

Abstract

Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) is the third most common neurodegenerative disease. ALS is characterized by the selective degeneration of upper motor neurons in the motor cortex, as well as the lower motor neurons in the brainstem and spinal cord. The cause underlying ALS is not known in 90% of cases, while familial form of ALS accounts for around 10% of the total disease cases. Over 30 genes are associated with the disease, majority of which code for RNA-binding proteins (RBPs). Remarkably, distinct ALS-related RBPs with low-complexity domains can accumulate into stress granules (SGs), membrane-less ribonucleoprotein organelles that form when the cell is under stress. Here we focus on studying FUS protein, an RBP linked with the great majority of severe juvenile ALS cases. We characterize FUS interactome upon ALS-associated severe mutation, P525L. We show that FUS^{P525L/P525L} exhibit increased affinity to H1.2 protein in motor neurons compared to human induced pluripotent stem cells (hiPSCs). We also demonstrated that decreasing the levels of H1.2 leads to improved neuronal survival and recovery of delayed SG dynamics. Complementary to these findings, H1.2 overexpression aggravates FUS-ALS phenotype. Our data from FUS-ALS worm model further confirm the findings in motor neurons. Importantly, knockdown of H1.2 worm orthologs leads to decreased FUS^{P525L} aggregation and improves neuro-muscular activity, while H1.2 overexpression exhibits worsening of FUS^{P525L} aggregation and motility. We propose that internally disordered terminal tails of H1.2 promote FUS^{P525L} condensation. Furthermore, PARylation and PKC-dependent phosphorylation processes are involved in the role H1.2 plays during the progression of FUS-ALS pathology. Indeed, the effect of PAR-null and phospho-null H1.2 overexpression on FUS^{P525L} loci formation is weaker compared to wild-type H1.2. We also show an increase in PARylation levels in FUS mutant motor neurons. Strikingly, H1.2 overexpression also exhibits significant elevation in cellular PARylation levels, suggesting a potential regulation of PARP1 activity by H1.2. To sum up, our results suggest that the roles of FUS, PARP1 and H1.2 are interconnected and further research is needed to understand the link between them. In conclusion, targeting PARylation levels or H1.2 activity might lead to therapeutic advancements not only for ALS, but also for other neurodegenerative diseases.

Zusammenfassung

Amyotrophe Lateralsklerose (ALS) ist die dritthäufigste neurodegenerative Erkrankung. ALS ist durch die selektive Degeneration der oberen Motoneuronen im motorischen Kortex sowie der unteren Motoneuronen im Hirnstamm und Rückenmark gekennzeichnet. Die Ursache von ALS ist in 90 % der Fälle nicht bekannt, während die familiäre Form der ALS etwa 10 % aller Krankheitsfälle ausmacht. Über 30 Gene sind mit der Krankheit verbunden, von denen die meisten für RNA-bindende Proteine (RBPs) kodieren. Bemerkenswert können sich verschiedene ALS-verwandte RBPs mit Domänen geringer Komplexität zu Stressgranula (SGs) ansammeln. Diese sind membranlosen Ribonukleoprotein-Organellen, die sich bilden, wenn die Zelle unter Stress steht. In dieser Forschungsarbeit konzentrieren wir uns auf die Untersuchung des FUS-Proteins, ein RBP, das mit der großen Mehrheit der schweren jugendlichen ALS-Fälle in Zusammenhang steht. Wir charakterisieren das FUS-Interaktom anhand der ALS-assoziierten schweren Mutation P525L. Wir zeigen, dass FUS^{P525L}/P525L im Vergleich zu humanen induzierten pluripotenten Stammzellen (hiPSCs) eine erhöhte Affinität zum H1.2-Protein in Motoneuronen aufweist. Wir haben auch gezeigt, dass eine Verringerung des H1.2-Spiegels zu einem verbesserten neuronalen Überleben und einer Wiederherstellung der verzögerten SG-Dynamik führt. Ergänzend zu diesen Befunden verschlimmert die Überexpression von H1.2 den FUS-ALS-Phänotyp. Unsere Daten aus dem FUS-ALS-Wurmodell bestätigen die Ergebnisse in Motoneuronen weiter. Wichtig ist, dass der Abbau von H1.2-Wurmothologen zu einer verringerten FUS^{P525L}-Aggregation und einer Verbesserung der neuromuskulären Aktivität führt, während die Überexpression von H1.2 zu einer Verschlechterung der FUS^{P525L}-Aggregation und -Motilität führt. Wir schlagen vor, dass intern ungeordnete terminale Enden von H1.2 die FUS^{P525L}-Kondensation fördern. Darüber hinaus sind PARylierungs- und PKC-abhängige Phosphorylierungsprozesse an der Rolle beteiligt, die H1.2 während des Fortschreitens der FUS-ALS-Pathologie spielt. Tatsächlich ist die Wirkung der PAR-Null- und Phospho-Null-H1.2-Überexpression auf die Bildung von FUS^{P525L}-Loci schwächer als bei Wildtyp-H1.2. Wir zeigen auch einen Anstieg der PARylierungsniveaus in FUS-mutierten Motoneuronen. Bemerkenswert zeigt die Überexpression von H1.2 auch einen signifikanten Anstieg des zellulären PARylierungsniveaus, was auf eine mögliche Regulierung der PARP1-Aktivität durch H1.2 schließen lässt. Zusammenfassend lassen unsere Ergebnisse darauf schließen, dass die Rollen von FUS, PARP1 und H1.2 miteinander verbunden sind und weitere Forschung erforderlich ist, um den Zusammenhang zwischen ihnen zu verstehen. Des Weiteren lässt sich sagen, dass

die gezielte Behandlung von PARylierungsniveaus oder der H1.2-Aktivität zu therapeutischen Fortschritten nicht nur bei ALS, sondern auch bei anderen neurodegenerativen Erkrankungen führen könnte.