

Diss. ETH No. 17325

**A Role of Yeast Uri1p in Translation Initiation and  
Cotranslational Protein-Folding**

A dissertation submitted to the  
ETH Zürich  
for the degree of  
Dr. sc. ETH Zürich

presented by

**Anna Deplazes**

Dipl. mol. biol. University of Zürich  
born 21.2.1976  
citizen of Sumvitg, GR

accepted on the recommendation of

Prof. Matthias Peter, examiner

Prof. Patrick Linder, co-examiner

Prof. Alex Hajnal, co-examiner

2007

## Summary

Protein-synthesis is typically divided into the three steps: initiation, elongation and termination. Translation initiation results in the positioning of the ribosome bound to the initiator tRNA at the start codon on the mRNA. Translation elongation, which is repeated for each additional amino acid, has the purpose to successively link amino acids to the growing peptide. Finally, translation termination leads to the release of the peptide and the translation machinery at the stop codon of the mRNA. In addition, cotranslational protein-folding, which promotes folding of the newly synthesized protein into its correct three-dimensional structure contributes to the *de novo* synthesis of a polypeptide.

In this study we have analyzed the role of the prefoldin-like protein Uri1p in protein-synthesis in *S. cerevisiae*. Initial evidence suggesting such a role was provided by the observation that deletion of the *URI1* gene results in sensitivity to translation inhibitors and derepression of *GCN4* translation. Further analysis of the *GCN4* derepression phenotype, lead to the hypothesis that Uri1p is involved in efficient recruitment of the ternary complex (TC), consisting of eIF2-GTP and Met-tRNA<sub>i</sub>, to the 40S subunit. This hypothesis was supported by the observation that polysome profiles of *uri1Δ* cells indicate a translation initiation defect. Moreover, Uri1p physically interacts with eIF1A, an initiation factor implicated in recruitment of TC.

Furthermore, several experiments suggest that Uri1p has a role in cotranslational protein-folding. First, Uri1p has a PFD-domain, which is typical for prefoldins, a family of molecular chaperones. Second, Uri1p was found to interact with Ssb1p and Sis1p, two chaperones that are implicated in translation. Third, Uri1p is associated with polysomes similar to cotranslational chaperones, and finally, Uri1p was found to interact with eEF1A, a translation elongation factor that has been reported to have chaperone-like functions.

Taken together, we postulate that our results indicate an involvement of Uri1p at different steps during protein-synthesis and thus might perform a coordinating function, by synchronizing these different processes

## Zusammenfassung

Traditionellerweise wird der Prozess der Protein-synthese in drei Stufen eingeteilt: Initiation, Elongation und Termination. Translationsinitiation führt zur Platzierung der Initiator tRNA am Start codon der mRNA. Der Elongationsschritt der Translation hat den Zweck, die Polypeptidkette um jeweils eine Aminosäure zu verlängern, wobei der Prozess für jede Aminosäure zyklisch wiederholt wird. Schliesslich führt die Translationstermination dazu, dass die Translationsmaschinerie am Stop codon der mRNA wieder freigegeben wird. Zusätzlich zu diesen Schritten trägt Cotranslationelle Faltung von Proteinen zur *de novo* Synthese von Polypeptiden bei.

In dieser Arbeit untersuchen wir die Rolle von Uri1p in der Synthese von Proteinen. Erste Anzeichen für eine solche Funktion waren die Sensitivität von *uri1Δ* Zellen gegenüber Translationsinhibitoren sowie die Beobachtung, dass *GCN4* Translation in diesen Zellen aktiviert ist. Weitere Prüfung des Gcn4-Phänotypes führte zur Hypothese, dass Uri1p an der Rekrutierung des Ternären Komplexes (TC) bestehend aus Initiator tRNA und eIF2-GTP, an die kleine ribosomale Unterheit (40S) beteiligt sein könnte. Diese Hypothese wurde bestätigt durch die Beobachtung, dass Polysom-Profile von *uri1Δ* Zellen einen Initiationsdefekt aufzeigen. Zudem interagiert Uri1p mit eIF1A, einem Initiationsfaktor, der bekannt ist für seine Funktion in der Rekrutierung des TC an die 40S Untereinheit.

Mehrere Resultate weisen ausserdem auf eine Rolle von Uri1p in Cotranslationeller Faltung von Proteinen hin. Erstens hat Uri1p eine PFD-Domäne, welche charakteristisch ist für Prefoldin-Chaperone. Zweitens interagiert Uri1p mit Ssbp und mit Sis1p, zwei Chaperonen, die auch in Translation involviert sind. Drittens bindet Uri1p auf ähnliche Weise wie bekannte cotranslationelle Chaperone an Polysome. Schliesslich interagiert Uri1p mit eEF1A, einem Elongationsfaktor, von dem man weiss, dass er chaperonartige Funktionen erfüllt.

Aus diesen Resultaten schliessen wir, dass Uri1p an verschiedenen Stufen der Proteinsynthese beteiligt ist und dabei eine koordinierende Funktion ausführen könnte, indem es die verschiedenen Schritte der Proteinsynthese aufeinander abstimmt.