

A Caenorhabditis elegans model for Cockayne Syndrome

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität zu Köln



vorgelegt von

Amanda Franqueira Cardoso Lopes

aus Belo Horizonte, Brasilien

Köln, April, 2018

The work described in this dissertation was conducted from October 2014 to February 2018 under the supervision of Prof. Dr. Björn Schumacher at CECAD Research Center, University of Cologne, Joseph-Stelzmann Straße 26, D-50931, Cologne, Germany.

Diese Arbeit wurde durchgeführt zwischen Oktober 2014 und Februar 2018 unter der Anleitung von Prof. Dr. Björn Schumacher am CECAD Forschungszentrum, Universität zu Köln, Joseph-Stelzmann Straße 26, D-50931, Köln, Deutschland.

Berichterstatter: Prof. Dr. Björn Schumacher

Prof Dr. Aleksandra Trifunovic

Prüfungsvorsitzender: Prof. Dr. Jan Riemer

Tag der mündlichen Prüfung: 9. April 2018

Abstract

Cockayne Syndrome (CS) is an inherited genetic disorder characterized mainly by Ultraviolet light (UV) hypersensitivity, accelerated ageing, and neurodegeneration. Ever since its identification in 1936 [47], its clinical and pathological symptoms have been investigated in humans and in model organisms. Models for studying CS have been generated *in vitro* and *in vivo*, however they either lack inter-tissue effects, or fail to present crucial clinical features like neuronal defects. Thus, in this study we aimed to provide evidence for a wider use of the organism *C. elegans* for the study of CS, hoping to overcome the majority of these issues.

To date, most of the proteins involved in the Nucleotide Excision Repair (NER) pathway have been identified and are conserved in *C. elegans*. Still, very little emphasis has been given to the study of CS in this organism. Although these animals have been investigated for their UV hypersensitivity and lifespan, other features of CS have not yet been investigated in the nematode.

Our results indicate that the *C. elegans csb-1* mutants have a range of phenotypes common to the CS disease presented by humans. These worms present hypersensitivity to Ultraviolet light type B (UV-B) which is apparent both in a developmental manner and a post-mitotic manner, while lacking any signs of uncontrolled cell divisions such as cancer. In this study it was also shown that *C. elegans* have a decreased healthspan, indicated by an overall reduced muscular fitness and diminished feeding due to suboptimal functioning of the pharyngeal region. We demonstrate that these worms have neuronal defects, including neuronal loss of functionality, decrease in neuronal network integrity and neuronal degeneration. Furthermore, we have used *csb-1* mutants to extend the current knowledge of the disease. Using *C. elegans* we have investigated aspects previously unstudied of mitochondrial

CHAPTER 0. ABSTRACT

morphology and mitochondrial Unfolded Protein Response (mtUPR), which have been found to be different in CS.

In conclusion, we propose the use of the *C. elegans csb-1* mutant to further broaden the understanding of the progeroid disease CS and, in particular, its neuropathological abnormalities. This is the first time that a number of phenotypes found in human CS patients have been studied in *C. elegans*; moreover these aspects are more similar to human CS than those of currently used CSA- and CSB-deficient animal models. Furthermore, the novel findings associated to mitochondrial morphology and mtUPR could have a significant impact on understanding the underlying causes of CS, which can be further addressed in cell lines of human patients. This study highlights the importance of the use of this new organism for further investigating this disease, and sheds light on new avenues to elucidate the pathology underlying CS.

Zusammenfassung

Das Cockayne Syndrom (CS) ist eine vererbare genetische Störung, welche sich hauptsächlich durch Sensitivität auf ultraviolettes Licht (UV), beschleunigte Alterung und Neurodegeneration äußert. Bereits seit ihrer Entdeckung im Jahr 1936 [47] werden die klinischen und pathologischen Symptome im Menschen und Modellorganismen studiert. Modelle zur Untersuchung von CS wurden *in vitro* und *in vivo* generiert, jedoch konnten diese entweder die Zwischen-Gewebs-Effekte (inter-tissue effects) nicht abdecken oder sie scheiterten daran, entscheidende klinische Eigenschaften, wie neuronale Defekte, widerzuspiegeln. Um die Mehrheit dieser Probleme zu überwinden, wird in dieser Studie gezeigt, dass der Modellorganismus *C. elegans* für die detaillierte Untersuchung von Mechanismen des CS geeignet ist.

Die meisten Proteine, welche in der Nukleotidexzisionsreparatur involviert sind, wurden identifiziert und sind in *C. elegans* konserviert. Dennoch wurde wenig Interesse dafür gezeigt, CS in diesem Organismus zu untersuchen. Obwohl diese Tiere hinsichtlich ihrer UV-Hypersensitivität und Lebensspanne studiert wurden, sind andere Eigenschaften von CS in den Nematoden bislang nicht untersucht worden.

Unsere Resultate zeigen, dass die *C. elegans csb-1* Mutante eine Reihe von Phänotypen aufweist, welche mit dem CS Krankheitsbild im Menschen übereinstimmen. Diese Würmer zeigen eine Hypersensitivität auf ultraviolettes Licht Typ B (UV-B), welche sich in der Entwicklung und in post-mitotischer Weise äußert, jedoch keine Hinweise auf unkontrollierte Zellteilung, wie zum Beispiel Krebs, vorliegen. In dieser Untersuchung wurde gezeigt, dass die *C. elegans csb-1* Mutante eine verminderte gesunde Lebensspanne hat, was durch ganzheitlich reduzierte muskuläre Gesundheit und verringerte Ernährung aufgrund suboptimaler Funktion der pharyngealen Region angezeigt wurde. Wir konnten zeigen, dass diese Würmer neuronale

CHAPTER 0. ZUSAMMENFASSUNG

Defekte, einschließlich neuronale Funktionsverluste, Verringerung der neuronalen Netzwerkintegrität und neuronale Degeneration, aufweisen. Außerdem haben wir die *csb-1* Mutante dazu genutzt, das momentane Wissen über die Krankheit zu erweitern. Unter Zuhilfenahme von *C. elegans* konnten bislang nicht untersuchte Aspekte der mitochondrialen Morphologie und der mitochondrialen Antwort auf ungefaltete Proteine (Unfolded Protein Response, mtUPR) studiert werden, von denen bekannt ist, sich in CS zu verändern.

Als Fazit schlagen wir die *C. elegans csb-1* Mutante vor, um das Verständnis des CS-Progeroid-Syndroms und im Speziellen dessen neuropathologischen Abnormitäten weiter zu vertiefen. Zum ersten Mal konnte eine Vielzahl an Phänotypen von menschlichen CS Patienten in *C. elegans* studiert werden. Diese wiesen in *C. elegans* eine höhere Ähnlichkeit zum humanen CS Krankheitsbild auf, als jene von bislang studierten CSA- und CSB-defizitären Tiermodellen. Zudem könnten die neuen Befunde im Bereich der mitochondrialen Morphologie und mtUPR einen signifikanten Einfluss auf das Verständnis der zugrundeliegenden Ursachen von CS haben, welche zukünftig auch auf Zelllinien von menschlichen Patienten übertragen werden könnten. Diese Studie hebt die Wichtigkeit der Nutzung von neuen Organismen für die weitere Untersuchung dieser Krankheit hervor und wirft Licht auf neue Ansätze, um die zugrundeliegende Pathologie von CS zu offenbaren.