



# The K63 deubiquitinase CYLD modulates autism-like behaviors and hippocampal plasticity by regulating autophagy and mTOR signaling

Elisa Colombo, Guilherme Horta, Mona K. Roesler, Natascha Ihbe, Stuti Chhabra, Konstantin Radyushkin, Giovanni Di Liberto, Mario Kreuzfeldt, Sven Schumann, Jakob von Engelhardt, Doron Merkler, Christian Behl, Thomas Mittmann, Albrecht M. Clement, Ari Waisman and Michael J. Schmeisser



PNAS

Dezember 2021

Institut für Mikroskopische Anatomie und Neurobiologie

Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

## Die K63-Deubiquitinase CYLD moduliert Autismus-ähnliches Verhalten und hippocampale Plastizität über Regulation der Autophagie und des mTOR-Signalwegs

von Guilherme Horta, Mona K. Roesler, Stuti Chhabra, Sven Schumann und Michael J. Schmeißer

Ubiquitinierung, also die Anbindung von Ubiquitin an ein Zielmolekül, ist ein wichtiger Prozess für die Funktionalität von Synapsen. Sowohl Lysin(K)48-polyubiquitinierte als auch K63-polyubiquitinierte Proteine lassen sich angereichert in der postsynaptischen Dichte (PSD) exzitatorischer Synapsen des Mausgehirns nachweisen. K63-Polyubiquitinierung von Proteinen beeinflusst deren Einbindung in intrazelluläre Transportprozesse wie bspw. Autophagie. CYLD, eine K63-spezifische Deubiquitinase, wurde per Massenspektroskopie, Immunoblotting und Immunelektronenmikroskopie in der PSD nachgewiesen werden. Darüber hinaus zeigte sich, dass die Lokalisation von CYLD in der PSD durch neuronale Depolarisation signifikant gesteigert werden kann. Die genaue funktionelle Bedeutung von CYLD an exzitatorischen Synapsen ist allerdings unbekannt. Im Rahmen dieser Studie haben wir die Rolle von CYLD an exzitatorischen Synapsen durch Verhaltensversuche sowie verschiedene morphologische und elektrophysiologische Verfahren untersucht.

➤ In Verhaltensversuchen mit CYLD-defizienten (*Cyld*<sup>-/-</sup>) Mäusen konnte nachgewiesen werden, dass CYLD an der Regulation von drei Kernsymptomen der Autismus-Spektrum-Störung beteiligt ist: Gestörte soziale Interaktion, repetitives Verhalten, und kognitive Dysfunktion (Abb. 1).

➤ Der Verlust von CYLD resultiert in einer Verminderung der Anzahl dendritischer Spines von hippocampalen CA1-Pyramidenzellen, nicht jedoch von Medium Spiny Neurons (MSNs) des ventralen und dorsalen Striatums. Die Anzahl der Spines von CA1-Pyramidenzellen ist im basalen Abschnitt des Dendritenbaums reduziert, apikal jedoch unverändert. MSNs zeigen keine Auffälligkeiten bezüglich der Spine-Anzahl (Abb. 2).

➤ Der mTOR-Signalweg ist im Hippokampus von *Cyld*<sup>-/-</sup> Mäusen signifikant dysreguliert (Abb. 3a,b), was eine Beeinträchtigung der Autophagie zur Folge hat, wie die Reduktion des Autophagie-Markers LC3B-II verdeutlicht. Mittels Co-Immunopräzipitation konnte zudem CYLD als direkter Interaktionspartner von mTOR nachgewiesen werden (Abb. 3c).

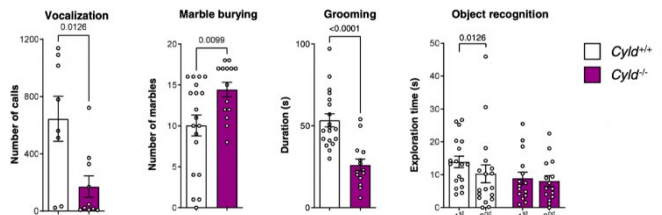


Abb. 1: *Cyld*<sup>-/-</sup> Mäuse weisen einen Autismus-ähnlichen Verhaltensphänotyp mit beeinträchtigter sozialer Interaktion, repetitivem Verhalten und kognitiver Dysfunktion auf.

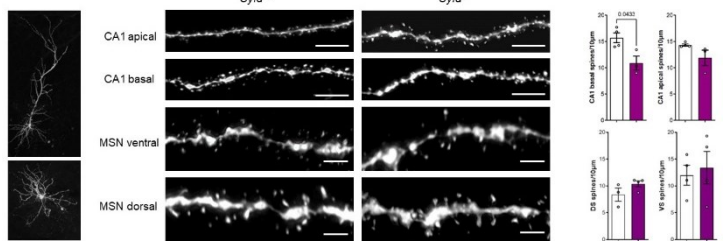


Abb. 2: Morphologie hippocampaler CA1-Pyramidenzellen (CA1; apikal vs. basal) und striataler Medium Spiny Neurons (MSN; ventral vs. dorsal) in *Cyld*<sup>-/-</sup> Mäusen. Die Anzahl dendritischer Spines ist spezifisch im Bereich des basalen Dendritenbaums von CA1-Pyramidenzellen reduziert.

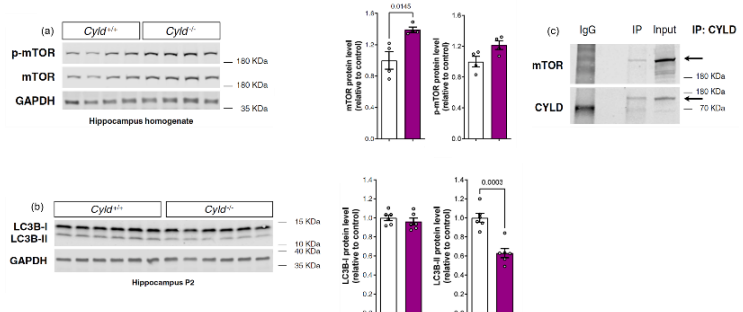


Abb. 3: Immunoblotuntersuchung von p-mTOR, m-TOR, LC3B-I und LC3B-II, jeweils normalisiert gegen GAPDH, im hippocampalem Gewebshomogenat und in der P2 Fraktion (a,b). CYLD-Immunopräzipitation aus hippocampalem Gewebshomogenat (c).

### Weitere Informationen

Prof. Dr. Dr. Michael J. Schmeißer  
Direktor, Institut für Mikroskopische Anatomie und Neurobiologie  
Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

mschmeisser@uni-mainz.de