



Doctoral Thesis

Targeted proteomics reveals compositional dynamics of 60S pre-ribosomes after nuclear export

Author(s):

Altvater, Martin

Publication Date:

2015

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-010428926> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

DISS. ETH NO. 22440

**TARGETED PROTEOMICS REVEALS COMPOSITIONAL DYNAMICS
OF 60S PRE-RIBOSOMES AFTER NUCLEAR EXPORT**

A thesis submitted to attain the degree of

DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH

(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

MARTIN ALTVATER

Diplom-Biologe (t.o.)

University of Stuttgart, Germany

born on 31.03.1982

citizen of Germany

accepted on the recommendation of

Prof. Vikram G. Panse

Prof. Claus M. Azzalin

Prof. Patrick Meraldi

2015

Summary

Construction and intracellular targeting of eukaryotic pre-ribosomal particles involve a multitude of diverse transiently associating *trans*-acting assembly factors, energy-consuming enzymes, and transport factors. The ability to rapidly and reliably measure co-enrichment of multiple factors with maturing pre-ribosomal particles presents a major biochemical bottleneck towards revealing their function and the precise contribution of >50 energy-consuming steps that drive ribosome assembly. Here, we devised a workflow that combines genetic trapping, affinity-capture, and selected reaction monitoring (SRM) mass spectrometry, to overcome this deficiency. We exploited this approach to interrogate the dynamic proteome of pre-60S particles after nuclear export. We uncovered assembly factors that travel with pre-60S particles to the cytoplasm, where they are released before initiating translation. Notably, we identified a novel shuttling factor that facilitates nuclear export of pre-60S particles. Capturing and quantitating protein interaction networks of trapped intermediates of macromolecular complexes by our workflow is a reliable discovery tool to unveil dynamic processes that contribute to their *in vivo* assembly and transport.

Zusammenfassung

Am Bau und am intrazellulären Transport von prä-ribosomalen Untereinheiten ist eine Vielzahl von Proteinen beteiligt wie zum Beispiel energieverbrauchende Enzyme oder sogenannte Transportfaktoren. Die schnelle und zuverlässige Bestimmung der Interaktion solcher Faktoren mit dem sich entwickelnden unreifen Ribosom ist nach wie vor eine große Herausforderung und erschwert die Erforschung und Bestimmung der mehr als 50 energieabhängigen Schritte, die den Zusammenbau des Ribosoms vorantreiben. Um dies zu verbessern kombinierten wir in dieser Arbeit genetische Methoden mit spezifischen Aufreinigungen und quantitativer Massenspektrometrie (SRM-MS). Wir nutzten diesen Ansatz um das dynamische Proteom von prä-60S Partikeln zu untersuchen, das aus dem Zellkern exportiert wird. Dabei entdeckten wir Faktoren, die mit prä-60S Untereinheiten in das Zytoplasma transportiert werden, wo sie vor Beginn der Translation des funktionellen Ribosoms abgelöst werden. Bemerkenswerterweise identifizierten wir hierbei einen neuen Faktor, der zwischen Nukleoplasma und Zytoplasma pendelt und den Export von prä-60S Ribosomen erleichtert. Unser Ansatz zur Bestimmung und Quantifizierung von Protein-Interaktionsnetzwerken in Zwischenprodukten makromolekularer Strukturen ist ein zuverlässiges Instrument um dynamische Prozesse zu identifizieren, die zum Bau und Transport dieser Komplexe beitragen.