

## 5 Zusammenfassung

Die zelluläre Qualitätskontrolle ist für einen effektiven Transport funktioneller und ein nachhaltiges Erkennen und Aussortieren fehlgefalteter Proteine unerlässlich. Sie wird von einer Maschinerie von Proteinen, den molekularen Chaperonen, gewährleistet. In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, inwiefern nicht nur das endoplasmatische Retikulum (ER), sondern auch das zwischen diesem und dem Golgi-Apparat befindliche ER-Golgi-Intermediärkompartiment (ERGIC) zu diesem Qualitätskontrollsystem beiträgt und welche Eigenschaften von Proteinen einer unterschiedlichen Erkennung zu Grunde liegen könnten. Dabei wurde als klinisch relevantes Modellprotein der G-Protein gekoppelte Vasopressin-V2-Rezeptor (V2R) untersucht. Mutationen dieses Proteins können zu fehlgefalteten, transportdefekten Formen und zum *Diabetes insipidus renalis* (nephrogener Diabetes insipidus, NDI) führen.

Es konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass einige mutierte V2-Rezeptoren ausschließlich im ER retiniert werden (Klasse A), andere dagegen das ERGIC erreichen (Klasse B). Durch Proteolyseexperimente stellte sich heraus, dass dem Erreichen des ERGIC Faltungszustände zugrunde liegen, die sich von denen der im ER retinierten Rezeptoren unterscheiden. Die bei den Klasse B-Rezeptoren mutierten Aminosäuren befanden sich im Gegensatz zu den V2R-Mutanten der Klasse A in der carboxyterminalen Hälfte des Proteins und wurden von der Qualitätskontrolle später erkannt. Somit werden verschiedene Mutationen des gleichen Membranproteins in unterschiedlichen Zellkompartimenten retiniert, wobei Faltungszustände, nicht aber Expressionsraten Ursachen sind.

Um mittels eines molekularpharmakologischen Ansatzes diese jenseits des ER stattfindende Qualitätskontrolle zu beeinflussen, wurden die Zellen mit zellpenetrierenden Peptiden behandelt, von denen bekannt war, dass sie nach Endozytose den Golgi-Apparat durchwandern, ohne das ER zu erreichen. Es konnte gezeigt werden, dass durch Behandlung der Zellen mit den Peptiden Penetratin und KLAL selektiv der Transport der ERGIC-erreichenden V2-Rezeptormutanten an die Plasmamembran wiederhergestellt werden kann. Koimmunpräzipitationsuntersuchungen zeigten, dass in Folge der Peptidbehandlung das molekulare Chaperon BiP von den im ERGIC retinierten Mutanten verdrängt wird. In dieser

Arbeit konnte damit erstmalig eine selektive Hemmung der Post-ER-Qualitätskontrolle beschrieben werden.

In Zukunft könnten die zellpenetrierenden Peptide für die Untersuchung der außerhalb des ERs stattfindenden Qualitätskontrolle ein wertvolles Werkzeug darstellen. Niedermolekulare Substanzen mit ähnlichen Eigenschaften könnten möglicherweise therapeutisch bei den Erkrankungen eingesetzt werden, bei denen transportdefekte Membranproteine der Klasse B eine Rolle spielen.

## 6 Summary

The cellular quality control system (QCS) consists of a protein machinery of molecular chaperones. It is essential for efficient recognition and retention of misfolded proteins that are unable to obtain native and functional conformations. It was previously thought that the QCS is restricted to the endoplasmic reticulum (ER). In this study it has been investigated whether the ER/Golgi intermediate compartment (ERGIC) contributes to the retention of mutant membrane proteins. In addition, the properties of the proteins that are relevant for the putative different retention processes in the early secretory pathway were studied. As a model protein, the G protein-coupled V2 vasopressin receptor (V2R) and a series of its naturally occurring mutants causing *nephrogenic diabetes insipidus* (NDI) were analysed.

It could be demonstrated that some V2R mutants are exclusively retained in the ER (class A), whereas others reach the ERGIC (class B). Expression levels did not influence the retention mechanisms. Instead, it was shown by limited proteolysis experiments that different folding states are responsible for whether or not a mutant receptor reaches the ERGIC. The mutations of class B receptors are located more C-terminally in the receptor. In conclusion, disease-causing mutants of the same particular membrane protein may be retained in different compartments of the early secretory pathway. Thus, the retention mechanism seems to be determined by the folding state of the protein.

In addition, it was shown that the cell-penetrating peptides penetratin and KLAL, that have been demonstrated earlier to enter the cell via the retrograde endocytic pathway without reaching the ER, are able to displace quality control components specifically in post-ER compartments. The peptides specifically rescued the cell surface expression of a subset of class B mutants by disrupting their association with BiP, one of the major molecular chaperones resident in the early secretory pathway. The class A mutants that are retained exclusively in the ER could not be rescued upon peptide treatment demonstrating a specificity of the peptides for post-ER compartments.

In conclusion, the peptides penetratin and KLAL represent powerful tools to study post-ER quality control mechanisms. Low molecular weight compounds with similar properties may also be useful for the treatment of diseases in which transport-deficient class B membrane proteins play a role.