

De Onderzoeksgroep
Structurele Biologie Brussel

nodigt U graag uit op de openbare verdediging van het proefschrift van

Kevin Muwonge

ter behaling van de graad van Doctor in de bio-ingenieurswetenschappen

Titel van het proefschrift:

Deciphering the role of ubiquitination in phase transitions in Amyotrophic lateral sclerosis and Frontotemporal dementia

Curriculum vitae

Kevin Muwonge verkreeg een BSc in Biomedical Laboratory Technology van de Makerere University (Uganda) werkte vervolgens als onderzoeks-medewerker vooraleer te beginnen aan de MSc in Molecular Biology aan de Vrije Universiteit Brussel (VUB). Na deze succesvol voltooid te hebben startte hij in 2018 zijn doctoraat aan de VUB met focus op ubiquitin-gemedieerde interacties in neurodegeneratieve ziekten, specifiek ALS en FTD. In deze context begeleide hij ook een master student. Dit werk leidde tot verscheidene wetenschappelijke publikaties in het domein

Promotoren:

Prof. dr. Remy Loris
Prof. dr. Peter Tompa

De verdediging heeft plaats op

Vrijdag 22 november 2024 om 16u in auditorium I2.0.2, Gebouw I, Campus VUB, Etterbeek.

Samenstelling van de jury

Prof. dr. Eveline Peeters (VUB, voorzitter)
Prof. dr. Luc Leyns (VUB, secretaris)
Prof. dr. Stefan Magez (VUB)
Prof. dr. Sandrine Da Cruz (KULeuven)
Prof. dr. Patrik Verstreken (KULeuven)

Abstract van het doctoraatsonderzoek

Amyotrofische laterale sclerose (ALS) en frontotemporale dementie (FTD) zijn twee nauw verwante neurodegeneratieve ziekten die worden gekenmerkt door de aanwezigheid van geubiquitineerde proteïne-insluitels in aangetaste neuronen. Traditioneel werd ubiquitinatie gezien als een marker van het onvermogen van de cel om misgevouwen of geaggregeerde proteïnen op te ruimen. Dit proefschrift veronderstelt echter dat ubiquitinatie in eerdere stadia van de ziekte multivalente interacties kan vergemakkelijken die de vloeistof-vloeistoffasescheiding (LLPS) en aggregatie van insluitingslichaamproteïnen moduleren. Een systematische analyse van ALS-insluitingsproteïnen onthulde een verrijking van proteïne-proteïne-interacties en ubiquitine-bindende proteïnen binnen het insluitingsproteoom, wat suggereert dat ubiquitinatie een bredere rol zou kunnen spelen in de dynamiek van insluitingslichamen dan zijn canonieke rol in proteïneafbraak.

Dit doctoraatsonderzoek presenteert het eerste bewijs dat het Tau eiwit een intrinsiek vermogen heeft om te interageren met ubiquitine. Geavanceerde biofysische technieken werden gebruikt om de bindingsaffiniteit tussen Tau en ubiquitine te bepalen en de specifieke interactiesites op zowel Tau als ubiquitine in kaart te brengen. De resultaten ondersteunen de hypothese dat ubiquitine-bindende eiwitten en ubiquitine-gemedieerde interacties belangrijk zijn voor de fasetransities die ten grondslag liggen aan de vorming van ALS/FTD-insluitingslichamen. Deze bevindingen bieden nieuwe inzichten in de moleculaire mechanismen van Tau-pathologie, wat aangeeft dat niet-covalente interacties met ubiquitine LLPS en aggregatie kunnen moduleren, processen die centraal staan in de pathologie van neurodegeneratieve ziekten zoals ALS, FTD en de ziekte van Alzheimer (AD).

Opvallend genoeg heeft ubiquitine een dubbel effect op het gedrag van Tau. Hoewel ubiquitine een remmend effect heeft op Tau LLPS, versterkt aggregatie van de FTD-geassocieerde Tau-P301L-mutant. Deze dubbele rol suggereert een complex regulerend mechanisme waarbij ubiquitine-gemedieerde interacties fasescheiding onder bepaalde omstandigheden kunnen vertragen, maar aggregatie in pathologische contexten kunnen bevorderen. Een dergelijke dubbele functionaliteit werpt licht op hoe ubiquitinatie de vorming van een biomoleculair condensaat kan reguleren, wat mogelijk bijdraagt aan de vorming van inclusielichamen tijdens de progressie van ALS/FTD.

Om tot deze bevindingen te komen, werd een nieuwe microplate reader-test ontwikkeld om het remmende effect van ubiquitine op Tau LLPS te kwantificeren. Deze test biedt ook een platform voor het screenen van andere potentiële modulators van Tau LLPS, wat identificatie van therapeutische kandidaten met een hoge doorvoer mogelijk maakte. Bovendien werden technische uitdagingen die inherent zijn aan het bestuderen van ongeordende eiwitten in dit proefschrift aangepakt door de ontwikkeling van een tandem tag-zuiveringsstrategie. Deze werd gecombineerd met optimalisatie van de expressie van aggregatiegevoelige recombinante eiwitten. Deze methodologische ontwikkelingen bieden waardevolle hulpmiddelen voor toekomstig onderzoek naar eiwitfasescheiding en -aggregatie, met name relevant voor neurodegeneratieve ziekten zoals ALS/FTD, AD en andere.