

Abstract, Soriba Letzian

The Par complex, consisting of partitioning-defective 3 (Par3), atypical protein kinase C (aPKC) and Par6, is a key module driving polarity processes which include the establishment of apico-basal polarity and asymmetric cell division. In contrast to simple epithelia where polarity proteins have been shown to play a crucial role in establishing apico-basal polarity it is less clear how polarity is established in the stratified epithelium, the epidermis, and how conserved polarity regulators contribute to this. Using genetic mouse models, previous findings uncovered a role of mammalian Par3 in epidermal homeostasis, with epidermal-specific inactivation of Par3 resulting in impaired tight junction barrier, progressive decline of hair follicle stem cells (HFSC), altered mitotic spindle orientation and premature differentiation. Moreover, assessing viscoelastic properties of Par3-deficient keratinocytes revealed reduced actomyosin contractility.

The aim of this study was to understand the molecular mechanisms underlying disturbed homeostasis and reduction of hair follicle stem cells resulting from the loss of Par3. Par3 deficient epidermis showed increased DNA damage in the HFSC compartment. Analysis of DNA damage response (DDR) signaling revealed ectopic activation of the ATR/Chk1 pathway as well as p53 stabilization in Par3-deficient primary keratinocytes. Time laps microscopy revealed that this was associated with a range of mitotic aberrancies, including shortened mitotic duration and multipolar cell divisions as well as increased aneuploidy, suggesting that Par3 controls genome integrity. Blocking mitosis rescued the ectopic activation of the DDR, demonstrating that increased DNA damage is mitosis dependent. Reactivation of actomyosin contractility combined with time laps microscopy showed that altered actomyosin contractility upon loss of Par3 is causal for the observed mitotic aberrancies and subsequent ectopic DDR activation. Finally the here presented data suggest that at a tissue level disturbed Par3 function increases DDR and elicits premature differentiation. Furthermore this study demonstrates that Par3 mediated regulation of epidermal DDRs is junction dependent and that ectopic activation of the DDR predisposes Par3 deficient cells to UV-mediated damage. Moreover Par3 directly controls the DDR possibly by promoting PP2A activity.

Collectively, the presented data show that cortical polarity signaling controls cell mechanics to ensure genome integrity as well as directly regulates epidermal DDR to preserve epidermal tissue homeostasis.

Zusammenfassung, Soriba Letzian

Zellpolarität spielt eine wichtige Rolle bei Entwicklungsprozessen, bei der Homöostase von Geweben sowie bei der apiko-basalen Ausrichtung von Epithelzellen. Der Par-Polaritätskomplex, bestehend aus Par3/Par6/aPKC, spielt eine zentrale Rolle bei der Regulierung von Polaritätsprozessen. Zu diesen gehört zum Beispiel die Etablierung von apikal-basolateraler Polarität in Epithelzellen als auch asymmetrische Zellteilung. Im Gegensatz zu einschichtigen Epithelien, in denen die Etablierung von apiko-basaler Polarität durch Polaritätsproteine gut untersucht ist, ist die Rolle von Polaritätsproteinen bei der Etablierung der Gewebepolarität in mehrschichtigen Epithelien, wie der Haut, weitestgehend unverstanden.

Mit Hilfe von Mausmodellen konnte zuvor eine essentielle Rolle des Polaritätsproteins Par3 für die Hauthomöostase identifiziert werden. Ein Epidermis-spezifischer Verlust von Par3 führte zu einem Barriereverlust, einem progressiven Verlust der Haarfollikel-Stammzellpopulation, einer veränderten Orientierung der mitotischen Spindel in diversen Haut-Kompartimenten sowie einer erhöhten Differenzierung der Epidermis. Darüberhinaus ergab eine Untersuchung der viskoelastischen Eigenschaften Par3-defizienter Keratinozyten eine verringerte Aktomyosin-Kontraktilität.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es molekulare Mechanismen zu identifizieren, die der gestörten Hauthomöostase nach Verlust von Par3 zugrundeliegen. Die Untersuchung zeigte eine erhöhte Anzahl von Zellen des Haarfollikel-Stammzell-Kompartimentes, die DNA-Schädigungen aufwiesen. Eine Analyse der DNA-Schadensantwort in primären Keratinozyten ergab, dass Zellen nach Verlust von Par3 eine erhöhte Aktivität der Kinasen ATR und Chk1 sowie des Tumorsuppressors p53 aufweisen. Mikroskopische Videoanalysen zeigten zusätzlich eine erhöhte Anzahl an Fehlern bei der Zellteilung in Par3-defizienten Zellen wie etwa multipolare Zellteilungen sowie eine verkürzte Dauer der Mitose. Darüberhinaus konnte eine erhöhte Anzahl an Zellen mit abnormaler Chromosomenanzahl nach Verlust von Par3 festgestellt werden, was suggeriert dass Par3 zur Genomintegrität beiträgt. Eine Reaktivierung der reduzierten Aktomyosin Kontraktilität in Par3-defizienten Zellen zeigten deutlich dass verringerte Aktomyosin Kontraktilität infolge des Verlustes von Par3 eine Hauptursache für die bei der Mitose auftretenden Fehler ist. Und dass diese Fehler anschließend zu einer erhöhten Aktivierung der DNA-Schadensantwort führt. Zusammenfassend zeigen diese Daten dass ein Funktionsverlust des Polaritätsproteins Par3 zu einer erhöhten DNA-Schadensantwort führt, welche schließlich verstärkte Differenzierung verursacht. Wir konnten weiterhin feststellen, dass die Par3-abhängige Erhöhung der DNA-Schadensantwort abhängig ist von der Etablierung von Zell-Zell-Kontakten und zu einer erhöhten UV-Sensibilität führt. Außerdem suggerieren unsere Daten, dass Par3 wahrscheinlich durch Regulierung der Aktivität von PP2A direkten Einfluss auf die DNA-

Schadensantwort hat. Zusammenfassend zeigen die dargelegten Daten, dass Polaritätssignale mechanische Eigenschaften des Zellkortex von epidermalen Zellen regulieren, somit die Integrität des Genoms wahren und damit wesentlich zur Hauthomöostase beitragen.