

Abstract

Posttranslational modifications of proteins are essential for the viability of eukaryotic cells. Modifications with the small ubiquitin-like modifier SUMO can influence a vast spectrum of a protein's characteristics, including its activity, location and interactome. In spite of the high similarity between SUMO and ubiquitin, the modification with SUMO does not directly lead to degradation of a protein. However, in the process of SUMO-targeted ubiquitination SUMOylated proteins are specifically recognised, ubiquitinated and degraded. The data presented in this thesis demonstrate an antagonistic function of key components involved in regulating polySUMOylation in the cell. The SUMO-targeted ubiquitin ligase Slx5/Slx8 (also known as Uls2) and the deSUMOylating enzyme Ulp2 synergistically counteract the excessive formation of large SUMO conjugates under normal conditions. Up until now, it has been assumed that the activity of Uls2 and Ulp2 is restricted to longer SUMO chains. However, using a conditional repression system for transcriptional and translational repression of *ULS2*, we found repression of *ULS2* to be synthetically lethal in *smt3^{KallR}*, a strain encoding a mutant version of Smt3 that is unable to form canonic SUMO chains. Surprisingly, using whole genome sequencing, we identified mutations in *ULP2* to suppress the synthetic lethality caused by Uls2 repression in the *smt3^{KallR}* background. Taken together, the presented data reveal a surprising function of two regulators of polySUMOylation in the chain-deficient strain *smt3^{KallR}*. These unexpected findings challenge the current understanding of SUMO-targeted ubiquitin ligases, deSUMOylating enzymes and their functional interweaving.

Zusammenfassung

Die posttranslationale Modifikation von Proteinen ist essenziell für den Lebenszyklus von Eukaryoten. Die Modifikation mit dem kleinen Ubiquitin-ähnlichen Modifikator SUMO kann ein breites Spektrum an Protein Charakteristiken beeinflussen, einschließlich der Aktivität, der Lokalisierung und des Interaktoms. Auch wenn SUMO eine große Ähnlichkeit mit Ubiquitin aufweist, führt die Modifikation mit SUMO nicht zu einem direkten Abbau. Im Prozess der SUMO-vermittelten Ubiquitinierung jedoch werden SUMOylierte Proteine spezifisch erkannt, ubiquitiniert und abgebaut. In dieser Arbeit präsentieren wir Daten, die eine antagonistische Funktion von Schlüsselkomponenten der Regulierung von SUMO-Ketten in *Saccharomyces cerevisiae* nahelegen. Die durch SUMO stimulierte Ubiquitin-Ligase Slx5/Slx8 (auch Uls2 genannt) und die SUMO-Protease Ulp2, wirken unter normalen Bedingungen der übermäßigen Bildung großer SUMO-Konjugate entgegen. bisher wurde davon ausgegangen, dass die Aktivitäten von Uls2 und Ulp2 auf SUMO-Ketten beschränkt ist. Unter Verwendung eines Systems für die konditionale, transkriptionelle und translationale Repression von Uls2 konnten wir jedoch zeigen, dass die Repression von Uls2 in *smt3^{KallR}*, einem Stamm, der keine kanonischen SUMO-Ketten bildet, letal ist. Mithilfe von Genomsequenzierungen konnten darüber hinaus Mutationen in *ULP2* identifiziert werden, welche die synthetische Letalität von Uls2 und *smt3^{KallR}* unterdrücken. Diese unerwarteten, genetischen Interaktionen erweitern unser Verständnis des Zusammenspiels von SUMO-vermittelter Ubiquitinierung und deSUMOylierung und liefern vielversprechende Ansatzpunkte für kommende Forschungsprojekte.