

Das Ubiquitin-Proteasom-System (UPS) stellt einen essentiellen Abbaumechanismus für kurzlebige oder anormale Proteine in eukaryotischen Zellen dar. Das 26S-Proteasom, die zentrale Komponente des UPS, besteht aus einem 20S katalytischen Kernkomplex (CP) (verantwortlich für die proteolytische Aktivität) und einem oder zwei 19S-Regulatorkomplexen (RP) (verantwortlich für die Substraterkennung, -entfaltung und -translokation in den CP). Die Regulierung der proteasomalen Aktivität ist von kritischer Bedeutung für die zelluläre Adaptation und sowohl eine verminderte als auch eine erhöhte Proteasomaktivität können zu Krankheiten führen. Auf Transkriptionsebene werden die Untereinheiten des 26S Proteasoms hauptsächlich durch den Transkriptionsfaktor Rpn4 reguliert. Posttranslational wird die Menge an reifem 26S-Proteasom sowohl durch seine Assemblierung, als auch seinen vakuolären Abbau (Proteophagie) geregelt. Die vorliegende Arbeit liefert neue Einblicke in all diese Prozesse und könnte daher zu neuen, Proteasom-spezifischen Therapieansätzen führen.

Die vorliegende Studie stellt die erste systematische Analyse der differentiellen Expression von proteasomalen Untereinheiten unter normalen und Stressbedingungen dar. Interessanterweise waren die zellulären Mengen der α -Untereinheiten, trotz der stöchiometrischen Anwesenheit in reifen 20S-Kernkomplexen, auffallend höher als die Mengen der β -Untereinheiten. Zusätzlich wurde gezeigt, dass β -Untereinheiten stärker durch Rpn4 induziert werden als α -Untereinheiten, wobei $\beta 7$, die Untereinheit die als letzte in die dimerisierenden 15S-Komplexe eingebaut wird, die stärkste Abhängigkeit von Rpn4 zeigte. Bemerkenswerterweise wurde bei einer Überexpression der limitierenden $\beta 7$ -Untereinheit, sowohl im Wildtyp als auch im *rpn4 Δ* -Stamm, mehr reifes 20S-Proteasom gebildet. Vermutlich eröffnet diese differentielle Induktion der proteasomalen Untereinheiten eine Möglichkeit für die Zelle, unter Stressbedingungen schnell reife 20S-Proteasomen aus vorgeformten unreifen Vorläuferkomplexen zu bilden.

Bis heute ist der zwischen Eukaryoten konservierte und chaperonabhängige, schrittweise Prozess der 20S-CP-Assemblierung kaum verstanden. Derzeit gibt es zwei Assemblierungsmodelle: das α -Ring-Modell, bei dem die 20S-CP-Assemblierung durch die Bildung eines Ringes, bestehend aus sieben definierten α -Untereinheiten initiiert wird, sowie ein neues Modell, das in unserem Labor entwickelt wurde. In diesem Modell wird der 15S-Vorläuferkomplex aus den zwei komplementären Vorläuferkomplexen, genannt Komplex I und Komplex II, gebildet, die jeweils definierte α - und β -Untereinheiten enthalten. Interessanterweise liefert die vorliegende Studie Hinweise auf beide Assemblierungsmodelle. Einerseits wurde ein α -Ring als Assemblierungszwischenprodukt aus einem Pba1-Pba2 sowie Pba3-Pba4 überexprimierenden Hefestamm aufgereinigt. Andererseits wurde Komplex I in einer Pulsmarkierungsanalyse als Assemblierungszwischenprodukt in einem Hefestamm mit limitiertem Pba1-Pba2 nachgewiesen. Zusätzlich wurde in einem *in-vitro*-Versuch gezeigt, dass Komplex I (aufgereinigt aus Hefe) und Komplex II (aufgereinigt aus *E. coli*) in der Lage sind,

13S-Vorläuferkomplexe zu bilden. Daher suggeriert die vorliegende Studie eine Koexistenz der Assemblierungswege über ein α -Ring-Intermediat und über Komplex I und Komplex II in Hefezellen.

Überraschenderweise erregten mögliche zelluläre Abbaumechanismen für fehlerhaft assemblierte oder überschüssige 26S-Proteasomen bis 2015 nur wenig Aufmerksamkeit. Da der Prozess der Proteaphagie erst vor kurzem entdeckt wurde, ist bisher wenig über den exakten Mechanismus bekannt. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie bestätigten den vakuolären Abbau des 26S-Proteasoms in Hefe, indem sie zeigten, dass der 20S-CP, und in einem geringeren Ausmaß auch der 19S-RP, zur Atg8-Bindung fähig sind. Darüber hinaus wurde gezeigt, dass vor allem freie 20S-CP und 19S-RP und weniger intakte 26S-Proteasomen an Atg8 gebunden haben. Dieses Ergebnis weist auf einen regulatorischen Mechanismus hin, bei dem nur defekte, teilweise zerlegte Proteasomen abgebaut werden, während intakte 26S-Proteasomen einem vakuolären Abbau entgehen. Freie Proteasomuntereinheiten wurden im Gegensatz dazu hauptsächlich durch das 26S-Proteasom selbst abgebaut.