

Yuanqiang Duan

Dr.sc.hum.

**Systematic analysis of the effect of genomic position and terminator on gene expression levels and noise in *Saccharomyces cerevisiae***

Fach/Einrichtung: Zentrum für Molekulare Biologie (ZMBH)

Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. Michael Knop

Die globale Genomstudie in *Saccharomyces cerevisiae* benötigt verschiedene Sammlungen von Hefestämmen, in denen jeder ORF mit einem konstanten Merkmal markiert ist. Allerdings ist der Aufbau einer solchen Bibliothek äußerst mühsam und zeitaufwendig. Um dieses Problem zu lösen, wurde eine Stammsammlung aufgebaut, in der jeder ORF in *Saccharomyces cerevisiae* mit einem Akzeptormodul versehen ist, um die so genannten C-terminal SWAp-Tag-Bibliothek, abgekürzt als C-SWAT-Bibliothek zu bilden. Diese Stammsammlung wurde als Ausgangsbibliothek verwendet, um verschiedene Bibliotheken mit C-Terminal-Taggings durch Austausch des Akzeptormoduls mit dem gewünschten Tag zu erzeugen. Die neuen Stammsammlungen können innerhalb von drei Wochen generiert werden. Die Effizienz der C-SWAT-Tagging-Methode wurde mit drei Arten von Spenderplasmidtypen getestet, die sich durch eine hohe Effizienz des Austauschs auszeichnen. Dann wurden drei Stammsammlungen mit unterschiedlichen Fluoreszenzproteinen und Merkmalen aufgebaut. Durch die Verwendung dieser drei Stammsammlungen konnten einige neue ORFs nachgewiesen und der Terminator-Effekt auf der Ebene der Genexpression ausgenutzt werden.

Das Genexpressionsniveau und das Rauschen sind wichtige Parameter zur Quantifizierung des zellulären Verhaltens und der zellulären Charakteristika. Die Lage des Genoms und die Terminatoren sind Eigenschaften von Genen, aber wie sie die Genexpression und das Rauschen beeinflussen, ist nicht global untersucht. Im zweiten Teil des Projekts wurde der Ablauf von angemessenen Stammsammlungen mit der C-SWAT-Tagging-Methode zur globalen Untersuchung von Position und Terminator-Effekt getestet. In diesem Teil wurden die Elemente sorgfältig ausgewählt und konstruiert, um den Effekt dieser Sequenzen und den Einfluss von davor und danach liegender Sequenzen zu vermeiden. Die Qualität der o2durdurchsatz-Durchflusszytometriedaten wurde getestet, indem die Messung mit derselben Platte, in technischen und biologischen Replikaten und in verschiedenen

Stammhintergründen wiederholt wurde. Am Ende wurden zwei genomweite zweifarbige Reporterstammsammlungen aufgebaut und mittels Hochdurchsatz-Durchflusszytometrie gemessen. Es wurden 5.112 diploide zweifarbige Reporterstämme in einer heterologen Terminator-Sammlung konstruiert, um den Positionunterschied zu untersuchen, und 4.830 diploide zweifarbige Reporterstämme in einer endogenen Terminator-Bibliotheksammlung konstruiert. Sie werden zur globalen Untersuchung der Position und der Terminatorwirkung auf die Genexpression und deren Rauschen im Hefegenom verwendet.