

Title	eRF1 methylation by HemK2 modulates protein synthesis and mRNA stability during <i>Drosophila</i> oogenesis.
Author(s)	Xu, Fengmei
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/93004">https://hdl.handle.net/11094/93004</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

## Abstract of Thesis

Name ( Fengmei Xu )

Title

eRF1 methylation by HemK2 modulates protein synthesis and mRNA stability during *Drosophila* oogenesis.  
(HemK2は、eRF1をメチル化し、タンパク質合成とmRNAの安定性を保証することによって、ショウジョウバエの卵発生を促進する)。

## Abstract of Thesis

HemK2 is a well-conserved methyltransferase from yeast to human, and three potential substrates, DNA N6-adenine (6mA), histone H4 and eRF1 (eukaryotic translation release factor 1), have been reported. Yet genuine substrates remain controversial, and its biological significance in the higher organism is elusive. In this study, we report HemK2 functions for eRF1 methylation, which is required for female germline development, controlling oogenesis in *Drosophila melanogaster*. Germline-knockdown of *hemk2* (*hemk2*-GLKD) caused DNA double-strand break (DSB), upregulation of p53 gene, and massive apoptosis in germline cells, leading to developmental arrest in the mid-oogenesis and female sterility. Upon *hemk2*-GLKD, the patterns of 6mA and its modification level and histone H4 methylation remained unaffected, while eRF1 methylation was significantly reduced. In addition, overexpression of eRF1 methylation-deficient transgene phenocopied the defects of *hemk2*-GLKD, suggesting that *hemk2* functions for the eRF1 protein methylation, but not for histone methylation or 6mA on DNA. HPG (L-homopropargylglycine) protein synthesis assay revealed that *hemk2*-GLKD caused massive reduction of translational efficiency, possibly by perturbation of efficient releasing of synthesized peptides at the stop codons. Concomitantly *hemk2*-GLKD caused severe reduction of mRNAs which were actively translated in the mid oogenesis. Those defects in *hemk2*-GLKD were rescued by blockade of the no-go decay (NGD) pathway but not by that of other degradation pathways. In addition, *hemk2* knockdown resulted in ubiquitination of ribosomal proteins, RpS3 and RpS20, in S2 cells.

Taken together, these results suggested that perturbation of peptide release resulted in the ribosome-associated quality control and NGD, possibly by the ribosome stalling. Furthermore, we are examining whether eRF1 methylation by HemK2 can be controlled by an environmental factor which enhances oogenesis. We propose that eRF1 methylation by HemK2 is required for both the efficient protein production and mRNA stability, modulating the gene expression to ensure *Drosophila* oogenesis, possibly by an environmental factor.

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 ( Fengmei Xu )			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教授	甲斐 歳恵
	副 査	教授	廣瀬 哲郎
	副 査	教授	池田 史代
	副 査	准教授	岡本 浩二
<b>論文審査の結果の要旨</b>			
<p>HemK2は酵母からヒトまでに広く保存されたメチルトランスフェラーゼであり、DNA N6-アデニン (6mA)、ヒストンH4、およびeRF1 (真核生物の翻訳解除因子1) の3つの潜在的な基質が報告されていた。しかし、本物の基質や高等生物における生物学的な意義は不明であった。本研究では、キイロショウジョウバエの卵発生に必要なeRF1のメチル化酵素としてのHemK2の機能を解析した。HemK2の生殖細胞でのノックダウン (hemk2-GLKD) によって卵発生不全となり、雌は不妊となる。その際、6mAおよびその修飾レベル、およびヒストンH4のメチル化パターンに影響はなかったが、eRF1のメチル化は有意に減少したことから、hemk2はeRF1タンパク質のメチル化に機能することが示された。また、HPG (L-ホモプロピオン酸グリシン) タンパク質合成アッセイにより、hemk2-GLKDではタンパク質合成が妨げられていること、さらに卵形成時に活発に翻訳されるmRNAが顕著に減少していること、またこれらの表現型は、no-go decay (NGD) 経路の阻害によって回復した。さらに、hemk2のノックダウンは、S2細胞中のリボソームタンパク質RpS3およびRpS20のユビキチン化を引き起こした。これらの結果から、eRF1のメチル化の低下が効率的な翻訳集結を妨げ、結果としてmRNAの分解を引き起こしていることが明らかとなった。本研究成果は、生体内でのeRF1のメチル化が組織の恒常性の維持に重要であることを示すものであり、その分子機構を明らかにしたもので、今後1ヶ月以内に国際ピアレビュージャーナルに投稿予定で、十分に博士論文に値する業績だと考える。以上のことから、博士の学位を授与するに値するものと認める。なお、チェックツール“iThenticate”を使用し、剽窃、引用漏れ、二重投稿等のチェックを終えていることを申し添えます。</p>			