

Master thesis

Use of artificial sRNAs to regulate gene expression in *E. coli*

Background:

The rapid and energy-efficient adaptation of gene expression to changing environmental and stress conditions is essential for the survival of bacteria. Besides regulation on the transcriptional level (activation or repression of transcription and sigma factors) or on the post-translational level (modulation of activity or stability of proteins), regulation on the post-transcriptional level is important. Small (50 - 500 nt) regulatory RNA molecules, so-called sRNAs, are responsible for these post-transcriptional changes in gene expression. Prokaryotic sRNAs are encoded both by accessory DNA elements such as plasmids and in the bacterial chromosome. Their main tasks are the control of pathogenicity, stress response and metabolic fine-tuning. For this purpose, sRNAs bind their target RNAs via base-pairing RNA-RNA interactions. The binding of a sRNA then results in either activation or repression of the translation of its target mRNA or influences its stability.

Aim:

Preliminary experiments have already shown that both, the construction of artificial sRNAs and their inducible expression to control a reporter gene, are possible. Based on this, the aim of this project is to investigate the applicability of sRNAs for the improvement of recombinant protein production. First, inducible sRNAs will be constructed for the repression of single or multiple proteolytic enzymes in *E. coli*. Subsequently, an effect of the induced sRNA expression on the total protein amount and the yield of a suitable recombinant protein will be investigated.

Period:

The project can start from now on.

Contact:

If you are interested please contact:

Dr. Matthias Gimpel

matthias.gimpel@tu-berlin.de

Masterarbeit

Anwendung artifizierter sRNAs zur Regulation der Genexpression in *E. coli*

Hintergrund:

Die schnelle und energieeffiziente Anpassung der Genexpression an sich ändernde Umweltbedingungen und Stressbedingungen ist essentiell für das Überleben von Bakterien. Neben der Regulation auf transkriptioneller Ebene (Aktivierung oder Repression von Transkriptions- und Sigmafaktoren) oder post-translationaler Ebene (Modulation der Aktivität oder Stabilität von Proteinen) ist eine Regulation auf post-transkriptioneller Ebene wichtig. Für diese posttranskriptionellen Veränderungen der Genexpression sind kleine (50 - 500 nt) regulatorische RNA-Moleküle, so genannte sRNAs, verantwortlich. Prokaryotische sRNAs werden sowohl von akzessorischen DNA Elementen wie Plasmiden aber auch im bakteriellen Chromosom kodiert. Ihre Hauptaufgaben sind Kontrolle der Pathogenität, Stressantwort und metabolisches Fine-tuning. Zu diesem Zweck binden sRNAs ihre Ziel-RNAs über basenpaarende RNA-RNA-Interaktionen. Die Bindung einer sRNA resultiert dann entweder in einer Aktivierung oder Repression der Translation ihrer Ziel-mRNA oder beeinflusst deren Stabilität.

Ziel:

In Vorversuchen konnte dabei bereits gezeigt werden, dass sowohl die Konstruktion artifizierter sRNAs als auch deren induzierbare Expression zur Kontrolle eines Reportergens möglich ist. Basierend hierauf ist das Ziel dieses Projekts die Anwendbarkeit von sRNAs für die Verbesserung der Produktion rekombinanter Proteine zu untersuchen. Dabei sollen zunächst induzierbare sRNAs zur Repression einzelner oder mehrere proteolytischer Enzyme in *E. coli* konstruiert werden. Im Anschluss soll dann ein Effekt der induzierten sRNA Expression auf die Gesamtproteinmenge sowie die Ausbeute eines geeigneten rekombinanten Proteins untersucht werden.

Zeitraum:

Die Durchführung ist ab sofort möglich.

Kontakt:

Bei Interesse wenden Sie sich bitte an:

Dr. Matthias Gimpel

matthias.gimpel@tu-berlin.de