

## Zusammenfassung

Das endoplasmatische Retikulum (ER) ist essenziell für die Faltung und post-translationale Modifikation sekretorischer Proteine. Eine Beeinträchtigung dieser Funktion durch Umwelteinflüsse, Alterungsprozesse, oder strukturelle Mutationen verursacht eine Vielzahl von Erkrankungen. Die Ansammlung geschädigter Proteine im ER-Lumen wird durch Regulation der Transkription und Translation sowie durch den selektiven Abbau von Proteinen über *ER-associated protein degradation* (ERAD) verhindert.

Punktmutationen in dem Serin Protease Inhibitor Neuroserpin führen zu abbauresistenten Proteinaggregaten im ER-Lumen, was mit der neurodegenerativen Erkrankung *Familial encephalopathy with neuroserpin inclusion bodies* (FENIB) assoziiert wird. Das homologe SRP-2 Protein aus *Caenorhabditis elegans* weist eine große Ähnlichkeit zum humanen Neuroserpin auf. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass pathogene Punktmutationen (H302R) in SRP-2 ebenfalls zur Anhäufung und Stabilisierung im ER führen. Untersuchungen des Aggregationsverhaltens von SRP-2<sup>H302R</sup> konnten zeigen, dass die *unfolded protein response* (UPR), die Hitze-Stress-Antwort und die Glykosylierung die Polymerisation von SRP-2<sup>H302R</sup> regulieren.

Der Abbau geschädigter Proteine im ER erfolgt primär über ERAD. Das ERAD-System ist extensiv in der Bäckerhefe *Saccharomyces cerevisiae* beschrieben worden, jedoch ist die physiologische Relevanz in mehrzelligen Organismen wie *C. elegans* weniger bekannt. Um das ERAD-System grundlegend zu charakterisieren, wurde in dieser Arbeit zunächst mutiertes Pro Cathepsin L (CPL-1\*) als Modell-Substrat für fehlerhafte ER-Proteine in *C. elegans* etabliert. Mittels Immunpräzipitation, Massenspektrometrie und genetischen Screens konnten die E3-Ligase SEL-11, die Protein-Disulfid-Isomerasen PDI-1/2 und das EDEM1 Homolog C47E12.3 als ERAD-Faktoren validiert, sowie die bisher nicht charakterisierten ERAD-Komponenten F48E8.4, Y105E8A.2, F48B9.8 und C03H12.1 identifiziert werden.

Überraschenderweise führten auch Mutationen in den Komponenten der systemischen RNAi Antwort RDE-1, DRH-1 und RRF-1 zu einer spezifischen Akkumulation des ERAD-Substrats CPL-1\*. Eine Charakterisierung des zugrundeliegenden Mechanismus zeigte, dass RDE-1 und DRH-1 in einem parallelen Weg zum ERAD-System die Stabilisierung von CPL-1\* regulieren. Hierbei kontrollieren diese nicht den Abbau des Modell-Substrats, sondern das mRNA-Niveau von CPL-1\*. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass DRH-1 und RDE-1 unter ER-Stress Bedingungen auch das mRNA-Niveau des Natrium-Protonen-Transporters NHX-2 regulieren. Somit ist in der vorliegenden Arbeit eine neuartige Regulation sekretierter und membranständiger Proteine in Gegenwart von ER-Stress identifiziert worden. Im Kontext viraler Infektionen und altersbedingten Erkrankungen tragen diese Erkenntnisse wesentlich zum molekularen Verständnis pathogener Mechanismen bei.

## Abstract

The endoplasmic reticulum (ER) is essential for the folding and post-translational modification of secreted proteins. A dysfunctional ER as a result of environmental conditions, aging or structural mutations may cause a multitude of diseases. The regulation of translation, transcription and degradation by the *ER-associated protein degradation* (ERAD) system prevents the accumulation of damaged proteins in the ER-lumen.

Point mutations in the serine protease inhibitor Neuroserpin result in degradation-resistant protein aggregates in the ER-lumen, which are associated with the neurodegenerative disease familial encephalopathy with neuroserpin inclusion bodies (FENIB). The *Caenorhabditis elegans* homolog SRP-2 possesses a high degree of similarity to the human Neuroserpin. In this thesis it was shown that also pathogen point mutations (H302R) in SRP-2 result in clustering and stabilisation. Analysis of the aggregation behaviour of SRP-2<sup>H302R</sup> revealed that the *unfolded protein response* (UPR), the heat-shock response and glycosylation regulate the polymerisation of SRP-2<sup>H302R</sup>.

The degradation of damaged proteins occurs primarily by ERAD. The ERAD-system was extensively studied in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, however little is known about the physiological relevance in a multicellular organism. In order to characterize the ERAD-System, mutated Pro Cathepsin L (CPL-1\*) was established as a model-substrate for misfolded ER-proteins in *C. elegans*. Using immunoprecipitation, mass spectrometry and genetic screens the E3-ligase SEL-11, the protein disulfid isomerase PDI-1/2 and the EDEM1 homolog C47E12.3 were validated as ERAD-proteins and the so far uncharacterized ERAD-components F48E8.4, Y105E8A.2, F48B9.8 and C03H12.1 were identified.

Surprisingly, mutations in components of the systemic RNAi response RDE-1, DRH-1 and RRF-1 result also in a specific stabilisation of the ERAD-substrate CPL-1\*. The characterisation of the underlying mechanism shows that RDE-1 und DRH-1 regulate the stabilisation of CPL-1\* in a parallel pathway to the ERAD-system. However, they do not regulate the degradation of the model-substrate, they rather control the mRNA-level of CPL-1\*. Furthermore it was shown that RDE-1 und DRH-1 also regulate the mRNA-level of the sodium-proton-transporter NHX-2 in response to ER-stress. In conclusion, this thesis identified a novel regulation mechanism of secreted and membrane bound proteins in the presence of ER-stress. These findings may contribute to the molecular understanding of pathogen mechanisms in the context of viral infections as well as aging related diseases in the long run.