

# Post-transcriptional Regulation of Apoptosis in the DNA Damage Response.



Doctoral thesis

for

the award of the doctoral degree

of the Faculty of Mathematics and Natural Sciences

of the University of Cologne

submitted by

**Christina Efraimoglou**

From Crete, Greece

Cologne 2025

Accepted in the year 2025

## Summary

The integrity of the germline is essential for reproductive success and the health of future generations. In the nematode *Caenorhabditis elegans*, persistent DNA damage in germ cells activates a conserved apoptotic program to eliminate defective cells. While transcriptional regulators such as CEP-1/p53 are well characterized in this context, the post-transcriptional mechanisms modulating apoptosis remain largely unexplored. Previous work identified the Argonaut protein ALG-2 and the miR-35–42 family as key regulators of DNA damage-induced apoptosis in *Caenorhabditis elegans*. This dissertation builds upon these findings and investigates how translational control contributes to apoptotic regulation, focusing on the RNA-binding protein CPB-3, a member of the cytoplasmic polyadenylation element binding family.

Through a forward genetic screen conducted in the hyper-apoptotic *alg-2(ok304)* background, we identified *cpb-3* as a suppressor of excessive germline apoptosis following ionizing irradiation. Using a combination of CRISPR-based allelic dissection, proteomics, and RNA immunoprecipitation followed by sequencing, we show that CPB-3 acts as a context-dependent regulator of mRNA stability and translation. Distinct *cpb-3* mutations differentially affect basal and stress-induced apoptosis, revealing domain-specific contributions to RNA-binding specificity and polyadenylation control. Notably, we find that CPB-3 represses the translation of stress-responsive transcripts and modulates MAPK/ERK signalling by affecting MPK-1 abundance, thereby influencing germline apoptotic thresholds.

Our findings also reveal a broader translational compensation network, in which altered CPB-3 activity, combined with the loss of ALG-2, alters the expression of alternative RNA-binding proteins, including the upregulation of NOS-3 and GLD-1. These changes are accompanied by modulation of systemic signalling factors such as WAGO-4 and SYSM-1, suggesting a reorganization of post-transcriptional and inter-tissue regulatory inputs. Furthermore, we demonstrate that starvation-induced germline apoptosis proceeds independently of CEP-1/p53 and instead requires a non-canonical branch of the insulin/IGF-1 signalling pathway, implicating DAF-2 and AKT-2 in nutrient-sensitive cell death.

Together, this work expands the current model of germline apoptosis by revealing how polyadenylation dynamics, translational repression, and inter-tissue signalling

integrate to control apoptotic sensitivity under diverse stress conditions. It establishes CPB-3 as a central node in the post-transcriptional regulation of apoptosis and highlights the versatility of RNA-based regulatory networks in safeguarding reproductive fitness.

## Zusammenfassung

Die Integrität der Keimbahn ist entscheidend für den reproduktiven Erfolg und die Gesundheit zukünftiger Generationen. Im Nematoden *Caenorhabditis elegans* wird durch anhaltende DNA-Schädigung in Keimzellen ein konservierter apoptotischer Mechanismus zur Eliminierung defekter Zellen aktiviert. Während transkriptionelle Regulatoren wie CEP-1/p53 in diesem Kontext gut charakterisiert sind, bleiben die posttranskriptionalen Mechanismen, die die Apoptose modulieren, weitgehend unerforscht. Aufbauend auf früheren Erkenntnissen, die das Argonaut-Protein ALG-2 und die miR-35–42-Familie als zentrale Regulatoren der DNA-Schaden-induzierten Apoptose in *Caenorhabditis elegans* identifizierten, untersucht diese Dissertation, wie die translationale Kontrolle zur Regulation der Apoptose beiträgt. Der Fokus liegt auf dem RNA-bindenden Protein CPB-3, einem Mitglied der Familie der cytoplasmatischen Polyadenylierungs-Element-bindenden Proteine.

Durch einen Phänotyp-Screen im hyperapoptotischen *alg-2(ok304)*-Hintergrund identifizierten wir *cpb-3* als Suppressor übermäßiger Keimbahnaptose nach ionisierender Bestrahlung. Mithilfe einer Kombination aus CRISPR-basierter Alleldissektion, Proteomik und RNA-Immunpräzipitation mit anschließender Sequenzierung zeigen wir, dass CPB-3 als kontextabhängiger Regulator der mRNA-Stabilität und Translation wirkt. Verschiedene *cpb-3*-Mutationen wirken sich unterschiedlich auf die basale und stressinduzierte Apoptose aus und offenbaren domänenspezifische Beiträge zur RNA-Bindungsspezifität und Polyadenylierungskontrolle. Erstaunlicherweise haben wir festgestellt, dass CPB-3 die Translation stressreaktiver Transkripte unterdrückt und die MAPK/ERK-Signalgebung durch Beeinflussung der MPK-1-Mengen moduliert, wodurch die apoptotischen Schwellenwerte in der Keimbahn reguliert werden.

Unsere Ergebnisse decken außerdem ein breiteres translationales Kompensationsnetzwerk auf, in dem der Verlust von CPB-3 und ALG-2 zur Hochregulierung alternativer RNA-bindender Proteine, einschließlich NOS-3 und GLD-1, sowie systemischer Regulatoren wie SYSM-1 und WAGO-4 führt. Darüber hinaus zeigen wir, dass durch Nahrungsmangel induzierte Keimbahnaptose unabhängig von CEP-1/p53 abläuft und stattdessen einen nicht-kanonischen Zweig

des Insulin/IGF-1-Signalwegs erfordert, wodurch DAF-2 und AKT-2 in den nährstoffabhängigen Zelltod einbezogen werden.

Insgesamt erweitert diese Arbeit das derzeitige Modell der Keimbahnapoptose, indem sie aufzeigt, wie die Polyadenylierungsdynamik, die translationale Repression und die gewebeübergreifende Signalübertragung zusammenwirken, um die apoptotische Sensitivität unter verschiedenen Stressbedingungen zu regulieren. Damit wird CPB-3 als zentrale Schaltstelle der posttranskriptionalen Apoptoseregulation etabliert und die Vielseitigkeit von RNA-basierten regulatorischen Netzwerken bei der Sicherung der reproduktiven Fitness hervorgehoben.