



Universiteit
Leiden

The Netherlands

SUMO unchained: molecular mechanisms of ubiquitin-like signal transduction in cell cycle progression

Jansen, N.S.

Citation

Jansen, N. S. (2024, June 19). *SUMO unchained: molecular mechanisms of ubiquitin-like signal transduction in cell cycle progression*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3764181>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3764181>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).



Appendix

Nederlandse Samenvatting

List of Publications

Curriculum Vitae

Acknowledgements

Nederlandse samenvatting

Alle levende organisme bestaan uit cellen, de fundamentele bouwstenen van het leven. Een cel bestaat uit drie hoofdonderdelen. De buitenkant van de cel bestaat uit een membraan, die de in- en uitgang van materiaal tot de cel reguleert. Eiwitten worden geproduceerd in het cytoplasma door ribosomen. Eiwitten zijn essentiële moleculaire bouwstenen die het leven mogelijk maken en worden daarom ook goed gecontroleerd in hun synthese, vouwing, lokalisatie en afbraak. Disregulatie van eiwitten kan uiteindelijk leiden tot ziektes en kan uiteindelijk leiden tot celdood. Na de productie van eiwitten kunnen deze ook gemodificeerd worden. Dit wordt post translationele modificatie genoemd (PTM). PTMs zijn het toevoegen van een eiwit of chemische groep aan een bestaand eiwit om zo functie, locatie, stabiliteit en interactie te beïnvloeden. Veel voorkomende PTMs zijn fosforylatie, methylatie, acetylatie, glycosylatie, ubiquitinatie en SUMOylatie.

In dit proefschrift duiken wij dieper in de moleculaire wereld van SUMO en ubiquitine. Deze twee PTMs lijken veel op elkaar in termen van grootte, 3D structuur en enzymatische cascade. De conjugatie van deze eiwitten bestaat uit drie stappen, uitgevoerd door drie verschillende enzymen. De conjugatie begint met een E1 activerend enzym, welk een thioester bond vormt en daarna bindt aan het E2 conjugerend enzym. Dit proces gebruikt energie in de vorm van ATP. Het E3 enzym, welke zorgt voor ligatie, faciliteert het proces van specifieke binding aan het doel eiwit. SUMO2 en SUMO3 bevatten allebei een bepaald N-terminaal motief dat zorgt voor de mogelijkheid tot het vormen van een ketting. Ubiquitine heeft dit vermogen ook en deze kettingen staan bekend om hun rol in afbraak van eiwitten door het proteasoom. Deze kettingen kunnen ontkoppeld worden door specifieke enzymen genaamd proteasen, SENPs in geval van SUMO. Op dit moment zijn er zes SENPs bekend (SEN1-3, SEN5-7).

Hoofdstuk 1 is een uitgebreide introductie over belangrijke PTMs, de bijbehorende enzymen en alle processen die belangrijk zijn voor dit proefschrift. In **Hoofdstuk 2** wordt er verdiept in de vorming van SUMO kettingen en de proteasen die dit proces kunnen terug draaien. SENP6 en SENP7 zijn twee proteasen die verantwoordelijk zijn voor het ontkoppelen van SUMO kettingen. Als één van deze proteasen zijn functie niet uitvoert, stopt de cel met prolifereren en zal uiteindelijk sterven. Dit betekent dat deze twee enzymen elkaars functie niet kunnen overnemen. De functie van SUMO kettingen is vooral bekend als een indirect signaal voor afbraak en er is nog niet zoveel over bekend als over ubiquitine kettingen. Als SENP6 niet meer actief is in de cel, zorgt dit voor een ophoping van SUMO-ketting gemodificeerde eiwitten, die we met behulp van massa spectrometrie konden identificeren. In **Hoofdstuk 3** ontdekten wij een groepsmodificatie van SUMO die wordt gereguleerd door SENP6. Wij ontdekten hierbij meerdere leden van een groep genaamd Constitutive-centromere associated network (CCAN), een belangrijk centromeer eiwitcomplex. De niet verwijderde SUMO kettingen zorgen voor een niet correcte lokalisatie van de CCAN-eiwitten maar leiden niet tot afbraak hiervan. Wij stellen daarom dat de SUMO-kettingen op deze eiwitten niet leiden tot afbraak maar tot sterische hindering om een correct complex te vormen. De kettingen hebben dus ook andere functies dan alleen het afbraak signaal zoals eerder gedacht.

In **Hoofdstuk 4** bespreken wij vier patiënten zijn aangedaan met een mutatie in SENP7. Deze patiënten lijden aan meerdere ziektes zoals fatale arthrogyposis, respiratoire falen, neutropenie, welke uiteindelijk leidden tot de dood. Een opvallende klinische vondst was dat twee van de drie patiënten neutropenie en ernstige infecties hadden. Om te onderzoeken wat deze vervroegde stop mutatie in SENP7 op een moleculair niveau betekende, hebben wij massa spectrometrie uitgevoerd op cellen van de patiënt. Massa spectrometrie is gedaan om te bepalen of een verlies van functionele SENP7 de totale levels van eiwitten verandert op zowel het chromatine als op totaal level in patiënt cellen. Onze resultaten laten een significante disregulatie zien van eiwit expressie profielen op beide levels met voornamelijk verminderde expressie i.p.v. verhoogde expressie. Voornamelijk werd verminderde eiwit expressie gevonden in componenten van het nucleoplasma en het chromatine. De meest aangedane eiwit familie in de screen was de histon familie. Deze resultaten impliceren een rol voor SENP7 in chromatine regulatie, waar eerder onderzoek al op duidde. De massa spectrometrie resultaten riep de vraag op, of knockdown van SENP7 de directe expressie van histon levels zou beïnvloeden. Maar onze resultaten laten zien dat een tijdelijke knockdown van SENP7 op controle fibroblast cellen histon biogenese niet beïnvloedt. Dit wijst op een rol voor SENP7 in vroege embryonale ontwikkeling, die niet wordt gerepliceerd door een tijdelijke afwezigheid van SENP7. In dit hoofdstuk laten we mogelijk kritische nieuwe rollen voor SENP7 zien in zenuwstelsel ontwikkeling, hematopoëse en immuun functies in mensen.

De hoofdstukken hiervoor hebben laten zien dat SUMO en andere PTMs zoals ubiquitine, belangrijk zijn voor de deling van cellen. Maar wat maakt ze zo belangrijk en op welke eiwitten hebben zij invloed? Dit wordt besproken in **Hoofdstuk 5**. Eerder onderzoek heeft laten zien dat SUMO een belangrijke rol speelt bij de regulatie van een mitotisch checkpunt complex (MCC). In onze massa spectrometrie screens hebben we op een onbevooroordeelde manier gekeken naar eiwitten, die belangrijk zijn voor cel deling, en in de prometaphase van de M-fase worden geSUMOyleerd en geubiquitineerd. Zowel SUMO als ubiquitine modificeren voornamelijk functionele eiwit groepen in plaats van individuele eiwitten. De allernieuwste massa spectrometrie methode heeft specifieke binding locaties van ubiquitine op duizenden eiwitten onthuld. Interessant is dat condensin complex I subunit nCAPH zowel werd geSUMOyleerd als geubiquitineerd in prometaphase. Een remming van SUMO en ubiquitine conjugatie zorgde niet voor hindering van de formatie van condensin complex I. Remming van ubiquitine in deze fase zorgde wel voor een verminderde interactie tussen nCAPH met dynein cytoplasmic 1 light intermediate chain 1 (DYNC1L1), wat hint op een rol voor ubiquitine in het spindel formatie checkpunt (SAC). In **Hoofdstuk 6** bespreken we wat deze kleine maar veel belovende post translationeel modificerende eiwitten in petto hebben. Zoals gezegd heeft dit eiwit een significante invloed op fundamentele cellulaire processen. Onze verkenning van dit onderwerp wordt bediscussieerd in dit hoofdstuk, samen met alle bevindingen die zijn gedaan in eerdere publicaties. In dit hoofdstuk worden ook de toekomstige aspecten en klinische relevantie bediscussieerd.