

**Degradomic-based approaches to
elucidate (patho-)physiological
functions of the metalloprotease
meprin β**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von
Kira Madleen Bickenbach

Erster Gutachter: Prof. Dr. Christoph Becker-Pauly

Zweiter Gutachter: Prof. Dr. Axel Scheidig

Tag der mündlichen Prüfung: 12.09.2025

Zum Druck genehmigt: 12.09.2025

Preface

This dissertation has been prepared partly cumulative. Data obtained in the presented thesis have been described in detail in seven peer-reviewed publications and one manuscript published on a preprint server.

1. **Bickenbach, K.***, David, N.*, Koudelka, T., Joos, C., Scharfenberg, F., Ruffer, M., Armbrust, F., Georgiadis, D., Beau, F., Stahmer, L., Rahn, S., Tholey, A., Pietrzik, C., Becker-Pauly, C., 2025. Targeted approach to determine the impact of cancer-associated protease variants. *Sci. Adv.* 11, eadp5958. DOI: 10.1126/sciadv.adp5958 (*: contributed equally)
2. Armbrust, F.*, **Bickenbach, K.***, Koudelka, T., Joos, C., Keller, M., Tholey, A., Pietrzik, C.U., Becker-Pauly, C., 2025. HYTANE-Identified Latrophilin-3 Cleavage by Meprin β Leads to Loss of the Interaction Domains. *J. Proteome Res.* 24, 1832-1844. DOI: 10.1021/acs.jproteome.4c00912 (*: contributed equally)
3. Keller, M., Gallagher, C., Kreiselmaier, S., **Bickenbach, K.**, Schmitt, U., Marengo, L., Taghikhah, D., Abukhalaf, M., Tholey, A., Becker-Pauly, C., Mittmann, T., Pietrzik, C.U., 2025. Meprin β Modulates Brevican Proteolysis Impairing Neural Plasticity and Memory Formation. *FASEB J.* 39, e70616. <https://doi.org/10.1096/fj.202500017R>
4. Armbrust, F., **Bickenbach, K.**, Altmepfen, H., Foggetti, A., Winkelmann, A., Wulff, P., Glatzel, M., Pietrzik, C.U., Becker-Pauly, C., 2024. A novel mouse model for N-terminal truncated A β 2-x generation through meprin β overexpression in astrocytes. *Cell. Mol. Life Sci.* 81, 139. DOI: 10.1007/s00018-024-05139-w
5. Werny, L., Grogro, A., **Bickenbach, K.**, Bülck, C., Armbrust, F., Koudelka, T., Pathak, K., Scharfenberg, F., Sammel, M., Sheikhouy, F., Tholey, A., Linder, S., Becker-Pauly, C., 2023. MT1-MMP and ADAM10/17 exhibit a remarkable overlap of shedding properties. *FEBS J.* 290, 93-111. DOI: 10.1111/febs.16586 <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.4c00912>
6. Armbrust, F., **Bickenbach, K.**, Marengo, L., Pietrzik, C., Becker-Pauly, C., 2022. The Swedish dilemma - the almost exclusive use of APP_{swe}-based mouse models impedes adequate evaluation of alternative β -secretases. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Res.* 1869, 119164. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2021.119164
7. Armbrust, F., **Bickenbach, K.**, Koudelka, T., Tholey, A., Pietrzik, C., Becker-Pauly, C., 2021. Phosphorylation of meprin β controls its cell surface abundance and subsequently diminishes ectodomain shedding. *FASEB J.* 35, e21677. DOI: 10.1096/fj.202100271R

8. Köhling, V., Peters, F., Götting, I., Fries, E., Beck, N., Armbrust, F., Beckinger, S., Bülck, C., Canbay, V., Harder, I., Mengel, M., Ruffer, M., **Bickenbach, K.**, Kalogeropoulos, K., Schweizer, M., Schumacher, N., Haase, M., Naumann, R., Keller, U. auf dem, Becker-Pauly, C., Ruffer, S., 2025. Pathological meprin α expression associated with degradation of dermokine drives a psoriasis-like skin phenotype in a genetic mouse model. <https://doi.org/10.1101/2025.05.23.655724> (bioRxiv preprint)

Abstract

In this thesis, degradomic-based approaches - combining unbiased and targeted analyses in both *in vitro* and *in vivo* settings - were employed to investigate physiological and pathophysiological roles of the metalloprotease meprin β . Expressed in the kidney, skin, brain, and gut, meprin β participates in complex proteolytic networks, cleaving various soluble and transmembrane substrates. Therefore, dysregulation of meprin β is associated with different diseases, such as Alzheimer's disease and cancer.

Genomic studies of human cancer samples have identified numerous single-nucleotide variants (SNVs) within the gene coding for meprin β . Especially cancer-associated SNVs affecting the active site of proteases may largely impact their cleavage specificity, substrate processing, and, ultimately, cancer cell behavior. To facilitate systematic studies, a **Targeted Approach** to determine the impact of **Cancer-Associated Protease** variants (**TACAP**) was developed and applied to analyze the meprin β R238Q variant. This amino acid exchange at the S1' position of meprin β leads to a loss of its characteristic cleavage preference for acidic amino acids at P1' position, accompanied by changes in the substrate pool and inhibitor efficiencies compared to meprin β wildtype (wt). Functional *in cellulo* and *ex vivo* analyses provided evidence that the expression of meprin β and its cancer-associated variants promotes tumor cell invasiveness and migration.

Although meprin β is known to be involved in the pathology of Alzheimer's disease, its broader cerebral substrate profile remained largely unknown. An unbiased proteomic approach of a disease-associated mouse model overexpressing meprin β in astrocytes revealed latrophilin-3, a G protein-coupled receptor as a potential substrate. Further validation conducted through *in cellulo*, *ex vivo*, and *in vivo* methodologies confirmed that the proteolytic cleavage of latrophilin-3 by meprin β results in the release of its interaction domains, which are crucial for maintaining synaptic integrity. Thus, proteolytic processing of latrophilin-3 by meprin β may contribute to the observed alterations in exploratory behavior in mice overexpressing meprin β in astrocytes.

Furthermore, *in cellulo* and *in vivo* consequences of the proteolytic processing of transferrin receptor I (TfRI) were analyzed.

In conclusion, this thesis demonstrates the power of degradomic-based analyses to uncover novel protease-substrate interactions and their functional relevance. Described findings shed light on the roles of meprin β in cancer progression, cerebral function, and iron homeostasis, expanding the understanding of its biological relevance in health and disease.

Zusammenfassung

In der vorliegenden Dissertation wurden Degradomik-basierte Anwendungen, die unbefangene und zielgerichtete Analysen ermöglichen sowie *in vitro* als auch *in vivo* Untersuchungen umfassen, kombiniert, um die physiologischen und pathophysiologischen Funktionen der Metalloprotease Meprin β genauer zu untersuchen. Meprin β wird in der Niere, der Haut, dem Gehirn und dem Darm exprimiert und spaltet innerhalb eines komplexen proteolytischen Netzwerks eine Vielzahl löslicher sowie membranständiger Substrate. Eine Fehlregulation von Meprin β wird mit verschiedenen Erkrankungen wie Morbus Alzheimer und Krebs in Verbindung gebracht. Genomische Studien von humanen Tumorproben identifizierten zahlreiche Einzelnukleotid-Varianten (SNVs) im Gen, welches für Meprin β codiert. Insbesondere Krebs-assoziierte SNVs, die das aktive Zentrum von Proteasen betreffen, können maßgeblich deren Spaltspezifität, Substratprozessierung und somit das Verhalten von Krebszellen beeinflussen.

Zur systematischen Untersuchung von Krebs-assoziierten Proteasevarianten wurde der zielgerichtete Ansatz **TACAP** (*Targeted Approach to determine the impact of Cancer-Associated Protease variants*) entwickelt, mit dessen Hilfe die Meprin β Variante R238Q charakterisiert wurde. Der Austausch dieser Aminosäure an der S1' Position führt zum Verlust der für Meprin β typischen Spaltspezifität für saure Aminosäuren an der P1' Stelle. Gleichzeitig verändert sich das Substratspektrum sowie die Affinität zu Inhibitoren im Vergleich zu wildtypischem Meprin β . Funktionelle Analysen in Zellkultur und in *ex vivo* Ansätzen zeigen, dass die Expression von Meprin β und dessen Krebs-assoziierte Varianten die Invasivität und Migration von Tumorzellen fördert.

Obwohl Meprin β bereits mit der Alzheimer-Krankheit in Verbindung gebracht wurde, war dessen zerebrales Substratspektrum bisher weitgehend unbekannt. N-Terminomik Analysen von einem Krankheits-assoziierten Mausmodell mit einer Überexpression von Meprin β in Astrozyten identifizierte Latrophilin-3 als potenzielles Substrat von Meprin β . Latrophilin-3 ist einen G-Protein-gekoppelten Rezeptor, der an der Synapsenbildung beteiligt ist. Nachfolgende Zell-basierte, *ex vivo* und *in vivo* Validierungen bestätigten, dass die Spaltung von Latrophilin-3 durch Meprin β dessen Interaktionsdomänen freisetzt, die essenziell für die synaptische Integrität sind. Dies kann möglicherweise zu einem beobachteten veränderten Explorationsverhalten des Mausmodells mit einer Überexpression von Meprin β in Astrozyten beitragen.

Darüber hinaus wurden die zellulären und *in vivo*-Folgen der proteolytischen Prozessierung des Transferrin Rezeptors I (TfRI) analysiert.

Zusammenfassend unterstreicht diese Dissertation das Potenzial Degradomik-basierter Analysen zur Identifizierung neuer Protease-Substrat-Interaktionen und ihrer funktionellen Relevanz. Die Ergebnisse liefern neue Erkenntnisse über die Rolle von Meprin β in der Krebsprogression, zerebralen Funktionen und der Eisenhomöostase und erweitern das Verständnis der biologischen Bedeutung von Meprin β unter physiologischen und pathologischen Bedingungen.