



### Sven Halbedel

(Jahrgang 1978) studierte Humanbiologie an der Universität Greifswald. Die Diplomarbeit im Labor von Michael Hecker hatte Untersuchungen zur Rolle des *luxS*-Gens in *Staphylococcus aureus* zum Thema. Seine Promotion fertigte er in der Arbeitsgruppe von Jörg Stülke an der

Universität Göttingen an. Seit der Promotion arbeitet er im Labor von Jeff Errington (University of Newcastle upon Tyne, Großbritannien).

## VAAM-Promotionspreis 2007

# Regulation der HPr-Phosphorylierung in *Mycoplasma pneumoniae*

SVEN HALBEDEL

INSTITUTE FOR CELL AND MOLECULAR BIOSCIENCES, UNIVERSITY OF NEWCASTLE UPON TYNE, UK

Das Genom des pathogenen Bakteriums *Mycoplasma pneumoniae* enthält lediglich 688 Gene, womit ihm die meisten anabolen Stoffwechselwege sowie der Großteil der für Bakterien üblichen Mechanismen der Signaltransduktion fehlen. Zu den wenigen erhalten gebliebenen Regulatoren gehört die HPr-Kinase/Phosphorylase (HPrK/P), welche in Abhängigkeit vom Nährstoffangebot ihr Substrat HPr am Ser-46 phosphoryliert oder dephosphoryliert und damit die C-Katabolitenrepression (CCR) einleitet. Der für die CCR notwendige Transkriptionsfaktor CcpA ist in *M. pneumoniae* allerdings verloren gegangen, woraus sich die Fragestellung ableitete, (i) unter welchen Bedingungen die Bildung von HPr(Ser-P) *in vivo* überhaupt erfolgt und (ii) welche Effekte sie nach sich zieht.

Es wurde untersucht, wie sich verschiedene Kultivierungsbedingungen auf das Phosphorylierungsmuster von HPr auswirken. Dabei zeigte sich, dass in Anwesenheit von Glycerin HPr(Ser-P) in der Zelle akkumuliert

(Abb. 1). Glycerin stellt einen möglichen Standortindikator dar, da davon auszugehen ist, dass Glycerin im natürlichen Habitat von *M. pneumoniae*, den Schleimhäuten des menschlichen Respirationstrakts, in hohen Mengen vorkommt<sup>[1]</sup>.

Da gängige Methoden zur zielgerichteten Konstruktion von Knock-out-Mutanten in *M. pneumoniae* versagen, wurde zu diesem Zweck eine neuartige, auf der Verwendung eines Mini-Transposons basierende Methode entwickelt (*haystack mutagenesis*). Mithilfe dieser Strategie wurde eine Transposon-Insertionsmutante im *hprK*-Gen isoliert. Die *hprK*-Mutante konnte erwartungsgemäß kein HPr(Ser-P) mehr bilden. Erstaunlicherweise besaßen Zellextrakte der *hprK*-Mutante jedoch noch die Fähigkeit, HPr(Ser-P) zu dephosphorylieren. Diese Beobachtung führte zur Identifizierung der Protein-Phosphatase PrpC als neuartiger HPr(Ser-P)-Phosphatase. Die Dephosphorylierung von HPr(Ser-P) durch eine andere Proteinphosphatase als HPrK/P

stellt einen neuartigen Mechanismus der Regulation innerhalb der CCR dar<sup>[2]</sup>.

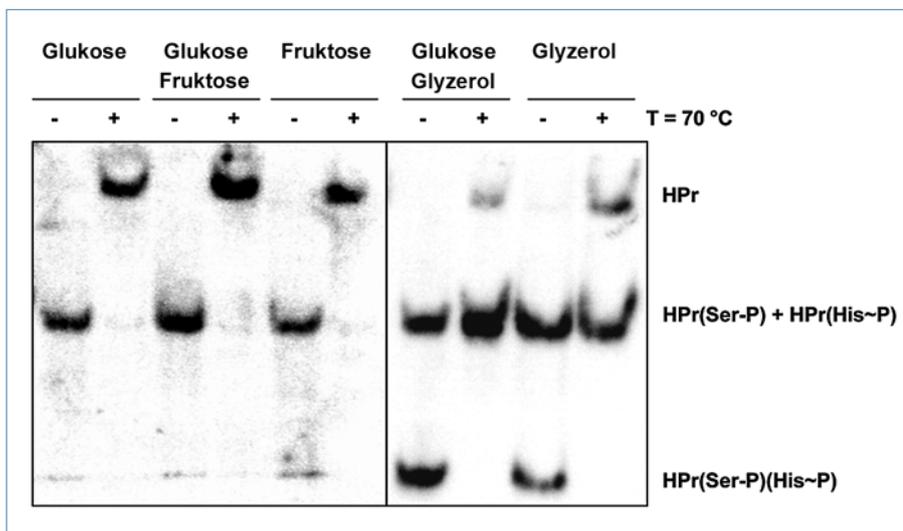
Mithilfe von Proteomanalysen wurden das *ackA*- und das *ldh*-Gen als in Gegenwart von Glycerol reprimierte beziehungsweise induzierte Gene identifiziert. Zur einfacheren Analyse von Promotoraktivitäten wurde ein Reportersystem für *M. pneumoniae* entwickelt, welches auf einem promotorlosen *lacZ*-Gen basiert<sup>[3]</sup>. Mit diesem Reportersystem wurden die Promotoren beider Gene experimentell kartiert und ihre ungewöhnliche Struktur charakterisiert. Durch Experimente an weiteren interessanten Promotoren können nun unsere Modellvorstellungen über den Aufbau und die Aktivitätssteuerung von *Mycoplasma*-Promotoren verfeinert werden.

### Literatur

- [1] Halbedel, S., Hames, C., Stülke, J. (2004): *J. Bacteriol.* 186: 7936–7943.
- [2] Halbedel, S., Busse, J., Schmid, S. R., Stülke, J. (2006): *J. Biol. Chem.* 281: 26253–26259.
- [3] Halbedel, S., Stülke, J. (2006): *Appl. Environ. Microbiol.* 72: 1696–1699.

### Korrespondenzadresse:

Dr. Sven Halbedel  
Institute for Cell and Molecular Biosciences  
University of Newcastle upon Tyne  
Framlington Place  
NE2 4HH Newcastle upon Tyne  
United Kingdom  
Tel.: +44-(0)191 222-6596  
Fax: +44-(0)191 222-7424  
sven.halbedel@ncl.ac.uk



▲ **Abb. 1:** Nativer Western-Blot mit einem anti-HPr-Antikörper und Zellextrakten von *M. pneumoniae* in Gegenwart verschiedener C-Quellen. Die unterschiedlich phosphorylierten Formen von HPr werden sichtbar. Die Phosphorylierung am HPr(His~P) ist hitzelabel, die am Serin-46 ist hingegen hitzeresistent.

Sponsoren des VAAM-Promotionspreises 2007 waren die Firmen: **BASF, Bayer Schering, Degussa, Lonza, New England Biolabs, Sanofi-Aventis.**