

DISS. ETH Nr. 6843

BIOSYNTHESE und AMINOACYLIERUNG

von TRANSFER - RNA

in *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

ABHANDLUNG

zur Erlangung des Titels eines

Doktors der Naturwissenschaften

der

EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE

ZÜRICH

vorgelegt von

PETER STÄHELI

dipl. Natw. ETH

geboren am 21. März 1953

von Amriswil und Salmsach (Kt. Thurgau)

Angenommen auf Antrag von

Prof. Dr. R. Hütter, Referent

Prof. Dr. Th. Leisinger, Korreferent

ZUSAMMENFASSUNG

Die Rolle der Transfer-RNA (tRNA) in der allgemeinen Kontrolle der Aminosäure-Biosynthese in *Saccharomyces cerevisiae* wurde untersucht.

Wachstumshemmungen, welche durch Limitierung verschiedener Aminosäuren oder durch Hemmung der Aktivität der Tryptophanyl-tRNA Synthetase erzielt wurden, setzten das Regulationssystem der allgemeinen Kontrolle der Aminosäure-Biosynthese in Gang. Unter allen diesen Bedingungen waren die den betroffenen Aminosäure-Biosynthesewegen zugehörnden tRNAs nur mangelhaft aminoacyliert. Je stärker die Limitierung war, desto stärker war der tRNA-Beladungsgrad erniedrigt. Bei tRNAs mit mehreren Isoakzeptoren betraf diese Beladungsgrad-Erniedrigung alle Isoakzeptoren etwa gleich stark. Erniedrigter tRNA-Beladungsgrad scheint der Zelle als Primärsignal zur Auslösung der allgemeinen Kontrolle der Aminosäure-Biosynthese zu dienen.

Bei Wachstum unter Tryptophanmangel akkumulierte eine tRNA^{Trp}-Spezies, welche an der Position 17 der Primärsequenz ein unmodifiziertes Guanodin anstelle der Base 2'-O-Methylguanodin besass. Diese unvollständig modifizierte tRNA^{Trp}-Isospezies akkumulierte ausschliesslich unter Wachstumsbedingungen, welche die ausreichende Beladung der tRNA^{Trp} verunmöglichten. Erst nach dem Aufheben des Tryptophanmangels wurde sie in die normale tRNA^{Trp}-Spezies umgewandelt. Möglicherweise kann die Modifikation des Guanodins in Position 17 zu 2'-O-Methylguanodin nur am beladenen tRNA^{Trp}-Molekül ausgeführt werden.

Die unvollständig modifizierte Isospezies zeigte normale Aminoacylierungs-Eigenschaften; ihre Beladung war während Tryptophanmangel gleich stark reduziert, wie jene der normalen tRNA^{Trp}-Spezies. Es ist noch unklar, ob der unvollständig modifizierten tRNA^{Trp}-Spezies eine regulatorische Aufgabe in der allgemeinen Kontrolle der Aminosäure-Biosynthese zufällt. Eine hypothetische Rolle dieser Isospezies als Sekundärsignal für Tryptophanmangel wird diskutiert.

SUMMARY

The role of transfer RNA (tRNA) in the regulatory system of *Saccharomyces cerevisiae*, called the general control of amino acid biosynthesis, was examined.

Growth inhibition, introduced by several amino acid limitations or by inhibition of the activity of tryptophanyl-tRNA synthetase, turned on the general control of amino acid biosynthesis. During limited amino acid growth conditions the cognate tRNAs were only poorly aminoacylated thus indicating, that decreased tRNA charging most likely was the primary signal of the general control of amino acid biosynthesis.

During tryptophan limited growth a new tRNA^{Trp} isospecies accumulated that had an unmodified guanosine at position 17 of the primary sequence instead of the base 2'-O-methylguanosine. This incompletely modified tRNA^{Trp} isospecies accumulated exclusively during growth conditions that prevented normal tRNA^{Trp} charging. It was converted to the normal tRNA^{Trp} species after supplementation of the growth medium with tryptophan. Most probably, the 2'-O-methylguanosine modification at position 17 could only be introduced after this molecule had been charged with tryptophan.

The incompletely modified tRNA^{Trp} isospecies showed normal aminoacylation properties. Its charging level was decreased during tryptophan shortage to the same extent as that of the normal species. It is still unknown whether the incompletely modified tRNA^{Trp} species plays a regulatory role in the general control of amino acid biosynthesis.