

Abstract

Protein homeostasis, or proteostasis, is essential for maintaining cellular and organismal health. Defects in proteostasis, particularly in the degradation of damaged proteins, are implicated in a wide range of diseases, including neurodegenerative disorders. To mitigate the risks posed by damaged proteins, cells have evolved sophisticated protein quality control (PQC) systems. The U-box E3 ubiquitin ligase CHIP plays a central role in these systems, partnering with molecular chaperones to target damaged proteins for degradation via the ubiquitin-proteasome system (UPS). Beyond this role, CHIP regulates the degradation of various regulatory proteins and mediates non-proteolytic ubiquitin modifications, underscoring its functional diversity. However, despite its physiological importance, the regulatory mechanisms governing CHIP's catalytic activity, substrate selectivity, and ability to distinguish damaged from native proteins remain incompletely understood. This thesis uncovers a novel regulatory mechanism in which CHIP's ubiquitylation activity and substrate specificity are governed by a dimer-to-monomer conformational switch. In the homodimer state, CHIP collaborates with molecular chaperones to facilitate the degradation of damaged proteins via polyubiquitin chain formation. In contrast, monomeric CHIP regulates the degradation of the insulin receptor by attaching single ubiquitin moieties, thereby promoting longevity and metabolic homeostasis. This conformational switch is dynamically controlled through CHIP (auto-)ubiquitylation and chaperone binding, enabling CHIP to flexibly respond to changing cellular demands. Furthermore, this work provides evidence for a novel CHIP/Parkin heterocomplex that exhibits increased ubiquitylation processivity and unique substrate preferences, particularly for nuclear proteins. These findings suggest an unrecognized role for the CHIP/Parkin axis in maintaining nuclear homeostasis. Given the emerging recognition of nucleolar stress as pivotal driver of neurodegenerative diseases, the CHIP/Parkin heterocomplex may provide valuable insights into disease onset and progression. Together, this thesis aims at elucidating how CHIP dynamically orchestrates proteostasis through conformational regulation, highlighting the broader relevance of oligomerization in E3 ubiquitin ligase activity and substrate specificity. This principle may extend to other ubiquitin ligases, providing an optimized framework for further elucidating ubiquitin-dependent regulation of proteostasis in health and disease. Finally, the discovery of a physiologically relevant CHIP monomer may open avenues for developing novel therapeutic strategies targeting this multifunctional E3 enzyme.

Übersetzung auf Deutsch:

Protein-Homöostase, auch als Proteostase bezeichnet, ist essenziell für die Aufrechterhaltung der zellulären und organismischen Gesundheit. Störungen der Proteostase, insbesondere im Abbau beschädigter Proteine, sind mit einer Vielzahl von Erkrankungen assoziiert, darunter neurodegenerative Pathologien. Um den Risiken durch fehlgefaltete Proteine zu begegnen, haben Zellen hochentwickelte Protein-Qualitätskontrollsysteme entwickelt. Die U-Box E3-Ubiquitin-Ligase CHIP spielt eine zentrale Rolle in diesen Systemen, indem sie in Kooperation mit molekularen Chaperonen beschädigte Proteine für den Abbau durch das Ubiquitin-Proteasom-System markiert. Über diese Funktion hinaus reguliert CHIP den Abbau verschiedener regulatorischer Proteine und vermittelt nicht-proteolytische Ubiquitin-Modifikationen, was seine funktionelle Vielseitigkeit unterstreicht. Trotz seiner physiologischen Bedeutung sind die regulatorischen Mechanismen von CHIP, die die katalytische Aktivität, Substratspezifität und die Unterscheidung zwischen beschädigten und nativen Proteinen steuern, bislang unvollständig verstanden. Diese Arbeit beschreibt einen neuartigen Regulationsmechanismus, bei dem die Ubiquitinierungsaktivität und Substratspezifität durch einen Konformationswechsel von einem dimeren Zustand (CHIP Homodimer) in einen monomeren Zustand (CHIP Monomer) reguliert werden. Im homodimeren Zustand arbeitet CHIP mit

molekularen Chaperonen zusammen, um den Abbau beschädigter Proteine durch die Katalyse von Polyubiquitin-Ketten zu ermöglichen. Im Gegensatz dazu reguliert monomeres CHIP den Abbau des Insulinrezeptors unabhängig von molekularen Chaperonen, indem es einzelne Ubiquitin Moleküle dem Insulinrezeptor anfügt und so Langlebigkeit und die metabolische Homöostase fördert. Dieser Konformationswechsel wird dynamisch durch (Auto-)Ubiquitinierung und Chaperon-Bindung von CHIP kontrolliert, was es dieser E3 Ubiquitin-Ligase ermöglicht, flexibel auf wechselnde zelluläre Anforderungen zu reagieren. Darüber hinaus identifiziert diese Arbeit einen neuartigen CHIP/Parkin-Heterokomplex, der eine erhöhte Ubiquitinierungsprozessivität und einzigartige Substratspezifitäten aufweist, insbesondere für nukleäre Proteine. Diese Ergebnisse legen eine bisher unerkannte Rolle der CHIP/Parkin-Achse bei der Aufrechterhaltung der nukleären Proteostase nahe. Angesichts der zunehmenden Erkenntnis, dass nukleolarer Stress eine treibende Kraft neurodegenerativer Erkrankungen darstellt, könnten die hier gewonnenen Erkenntnisse wertvolle Einblicke in die Entstehung und den Verlauf dieser Krankheiten liefern. Zusammenfassend erweitert diese Arbeit das Verständnis darüber, wie CHIP die Proteostase dynamisch durch Konformationsregulation orchestriert, und hebt die übergeordnete Bedeutung der Oligomerisierung für die Aktivität und Substratspezifität von E3-Ubiquitin-Ligasen hervor. Dieses Prinzip könnte auch auf andere E3 Ubiquitin-Ligasen übertragbar sein und einen Rahmen für die weitere Untersuchung Ubiquitin-abhängiger Mechanismen in der Proteostase-Koordination in Gesundheit und Krankheit bieten. Schließlich eröffnet die Entdeckung eines physiologisch relevanten CHIP-Monomers neue Möglichkeiten zur Entwicklung therapeutischer Strategien, die auf diese multifunktionale E3 Ubiquitin-Ligase abzielen.

Dissertation title: Ubiquitin-dependent coordination of protein homeostasis defined by the CHIP/Parkin axis

Autor: Leonie Müller

Tag der mündlichen Prüfung: 20.03.2025

Gutachter: Prof. Dr. Thorsten Hoppe, Prof. Dr. Jan Riemer

Schlagwörter: Proteostasis, protein degradation, ubiquitin-proteasome system, E3 ubiquitin ligases, CHIP, Parkin