

DISS. ETH NO. 27622

**Novel Roles of Evolutionarily Conserved Protein Translation  
Modulators in Promoting Health and Longevity**

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

Presented by

Jia Yee WU

M. Sc. in Biotechnology, National Tsing Hua University

Born on 28.01.1991

Citizen of Malaysia

Accepted on the recommendation of

Prof. Dr. med. Michael Ristow

Prof. Dr. Ferdinand von Meyenn

2021

## Summary

Society's socioeconomic burden is growing as the world's demographics are shifting toward an aging population, accompanied by increased prevalence of age-related diseases such as diabetes, cardiovascular diseases and cancer, calling for developing strategies to alleviate the burden. Previous aging studies indicate that aging process is malleable. Thus, understanding the molecular basis of aging is critical for promoting healthspan.

This thesis aims to identify novel aging regulators by discovering and characterizing genes that extend lifespan significantly and dissecting its downstream mechanisms in order to gain a deeper understanding of the molecular mechanisms underlie the aging process.

In Chapter 2, an inter-species transcriptomic comparative approach is used to classify conserved aging-associated changes across four distinct species, including the nematode *Caenorhabditis elegans*, the zebrafish *Danio rerio*, the mouse *Mus musculus*, and the killifish *Nothobranchius furzeri*. As an outcome of the study, we observed the most robust extension of *C. elegans* lifespan when impairing Y6B3B.9 (ortholog of LAS1L), out of 45 candidates identified in this RNA interference (RNAi) based screen. We confirmed that Y6B3B.9 is the ortholog of LAS1L that is involved in a 60S pre-ribosomal RNA processing. In nematodes, RNAi-mediated silencing of the gene improves healthspan parameters, downregulates the 60S subunit of ribosomes and protein translation rate. The lifespan extension upon *las1l*/Y6B3B.9 RNAi is mediated through multiple nutrient-sensing pathways. Additionally, the study uncovered a non-ribosomal function of *las1l*/Y6B3B.9 in regulating acetylation of histone H3 lysine 27 via histone acetyltransferase CBP-1. Further analysis reveals that tyrosine phosphorylation of *C. elegans* NUCL-1 is responsible for the lifespan extension effect.

Chapter 3 presents the regulation of aging by arginine methylation, a posttranslational modification that has not been previously linked to aging. The study focuses on understanding the function of arginine methyltransferase PRMT-1 in regulating life and healthspan. To complete the arginine methylome, a mass spectrometry-based analysis is performed to the resolution of arginine methylation types and sites. The study indicated that CAR-1, an essential protein of mRNA silencing complex, is responsible for catalyzing the downstream lifespan beneficial effect. Protein translation inhibition is the downstream mechanism by which PRMT-1/CAR-1 extends lifespan.

Taken together, our studies identified novel aging modulators that are also consistent with previously discovered mechanisms that interfere with aging. Novel aging modulators from both projects converge on protein translation regulation, implying that protein synthesis is involved in regulating the aging process. While the ideas presented here need to be tested in higher organisms, they shed new light on translational control and aging control.

## Zusammenfassung

Die zunehmend alternde Gesellschaft insbesondere westlicher und asiatischer Staaten bedingt eine erhebliche sozioökonomische Herausforderung, begleitet von einer erhöhten Prävalenz altersbedingter Krankheiten wie Diabetes, Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Krebs, was die Entwicklung von präventiven Strategien erforderlich macht. Frühere Studien zur Alterung zeigen, dass der Alterungsprozess interventionell modulierbar ist. Daher ist das Verständnis der molekularen Grundlagen des Alterns entscheidend für die Förderung der Lebenserwartung.

Diese Arbeit zielt darauf ab, neuartige Alterungsregulatoren zu identifizieren, indem das Gen, das die Lebensspanne signifikant verlängert, identifiziert wird, und seine nachgeschalteten Mechanismen analysiert werden, um ein tieferes Verständnis des molekularen Mechanismus, der dem Alterungsprozess zugrunde liegt, zu erlangen.

In Kapitel 2 wird ein transkriptionaler Vergleich verwendet, um konservierte alterungsassoziierte Veränderungen in vier verschiedenen Spezies zu klassifizieren, darunter der Fadenwurm *Caenorhabditis elegans*, der Zebrafisch *Danio rerio*, die Maus *Mus musculus* und der Killifisch *Nothobranchius furzeri*. Als Ergebnis der Studie beobachteten wir die robusteste Verlängerung der Lebensspanne von *C. elegans* durch die Beeinträchtigung von Y6B3B.9 (Ortholog von LAS1L) aus insgesamt 45 getesteten Kandidaten, die in diesem RNA-Interferenz (RNAi) basierten Screen identifiziert wurden. Wir bestätigten, dass Y6B3B.9 das Ortholog von LAS1L ist, das funktional an der 60S-prä-ribosomalen RNA-Verarbeitung beteiligt ist. In Nematoden verbessert das RNAi-vermittelte Gen-Silencing die Parameter der Lebensspanne und reguliert die 60S-Untereinheit der Ribosomen und die Protein-Translationsrate herunter. Die Verlängerung der Lebensspanne nach *las1l*/Y6B3B.9 Inaktivierung wird durch mehrere nährstoffsensitive Signalwege vermittelt. Zusätzlich wurde eine nicht-ribosomale Funktion von *las1l*/Y6B3B.9 bei der Regulierung der Acetylierung von Histon H3 Lysin 27 über die Histon-Acetyltransferase CBP-1 aufgedeckt. Weitere Analysen zeigen, dass die Tyrosinphosphorylierung von NUCL-1 in *C. elegans* für den lebensverlängernden Effekt verantwortlich ist.

Kapitel 3 etabliert die Regulation des Alterns durch Arginin-Methylierung, eine posttranslationale Modifikation, die bisher nicht mit dem Altern in Verbindung gebracht wurde. Die Studie fokussiert sich auf das Verständnis der Funktion der Arginin-Methyltransferase PRMT-1 in der Regulierung der Lebens- und Gesundheitsspanne. Um das Arginin-Methylom zu vervollständigen, wurde eine Massenspektrometrie-basierte Analyse zur Auflösung der Arginin-Methylierungsarten und -stellen durchgeführt. Die Studie zeigte, dass CAR-1, ein essenzielles Protein des mRNA-Silencing-Komplexes, für die Katalyse des nachgeschalteten lebensverlängernden Effekts verantwortlich ist. Die Hemmung der Proteintranslation ist der nachgeschaltete Mechanismus, durch den PRMT-1/CAR-1 die Lebensspanne verlängert.

Zusammengenommen haben unsere Studien zuvor unbekannte Alterungsmodulatoren identifiziert, die zuvor entdeckte Mechanismen ergänzen. Die neuartigen Alterungsmodulatoren aus beiden Projekten beeinflussen jeweils die Proteintranslation und deren Rolle in der Regulierung des Alterungsprozesses. Während die hier vorgestellten Ideen noch funktionell in höheren Organismen bestätigt werden müssen, werfen sie einen neuen molekularen Blickwinkel auf die Translationskontrolle, und damit die Steuerung des Alterungsprozesses.