

University of Groningen

## Genetic factors and analysis of protein misfolding in vivo

Holmberg, Mats

**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:*

2015

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

*Citation for published version (APA):*

Holmberg, M. (2015). *Genetic factors and analysis of protein misfolding in vivo*. [Thesis fully internal (DIV), University of 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).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

### 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

Dit proefschrift beschrijft onderzoek naar cellulaire processen die eiwitaggregatie veroorzaken tijdens veroudering en bij ouderdomsziekten. Het beschrijft de identificatie en karakterisering van eiwitten die eiwitaggregatie aansturen, MOAG-4 en zijn menselijke orthologen SERF1a en SERF2, en de ontwikkeling van methoden om eiwitmisvouwing en aggregatie te bestuderen.

Hoofdstuk 2 beschrijft de identificatie van MOAG-4 in een *Caenorhabditis elegans* model en de menselijke varianten hiervan, SERF1A en SERF2, als kleine, intrinsiek ontvouwen eiwitten die eiwitaggregatie bevorderen. Hun rol in eiwitaggregatie lijkt evolutionair geconserveerd tussen *Caenorhabditis elegans* en mensen, net als hun aminozuursequentie en positieve lading. Hoewel er nog geen duidelijk verschil in functie is gevonden tussen MOAG-4, SERF1A en SERF2, is er wel een verschil gevonden in de subcellulaire distributie van SERF1 en SERF2. Het is daardoor aannemelijk dat er uiteindelijk wel enkele verschillen in functie zullen worden gevonden.

Hoe MOAG-4 en de SERFs eiwitaggregatie bevorderen is niet duidelijk. Het beschermende effect van de verwijdering van MOAG-4 in *C. elegans* lijkt in ieder geval onafhankelijk van de activering van beschermende factoren, zoals moleculaire chaperones, de heat shock respons en van eiwitafbraak. Sterker nog, terwijl uitschakelen van de heat shock transcriptiefactor 1 (HSF-1), van moleculaire chaperones, of van factoren vereist voor eiwitafbraak normaliter leidt tot een aanzienlijke toename van eiwitaggregatie, gebeurt dat niet in afwezigheid van MOAG-4, alsof MOAG-4 in dat geval noodzakelijk is om de verkeerd gevouwen eiwitten te laten aggregeren.

In lijn met deze mogelijkheid kunnen de SERFs en MOAG-4 in een reageerbuis aggregatie tot amyloid bevorderen zonder hulp van andere factoren. MOAG-4 zou dus in de cel een rol kunnen spelen bij actieve opslag van eiwitten als amyloïde. Of dit ook geldt voor zoogdiercellen, waarbij verschillende varianten van SERF bestaan is niet bekend. De sterkte van de rol van MOAG-4 als gateway voor aggregatie kan ook te maken

hebben met het korte tijdsbestek waarin modeleiwitten in *C. elegans* aggregeren. In dit scenario zou langzamere aggregatie minder afhankelijk kunnen zijn van MOAG-4.

Hoofdstuk 3 van dit proefschrift beschrijft een methode voor het screenen van de aggregatietoestand van fluorescent gelabelde eiwitten. De werkwijze is gebaseerd op de scheiding van gelyseerde cellen door een agarosegel en de analyse met een fluorimetrische scanner. Het hoofdstuk beschrijft ook hoe deze methode gecombineerd kan worden met anderen methoden om de verschillende aggregatietussenvormen verder te karakteriseren. De werkwijze werd ontwikkeld om het effect van factoren als MOAG-4 op aggregatie te analyseren, maar de methode is ook geschikt om andere eiwitmodificaties, splitsingsproducten of oligomerisatie te bestuderen. Met deze methode kunnen parallel verschillende experimentele condities met elkaar vergeleken worden en kan zichtbaar worden gemaakt hoe deze de verdeling van verschillende tussenvormen de eiwitaggregatie beïnvloeden.

Voor onderzoek naar aggregerende eiwitten worden vaak gezuiverde eiwitten gebruikt. Hoofdstuk 4 van dit proefschrift beschrijft een methode voor eiwitproductie in gist die eiwitzuivering vergemakkelijkt. Met een SUMO-tag is het mogelijk om eiwitten vrij van extra toegevoegde aminozuurresiduen te produceren en toch de oplosbaarheid sterk te verhogen, waardoor de opbrengsten van aggregatie-gevoelige eiwitten na zuivering kunnen worden verhoogd. De auteur hoopt dat het werk in dit proefschrift het inzicht in het mechanisme van eiwitten aggregatie in de cel heeft vergroot en dat het zal leiden tot nieuwe richtingen voor onderzoek.