

Abstract

Collagens are the major component in the extracellular matrix (ECM) of connective tissues such as skin, bone, cartilage and tendon, where their function is to provide the structural integrity of the ECM. Mutations in the genes encoding the collagen α - chains lead to disturbance of the triple-helix folding and are associated with connective tissue disorders such as *Osteogenesis imperfecta* (OI). Therefore, the proper folding of collagens is essential for their structural function and is assisted by heat-shock protein 47 kDa (HSP47). In the present study, the collagen-interactome of HSP47 was examined in order to find new collagenous clients that probably also require HSP47-assisted folding. Among the identified collagenous interaction partners, transmembrane collagen XVII produced by keratinocytes was discovered showing a high binding affinity to HSP47. The *in vivo* relevance of this interaction was investigated using a keratinocyte-specific *Hsp47* knockout (eKO) mouse model. Young eKO mice showed altered hemidesmosomes which results from defects in collagen XVII. Due to a compensatory mechanism these mice did not show skin blistering during aging. However, aged mice showed a massive collagen deposition leading to dermal fibrosis which is probably triggered by the activation of different converging signaling pathways, such as WNT- and TGF- β - signaling pathways. Additionally, in the present study the consequences of an *Hsp47* ablation and inhibition in NIH/3T3 cells regarding the collagen secretion and assembly were investigated *in vitro*. This cell line has also been used as system to study OI-causing *Hsp47* mutations. Overall this theses addresses several new questions for the first time, such as the molecular consequences of HSP47 OI causing mutations, the collagen HSP47 interactome, as well as the role of HSP47 in epidermal homeostasis.

Zusammenfassung

Kollagene stellen den Hauptbestandteil der extrazellulären Matrix (EZM) im Bindegewebe von Haut, Knochen, Knorpel und Sehnen dar. Ihre Hauptfunktion ist dort die Aufrechterhaltung der strukturellen Integrität der EZM. Mutationen in den Genen kodierend für die Kollagen Ketten, welche zu Faltungsdefekten und Deposition von Kollagen führen, sind mit einer Reihe von Bindegewebserkrankungen wie z.B. *Osteogenesis imperfecta* (OI) assoziiert. Die korrekte Kollagen-Faltung ist daher essentiell und wird von Hitzeschock Protein 47 kDa (HSP47) sichergestellt. Im Rahmen dieser Arbeit wurde das Kollagen-Interaktom von HSP47 untersucht, um neue Klienten zu identifizieren. Unter den neu-identifizierten Interaktionspartnern wurde Kollagen XVII, ein transmembranes von Keratinozyten synthetisiertes Kollagen, mit einer hohen Bindungsaffinität für HSP47 gefunden. Um die Funktion von HSP47 bei der Kollagen XVII Faltungsassistenz *in vivo* zu untersuchen, wurde ein Keratinozyten-(K14) spezifisches *Hsp47 knockout* Mausmodell (eKO) generiert. Die Mäuse zeigen im jungen Alter veränderte Hemidesmosomen, was durch einen Defekt in Kollagen XVII hervorgerufen wird. Durch einen kompensatorischen Mechanismus zeigen diese Mäuse im Alter keine Blasenbildung der Haut, jedoch kommt es zu einer massiven Haut-Fibrose, die wahrscheinlich durch die Anschaltung verschiedener konvergierender Signalwege, wie den WNT- und TGF- β - Signalweg, hervorgerufen wird. Zusätzlich wurden in dieser Arbeit weiter die Auswirkungen einer *Hsp47* Ablation und Inhibition in NIH/3T3 Zellen auf die Kollagensekretion und -assemblierung *in vitro* untersucht und das Zellmodell für die Analyse verschiedener OI-verursachender *Hsp47* Mutationen verwendet. Damit konnten im Rahmen der vorliegenden Arbeit die Mechanismen der OI- Mutationen hinsichtlich ihrer Pathogenese näher charakterisiert, das Kollagen-Interaktom von HSP47 erweitert und erstmals die essentielle Rolle von HSP47 in der Aufrechterhaltung der Haut-Homöostase beschrieben werden