

Abstract

The main source of energy for cellular processes of an eukaryotic cell is provided by mitochondria. To maintain a correct mitochondrial function and to adapt to environmental cues, cells have to tightly regulate the expression of nuclear-encoded mitochondrial proteins (NEMPs). RNA binding proteins (RBPs) bind mRNAs in every step of their lifespan to protect, transport, translate or degrade each transcript in their given time. These messenger ribonucleoprotein (mRNP) compositions not only constantly change and adapt to allow the correct regulation but also support the formation of different membrane-less mRNP granules. The cytoplasmic RBP Clustered mitochondria homolog (CLUH) was identified in our group to bind a subset of transcripts encoding NEMPs. In absence of CLUH, the stability of several target mRNAs is decreased. However, it remained unclear if CLUH directly inhibits mRNA decay, or it plays a role in promoting translation of its target mRNAs.

Here I show that CLUH is involved in the translation of its target mRNAs and can be found in polysomes. Furthermore CLUH forms granules under specific mitochondrial stress that compromises oxidative phosphorylation (OXPHOS) and ATP production. Remarkably, these granules contain G3BP1, a marker of stress granules (SGs), but are distinct from SGs, since they are resistant to cycloheximide treatment and contain components of the large ribosomal subunit. In addition, pull-down experiments followed by mass-spectrometry showed that CLUH interacts with proteins that play a role upstream or downstream of the mTORC1 signaling pathway both under basal and under mitochondrial stress conditions. The activation of mTORC1 via insulin treatment also results in CLUH granule formation with high dynamicity.

In conclusion, these data suggest a link between CLUH and mTORC1 signaling and a potential role of CLUH granules to compartmentalize translation of mRNAs encoding NEMPs.

Zusammenfassung

Mitochondrien stellen die zentrale Energiequelle von zellularen Prozessen einer eukaryotischen Zelle dar. Um die korrekte Funktion von Mitochondrien aufrechtzuerhalten und sich an Umgebungsbedingungen anzupassen, müssen Zellen die Expression von kernkodierten mitochondrialen Proteinen (NEMPs) streng regulieren. RNA-Bindeproteine (RBPs) binden mRNAs in jedem Schritt ihrer Lebensdauer, um jedes Transkript in zur gegebenen Zeit zu schützen, zu transportieren, zu translatieren oder abzubauen. Diese Messenger-Ribonukleoprotein (mRNP) Partikel ändern sich nicht nur ständig um sich anzupassen, um die korrekte Regulation zu ermöglichen, sondern unterstützen auch die Bildung verschiedener membranloser mRNP Partikel. Das zytoplasmatische RBP-Clustered-Mitochondria-Homolog (CLUH) bindet eine spezielle Gruppe von mRNAs, die für NEMPs kodieren. In Abwesenheit von CLUH ist die Stabilität mehrerer dieser Ziel-mRNAs verringert. Es blieb jedoch unklar, ob CLUH den mRNA-Zerfall direkt hemmt oder eine Rolle bei der Förderung der Translation seiner Ziel-mRNA spielt. Hier zeige ich, dass CLUH an der Translation seiner Ziel-mRNAs beteiligt ist und in Polysomen gefunden werden kann. Darüber hinaus bildet CLUH spezielle Partikel unter spezifischem mitochondrialem Stress, der die oxidative Phosphorylierung (OXPHOS) und die ATP Produktion beeinträchtigt. Bemerkenswerterweise enthalten diese Granulate G3BP1, einen Marker für Stress Granulate (SGs), jedoch unterscheiden sie sich von SGs, da sie gegen die Behandlung mit Cycloheximid resistent sind und Bestandteile der großen ribosomalen Untereinheit enthalten. Darüber hinaus zeigten Pulldown-Experimente gefolgt von Massenspektrometrie, dass CLUH mit Proteinen interagiert, die sowohl unter basalen als auch unter mitochondrialen Stressbedingungen eine Rolle upstream oder downstream des mTORC1-Signalwegs spielen. Die Aktivierung von mTORC1 durch Insulinbehandlung führt auch zu einer CLUH-Granulatbildung, die eine hohe Dynamik zeigen. Zusammenfassend legen diese Daten eine Verbindung zwischen CLUH und der mTORC1-Signalübertragung und eine mögliche Rolle von CLUH-Granulaten für die Kompartimentierung der Translation von NEMPs kodierenden mRNAs nahe.