kernkörperchen, welche für ihre wichtigen Rollen in Tumorsuppression, der Reparatur der DNS, Transkription, Apoptose und nicht zu letzt im Kampf gegen Viren bekannt sind. Reguliert werden PML-Kernkörperchen über die post-translationale Modifikation mit SUMO (small ubiquitin-like modifier). SUMO-modifiziertes PML dient als Gerüst dieser Kernkörperchen und gleichzeitig als Bindungsplattform für andere SUMOmodifizierten Proteine durch die Interaktion des SUMO-Interaktionsmotivs (SIM, SUMOinteraction motif) von PML. SUMO-Interaktionsmotive sind auch ein Erkennungsmerkmal einer neuen Unterklasse von E3-Ubiquitin Ligasen, nämlich den SUMO-abhängigen Ubiquitin Ligasen (STUbL, SUMO-targeted ubiquitin ligase). Diese sogenannten STUbL erkennen vor allem hochmolekulare SUMO-Konjugate, die wahrscheinlich mit SUMOKetten modifiziert sind. Das RING-Finger Protein RNF4 wurde als humanes STUbLProtein in unserer und andern Gruppen identifiziert. Nähere Analyse ergab, dass RNF4 vier SIMs besitzt, die die Bindung an SUMO-Ketten ermöglichen. Ähnliche Beobachtungen wurden bei der viralen SUMO-abhängigen Ubiquitin Ligase, ICP0 aus Herpes Simplex Virus-1, gemacht, um den antiviralen Effekten der PML-Kernkörperchen zu entkommen.

In dieser Arbeit konnten eine neue humane Ligase, RNF111, und eine virale Ligase, Orf61p, als SUMO-abhängigen Ubiquitin Ligasen identifiziert werden. Um die STUbLaktivität von RNF111 und Orf61p eindeutig zeigen zu können, wurden Versuche entwickelt, in denen SUMO-Konjugate *in vitro* ubiquityliert werden, als auch spezifische Bindung an SUMO-Konjugate *in vitro* und *in vivo* nachgewiesen. Untersuchungen der Spezifität der Erkennung ihrer Substrate zeigten eine noch nicht beschriebene Präferenz von RNF111 bei der Bindung an SUMO1-terminierten SUMO2/3-Ketten. Orf61p hingegen bindet SUMO1-modifizierte Substrate unabhängig der Kettenlänge. Weiterhin wurden die einzelnen SUMO-Interaktionsmotive auf spezifische Bindungen an einzelne SUMO Isoformen untersucht und mit Modelpeptiden verglichen.