

**Name: Karthikeyan Tangavelou**

## **Summary**

### ***Strumpellin is a novel valosin-containing protein (VCP/p97) binding partner linking hereditary spastic paraplegia to protein aggregation diseases***

Mutations in the human valosin-containing protein (VCP/p97) and strumpellin genes cause inclusion body myopathy associated with Paget's disease of bone and frontotemporal dementia (IBMPFD) and hereditary spastic paraplegia (HSP), respectively. VCP has been reported to play an important role in various cellular processes, while strumpellin is a largely uncharacterized protein. We found that strumpellin is a novel binding protein to VCP and localized in the cytosol and the endoplasmic reticulum. Strumpellin is a ubiquitous protein and an evolutionary highly conserved protein containing a "spectrin-like" domain. Our cell migration assays showed that hereditary spastic paraplegia causing mutant N471D strumpellin is functionally inactive protein, which imply a strumpellin loss-of-function pathogenesis in hereditary spastic paraplegia. Strumpellin knock-down in human cell lines revealed defects in cell migration as well as axonal outgrowth development. Morpholino based knock-down of the strumpellin ortholog in zebrafish revealed severe cardiac contractile dysfunction, tail curvature and impaired motility which are due to a loss of central and peripheral motoneuron formation. These data imply that strumpellin play an important role in cell migration, axonal outgrowth development and motoneuron formation. Our pull down assays and immunofluorescence analyses showed neither IBMPFD mutant R155C VCP nor hereditary spastic paraplegia mutant N471D strumpellin affect binding to each other. Indirect immunofluorescence showed strumpellin is a pre-synaptic protein colocalized with synaptophysin in the human central nervous system. We further identified strumpellin is a novel component of pathological protein aggregates in IBMPFD, Huntington's disease and various myofibrillar myopathies. Beyond hereditary spastic paraplegia, our findings imply that mutant forms of strumpellin and VCP may have a concerted pathogenic role in various protein aggregation diseases, thereby interlinking motoneuron diseases, frontotemporal dementias, and protein aggregate myopathies.

## Zusammenfassung

### *Strumpellin, ein neuer Bindungspartner von VCP/p97, einem Valosin enthaltenden Protein, das von Proteinaggregationen verursachten Krankheiten zur spastischen Paraplegie verbindet*

Mutationen im humanen VCP (valosin containing protein)-Gen und im Strumpellin-Gen verursachen die autosomal dominant vererbte IBMPFD (IBM = inclusion body myopathy, P= Paget disease of the bone, FD = frontotemporal dementia) und die HSP (hereditary spastic paraplegia oder ererbte spastische Paraplegie). VCP spielt eine Rolle in diversen zellulären Prozessen, während Strumpellin bisher ein weitgehend unbeschriebenes Protein ist. In dieser Arbeit wurde herausgefunden, dass Strumpellin ein neuer direkter Interaktionspartner von VCP ist und im Zytosol und im Endoplasmatischen Reticulum lokalisiert ist. Zusätzlich ist das Strumpellin Protein hochkonserviert und wird ubiquitär exprimiert. Die mutierte N471D Strumpellin Variante, welche die HSP auslöst, verursacht Störungen der Zellmobilität, was darauf hinweist, dass die Mutation die Strumpellinfunktion hemmt. Neben gestörter Zellmobilität verursacht eine Herabregulierung des Strumpellins in neuronalen Zellen Defekte im Axonwachstum. Im Modellorganismus Zebrafisch bewirkt diese Herabregulierung diverse Fehlfunktionen wie z.B. kontraktile Dysfunktionen, abnormale Schwanzkrümmung und gehemmte Mobilität, welche auf eine gestörte Bildung der zentralen und peripheren Motoneuronen zurückzuführen ist. Diese Daten weisen auf eine wichtige Rolle von Strumpellin in zellulären Prozessen wie Zellmobilität und Dynamik, Axonenausbildung und -Entwicklung und Motoneuronenbildung hin. Pull-down-Experimente sowie Immunfluoreszenzfärbungen weisen weder bei der mutierten IBMPFD-VCP-R155C-Variante noch bei der HSP-N417D-Strumpellin-Variante einen negativen Einfluss auf die Interaktion beider Proteine nach. Strumpellin ist, wie Immunfluoreszenzanalysen gezeigt haben, ein prä-synaptisches Protein, welches mit Synaptophysin kolokalisiert. Weiterhin wurde Strumpellin als Bestandteil von pathogenen Proteinaggregaten in Skelettmuskel von IBMPFD- und Huntingtonpatienten sowie im Skelettmuskel von Patienten, welche an myofibrillären Myopathien leiden, identifiziert. Über die Rolle hinaus, welche Strumpellin im Krankheitsbild der HSP spielt, weisen unsere Ergebnisse auf eine allgemeinere komplexe Rolle der Strumpellin-VCP Interaktion in humanen Proteinaggregationskrankheiten hin. Strumpellin kann somit als wichtiges Bindeglied zwischen Motoneuron-Erkrankungen, frontotemporalen Demenzen und Proteinaggregationsmyopathien gelten.