

Abstract

Over the years many studies showed the high conservation of netrin-1 signaling among organisms and linked it to many vital processes such as embryonic stem cell regulation and cell migration. Netrin-1 was first described as a guidance cue essential for the proper development of growing axons, which can act as an attractant and repellent cue through its receptors. Furthermore, netrin-1 and its receptors were also shown to participate in the pathogenesis of various diseases such as neurodegeneration, neuroinflammation, and cancer. Therefore, several studies have been conducted to understand the bifunctional, pleiotropic function of netrin-1 in diverse tissues and developmental stages.

In recent years studies have revealed the existence of novel netrin-1 receptors. Furthermore, studies showed a significant role of heparan sulfate proteoglycans (HSPG) during netrin-1 signaling, and a crucial role for morphogens such as BMPs or FGFs for guidance cue function. Therefore, to expand our understanding of netrin-1 function we followed an interdisciplinary approach combining structure biological and functional studies in *C. elegans* to study such novel modulators of netrin-1 function.

Excitingly, we identified fibroblast growth factor receptor like 1 (FGFRL1) as a novel interaction partner of netrin-1 using a mass spectrometry based interactome screen with potential function during embryogenesis. Furthermore, we identified a novel heparin binding region within the VLE2 domain of netrin-1 that functions as a molecular switch for netrin-1 signaling regulated by the heparan sulfate proteoglycan glypican. Lastly, we found that heparin oligosaccharides induce the formation of netrin-1 filaments *in vitro* and found support for the physiological existence of these multimeric structures, whose size is regulated by glypican *in vivo*.

Our findings open new paths towards a molecular understanding of netrin-1 bifunctional and pleiotropic functions enabled by modulators such as HSPGs and novel interaction partners.

Zusammenfassung

Netrin-1 wurde erstmals als Wegweiserprotein beschrieben, das für die ordnungsgemäße Entwicklung wachsender Axone unerlässlich ist. Dabei wurde besonders auf den bifunktionalen Charakter von Netrin-1 hingewiesen, welches mittels seiner kanonischen Rezeptoren als anziehendes und auch als abstoßendes Signal wirken kann. Im Laufe der Jahre haben viele Studien die starke Konservierung von Netrin-1 und seinen Rezeptoren innerhalb der Organismen gezeigt und Netrin-1 mit weiteren lebenswichtigen Prozessen wie der Regulation embryonaler Stammzellen und der Zellmigration in Verbindung gebracht. Netrin-1 und seine Rezeptoren sind zudem an der Pathogenese verschiedener Krankheiten wie Neurodegeneration, Neuroinflammation und Krebs beteiligt. Daher wurden seit seiner Entdeckung mehrere Studien durchgeführt, um den bifunktionalen und pleiotropen Effekt von Netrin-1 in verschiedenen Geweben und Entwicklungsstadien zu verstehen. In den letzten Jahren haben Studien neue Netrin-1-Rezeptoren aufgedeckt, gezeigt, dass Heparansulfat-Proteoglykane (HSPGs) die Netrin-1-Signalübertragung regulieren, und eine wichtige Rolle für Morphogene wie BMPs oder FGFs bei der Funktion von Wegweiserproteinen vorgeschlagen.

Um unser Verständnis der Netrin-1-Funktion zu erweitern, verfolgten wir einen interdisziplinären Ansatz, der strukturelle und funktionelle Studien in *C. elegans* kombinierte. Wir identifizierten den fibroblast growth factor receptor like 1 (FGFRL1) mittels eines massenspektrometrischen Interaktom-Screens als neuartigen Interaktionspartner von Netrin-1 und konnten ihm eine potenziell essentielle Funktion während der Embryogenese zuschreiben. Darüber hinaus identifizierten wir eine neue Heparin-Bindungsregion innerhalb der VLE2-Domäne von Netrin-1, die als molekularer Schalter für die Netrin-1-Signalgebung fungiert und durch das Heparansulfat-Proteoglykan Glypican reguliert wird. Schließlich fanden wir heraus, dass Heparin-Oligosaccharide die Bildung von Netrin-1-Filamenten induzieren, und fanden Unterstützung für die physiologische Existenz dieser multimeren Strukturen.

Unsere Ergebnisse eröffnen neue Wege für ein molekulares Verständnis des bifunktionalen und pleiotropen Effekts von Netrin-1, die durch Modulatoren wie HSPGs und neuartige Interaktionspartner ermöglicht werden.