

Yvonne Grömping: Kinetische und funktionelle Untersuchungen des DnaK-Systems aus *Thermus thermophilus* und heterogener Komplexe aus *T.thermophilus* und *E.Coli*. 2000

Das DnaK_{Eco}-System wird durch die beiden Cochaperone, den Nukleotidaustauschfaktor GrpE_{Eco} und den ATPase-beschleunigenden Faktor DnaJ_{Eco}, reguliert. Der Hydrolysestimulation wird im DnaK_{Eco}-Chaperonzyklus eine Schlüsselfunktion zugeschrieben. Die Regulation des DnaK_{Th}-Systems unterscheidet sich grundlegend davon, da DnaJ_{Th} die ATPase-Rate nicht beschleunigt. Der Chaperonzyklus wird nur durch GrpE_{Th} reguliert, das den Nukleotidaustausch beträchtlich erhöht. Trotz der fehlenden ATPase-Stimulation kann das DnaK_{Th}-System der Luziferaserückfaltung bei 30°C assistieren. Aufgrund des langsameren Nukleotidzyklus erfolgt die Rückfaltung 4 mal langsamer als mit dem DnaK_{Eco}-System. DnaJ_{Th} komplementiert in Rückfaltungsstudien für das Homologe aus *E. coli*, obwohl es auch in DnaK_{Eco}·DnaJ_{Th}-Komplexen die Hydrolyserate nicht stimuliert. Eine Beschleunigung der ATPase-Aktivität von DnaK durch DnaJ scheint folglich nicht essentiell für ein aktives Chaperonsystem zu sein. Das DnaK_{Th}-System ist bei der Reaktivierung Hitze- oder Harnstoff-denaturierter Luziferase effizienter als das DnaK_{Eco}-System. Dies wird eventuell durch einen energieübertragenden Mechanismus erreicht, bei dem DnaJ_{Th} einen integralen Bestandteil der DnaK_{Th}-Substratbindungsstelle bilden würde. Das ClpB_{Th}-Protein ist zusammen mit dem DnaK_{Th} - nicht aber mit dem DnaK_{Eco}-System in der Lage, Luziferaseaggregate aufzulösen.

The DnaK_{Eco}-chaperone cycle is tightly regulated by the cochaperones GrpE_{Eco}, a nucleotide exchange factor and DnaJ_{Eco}, an ATPase stimulating factor. The stimulation of hydrolysis is thought to be a key step in the DnaK_{Eco}-chaperone cycle. The regulation of the DnaK_{Th}-system is substantially different because DnaJ_{Th} does not stimulate the ATPase rate of DnaK_{Th} while GrpE_{Th} accelerates the nucleotide exchange considerably and thus guides the nucleotide cycle. The DnaK_{Th}-system is nevertheless functional in assistance of luciferase refolding at 30°C, although it is 4 times slower than the DnaK_{Eco}-system which can be attributed to its slower nucleotide cycle. DnaJ_{Th} complements for DnaJ_{Eco} in refolding studies although it does not stimulate hydrolysis in DnaK_{Eco}·DnaJ_{Th}-complexes. Therefore, acceleration of hydrolysis by DnaJ-proteins does not seem to be of fundamental importance for an active chaperone system. It appears that the DnaK_{Th}-system is more efficient in reactivation of thermally or urea-denatured luciferase than the DnaK_{Eco}-system. This is probably achieved by a force transducing mechanism in which DnaJ_{Th} seems to assist protein refolding by forming an integral part of the DnaK_{Th} substrate binding site. ClpB_{Th} is able to dissolve luciferase aggregates in the presence of the DnaK_{Th}-system, but not with the DnaK_{Eco}-system.