

Christine Bongards: Suche nach einem limitierenden Faktor der aktivierten Transkription in *Saccharomyces cerevisiae* mit Hilfe des "Split-Ubiquitin"-Systems. 2002

Diese Arbeit untersucht die Rolle von Tbp1 in der Aktivierung der Transkription der GAL-Gene durch Gal4p und der des HIS3-Gens durch Gcn4p mit Hilfe von aus der Literatur bekannten TBP1-Mutationen. Es konnte gezeigt werden, daß Tbp1 nicht der limitierende Faktor der aktivierten Transkription ist, da die Tbp1-Mutante I143N, die nicht mehr mit Gal4p interagiert, immer noch eine intakte Transkription der GAL-Gene aufweist. Ferner zeigt der Aktivator Gcn4p keinerlei Interaktion mit Tbp1, jedoch hat die Tbp1-Mutante E186D Effekte auf die Aktivierung von HIS3. Mit einer aktiven N_{ub}-Gal4p-Fusion wurde mit Hilfe des "Split-Ubiquitin-Assays" nach Gal4p-Ziel-Proteinen im Holoenzym gesucht, um Alternativen für einen limitierenden Faktor zu finden. Nur vier Zielproteine, die im Mediator lokalisiert sind, waren in der Lage, zwischen der aktiven N_{ub}-Gal4p- und der inaktiven Gal4p-C_{ub}-RUra3p-Fusion zu unterscheiden. Für zwei, Gal11p und Srb8p konnte ebenfalls eine Interaktion mit dem Aktivator Gcn4p gezeigt werden. Der GAL11-Deletionsstamm, nicht aber der SRB8-Deletionsstamm, zeigt einen Gal--Phänotyp und einen Defekt in der HIS3-Expression. Daher wird Gal11p als limitierender Faktor vorgeschlagen.

This study examines the role of Tbp1 in the activation of transcription of the GAL genes by Gal4p, and the HIS3 gene by Gcn4p, with the aid of TBP1 mutations known from literature. It is shown that Tbp1 is not the limiting factor recruited to the promoter by Gal4p, because the Tbp1 mutant I143N, which is no longer able to interact with Gal4p, still shows intact transcription of the GAL genes. The activator Gcn4p shows no interaction with Tbp1, yet the Tbp1 mutant E186D has effects on HIS3 activation. Target proteins of Gal4p in the holoenzyme as alternatives for the limiting factor were searched for with the aid of the split-ubiquitin-assay, using an active N_{ub}-Gal4(1-100+840-881)p fusion. Only four target proteins localized in the mediator, were able to distinguish between the active N_{ub}-Gal4(1-100+840-881)p and the inactive Gal4(1-100+840-881)-C_{ub}-RUra3p fusion. For two of these, Gal11p and Srb8p, an interaction with the weaker activator Gcn4p could also be shown. The GAL11- but not the SRB8-deletion strain displays a Gal- phenotype and a defect in HIS3 expression. Therefore Gal11p is suggested to be the limiting factor.