

Zusammenfassung

Ubiquitin ist eine post-translationale Modifikation die eine Vielzahl von zellulären Signaltransduktionswegen reguliert. Deubiquitinasen (DUBs) sind dabei essentielle Regulatoren des Ubiquitin-Systemes, indem sie Ubiquitinketten kürzen oder von Substraten entfernen. Im Menschen sind derzeit 99 DUBs bekannt, die in 6 Familien unterteilt sind. Die vorliegende Studie konzentriert sich auf die Charakterisierung einer neuen DUB namens ZUFSP und identifiziert dabei eine neue, siebte DUB Familie.

In dieser Studie wurde gezeigt das ZUFSP spezifisch für Ubiquitin ist und darüber hinaus selektiv Ubiquitinketten spaltet, welche über K63 verknüpft sind und eine Mindestlänge von drei Ubiquitinmolekülen haben. Darüberhinaus wurde gezeigt, dass diese Ketten in einem „endo-Spaltungs“ Modus prozessiert werden. Die ermittelte ZUFSP/Ubiquitin-Komplexstruktur gewährt Einsichten in den molekularen Mechanismus der Ubiquitin-Spezifität von ZUFSP. Außerdem erlaubte die Bestimmung der Kristallstruktur von ZUFSP die Entdeckung einer neuen Ubiquitinbindedomäne namens zUBD und einer Region namens „ α 2/3 Vorsprung“, welche als S1 und S1' Bindestelle dienen. Zusammen bestimmen beide die Selektivität für K63-verknüpfte Ubiquitinketten. Strukturvergleiche von ZUFSP zu anderen Proteasen, insbesondere zu Mitgliedern der ATG4 und UFSP Familien, etablierten ZUFSP als Gründungsmitglied einer neuen Proteasefamilie, die zum CA-Klan gehört, sich aber klar von den ATG4 und UFSP Familien abgrenzt.

Obwohl ZUFSP das einzige humane Mitglied dieser neuen Familie ist, konnte durch Untersuchungen homologer Proteine aus anderen Spezies eine unterschiedliche Zusammensetzung der N-terminalen Ubiquitinbindedomänen (UBDs) festgestellt werden. Vergleichende biochemische Analysen der Homologe resultierte in einer Aufteilung der ZUFSP-Familie in zwei Unterfamilien. Einerseits zeigte ein Insekten Homolog, welches einen ähnlichen Aufbau an UBDs wie ZUFSP aufweist, diesselbe Selektivität für längere K63-verknüpfte Ubiquitinketten. Andererseits zeigten Homologe aus der Hefe *S. pombe* und der Pflanze *A. thaliana*, welche entweder keine oder nur eine UBD aufweisen, eine selektive Spaltung von K48-verknüpften Ketten, unabhängig von ihrer Länge. Die Strukturen der Insekten und Hefe Homologe wurden in dieser Studie bestimmt und hoben Unterschiede in der Ubiquitinbindung beider Unterfamilien hervor. Außerdem wurde eine vermeintliche Oxyaniontasche in der K63-spezifischen Unterfamilie entdeckt und dadurch die Aktivität von humanem ZUFSP gesteigert.

Basierend auf dieser detaillierten biochemischen Charakterisierung von ZUFSP wurde eine mögliche biologische Funktion abgeleitet. In diesem Zusammenhang wurde eine mögliche Rolle im homologen Reparatur (HR) Mechanismus nach DNA-Doppelstrangbrüchen (DSBs) bestätigt, welche in einer vorherigen Studie vorgeschlagen wurde. Einerseits stimmt die identifizierte Selektivität für K63-verknüpfte Ketten mit dieser Rolle überein, da der HR Mechanismus höchgradig durch diesen Kettentyp reguliert wird. Andererseits konnte diese Studie eine Interaktion zwischen ZUFSP und dem RPA-Komplex bestätigen sowie mit USP7, USP11 und UBR5 neue Interaktionspartner identifizieren, welche wichtige Funktionen im HR Mechanismus übernehmen.

Insgesamt identifizierte diese Studie eine neue und selektive Familie von Deubiquitinasen, deren humanes Mitglied eine regulatorische Funktion in der Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen einnimmt.