

Title: Drebrin and myosin VI: Cytoskeletal regulators of the development of the postsynaptic machinery at the murine neuromuscular junction

Author: Paloma Álvarez Suárez

Supervisor: Prof. Maria Jolanta Rędowicz, Ph.D., D.Sc.

Auxiliary supervisor: Dr. Marta Gawor, Ph.D.

Abstract:

The neuromuscular junction (NMJ) is a chemical synapse of the peripheral nervous system that enables skeletal muscle contraction through acetylcholine-mediated neurotransmission. This synaptic structure is composed of three main elements, motor neuron, myofiber, and Schwann cells, that tightly regulate one another throughout ontogenesis via multiple signaling pathways. Disruption of these pathways can result in neuromuscular disorders that reduce the efficiency of muscle contraction and lead to muscle fatigue, wasting, and, in some cases, premature death. The cause of many neuromuscular disorders remains unknown to this date and any cure or treatment is often missing. Studying the molecular mechanisms underlying NMJ function in physiological and pathological contexts could shed light on these unmet clinical needs and even lay the path to discovering therapeutic targets. Impairments in cellular processes regulating the presence of acetylcholine receptors (AChRs) on the myofiber surface are one of the most devastating for proper NMJ function. Most importantly, many signaling pathways and developmental processes involved in receptor clustering and maintenance remain poorly understood, and researchers continue to unveil new roles for proteins whose relevance at the NMJ had been unknown before.

The actin cytoskeleton and actin-remodeling proteins are at the core of many postsynaptic-regulating processes, including local delivery and recycling of synaptic components, stabilization of postsynaptic complexes, and recruitment of other cytoskeletal filaments. Through my PhD research, I identified and characterized for the first time some of the functions of the cytoskeletal regulators drebrin and myosin VI in the formation and maintenance of the postsynaptic machinery. Specifically, I found that drebrin plays an important role in AChR clustering and maturation through its ability to rearrange actin filaments. Moreover, its mechanisms of action at the postsynaptic machinery seem to involve microtubule organization and interaction with rapsyn, a key AChR clustering mediator and stabilizer. Myosin VI, on the other hand, does not seem to be crucial neither for NMJ formation nor maturation, however its absence in mice significantly impairs NMJ structure and leads to reduced muscle strength, particularly in females.

Altogether, my results provide an insight into the mechanisms through which drebrin mediates AChR cluster formation, maturation, and maintenance, as well as the functional consequences of myosin VI loss in the skeletal muscle of mice.

Keywords: neuromuscular junction; skeletal muscle; acetylcholine receptors; drebrin; myosin VI; cytoskeleton

Title: Drebrin and myosin VI: Cytoskeletal regulators of the development of the postsynaptic machinery at the murine neuromuscular junction

Author: Paloma Álvarez Suárez

Supervisor: Prof. Maria Jolanta Rędowicz, Ph.D., D.Sc.

Auxiliary supervisor: Dr. Marta Gawor, Ph.D.

Abstract:

The neuromuscular junction (NMJ) is a chemical synapse of the peripheral nervous system that enables skeletal muscle contraction through acetylcholine-mediated neurotransmission. This synaptic structure is composed of three main elements, motor neuron, myofiber, and Schwann cells, that tightly regulate one another throughout ontogenesis via multiple signaling pathways. Disruption of these pathways can result in neuromuscular disorders that reduce the efficiency of muscle contraction and lead to muscle fatigue, wasting, and, in some cases, premature death. The cause of many neuromuscular disorders remains unknown to this date and any cure or treatment is often missing. Studying the molecular mechanisms underlying NMJ function in physiological and pathological contexts could shed light on these unmet clinical needs and even lay the path to discovering therapeutic targets. Impairments in cellular processes regulating the presence of acetylcholine receptors (AChRs) on the myofiber surface are one of the most devastating for proper NMJ function. Most importantly, many signaling pathways and developmental processes involved in receptor clustering and maintenance remain poorly understood, and researchers continue to unveil new roles for proteins whose relevance at the NMJ had been unknown before.

The actin cytoskeleton and actin-remodeling proteins are at the core of many postsynaptic-regulating processes, including local delivery and recycling of synaptic components, stabilization of postsynaptic complexes, and recruitment of other cytoskeletal filaments. Through my PhD research, I identified and characterized for the first time some of the functions of the cytoskeletal regulators drebrin and myosin VI in the formation and maintenance of the postsynaptic machinery. Specifically, I found that drebrin plays an important role in AChR clustering and maturation through its ability to rearrange actin filaments. Moreover, its mechanisms of action at the postsynaptic machinery seem to involve microtubule organization and interaction with rapsyn, a key AChR clustering mediator and stabilizer. Myosin VI, on the other hand, does not seem to be crucial neither for NMJ formation nor maturation, however its absence in mice significantly impairs NMJ structure and leads to reduced muscle strength, particularly in females.

Altogether, my results provide an insight into the mechanisms through which drebrin mediates AChR cluster formation, maturation, and maintenance, as well as the functional consequences of myosin VI loss in the skeletal muscle of mice.

Keywords: neuromuscular junction; skeletal muscle; acetylcholine receptors; drebrin; myosin VI; cytoskeleton

Tytuł: Drebrin and myosin VI: Cytoskeletal regulators of the development of the postsynaptic machinery at the murine neuromuscular junction

Autor: Paloma Álvarez Suárez

Promotor: Prof. Maria Jolanta Rędowicz, Ph.D., D.Sc.

Bezpośredni przełożony: Dr. Marta Gawor, Ph.D.

Streszczenie:

Złącze nerwowo-mięśniowe (ZNM) to chemiczna synapsa obwodowego układu nerwowego, która pośredniczy w skurczu mięśni szkieletowych poprzez neurotransmisję za pośrednictwem acetylocholiny. Ta struktura synaptyczna składa się z trzech głównych składowych: motoneuronu, włókien mięśniowych i komórek Schwanna, które w ontogenezie ściśle regulują się nawzajem za pośrednictwem wielu ścieżek sygnalowych. Zakłócenie tych szlaków może skutkować zaburzeniami nerwowo-mięśniowymi, które zmniejszają wydajność skurczu mięśni i prowadzą do męczliwości mięśni, wyniszczenia, a w niektórych przypadkach do przedwczesnej śmierci. Przyczyna wielu zaburzeń nerwowo-mięśniowych pozostaje do tej pory nieznana i wciąż nie ma skutecznych leków i terapii. Poznanie mechanizmów molekularnych leżących u podstaw działania ZNM w warunkach fizjologicznych i patologicznych może rzucić światło na te niespełnione potrzeby kliniczne, m.in. poprzez odkrycie nowych celów terapeutycznych. Zaburzenia procesów komórkowych regulujących obecność receptorów acetylocholinowych (AChR) na powierzchni włókien mięśniowych są jednymi z najbardziej destrukcyjnych dla prawidłowego funkcjonowania ZNM. Co ważne, wiele ścieżek sygnalowych i procesów rozwojowych zaangażowanych w grupowanie i stabilność receptorów pozostaje słabo poznanych, a naukowcy nadal odkrywają nowe funkcje białek, których rola na ZNM była wcześniej nieznana.

Cytoskielet aktynowy i białka biorące udział w rearanżacji filamentów aktynowych są zaangażowane w wiele postsynaptycznych procesów regulacyjnych, w tym w lokalne dostarczanie i recyrkulację komponentów synapsy, stabilizację kompleksów postsynaptycznych i rekrutację innych składowych cytoskieletu. W moich badaniach będących podstawą rozprawy doktorskiej po raz pierwszy zidentyfikowałam i scharakteryzowałam niektóre funkcje białek cytoskieletu: drebryny i miozyny VI w tworzeniu i organizacji maszynierii postsynaptycznej. W szczególności odkryłam, że drebryna, dzięki swojej zdolności do oddziaływania z filamentami aktynowymi, odgrywa ważną rolę w grupowaniu i dojrzewaniu klastrów AChR. Co więcej, mechanizmy organizacji maszynierii postsynaptycznej, w które zaangażowana jest drebryna wydają się obejmować organizację mikrotubul i interakcję z rapsyną, białkiem stanowiącym kluczowy element rekrutacji i stabilizacji AChR. Z kolei niekonwencjonalna miozyna VI, zależne od aktyny białko motoryczne, nie wydaje się być kluczowa w tworzeniu i dojrzewaniu ZNM, jednak jej brak u myszy skutkuje zmianami w strukturze złączka, które prowadzą do zmniejszenia siły mięśni kończyn tylnych myszy, w szczególności u samicy.

Podsumowując, moje wyniki dostarczają nowej wiedzy o mechanizmach udziału drebryny w tworzeniu, dojrzewaniu i stabilności klastrów AChR, jak również o funkcjonalnych konsekwencjach utraty miozyny VI w mięśniach szkieletowych myszy.

Słowa kluczowe: złącze nerwowo-mięśniowe; mięśnie szkieletowe; receptory acetylocholiny; drebryna; miozyna VI; cytoszkielet