

Hefezellen – ein gutes und klares Modell für höhere Zellen

Thomas Dandekar, EMBL, Heidelberg

Die »15th International Conference on Yeast Genetics and Molecular Biology« versuchte nichts weniger, als einen kompletten Überblick über alle grundsätzlichen Vorgänge in Eukaryonten (Zellen mit Zellkern) zu geben: Hefezellen, noch recht einfache und schnell wachsende Zellen, sind zum Standardmodell für alle höheren Eukaryonten geworden.

Auf Einladung von Rudi Planta (Kongreßleitung, Universität Amsterdam) zeigten dann Gerald Schatz (Basel) für den mitochondrialen Proteinimport, Paul Nurse (Oxford) am Zellzyklus und Lenny Guarente (Cambridge, MA) an der Transkription diese Modellfunktion auf. Besonders beeindruckend ist der Zellzyklus, den Paul Nurse in *Schizosaccharomyces pombe* untersucht. Ein faszinierendes Netz von sich gegenseitig regulierenden Proteinkinasen (*wee1*, *cdc25*, *cdc13* usw.) wird sichtbar, bis das Schlüsselgen *cdc2* den Befehl zum

»Start«, zur DNA-Verdoppelung, gibt oder später dann zur Mitose. Analoge menschliche Gene können durch Komplementierung von mutierten Hefezellen, denen ein funktionsfähiges eigenes Gen fehlt, identifiziert werden. So grundsätzliche Fragen, wie und warum sich Krebszellen immer weiter teilen oder gesunde alte Zellen nicht mehr, können damit ihrer Lösung näher gebracht werden.

Steven Oliver (Manchester) konnte einen ersten Erfolg über die Genomsequenzierung der Laborhefe (*Saccharomyces cerevisiae*) melden, die vollständige Sequenz des (relativ kleinen) Chromosomes III wird zum Jahresende publiziert werden. Aber es wurde auch klar, wieviel schwieriger es sein wird, etwa das gesamte menschliche Genom sequenzieren zu wollen.

Obwohl Einzeller, differenzieren sich Hefen in α - und α -Zellen (und noch nicht in männlich und weiblich):

über die Regulation dieses kleinen Unterschieds referierte Beverly Errede (University of North Carolina) und über die nach der Vereinigung von haploiden α - und α -Zellen erfolgende Meiose Yona Kassir (Jerusalem).

Nach den Plenarvorträgen gab es an jedem Tag Postersessions zu mehreren Themen, in denen viele Arbeitsgruppen ihre Ergebnisse vorstellten. Am Abend wurden dann in Workshops diese Themen im kleineren Kreis in eigenen Arbeitsräumen weiter erörtert. Besonders wichtig war hierbei für mich der Workshop über RNA processing und die namensgleiche zweitägige Postersession, die mir beide gute Gelegenheiten gaben, meine Ergebnisse (vgl. *Abstract*) vorzustellen und mit den Spezialisten auf dem Gebiet zu diskutieren. Interessante Ergebnisse über Splicing in Hefezellen boten unter anderem auch Lothar Krinke (Caltech, Pasadena)

mit einem In-vitro-Extrakt aus Hefezellen, mit dem sich U5-RNA und ihre Komplementierung durch Mutanten testen läßt, und R. J. Lin (Austin, Texas), der komplette RNA-Splicing-Komplexe durch temperatursensitive Hefezellen (prp2-Mutanten) isolieren konnte. Mit diesen und ähnlichen Versuchen kann man nach und nach alle Splicing-Komponenten analysieren und damit verstehen, wie der Zellkern bestimmte RNA behält (introns), andere aber als Information an die Zelle weitergibt (exons).

Ein Abschnitt der Tagung befaßte sich mit nukleärer Dynamik. Eduard Hurt (EMBL, Heidelberg) hielt einen Vortrag über Zellporen. Susanne Gassner (Epalignes, Schweiz) zeigte das wichtige Ergebnis, daß DNA an denselben Stellen, an denen die Replikation beginnt (ARS-Sequenz), auch verankert ist (SAR-Region). Virginia Zakian (Washington) sprach über chromosomale Aktivität; sie beschrieb Effekte der Telomere an den Chromosomenenden auf die Genexpression.

Mark Johnston (Washington) fand neue Einzelheiten über das Gal4-Protein (Zink-Kleeblattstruktur, kein einfacher Zinkfinger) und seine Bindung oberhalb des Gal1-Promotors: Für die scheinbar einfache Entscheidung der Zelle, Glukose oder Galaktose als Zucker zu verwenden, findet sich ein ganzes Entscheidungs-Netzwerk von Genen, deren Proteine sich entweder direkt an DNA oberhalb des Gal1-Genes binden oder mittelbar wirken, zum Beispiel über Kontrollregionen oberhalb des Gal4-Genes.

An einem Abend gab es außerdem einen offiziellen Empfang der Stadt Den Haag für die Kongreßteilnehmer, der dadurch verblüffte, daß nach einer kurzen offiziellen Ansprache die Kongreßteilnehmer eingeladen wurden, das »Museon« der Stadt Den Haag zu besichtigen. Ähnlich dem Deutschen Museum in München wird hier versucht, Naturwissenschaften sehr anschaulich und lehrreich durch viele Exponate dem Betrachter näher zu bringen – eine ganz entspannende Abwechslung nach den vielen Vorträgen. Am folgenden Tag wurde über Proteinsekretion gesprochen: Interessant war vor allem der Vortrag von Nathaniel Green (aus der Gruppe von Peter Walter, San Francisco). Er wußte zu berichten, daß auch die Hefezellen wahrscheinlich ein signal recognition

particle besitzen und damit Proteine erkennen können, die segregiert werden sollen. Da unsere Arbeitsgruppe (Veronique Ribes et al.) zu ganz ähnlichen Ergebnissen kommt, ist das eine Bestätigung und ein Ansporn zugleich.

Es folgten Vorträge über den Prozessierungsweg der ribosomalen RNA (Hans Raué, Amsterdam), autokatalytische mitochondriale RNA (Rudolf Schweyen, Wien) und schließlich Ubiquitin (Stefan Jentsch, Tübingen). Jentsch und seiner Arbeitsgruppe gelang es, Proteine zu identifizieren, die Ubiquitin unter Hitze oder Schadenseinwirkung beschleunigt an beschädigte Proteine heften, damit diese schneller erkannt und abgebaut werden. Den Abschluß bildet ein weiterer Tagungsteil über posttranskriptionale Kontrolle, wobei der Vortrag von Alan Hinnebusch (NIH, Bethesda) über GCN4 bestach, einem generellen Aktivator für die Aminosäuresynthese. Wieder wurde ein fein abgestimmtes Spiel von Regulatoren deutlich, da dieser Aktivator auf das Fehlen jeder Aminosäure anspricht und ihre Synthese anregt. Mehrere originale Schaltmechanismen konnten aufgeklärt werden, z. B. springt das Ribosom auf das GCN4-Startsignal nur dann kurz genug (von einem AUG zum nächsten), um das GCN4-Protein von der RNA synthetisieren zu können, wenn ein Mangel an Initiationsfaktoren da ist und damit auch tatsächlich ein Nährstoffmangel vorliegt.

Die Kongreßbeiträge ergaben insgesamt ein Bild von einer durchaus komplexen, aber trotzdem doch recht wohlgeordneten und subtil geregelten Hefezelle, die glücklicherweise noch nicht so komplex ist, wie das Vorbild, was man damit einfacher verstehen möchte, nämlich die höheren und damit die menschlichen Zellen.

Funktional Studies in Small Nuclear Ribonucleoprotein Particles

Thomas Dandekar and David Tollervey

We previously reported (1) the cloning of the genes for small nuclear RNAs U1, U2, U3, U4, U6, U43 and some lower abundant species from the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. The cloned small nuclear RNAs from *S. pombe* display high primary and secondary structure homology to their vertebrate counterparts,

the associated proteins have conserved epitopes and are precipitated by human autoimmune antisera in a pattern similar to human snRNPs.

The downstream sequences around the genes *snu1*, *snu2*, *snu3*, *snu4* encoding U1, U2, U3 and U4 indicate a common termination motif.

Alignment of the 5' flanking regions of *snu1*, *snu2*, *snu3* and *snu4* from *S. pombe* does not show structures similar to other snRNA promoter elements such as the downstream sequence element (DSE) or proximal sequence element (PSE), but instead the only conserved region between the four snRNAs is around the »TATA« box. This is probably not a normal TATA box homology as flanking nucleotides are also conserved.

The upstream region of *S. pombe snu2* was investigated in more detail and a series of nested deletions made in the 5' flank of the gene. Surprisingly the TATA region (starting at bp -34) is sufficient for correct initiation. We believe this to be the smallest known 5' flanking region sufficient for the transcription of a polymerase II gene.

For U4 a mutagenesis study was carried out by plasmid shuttling:

A gene disrupted haploid strain is kept viable by the wild-type gene on a plasmid (with the URA4 marker) and then a second plasmid (with the SUP3-5 marker) with a mutated version is transformed in to investigate whether the wildtype plasmid now can be lost (»shuttled out«). Our results identify the essential Sm-site in *S. pombe* U4 and show that a potential alternative site is unessential. The single stranded region between the Sm-site and the U4/U6 interaction domain is an essential region although it does not interact directly with U6. Also the highly conserved loop II of the model for free U4 after Rinke et al. (2) is an essential structure for *S. pombe* U4. Surprisingly, preliminary results indicate that unessential mutations in the 3' stem region of the Y-region of the U4/U6 interaction domain (3) can be obtained for *S. pombe* U4. However, the 5' region of the Y structure in *S. pombe* U4 is essential.

1 Dandekar, T. & Tollervey D. (1989) *Gene*, 81, 27-235

2 Rinke J., Appel B., Digweed M. & Lüthmann R. (1985) *J. Mol. Biol.* 185, 721-731

3 Brow D. & Guthrie C. (1988) *Nature*, 334, 213-218