

University of Groningen

Post-transcriptional control of C/EBP α and C/EBP β proteins

Zaini, Mohamad Amr

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:
2017

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

Citation for published version (APA):

Zaini, M. A. (2017). *Post-transcriptional control of C/EBP α and C/EBP β proteins: Insights into their role in energy homeostasis and diseases*. [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.

S

Samenvatting

Post-transcriptionele controle van C/EBP α en C/EBP β eiwit factoren

Inzichten in hun rol in energie homeostase en ziekte

De CCAAT/enhancer binding proteins (C/EBPs) is een familie van transcriptiefactoren die belangrijk zijn voor het functioneren van verschillende organen zoals lever, huid, long en vetweefsel. C/EBPs bevatten een sterk geconserveerde basisch en leucine-rits (Eng: basic-region leucine zipper, bZIP) domein aan de C-terminus welke nodig is voor dimerisatie en DNA binding, en transactivatie domeinen in het N-terminale gedeelte. De meest bestudeerde leden van deze groep zijn C/EBP α en C/EBP β die betrokken bij de regulatie van verschillende cellulaire processen zoals celdeling, celdifferentiatie, energie stofwisseling, aangeboren immuniteit, ontstekingen en senescentie. Om deze vele functies te vervullen, wordt de translatie van C/EBP α - en C/EBP β -mRNAs strikt gereguleerd en ondergaan de C/EBP α - en C/EBP β -eiwitten verschillende post-translationele modificaties ten gevolge van diverse signaaltransductie routes die hun cel specifieke activiteiten reguleren.

Hoofdstuk II bevat een algemene introductie over de transcriptiefactoren C/EBP α en C/EBP β en concentreert zich op de regulatie van de expressie, functie, structuur en DNA binding. Er wordt beschreven hoe de drie eiwit-isovormen van C/EBP α en C/EBP β vertaald worden van hetzelfde mRNA, gereguleerd door een translatie-regelement (uORF). Er wordt beschreven hoe de korte isovormen (C/EBP α -p30 en C/EBP β -LIP) de functie van de lange isovormen (C/EBP α -p42 en C/EBP β -LAP) remmen en hoe de ratio tussen de isovormen van belang is voor het uitoefenen van biologische functies. Verder wordt er beschreven hoe de functies van C/EBP α en C/EBP β eiwitten wordt gereguleerd door verschillende post-translationele modificaties zoals methylering, fosforylering, acetylering en symoylering. Tot slot wordt beschreven hoe C/EBP α en C/EBP β de differentiatie in vetcellen en bloedcellen reguleert en hoe hun functies en expressie gemoduleerd worden gedurende celdeling in verschillende soorten kanker.

Hoofdstuk III behandelt de acetylering van C/EBP α en hoe deze de functie van C/EBP α de celstofwisseling en energiehomeostase reguleert. We laten zien dat C/EBP α geacetyleerd wordt door p300 lysine-acetyltransferase op verschillende lysine residuen en gedeacetyleerd wordt door SIRT1 lysine-deacetylase. We ontdekten dat de acetylering geen effect heeft op de cellulaire lokalisatie van C/EBP α of de DNA binding, maar wel dat het de transcriptionele activiteit moduleert. Transcriptome analyse uitgevoerd met Hepa1-6 muis heptoom cellen die gemuteerde varianten van C/EBP α bevatten lieten grote verschillen in de regulatie van stofwisselingsgenen zien tussen hypo- en hyper-geacetyleerde C/EBP α varianten. Vervolgstudies lieten zien dat de cellen met de hypo-geacetyleerde C/EBP α variant meer mitochondriële massa hebben en een verhoogde zuurstof consumptie, vergeleken met cellen die het wildtype of hyper-geacetyleerde C/EBP α variant bevatten. Deze bevinding komt overeen met de resultaten van de transcriptome analyse waarin een significant verhoogde expressie van mitochondriële genen wordt gevonden in cellen met de hypo-geacetyleerde C/EBP α variant. In deze studie laten we het belang van de C/EBP α acetylering in de regulatie van celstofwisseling zien en tonen we aan dat SIRT1 een essentiële regulator is van de transcriptionele functie van C/EBP α .

Hoofdstuk IV beschrijft een project dat is gebaseerd op de resultaten met voorheen ontwikkelde C/EBP β -LIP deficiënte muizen die een betere vetstofwisseling hebben en daardoor gezonder zijn, minder kanker krijgen en langer leven. We hebben een reporter systeem ontwikkelt om te screenen naar farmacologische middelen die de C/EBP β -LIP isovorm kunnen verminderen en daardoor calorie restrictie kunnen nabootsen en/of als anti-kanker middel verder kunnen worden ontwikkeld. Met een eerste high-throughput screen van een beperkte farmacologische collectie (780 werkstoffen) hebben we werkstoffen geïdentificeerd die de C/EBP β -LIP expressie verlagen en de vetstofwisseling in cellen stimuleren. Het uiteindelijk doel is naar meer geschikte werkstoffen te zoeken en deze verder te ontwikkelen naar medicijnen die de effecten van calorie restrictie nabootsen en in de anti-kanker therapie gebruikt kunnen worden.

Hoofdstuk V beschrijft hoe mutaties in het SBDS gen dat een belangrijke rol in de ribosoom biogenese speelt resulteert in deficiënte regulatie van C/EBP α en C/EBP β isovormen. Genetische mutaties in SBDS veroorzaken het Shwachman-Diamond

syndrome (SDS) dat gekarakteriseerd wordt door beenmerg falen met neutropenie, exocriene pancreas insufficiëntie en skelet afwijkingen. We hebben ontdekt dat een deficiënties in het functioneren van SBDS resulteert in verlaagde expressie van de korte C/EBP α -p30 en C/EBP β -LIP isovormen, terwijl de translatie van de lange C/EBP α -p42 en C/EBP β -LAP isovormen niet beïnvloed zijn. Verder vinden we dat de defecte regulatie van C/EBP α -p30 en C/EBP β -LIP resulteert in een lagere expressie van de transcriptie factor MYC, hetgeen leidt tot verminderde proliferatie van voorloper cellen wat mogelijk bijdraagt aan het hematologische fenotype van SDS. Onze resultaten laten het eerste bewijs zien dat het fenotype van SDS veroorzaakt kan worden door deregulatie van specifieke mRNA translatie vanwege SBDS falen.

Hoofdstuk VI bevat een discussie over het uitgevoerde wetenschappelijk onderzoek en er bevat voorstellen over vervolgonderzoek.

Conclusie

Het onderzoek dat is beschreven in dit proefschrift leidt tot betere inzichten in de functies van C/EBP α in de regulatie van celstofwisseling en suggereert dat C/EBP α een cruciale rol speelt in SIRT1-gecontroleerde cellulaire processen. Verder hebben we een reporter system ontwikkeld welke gebruikt kan worden in high-throughput screens om nieuwe medicijnen te ontwikkelen die C/EBP β -LIP translatie kunnen verminderen en mogelijk de effecten van calorie restrictie nabootsen. Tot slot laten we zien dat het ribosoom biogenese eiwit SBDS van nodig is voor efficiënte expressie van C/EBP α -p30 en C/EBP β -LIP en dat genetische defecten in het SBDS gen die het Shwachman-Diamond syndroom veroorzaken mogelijk bijdraagt aan het hematologische fenotype van SDS.

