

The role of the ERLIN complex in regulating the morphology of the endoplasmic reticulum

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität zu Köln



vorgelegt von

Simon Schumacher

aus Bergisch-Gladbach

Köln 2017

Zusammenfassung

Das endoplasmatische Retikulum (ER) ist ein vernetztes, kontinuierliches Membransystem, das durch die gesamte Zelle reicht und Kontakte zu fast allen Organellen knüpft. Die Kommunikation, die durch das ER ermöglicht wird, ist essentiell für die Funktion und das Überleben der Zelle. Um dies zu gewährleisten, muss das ER eine dynamische Morphologie beibehalten, damit es als Antwort auf innere und äußere Stimuli seine Form anpassen kann. Dies beinhaltet das Aufrechterhalten und das Formieren von spezifischen Membrandomänen, wie plattenförmige und tubuläre ER Strukturen.

ERLIN1 und ERLIN2 sind zwei homologe Proteine die in die Membran des ERs lokalisieren. Dort fügen sie sich zu großen homo- und heterooligomeren Proteinkomplexen zusammen, die wiederum in speziellen lipid Domänen („Lipid rafts“) zu finden sind. Es konnte gezeigt werden, dass der ERLIN Proteinkomplex die Stabilität von Proteinen positiv und negativ beeinflussen kann. Der ERLIN complex reguliert die Stabilität von Proteinen entlang des endoplasmatischen-Reticulums-assoziierten-Abbau Signalweges. Auf diesem Wege reguliert der ERLIN-Komplex die Weiterleitung von Calcium, das Vorranschreiten des Zellzyklusses und die Cholesterol Homöostase der Zelle. Funktionsverlust-Mutationen in dem *ERLIN1* oder dem *ERLIN2* Gen, können zu der neurodegenerativen Krankheit Hereditäre Spastische Paraplegie führen. Warum der Verlust von ERLIN1 und ERLIN2 zu der Krankheit führt, ist noch unbekannt.

In dieser Arbeit habe ich mit Hilfe von zwei verschiedenen Zellmodellen die zelluläre Funktion des ERLIN-Komplexes weiter erforscht. Mit Hilfe des ersten Modells, in dem das ERLIN2 Protein fehlt und ERLIN1 herunterreguliert wurde, wurde die abrupte Entfernung des ERLIN-Komplexes veranschaulicht. In dem zweiten Zellmodell wurde die Expression von beide ERLIN Proteinen mit Hilfe des CRISPR/Cas9 Systems verhindert. Dies führt zu einem permanenten Verlust des ERLIN Proteinkomplexes in der Zelle. Ich habe herausgefunden, dass der ERLIN-Komplex essentiell ist um eine normale ER Morphologie in der Zelle beizubehalten. Verlust des ERLIN-Komplexes führt zu einem Verlust von tubulären ER Strukturen und zu einer erhöhten Anzahl an plattenartigen ER Strukturen in der Peripherie der Zelle. Der Grund für diese Umgestaltung des ERs ist kein erhöhter ER-Stress und auch nicht ein Veränderung in der Lipidzusammensetzung der Membran des ERs. Wahrscheinlicher ist es, dass

die Veränderungen durch eine Verringerung von ER-formenden Proteinen hervorgerufen werden. Neben anderen Proteinen war der Proteingehalt des für die ER Morphologie stabilisierenden Proteins CLIMP63, aufgrund erniedrigter Stabilität, verringert. Der Abfall in der Proteinmenge konnte durch Behandlung der Zellen mit den Proteaseinhibitoren 1.10. phenanthroline oder Lopinavir wieder hergestellt werden, was die Vermutung nahelegt, dass der ERLIN-Komplex den Abbau von CLIMP63 reguliert. Weiterhin, wenn ERLIN1 protein Level gering sind, führt das Herunterregulieren der Metalloprotease ZMPSTE24 zu einem erhöhten CLIMP63 Proteingehalt. Der Verlust von tubulären ER-Strukturen in ERLIN defizienten Zellen, kann durch die Behandlung mit Lopinavir teilweise umgekehrt werden. Dies bestätigt die Vermutung, dass die Umgestaltung des ERs von einer Protease abhängig ist. Ich stelle die Hypothese auf, dass der ERLIN-Komplex, durch seine Funktion die Menge an ER-formenden Proteinn zu regulieren, die Morphologie des ERs beeinflusst.

