

Zusammenfassung

Selektive Ubiquitin (Ub)-vermittelte Proteolyse ist der wichtigste Mechanismus im Abbau zytosolischer und nukleärer Proteine eukaryotischer Zellen. Substratproteine werden durch Komponenten des Ub-Systems erkannt und über interne Lysinreste mit Polyubiquitinketten verknüpft. Diese Polyubiquitinketten vermitteln die Bindung an das 26S-Proteasom, einem Komplex mit einer Masse von ca. 2MDa, der die Substratproteine entfaltet und hydrolysiert. Die Expression proteasomaler Gene wird durch einen autoregulatorischen Mechanismus in Abhängigkeit von der proteasomalen Aktivität reguliert. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass der Transkriptionsfaktor Rpn4 neben der basalen Expression die aktivitätsabhängige Expression proteasomaler Gene und des Polyubiquitin-Gens kontrolliert. Die Deletion von *RPN4* verursachte eine Reduktion der proteasomalen Aktivität um 50% und führte in Zellen, in denen die Aktivität oder die Assemblierung der Proteasomen beeinträchtigt war, zur Ausprägung starker Wachstumsdefekte. Die Analyse der Stabilität von Rpn4 in verschiedenen proteasomdefizienten Stämmen zeigte, dass Rpn4 selber ein Substrat des proteasomalen Proteinabbaus ist. Dies bewirkt eine direkte Abhängigkeit der Rpn4-Menge von der proteasomalen Aktivität in der Zelle, die eine Korrelation dieser Aktivität mit der Rpn4-kontrollierten Neusynthese von Proteasomen ermöglicht. Rpn4 ist ein ungewöhnliches Substrat des Proteasoms, das durch von Ubiquitin-abhängigen und -unabhängigen Mechanismen abgebaut wird.

Durch ein selektionsbasiertes „Screening“-Verfahren konnten die Mutanten *dor2* und *dor3* (degradation of Rpn4) isoliert werden, die den Abbau von Rpn4 beeinträchtigen. In der *dor2*-Mutante scheint das Gen *FHL1* betroffen zu sein, das für einen Transkriptionsfaktor kodiert, der an der Prozessierung ribosomaler RNA beteiligt ist. Die Identität des durch *dor3* betroffenen Genes ist noch unbekannt, jedoch konnte gezeigt werden, dass hier spezifisch der Ubiquitin-abhängige Abbau von Rpn4 gestört ist.

Neben der Kontrolle der Expression proteasomaler Gene ist Rpn4 auch Teil eines Netzwerks, das die zelluläre Antwort auf unterschiedliche Stressbedingungen reguliert, die die Beseitigung von DNA-Schäden einschließt. Die Auswirkungen von Substanzen, die solchen Stress hervorrufen, wurden am Beispiel von Methylmethansulfonat (MMS) und Koffein untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass die Zugabe von MMS zu einer Steigerung der *RPN4*-Genexpression führt, während die Zugabe von Koffein zu einem raschen Abbau von Rpn4 führt. Die Deletion von *RPN4* führte zu einer starken Sensitivität gegen beide Substanzen. Die Überexpression der Gene *YAP1* oder *SSZ1*, für die eine Funktion in der zellulären Antwort auf verschiedene Stressbedingungen beschrieben ist, bewirkte eine Suppression dieser Sensitivität. Die Analyse der Mechanismen, die der Regulation von Rpn4 zugrunde liegen, könnte zu interessanten Einblicken in das Zusammenspiel zwischen dem Ubiquitin/Proteasom-System und der zellulären Stressantwort führen.