



Universiteit
Leiden

The Netherlands

Safeguarding genome integrity with small ubiquitin-like modifiers

Claessens, L.A.

Citation

Claessens, L. A. (2024, June 27). *Safeguarding genome integrity with small ubiquitin-like modifiers*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3765377>

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/1887/3765377>

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

Appendix

Nederlandse samenvatting
List of publications
Curriculum Vitae
Acknowledgements

NEDERLANDSE SAMENVATTING

SUMOylering is een posttranslationale eiwitmodificatie die essentieel is voor allerlei processen die zich afspelen in een cel. In dit proefschrift onderzoeken we de rol van SUMO in het reguleren van processen die zich afspelen in de celkern, met een specifieke focus op het onderhouden van genomstabiliteit. Hierbij kijken we naar zowel SUMO conjugatie en deconjugatie (**hoofdstuk 2 en 3**) als noncovalente SUMO interacties (**hoofdstuk 4 en 5**).

Tijdens SUMO conjugatie worden SUMO eiwitten (SUMO1, SUMO2 en SUMO3) covalent gebonden aan lysine residuen in substraat-eiwitten via een stapsgewijze, enzymatische cascade. Naast de SUMOylering van individuele lysine residuen, kan SUMO2/3 zelf ook worden gemodificeerd en zogenoemde SUMO2/3 kettingen vormen op eiwitten. SUMOylering kan verschillende eigenschappen van eiwitten reguleren, waaronder de activiteit, de stabiliteit, de lokalisatie en de interactie met andere eiwitten. Dit laatste wordt gefaciliteerd door SUMO-interactie motieven. Dit zijn specifieke motieven in eiwitten die noncovalent aan SUMO kunnen binden. SUMOylering is een dynamisch en reversibel proces; SUMO wordt verwijderd van eiwitten door een groep enzymen, de SUMO proteasen. Dit wordt SUMO deconjugatie of deSUMOylering genoemd. Dit zorgt ervoor dat de hoeveelheid vrije SUMO en SUMO op eiwitten altijd in balans is en snel kan worden aangepast aan de omstandigheden in een cel. Deregulatie van SUMOylering en deSUMOylering leidt onder andere tot defecten in celdeling en genominstabiliteit, en is geassocieerd met verschillende ziektebeelden waaronder kanker.

In **hoofdstuk 1** geven we een introductie van het SUMO veld en de gerelateerde onderwerpen die aan bod komen in het onderzoek dat wordt beschreven in het proefschrift. In **hoofdstuk 2** geven we een overzicht van de literatuur over SUMO proteasen, de enzymen die SUMOs van eiwitten afhalen. We bespreken de ontwikkelingen binnen deze tak van het onderzoeksveld van de afgelopen 5 tot 10 jaar. In deze periode zijn veel nieuwe substraten van SUMO proteasen ontdekt, en is er ook meer bekend geworden over de cellulaire en fysiologische processen waarin ze een belangrijke rol spelen. We belichten ook hun nieuw ontdekte betrokkenheid bij ziekten, specifiek kanker, en bespreken de mogelijkheid om therapieën te richten op deze proteasen. Tot slot bespreken we de recente ontwikkelingen in het vinden en maken van specifieke remmers voor SUMO proteasen en welke uitdagingen daar nog liggen.

SUMO proteasen verschillen van elkaar in specifieke eigenschappen, zoals hun subcellulaire lokalisatie en voorkeur voor SUMO1 of SUMO2/3. De SUMO proteasen SENP6 en SENP7 zijn SUMO proteasen die SUMO2/3 kettingen van eiwitten kunnen verwijderen. SENP6 is

belangrijk voor het waarborgen van genoomstabiliteit in cellen, maar we zijn nog steeds beperkt in onze kennis van de onderliggende mechanismen. In **hoofdstuk 3** bieden wij nieuwe inzichten in de rol van SENP6 in de respons op DNA schade. Met behulp van massaspectrometrie en biochemische validatie tonen wij aan dat SENP6 SUMO2/3 kettingen verwijdert van een groep eiwitten die betrokken is bij het repareren van DNA schade, zowel onder basale condities als in reactie op geïnduceerde DNA schade. Dit wijst op regulatie door groepsmodificatie. We hebben onderzocht hoe deze regulatie bijdraagt aan de functie van deze eiwitten tijdens DNA schade signaaltransductie door te kijken naar hun subcellulaire lokalisatie, nucleaire condensatietoestand en kinetiek op de plaatsen van DNA schade. We laten zien dat SENP6 belangrijk is voor de lokalisatie en condensatie van de DNA schade eiwitten. Dit wordt in ieder geval deels gereguleerd via de antagonistische rol van SENP6 en de SUMO-gerichte ubiquitine ligase RNF4. De depletie van SENP6 resulteert in spontane DNA schade en een gedereguleerde kinetiek van SUMO2/3 en de DNA schade eiwitten op de plaatsen van DNA schade; er is een vroegtijdige en excessieve rekrutering, en een defect in het tijdig verwijderen van de eiwitten om de signaalcascade correct te laten plaatsvinden en uiteindelijk de schade in het DNA te herstellen. Daarnaast resulteert de depletie van SENP6 in de ophoping van SUMO2/3 en DNA schade eiwitten in nucleaire bodies. We tonen aan dat dit wordt aangedreven door multivalente interacties tussen de SUMO kettingen en SUMO-interactie motieven in de eiwitten. Samengevat illustreert dit hoofdstuk de gecoördineerde regulatie van geSUMOyleerde DNA schade eiwitten door de SUMO protease SENP6.

Behalve SUMO conjugatie en deconjugatie spelen noncovalente interacties met SUMO ook een belangrijke rol in de respons op DNA schade. In **hoofdstuk 4** hebben wij een noncovalente SUMO interactie screen uitgevoerd met behulp van massaspectrometrie. We hebben hierbij gekeken naar de interactie met verschillende vormen van SUMO (SUMO1, SUMO2 en een SUMO2 trimeer) om zo meer inzicht te krijgen in welke eiwitten in de cel aan SUMO binden, het SUMO interactoom. Onder de interactoren waren veel eiwitten die betrokken zijn bij het herstellen van DNA schade, waarvan wij specifiek geïnteresseerd waren in het eiwit XRCC4 omdat dit het enige eiwit was dat preferentieel aan SUMO2 trimeren bindt in plaats van aan SUMO2 monomeren. We hebben een SUMO-interactie motief in dit eiwit geïdentificeerd dat verantwoordelijk is voor deze binding. Daarnaast laten we laten zien dat het muteren van dit motief de binding van XRCC4 aan partner-eiwit DNA ligase IV verbreekt en de rekrutering naar beschadigd DNA beperkt.

Interactie met een SUMO-interactie motief is de best gekarakteriseerde en voornaamste modus van noncovalente SUMO binding. Onze kennis van andere modi van SUMO interacties is op dit moment beperkt. In **hoofdstuk 5** hebben we een noncovalente SUMO interactie

screen uitgevoerd met behulp van massaspectrometrie met SUMO2/3 mutanten die niet aan klassieke SUMO-interactie motieven in eiwitten kunnen binden. Op deze manier konden we gerichte verrijken voor eiwitten die via een alternatieve wijze aan SUMO binden. Daarnaast breidden we dit uit door ook naar covalente SUMOylering te kijken in de context van deze SUMO mutanten. We onderzochten in hoeverre de SUMOylering van eiwitten afhankelijk is van noncovalente SUMO interacties met onder andere de SUMO-gerelateerde enzymen, waaronder het SUMO E2 enzym UBC9, de SUMO E3 ligases en de SUMO proteasen. Alles welbeschouwd, bieden wij met het onderzoek in **hoofdstuk 4** en **hoofdstuk 5** unieke en nieuwe inzichten in het noncovalente SUMO interactoom van een cel.

In **hoofdstuk 6** vatten we al het onderzoek in dit proefschrift samen en plaatsen we het in de bredere context van het SUMO veld. Ons onderzoek biedt nieuwe mechanistische inzichten in de rol van SUMO in het waarborgen van genoomstabiliteit en noncovalente SUMO interacties. Een beter begrip van deze mechanismen zal op langere termijn bijdragen aan gerichte therapieën bij ziektebeelden waarin SUMO een rol speelt.