

The role of transcription factor TBPL1 in gene expression and biogenesis of 40S ribosomal subunits

Doctoral Thesis

Author(s):

Leu, Philipp

Publication date:

2020

Permanent link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-b-000444445>

DISS. ETH NO. 26811

**The role of transcription factor TBPL1 in gene expression and
biogenesis of 40S ribosomal subunits**

A thesis submitted to attain the degree of
DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH
(Dr. sc. ETH Zurich)

Presented by

PHILIPP LEU

MSc in Biology, University of Zurich (UZH)

Born on December 16th, 1988

Schaffhausen, Switzerland

Accepted on the recommendation of

Prof. Ulrike Kutay, examiner

Prof. Michael Hall, co-examiner

Prof. Karsten Weis, co-examiner

2020

Summary

Ribosomes translate the information encoded on mRNAs into functional proteins, a key process found in all domains of life. The complex assembly of these macromolecular machines requires the coordinated interplay of a myriad of transacting factors, and takes place across several cellular compartments. Although the process of ribosome synthesis has been studied for decades, many mechanistic insights into ribosome assembly steps are still missing. Ribosome synthesis has high energetic costs and demands many cellular resources. Therefore, eukaryotes have developed multiple regulatory mechanisms by which they adjust the production of new ribosomes and maintain cellular homeostasis. For instance, several mechanisms have evolved in eukaryotes to allow the cell to transcriptionally regulate transcripts required for ribosome biogenesis.

In this study, we characterize the transcription factor TBPL1, a close relative of the TATA-box binding protein TBP. TBPL1 has been demonstrated to be essential in the development of non-mammal metazoans and has been implicated in the transcriptional regulation of ribosomal protein genes in flies.

Here, we demonstrate that human TBPL1 is a nuclear factor that binds to ribosomal protein genes besides various other genomic targets in somatic cells. We show that human TBPL1 co-purifies with the TFIIA components GTF2A1 and GTF2A2, which are required to nucleate a transcriptionally competent pre-initiation complex at target genes. We provide evidence of human TBPL1 binding to DNA, in particular to the ribosomal protein core promoters RPS9 and RPL4. Furthermore, we offer evidence that TBPL1 is mainly an activating transcription factor and show that the loss of TBPL1 downregulates various mRNA processing factors, components of the splicing machinery, and ribosome biogenesis factors. Most notably, we show that the interaction of TBPL1 with TFIIA is essential for productive 40S maturation, indicating a dependency of ribosome biogenesis on transcripts produced by TBPL1. In addition, a highly conserved phenylalanine residue of TBPL1 assists in DNA binding of TBPL1, which is functionally linked to productive 40S subunit synthesis. Finally, we suggest that the TBPL1 transcription system is used for the expression of many genes implicated in diverse cellular processes.

Zusammenfassung

Ribosomen übersetzen die genetische Information, die in mRNAs kodiert ist, in funktionelle Proteine. Dieser Prozess, der auch als Translation bekannt ist, stellt einen fundamentalen biologischen Ablauf dar und ist daher in allen Lebewesen zu finden. Die Herstellung von solch makromolekularen Maschinen, die zur Translation fähig sind, ist äusserst komplex. Unzählige zusätzliche, nicht-ribosomale Faktoren werden für den Zusammenbau eines Ribosoms benötigt und die Synthese von neuen Ribosomen verläuft zudem in mehreren zellulären Kompartimenten. Obwohl die Biogenese von Ribosomen schon seit Jahrzehnten erforscht wird, sind uns nach wie vor viele mechanistische Aspekte unbekannt. Die Herstellung von Ribosomen ist ein sehr energieaufwendiger und ressourcenzehrender Prozess. Um die Synthese von Ribosomen mit den verfügbaren Ressourcen in Einklang zu bringen, haben eukaryotische Zellen verschiedene Methoden entwickelt, wie sie die Produktion von neuen Ribosomen steuern können.

Diese Arbeit rückt den Transkriptionsfaktor TBPL1 in den Fokus. TBPL1 ist ein naher Verwandter des TATA-Box-bindenden Proteins TBP und ist essentiell in der Embryonalentwicklung von Tieren, die nicht zu den Säugetieren gehören. TBPL1 wurde zudem in Zusammenhang mit der Transkription von Genen für ribosomale Proteine in *Drosophila melanogaster* gebracht. In dieser Arbeit demonstrieren wir, dass TBPL1 ein Faktor im Zellkern ist, der auch in menschlichen Zellen unter anderem an Gene für ribosomale Proteine bindet. Wir zeigen, dass bei der Aufreinigung von TBPL1 aus menschlichen Zellen TBPL1 gemeinsam mit seinen Cofaktoren GTF2A1 und GTF2A2 isoliert wird, welche den basalen Transkriptionsfaktor TFIIA formen, der wiederum eine Grundvoraussetzung für die Etablierung eines kompetenten, Prä-Initiationskomplexes ist. Wir liefern erste Beweise, dass humanes TBPL1 in der Lage ist DNA direkt zu binden und zeigen insbesondere, dass es die Kernpromotoren der ribosomalen Protein Gene RPS9 und RPL4 bindet. Darüber hinaus zeigen wir, dass TBPL1 mehrheitlich eine positive Wirkung auf seine Ziel-Gene ausübt und der Verlust von TBPL1 dazu führt, dass mRNA Prozessierungsfaktoren, Komponenten der Splicing-Maschinerie und nicht-ribosomale Biogenese Faktoren herunterreguliert werden. Höchst bemerkenswert ist die Tatsache, dass TBPL1 mit dem basalen Transkriptionsfaktor TFIIA interagieren können muss, damit neue ribosomale 40S Untereinheiten effektiv produziert werden. Diese Beobachtung deutet darauf hin, dass

gewisse Transkripte, erzeugt durch die Rekrutierung des TBPL1-TFIIA Komplexes an spezifische Ziel-Gene, notwendig sind um neue Ribosomen herzustellen. Zusätzlich nehmen wir eine stark konservierte Aminosäure von TBPL1 genauer unter die Lupe und zeigen, dass diese vermutlich eine wichtige Rolle in der Erkennung seiner Ziel-Gene spielt. Abschliessend diskutieren wir den Beitrag von TBPL1 zur Transkription seiner Ziel-Gene, die in diversen zellulären Prozessen involviert sind.