

University of Groningen

VPS13A is a multitasking protein at the crossroads between organelle communication and protein homeostasis

Yeshaw, Wondwossen Melaku

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2018

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Yeshaw, W. M. (2018). VPS13A is a multitasking protein at the crossroads between organelle communication and protein homeostasis. [Groningen]: University of Groningen.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Chorea-Acanthocytose (ChAc) is een zeldzame autosomaal recessieve neurodegeneratieve aandoening, die voornamelijk gekenmerkt wordt door verslechtering van locomotor en cognitieve vermogens naarmate de patiënten ouder worden. Ook hebben de patiënten onwillekeurige bewegingen van hun ledematen en last van abnormale spierspanningen van de mond en de tong. Bovendien wordt de ziekte gekenmerkt door abnormale rode bloedcellen met doornachtige uitsteeksels, ook wel acanthocyten genoemd. ChAc wordt veroorzaakt door mutaties in het *VPS13A* gen. Bij de meeste patiënten resulteren deze mutaties in een sterk verminderde hoeveelheid van het eiwit of leidt dit zelfs tot een totale afwezigheid van het eiwit *VPS13A*. Hoe het kan dat de afwezigheid van dit eiwit leidt tot abnormaliteiten in het brein en in de bloedcellen is grotendeels onbekend.

Gist was het eerste organisme waarin de mogelijke functies van het *VPS13* eiwit zijn bestudeerd. Studies in dit organisme laten zien dat gistcellen waarin het *VPS13* eiwit ontbreekt, problemen hebben met het intracellulaire transport van bepaalde enzymen van het trans-Golgi netwerk (TCN) naar de vacuole toe. Vervolgstudies in gist lieten zien dat het eiwit in veel cellulaire processen een rol speelt, zoals het maken van de prosporen, endosomale sorting, het vormen van membraan contact sites en *VPS13* speelt ook een rol bij het fuseren van membraan-structuren. Er is veel informatie betreffende *VPS13* verkregen uit giststudies maar ook uit studies met andere organismen, maar, wat *VPS13A* nu precies doet in menselijke cellen is grotendeels onbekend. Dit komt mede omdat mensen vier verschillende *VPS13* eiwitten hebben (namelijk *VPS13A*, B, C en D) en gist heeft maar één *VPS13* eiwit. Mutaties in de vier verschillende menselijke *VPS13* genen, leiden tot vier zeer verschillende ziektebeelden. Mutaties in *VPS13A*, B, C en D zijn respectievelijk geassocieerd met ChAc, Cohen's syndroom, de ziekte van Parkinson en met verhoogde sterfte vanwege een septische shock. Om dit te begrijpen is het belangrijk dat er experimentele modellen gemaakt worden waarin de functies van deze vier individuele *VPS13* eiwitten afzonderlijk bestudeerd kunnen worden. Het doel van dit proefschrift was om er achter te komen op welke plaats in een cel het *VPS13A* zich bevindt en wat de moleculaire functies zijn van *VPS13A* in gezond weefsel en wat de consequenties zijn voor een diermodel en een humane cel als het *VPS13A* afwezig is.

Onderzoek naar ChAc wordt ernstig beperkt omdat er geen goede moleculaire en celbiologische middelen zijn en omdat er geen goede modelsystemen zijn die gebruikt kunnen worden om het *VPS13A* te bestuderen. In het tweede hoofdstuk van dit proefschrift hebben we een fruitvliegmodel voor *VPS13A* gemaakt, gevalideerd en gekarakteriseerd. We hebben laten zien dat in vliegen, het *Vps13* eiwit vooral zit in het centrale zenuw stelsel. Vliegen die geen *Vps13* hebben, laten afbraak zien van het zenuwstelsel en ze gaan veel eerder dood dan de controle vliegen. Dit zijn eigenschappen die lijken op wat er in patiënten gebeurt. Verder worden er in *Vps13* mutante vliegen meer eiwitten gevonden die geubiquitineerd zijn. In de fruitvlieg is het *Vps13* eiwit verrijkt aanwezig in endosomale structuren van de cel en met name specifiek aanwezig in Rab7 positieve cel organellen. Dit suggereert dat in vliegen het *Vps13* geassocieerd is met late endosomen of met lysosomen. Dit suggereert ook dat de neurodegeneratie die we zien in vliegen deels komt door een verslechterde transport en/of afbraak van eiwitten. Dit is een kenmerk die veel wordt aangetroffen in menselijke neurodegeneratieve ziekten. Dit zou dus ook een rol kunnen



spelen in de ziekte ChAc.

Wat ook vaak wordt gezien in patiënten met een neurodegeneratieve ziekte, is dat er geen goede regulatie is tussen zenuwen en spieren en de spieren worden hierdoor niet goed aangestuurd. Om dit te bestuderen hebben we in vliegen gekeken naar structuren die hierbij een rol spelen zoals de spieren zelf en de neuromusculaire junctions (NMJ). NMJ's zijn synapsen en spelen een belangrijke rol tussen de informatie overdracht tussen zenuwen en spieren en NMJ's zijn al goed onderzocht in vliegen. Het larvale stadium is zeer geschikt om de NMJ's te bestuderen. Ons onderzoek liet zien dat Vps13 mutanten sneller kruipen in vergelijking met controle larven, dit laat zien dat deze larven hypermobiel zijn. Deze hypermobiliteit is niet geassocieerd met een grotere spiermassa. Een analyse van de NMJ's liet vervolgens zien dat deze meer synaptische boutons bevatten vergeleken met controle larven. Ook zijn de synaptische boutons kleiner en laten ze meer glutamaat receptoren zien. Samenvattend laten we in hoofdstuk 3 zien dat de synapsen er abnormaal uitzien en dit is geassocieerd met een verhoogde kruip activiteit van de larvae.

In hoofdstuk vier laten we zien waar in menselijke cellen het VPS13A eiwit zit en hebben we gevonden dat het op verschillende celorganellen zit. Om dit aan te tonen hebben we veel verschillende technieken gebruikt. Ook is het humane VPS13A net als in vliegen een perifere membraan eiwit.

Alles samenvattend laten we in dit proefschrift zien dat de functie van VPS13 sterk geconserveerd is in de loop van de evolutie en dat het een belangrijke rol speelt in de communicatie tussen celorganellen en in het behoud van de eiwithomeostase. Echter het exacte mechanisme hoe VPS13A dat doet en hoe verlies van het eiwit leidt tot een hersenziekte en abnormale rode bloedcellen blijft onopgelost. Desalniettemin zijn het *Drosophila* model en de door ons ontwikkelde biochemische en moleculaire hulpmiddelen heel handig om te gebruiken bij verdere studies om de functie van VPS13A te doorgronden en om zo uiteindelijk een therapie te kunnen ontwikkelen voor ChAc patiënten.

ACKNOWLEDGEMENTS

I have been fortunate to be surrounded by a large number of colleagues, friends and family without whom this thesis would not have been possible. After spending six years in the same lab, it is almost impossible to come up with a full list of people who have supported me, and there are not certainly enough words to describe each person's contribution.

Most of all, I would like to express my gratitude to my promotor Prof. dr. Ody Sibon. As my supervisor and mentor, she has shown me, by her own example, what a good scientist (and person) should be. She helped me conjecture and experimentally test a number of hypotheses over the years. She gave me the freedom to venture and execute whatever I wanted, while at the same time contributing invaluable critique, advice and encouragement. Dear Ody, at times when the project did not move forward and we stumbled into dead ends, you were always very positive and kept your faith high. I quite simply cannot imagine a better supervisor and you have taught me more than I could ever give you credit for. Thank you for your unwavering guidance and concern for my personal and professional welfare.

I would like to thank members of the thesis reading committee, Prof. Ellen Nollen, Prof. Hans Jonker and Prof. Susanne Lens for their critical feedback and insightful suggestions.

I have learned a great deal about scientific research while working alongside principal investigators of the Department of Cell Biology. I am especially indebted to Prof. Sven Van Ijzendoorn, who has generously shared his time and ideas during "VPS13-group" meetings. Discussions with Prof. Catherine Rabouille, Prof. Fulvio Reggiori, Prof. Harrie Kampinga, Dr. Muriel Mari, Dr. Pascale Dijkers, Dr. Steven Bergink and Prof. Rob Coppes have been illuminating. Their insights, constructive criticism and career advice have had a substantial influence on my development.

I would like to acknowledge my paranymphs Marianne and Francesco. Marianne, I feel privileged to team up with you. Together, we tried many risky experiments; we succeeded in a few and learned a lot more. In any case, we laughed, teased and cheered each other up. Your passion for science, speed of executing experiments and curiosity is amazing. Without your technical assistance and cloning expertise, this thesis would never have been possible. Thank you for your support and I hope many more will get the opportunity to learn from you in the future. Francesco, you have a great sense of humor and our office was filled with laughter since the moment you walked in. I have learned so much through our collaborations in the lab and through our endless debates during lunch time. Thank you for giving me a push to get started working out in a gym. Good luck wrapping up your thesis.

I owe a very important debt to my officemates; Anita, Francesco, Jan, Liza, and Yixian. Anita, thank you for the stimulating discussions we had over the years and good luck with your thesis and a new career. Jan and Liza, thank you for enlightening me with the first glance of the Vps13 project. Yixian, thank you for being a caring and thoughtful friend and best of luck in Gothenburg.



Bala, Hein, Kasia, Madina, Nico, Roald and Yu Yi; thank you for your social and intellectual contributions. Nico, you spent countless hours of imaging, correcting figures and drawing the working model during the preparation of our manuscript. Thank you!

My sincere thanks must also go to my friends: Cecilia, Daisy, Despina, Els, Lara, Paola, Peter, Matteo, Sarah and Vaishali. You guys were not simply “lab-mates”. You are very compassionate and I have had the pleasure to share time with you both in and outside the lab. Thank you for the greatest occasions, drinks and life stories we shared. My experience in the lab was greatly enriched because of Abhi, Eduardo, Gabriel, Julie, Martti, Melanie, Niels, Suzanne, Wouter and Wu Di. Moreover, I have benefited from the professional support of Anne, Bart, Ellie, Hette, Jeanette, Maria and Mirijam.

There are no proper words to convey my respect and deep gratitude to my wonderful colleagues on the 5th floor, with whom I have shared moments of surprise and big excitement. Dear colleagues, your care and support have left marks beyond this thesis. Needless to say, you didn't fail to surprise me when I got married. Thank you for such a great gift. I earnestly hope to have the chance to thank you in person on the day of my defense.

Without the expertise, reagents and protocols from the Reggiori lab, my project might not have ever come to where it is now. I cannot express how thankful I am especially to Franzi, Muriel, Rubén and Yingying. My sincere thanks must also go to Klaas Sjollemma and Prof. Ben Giepmans for their help in confocal imaging and image processing.

I am most grateful to our collaborators; Dr. Amalia Dolga, Dr. Antonio Belayos-Baeza and Dr. Raimundo Freire for extending helping hands whenever I faced technical and scientific problems.

The presence of my Ethiopian friends truly made life in Groningen tremendously pleasant. Fitsum and Solomon have been great companions outside the lab and supported me throughout my stay in Groningen in the most positive way. Abdi, Addisu, Abera, Abraham, Andreas, Azmeraw, Balewgize, Beza, Biniyam, Biruk, Dawit, Derbew, Fasil, Hana, Michael, Mintesnot, Mulugeta, Nigus, Saron, Tadele, Tadesse, Tenadam, Tesfa Dejene, Tesfamichael, Yeshambel, Yeshiwas and Yohannes; thank you for the greatest moments we shared.

I am extremely grateful to my family for their unwavering support and encouragement in pursuing this PhD. My parents, Melaku Yeshaw and Tarik Hailemariam, whose love and reassurance have been a constant source of motivation in whatever I pursue. As time goes on, I have realized more and more clearly the huge impact that they have had on my career and me as a person. I cannot imagine being the person I am today without their wise counsel and unreserved support. My brothers and sisters; Etsegenet, Habtamu, Hibest and Maereg; thank you so much for your immeasurable support over the years.

Most importantly, I wish to thank my loving and supportive wife, Eden, who has given me unending encouragement, extra strength and motivation to get things done. Dear Eduye, it was not easy to deal with all the ups and downs of a distant relationship, but we have pulled through. Your morning phone calls and soothing words were driving forces to happily start my day. I cannot thank you enough for your love, patience and understanding, and I am looking forward to the years ahead.

Wondwossen Melaku Yeshaw

Groningen, the Netherlands

18 May 2018

A

CURRICULUM VITAE

Personal details:

Name Wondwossen Melaku Yeshaw
Date and place of Birth 29 May 1986 in Haik, Ethiopia

Education:

2012-2018 PhD student , Department of cell biology, University of Groningen, the Netherlands
2010-2012 MSc in Biomedical Sciences, University of Groningen, the Netherlands
2006-2009 BSc in Medical Laboratory Technology, Jimma University, Ethiopia

Research Experience:

2018-onwards Post-doc, Stanford University, USA (Prof. Suzanne Pfeffer)
2012-2018 PhD student, University of Groningen, the Netherlands (Prof. Ody Sibon)
2011-2012 MSc project II, VIB/KU Leuven, Center for brain and disease research, Belgium (Prof. Patrik Verstreken)
2010-2011 MSc project I, University of Groningen, the Netherlands (Prof Ody Sibon)

A

LIST OF PUBLICATIONS

- Yeshaw WM, van der Zwaag M, Pinto F, Lahaye LL, Faber AI, Gómez-Sánchez R, van IJendoorn SC, Grzeschik NA, Sibon OC. Human VPS13A is associated with multiple organelles and required for lipid droplet homeostasis. Under revision.
- Vonk JJ, Yeshaw WM*, Pinto F*, Faber AI*, Lahaye LL, Kanon B, van der Zwaag M, Velayos-Baeza A, Freire R, van IJendoorn SC, Grzeschik NA, Sibon OC. Drosophila Vps13 Is Required for Protein Homeostasis in the Brain. PLoS One. 2017; 12(1): e0170106.
- Miskiewicz K*, Jose LE*, Yeshaw WM, Valadas JS, Swerts J, Munck S, Feiguin F, Dermaut B, Verstreken P. HDAC6 is a Bruchpilot deacetylase that facilitates neurotransmitter release. Cell Reports 8, 94-102, 2014.

