

Summary

Non-coding RNAs (ncRNAs) are important regulators of gene expression. Although research into ncRNAs has increased substantially in recent years, the functions of most ncRNAs are still elusive. In my PhD thesis, I analysed the *in vivo* function of two different classes of ncRNAs, circular RNAs (circRNAs) and microRNAs (miRNAs), in ageing and age-related neurodegeneration, respectively.

Using RNA sequencing on total RNA we identified two circRNAs within the *bitesize* (*btsz*) and *sulfateless* (*sfl*) gene that were up-regulated in long-lived insulin mutant flies. In order to further study the function of these circRNAs *in vivo*, we generated novel gain-of and loss-of function tools to address function of both the circRNAs and the corresponding host genes. Over-expression or knock-down of circBtsz decreased starvation resistance due to lower lipid levels, suggesting that circBtsz plays a role in energy homeostasis. Interestingly, knock-out of the mushroom body-specific linear Btsz isoform resulted in lifespan extension and increased sleep. Furthermore, ubiquitous over-expression of the second circRNA candidate circSfl was sufficient to extend lifespan. Strikingly, our results indicated that circSfl might be translated into a small protein that is identical to the N-terminus of the Sfl full-length protein arising from linear transcripts. Additionally, neuron-specific, but not ubiquitous, over-expression of the Sfl full-length protein also extended lifespan in flies, implicating neuronal modification of heparan sulfate side chains in determination of lifespan. In summary, it seems that the putative circSfl protein and the Sfl full-length protein might share some functions in *Drosophila* lifespan.

In my second project, I investigated the role of the evolutionarily conserved microRNA miR-210. We showed that miR-210 is specifically expressed in the fly eye and that knock-out of miR-210 function leads to age-dependent progressive degradation of photoreceptor cells, accompanied by a loss in photoreceptor potential. We used miRNA target prediction algorithms and RNA sequencing to identify putative miR-210 targets, which will be tested *in vivo* in the future. Remarkably, miR-210 expression is also highly enriched in the mouse eye and miR-210^{-/-} mice have a significant thicker retina at 6 months of age.

Altogether, we showed that both of our candidate circRNAs (circBtsz and circSfl) are functional *in vivo* and play a role in ageing and metabolism. Furthermore, loss of the eye-specific miRNA miR-210 lead to progressive degeneration of photoreceptor neurons in *Drosophila* and we are currently addressing, whether the function of miR-210 is conserved between flies and mice.

Zusammenfassung

Nicht-kodierende RNAs (nkRNAs) sind wichtige Regulatoren der Genexpression und obwohl die Forschung an nkRNAs in den letzten Jahren stark gestiegen ist, ist die Funktion der meisten nkRNAs nicht bekannt. In meiner Doktorarbeit habe ich die Funktion von zwei verschiedenen Klassen von nkRNAs, mikroRNAs (miRNAs) und zirkuläre RNAs (zirkRNAs), und ihre Rolle während des Alterns und der Neurodegeneration in der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* und Mäusen analysiert.

Mithilfe von Genomweiter Genexpressions Analyse haben wir in *Drosophila* zwei zirkRNAs identifiziert, die von den Genen *bitesize* und *sulfateless* gebildet werden und deren Expression in langlebigen Insulin-Mutanten hochreguliert ist. Um die Funktion dieser zirkRNAs *in vivo* zu untersuchen, haben wir neue transgene Fliegen generiert, in denen die Expression der beiden zirkRNAs verändert ist. Fliegen mit veränderten circBtsz RNA Leveln hatten eine verringerte Resistenz gegenüber Hungern, da sie weniger Fett besitzen. Wir haben auch lineare *btsz* Transkripte analysiert und festgestellt, dass Mutanten ohne die Pilzkörper-spezifische Btsz P1 Isoform kleiner sind und länger leben. Interessanterweise hat die Überexpression unseres zweiten zirkRNA Kandidaten circSfl zu einer längeren Lebensspanne in Fliegen geführt. Wir konnten außerdem zeigen, dass circSfl wahrscheinlich in ein kleines Protein translatiert wird, das identisch ist mit dem N-Terminus des langen Sfl Proteins, das von den linearen Sfl Transkripten gebildet wird. Interessanterweise hat auch die Neuron-spezifische Überexpression des langen Sfl Protein zu einer verlängerten Lebensspanne geführt, was vermuten lässt, dass circSfl und Sfl ähnliche Funktionen haben.

In meinem zweiten Projekt habe ich die Funktion der evolutionär hoch konservierten mikroRNA-210 (miR-210) in der Fruchtfliege untersucht. miR-210 ist spezifisch in den Sinnesorganen der Fruchtfliege exprimiert, inklusive der Photorezeptoren im Auge. Ausschalten des miR-210 Genes führte zum fortschreitenden Verlust der Photorezeptoren und der Sehkraft mit dem Alter in der Fruchtfliege. Mithilfe von globalen Genexpression Analysen und Prognose-Algorithmen haben wir potentielle miR-210 Interaktionspartner identifiziert. Interessanterweise ist miR-210 nicht nur in der Fliege, sondern auch in der Maus deutlich erhöht im Auge vorzufinden. Deswegen haben wir eine miR-210^{-/-} Mauslinie generiert und festgestellt, dass Mäuse ohne miR-210 eine dickere Retina als Wildtyp-Kontrolltiere haben, wenn sie 6 Monate alt sind.

Zusammenfassend konnte ich in meiner Doktorarbeit zeigen, dass sowohl circBtsz als auch circSfl in der Fruchtfliege eine wichtige Funktion beim Altern und im Metabolismus spielen.

Außerdem habe ich gezeigt, dass miR-210 spezifisch im Auge der Fruchtfliege und Maus exprimiert ist. Photorezeptoren in den Augen von Fruchtfliegen ohne miR-210 degenerieren mit dem Alter und wir untersuchen momentan, ob miR-210 im Auge der Maus eine ähnliche Funktion hat.