

Einführung in die Molekularbiologie

Prof. Dr. Martin Hagemann

Vorlesung 4

Regulation der Transkription bei Prokaryoten

1. Promotorsequenz
2. Stringent Response
3. Alternative Sigmafaktoren
4. Regulatorproteine
5. Autoregulation
6. Regulatorische RNA

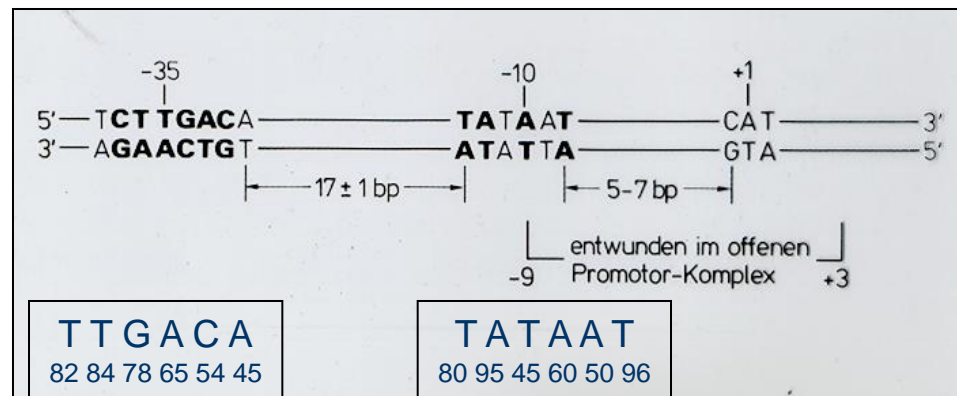


Regulation der Transkription bei Prokaryoten

Wichtigste Regulationsstelle der Genexpression!?

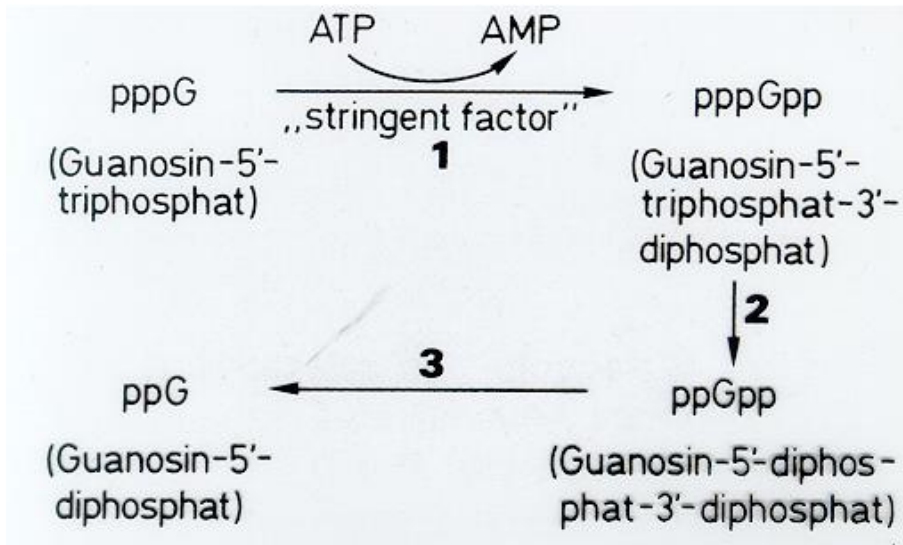
1. Promotorsequenz – starke Promotoren ähneln der consensus-Sequenz

Ergebnis einer langen Adaptation (Kurzzeit – Akklimation)
Biotechnologie



Regulation der Transkription bei Prokaryoten

2. „stringent – response“, generelle Beeinflussung der Transkriptionsrate niedermolekularer Faktor beeinflusst RNAP Generelle Reaktion auf Nahrungs-(AS)-Mangel



Regulation der Transkription bei Prokaryoten

3. Alternative Sigmafaktoren

Sigmafaktor-spezifische Promotorsequenzen charakterisieren Regulons

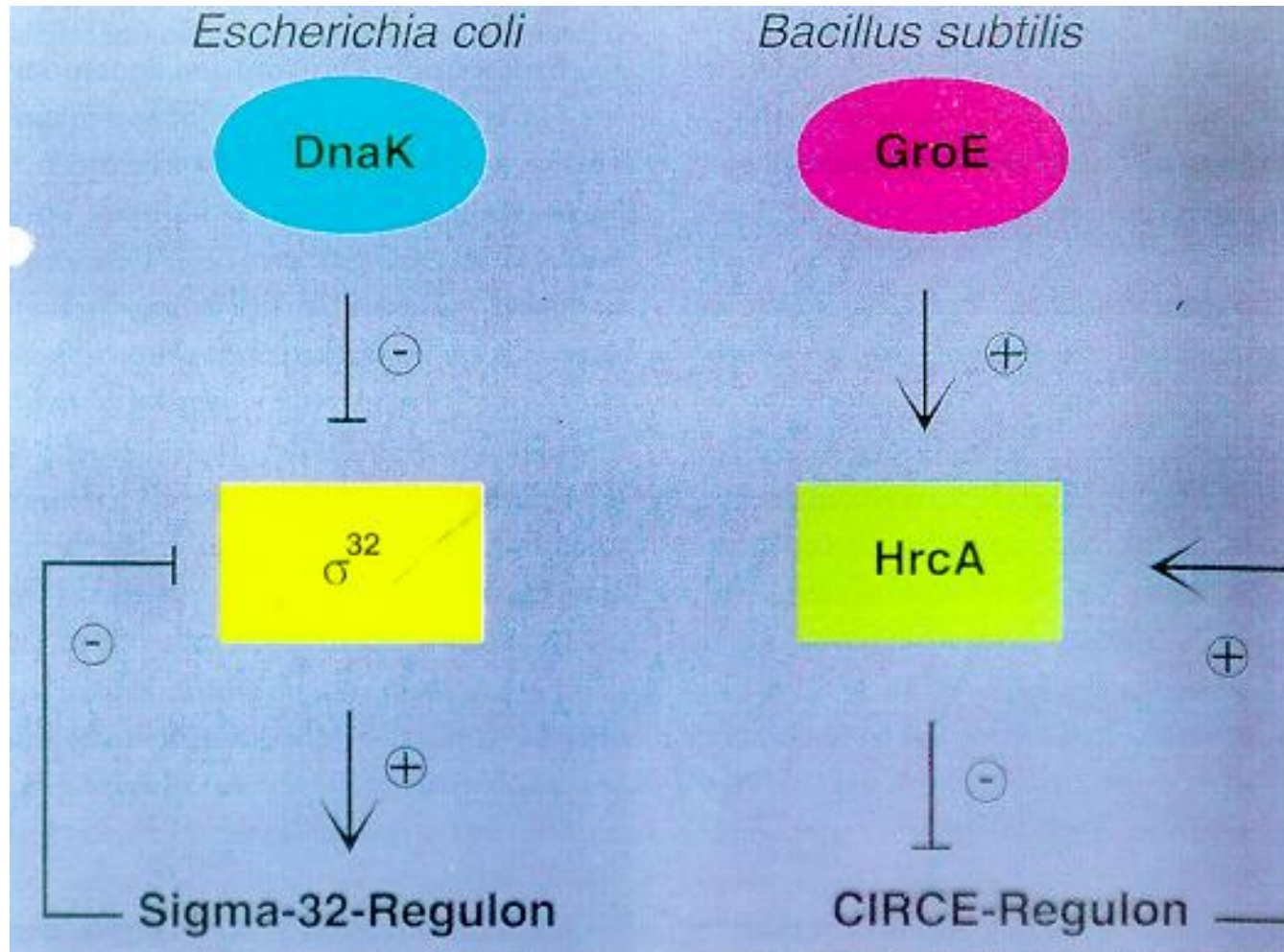
Tabelle 11.1: *E. coli*-Sigma-Faktoren erkennen Promotoren mit verschiedenen Consensussequenzen

Gen	Masse	Verwendung	-35-Sequenz	Entfernung	-10-Sequenz
<i>rpoD</i>	70 kD	alle Gene	TTGACA	16–18 bp	TATAAT
<i>rpoH</i>	32 kD	Hitzeschockgene	CCCTTGAA	13–15 bp	CCCGATNT
<i>rpoE</i>	24 kD	Hitzeschockgene	unbekannt	unbekannt	unbekannt
<i>rpoN</i>	54 kD	Stickstoffmangelgene	CTGGNA	6 bp	TTGCA
<i>fliA</i>	28 kD	Geißelgene	CTAAA	15 bp	GCCGATAA



Regulation der Transkription bei Prokaryoten

! In vielen Bakterien wird die Hitzeschockantwort anders als bei *E. coli* durch ein Repressorprotein reguliert !



Regulation der Transkription bei Prokaryoten

4. Regulatorproteine Repressoren/Aktivatoren

z.B. Modell zur Regulation des *lac* Operons
(β -Galactosidase, Lac-Permease, Transacetylase) in *E. coli*

lac operon

3 5' Template DNA strand

enes

1965 Nobel Prize
in Medicine and Physiology,
Monod, Jacob & Lwoff
Institut Pasteur Paris

3 5' Template DNA strand

(b) Inducer (allolactose)

Copyright © 2006 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Regulation der Transkription bei Prokaryoten

4. Regulatorproteine Repressoren/Aktivatoren

z.B. Modell zur Regulation des *lac* Operons in *E. coli*

Struktur des Lac-Repressorproteins – LacI

Unter Kontrolle eines schwachen Promotors

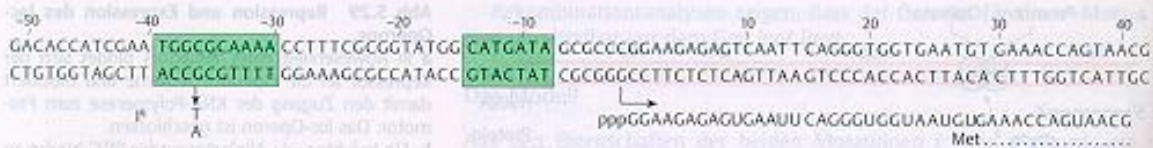


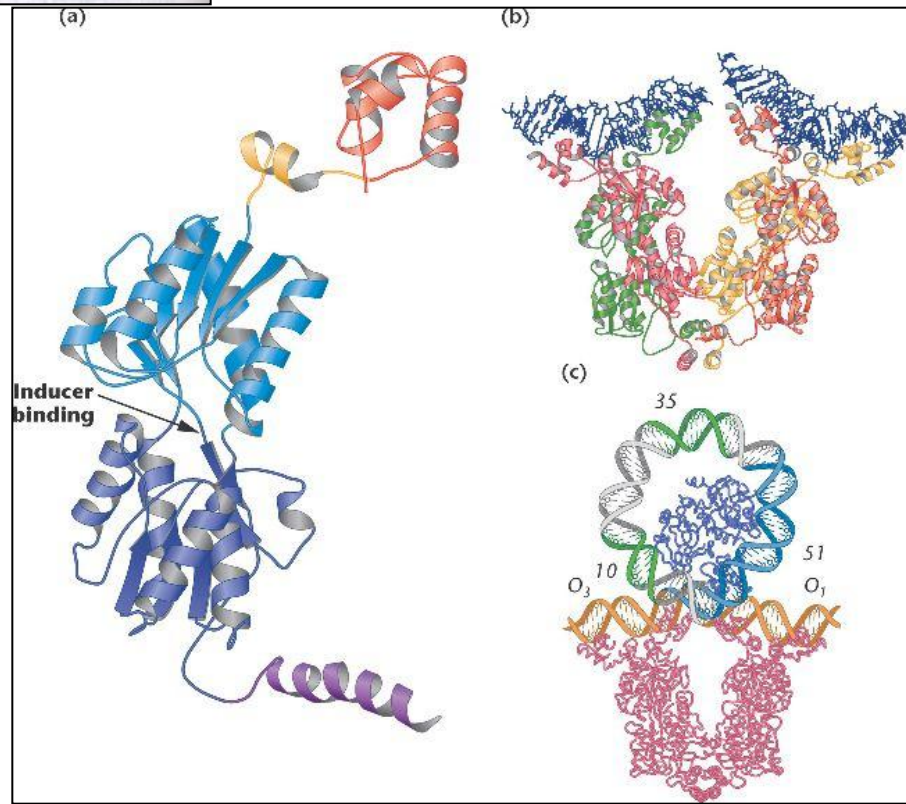
Abb. 5.30 Der Promotor des *lacZ*-Gens. Die wich-

LacI mit drei Domänen:

N-terminal ist die DNA-Bindedomäne

Zentral ist die Induktorbindedomäne

C-terminal ist die Dimerisierungsdomäne



Regulation der Transkription bei Prokaryoten

4. Regulatorproteine

Repressoren/Aktivatoren
z.B. Modell zur Regulation des *lac* Operons in *E. coli*

Modell zur Bindung des Repressors LacI an den

Lac Operator



DNase - protected

TGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTACACA
ACACACCTTAACACTCGCCTATTGTTAAAGTGTGT

A TGTTA C T
T ACAAT G A

OC mutations

a

1 Met-Lys-Pro-Val-Thr-Leu-Tyr-Asp-Val-Ala-Glu-Tyr-Ala-Gly-Val-Ser-Tyr-Gln-Thr-Val-
Helix I

15 Val Ala
i-Mutationen

20

21 Ser-Arg-Val-Val-Asn-Gln-Ala-Ser-His-Val-Ser-Ala-Lys-Thr-Arg-Glu-Lys-Val-Glu-Ala-
Helix II

35

40

41 Ala-Met-Ala-Glu-Leu-Asn-Tyr-Ile-Pro-Asn-Arg-
Helix III

50

b

c

d

kleine Rinne

T A

H₃C

O

H

H

H

H₂C-CH₃ GLN

kleine Rinne

T A

H₃C

O

H

H

H

H

H₂C-CH₃ SER

kleine Rinne

T C

H

H

H

H

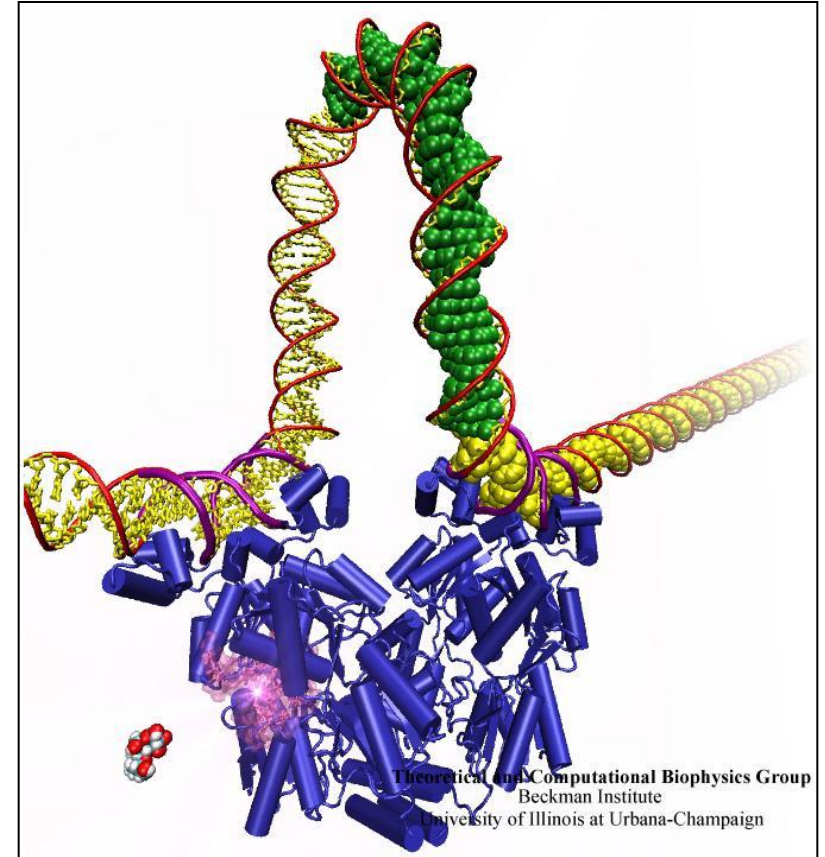
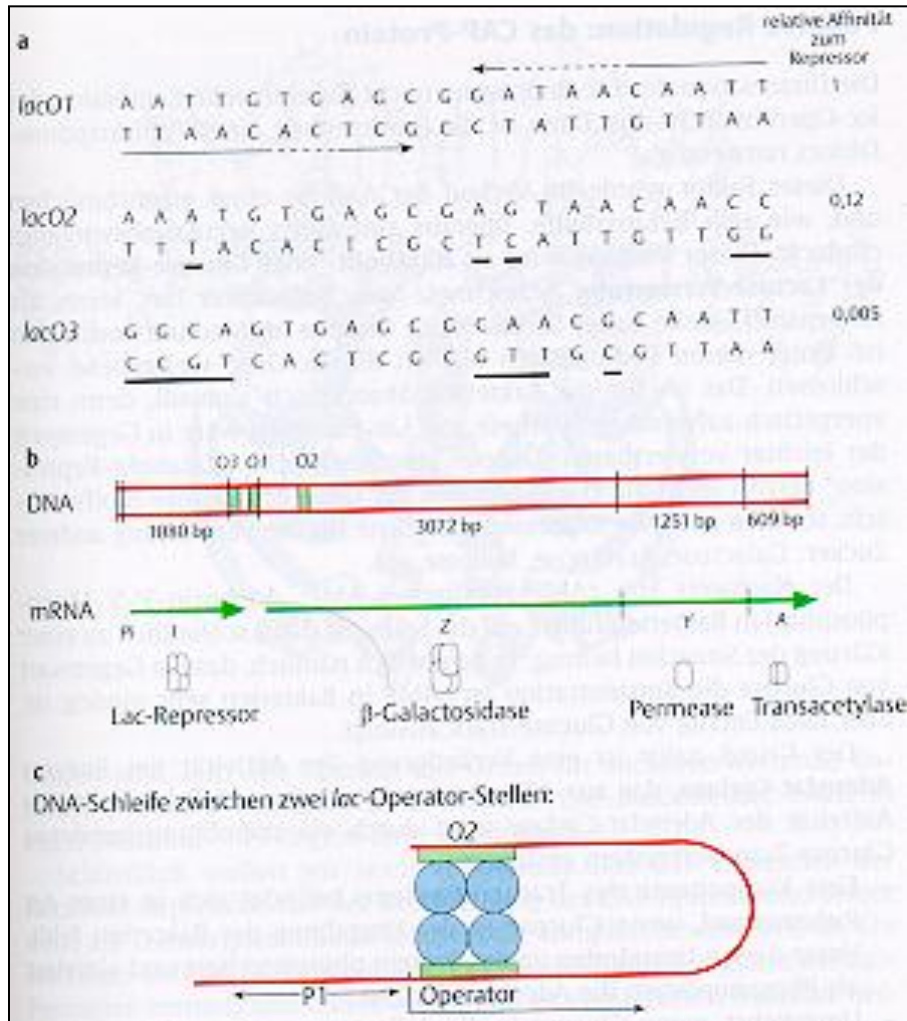
H₃C

H₂C-CH₃ ARG

Regulation der Transkription bei Prokaryoten

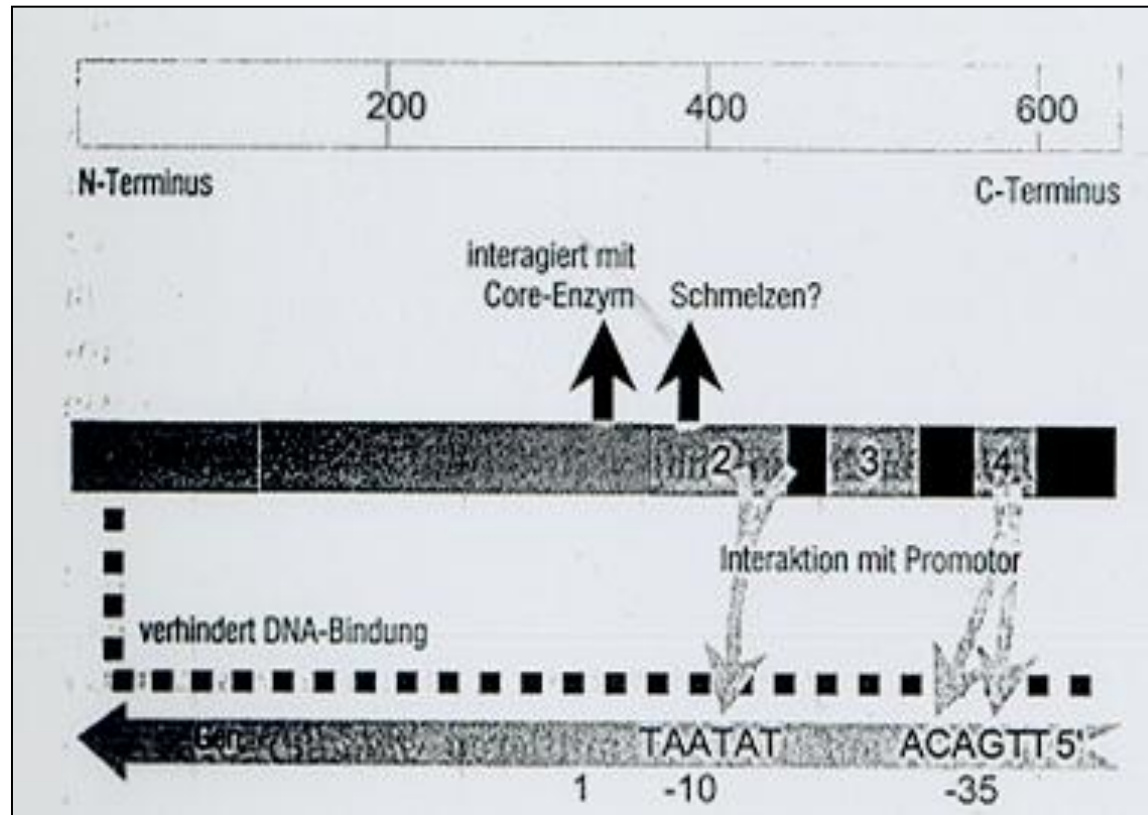
4. Regulatorproteine Repressoren/Aktivatoren

z.B. Modell zur Repression des *lac* Operons am Operator(en)



DNA-Bindedomänen

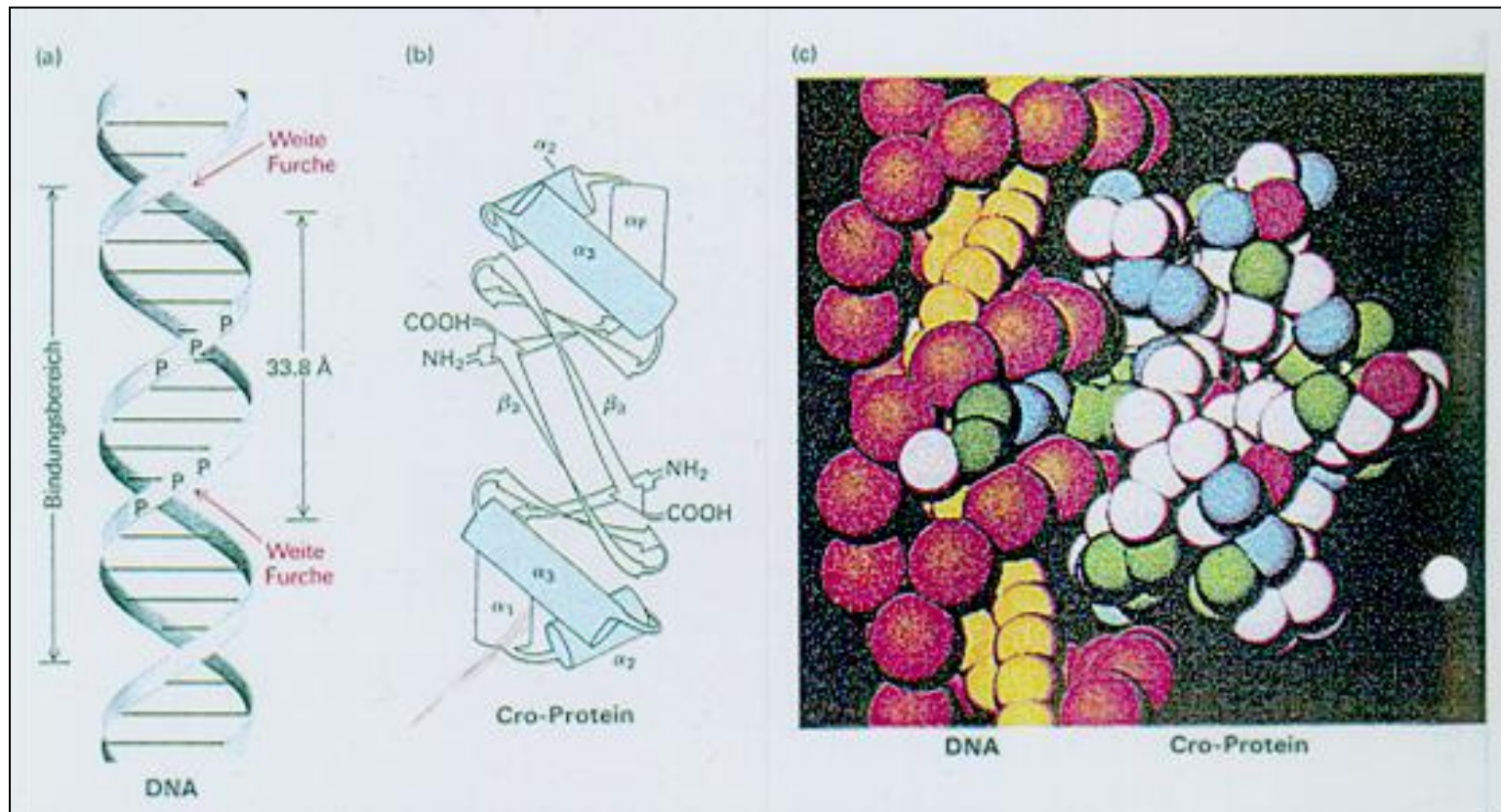
Helix-Turn-Helix-Domäne (Motif) z.B. in Sigmafaktoren



DNA-Bindedomänen

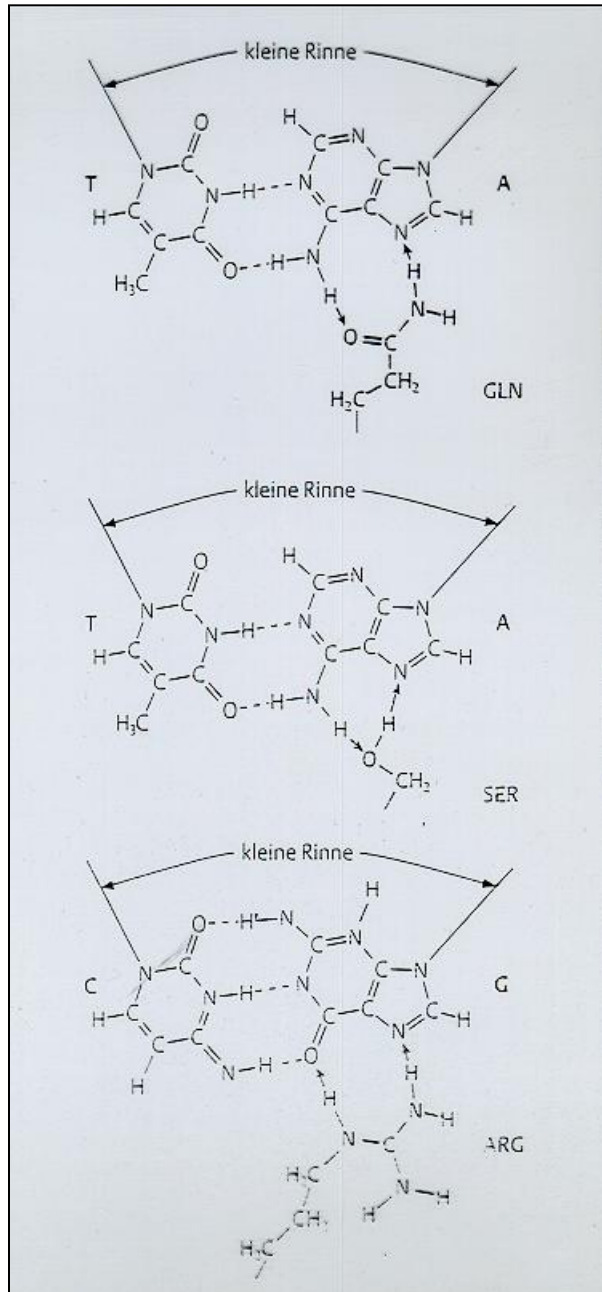
Helix-Turn-Helix-Domäne

Eine Bindehelix legt sich in die große Furche der DNA.



DNA-Bindedomänen

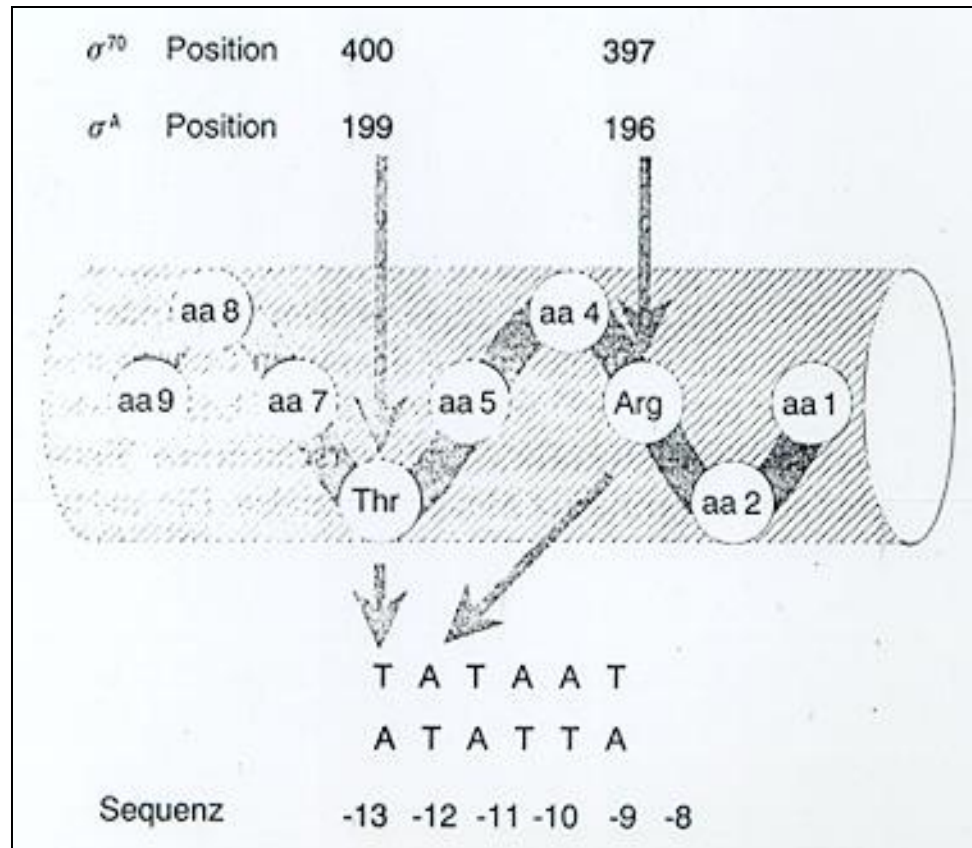
Polare AS-Seitenketten der Bindehelix können spezifisch mit bestimmten Basen über H^+ -Brückenbindungen interagieren.



DNA-Bindedomänen

Helix-Turn-Helix-Motif

z.B. AS-Reste in der Bindehelix von Sigmafaktoren



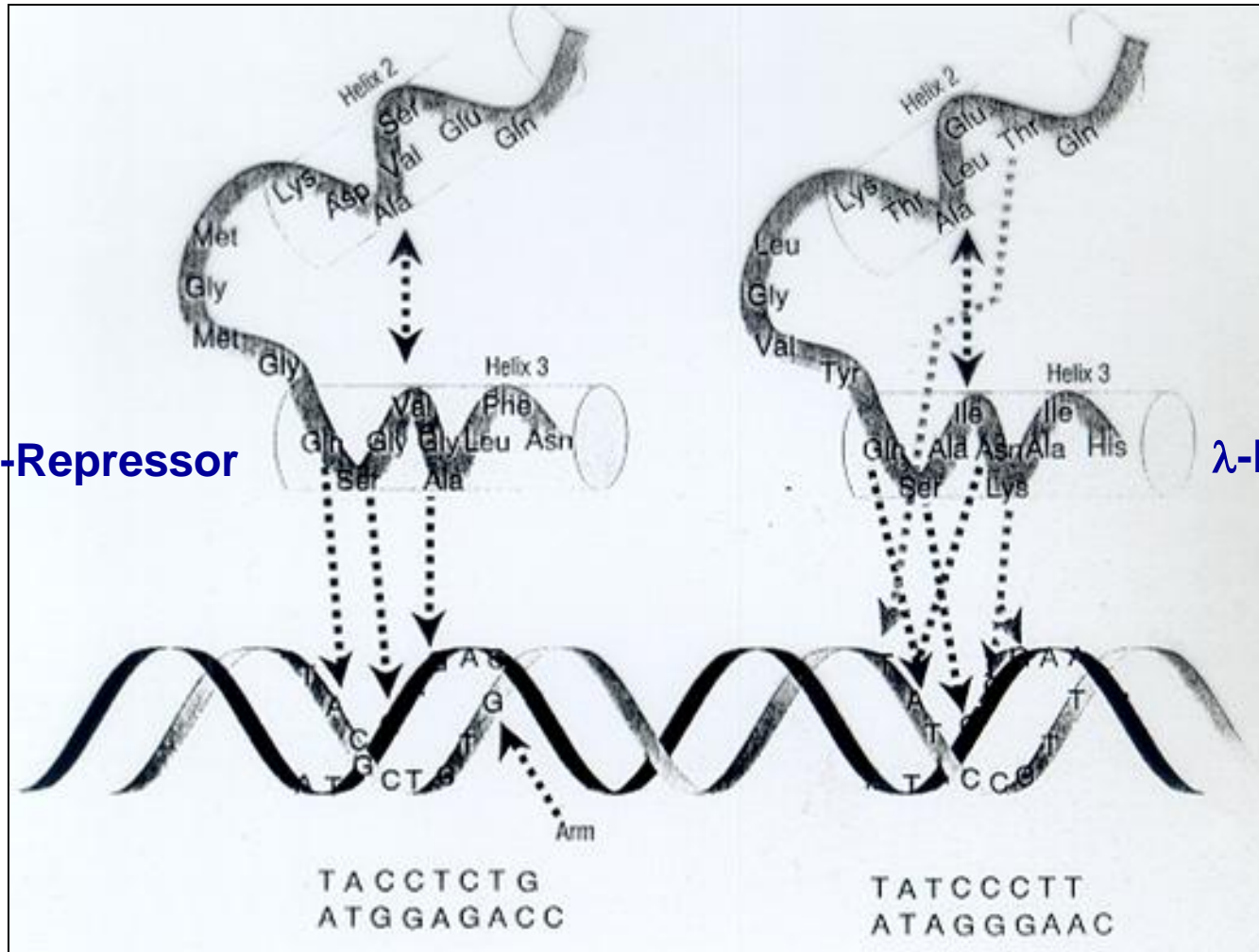
DNA-Bindedomänen

Helix-Turn-Helix-Motif

z.B. AS-Reste in weiteren HTH-Proteinen
„Domain-swapping“ zum positiven Nachweis

Cro-Repressor

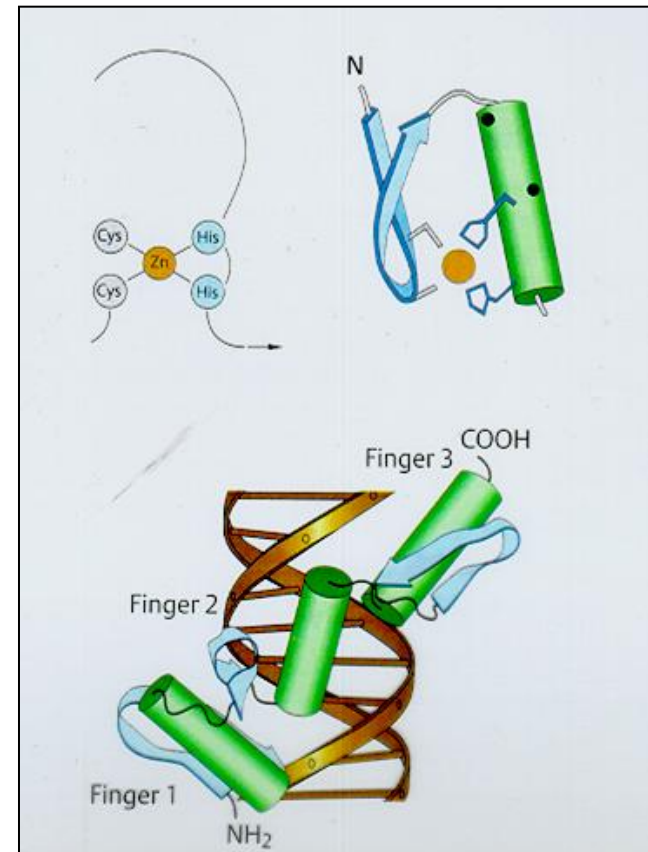
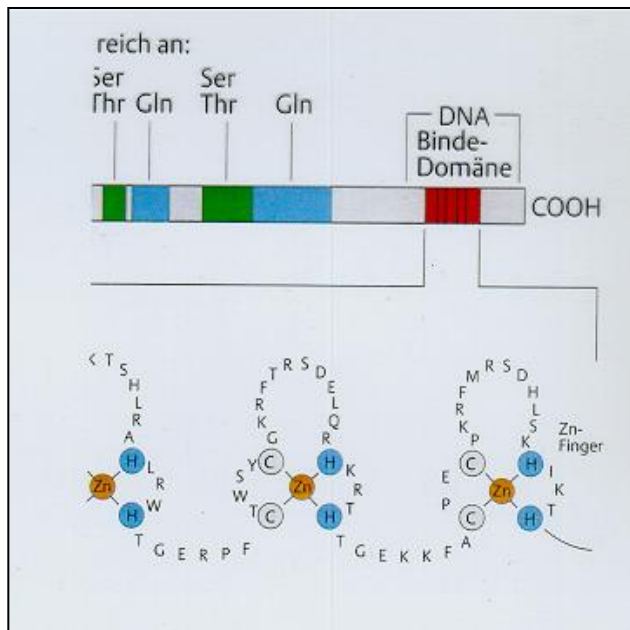
λ-Repressor



Initiation der Transkription – DNA-Bindedomänen

Zink-Finger-Domäne (Motif)

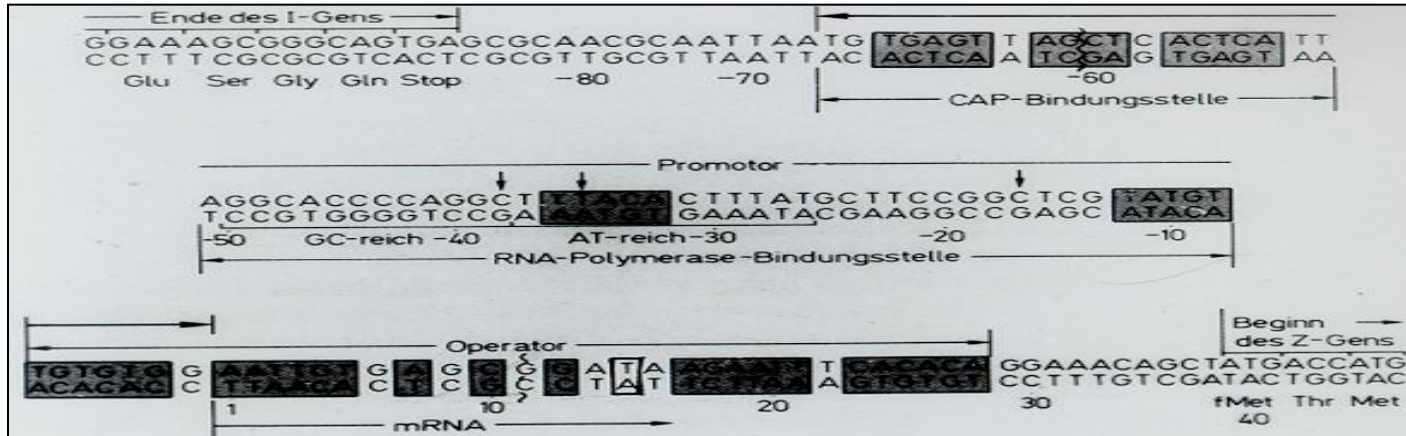
z.B. in SP1 bindet GC-Boxen SP1 oder in TFIIA



Regulation der Transkription bei Prokaryoten

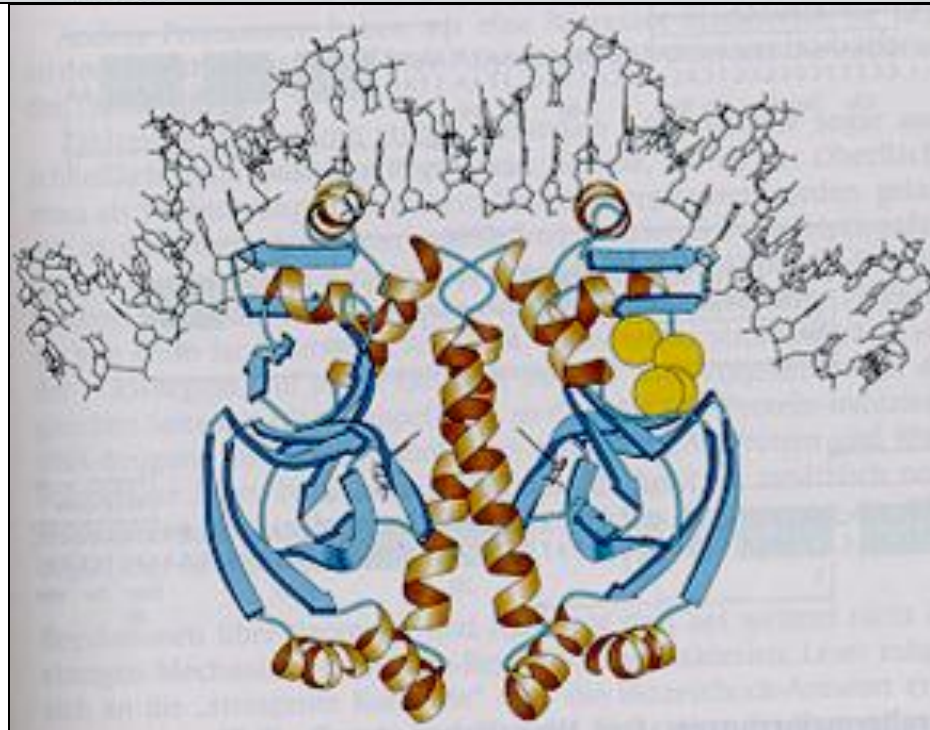
4. Regulatorproteine Repressoren/Aktivatoren

Das *lac* Operon in *E. coli* unterliegt zusätzlich einer positiven Kontrolle!



Bindung des CAP am Aktivatorelement

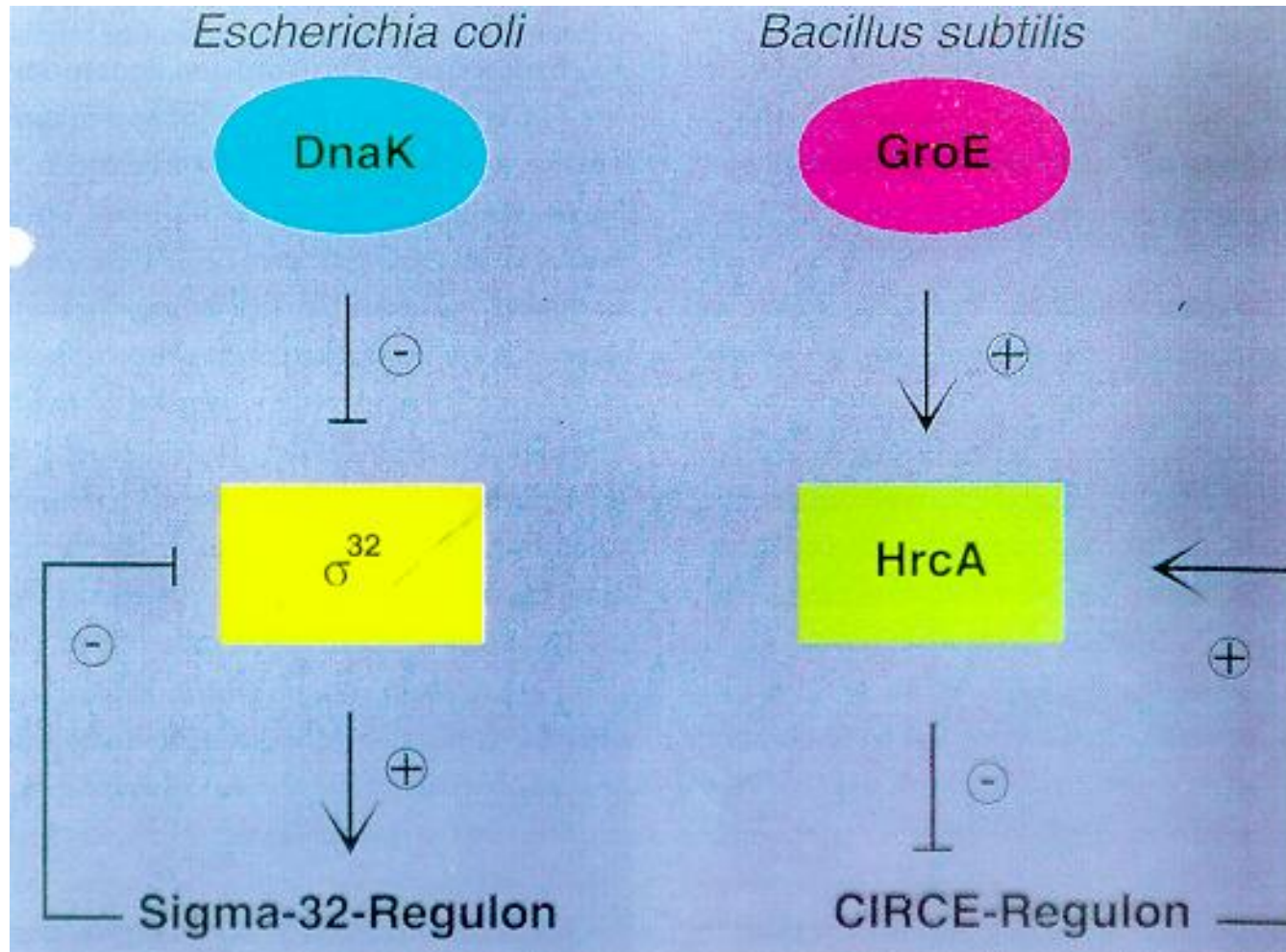
Aktiviert durch cAMP bei Glucosemangel



Regulation der Transkription bei Prokaryoten

4. Regulation der Hitzeschockantwort durch Repression

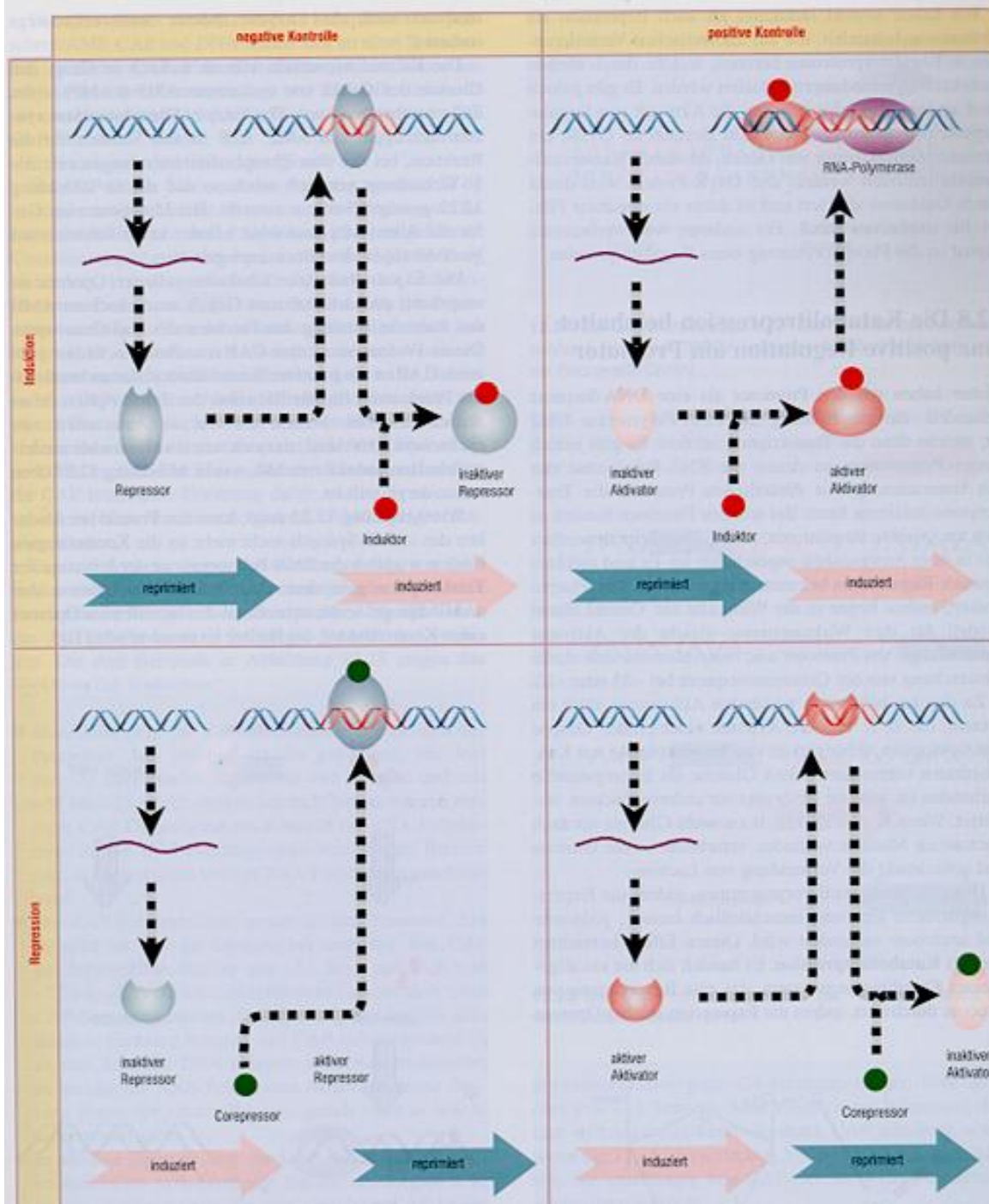
In vielen Bakterien besitzen die Hsp-Gene ein Promotorelement CIRCE
Daran bindet der Repressor HcrA nach Aktivierung durch den Corepressor GroE



Regulation der Transkription bei Prokaryoten

4. Regulatorproteine Repressoren/Aktivatoren

Zusammenhang
Induktion/Repression
und
negative sowie positive Kontrolle

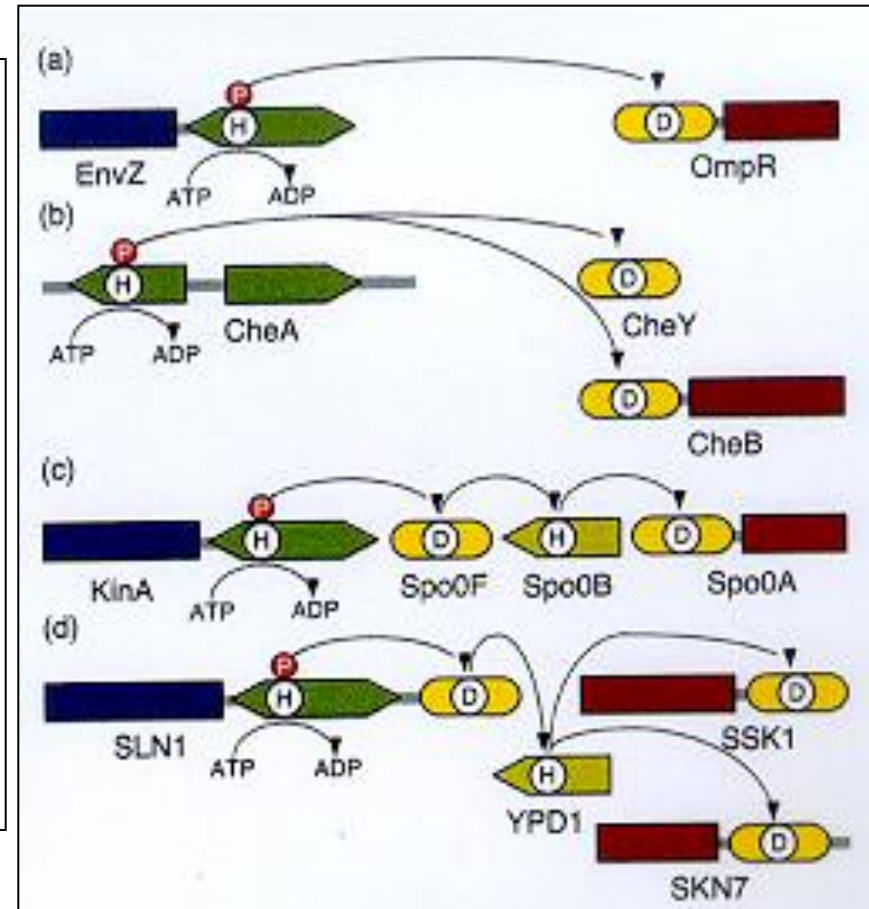


Regulation der Transkription bei Prokaryoten

4. Regulatorproteine Repressoren/Aktivatoren

Beeinflussung der Aktivität von Regulatorproteinen durch Phosphorylierung
2-Komponentensysteme (auch in Eukaryoten)

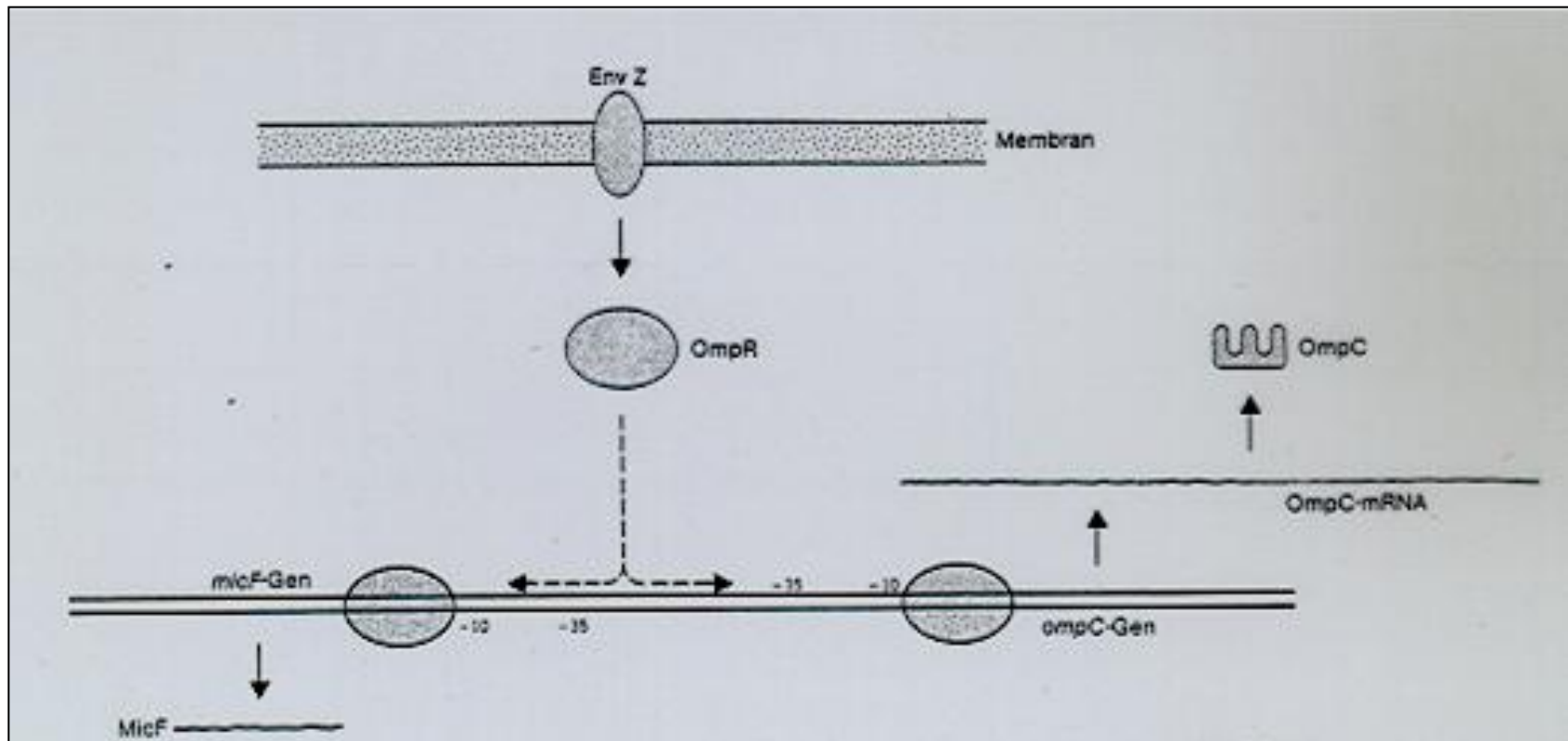
- Histidinkinase – Sensor
- Responseregulator – meist Aktivator
- Sensorsysteme können membrangebunden oder löslich sein
- Histidinkinasen übertragen Phosphorylgruppe auf Response-Regulatoren nach Autophosphorylierung
- Komplexe Systeme mit multiplen Phosphotransfers (Phosphorelay) sind bekannt
- Hybridsysteme existieren



Regulation der Transkription bei Prokaryoten

4. Regulatorproteine Repressoren/Aktivatoren

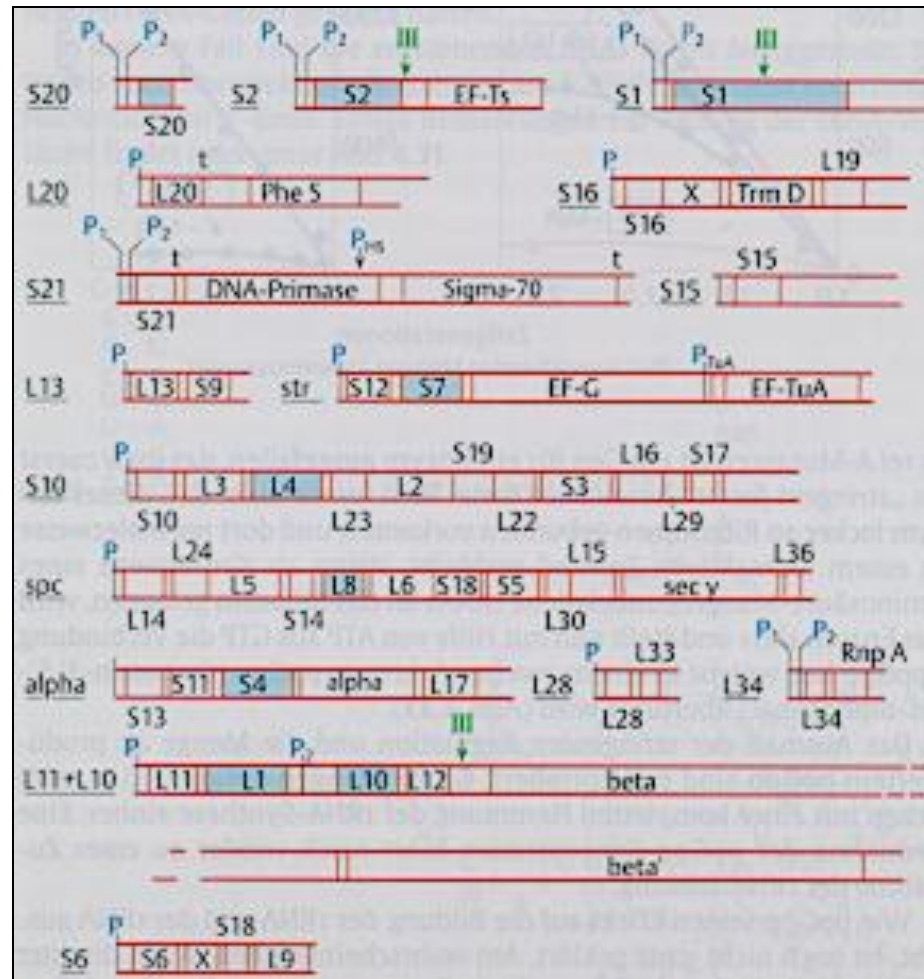
Regulation der Aktivität durch Proteinphosphorylierung
z.B. EnvZ/OmpR zur osmotischen Regulation in *E. coli*



Regulation der Transkription bei Prokaryoten

5. Autoregulation – Genprodukt reguliert eigene mRNA

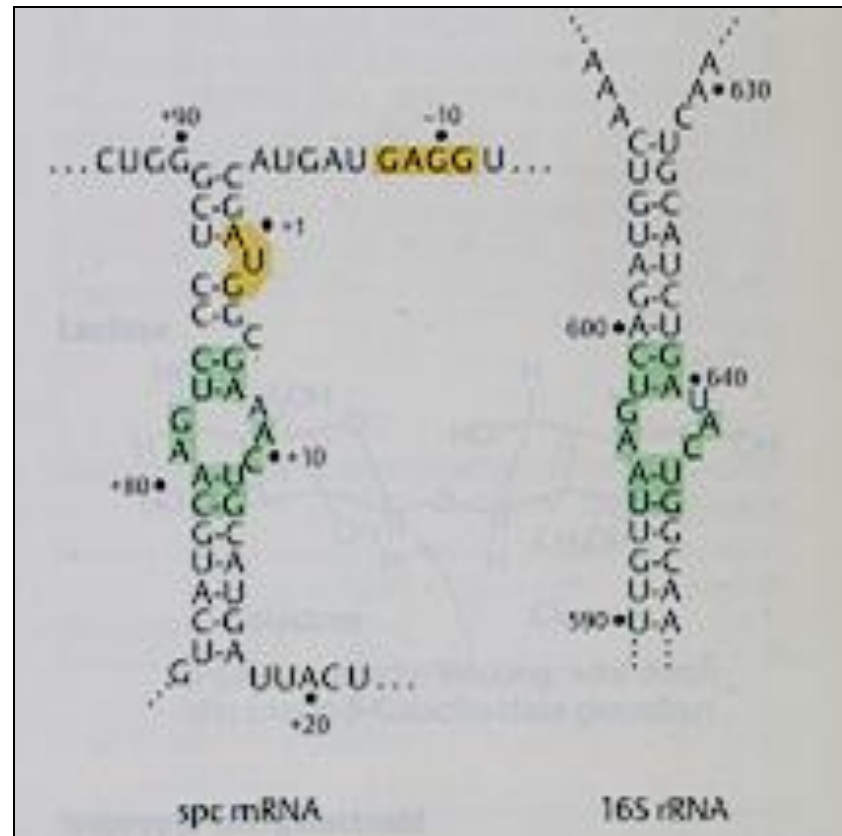
z.B. Regulation der Menge ribosomaler Proteine



Regulation der Transkription bei Prokaryoten

5. Autoregulation

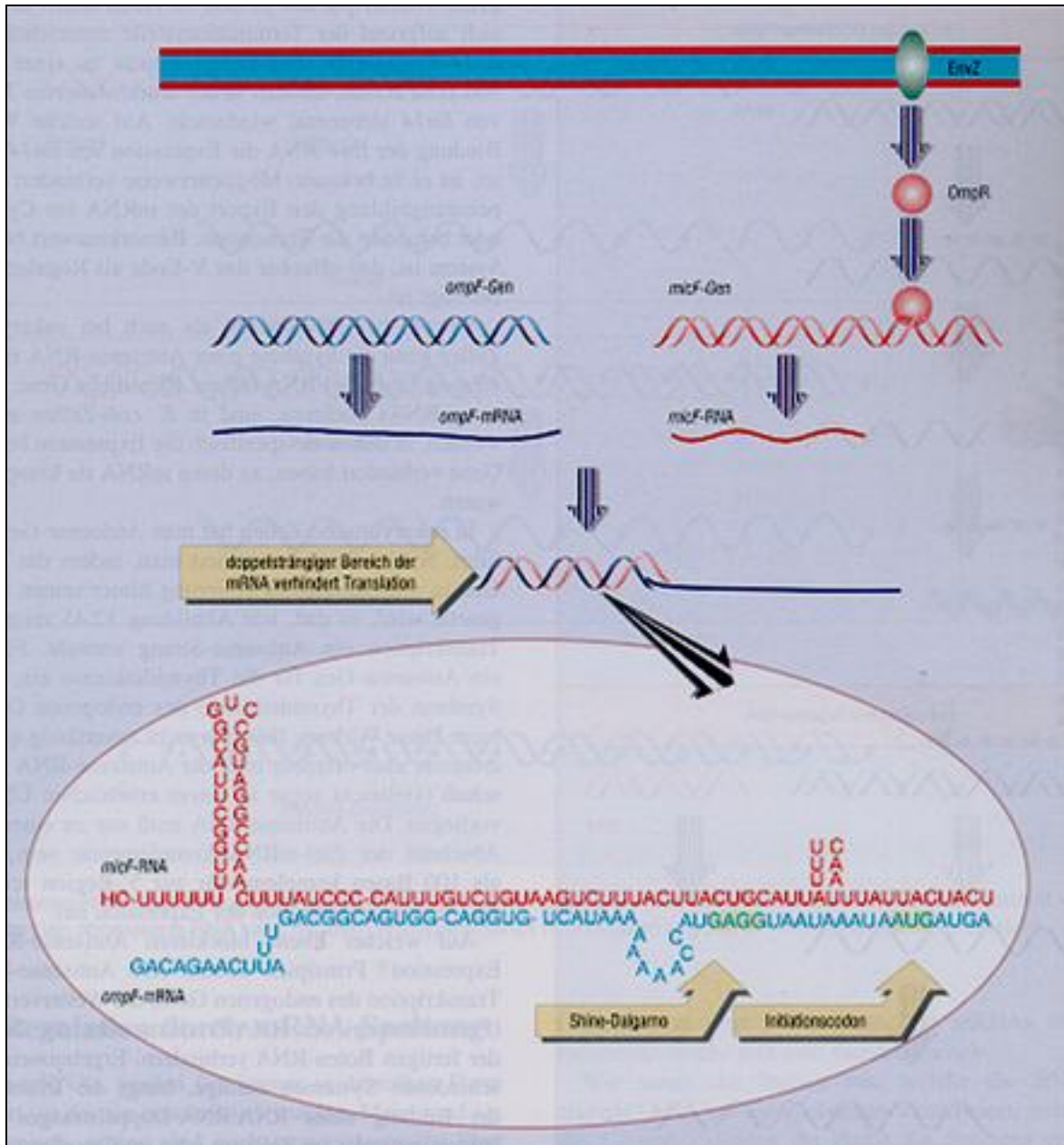
z.B. Bindestelle für das ribosomale Protein S8 an der ribosomalen 16s rRNA bildet sich an eigener mRNA

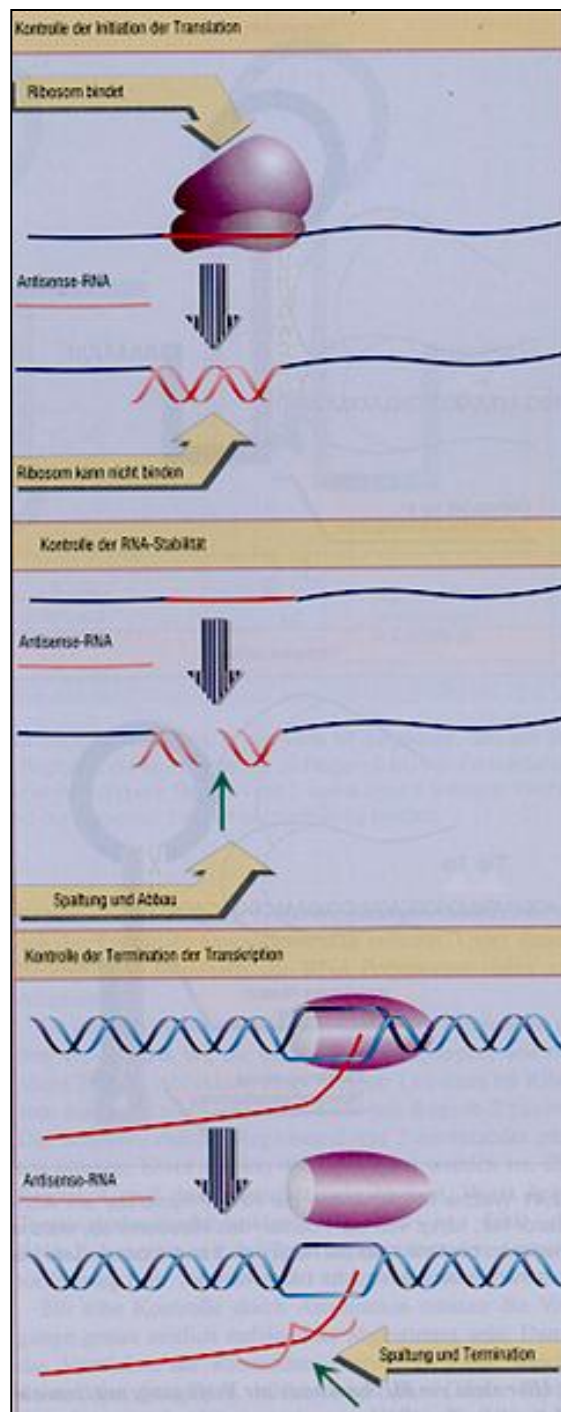


Regulation der Transkription bei Prokaryoten

6. regulatorische RNA

z.B. Regulation von *ompF* durch *micF*, non-coding RNA (klassische als antisense bezeichnet) die von einem separaten Gen kdoiert ist und mit der Ziel-RNA (hier *ompF* mRNA) wechselwirkt.





Regulation der Transkription bei Prokaryoten

6. regulatorische RNA

Wirkungsweise von regulatorischen RNAs

Instabilität und Abbau der dsRNA
 Termination der Transkr. durch dsRNA
 Verhinderung der Translation



Regulation der Transkription bei Prokaryoten

6. antisense RNA – RNA wird von einem geninternen Promotor in Gegenrichtung zur normalen mRNA abgelesen – 100erte Beispiele

Künstlich erzeugte antisense RNA wird (wurde) häufig zur Kontrolle eines Zielgens genutzt werden (heute siRNA-Technik)

