

Zusammenfassung

Posttranslationale Modifikation mit dem kleinen Ubiquitin-ähnlichen Protein (**“small ubiquitin-related modifier”**) SUMO ist ein wichtiger regulatorischer Mechanismus, der in vielen zellulären Prozessen involviert ist, einschließlich solcher von biomedizinischer Relevanz. Sumoylierung ist ein reversibler Prozess. Für die Hefe *Saccharomyces cerevisiae* wurde gezeigt, dass die Balance zwischen SUMO-Konjugation und -Dekonjugation wichtig für die zelluläre Homöostase ist. Für viele Substrate ist die Regulation ihrer SUMO-Modifikation und deren Effekt auf die Funktion des Proteins noch unklar. Um neue Einblicke in die komplexe Regulation und Funktion der Sumoylierung zu gewinnen, wurde in dieser Arbeit zum ein „Two Hybrid Screen“ zur Identifizierung von SUMO-bindenden Proteinen und zum anderen eine Selektion von spontanen Suppressoren des temperatursensitiven Phänotyps der *ulp2Δ*-Mutante durchgeführt. Letzterer fehlt das SUMO dekonjugierende Enzym Ulp2.

Die Bäckerhefe besitzt zwei SUMO dekonjugierende Enzyme, Ulp1 und Ulp2. Im Gegensatz zu Ulp1 ist Ulp2 nicht essentiell. *Ulp2Δ*-Mutanten sind aber temperatursensitiv und hypersensitiv gegen die Mikotubuli-destabilisierende Chemikalie Thiabendazol und gegen DNA-Schäden induzierendes Methylmethansulfonat. Wegen des Fehlens der Desumoylierungs-Aktivität von Ulp2 akkumuliert die *ulp2Δ*-Mutante sumoylierte Substrate, von denen einige offensichtlich mit hochmolekularen SUMO-Ketten modifiziert sind. Die Selektion von spontanen Mutationen, die den temperatursensitiven Wachstumsphänotyp der *ulp2Δ*-Mutante supprimieren, führte zur Identifizierung mutanter Allele von *ULP2* (*sul8*, *sul9*), *UBA2* (*sul25-2*), *AOS1* (*sul22-2*) und einer Nullmutation im *NUP84*-Gen (*sul23-1*). Alle diese Mutationen bewirken eine Reduktion der zellulären SUMO-Konjugate. Diese Befunde unterstützen somit die Annahme, dass SUMO-Konjugation und -Dekonjugation in einem auf einander abgestimmten Maße erfolgen müssen, damit Zellen normal wachsen können.

Im „Two Hybrid Screen“ wurden sechs Proteine (SIPs) identifiziert, die mit SUMO interagieren. Ein Vergleich der Sequenzen der verschiedenen Klone ergab, dass mit einer Ausnahme alle SIPS eine kurze als SUMO-Interaktionsmotiv (SIM) bezeichnete Sequenz enthalten. Zwei dieser SIPs, Uls1 und Uls2, wurden in dieser Arbeit als Ubiquitin-Ligasen vom RING-Finger-Typ charakterisiert, die eine proteolytische Kontrolle von SUMO-Konjugaten vermitteln. Genetische und biochemische Daten deuten darauf hin, dass die dynamische Funktion von SUMO-Substraten zum einen durch Ausbildung von SUMO-Ketten (Polysumoylierung) und zum anderen durch Ubiquitin-vermittelte Proteolyse kontrolliert wird. Die Inaktivierung beider Mechanismen führte zu starken Wachstumsdefekten. Ubiquitin-vermittelte proteolytische Kontrolle von SUMO-Konjugaten ist offenbar konserviert von der Hefe bis zum Menschen. Behandlung von HeLa-Zellen mit Proteasom-Inhibitor führte zu einer Akkumulation von SUMO2/3-Konjugaten. SUMO1-Konjugate waren dagegen nur wenig verändert. Ubiquitin-vermittelte proteolytische Kontrolle stellt demzufolge einen neuen funktionellen Unterschied zwischen SUMO-Isoformen in menschlichen Zellen dar.