

## Abstract

Birt-Hogg-Dubé (BHD) syndrome is an autosomal dominant disease characterized by the development of fibrofolliculomas, renal and pulmonary cysts and renal cell carcinoma. Mutations in the tumor suppressor gene Folliculin (*FLCN*) are the underlying cause of this syndrome. *FLCN* has been implicated to modulate multiple signaling pathways, while its detailed molecular function remained elusive. The development of renal cysts in some patients points towards a ciliary function of *FLCN*. *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) has emerged as an excellent model organism to study ciliary functions *in vivo*. To evaluate putative ciliary functions of *C. elegans* *FLCN-1*, we used knockout (KO) lines and performed an array of behavioral and functional assays such as touch, chemotaxis, dye-filling, osmotic avoidance, male-mating behavior, lipid accumulation or dauer formation assays. Interestingly, loss of *flcn-1* did not cause any overt ciliary defect suggesting that the ciliary function of *FLCN-1* may not be conserved or that loss of *flcn-1* may be compensated. To further investigate the role of *FLCN* in human cells we performed label-free MS/MS-based interactome analyses. Interestingly, a subset of these novel *FLCN*-interacting proteins has previously been linked to cell cycle regulation and the docking of the ciliary basal body to the plasma membrane. In parallel, we characterized the impact of a specific *FLCN* mutation identified in a patient that had recently been diagnosed with BHD syndrome. Interestingly, we were not able to identify any exonic base alterations. An in-depth analysis of the intronic regions of the *FLCN* gene revealed a 3-bp deletion in a splice-acceptor site. This results in skipping of an exon, a subsequent frameshift and the expression of a residual truncated *FLCN* protein.

Taken together this thesis extends the characterization of *C. elegans* as a model organism for BHD syndrome and provides a molecular analysis of *FLCN* on both the genetic and protein level.

## Zusammenfassung

Das Birt-Hogg-Dubé (BHD) Syndrom ist eine autosomal dominante Erkrankung, die sich klinisch durch die Kombination von Fibrofollikulomen, renalen und pulmonalen Zysten und Nierenzellkarzinomen manifestiert. Mutationen im Tumorsuppressorgen Folliculin (*FLCN*) sind ursächlich für dieses Krankheitsbild. Für *FLCN* wurde eine Rolle in der Modulation verschiedener Signalwege angenommen, die genaue molekulare Funktion ist jedoch unbekannt. Die Entwicklung renaler Zysten in manchen Patienten deutet auf eine mögliche ziliäre Funktion von *FLCN* hin. Der Fadenwurm, *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*), ist ein exzellenter Modelorganismus, um dies *in vivo* zu untersuchen. Um ziliäre Funktionen von *C. elegans* *FLCN-1* zu evaluieren, haben wir Knock-Out Linien benutzt und verschiedene Verhaltens- und Funktionsassays, wie Mechanosensation, Chemotaxis, *dye filling*, Detektion osmotischer Stimuli, männliches Fortpflanzungsverhalten, Lipidakkumulation oder die Bildung des larvalen *dauer*-Stadiums, durchgeführt. Interessanterweise führte der Verlust von *flcn-1* nicht zu einem offensichtlichen ziliären Defekt, was vermuten lässt, dass die ziliäre Funktion von *FLCN-1* entweder nicht evolutionär konserviert ist, oder der Verlust von *FLCN-1* kompensiert werden kann. Um die Funktion von *FLCN* in humanen Zellen weiter zu untersuchen, haben wir massenspektrometriebasierte Interaktom-Studien durchgeführt. Bemerkenswert erscheint, dass ein Teil der mit *FLCN* interagierenden Proteine bereits in der Vergangenheit mit Zellzykluskontrolle und dem Andocken des ziliären Basalkörpers an die Plasmamembran in Verbindung gebracht worden waren. Parallel haben wir die molekulare Auswirkung einer *FLCN*-Mutation in einem kürzlich mit BHD diagnostizierten Patienten charakterisiert. Interessanterweise konnten wir keine exonischen Mutationen identifizieren. Eine detaillierte Analyse der intronischen Bereiche des *FLCN* Gens ergab eine drei Basenpaare umfassende Deletion in einer 3' splice site. Dies resultiert im Überspringen eines Exons mit nachfolgender Leserasterverschiebung und der Expression eines verkürzten *FLCN* Proteins.

Zusammengefasst erweitert diese Arbeit die Charakterisierung von *C. elegans* als Modelorganismus für das BHD-Syndrom und liefert eine molekulare Analyse von *FLCN* auf genetischer und molekularer Ebene.