

ANGEWANDTE CHEMIE

84. Jahrgang 1972
Heft 20
Seite 961–1000

Die Transkription der genetischen Information und ihre Regulation durch Proteinfaktoren

Von Wolfgang Rüger^[*]

Unter der Transkription der genetischen Information versteht man die Übertragung der genetischen Information von der DNA auf mRNA, die von der DNA-abhängigen RNA-Polymerase katalysiert wird. Die Transkription umfaßt die Bindung der RNA-Polymerase an die DNA, die Initiation, die Elongation und die Termination. Am Beispiel von Bakterien und Bakteriophagen wird gezeigt, daß die Transkription durch ein Wechselspiel von positiven und negativen Kontrollelementen reguliert wird.

1. Einführung

Bei allen Lebewesen, RNA-Viren ausgenommen, ist die genetische Information in der DNA niedergelegt. Sie bestimmt die Aminosäuresequenzen der zellulären oder viralen Proteine. Dabei wird die Information nicht direkt von der DNA an die proteinsynthetisierenden Ribosomen weitergegeben, sondern die Basensequenz eines der beiden DNA-Stränge, des Lese- oder codogenen Stranges, wird abschnittweise und fehlerfrei auf ein Mittler-Molekül, die Messenger-RNA (mRNA), übertragen. Dadurch wird die mRNA ebenfalls Informationsträger. In jedem einzelnen Informationsabschnitt trägt jeweils nur einer der beiden DNA-Stränge die Information. Sie wird also asymmetrisch abgelesen. Zwei Gruppen von „Übersetzern“, die Transfer-Ribonucleinsäuren (tRNA) und die Aminoacyl-tRNA-Synthetasen, ordnen dann an den Ribosomen bestimmten Basensequenzen der mRNA bestimmte Aminosäuren zu. Den ersten Schritt der Informationsübertragung (DNA → mRNA) nennt man, da der genetische Code beibehalten wird, Transkription, den zweiten (mRNA → Protein) Translation.

Das Enzym, das die Synthese aller RNA an der DNA katalysiert, ist die DNA-abhängige RNA-Polymerase. Die Transkription eines Genoms wird durch ein Zusammenwirken dieser Polymerase mit positiven und negativen Kontrollelementen, vielfach Proteinen, reguliert. Positive Kontrollelemente ermöglichen die Transkription, negative verhindern sie. Aufgrund der Regulation liegt je nach Umweltbedingungen immer nur ein Teil aller möglichen Transkriptionsprodukte in der Zelle vor.

Im Verlauf der Transkription lassen sich folgende Schritte unterscheiden:

1. Die Bindung der RNA-Polymerase an die DNA.
2. Die Initiation: Eine Reihe von Ereignissen, die schließlich zur Bildung der ersten Phosphodiesterbindung führen.
3. Die Elongation: Die Verlängerung der RNA-Kette durch Anbau neuer Nucleotide an das wachsende Polynucleotid, nach dem Modell von Watson und Crick komplementär zur Basenfolge des Lesestranges. Zugleich muß sich das Enzym am DNA-Strang entlang bewegen, und das zuletzt angebaute Nucleotid muß von der hypothetischen Substratbindestelle zur hypothetischen Produktbindestelle des Enzyms umgelagert werden (Translokation), um die Bindung neuer Substratmoleküle zu ermöglichen (Abb. 1).

[*] Priv.-Doz. Dr. W. Rüger
Lehrstuhl für Biologie der Mikroorganismen, Universität Bochum
4630 Bochum-Querenburg, Postfach 2148

4. Die Termination: Der Abschluß der RNA-Synthese nach der Transkription eines definierten Abschnittes der genetischen Information. Dieser letzte Schritt schließt ein
a) das Erkennen eines „Endsignals“ für die Transkription eines Genomabschnittes, b) die Freigabe des synthetisierten Polynukleotids aus dem Transkriptionskomplex von DNA, Enzym, Triphosphaten und RNA und c) das Lösen der RNA-Polymerase von der DNA.

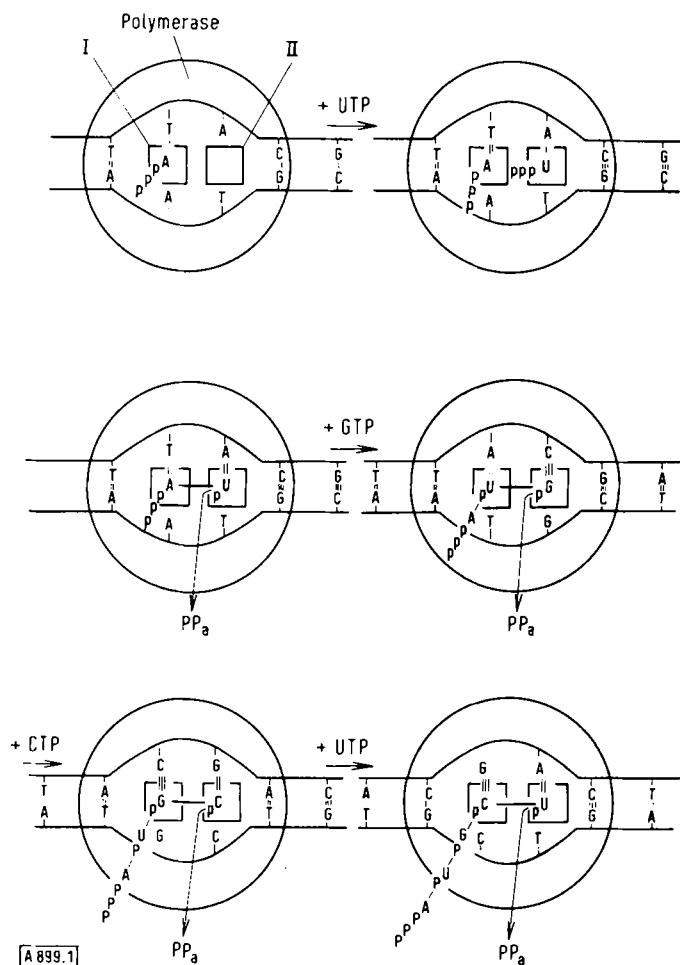


Abb. 1. RNA-Synthese durch die DNA-abhängige RNA-Polymerase an einer doppelsträngigen DNA-Matrize. Oben: Lesestrang. I = Produktbindestelle; II = Substratbindestelle; A = Adenin, T = Thymin, G = Guanin, C = Cytosin, U = Uracil, p = Phosphatrest, PP_a = Di-phosphat.

RNA-Polymerase ist schon aus vielen Organismen isoliert worden, doch wurde die aus *E. coli* am weitesten gereinigt und am intensivsten studiert^[1-3].

2. Die DNA-abhängige RNA-Polymerase

Die RNA-Polymerase aus *E. coli* besteht aus mehreren Untereinheiten. In Gegenwart von Natriumdodecylsulfat oder Harnstoff lassen sie sich in Polyacrylamidgelen, auch ohne vorherige reduktive Aufspaltung von Disulfidbrücken, elektrophoretisch trennen. Das Enzym setzt sich aus je einer β' - (MG 165000), einer β - (MG 155000) und zwei

α -Untereinheiten (MG 40000) zusammen^[4, 5] und wird in dieser Anordnung als Core-Enzym bezeichnet. Eine weitere Untereinheit ist der σ -Faktor^[6], ein Polypeptid (MG 95000), das eng an das Core-Enzym gebunden ist, aber während der Transkription abgespalten wird und dann von einem anderen Molekül Core-Enzym gebunden werden kann^[7]. Diese Form der Polymerase, $(\beta' \beta 2\alpha)\sigma$, wird „Holoenzym“ genannt. Außerdem findet man noch eine kleine Polypeptidkette ω (MG 9000), jedoch ist bisher nicht entschieden, ob dieses Protein eine Enzymkomponente (eventuell mit regulativer Wirkung) ist oder eine an das Enzym gebundene Verunreinigung.

Durch Ultrazentrifugation in Sucrose-Gradienten, in Gegenwart von 3 mol/l LiCl oder durch Elektrophorese auf Celluloseacetat-Blöcken lassen sich die Untereinheiten präparativ trennen. Sie können zum aktiven Enzym reassoziert werden. Diese Technik^[8, 9] ermöglichte es, die Untereinheiten getrennt zu untersuchen und Rückschlüsse auf ihre Funktion zu ziehen.

Der α -freie Komplex $\beta\beta'$ bindet sich sehr stark an Phosphatgruppen^[4] und an DNA^[8]. Wird das Holoenzym mit überschüssiger DNA durch Ultrazentrifugation sedimentiert, dann bleibt im Überstand nur etwas Protein. Da es lediglich die Polypeptide α und β enthält, handelt es sich wahrscheinlich um Enzymmoleküle ohne β' -Untereinheit, die nicht an die DNA gebunden werden können. Dieser Befund, der vergleichsweise hohe isoelektrische Punkt der β -Untereinheit (zwischen pH = 8 und 9) und die Reaktion der β -Einheit mit Heparin, das die DNA aus einem DNA-Enzym-Komplex kompetitiv verdrängen kann, lassen vermuten, daß die β -Untereinheit für die Bindung des Enzyms an die DNA verantwortlich ist^[10].

Reassoziert man die Untereinheiten von Wildtyp-Polymerase mit Untereinheiten von Mutanten-Polymerasen, die resistent sind gegen die Antibiotika Rifampicin^[11] oder Streptolydigin^[12], bewirkt allein der Austausch der β -Untereinheit die Änderung im Resistenzverhalten des Holoenzymes^[9]. Da Rifampicin die Initiation der RNA-Synthese hemmt^[13] und Streptolydigin die Translokation^[11, 14], wurde geschlossen, daß die β -Einheit sowohl an der Initiation als auch an der Translokation beteiligt ist. Außerdem bindet die β -Untereinheit das α - und σ -Polypeptid^[10].

Über die Funktion der Untereinheit α ist bisher nichts bekannt. Sicherlich brauchen die Polypeptidketten der Polymerase, um ihre Funktionen optimal zu erfüllen, eine bestimmte räumliche Anordnung. Vielleicht werden die beiden kleinen α -Ketten für diese Aufgabe benötigt.

Der σ -Faktor ist an der Initiation der RNA-Synthese beteiligt^[7] und ist eines der Proteine, welche die Transkription regulieren. Seine Funktion wird später diskutiert.

Die ω -Polypeptidkette wurde bisher nicht näher charakterisiert.

Die RNA-Polymerasen anderer Bakterien sind, soweit untersucht, ähnlich aufgebaut^[15-17]. Obwohl das Enzym erstmals in Zellkernen der Rattenleber nachgewiesen wurde^[18], sind die RNA-Polymerasen aus höheren Organismen noch nicht so gut charakterisiert. Da diese Enzyme meist schwer vom Nucleoprotein der Zellen zu trennen

und überdies wenig stabil sind, ist die Reindarstellung in genügenden Mengen sehr viel schwieriger. Die Polymerasen der höheren Organismen bestehen ebenfalls aus mehreren Untereinheiten, die sich von denen der bakteriellen Enzyme aber in der Verteilung der Molekulargewichte unterscheiden^[19–21].

3. Die Transkription

3.1. Bindung der RNA-Polymerase an die DNA

Die Bindung der RNA-Polymerase an die DNA ist *in vitro* schon weniger als 15 s nach Zugabe der Polymerase zur DNA zu beobachten^[22]. Sie ist abhängig von der Ionenstärke und dem pH-Wert, benötigt aber keine zweiwertigen Kationen (Mg^{2+}) und keine Nucleosidtriphosphate und erfolgt selbst noch bei 0°C. Bei niedrigen Ionenstärken ($\mu \leq 0.05$) ist die Reaktion unspezifisch und reversibel: Die DNA kann mit Polymerasemolekülen dicht besetzt werden^[23, 24], jedoch wird schon gebundenes Enzym wieder gegen neues Enzym ausgetauscht oder verbindet sich mit anderen DNA-Molekülen^[25]. Diese Reaktionen sind sowohl an einzelsträngiger als auch an doppelsträngiger DNA zu beobachten. Erhöht man die Ionenstärke (μ zwischen 0.1 und 0.2), dann wird die Polymerase von doppelsträngiger DNA nur noch an einigen wenigen Stellen gebunden, d.h. die Bindung ist wahrscheinlich spezifisch^[23]. Oberhalb 20°C und in Gegenwart des σ -Faktors dissoziert der Enzym-DNA-Komplex nicht mehr^[10, 26]: Er ist resistent gegen die Wirkung von Heparin und Rifampicin^[27].

Da freie Polymerase durch Heparin und Rifampicin sofort inaktiviert wird, beweist die Resistenz des Komplexes, daß die Polymerase vom Zeitpunkt der Bindung an die DNA bis zur Initiation und Synthese der RNA-Kette die DNA nicht mehr verläßt. Die Bindestellen müssen also nahe an den „Startsignalen“ für die Transkription liegen oder mit ihnen identisch sein. Diese „Startsignale“ werden Promotoren genannt; an ihnen beginnt die Transkription eines Abschnittes der genetischen Information^[28].

Bisher ist nicht geklärt, ob die unspezifische Bindung der Polymerase an die DNA nur ein Artefakt der Experimente *in vitro* ist, oder ob es sich um eine notwendige Zwischenreaktion bei der Suche nach spezifischen Bindungsorten und bei der Bildung des stabilen Initiationskomplexes handelt. Kenntnisse über die Beschaffenheit dieser Bindestellen würden wesentlich dazu beitragen, den Vorgang der Transkription, besonders der Initiation, zu verstehen.

Erkennt die RNA-Polymerase eine Folge von Basensequenzen oder sind die Promotoren Stellen auf der DNA mit einer besonderen Sekundärstruktur? Die charakteristischen Gruppen der vier Basen – die N-1- und die C-6-Positionen im Falle des Adenin-Thymin-Paares und zusätzlich die C-2-Position im Falle des Guanin-Cytosin-Paares – sind für das Enzym schwer zugänglich, weil sie entweder im Inneren der Doppelhelix liegen (N-1) oder die Substituenten an der Bildung der Wasserstoffbrücken beteiligt sind^[29]. Außerdem hält der Energiegewinn bei der Stapelung der Basen (stacking free energy)^[30] den Purin-Pyrimidin-Verband eng geschlossen. Hinzu kommt, daß

beispielsweise bei der DNA des Phagen T4 α - oder β -Glcosylreste, die am 5-Hydroxymethylcytosin sitzen, die Basen nach außen hin weiter abschirmen^[31]. Es ist also nicht vorstellbar, daß das Enzym ohne Öffnung der Helixstruktur Promoterstellen erkennt, die lediglich durch eine charakteristische Basenfolge determiniert sind.

In doppelsträngiger DNA stehen jedoch Folgen von zehn und mehr Pyrimidinen auf dem einen DNA-Strang komplementären Purinen auf dem anderen DNA-Strang gegenüber^[32, 33]. Solche Regionen haben eine andere Sekundärstruktur als diejenigen mit durchschnittlicher Basenzusammensetzung^[34]. Würde die RNA-Polymerase diese Regionen als Promotoren erkennen^[35], oder würden solche Regionen von der Polymerase als „Hinweis“ auf einen nahen Promoter erkannt, wäre gleichzeitig ein zweites Problem gelöst: die Auswahl des codogenen Stranges. *In vitro* ist tatsächlich der pyrimidinreiche Strang der Lesestrang^[36, 37].

Es sind auch andere Vorschläge zur Struktur von Promoterregionen gemacht worden^[38, 39]. Letztlich kann diese Frage aber nur gelöst werden, wenn es gelingt, die Promoterregionen zu isolieren und zu sequenzieren. Versuche in mehreren Laboratorien^[40] führten aber unter anderem wegen der geringen Stabilität des DNA-Enzym-Komplexes unter den angewendeten Bedingungen bisher noch nicht zum Erfolg.

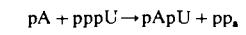
3.2. Initiation der Transkription

Unter dem Begriff Initiation versteht man all die Reaktionsschritte, die von der Bindung der Polymerase nahe bei oder an der Promoterregion zur Kondensation der ersten beiden Ribonucleotid-5'-triphosphate zu einem Dinucleotid führen. Das erste Nucleotid, mit dem ein von der RNA-Polymerase synthetisiertes mRNA-Molekül beginnt, ist immer ein Purin. Die 5'-Triphosphatgruppe des ersten Nucleotides bleibt erhalten. Das zweite Nucleotid einer mRNA-Kette ist vorzugsweise ein Pyrimidin^[42]. Die Reaktionen, die zur Initiation führen, wurden bisher noch nicht völlig aufgeklärt, jedoch gibt es eine Reihe von Befunden, die eine Vorstellung vom Ablauf der Ereignisse vermitteln:

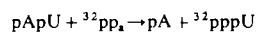
Native T4-DNA wird nur durch das Holoenzym transkribiert; der σ -Faktor ist also Voraussetzung für die RNA-Synthese an dieser doppelsträngigen DNA^[6]. Da einzelsträngige DNA oder ein Polymer aus alternierenden Adenyl- und Thymidylbausteinen^[43, 44] oder auch DNA mit Einzelstrangbrüchen^[45] durch das Core-Enzym transkribiert wird, braucht das Core-Enzym offenbar einzelsträngige oder teilweise einzelsträngige Strukturen, um die Reaktion zu umgehen, die vom σ -Faktor bei der Initiation der Transkription an doppelsträngiger DNA beeinflußt wird.

Für welche Reaktion ist der σ -Faktor also verantwortlich? Durch Untersuchung des Diphosphataustausches^[157], einer weiteren Reaktion, die von der Polymerase katalysiert wird, wurde gezeigt, daß der σ -Faktor irgendwann vor der Fertigstellung der ersten Phosphodiesterbindung wirkt^[46], mit der eigentlichen Synthese der Polynucleotidkette also nichts zu tun hat. Durch Hybridisationsexperimente (Abb. 2) wurde nachgewiesen, daß in Gegenwart des

σ -Faktors nur ganz bestimmte DNA-Regionen transkribiert werden^[47, 48]. Der σ -Faktor muß also eine Auswahl treffen, an welchen Promotoren die Transkription



Polymerisation



Phosphorolyse

initiiert wird und an welchen nicht. Da σ negativ geladen ist^[5] und selbst keine Affinität zur DNA hat, ist es unwahrscheinlich, daß dieses Polypeptid direkt an der Bindung des Enzyms an die DNA beteiligt ist. Vielmehr wird angenommen, daß σ die Affinität des Enzyms zu allen DNA-

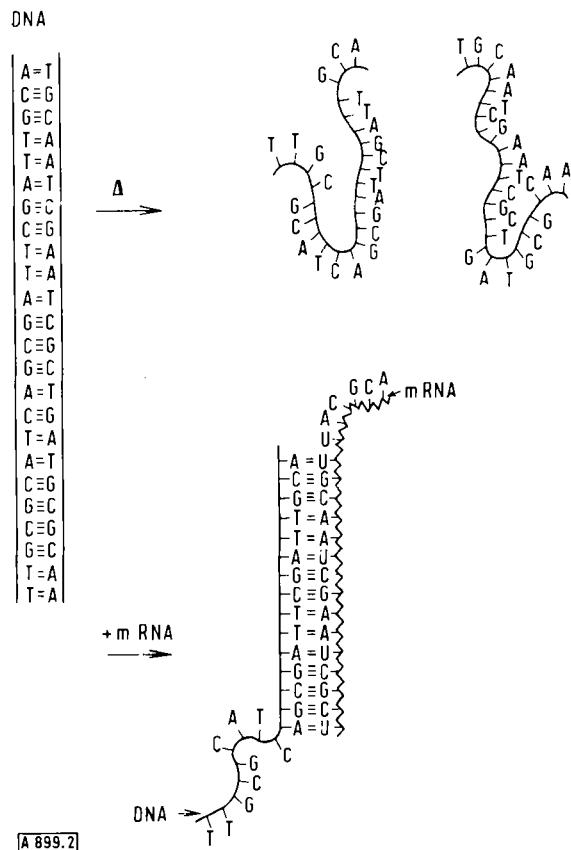


Abb. 2. Die Hybridisationstechnik [41] ist die wichtigste Methode zur Identifizierung von Transkriptionsprodukten. Sie beruht auf folgendem Prinzip: Erhitzt man doppelsträngige DNA, dann lösen sich die Wasserstoffbrücken zwischen den Nucleotidpaaren. Das doppelsträngige Molekül zerfällt in zwei Einzelstränge. Läßt man diese hitzenaturierte DNA langsam abkühlen, bilden sich wieder DNA-Doppelstrangmoleküle aus. Man kann verhindern, daß die DNA-Einzelstränge reagieren, indem man sie beispielsweise auf Nitrocellulose-Membranfiltern (DNA-Filter) fixiert. Inkubiert man diese DNA-Filter zusammen mit radioaktiv markierter mRNA, dann bilden sich DNA-RNA-Hybridmoleküle aus, vorausgesetzt, die mRNA wurde von der gleichen DNA transkribiert, die auf dem Filtern fixiert ist. Das Ausmaß der Hybridbildung ist an der auf dem Filter nachweisbaren Radioaktivität zu erkennen. Das Hybridmolekül ist stabil. Die Reaktion ist äußerst empfindlich und zeigt ein hohes Maß an Spezifität.

Regionen, ausgenommen zur Promoterregion^[49], allosterisch reduziert, z. B. durch eine Konformationsänderung der β' -Untereinheit. So könnte σ das Enzym vorzugsweise an die Promoterregionen „dirigieren“.

Die Initiation der RNA-Synthese an einer doppelsträngigen DNA in vitro schließt einen temperaturempfindlichen Vorgang ein, der bei 37°C schnell, bei 20°C aber nur zögernd abläuft^[50]. Da einerseits die Bindung der Polymerase an die DNA in Sekunden erfolgt und durch niedrige Temperaturen nicht wesentlich behindert wird, andererseits aber keine temperaturbedingte Verzögerung des Synthesebeginns beobachtet wird, wenn die Polymerase einzelsträngige DNA transkribiert, kann der temperaturempfindliche Vorgang als die lokale Öffnung der DNA-Doppelhelix interpretiert werden. Die Beobachtung, daß die RNA-Synthese auch bei 37°C verzögert wird, wenn man die Salzkonzentration erhöht, spricht für diese Interpretation, denn bekanntlich steigt die Schmelztemperatur doppelsträngiger DNA mit zunehmender Salzkonzentration.

Die lokale Öffnung der Promoterregion wäre die Reaktion, die bei der Transkription einzelsträngiger DNA nicht notwendig würde. Somit kann auch das Core-Enzym diese Matrize transkribieren.

Damit gibt es wenigstens zwei Reaktionsschritte im Verlauf der Initiation der mRNA-Synthese, die vom σ -Faktor katalysiert werden können. Sein Einfluß auf die Auswahl der Promotoren ist erwiesen. Dieser Punkt ist für die Regulation der Transkription von Bedeutung und wird später noch einmal diskutiert. Die Öffnung der Promoterstruktur als Funktion des σ -Faktors bleibt noch zu beweisen: Obwohl gezeigt werden kann, daß die DNA-Doppelhelix im Verlauf der Transkription geöffnet wird^[51], ließ sich dieser Vorgang an einem DNA-Enzym-Komplex ohne Nucleosidtriphosphate bisher nicht messen; vielleicht ist die Störung der DNA-Struktur durch die Öffnung des Promoters ohne die aktive Transkription zu gering.

Während oder kurz nach der Initiation wird der σ -Faktor aus dem Holoenzym entlassen und kann zusammen mit einem anderen Molekül Core-Enzym die Synthese einer neuen RNA-Kette initiieren^[7]. Das scheint auch *in vivo* der Fall zu sein, denn in einem vorsichtig isolierten Komplex aus DNA und RNA-Polymerase, der gerade transkribiert, wird kein σ -Faktor gefunden^[52]. Zur Elongation des Polynukleotids wird der Faktor nicht mehr benötigt^[53].

Wie kommt es, daß der σ -Faktor aus dem Initiationskomplex freigesetzt wird? Es ist bekannt, daß dazu wenigstens eine kurze RNA-Kette, vielleicht aus weniger als sechs Nucleotiden, synthetisiert werden muß^[54]. Um diesen Befund zu erklären, wurde vorgeschlagen, daß der σ -Faktor nahe der Produktbindestelle an das Enzym gebunden ist. Diese wird im Initiationsprozeß nahe der Promoterregion in Position gebracht. Wird nun eine RNA-Kette synthetisiert und in den Transkriptionskomplex aufgenommen, kann sich dadurch die sterische Anordnung des Enzyms entweder rein mechanisch, oder auch induziert durch eine neue Ladungsverteilung, derart ändern, daß der σ -Faktor freigesetzt wird.

Der Ablauf der Ereignisse, die von der freien Polymerase und DNA über die Bindung der beiden Komponenten schließlich zur Initiation führen, ist (in Anlehnung an^[10]) in Abbildung 3 schematisch dargestellt.

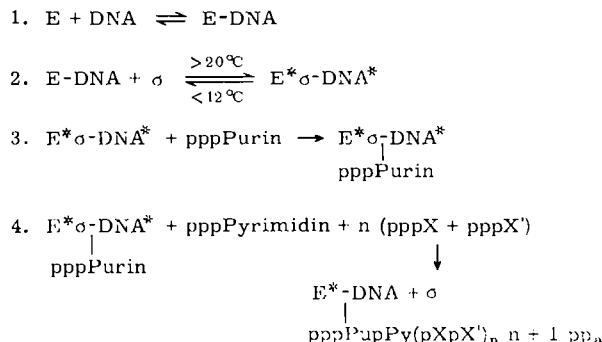


Abb. 3. Schritt 1: Primärbindung, reversibel; Schritt 2: aktiverter Komplex, temperaturbedingt reversibel; Schritt 3: Initiationskomplex; Schritt 4: Initiation. Pu = Purin, Py = Pyrimidin, X, X' = beliebige Nucleobasen, p = Phosphatrest, pp_s = Diphosphat, E = Enzym.

3.3. Elongation

Die Bindung der Polymerase an die DNA ist, wie oben dargestellt, weitgehend reversibel. Während oder kurz nach der Initiation wird aber der Transkriptionskomplex, bestehend aus DNA, Enzym und naszierender RNA, stabil^[55]. Schon die Fertigstellung einer einzigen Nucleotidbindung verhindert die Dissoziation des Komplexes, selbst bei Salzkonzentrationen, die eine Bindung der freien Polymerase an die DNA gar nicht mehr zulassen^[56]. Umstritten ist der Befund, daß allein die Zugabe der beiden Start-nucleotid-5'-triphosphate ATP und GTP diese Stabilisierung bewirkt^[57]. Die Möglichkeit nämlich, daß auch ohne die Pyrimidintriphosphate eine aktive Synthese einsetzt und einige wenige Bindungen geschlossen werden, ist nicht auszuschließen. Die Stabilisierung des Transkriptionskomplexes verhindert bis auf Ausnahmen^[58], daß noch unfertige RNA-Ketten freigesetzt werden, was für eine reibungslose und, im Sinne des Energiehaushaltes der Zellen, ökonomische Weitergabe der Information *in vivo* von Bedeutung ist.

Im Gegensatz zum Transkriptionskomplex mit doppelsträngiger DNA läßt sich dieser Komplex bei der Transkription einzelsträngiger DNA nicht stabilisieren, auch nicht bei niedriger Salzkonzentration. RNA, die in vitro an einzelsträngiger DNA synthetisiert wird, hat ein niedriges Molekulargewicht. Die Sedimentskonstante beträgt nur $5S^{[59]}$. Es werden ständig neue RNA-Ketten initiiert^[42], ein Hinweis dafür, daß die Transkription an einzelsträngiger DNA wahrscheinlich nicht den Verhältnissen in vivo entspricht.

Die Synthesegeschwindigkeit von mRNA-Ketten an doppelsträngiger DNA in vitro ist abhängig von der Ionenstärke, der Substratkonzentration und der Art der DNA. Für T4-DNA wurden bei niedriger Ionenstärke ($\mu < 0.1$) durchschnittliche Zunahmen von 3–17 Nucleotiden pro Sekunde und RNA-Kette ermittelt^[55, 60]. Bei höheren Ionenstärken ($\mu \approx 0.2$) werden 20–36 Nucleotide pro Sekunde eingebaut^[60, 61]; dies kommt den in vivo gemessenen Synthesegeschwindigkeiten von 28 Nucleotiden pro Sekunde nahe^[62]. Die höheren Ionenstärken der Versuche in vitro entsprechen etwa den physiologischen Bedingungen normal wachsender Zellen^[63]. Unterschiede zwischen den

Synthesegeschwindigkeiten bei niedriger und höherer Ionenstärke sind auf eine Produktinhibition zurückzuführen^[64, 65], deren Wirkungsweise bisher noch nicht geklärt ist^[66].

In diesem Zusammenhang wurde die Frage diskutiert, ob in vivo das Besetzen der naszierenden RNA mit Ribosomen und eine mit der Transkription gleichzeitig ablaufende Proteinsynthese die Transkriptionsgeschwindigkeit beeinflussen könne^[67]. Da die mRNA bei der Proteinsynthese in der 5'-→3'-Richtung übersetzt wird, also in der gleichen Richtung, in der die Transkription fortschreitet^[68], könnten die Ribosomen die mRNA schon besetzen, bevor sie fertig synthetisiert ist. Dadurch wäre die mRNA weitgehend geschützt gegen einen enzymatischen Abbau durch Ribonuclease, außerdem würde möglicherweise die Produktinhibition verhindert. Bisher war jedoch nicht zu beweisen, daß eine mit der Transkription gekoppelte Translation die Synthesegeschwindigkeit der mRNA beeinflußt.

3.4. Termination

Wenn der Transkriptionskomplex durch die aktive RNA-Synthese stabilisiert wird, muß die Frage gestellt werden: Wie kommt es zur Freigabe von RNA und Enzym, nachdem ein Informationsabschnitt transkribiert ist?

Bei hoher Ionenstärke hört die RNA-Synthese nach einer gewissen Zeit von selbst auf. Der Transkriptionskomplex dissoziiert, Polymerase und Produkt werden freigesetzt, die Polymerase kann erneut initiieren^[69]. Es ist nicht bekannt, ob dazu bestimmte Basensequenzen auf der DNA erkannt werden müssen. Zwar sind die Transkriptionsprodukte, die unter diesen Bedingungen auftreten, größer ($MG\ 2.2 \times 10^6$) als die entsprechende mRNA in vivo ($MG\ 0.2 - 1.1 \times 10^6$), aber in den meisten Fällen ist die Base am 3'-Ende des RNA-Produktes ein Uridin^[66, 70]. Natürlich vorkommende 5S- und 23S-RNA enden ebenfalls mit einem Uridinnucleotid. Auch tragen Polyribonucleotidketten, die unter diesen Bedingungen synthetisiert werden, genetische Information: Sie eignen sich als mRNA für die zellfreie Proteinsynthese. An ihnen kann beispielsweise aktives Lysozym dargestellt werden^[71, 72]. An mRNA, die unter gleichen Bedingungen von einzelsträngiger DNA transkribiert wurde, lässt sich kein aktives Lysozym synthetisieren. Sie enthält also diese Information nicht oder nur unvollständig.

Diese Ergebnisse zeigen, daß bei der Transkription bei hoher Ionenstärke und an doppelsträngiger DNA *in vitro* RNA synthetisiert wird, die physiologische Eigenschaften hat. Mithin kann auch die Termination der Transkription unter diesen Bedingungen nicht zufällig erfolgen.

Vor einiger Zeit wurde über eine andere Form der Termination berichtet, die durch einen Proteinfaktor bewirkt wird. Dieser Terminationsfaktor ϱ wird als Tetramer isoliert; seine Polypeptidketten haben ein Molekulargewicht von ca. 50 000. mRNA, die *in vitro* in Gegenwart des ϱ -Faktors synthetisiert wird, hat ein ähnliches Molekulargewicht wie die entsprechende *in vivo* gebildete mRNA^[73].

Der ρ -Faktor terminiert die mRNA-Synthese auch bei hoher Salzkonzentration ($\mu \approx 0.2$) an definierten Stellen^[74]. Er wird an RNA^[75] und auch an DNA gebunden^[76, 77]. Da reine Präparationen des ρ -Faktors die mRNA, die in vitro bei hoher Salzkonzentration synthetisiert wurde, nicht in mRNA-Moleküle von kleinerem Molekulargewicht zerlegen, ist es nicht wahrscheinlich, daß der ρ -Faktor die Elongation einer mRNA-Kette durch enzymatische Spaltung an einem auf der mRNA codierten Terminationsignal beendet. Die einfachste Erklärung für seine Wirkungsweise ist daher, daß er eine spezifische DNA-Sequenz als Terminationssignal erkennt. Durch Bindung an diese Stellen könnte er die Fortbewegung der Polymerase auf dem DNA-Molekül verhindern und so die Transkription beenden. Jedoch wurden aufgrund anderer Befunde auch kompliziertere Hypothesen entwickelt^[78], die z. B. von der Annahme ausgehen, daß der ρ -Faktor einen ternären Komplex aus DNA, Enzym und RNA erkennt und dessen Konformation ändert, was zur Termination der Transkription führen könnte. Bisher ist nicht bekannt, ob der ρ -Faktor nur die RNA aus dem Transkriptionskomplex entläßt, oder ob auch die Polymerase als Folge der ρ -Wirkung von der DNA freikommt und dann die Transkription neuer RNA-Ketten initiieren kann.

4. Die Regulation der Transkription bei Bakterien

4.1. Reversible Regulationsvorgänge

Die Bakterienzelle ist in der Lage, ihren Stoffwechsel den jeweiligen Umweltbedingungen schnell anzupassen. Ändert sich beispielsweise das Angebot angreifbarer Kohlenstoffquellen, synthetisiert die Zelle Enzyme, die vorher gar nicht oder nur in geringen Mengen vorlagen und die es ihr ermöglichen, die neuen Energiequellen zu verwenden. Im folgenden soll an einigen Beispielen gezeigt werden, daß solche Vorgänge auf dem Niveau der Transkription regulierbar sind.

1961 formulierten Jacob und Monod^[79] eine Theorie, nach der die Transkription einer Gruppe von Strukturgenen, die eine Transkriptionseinheit (Operon) bilden, durch spezifische Moleküle, die Repressoren, kontrolliert

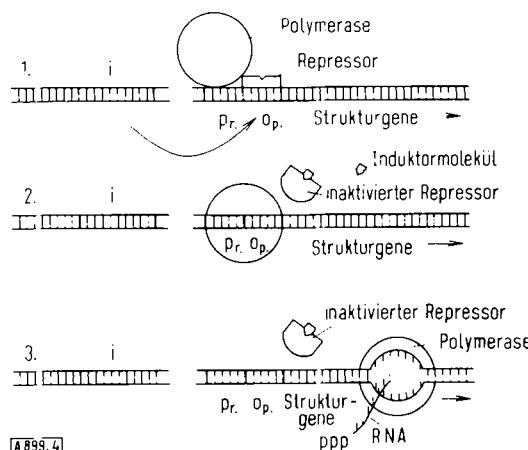


Abb. 4. Modell zur Transkription eines reprimierbaren Operons. Links: „i“-Gen codiert für den Repressor. Pr. = Promotor, Op. = Operator. Schritt 1: Repression; Schritt 2: Induktion; Schritt 3: Transkription.

wird. Die Repressoren, leicht diffundierende Produkte der Regulatorgene, reagieren mit dem Operator, einer DNA-Region des Operons, und blockieren dadurch die Transkription dieser Strukturgene. Der Operator liegt, in Transkriptionsrichtung betrachtet, unmittelbar vor den Strukturgenen (Abb. 4). Um die Transkription eines vom Repressor blockierten Operons zu induzieren, muß der entsprechende Repressor inaktiviert werden. Das geschieht durch spezifische Metaboliten, die Induktoren. Diese reagieren mit dem Repressor, der dadurch seine Affinität für die Operatorregion verliert: Das Operon kann transkribiert werden. Diese Theorie wurde entwickelt, um die Regulation des Lactose-(lac-)Operons zu erklären. Sie hat sich in genetischen und biochemischen Experimenten in allen Teilen als korrekt erwiesen^[80].

Untersuchungen ergaben, daß die Promoterregion eng mit dem Operator gekoppelt ist^[81, 82]. Es ist gelungen, drei genetisch definierte Repressoren zu isolieren^[83–85]. In allen Fällen handelt es sich um Proteine, die fest an die entsprechende Operatorregion der DNA binden können^[86, 87].

Im Falle des λ -Repressors, der in vivo die lytische Entwicklung des Bakteriophagen λ reprimiert, für den aber bisher kein niedermolekularer Induktor bekannt ist, wurde nachgewiesen, daß er auch in vitro die Transkription ganz bestimmter Genabschnitte auf dem Phagengenom verhindert^[88]. Er geht dabei eine feste Bindung mit der DNA ein, ohne sie chemisch zu modifizieren. Wird dieselbe DNA zuerst in Gegenwart des Repressors transkribiert, dann durch Phenolbehandlung deproteinisiert und erneut transkribiert, aber diesmal ohne Repressor, findet man unterschiedliche Produkte: Im ersten Fall fehlt das Transkriptionsprodukt zweier Operonen, die unter der Kontrolle des betreffenden Repressors stehen, im zweiten Fall werden auch diese beiden Operonen transkribiert. Wird in diesem System DNA mit einem mutativ veränderten Operator eingesetzt, ist die Wirkung des Repressors auf die Transkription vermindert. Der Repressor bleibt dagegen ganz wirkungslos, wenn für diese Experimente DNA verwendet wird, bei der der betreffende Operator durch Kreuzung gegen den eines verwandten Phagen (λ imm⁴³⁴) ausgetauscht ist.

Ähnliche Ergebnisse wurden auch in Experimenten mit dem isolierten lac-Repressor erhalten. Die Transkription des lac-Operons steht zusätzlich zur negativen Kontrolle durch den Repressor auch noch unter der positiven Kontrolle eines weiteren regulativen Proteins, des CRP-Faktors (Abkürzung von cyclic 3':5'adenosinemonophosphate—cAMP-receptor protein)^[89]. In Gegenwart von cAMP wird der CRP-Faktor an die DNA gebunden. Sowohl cAMP als auch der CRP-Faktor sind notwendig für die Bindung der RNA-Polymerase an den lac-Promoter^[90] und die asymmetrische Transkription^[91] der lac-Region. Gibt man in ein solches Transkriptionssystem den lac-Repressor, wird das lac-Operon nicht transkribiert. Wird der lac-Repressor in diesem System aber durch Zugabe des Induktors IPTG (Abkürzung von Isopropyl-1-thio- β -D-galaktofuranosid) inaktiviert, dann wird lac-mRNA synthetisiert.

Die Bindungskonstanten zwischen dem lac-Repressor bzw. dem λ -Repressor und ihren Operatoren betragen 2×10^{-11}

bzw. 7.3×10^{-12} mol/l^[92, 93], die Bindungskonstante zwischen Polymerase und Promoter beträgt in beiden Fällen 1×10^{-9} mol/l^[94]. Diese Werte wurden zwar bei unterschiedlichen Temperaturen und Salzkonzentrationen ermittelt und sind daher nur bedingt vergleichbar, aber sie zeigen doch, daß die Polymerase den Repressor erst in etwa 1000-fachem Überschuß aus seiner Bindung mit der DNA verdrängen kann. Die oben dargestellten Experimente beweisen, daß die Bindung des Repressors an den Operator die Transkription eines Operons verhindert, und mithin der Repressor ein Protein mit regulativer Wirkung auf die Transkription ist.

Ein weiteres Beispiel für einen reversiblen Regulationsvorgang auf dem Niveau der Transkription ist der Faktor ψ_r . Obwohl die Polymerase die DNA der meisten Phagen effektiv transkribiert, ist *in vitro* die Synthese von RNA an *E.-coli*-DNA gering. In schnell wachsenden *E.-coli*-Zellen steigt der Anteil der ribosomalen RNA (rRNA) bis auf 40% der gesamten zellulären RNA an^[95, 96], obwohl nur 0.2–0.4% des gesamten *E.-coli*-Genoms rRNA codieren^[95, 97]. Dieses Mißverhältnis ließ vermuten, daß eine besondere Möglichkeit für die Transkription dieser Gene besteht. Da rRNA *in vitro* nicht in meßbaren Mengen synthetisiert wird, gibt es vielleicht einen „Effektor“, der die bevorzugte Transkription der rRNA-Gene bewirkt.

Tatsächlich wurde aus Zellextrakten von *E. coli* ein Proteinfaktor, ψ_r , isoliert^[98], der zusammen mit dem Holoenzym *in vitro* die Synthese von rRNA stimuliert: In Gegenwart des ψ_r -Faktors waren 30% der insgesamt synthetisierten RNA ribosomale RNA. Allerdings ist noch nicht geklärt, ob der ψ_r -Faktor ausschließlich die Synthese der rRNA stimuliert und damit nur die Transkription einer ganz bestimmten Klasse von Genen kontrolliert^[1]. Die Aktivität des ψ_r -Faktors wird durch Guanosin-5'-diphosphat-3'-diphosphat (ppGpp) inhibiert^[99], das sich unter bestimmten restriktiven Wuchsbedingungen in den Zellen anhäuft^[100] und auch die Transkription durch *E.-coli*-Polymerase negativ beeinflußt^[101].

Sowohl die negative Kontrolle durch die Repressoren als auch die positive Kontrolle durch Proteinfaktoren wie ψ_r ermöglichen es der Zelle, schnell und reversibel auf Änderungen in ihrer Umwelt auf dem Niveau der Transkription zu reagieren. Beide Systeme sind keine Ausnahmen. Eine ganze Reihe induzierbarer, katabolischer Enzymsysteme sind inzwischen bekannt und genetisch definiert worden, die ähnlich wie das lac-Operon reguliert werden, auch wurden schon weitere Proteinfaktoren gefunden und teilweise charakterisiert, die ebenfalls stimulierend auf die RNA-Synthese wirken, wie z. B. der M-Faktor^[102], auf die hier aber nicht näher eingegangen werden soll.

4.2. Irreversible Regulationsvorgänge

Nicht nur reversible Änderungen im Stoffwechsel werden auf dem Niveau der Transkription reguliert, sondern auch

[*] Während der Drucklegung dieses Aufsatzes wurde die in Gegenwart von ψ_r transkribierte RNA genau analysiert. Diese Untersuchungen ergaben keinen Anhaltspunkt für eine vorzugsweise Transkription von rRNA [158]. Die Funktion des ψ_r -Faktors muß daher noch weiter untersucht werden.

solche, die für die Zelle irreversibel sind. Ein Beispiel dafür ist die Sporulation von *Bac. subtilis*.

In der Sporulationsphase dieses Organismus treten andere RNA-Moleküle auf als in der vegetativen Phase^[103]. Auch fehlen in der sporulierenden Zelle mehrere Enzyme, die in vegetativen Zellen gefunden werden und umgekehrt^[104, 105].

Folgende genetische Befunde ließen vermuten, daß ein Zusammenhang zwischen der RNA-Polymerase und der Sporulation bestehen muß:

1. Unter rifampicin-resistenten Mutanten von *Bac. subtilis* werden häufig solche gefunden, die in einem einzigen Mutationsschritt die Rifampicin-Resistenz erlangen und die Fähigkeit verlieren, normale Sporen zu bilden^[106].

2. Werden Zellen von *Bac. subtilis* in der frühen Sporulationsphase mit dem virulenten Phagen Φ infiziert, dann kann die sporulierende Zelle, im Gegensatz zur vegetativen, die Phagengene nicht mehr transkribieren. Das Phagen-genom wird in die Spore eingebaut. Erst bei der Keimung der Spore beginnen die Transkription der Phagen-DNA und die Vermehrung des Phagen. Einige sporulationsnegative Mutanten können den Phagen aber noch zu einer Zeit vermehren, in der schon sporulationscharakteristische Proteine auftreten^[107].

Die RNA-Polymerase aus vegetativen Zellen von *Bac. subtilis* ist, gemessen an ihrem elektrophoretischen Verhalten, der RNA-Polymerase aus *E. coli* ähnlich. Für ihre Untereinheiten wurden daher die entsprechenden Bezeichnungen übernommen. Wie die RNA-Polymerase aus *E. coli* besteht sie aus je einer β' - und β -Untereinheit (MG 155000 bzw. 120000), die sich elektrophoretisch voneinander trennen lassen, zwei gleichen α -Einheiten (MG 45000) und einem σ -Faktor (MG 57000)^[108–110]. Das Holoenzym aus vegetativen Zellen, aber nicht das Core-Enzym, transkribiert Φ -DNA *in vitro*. Hingegen ist die Transkription der Phagen-DNA mit Polymerase aus sporulierenden Zellen nicht zu erreichen, auch dann nicht, wenn aus vegetativen Zellen isolierter σ -Faktor zugegeben wird^[111].

Der Vergleich der beiden *Bac.-subtilis*-Enzyme zeigte, daß bei der Polymerase aus sporulierenden Zellen die β -Untereinheit ein kleineres Molekulargewicht hat^[108]. Bisher ist nicht sicher, ob die Molekulargewichtsveränderung durch eine Modifikation, z. B. eine proteolytische Spaltung, hervorgerufen wird, oder ob in der frühen Sporulationsphase ein neues β -Polypeptid synthetisiert wird, das die β -Einheit aus dem Enzym der vegetativen Form ersetzt. Da der σ -Faktor aus diesem Enzym zur Transkription der DNA des Phagen Φ notwendig ist, könnte die Änderung der β -Untereinheit die weitere Synthese der „vegetativen mRNA“ verhindern.

Bei der RNA-Polymerase aus *E. coli* ist die β -Untereinheit verantwortlich für die Rifampicin-Resistenz und die Bindung des σ -Faktors. Überträgt man diese Verhältnisse auf die RNA-Polymerasen aus vegetativen und sporulierenden Zellen von *Bac. subtilis*, sind die Unterschiede im Transkriptionsverhalten zu erklären: Das Enzym aus sporulierenden Zellen mit dem geänderten β -Polypeptid ist mög-

licherweise nicht mehr in der Lage, den „vegetativen σ -Faktor“, der spezifisch die „vegetativen Operonen“ initiiert, zu binden. Auch könnte der eingangs erwähnte Zusammenhang zwischen Rifampicin-Resistenz und Sporulation dadurch erklärt werden, daß die durch Mutation rifampicin-resistant gewordene β -Untereinheit nicht mehr gegen eine sporulationsspezifische Untereinheit ausgetauscht oder in eine solche überführt werden kann. Ob die Änderung der β -Untereinheit allein ausreicht, um die Initiationsspezifität der Polymerase aus sporulierenden Zellen zu ändern, oder ob außerdem auch ein neuer σ -Faktor auftritt, der mit dem modifizierten Enzymkern ein neues, sporulationsspezifisches Holoenzym bildet, wird gegenwärtig untersucht.

5. Die Regulation der Transkription bei Bakteriophagen

5.1. Regulation der Transkription bei T4

T4 gehört zu den großen und kompliziert gebauten Bakteriophagen. Seine DNA ist doppelsträngig, ihr Molekulargewicht liegt bei 1.1×10^8 . Sie trägt ca. 70 Gene. Die Funktion einer Reihe dieser Gene ist bekannt^[112, 113].

Werden *E.-coli*-Bakterien mit T4 infiziert, läuft die Phagenvermehrung bis zur Lyse der Wirtsbakterien und dem Freisetzen der T4-Nachkommenschaft in einer geordneten Auffeinanderfolge von Synthesen ab. Dieser Vermehrungszyklus dauert etwa 20 Minuten. Sofort nach der Infektion werden die „frühen“ Proteine aufgebaut, die für das „Abschalten“ der mRNA- und Proteinsynthese des Wirtsbakteriums und für die phagenspezifische DNA-Synthese verantwortlich sind^[114–116]. Beginnt etwa 5 min nach der Infektion die Neusynthese von Phagen-DNA, treten vor allem Strukturproteine der Phagenhüllen auf, die „späten“ Proteine^[117]. Gleichzeitig läuft die Neusynthese der „frühen“ Proteine aus; etwa 10 min nach der Infektion kann sie nicht mehr nachgewiesen werden^[118].

Parallel zu den Protein wird auch „frühe“ mRNA vor und „späte“ mRNA nach dem Einsetzen der DNA-Replikation unterschieden. 98% der „frühen“ mRNA werden vom „l-Strang“ der DNA abgelesen, während 80% der „späten“ mRNA vom „r-Strang“ kopiert werden^{[119][**]}. Sowohl die „frühe“ als auch die „späte“ mRNA lassen sich in wenigstens je zwei Unterklassen einteilen, nämlich die „vor-frühe“ und die „frühe“ mRNA (pre-early, early)^[**] einerseits sowie die „quasi-späte“ und die „späte“ mRNA (quasi late, late) andererseits^[120].

Wodurch unterscheiden sich die vier mRNA-Klassen? Die Synthese der „vor-frühen“ mRNA erfolgt selbst dann noch, wenn die Bakterien in Gegenwart von Chloramphenicol infiziert werden, also unabhängig von der phagenspezifischen Proteinsynthese^[121]. Das Auftreten der

[*] Die genetische Karte des Phagen T4 wird zirkulär dargestellt. Definitionsgemäß ist dann der r-Strang derjenige der beiden DNA-Stränge, der im Uhrzeigersinn abgelesen wird. Entsprechend wird der l-Strang entgegen dem Uhrzeigersinn abgelesen.

[**] In der Literatur sind zwei Nomenklaturen für die T4-mRNA-Klassen gebräuchlich. Hier wurde die einfachere gewählt, auch wenn die zitierten Autoren die andere vorziehen.

„frühen“ mRNA zwei Minuten nach der Infektion und der beiden anderen mRNA-Klassen ist dagegen von der phagenspezifischen Proteinsynthese abhängig. „Quasi-spät“ ist eine mRNA-Klasse, die in geringen Mengen schon kurz vor dem Beginn der DNA-Replikation auftritt. Die „späte“ mRNA wird nur synthetisiert, wenn die DNA-Replikation schon eingesetzt hat^[122] und wenn das Genprodukt des Phagengens 55 vorhanden ist^[123]. Das Genprodukt des Gens 33 stimuliert die Synthese der „späten“ mRNA^[124].

Das sequentielle Auftreten deutlich unterscheidbarer mRNA-Klassen, parallel zum Auftreten verschiedener Proteinklassen, ließ erwarten, daß die T4-Vermehrung vorwiegend auf dem Niveau der Transkription reguliert wird. Wie kommt es zu dieser Regulation? In Gegenwart des σ -Faktors synthetisiert die *E.-coli*-Polymerase ausschließlich die Klasse der „vor-frühen“ mRNA^[125]. Das erklärt, warum diese mRNA auch ohne die phagenspezifische Proteinsynthese synthetisiert wird: Unmittelbar nach der Infektion transkribiert die *E.-coli*-Polymerase mit *E.-coli*- σ -Faktor eine Reihe von Genen. Der σ -Faktor wirkt dabei als positives Kontrollelement, das der RNA-Polymerase erlaubt, einen gewissen Teil des T4-Genoms selektiv zu transkribieren.

Wie werden nun die anderen Teile des Phagengenoms transkribiert? Während der gesamten Phagenentwicklung bleibt die RNA-Polymerase rifampicin-empfindlich^[126]. Daher wird angenommen, daß wenigstens der Teil der Polymerase, der für den Rifampicin-Phänotyp des Enzyms verantwortlich ist, an der Transkription aller T4-mRNA-Sorten beteiligt ist. Andererseits ist die Transkription der später auftretenden mRNA abhängig von der phagenspezifischen Proteinsynthese, und das bedeutet, daß wenigstens eine der Komponenten, die für die Transkription dieser mRNA-Gruppen verantwortlich sind, auf dem Phagengenom codiert sein muß. Analog zum σ -Faktor, der selektiv die Transkription der „vor-frühen“ mRNA kontrolliert, könnten phagencodierte Proteinfaktoren auftreten, welche die Initiationsspezifität der Polymerase für die Synthese der anderen mRNA-Klassen ändern.

Tatsächlich wurde ein solcher Proteinfaktor, σ^{T4} , aus T4-infizierten Zellen isoliert^[127]. Er stimuliert das Core-Enzym zur Transkription der DNA von T4 und zwei sehr nahe verwandten Phagen. Dabei wird die Synthese derjenigen mRNA initiiert, die *in vivo* zwischen 1.75 und 2.5 min nach der Infektion auftritt^[128].

Was veranlaßt das Core-Enzym, den Faktor σ gegen σ^{T4} auszutauschen? Es wäre möglich, daß σ -Faktoren, die für die weitere Transkription nicht mehr „erwünscht“ sind, inaktiviert werden, sei es durch das Auftreten einer „anti- σ -Aktivität“^[129] oder durch strukturelle Modifikation. Das σ -Protein kann zu einem späteren Zeitpunkt nach der Infektion nicht mehr gefunden werden^[130]. Außerdem könnte auch eine Modifikation des Core-Enzyms dazu führen, daß seine Affinität zum σ -Faktor zugunsten von σ^{T4} vermindert wird: Bald nach der Infektion ist nämlich eine Veränderung im elektrophoretischen Verhalten der α -Kette zu beobachten^[131]. Sie ist abhängig von der phagenspezifischen Proteinsynthese^[132]. Schon zwei Minuten nach der Infektion ist etwa die Hälfte und nach vier Minuten sind

alle α -Ketten betroffen. Sie wird nicht, wie man vermuten könnte, durch die Neusynthese und den Austausch gegen eine phagencodierte α -Kette bewirkt, sondern durch eine Änderung des α -Polypeptids der Wirtspolymerase. Diese Änderung schließt die kovalente Bindung eines 5'-Adenylylrestes, vermutlich 5'-Adenosinmonophosphat, ein^[133].

Auch an den anderen Enzymuntereinheiten sind im Verlauf des Infektionszyklus Änderungen nachzuweisen: Die Fingerprints der Peptide, die man nach tryptischer Spaltung der Untereinheiten von Polymerase aus uninfizierten oder T4-infizierten Zellen erhält, zeigen deutliche Differenzen. Sie lassen darauf schließen, daß die Enzymuntereinheiten im Laufe des Infektionszyklus durch die Anlagerung neu synthetisierten Peptidmaterials modifiziert werden^[130]. An der β' -Einheit tritt diese Modifikation z. B. zwischen der 10. und der 15. Minute nach der Infektion auf. Sie ist abhängig von der Synthese „später“ mRNA^[134] und wird deshalb sicher von einem „später“ Protein bewirkt.

Das Auftreten eines phagenspezifischen Proteinfaktors und die Modifikation des Wirtsenzyms sind aber nicht das einzige Modell, das die Regulation der Synthese der „frühen“ mRNA erklären kann:

Die Gene für die „frühe“ mRNA liegen verstreut zwischen den Genen der „vor-frühen“ mRNA^[135]. Da beide mRNA-Klassen vom gleichen DNA-Strang transkribiert werden^[119], kann der Übergang von der Synthese der „frühen“ mRNA auch folgendermaßen erklärt werden^[135]: Beide mRNA-Klassen sind auf einem Transkriptionsabschnitt codiert. Die Synthese der „vor-frühen“ mRNA wird durch die Wirtspolymerase initiiert. Der ρ -Faktor terminiert dann die Transkription dieser mRNA an bestimmten Stellen.

Es wurde vorgeschlagen, daß die „vor-frühe“ mRNA unter anderem die Information zur Synthese eines Antiterminationsfaktors trägt^[136]. Dieser inaktiviert den ρ -Faktor, so daß die Polymerase zu einem späteren Zeitpunkt im Infektionszyklus die Transkription zwar immer noch an den „vor-frühen“ Promotoren beginnt, dann aber wegen des inaktivierten ρ -Faktors über die ρ -spezifischen Terminationssignale hinweg die DNA-Regionen für die „frühe“ mRNA transkribiert. Dieses „Durchlesen“ wird *in vitro* beobachtet, wenn der ρ -Faktor im Transkriptionssystem fehlt^[135]. Auch *in vivo* tritt dieser Fall ein, denn die „frühe“ mRNA wird auf langen mRNA-Molekülen gefunden, die unmittelbar nach der Infektion initiiert wurden, also zu einer Zeit, zu der nur die „vor-frühen“ Promotoren erkannt werden^[137]. Die Termination dieser großen Transkriptionseinheiten könnte dann, wie die Termination *in vitro* bei hoher Salzkonzentration, von selbst, d. h. ohne weitere Terminationsfaktoren, erfolgen. Beide Modelle zur Regulation der Synthese der „frühen“ mRNA schließen einander nicht aus, und experimentelle Befunde sprechen für die Richtigkeit beider Vorstellungen.

Vielleicht gibt es noch weitere Klassen „früher“ mRNA, die sich aber mit den bisher angewendeten Methoden nicht auflösen lassen, nämlich solche, die nur zusammen mit der „vor-frühen“ mRNA transkribiert werden, nachdem der Terminationsfaktor inaktiviert wurde, und solche, die ihre eigenen Promotoren haben und die in Gegenwart von

modifiziertem Core-Enzym und σ^{74} initiiert werden. Die erste Klasse würde optimal in einer kurzen Zeitspanne nach der Infektion transkribiert, bis der Enzymkern modifiziert und der σ -Faktor nicht mehr funktionsfähig ist, die zweite würde anschließend für eine längere Zeitspanne transkribiert werden, bis sie durch das Auftreten der „quasi-späten“ und „späten“ mRNA abgelöst würde.

Die „späte“ mRNA wird im allgemeinen nur synthetisiert, wenn gleichzeitig die Replikation der DNA stattfindet, das heißt, die Transkription der „späten“ mRNA erfolgt nicht von der parentalen DNA, und die DNA muß in irgendeiner Weise „kompetent“ sein für die Transkription der „späten“ mRNA. Was macht diese Kompetenz aus? Aufgrund mehrerer experimenteller Befunde^[138] wird angenommen, daß Einzelstrangbrüche in der DNA notwendig sind, um die Transkription der „späten“ mRNA zu ermöglichen. Es ist bekannt, daß solche Unterbrechungen in gerade replizierter DNA auftreten^[139]. Auch wäre denkbar, daß eine Endonuclease die DNA an spezifischen Stellen spaltet. Da die „späte“ mRNA hauptsächlich vom „r-Strang“ der DNA transkribiert wird, müßten die Einzelstrangbrüche auf beiden DNA-Strängen asymmetrisch verteilt sein.

„Späte“ mRNA wird nur in Gegenwart des Gen-55-Produktes synthetisiert^[140]. Welche Aufgabe hat das Produkt des Gens 55 bei der Synthese der „späten“ mRNA?

1. Es könnte sich um einen Proteinfaktor handeln, der es einem weiter modifizierten Core-Enzym ermöglicht, bestimmte Einzelstrangbrüche in der DNA zu erkennen und die Transkription der „späten“ mRNA zu initiieren. Kürzlich wurde ein neuer Proteinfaktor identifiziert^[134], der 18 min nach der Infektion von *E.-coli*-Bakterien mit T4 auftritt. Zusammen mit dem Core-Enzym stimuliert er die „r-Strang“-spezifische Transkription. Ein Zusammenhang zwischen diesem Faktor und dem Gen-55-Produkt konnte bisher nicht nachgewiesen werden. An der weiteren Charakterisierung des Faktors wird gearbeitet.

2. Das Gen-55-Produkt könnte direkt mit der DNA reagieren: Durch Bindung an DNA-Regionen mit Einzelstrangbrüchen könnten Initiationspunkte für die Transkription „später“ mRNA geschaffen werden. Diese Vorstellung steht im Einklang mit der Beobachtung, daß die Modifikation des Core-Enzyms eine erhöhte Affinität zu einzelsträngiger DNA mit sich bringt^[141]. Es ist nicht wahrscheinlich, daß das Gen-55-Produkt selbst Einzelstrangbrüche in der DNA bewirkt und damit die DNA für die Transkription „später“ mRNA kompetent macht^[138].

3. Bisher wurde nicht ausgeschlossen, daß das Gen-55-Produkt eine neue, auf dem Phagengenom codierte Polymerase mit ganz neuen Initiationseigenschaften speziell für die Transkription der „späten“ mRNA ist. Zwar bleibt die Polymerase, wie eingangs erwähnt, im Verlauf des gesamten Infektionszyklus rifampicin-empfindlich, woraus geschlossen wurde, daß wenigstens eine Untereinheit an der Synthese aller T4-mRNA teilnimmt. Denkbar ist jedoch auch, daß die Wirtspolymerase während des gesamten Infektionszyklus aktiv bleiben muß und kontinuierlich einige „frühe“ mRNA-Regionen transkribiert, um die Synthese der „späten“ mRNA-Klassen durch die phagen-

spezifische Polymerase aufrechtzuerhalten^[142]. Im nächsten Abschnitt soll gezeigt werden, daß in einem Bakterien-Phagen-System tatsächlich die Synthese einer neuen Polymerase zur Regulation der Phagenentwicklung eingesetzt wird.

5.2. Regulation der Transkription bei T7 und T3

Die *E.-coli*-Phagen T7 und T3 gehören zu den kleineren T-Phagen. Sie sind nahe verwandt. Ihre DNA ist doppelsträngig. Das Molekulargewicht der T7-DNA beträgt etwa 2.5×10^7 ^[143]. Bisher wurden bei T7 19 essentielle Gene genetisch lokalisiert^[144, 145]. Die Produkte einer Reihe dieser Gene sind bekannt^[146].

Nach T7-Infektion wird die Wirts-DNA abgebaut^[144]: sechs bis sieben Minuten nach der Infektion bei 30 °C wird nur noch phagenspezifische mRNA gefunden. Das „Abschalten“ der Wirts-RNA-Synthese steht wahrscheinlich unter der Kontrolle eines „frühen“ phagenspezifischen Proteins^[37]. Im Gegensatz zur Transkription der T4-DNA wird bei T7 *in vivo* alle mRNA nur vom „r-Strang“ transkribiert. Je nachdem phagenspezifische Proteinsynthese für ihre Transkription nötig ist oder nicht, unterscheidet man „späte“ und „frühe“ mRNA^[147, 148]. Die Transkription der späten mRNA erfolgt hier, im Gegensatz zum T4-System, unabhängig von der DNA-Replikation.

Legt man pro Polypeptid ein durchschnittliches Molekulargewicht von 50000 zugrunde, dann läßt sich abschätzen, daß das Phagengenom die Information für höchstens 26 Gene tragen kann. Diese geringe Anzahl ließ erwarten, daß es vielleicht möglich wäre, jedes einzelne der T7-Proteine zu identifizieren und so, da das Genom auch genetisch gut charakterisiert ist, einen Einblick in die Regulation der Entwicklung dieser Phagen zu erhalten. Durch radioaktive Markierung, Polyacrylamid-Elektrophorese und anschließende Autoradiographie ließen sich sowohl die phagenspezifischen Proteine als auch ihre mRNA in getrennte Banden zerlegen. Beim Versuch, durch Infektion mit Phagenmutanten, die ein Genprodukt unter ganz bestimmten Wuchsbedingungen nicht synthetisieren können (konditional letale Mutanten), jedem T7-Gen einzelne Protein- oder mRNA-Banden zuzuordnen, fiel auf, daß dem Gen Nr. 1 eine besondere, regulative Rolle bei der Transkription des Phagengenoms zukommen muß: Infiziert man *E.-coli*-Bakterien unter restriktiven Wuchsbedingungen mit Phagen, die eine solche Mutation im Gen Nr. 1 haben, wurden jeweils nur drei von zwölf bekannten T7-mRNA-Banden^[147] und nur drei von 25 bekannten Proteinbanden gefunden^[148]. Bei Infektion mit Phagenmutanten, die eine Mutation in irgendeinem anderen Gen aufwiesen, fehlte jeweils höchstens nur eine Bande.

Aufgrund einiger anderer experimenteller Befunde und der Kenntnisse über die Rolle des σ-Faktors im *E.-coli*-T4-System wurde zunächst angenommen, daß das Gen-1-Produkt ein neuer σ-Faktor sei, der die Initiationsspezifität der Wirtspolymerase zugunsten der Promotoren für die Transkription der „späten“ mRNA ändere^[149]. Beim Versuch, diese T7-spezifische Proteinkomponente im Komplex

mit dem Wirtsenzym zu isolieren, wurde gefunden, daß die T7-Komponente selbst eine neue Polymerase ist^[142]. Im Gegensatz zur *E.-coli*-Polymerase besteht sie aus nur einer einzigen Polypeptidkette vom Molekulargewicht 107000. Sie transkribiert T7-DNA asymmetrisch und ist verantwortlich für die Transkription der „späten“ mRNA. Aus T3-infizierten Zellen wurde ebenfalls eine Polymerase mit ähnlichem Molekulargewicht (110000) isoliert^[150, 151]. Im Unterschied zur *E.-coli*-Polymerase zeigen T3- und T7-Polymerase eine hohe DNA-Spezifität: T7-Polymerase transkribiert, abgesehen von T3-DNA, ausschließlich T7-DNA, und T3-Polymerase transkribiert nur T3-DNA, aber keine T7-DNA. Beide Polymerasen werden weder durch Rifampicin noch durch Streptolydigin inhibiert. Höhere Salzkonzentrationen, die die Transkription durch *E.-coli*-Polymerase stimulieren, inhibieren die T3- und die T7-Polymerase.

Nach der Entdeckung der T7- und T3-Polymerase wurde ein neues Modell für die positive Kontrolle der Transkription dieser Phagengenome entwickelt:

Ein kleiner Anteil der infizierenden DNA wird zunächst von der *E.-coli*-Polymerase transkribiert. Im Falle der T3-DNA findet man bei hoher Salzkonzentration und in Gegenwart des Terminationsfaktors ϕ *in vitro* drei Arten mRNA-Moleküle^[74], die alle vom „r-Strang“ kopiert werden. Die resultierenden Transkriptionsprodukte entsprechen der „frühen“ T7- bzw. T3-mRNA. Die Übersetzung dieser mRNA führt zur Synthese von drei „frühen“ Proteinen, der Polymerase und zwei anderen mit bisher unbekannter Funktion. Die neu synthetisierte T7-Polymerase erkennt die Promotoren für die Transkription der restlichen DNA-Regionen und übernimmt dann die Synthese der „späten“ mRNA. In diesem System muß es also wenigstens zwei Arten von Promotoren geben^[152]. In diesem Zusammenhang muß erwähnt werden:

1. Die „r-Stränge“ von T7 und T3 enthalten pyrimidinreiche (cytosinreiche) Regionen^[153]; solche Regionen werden auf dem „l-Strang“ nicht gefunden.
2. Die *E.-coli*-Polymerase transkribiert neben einer Reihe von DNA-Molekülen anderer Organismen auch sehr gut das d(A-T)-Copolymer, aber kaum dGdC^[11]. Die T7- und T3-Polymerasen transkribieren neben der eigenen DNA nur dGdC, aber nicht das d(A-T)-Copolymer^[142, 150].

Zehn Minuten nach der Infektion der *E.-coli*-Zellen mit T7 stoppt die Synthese des Gen-1-Proteins^[148]. Der Phage trägt also offenbar auch noch die Information für ein Protein, das eine negative Kontrolle auf die Transkription ausübt. In welcher Weise das geschieht, ist bisher nicht bekannt. Eine Möglichkeit wäre die Modifikation einer oder mehrerer Untereinheiten der *E.-coli*-Polymerase durch eines der späten Proteine.

6. Schlußbetrachtung

Aus einer Anzahl von Systemen, die sich zum Studium der Regulation besonders gut eignen, wurden einige ausgewählt, um die Möglichkeiten für die Regulation der Tran-

skription bestimmter Teile der genetischen Information darzulegen. Es wurden bei weitem nicht alle heute bekannten Daten zu diesem Thema verarbeitet. So konnten hier zwei weitere, gut untersuchte Systeme nicht erwähnt werden: Die Regulation der Transkription des *E.-coli*-Phagen λ (sie wurde schon zusammenfassend dargestellt^[38,154]), und die Regulation der Transkription des *Bac.-subtilis*-Phagen SPO1, die bisher ebenso kompliziert erscheint wie die von T4, aber noch nicht so gut untersucht ist^[155,156].

Es wurde gezeigt, daß sowohl die Bakterien-Zelle als auch die Bakterien-Phagen-Systeme mehrere Möglichkeiten haben, die Transkription ganzer Gruppen von Genen „ein-“ oder „abzuschalten“. Das „Einschalten“ kann erfolgen

1. durch die Änderung der Initiationsspezifität des Enzyms, verursacht durch die Modifikation der Untereinheiten und/oder durch die Neusynthese von Proteinfaktoren wie σ und ψ_r ;
2. durch die Neusynthese von Antiterminationsfaktoren, die es der Polymerase ermöglichen, über gewisse „Stopptreppen“ hinweg neue Gengruppen zu transkribieren und
3. durch die Synthese einer neuen Polymerase mit einer anderen Initiationsspezifität.

Diese Möglichkeiten schließen einander nicht aus, sondern können, da teilweise mehrere mRNA-Klassen auftreten, auch nebeneinander vorkommen.

Das „Abschalten“ der Transkription von Gengruppen kann erfolgen

1. durch die Modifikation von Enzymuntereinheiten, die dazu führten, daß bestimmte Promotoren nicht mehr erkannt werden und
2. durch die Synthese von Repressoren, die in der Nähe einzelner Promotoren an die DNA gebunden werden können und dadurch die Transkription des entsprechenden Genabschnittes verhindern.

Die Proteine, die an der Regulation der Transkription beteiligt sind, können teilweise durch niedermolekulare Stoffe, wie der ψ_r -Faktor durch ppGpp oder der lac-Repressor durch Lactose, an ihrer Funktion gehindert werden, was der Zelle ermöglicht, schnell und reversibel auf Änderungen der Umweltbedingungen zu reagieren.

Obwohl man heute die Regulation selbst einfacher Systeme noch nicht vollkommen versteht, lassen die vorhandenen Daten erkennen, daß durch ein ausgewogenes Zusammenspiel von positiven und negativen Kontrollelementen die Zellfunktionen sehr wirkungsvoll auf dem Niveau der Transkription reguliert werden können.

Diese Arbeit berücksichtigt die Literatur, die bis Juni 1971 zugänglich war. Ich danke Herrn Prof. Dr. U. Winkler für Anregung der Arbeit, und allen, die das Manuskript kritisch gelesen haben. Außerdem danke ich Frau A. Hörling für das Schreiben der Manuskripte und Frau B. Benninghoven für

das Anfertigen der Zeichnungen. Diese Arbeit wurde durch eine Beihilfe der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert.

Eingegangen am 19. Juli 1971 [A 899]

-
- [1] M. Chamberlin u. P. Berg, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 48, 81 (1962).
 - [2] W. Zillig, F. Fuchs u. R. Millette in G. L. Cantoni u. D. R. Davies: Procedures in Nucleic Acid Research. Harper and Row, New York 1967.
 - [3] R. R. Burgess, J. Biol. Chem. 244, 6160 (1969).
 - [4] R. R. Burgess, J. Biol. Chem. 244, 6168 (1969).
 - [5] W. Zillig, E. Fuchs, P. Palm, D. Rabussay u. K. Zechel: 1. Lepetit Colloquium on Biology and Medicine. North Holland Publ. Co., Amsterdam 1969, S. 151.
 - [6] R. R. Burgess, A. A. Travers, J. J. Dunn u. E. K. F. Bautz, Nature 221, 43 (1969).
 - [7] A. A. Travers u. R. R. Burgess, Nature 222, 537 (1969).
 - [8] V. S. Sethi, W. Zillig u. H. Bauer, FEBS Lett. 8, 236 (1970).
 - [9] A. Heil u. W. Zillig, FEBS Lett. 11, 165 (1970).
 - [10] W. Zillig, K. Zechel, D. Rabussay, M. Schachner, V. S. Sethi, P. Palm, A. Heil u. W. Seifert, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 35, 47 (1970).
 - [11] G. Hartmann, K. O. Honikel, F. Knüsels u. J. Nüesch, Biochim. Biophys. Acta 145, 843 (1967).
 - [12] Siddikol, J. W. Erbtoeszer u. B. Weisblum, J. Bacteriol. 99, 151 (1969).
 - [13] H. Lill, U. Lill, A. Sippel u. G. Hartmann: 1. Lepetit Colloquium on Biology and Medicine. North Holland Publ. Co., Amsterdam 1969, S. 55.
 - [14] G. Cassani, R. R. Burgess, H. M. Goodman u. L. Gold, Nature New Biol. 230, 197 (1971).
 - [15] J. S. Krakow, K. Daley u. M. Karstadt, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 62, 432 (1969).
 - [16] J. Avila, J. M. Hermoso, E. Viñuela u. M. Salas, Nature 226, 1244 (1970).
 - [17] R. Losick, R. G. Shorenstein u. A. L. Sonenschein, Nature 227, 910 (1970).
 - [18] S. B. Weiss u. L. Gladstone, J. Amer. Chem. Soc. 81, 4418 (1959).
 - [19] S. P. Blatti, C. J. Ingles, T. J. Lindell, P. W. Morris, R. F. Weaver, F. Weinberg u. W. J. Rutter, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 35, 649 (1970).
 - [20] B. Sugden u. J. Sambrook, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 35, 663 (1970).
 - [21] P. Chambon, F. Gissinger, J. L. Mandel Jr., C. Kedinger, M. Gniadkowski u. M. Meihiac, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 35, 693 (1970).
 - [22] J. P. Richardson, Progr. Nucl. Acid Res. 9, 75 (1969).
 - [23] D. Pettijohn u. T. Kamiya, J. Mol. Biol. 29, 275 (1967).
 - [24] J. P. Richardson, J. Mol. Biol. 21, 83 (1966).
 - [25] M. Sternberger u. A. Stevens, Biochem. Biophys. Res. Commun. 24, 937 (1966).
 - [26] D. C. Hinkle u. M. Chamberlin, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 35, 65 (1970).
 - [27] A. Sippel u. G. Hartmann, Eur. J. Biochem. 16, 152 (1970).
 - [28] K. Ippen, J. H. Miller, J. Scaife u. J. Beckwith, Nature 217, 825 (1968).
 - [29] M. Yarus, Annu. Rev. Biochem. 38, 841 (1969).
 - [30] D. M. Crothers u. B. H. Zimm, J. Mol. Biol. 9, 1 (1964).
 - [31] J. R. Lehman u. E. A. Pratt, J. Biol. Chem. 235, 3254 (1960).
 - [32] J. H. Spencer u. E. Chargaff, Biochim. Biophys. Acta 68, 18 (1963).
 - [33] W. E. Mushinsky u. J. H. Spencer, J. Mol. Biol. 52, 91 (1970).
 - [34] R. Langridge, J. Cell. Physiol. 74, Suppl. 1, 1 (1969).
 - [35] W. Szybalski, H. Kubinski u. P. Sheldrick, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 31, 123 (1966).
 - [36] K. Taylor, Z. Hradecna u. W. Szybalski, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 57, 1618 (1967).
 - [37] W. C. Summers u. W. Szybalski, Virology 34, 9 (1968).
 - [38] W. Szybalski, K. Bovre, M. Fiandi, A. Guha, Z. Hradecna, S. Kumar, H. A. Lozeron, Sr. V. M. Maher, H. J. J. Nijkamp, W. C. Summers u. K. Taylor, J. Cell. Physiol. 74, Suppl. 1, 33 (1969).
 - [39] A. Gierer, Nature 212, 1480 (1966).
 - [40] W. Rüger, Biochim. Biophys. Acta 238, 202 (1971).
 - [41] B. J. McCarthy u. R. B. Church, Annu. Rev. Biochem. 39, 131 (1970).
 - [42] U. Maitra, Y. Nakata u. J. Hurwitz, J. Biol. Chem. 242, 4908 (1967).
 - [43] R. B. Inman u. R. L. Baldwin, J. Mol. Biol. 5, 172 (1962).
 - [44] D. Berg, K. Barrett u. M. J. Chamberlin in: Methods in Enzymology. Academic Press, New York 1971, Bd. 21 D.
 - [45] V. Vogt, Nature 223, 854 (1969).
 - [46] J. J. Dunn u. E. K. F. Bautz, Biochim. Biophys. Res. Commun. 36, 925 (1969).

- [47] E. K. F. Bautz, F. A. Bautz u. J. J. Dunn, *Nature* 223, 1022 (1969).
- [48] M. Sugiura, T. Okamoto u. M. Takanami, *Nature* 225, 598 (1970).
- [49] K. Mueller, *Mol. Gen. Genet.* 3, 273 (1971).
- [50] G. Walter, W. Zillig, P. Palm u. E. Fuchs, *Eur. J. Biochem.* 3, 194 (1967).
- [51] Yu. N. Kasaganov, M. I. Zarudnaja, Yu. S. Lazurkin, M. D. Frank-Kamenetskii, R. Sh. Beabatashvili u. U. L. P. Savochkina, *Nature New Biol.* 231, 212 (1971).
- [52] D. E. Pettijohn, O. G. Stenington u. C. R. Kossman, *Nature* 228, 235 (1970).
- [53] J. L. Darlix, A. Sentenac, A. Ruet u. P. Fromageot, *Eur. J. Biochem.* 11, 43 (1969).
- [54] J. S. Krakow u. K. von der Helm, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 35, 73 (1970).
- [55] H. Bremer u. M. W. Konrad, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 51, 801 (1964).
- [56] A. G. So u. K. M. Downey, *Biochemistry* 9, 4788 (1970).
- [57] D. D. Anthony, E. Zeszotek u. D. A. Goldthwait, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 56, 1026 (1966).
- [58] K. Mueller u. H. Bremer, *J. Mol. Biol.* 43, 89 (1969).
- [59] H. Bremer, M. Konrad u. R. Bruner, *J. Mol. Biol.* 16, 104 (1966).
- [60] J. P. Richardson, *J. Mol. Biol.* 49, 235 (1970).
- [61] H. Bremer, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 35, 109 (1970).
- [62] H. Bremer u. D. Yuan, *J. Mol. Biol.* 34, 527 (1968).
- [63] M. Lubin u. H. L. Ennis, *Biochim. Biophys. Acta* 80, 614 (1964).
- [64] J. S. Krakow, *J. Biol. Chem.* 241, 1830 (1966).
- [65] E. Fuchs, R. L. Millette, W. Zillig u. G. Walter, *Eur. J. Biochem.* 3, 183 (1967).
- [66] R. L. Millette u. C. D. Trotter, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 66, 701 (1970).
- [67] E. P. Geiduschek u. R. Haselkorn, *Annu. Rev. Biochem.* 38, 661 (1969).
- [68] G. Streisinger, Y. Okada, J. Emrich, J. Newton, A. Tsugita, E. Terzaghi u. M. Inouye, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 31, 77 (1966).
- [69] J. P. Richardson, *Nature* 225, 1109 (1970).
- [70] U. Maitra, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 41, 1255 (1970).
- [71] R. L. Millette, C. D. Trotter, P. Herrlich u. M. Schweiger, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 35, 135 (1970).
- [72] U. Maitra, A. H. Lockwood, J. S. Dubnoff u. A. Guha, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 35, 143 (1970).
- [73] J. W. Roberts, *Nature* 224, 1168 (1969).
- [74] J. J. Dunn u. E. K. F. Bautz, persönliche Mitteilung.
- [75] J. P. Richardson, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 35, 127 (1970).
- [76] J. L. Darlix, A. Sentenac u. P. Fromageot, *FEBS Lett.* 13, 165 (1971).
- [77] J. S. Beckmann, V. Daniel, Y. Tichauer u. U. Z. Littauer, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 43, 806 (1971).
- [78] A. R. Goldberg, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 35, 157 (1970).
- [79] F. Jacob u. J. Monod, *J. Mol. Biol.* 3, 318 (1961).
- [80] B. Müller-Hill, *Angew. Chem.* 83, 195 (1971); *Angew. Chem. internat. Edit.* 10, 160 (1971).
- [81] F. Jacob u. J. Monod, *C.R. Acad. Sci.* 258, 3125 (1964).
- [82] J. Scaife u. J. R. Beckwith, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 31, 403 (1966).
- [83] W. Gilbert u. B. Müller-Hill, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 56, 1891 (1966).
- [84] M. Ptashne, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 57, 306 (1967).
- [85] U. Pirrotta u. M. Ptashne, *Nature* 222, 541 (1969).
- [86] M. Ptashne, *Nature* 214, 232 (1967).
- [87] W. Gilbert u. B. Müller-Hill, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 58, 2415 (1967).
- [88] R. A. Steinberg u. M. Ptashne, *Nature New Biol.* 230, 76 (1971).
- [89] G. Zubay, D. Schwartz u. J. Beckwith, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 66, 104 (1970).
- [90] B. de Crombrugghe, B. Chen, W. Anderson, P. Nissley, M. Gottesman, J. Pastan u. R. Perlman, *Nature New Biol.* 231, 139 (1971).
- [91] B. de Crombrugghe, B. Chen, M. Gottesman, J. Pastan, H. E. Varmus, M. Emmer u. R. L. Perlman, *Nature New Biol.* 230, 37 (1971).
- [92] W. Gilbert u. B. Müller-Hill, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 58, 2415 (1967).
- [93] P. Chadwick, V. Pirrotta, R. Steinberg, N. Hopkins u. M. Ptashne, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 35, 283 (1970).
- [94] E. K. F. Bautz u. F. A. Bautz, *Nature* 226, 1219 (1970).
- [95] D. Kennel, *J. Mol. Biol.* 34, 85 (1968).
- [96] R. A. Lazzarini u. R. M. Winslow, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 35, 383 (1970).
- [97] S. A. Yanofsky u. S. Spiegelman, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 48, 1466 (1962).
- [98] A. A. Travers, R. I. Kamen u. R. F. Schleif, *Nature* 228, 748 (1970).
- [99] A. Travers, R. I. Kamen u. M. Cashel, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 35, 415 (1970).
- [100] M. Cashel u. J. Gallant, *Nature* 221, 838 (1969).
- [101] M. Cashel, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 35, 407 (1970).
- [102] J. Davison, L. M. Pilarski u. H. Echols, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 63, 168 (1969).
- [103] A. J. Aronson, *J. Mol. Biol.* 11, 576 (1965).
- [104] M. P. Deutscher u. A. Kornberg, *J. Biol. Chem.* 243, 4653 (1968).
- [105] M. L. Bach u. C. Cilvarg, *J. Biol. Chem.* 241, 4563 (1966).
- [106] A. L. Sonenschein u. R. Losick, *Nature* 227, 906 (1970).
- [107] A. L. Sonenschein u. D. H. Roscoe, *Virology* 39, 265 (1969).
- [108] R. Losick, R. G. Shorestein u. A. L. Sonenschein, *Nature* 227, 910 (1970).
- [109] P. Kerjan u. J. Szulmajster, *FEBS Lett.* 5, 288 (1969).
- [110] J. Avila, J. M. Hermoso, E. Viñuela u. M. Salas, *Eur. J. Biochem.*, im Druck.
- [111] R. Losick u. A. Sonenschein, *Nature* 224, 35 (1969).
- [112] W. B. Wood, R. S. Edgar, J. King, J. Lielauis u. M. Henninger, *Fed. Proc.* 27, 1160 (1968).
- [113] J. Emrich, *Virology* 35, 158 (1968).
- [114] M. Adesnik u. C. Levinthal, *J. Mol. Biol.* 48, 187 (1970).
- [115] H. L. Ennis, *Virology* 40, 727 (1970).
- [116] S. S. Cohen, *Virus Induced Enzymes*. Columbia University Press, New York 1968.
- [117] J. Hosuda u. C. Levinthal, *Virology* 34, 709 (1968).
- [118] J. S. Wiberg, M. Dirksen, R. H. Epstein, S. E. Luria u. J. Buchanan, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 48, 293 (1962).
- [119] A. Guha u. W. Szybalski, *Virology* 34, 608 (1968).
- [120] W. Salser, A. Bolle u. R. Epstein, *J. Mol. Biol.* 49, 271 (1970).
- [121] R. J. Grasso u. J. M. Buchanan, *Nature* 224, 882 (1969).
- [122] R. Bruner u. R. E. Cape, *J. Mol. Biol.* 53, 69 (1970).
- [123] L. Snyder u. E. P. Geiduschek, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 59, 459 (1968).
- [124] A. Bolle, R. Epstein, W. Salser u. E. P. Geiduschek, *J. Mol. Biol.* 33, 339 (1968).
- [125] E. K. F. Bautz, F. A. Bautz u. J. J. Dunn, *Nature* 223, 1022 (1969).
- [126] R. Haselkorn, M. Vogel u. R. D. Brown, *Nature* 221, 836 (1969).
- [127] A. A. Travers, *Nature* 223, 1107 (1969).
- [128] A. A. Travers, *Nature* 225, 1009 (1970).
- [129] R. B. Khesin: 1. *Lepetit Colloquium on Biology and Medicine*, North Holland Publ. Co., Amsterdam 1969, S. 167.
- [130] W. Seifert: 1. *Lepetit Colloquium on Biology and Medicine*, North Holland Publ. Co., Amsterdam 1969, S. 158.
- [131] G. Walter, W. Seifert u. W. Zillig, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 30, 240 (1968).
- [132] W. Seifert, P. Qasha, G. Walter, P. Palm, M. Schachner u. W. Zillig, *Eur. J. Biochem.* 9, 319 (1969).
- [133] C. G. Goff u. K. Weber, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 35, 101 (1970).
- [134] A. Travers, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 35, 241 (1970).
- [135] G. Milanesi, E. N. Brody u. E. P. Geiduschek, *Nature* 221, 1014 (1969).
- [136] D. A. Schmidt, A. J. Mazaitis, T. Kasai u. E. K. F. Bautz, *Nature* 225, 1012 (1970).
- [137] E. Brody, R. Sederoff, A. Bolle u. R. H. Epstein, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 35, 203 (1970).
- [138] A. Cascino, S. Riva u. E. P. Geiduschek, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 35, 213 (1970).
- [139] R. Okazaki, T. Okazaki, K. Sakabe, K. Sugimoto u. A. Sugino, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 59, 598 (1968).
- [140] J. Pulitzer u. E. P. Geiduschek, *J. Mol. Biol.* 49, 489 (1970).
- [141] A. A. Travers, *Nature* 220, 69 (1971).
- [142] M. Chamberlin, J. McGrath u. L. Waskell, *Nature* 228, 227 (1970).
- [143] F. C. Bancroft u. D. Freifelder, *J. Mol. Biol.* 54, 537 (1970).
- [144] R. Hausmann u. B. Gomez, *J. Virol.* 1, 779 (1967).
- [145] F. W. Studier, *Virology* 39, 562 (1969).
- [146] M. S. Center, F. W. Studier u. C. C. Richardson, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 65, 242 (1970).
- [147] R. B. Siegel u. W. C. Summers, *J. Mol. Biol.* 40, 115 (1970).
- [148] F. W. Studier u. J. V. Maizel, *Virology* 39, 575 (1969).
- [149] W. C. Summers u. R. B. Siegel, *Nature* 223, 1111 (1969).
- [150] J. J. Dunn, F. A. Bautz u. E. K. F. Bautz, *Nature New Biol.* 230, 94 (1971).
- [151] U. Maitra, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 43, 443 (1971).
- [152] W. C. Summers u. R. B. Siegel, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 35, 253 (1970).
- [153] W. C. Summers u. W. Szybalski, *Biochim. Biophys. Acta* 166, 371 (1968).
- [154] A. M. Wu, S. Ghosh, M. Willard, J. Davison u. H. Echols in A. Hershey: *The Bacteriophage Lambda*. Cold Spring Harbor Press, New York, im Druck.
- [155] E. P. Geiduschek, D. L. Wilson u. L. P. Gage, *J. Cell. Physiol.* 74, 81 (1969).
- [156] L. P. Gage u. E. P. Geiduschek, *J. Mol. Biol.* 57, 279 (1971).
- [157] J. S. Krakow u. E. Fronk, *J. Biol. Chem.* 244, 5988 (1969).
- [158] W. Haseltine, *Nature* 235, 329 (1972).