

## University of Groningen

### VPS13A: shining light on its localization and function

Faber, Anna Irene Elizabeth

**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:*

2019

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

*Citation for published version (APA):*

Faber, A. I. E. (2019). *VPS13A: shining light on its localization and function*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. Rijksuniversiteit 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

Chorea-Acanthocytose (ChAc) is een extreem zeldzame neurodegeneratieve ziekte die veroorzaakt wordt door mutaties in het *VPS13A* gen dat codeert voor het VPS13A eiwit. Patiënten hebben daardoor nauwelijks tot geen VPS13A eiwit wat ertoe leidt dat specifieke hersencellen dood gaan, hun hersenfunctie achteruit gaat en ze verschillende bewegingsstoornissen ontwikkelen. Chorea, waarbij patiënten onwillekeurige bewegingen van armen en benen hebben, is de meest kenmerkende bewegingsstoornis. Daarnaast kunnen ook psychische problemen en epilepsie ontstaan. Veel ChAc patiënten hebben misvormde en puntige rode bloedcellen, die acanthocyten heten. Helaas bestaat er nog geen behandeling voor ChAc en overlijden patiënten vroegtijdig. Om vooruitgang in de behandeling en genezing van ChAc te bereiken is het nodig dat de onderliggende ziektemechanismen worden onderzocht.

Tot nu toe is er nog veel onbekend over de functie van VPS13A en de cellulaire processen waarin VPS13A een rol speelt. Het doel van dit onderzoek was daarom om inzicht te krijgen in de lokalisatie en functie van het VPS13A eiwit en daarmee meer duidelijkheid te creëren over de pathofysiologie van ChAc. Het gebruik van modelsystemen en -organismes is erg belangrijk voor onderzoek naar vele humane ziektes. Deze modelsystemen lopen uiteen van gekweekte cellijnen en ééncelligen zoals gist tot complexere proefdieren als de fruitvlieg en de muis. De fruitvlieg, ook *Drosophila melanogaster* genoemd, heeft een grote rol gespeeld in het bestuderen van verschillende hersenziektes. Fruitvliegen kunnen gemakkelijk en relatief goedkoop in grote hoeveelheden gekweekt en onderhouden worden. Een groot voordeel is ook dat het mogelijk is om een grote groep vliegen te creëren waarvan de genetische achtergrond identiek is. Daarnaast zijn er veel mogelijkheden om het DNA van *Drosophila* te manipuleren of aan te passen en om vliegen met verschillende farmacologische middelen te behandelen. In hoofdstuk twee geven we een overzicht van de manieren waarop de fruitvlieg heeft bijgedragen aan kennis over verschillende neurodegeneratieve ziektes. In dit proefschrift hebben we ook gebruik gemaakt van de veelzijdigheid van de fruitvlieg als diermodel voor ChAc. Allereerst hebben we een fruitvliegmodel gevalideerd en gekarakteriseerd in het derde hoofdstuk van dit proefschrift. Fruitvliegen hebben een gen dat erg veel lijkt op het humane *VPS13A* gen, namelijk *Vps13*. De vliegen die wij bestudeerden hebben een mutatie in het *Vps13* gen wat ertoe leidt dat dit gen niet goed meer functioneert en er geen volledig Vps13 eiwit aanwezig is in de vliegen. Wij hebben laten zien dat deze *Vps13* vliegen een verkorte levensduur hebben, motorische problemen hebben en slechter kunnen klimmen. Verder vonden we gaten in het brein van de gemuteerde vliegen, wat vaak een teken is van neurodegeneratie. Ook zagen we dat er eiwit-ophopingen waren in de hersenen van *Vps13* vliegen en dit is suggestief voor defecten in de eiwit-huishouding van cellen. Een deel van de problemen van *Vps13* vliegen konden we redden door het humane *VPS13A* gen terug te plaatsen in de gemuteerde vliegen. Dit is erg belangrijk want het laat zien dat de functie van het humane *VPS13A* en het vliegen *Vps13* gen geconserveerd is, waardoor dit vliegenmodel erg relevant en nuttig is voor het bestuderen van ChAc. In hetzelfde hoofdstuk laten we zien dat Vps13 co-fractioneert met markers van endosomen, en met name Rab7, wat suggereert dat in vliegen Vps13 een rol speelt in transport en afbraak van eiwitten in een cel via autofagie. Autofagie is een cellulair opruimingsproces waarbij onnodige en slecht functionerende onderdelen in een cel worden afgebroken. Het is bekend dat het proces van autofagie in andere neurodegeneratieve ziektes aangedaan is, en mogelijk is dat ook het geval bij ChAc.

Een nieuwe en tegenwoordig zeer populaire techniek om genetisch materiaal te veranderen is CRISPR/Cas9. Deze techniek is namelijk makkelijk toe te passen en relatief goedkoop. CRISPR/Cas9 is ontdekt als immuun systeem in bacteriën, maar wordt nu gebruikt om mutaties te creëren of om specifieke genen te markeren met een fluorescerende marker zoals het Groene Fluoriserend Eiwit of Proteïne (GFP). In hoofdstuk vier hebben wij deze techniek ook toegepast om een nieuwe *Vps13* mutant te maken waarbij het volledige *Vps13* eiwit afwezig is. Daarnaast hebben we een *Vps13-GFP* vliegenlijn gemaakt om het *Vps13* eiwit te kunnen visualiseren en lokaliseren. Het hoofdstuk beschrijft uitgebreid hoe we deze techniek hebben toegepast. De gecreëerde vliegenlijnen hebben we vervolgens gebruikt om de functie en lokalisatie van *Vps13* in fruitvliegen verder te onderzoeken.

Het ovarium van vrouwtjes fruitvliegen wordt veel gebruikt om verschillende biologische en cellulaire processen te bestuderen omdat het makkelijk toegankelijk is en er veel genetische tools beschikbaar zijn. Tijdens de productie van eitjes zorgen 15 voedingscellen ervoor dat de eicel voorzien wordt van genoeg voedingsstoffen. Als dit voltooid is ondergaan de voedingscellen een geprogrammeerde celdood en worden vervolgens opgeruimd door omliggende follikelcellen. Dit proces wordt ook wel ontwikkelingsceldood genoemd, maar de mechanismes hiervan zijn nog erg slecht begrepen. Het goed en volledig opruimen van de voedingscellen is van belang voor het fatsoenlijk functioneren van de ovaria. Voornamelijk factoren uit omliggende follikelcellen zijn recentelijk geïdentificeerd en spelen een zogenaamde niet-autonome rol in de inductie van de ontwikkelingsceldood. In hoofdstuk vijf beschrijven we dat *Vps13* juist een cel-autonome rol speelt in dit proces en dus van belang is in de voedingscellen zelf. *Vps13* vliegen hebben namelijk een opeenhoping van voedingscellen die niet goed opgeruimd zijn. Afwezigheid van *Vps13* in alleen de voedingscellen zorgt voor eenzelfde opeenhoping van voedingscellen, terwijl afwezigheid van *Vps13* in de follikelcellen niet tot problemen leidt. Met behulp van de vliegenlijnen die we in hoofdstuk vier hebben gecreëerd met CRISPR/Cas9 vonden we dat het *Vps13* eiwit gelokaliseerd is rondom de kernen van de voedingscellen, maar pas nadat de celkernen van de voedingscellen al aangezet waren tot celdood. Dit suggereert dat *Vps13* niet nodig is voor het activeren van de celdood, maar juist voor het opruimen van de dode voedingscellen. Om in groot detail te kunnen zien wat de functie van *Vps13* is en wat er dus mis gaat in de ovaria van *Vps13* vliegen hebben we gebruik gemaakt van elektronenmicroscopie. Daarmee ontdekten we een specifieke membraan-structuur die afhankelijk is van *Vps13*, aangezien de structuur vrijwel geheel afwezig is in *Vps13* vliegen. Alle data bij elkaar suggereren dat *Vps13* een cel-autonome rol speelt tijdens de ontwikkelingsceldood en belangrijk is voor het goed opruimen van de voedingscellen. Ook in dit proces vonden we dat *Vps13* een geconserveerde functie heeft, aangezien overexpressie van humaan VPS13A in de *Vps13* mutante vliegen de opeenhoping van voedingscellen kon verminderen. Mogelijk is er ook een probleem met het opruimen van dode cellen in ChAc patiënten door de afwezigheid van VPS13A maar dit zal verder onderzocht moeten worden.

In hoofdstuk zes hebben we gefocust op de functie van het humane VPS13A eiwit en tonen we aan dat VPS13A geassocieerd is met het endoplasmatisch reticulum (ER) en mitochondriën en aanwezig is op verbindingplaatsen tussen het ER en mitochondriën. Binding aan de verschillende organellen in de cel is afhankelijk van specifieke bindingsdomeinen in VPS13A, die we in dit hoofdstuk hebben geïdentificeerd. Daarnaast hebben we laten zien dat een verhoging van vetten in de cel zorgt dat VPS13A

van de mitochondriën naar zogenaamde vet of lipide druppels overgaat. Afwezigheid van VPS13A zorgde ervoor dat de lipide druppels in de cellen in aantal en grootte toenamen. Ook vonden we met behulp van elektronenmicroscopie dat lipide druppels accumuleren in speciale cellen in het brein, de glia cellen, van de *Drosophila Vps13* mutante vliegen. Deze data samen impliceren dat VPS13A een rol speelt in de huishouding van lipiden en contactplaatsen tussen membranen.

In conclusie laten de resultaten in dit proefschrift zien dat VPS13A een geconserveerd en multifunctioneel eiwit is met een dynamische lokalisatie en functie in een cel. De data dragen bij aan de kennis over de cellulaire processen waarin VPS13A een rol speelt. Verder onderzoek naar de functies van VPS13A is nodig om de exacte pathofysiologische mechanismes van Chorea-Acanthocytose te kunnen begrijpen en daarmee hopelijk de nodige behandelingen te kunnen ontwikkelen.



## ACKNOWLEDGEMENTS

En dan is daar eindelijk het moment gekomen om mensen te bedanken, want dit proefschrift was niet tot stand gekomen zonder de hulp van vele fijne mensen om me heen. Die wil ik nu dan ook allemaal bedanken, zowel degenen die een belangrijke bijdrage aan mijn promotie en dit proefschrift hebben geleverd, als zij die juist buiten de academische wereld een grote rol hebben gespeeld.

First and foremost I would like to take the opportunity to thank my supervisor and promotor, Prof. dr. Sibon. Dear Ody, thank you for your support and guidance during the years of my PhD. I remember feeling very nervous when I asked you as a Masters' student whether you would support me writing a PhD-grant. Lucky me you said yes and I got the opportunity to perform my PhD project under your supervision. During the years I got to know you as an intelligent and kind supervisor, who was always willing to help, take a look at my data and come up with suggestions for future experiments. Thank you very much for giving me back the confidence and overview when I almost completely lost it. Your positive attitude and support kept me going and I am grateful to have you as a supervisor.

I would like to thank the members of the reading committee Prof. dr. Adrian Danek; Prof. dr. Bianca Brundel and Prof. dr. Leo Beukeboom for their critical reading of my thesis.

A special thank you is for my closest colleagues during the years in the lab. Because without you guys research would not have been as fun and fruitful as it was. Francesco, what a joy it was to share an office with you! Thank you for your input and support for my research and the fun times we had, including the wedding of Madina in Tbilisi. Jan, you introduced me to the world of fruit flies and genetics as my supervisor during my final Masters' project. I am happy that I could continue learning from you during my PhD project, and we will keep in touch! Liza, thank you for all the conversations we had and the support you gave me for both my research and personal matters. It was of enormous value to be able to share with you about the things that kept us busy in- and outside work and I hope we will continue our sushi-dinners together with Nico. Nico, I can't thank you enough for all the support you gave me during my PhD-project. Your knowledge about fly-genetics and all the related experiments is incredible and I am grateful that I was able to learn from you. You are a very involved and valued colleague, let's make the sushi-dinners together with Liza a tradition. Wonde, I admire your integrity, kindness and work ethics. Thank you for all the supportive discussions we had throughout the years and wish you all the best at Stanford. Yixian, I got to know you as a hardworking, friendly and loyal person and colleague. Thank you for the nice conversations we had and the support you gave. I hope you enjoy your job in Gothenburg and wish you good luck for the rest of you career.

Mijn dank gaat ook uit naar de fijne analisten van de vliegengroep: Bart en Ellie. Bedankt voor alle ondersteuning die jullie hebben geboden voor verschillende experimenten in dit proefschrift. Bart, het was een genoegen om het vliegen-lab met jou te mogen delen. Ellie, dankjewel voor alle EM experimenten die je hebt uitgevoerd, de ontelbare coupes die je hebt gesneden en de prachtige resultaten die dit heeft opgeleverd.

Also thank you to the other people from the fly group: Amalia, although our paths crossed only briefly I enjoyed working with you in the lab. Hein, thank you for your input during the last weeks of my PhD. It was a pleasure to get to know you and benefit from your knowledge. Madina, thank you for being a nice colleague, for inviting us to your wedding and thereby giving me the opportunity to discover Tbilisi. Yu Yi, thank you for your interests in the project, good luck with the rest of your PhD and I wish you the best for your future career.

I would like to thank Prof. Harrie Kampinga, Pascale and Steven for the fruit(fly)ful discussions we had over the years. Also thank you for the input you gave me on experiments and parts of my research. Prof. Catharine Rabouille, thank you for the discussions we had about my project. Your extensive knowledge about cell biology amazes me I am thankful I got the opportunity to learn from you.

Thanks to previous and current colleagues of the fifth floor for the nice conversations and activities over the years and the pleasant atmosphere in the department: Abhi, Andries, Balaji, Cecilia, Daisy, Despina, Eduardo, Els, Julie, Lara, Martti, Matteo, Melanie, Niels, Paola, Peter, Sarah, Suzanne, Wouter, Vivian and Wu Di.

Klaas Sjollem, Jeroen Kuipers en Dr. Ben Giepmans wil ik bedanken voor hun hulp bij het microscopie gedeelte van mijn onderzoek. Ben, bedankt dat jij mijn co-promotor wilde zijn en het vertrouwen dat je toonde. Er bestaat geen twijfel dat de prachtige techniek van Nanotomy een waardevolle bijdrage is geweest voor dit proefschrift.

Veel dank aan de analisten van de afdeling, jullie zijn de ongeziene kracht achter dit en vele andere proefschriften: Anne, Bart, Ellie, Erika, Fleur, Jeanette, Hette, Maria, Marianne en Mirjam. Ik heb me altijd erg thuis gevoeld bij jullie, en de koffiepauzes waren dan ook een prettige afwisseling van de dagelijkse bezigheden. Bedankt voor jullie hulp in en rondom het lab en de leuke gesprekken en momenten daaromheen.

Een bedankje ook aan de studenten die ik mocht begeleiden tijdens mijn onderzoek. Carmen, jij speciaal bedankt voor de bijdrage die je geleverd hebt in jouw master onderzoek en wat geholpen heeft met het tot stand brengen van hoofdstuk vier en vijf van dit proefschrift. Ik hoop dat jullie een leerzame tijd hebben gehad, ik in ieder geval wel. Ik wens jullie veel succes met jullie toekomstige carrières.

Heel veel dank aan alle vrienden, kennissen en familie die interesse toonden in mijn onderzoek en de voortgang ervan. Jullie belangstelling stel ik zeer op prijs.

Jan Vos, bedankt voor het waarschijnlijk onbewuste zetje dat je mij gegeven hebt om Biologie te gaan studeren. Zonder die stap had dit proefschrift hier nooit gelegen.

Bedankt ook aan mijn oud-huisgenoten in Casa Mundo: Annet, Baukje, Erik, Hillian, Jelle, Job-Jan, Laura, Margje en Rixt. Ik heb ontzettend genoten van het wonen in ons bijzondere huis in de oude kerk waar we, met name het eerste half jaar, ontzettend veel met elkaar deelden, inclusief de ups en downs van mijn PhD. Ik ben blij dat ik jullie daar heb leren kennen.



Meiden van 'Anton': Annet, Emma, Fardau, Ingrid, Jessica, Karin, Manon, Tessa en Vera. Ik wil jullie bedanken voor alle hilarische herinneringen; de feestjes; de relaxte dagen. Met jullie kon ik ontsnappen aan de drukte van het lab wat er ongetwijfeld aan heeft bijgedragen dat ik niet overspannen ben geraakt ;) Jess, jij speciaal bedankt voor al je support en de ontzettend leuke dagen die we samen in Londen hebben gehad. Met jou kon ik na een spannend congres genieten van de stad en ik denk nog vaak terug aan de hilarische momenten die we daar beleefden.

Lieve Jacobien en Simke, dat commissiewerk tijdens je studie tot echte vriendschappen kan leiden is met jullie wel bewezen. Wat fijn dat we elkaar na al die jaren nog steeds regelmatig zien en spreken, ik hoop dat we dat nog lang blijven doen!

Mijn studiegenootjes van de BCN-master Corien, Doortje, Lian, Mirjan, Nynke en Tinka, wil ik bedanken voor de gezellige etentjes. Wat was het soms heerlijk om samen te kunnen foeteren op mislukte experimenten en tegenslagen tijdens onze PhD's, maar ook om elkaars successen te vieren! Hopelijk mogen er nog vele etentjes volgen.

En dan natuurlijk mijn liefste vriendinnen, want ik prijs mezelf zo gelukkig met jullie.

Lieve Gerry, hoewel onze levens op sommige vlakken enorm verschillen hebben we samen zoveel gemeen. Ik ben dan ook ontzettend dankbaar voor de bijzondere en hechte vriendschap die wij al ruim vijftien jaar hebben en die zo vertrouwd is. Ik kan zo genieten van jouw openheid, eerlijkheid en nuchterheid en ben trots op jou en op de moeder die jij voor Marije bent.

Lieve Nadien, lieve Nora. Het lijkt nog zo kort geleden dat we samen de introductiedag van de studie Biologie beleefden. Nadien, jij bent mijn grote steun en toeverlaat, degene die aan een half woord genoeg heeft, en daar ben ik je zo dankbaar voor. Dankjewel voor de moeilijke én mooie momenten waarop jij er altijd voor me bent; voor de grote gebeurtenissen én de kleine die we door de jaren samen beleefden. Ik ben trots op alles wat jij bereikt hebt en hoop nog vele mooie herinneringen samen te maken. Nora, jij bent als een zus voor me: lief, eerlijk en vertrouwd. Ik bewonder je positieve kijk op het leven en hoe je iedereen in zijn waarde laat. Trots ben ik op wie je bent en wat je doet. Dankjewel voor de mooie herinneringen die we samen gemaakt hebben, in het bijzonder onze fantastische vakantie samen in Canada. Lieve Philip en IJsbrand, ook jullie wil ik bedanken, want na al die jaren zijn jullie goede vrienden van me geworden en jullie zijn beide fantastische mannen. Ik hoop dat we nog vele mooie momenten en leuke weekendjes met z'n allen mogen meemaken in de toekomst.

Speciale dank gaat uit naar mijn paranimfen, Marianne & Jelle, die dit memorabele moment met mij delen. Marianne, ik heb ontzettend veel bewondering voor jouw enthousiasme, je enorme hoeveelheid kennis en ervaring, je efficiënte manier van werken en de bereidheid om me altijd te helpen wanneer ik je iets vroeg. Zonder jou was een groot deel van mijn werk en dit proefschrift er niet geweest en daarvoor kan ik je niet genoeg bedanken.

Lieve Jelle, als ik mijn familie zelf uit had mogen kiezen was jij zonder twijfel m'n broertje geweest. Samen zijn we twee handen op één buik en vanzelfsprekend heb jij een grote rol gespeeld bij de belangrijke momenten in mijn leven. Jij begrijpt mij zonder woorden en kent me als geen ander. Dankjewel voor je nuchterheid waarmee je mij meermaals wist te kalmeren, dankjewel dat ik altijd op je kan rekenen, en dankjewel dat je bij mijn promotie naast me staat. Ik kan me geen betere broer wensen.

Lieve papa en mama, natuurlijk was dit proefschrift er zonder jullie niet geweest. Het is moeilijk om de juiste woorden te vinden en jullie te bedanken voor alles wat jullie voor mij (en Jelle) hebben gedaan en betekenen. Bedankt voor jullie onvoorwaardelijke liefde; voor jullie vertrouwen; voor jullie steun en het creëren van een veilige en stevige basis die onmisbaar zijn geweest voor het bereiken van dit resultaat. Pap, jij bent één van de meest oprechte en integere mensen die ik ken en daarmee een ontzettend groot voorbeeld voor mij. Mam, ik bewonder je om je onbaatzuchtigheid en oneindige liefde waarmee je altijd voor me klaar staat en het beste met me voor hebt. Samen zijn jullie nog altijd mijn rots in de branding en ik kan niet anders dan daar dankbaar voor zijn. Laura, wat fijn dat jij vijf jaar geleden bij ons gezin aansloot. Dankjewel voor je interesse en gezelligheid. Wie weet vieren we over een aantal jaar ook jouw promotie.

Astrid, Bertie & Freya, ook jullie wil ik bedanken voor de interesse die jullie de afgelopen jaren toonden in mijn onderzoek. Bedankt voor de manier waarop jullie me opgenomen hebben in het gezin, ik voel me bij jullie ontzettend thuis.

Bedankt lieve opa, voor de speciale band die wij hadden en die voor mij van onschatbare waarde is. Dank u wel voor de interesse in mijn onderzoek, de waakzaamheid en alertheid of het wel écht goed met me ging. Wat zou het mooi geweest zijn om dit moment ook met u te delen, zoals we dat bespraken toen ik aan het begin van mijn promotieonderzoek stond, maar ik ben dankbaar voor alle andere herinneringen die wij samen hebben. Beppe, dank u wel voor de interesse die u toonde in mij en de voortgang van mijn onderzoek. Het betekent veel voor me dat u al zovele jaren een rol speelt in mijn leven en daar ben ik dankbaar voor.

Liefste Roald, het mooiste wat mijn PhD heeft opgeleverd is niet dit boekje, maar mijn relatie met en mijn liefde voor jou. Ik ben ontzettend dankbaar voor wat wij samen hebben en kijk uit naar onze toekomst samen. Jouw bescheidenheid, integriteit en loyaliteit sieren je, en ik ben zo trots op alle dingen die je ogenschijnlijk vanzelfsprekend doet, maar waar je jezelf soms best wat meer credits voor mag geven. Dankjewel voor alles: voor je geduld tijdens het luisteren naar mijn frustraties en verhalen (soms wel voor de 100<sup>e</sup> keer); voor je steun, de tijd, ruimte en mogelijkheid die je mij geeft om m'n dromen achterna te gaan; voor het rotsvaste vertrouwen wat jij in mij en mijn kunnen hebt; voor het delen van de vreugdemomenten over geslaagde experimenten die jij als geen ander begrijpt; voor je hulp en de input die je leverde op mijn onderzoek, want laten we eerlijk wezen, ik en dit proefschrift hebben veel van jouw kennis geprofiteerd. You're next ;)





