

Abstract

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is the most frequent motor disease. After the onset of the symptoms, ALS is mostly fatal within 2-3 years. A better understanding of the molecular mechanisms of C9-ALS is needed to develop novel and effective therapeutics. The most common genetic cause of ALS are mutations in the C9orf72 gene (C9-ALS), expanding their GGGGCC hexanucleotide repeats (HRE) in the first intron. Interestingly, large-scale alterations in the stress response and nuclear pore complex have been reported in C9-ALS, but their relationship to each other remains elusive. To this end, we first investigated the intracellular distribution of outer ring nucleoporins, in basal and stressed conditions. We observed mislocalization of a nuclear pore complex subunit in patient-derived cells carrying the intronic C9orf72 repeat expansion. Interestingly, Nup107 colocalized with the stress granule (SG) marker in patient-derived cell models of C9-ALS. Additionally, we observed significantly impaired SG dynamics in cells with C9-ALS HRE, indicated by increased SG formation and impaired SG disassembly after stress removal compared to controls. Furthermore, we observed aggregates of a specific nucleopore complex subunit in protein extracts from induced pluripotent stem cells (iPSCs) derived from C9-ALS patients, iPSC-derived motor neurons (iMNs) and ALS models of HEK293 cells. Additionally, using a *C. elegans in vivo* model, we were able to ameliorate C9-ALS phenotypes by knocking down the Nup107 orthologue, further emphasizing its role in C9-ALS pathogenesis. Finally, we performed proteomics analysis on G3BP1 interactome in C9-ALS iMNs. We found that the interaction between Nup107 and G3BP1 is increased upon stress in C9-ALS motor neurons. Our findings provide novel insights into the mechanisms of C9-ALS, highlighting the role and the interplay of Nup107 and altered SG dynamics in disease progression.

Zusammenfassung

Die Amyotrophe Lateralsklerose (ALS) ist die häufigste motorische Erkrankung. Nach Einsetzen der Symptome verläuft die ALS innerhalb von 2-3 Jahren meist tödlich. Um neue und wirksame Therapeutika entwickeln zu können, ist ein besseres Verständnis der molekularen Mechanismen der C9-ALS erforderlich. Die häufigsten genetischen Ursachen der ALS sind Mutationen im C9orf72-Gen (C9-ALS), die zu Verlängerungen der GGGGCC-Hexanukleotid-Wiederholungen (HRE) im ersten Intron führen.

Interessanterweise wurden bei der C9-ALS weitreichende Veränderungen der Stressantwort und des Kernporenkomplexes beobachtet, deren Beziehung zueinander jedoch unklar bleibt. Zu diesem Zweck wurde zunächst die intrazelluläre Verteilung der Nukleoporine des äußeren Rings unter basalen und gestressten Bedingungen untersucht. Wir beobachteten eine Fehllokalisierung von Nup107 in Zellen, die von Patienten stammen, und die verlängerten C9orf72-Wiederholungen im ersten Intron tragen. Interessanterweise kolokalisierte Nup107 mit dem Stressgranula-Marker (SG) in C9-ALS Zellmodellen von Patienten. Zusätzlich beobachteten wir eine deutlich beeinträchtigte SG-Dynamik in Zellen mit C9-ALS-HRE, die sich in einer erhöhten SG-Bildung und einem beeinträchtigten SG-Abbau nach Stressentfernung im Vergleich zu Kontrollen manifestierte. Darüber hinaus beobachteten wir Aggregate einer spezifischen Untereinheit des Nukleoporenkomplexes in Proteinextrakten aus induzierten pluripotenten Stammzellen (iPSCs) von C9-ALS-Patienten, aus iPSCs abgeleiteten Motoneuronen (iMNs) und ALS-Modellen aus HEK293-Zellen. Darüber hinaus konnten wir mit Hilfe eines *C. elegans* in vivo Modells C9-ALS-Phänotypen durch Ausschalten des Nup107 Orthologs verbessern, was seine Rolle in der C9-ALS-Pathogenese weiter unterstreicht. Schließlich führten wir eine Proteomanalyse des G3BP1-Interaktoms in C9-ALS-iMNs durch. Wir fanden heraus, dass die Interaktion zwischen Nup107 und G3BP1 bei Stress in C9-ALS-Motoneuronen zunimmt. Unsere Erkenntnisse liefern neue Einblicke in die Mechanismen der C9-ALS und verdeutlichen die Rolle und das Zusammenspiel von Nup107 und veränderter SG-Dynamik im Krankheitsverlauf.