

Einführung in die Molekularbiologie

Prof. Dr. Martin Hagemann

Vorlesung 5

Regulation der Transkription bei Prokaryoten

6. Antisense & ncRNA

7. Riboswitches

8. Attenuation

9. Antitermination

10. Genumlagerung

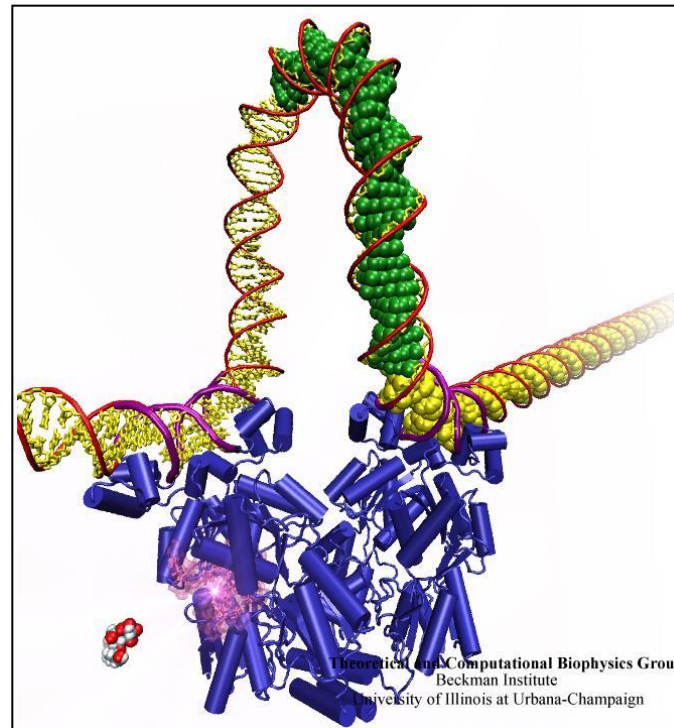
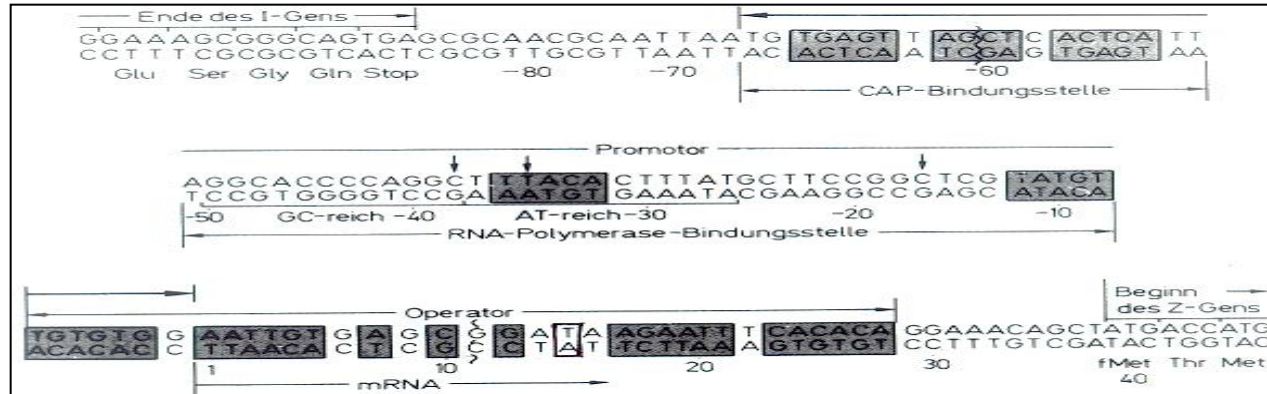
DNA-bindende Proteine



Regulation der Transkription bei Prokaryoten

4. Regulatorproteine Repressoren/Aktivatoren

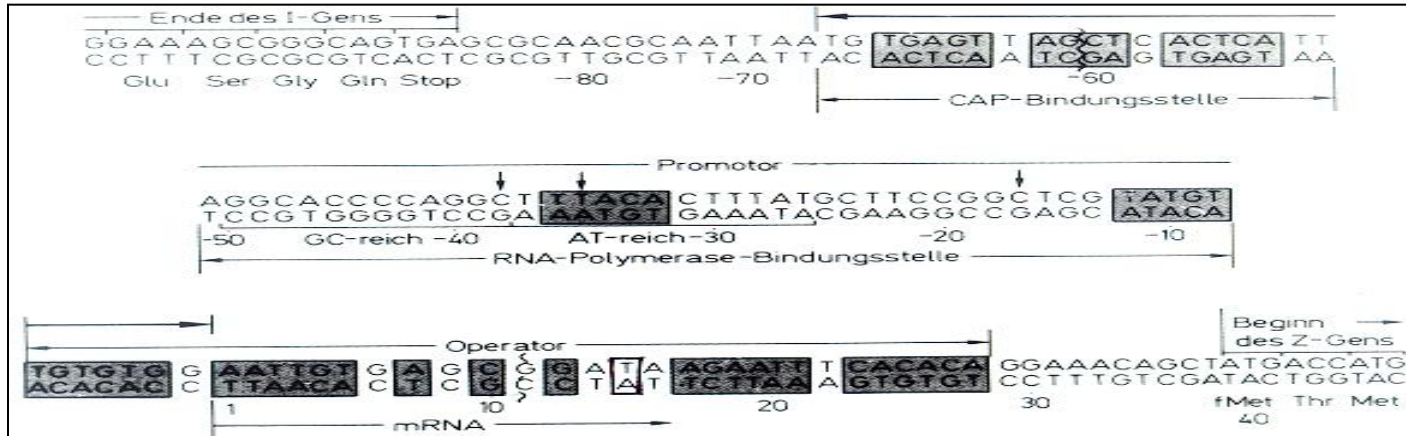
z.B. Modell zur Repression des *lac* Operons am Operator(en)



Regulation der Transkription bei Prokaryoten

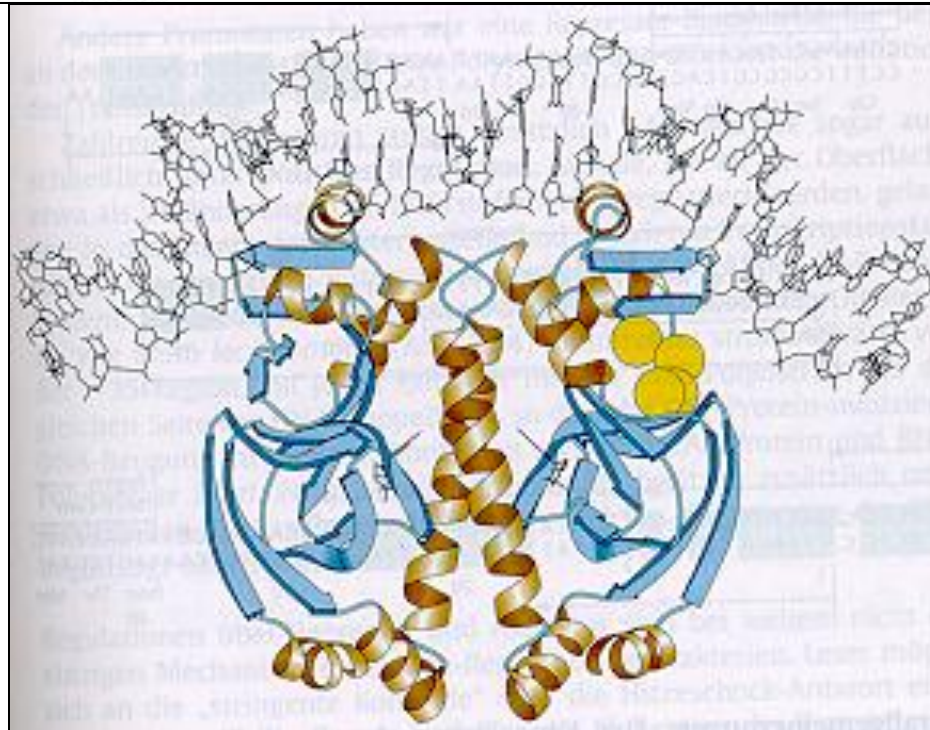
4. Regulatorproteine Repressoren/Aktivatoren

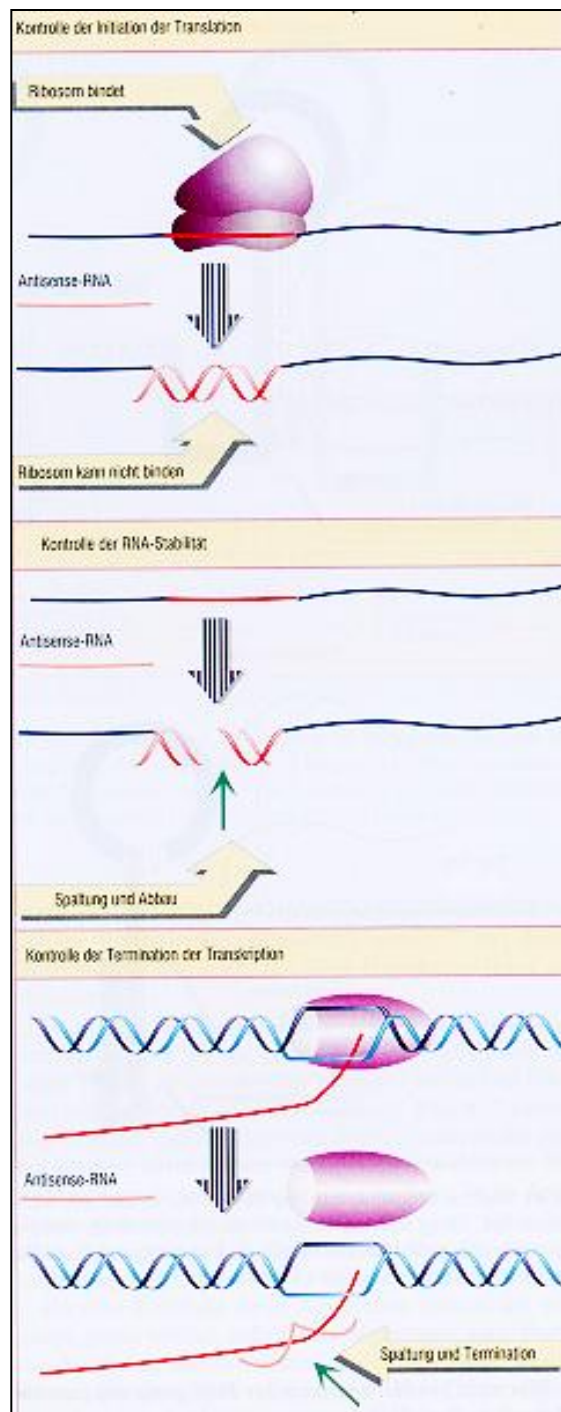
Das *lac* Operon in *E. coli* unterliegt zusätzlich einer positiven Kontrolle!



Bindung des CAP am
Aktivatorelement

Aktiviert durch cAMP
bei Glucosemangel





Regulation der Transkription bei Prokaryoten

6. regulatorische RNA

Wirkungsweise von regulatorischen RNAs

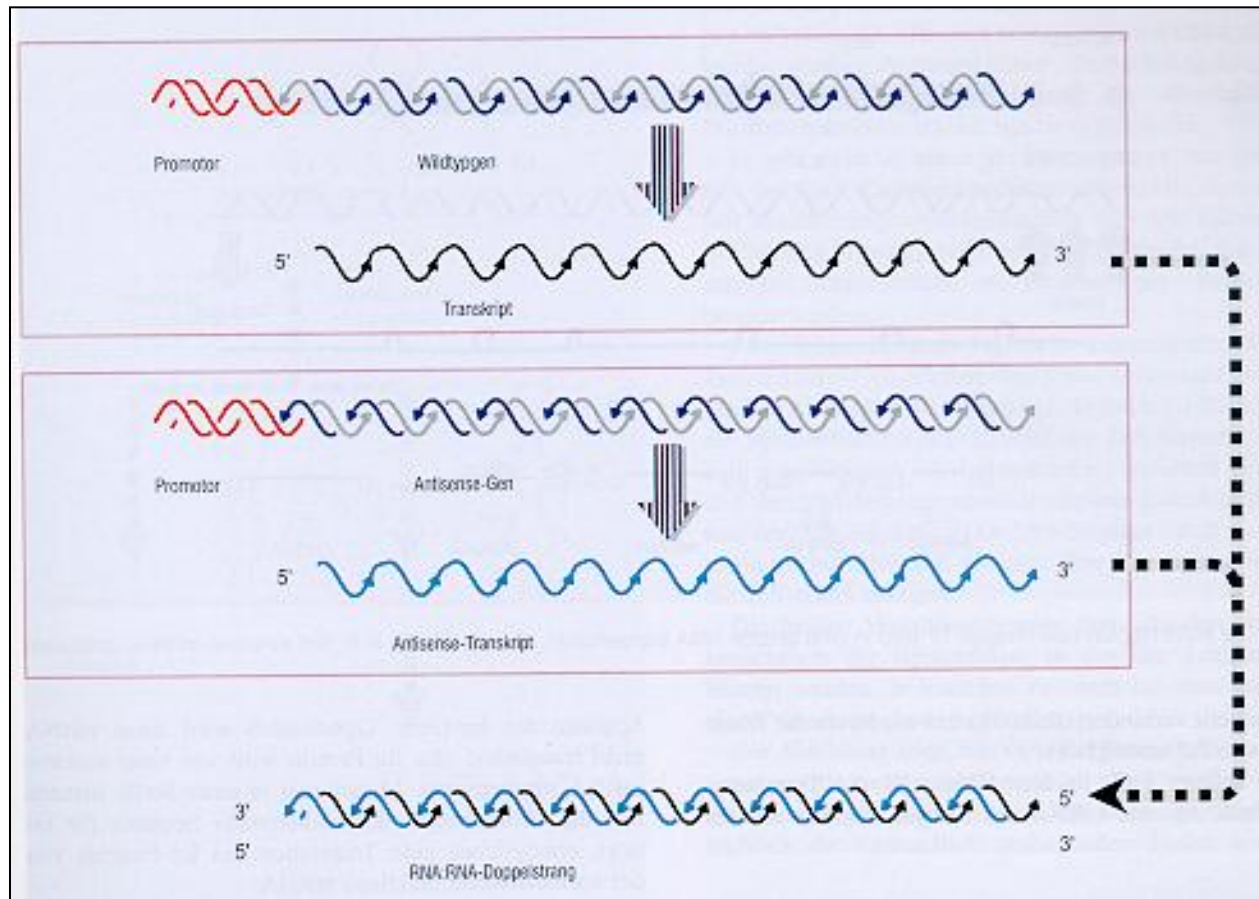
Instabilität und Abbau der dsRNA
Termination der Transkription durch dsRNA



Regulation der Transkription bei Prokaryoten

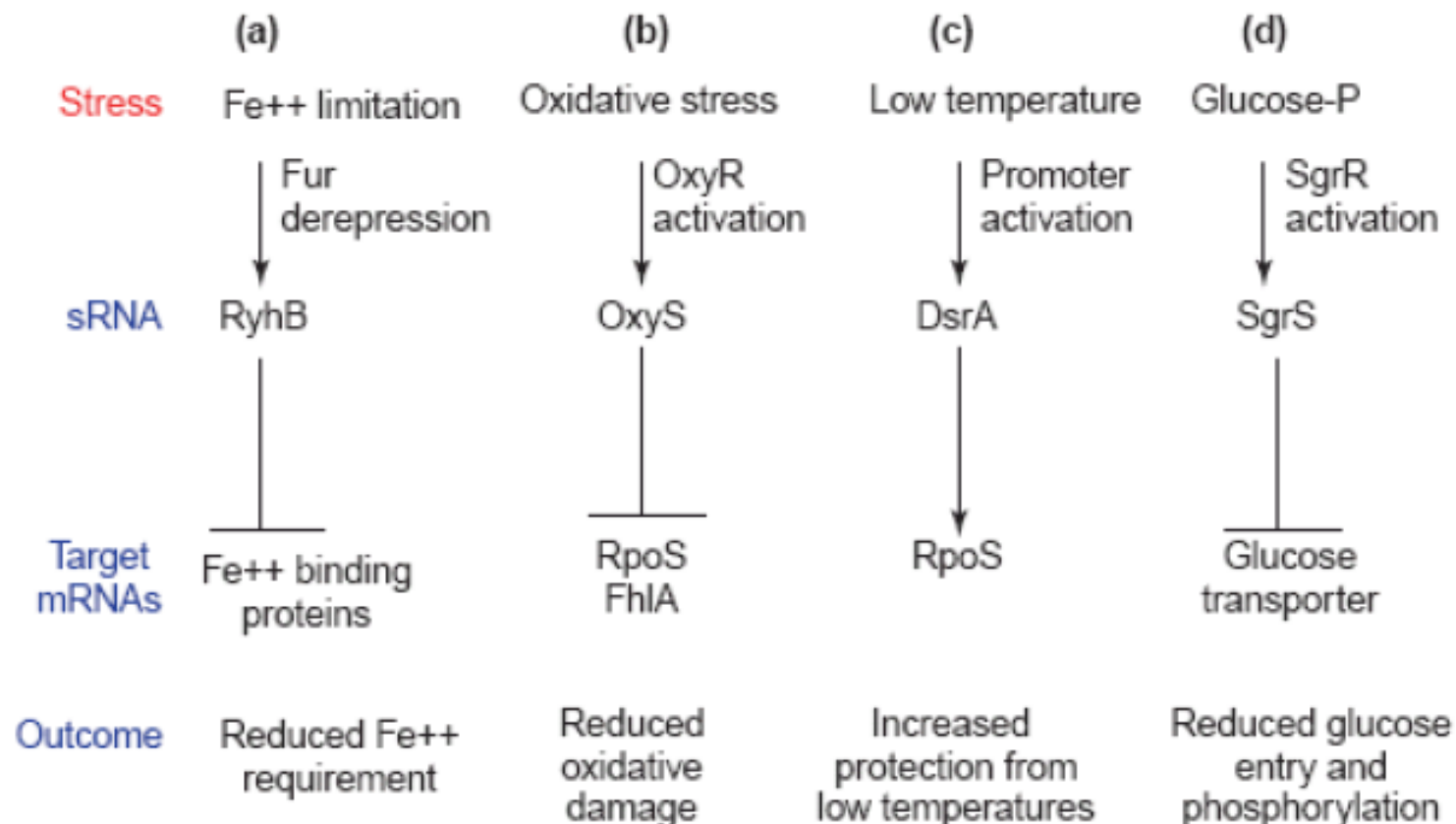
6. antisense RNA – RNA wird von einem geninternen Promotor in Gegenrichtung zur normalen mRNA abgelesen – 100erte Beispiele

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



Environmental stress response involves non-coding RNAs

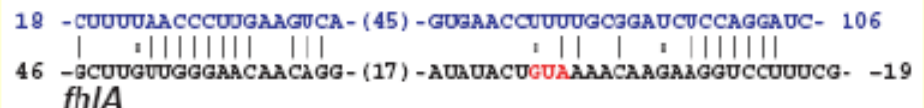
Example *E. coli* ~80 ncRNAs known:



RyhB matches



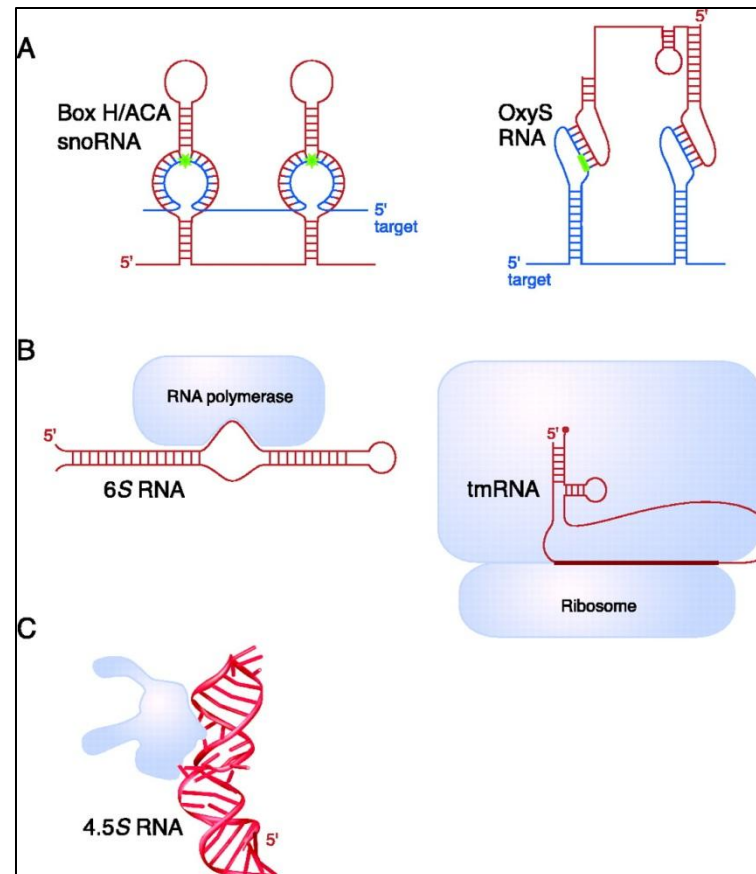
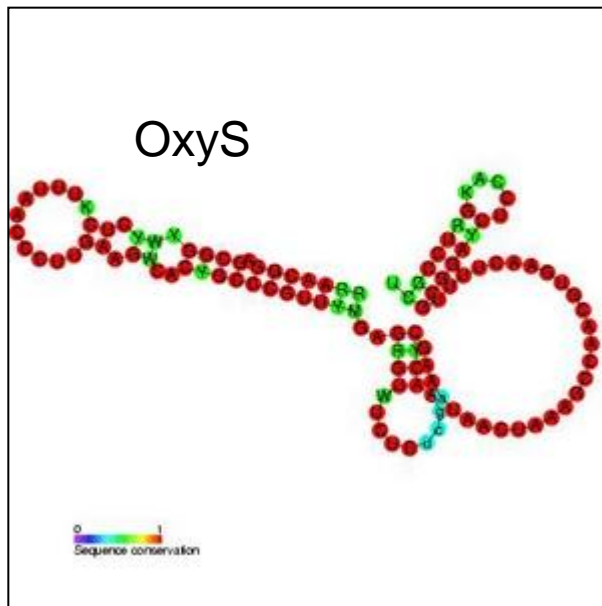
OxyS match



Regulation der Transkription bei Prokaryoten

6. ncRNAs

Non-coding RNAs, häufig in intergenen Bereichen
Definierte Sekundärstruktur erlaubt negative aber auch positive
Kontrolle der mRNA Stabilität, Translation bzw. Transkription

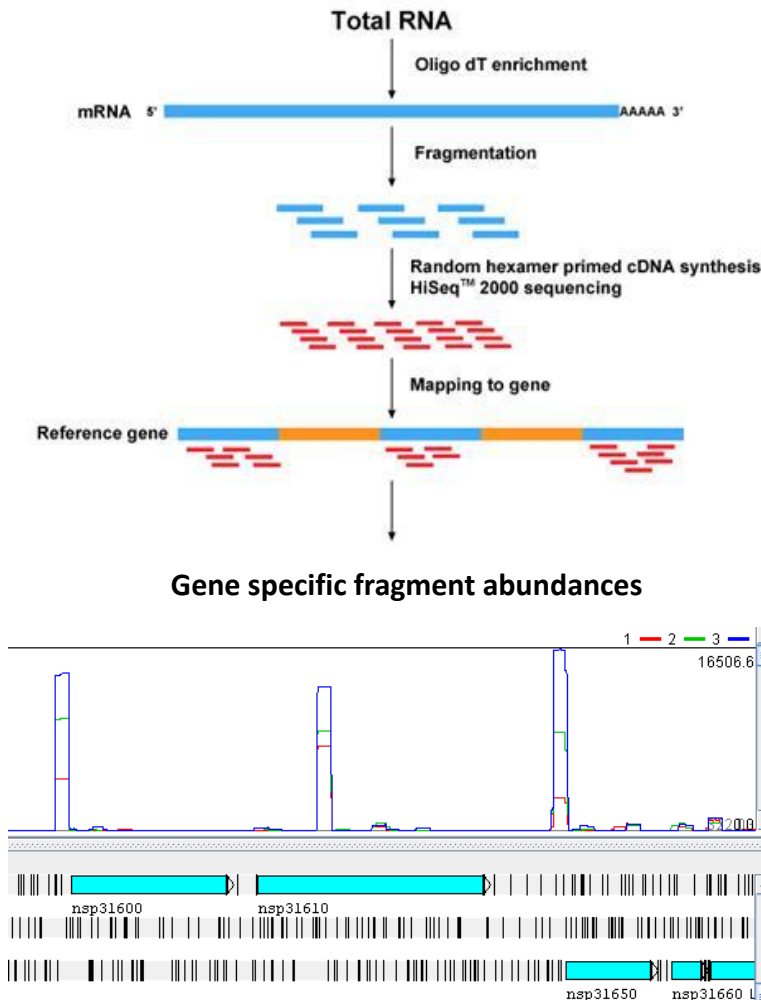


Gisela Storz (2002)
An Expanding Universe of Noncoding RNAs
Science 296, 1260-1263



Regulation der Transkription bei Prokaryoten

6. ncRNAs sind häufiger als gedacht in Bakterien



Mit Hilfe von „next-generation-sequencing“ Methoden ist es möglich, die Expression eines gesamten Genoms zu quantifizieren.

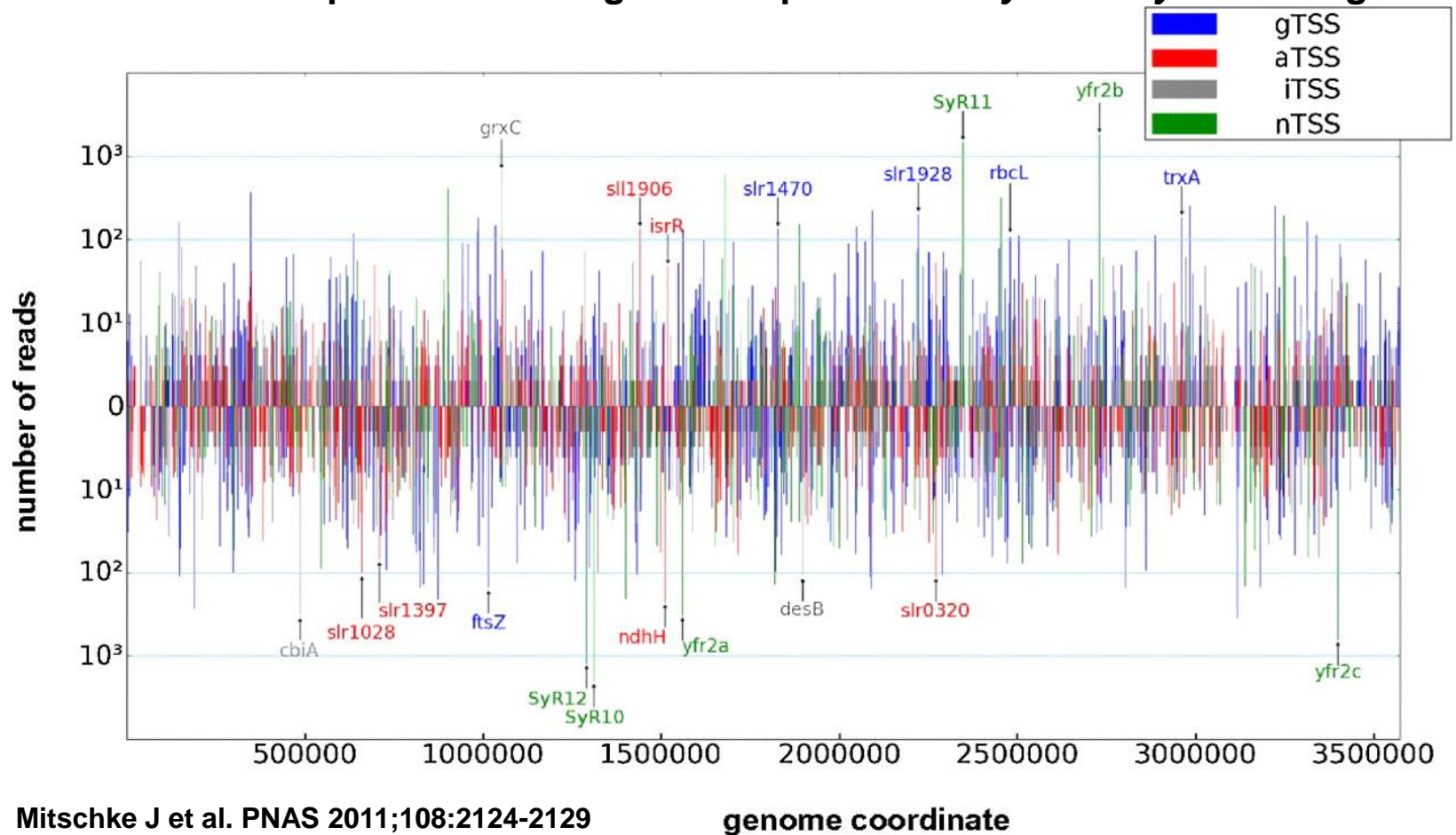
- „high throughput“ Sequenzierung von cDNA-Gemischen
- Bestimmung von TSS (Transkriptionsstartpunkte)



Regulation der Transkription bei Prokaryoten - 6. ncRNAs

Synechocystis 6803 kodiert genau so viele regulatorische RNAs wie mRNAs!

Occurrence of 3213 promoters along a linear plot of the *Synechocystis* 6803 genome



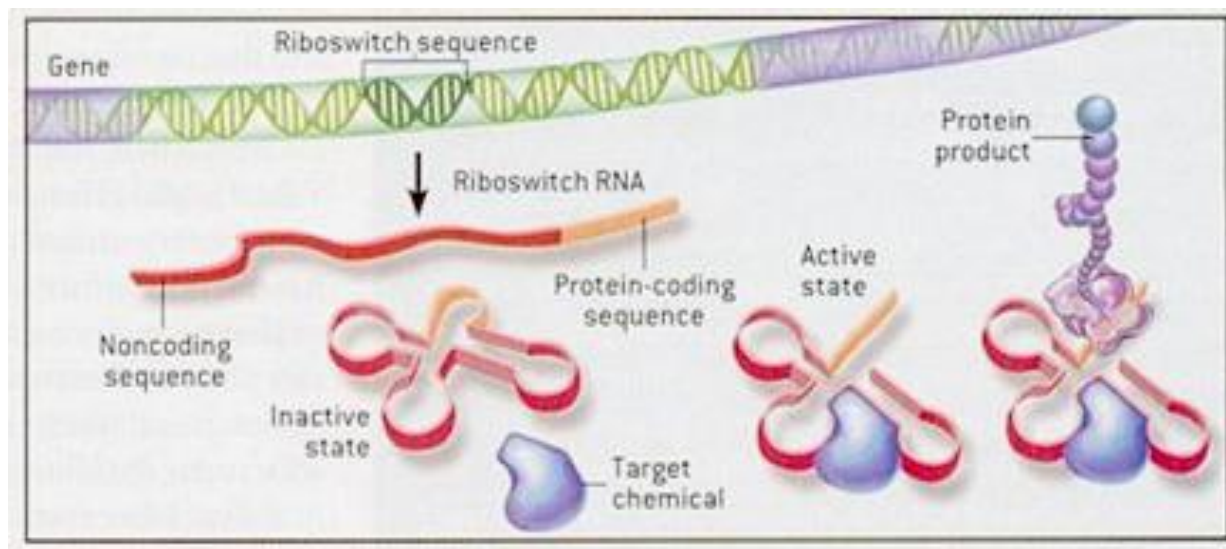
Mitschke J et al. PNAS 2011;108:2124-2129

genome coordinate

7. Riboswitch

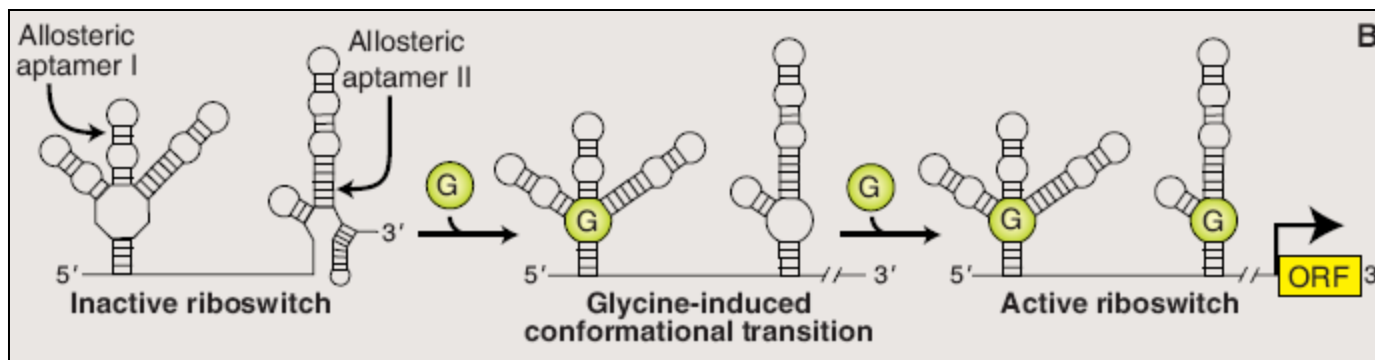
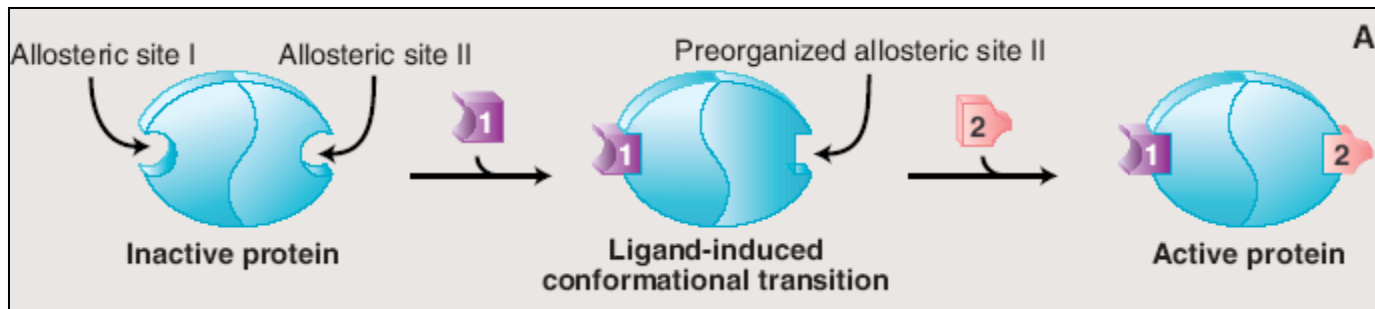
Repression/Aktivierung auf RNA-Ebene bei Bakterien und Eukaryoten!

- Definition: Riboswitches sind strukturelle Domänen innerhalb des 5`-UTR einiger mRNAs, die als Metabolit-abhängige genetische Kontrollelemente agieren.
- Zwei wichtige Funktionen:
- 1) Bildung von hochselektiven Bindestellen (Aptamer) für das Target-Molekül ohne die Hilfe von Proteinen
 - 2) Bindung des Target-Moleküls führt zu allosterischer Reorganisation der RNA-Sekundär-/Tertiär-Struktur der 5`-UTR, was eine Veränderung der Genexpression hervorruft



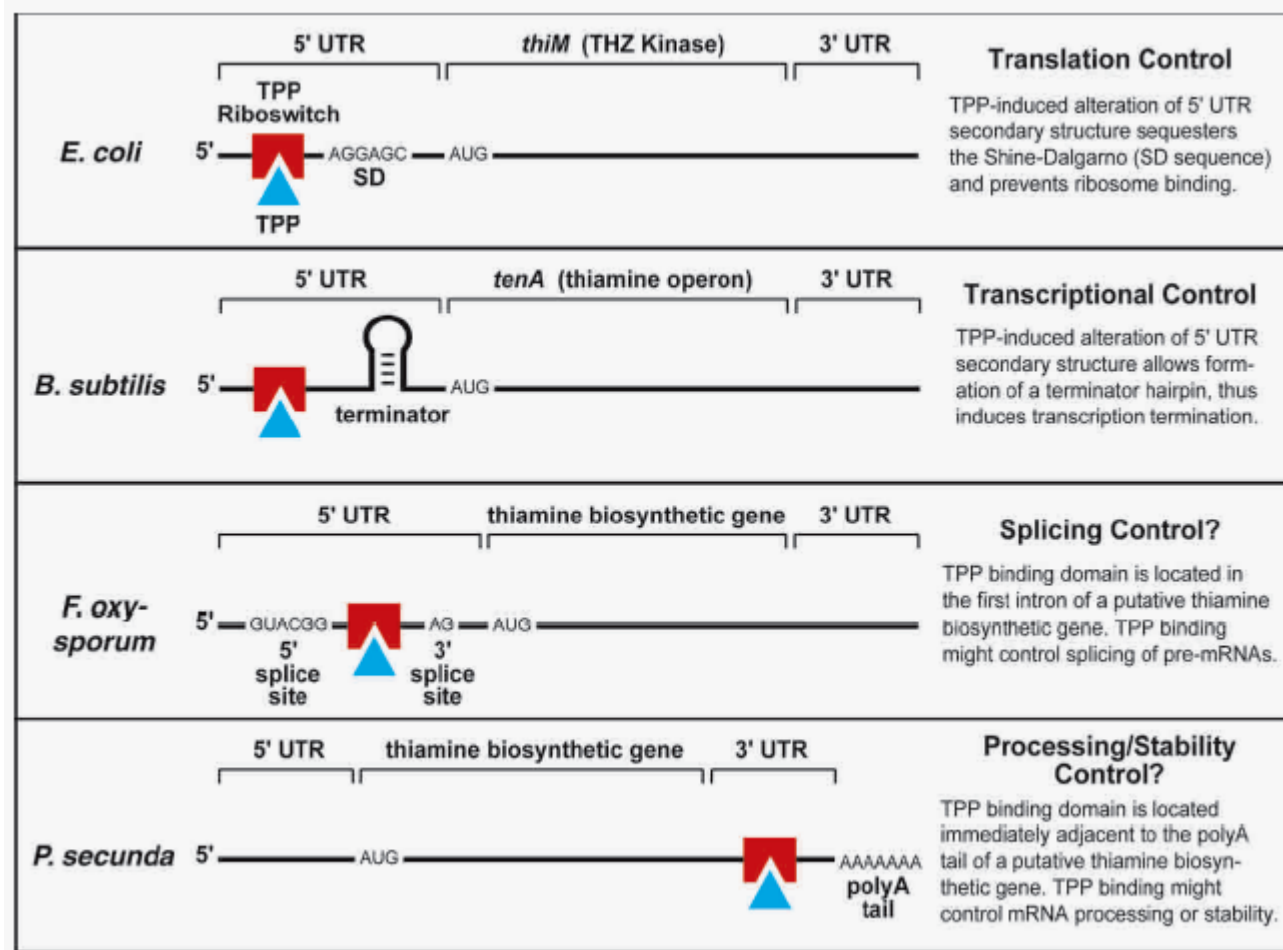
7. Riboswitch

Riboswitches zeigen allosterische Effekte inklusive kooperative und antikooperative Effekte!



7. Riboswitch

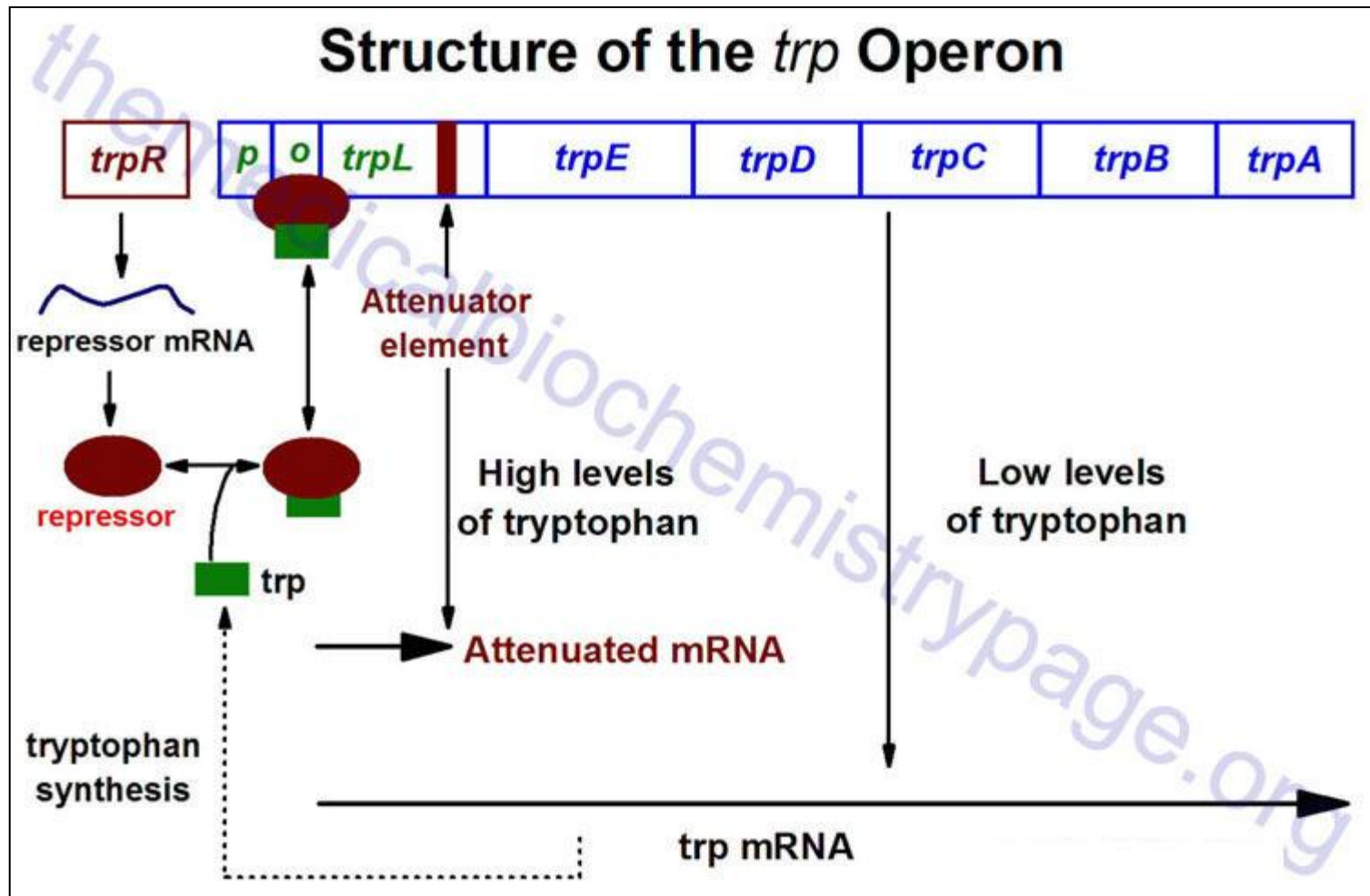
Riboswitches wirken auf verschiedenen Ebenen!



Regulation der Transkription bei Prokaryoten

8. Attenuation

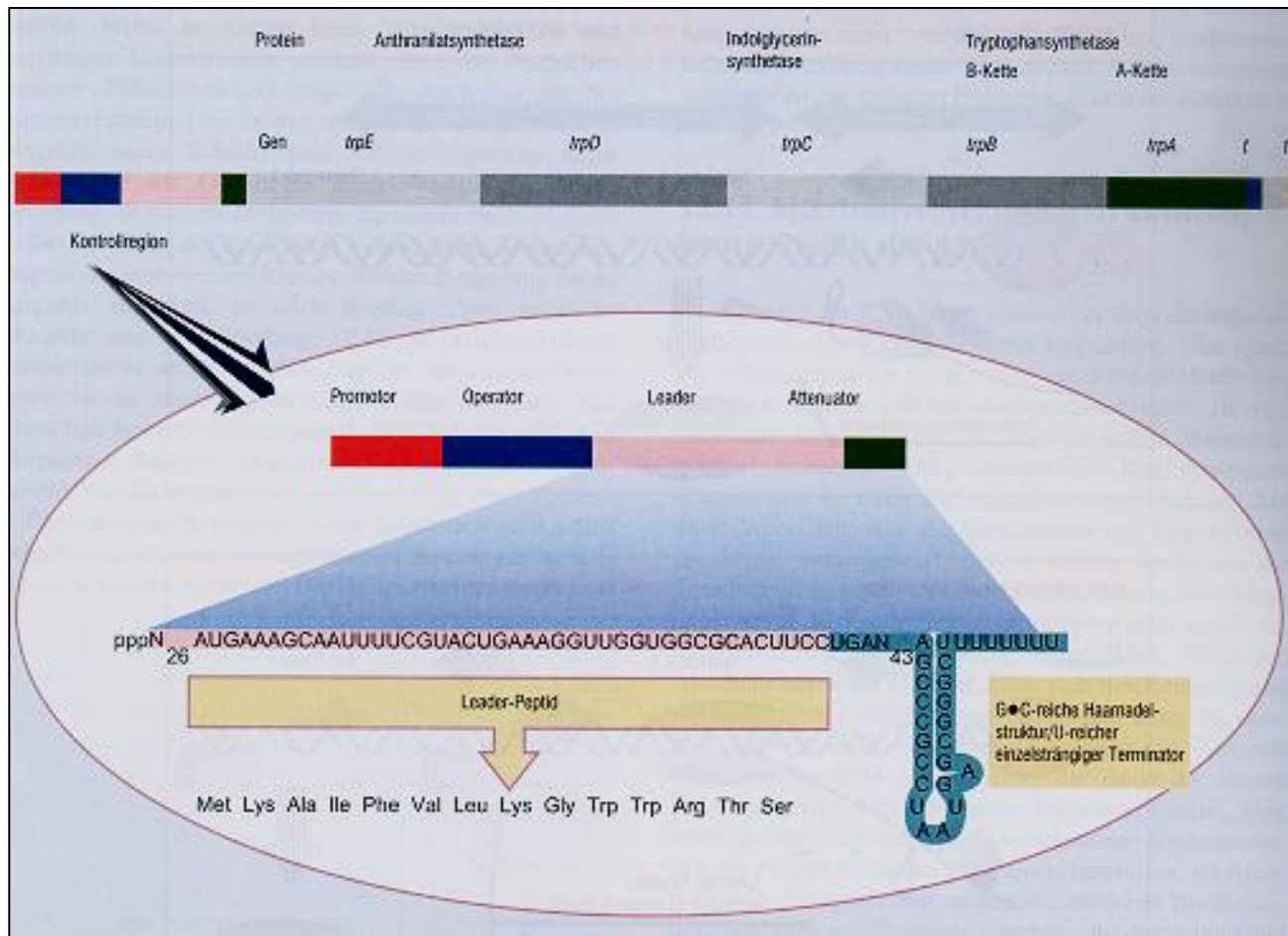
z.B. Regulation des *trp*-Operons in *E. coli*



Regulation der Transkription bei Prokaryoten

8. Attenuation

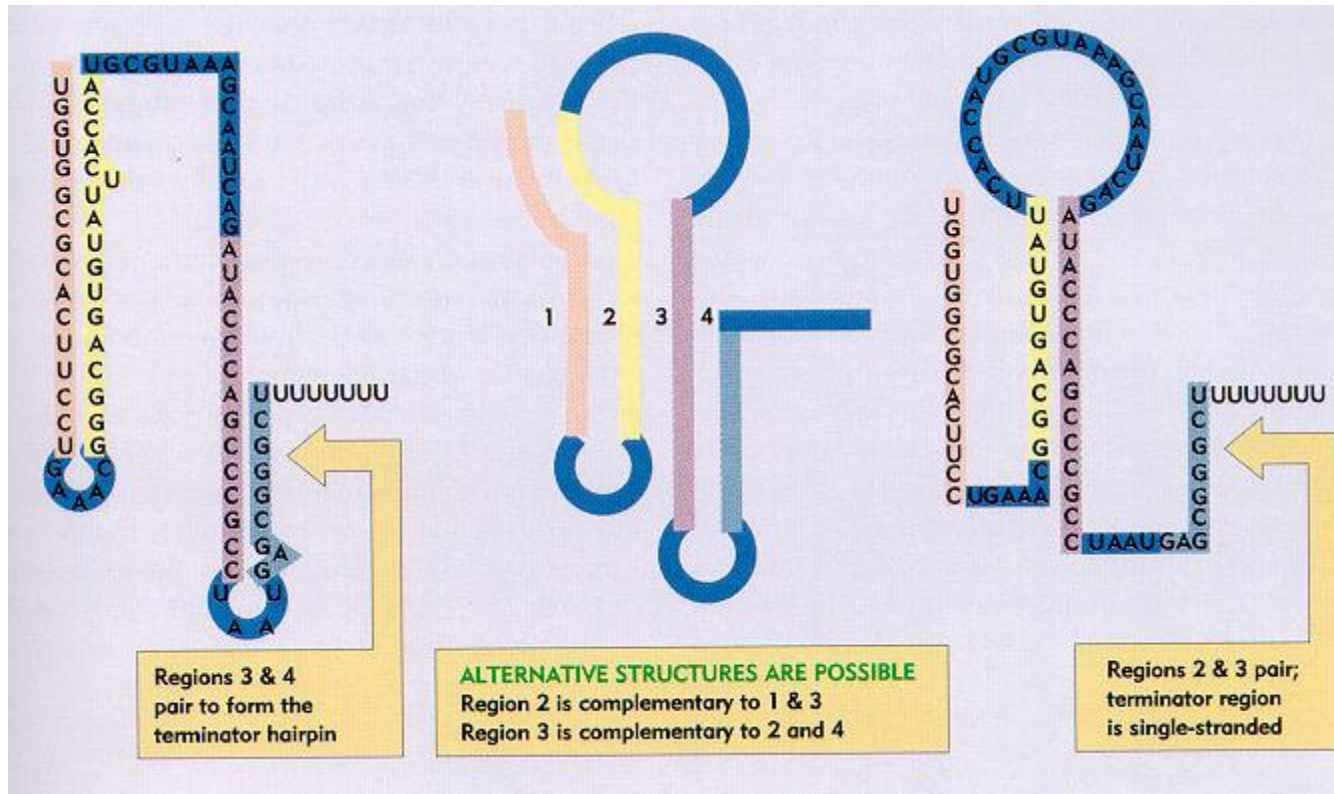
z.B. Regulation des *trp*-Operons in *E. coli*



Regulation der Transkription bei Prokaryoten

8. Attenuation

Die RNA des Leader-Peptids kann mehrere Sekundärstrukturen einnehmen.



Die Translationsgeschwindigkeit bestimmt, welche Paarung entstehen kann.

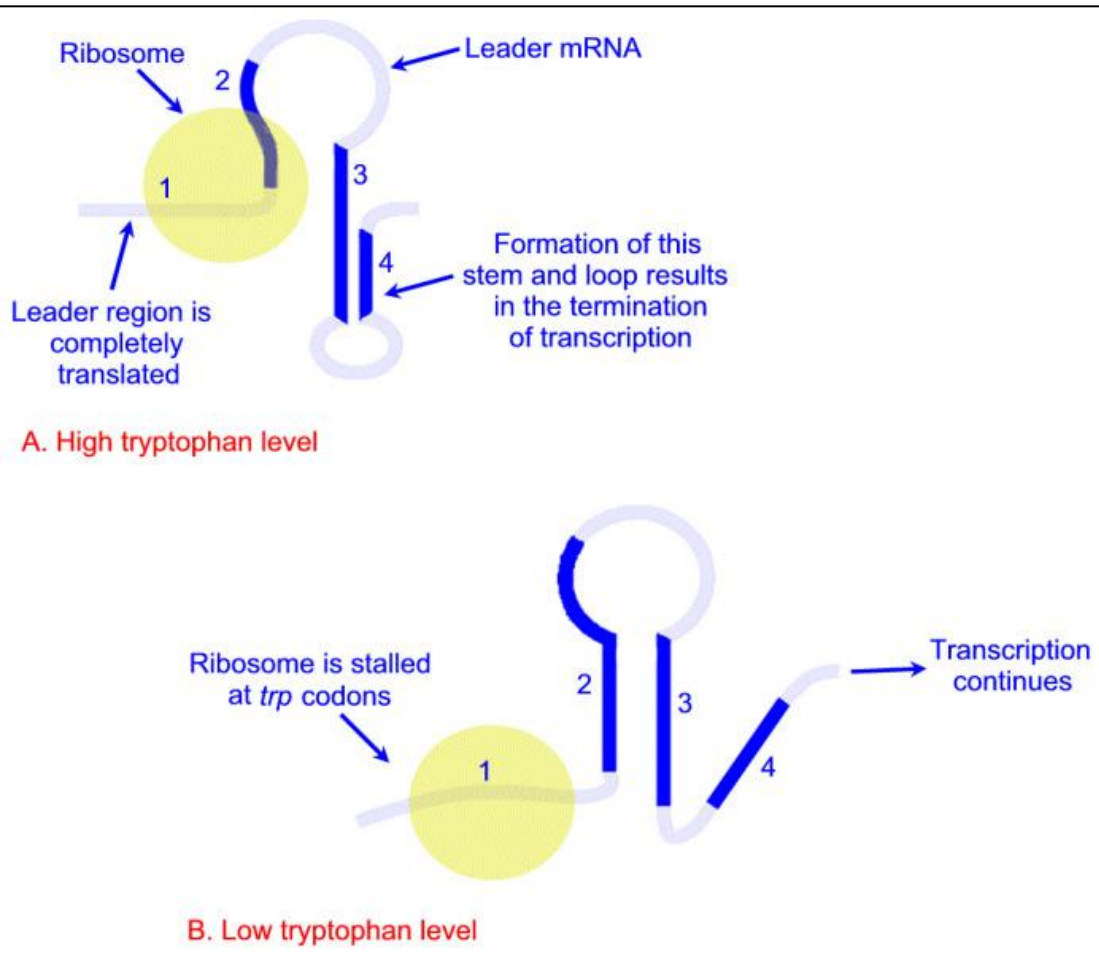


Regulation der Transkription bei Prokaryoten

8. Attenuation

Attenuation beruht auf dem gleichzeitigen Ablauf von Transkription und Translation

Eine Form der Terminationskontrolle!



Regulation der Transkription bei Prokaryoten

8. Attenuation

Attenuation ist nicht auf das *trp*-Operon beschränkt.
Bei anderen AS-Operons z.T. einzige Regulation.

Tab.4.10 Leit-Peptid-Sequenzen einiger Aminosäure-Operons des *E. coli*-Genoms.

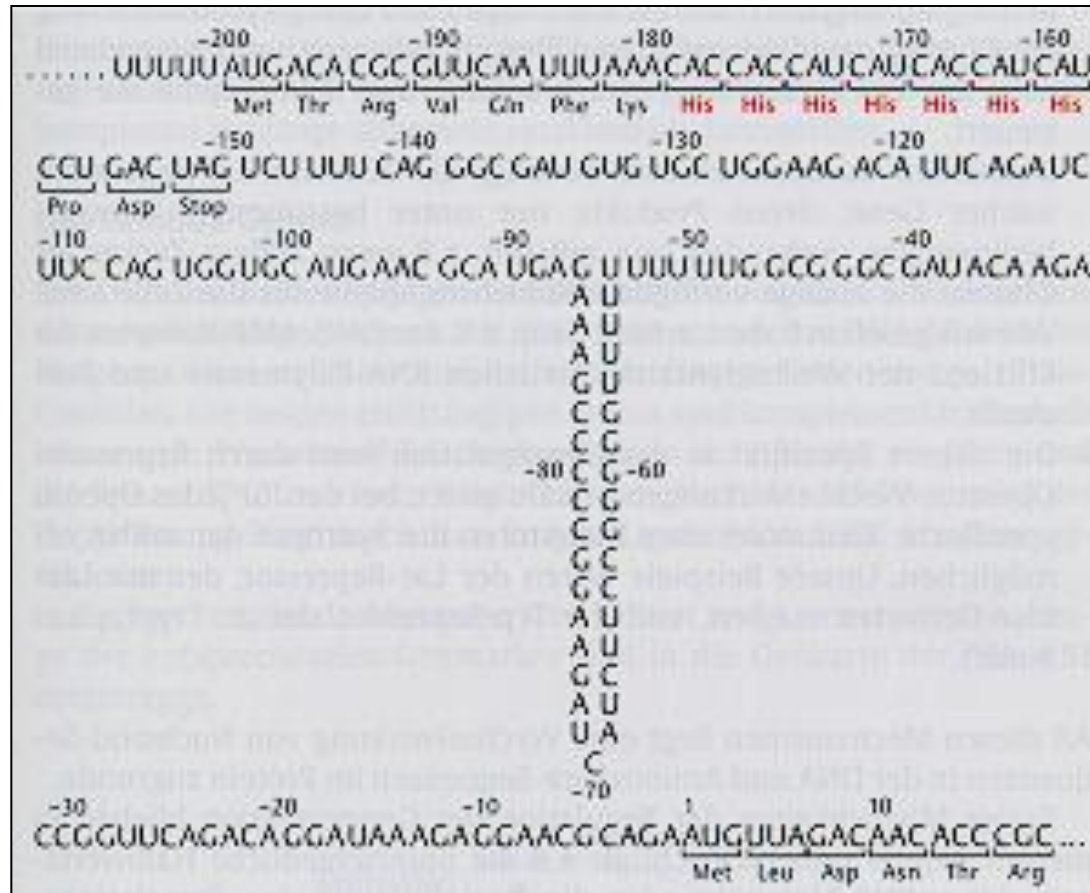
Operon	
his	met thr arg val gln phe lys his his his his his his his pro asp
ilv	met thr ala leu leu arg val ile ser leu val val ile ser val val val ile ile ile pro pro cys gly ala ala leu gly arg gly lys ala
leu	met thr his ile val arg phe ile gly leu leu leu leu asn ala ser ser leu arg gly arg arg val ser gly ile gln his
pheA	met lys his ile pro phe phe phe ala phe phe phe thr phe pro
thr	met lys arg ile ser thr thr ile thr thr thr ile thr ile thr thr gly asn gly ala gly



Regulation der Transkription bei Prokaryoten

8. Attenuation

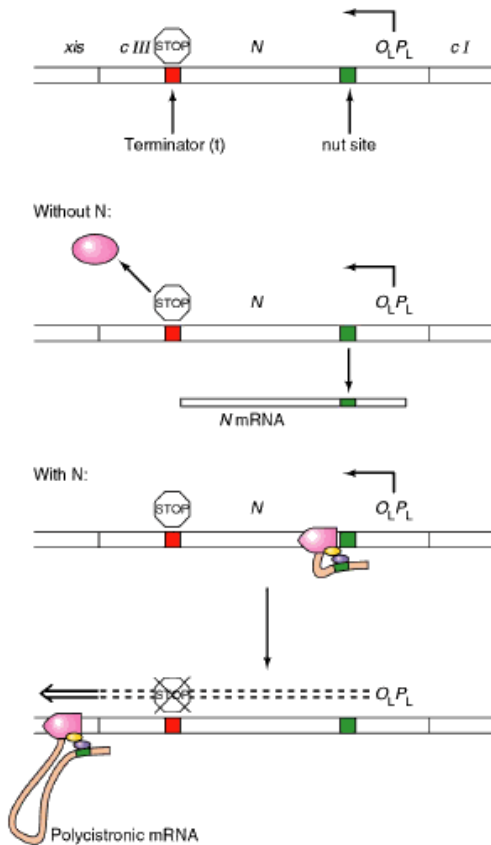
Attenuation durch Ausbildung einer Terminationsschleife beim *his*-Operon



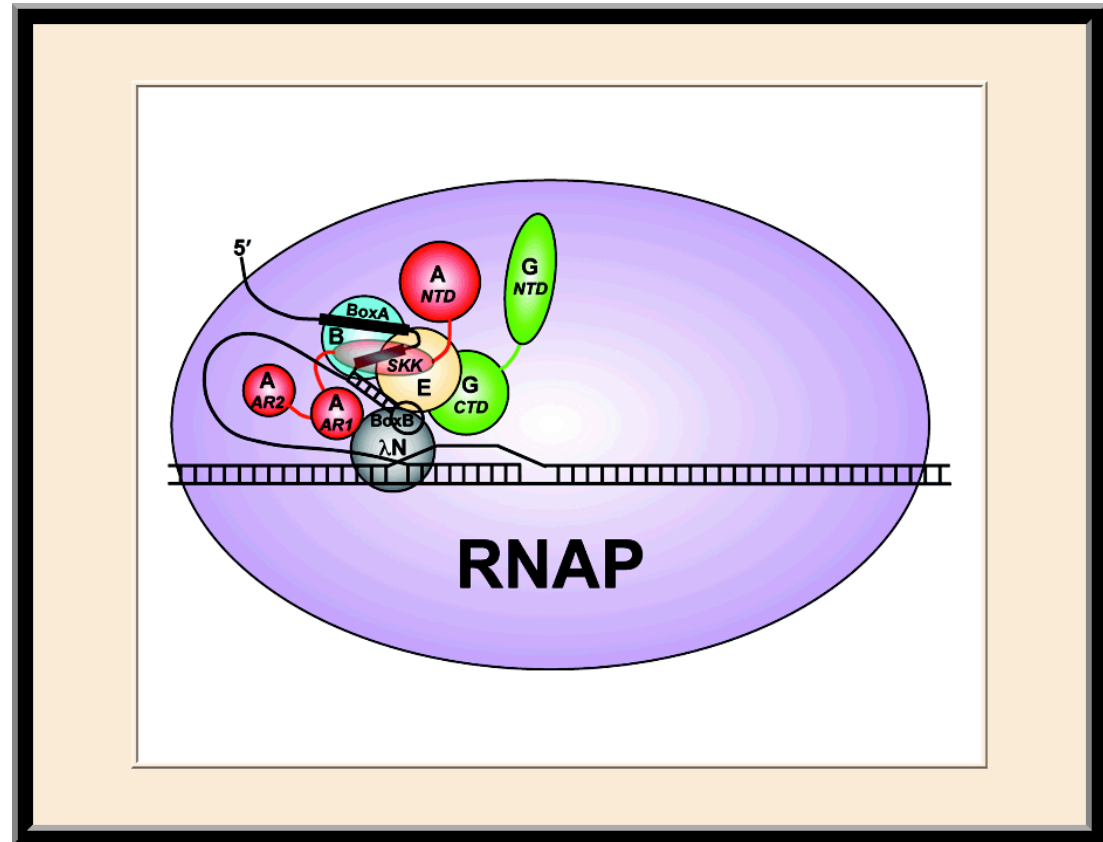
Regulation der Transkription bei Prokaryoten

9. Antitermination

Antitermination hilft beim Steuern der Lysogenie des Phagen Lambda.



N antitermination

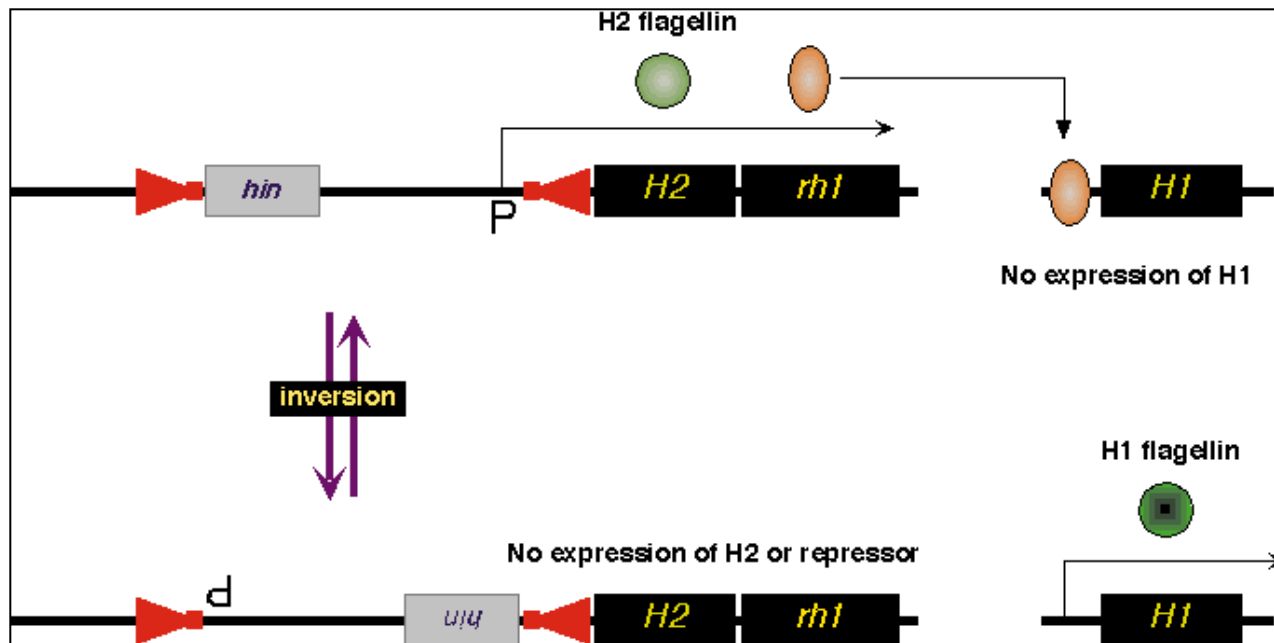


Antitermination ist auch bei der rRNA Synthese in *E. coli* (S10) beteiligt.

Regulation der Transkription bei Prokaryoten

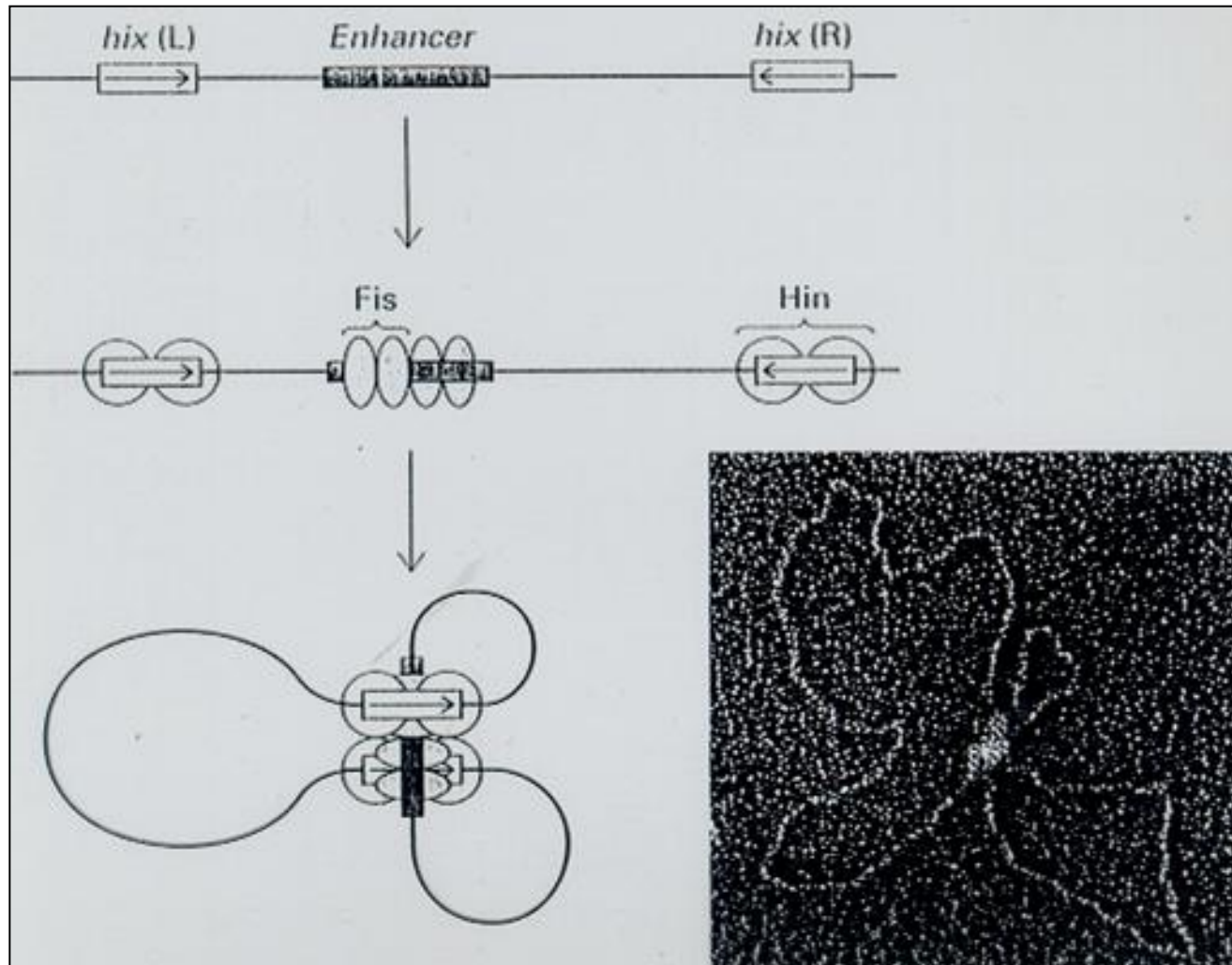
10. Genumlagerung

z.B. Phasenwechsel der Flagellinsynthese (H1 oder H2?)
bei *Salmonella thyphimurium*



Regulation der Transkription bei Prokaryoten

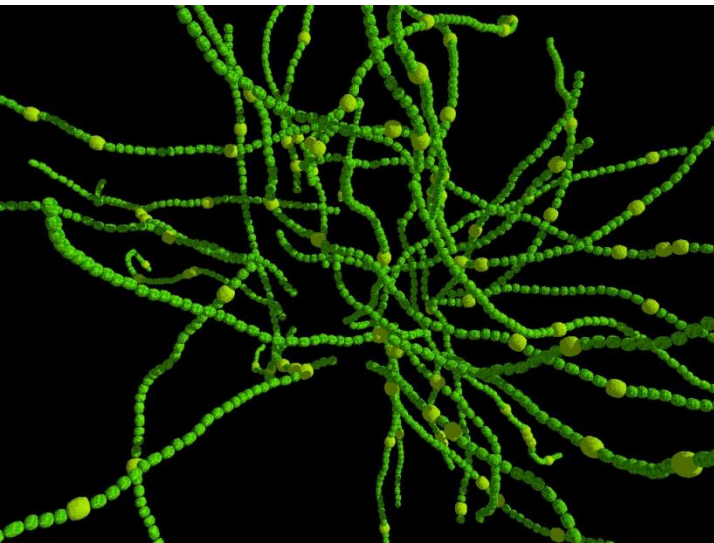
10. Genumlagerung Modell der Rekombination



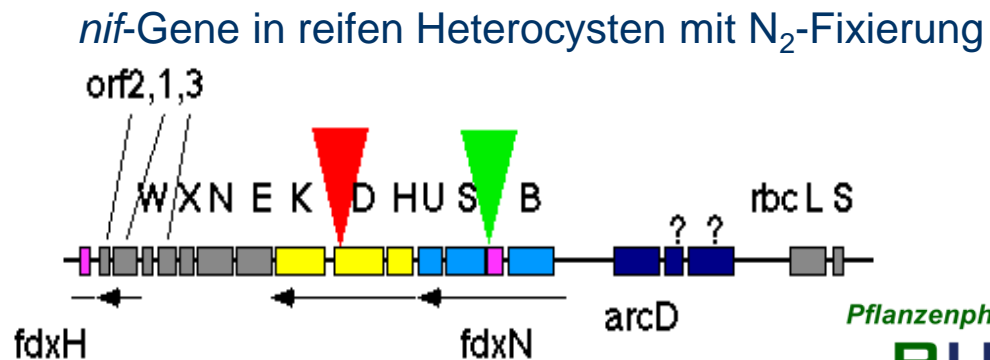
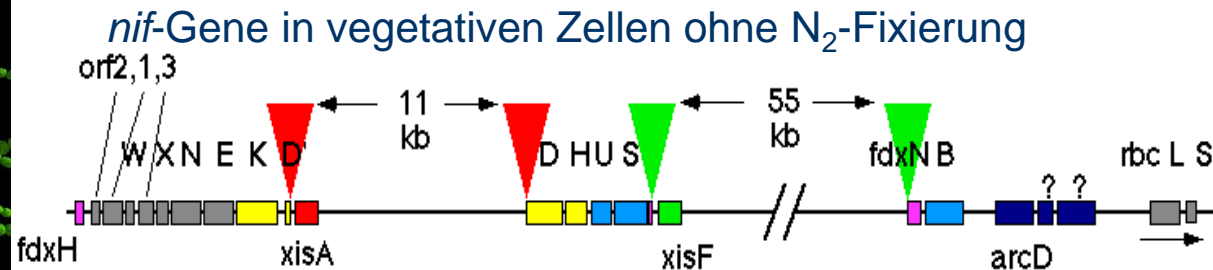
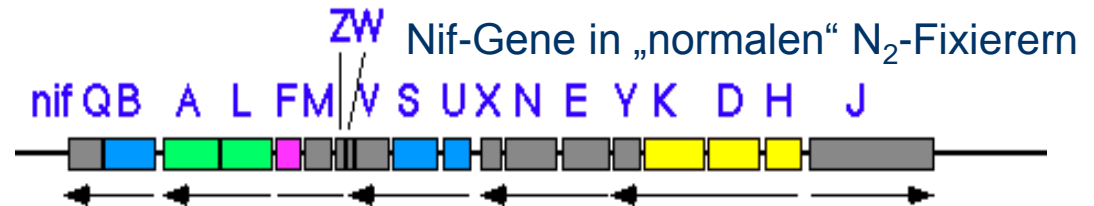
Regulation der Transkription bei Prokaryoten

10. Genumlagerung

z.B. Nitrogenase- (*nif*)-Gene und Heterocystenbildung bei Cyanobakterien



N₂-fixierende Cyanobakterien mit vegetativen Zellen (klein) und Heterocysten (groß), bakterielle Zelldifferenzierung!!!



Mechanismen der Genregulation in Bakterien

1. Promotorstruktur (E)
2. Stringent response
3. Alternative Sigmafaktoren (E – in Organellen)
4. Regulatorproteine (Repressoren/Aktivatoren) (E)
5. Autoregulation (E)
6. Riboswitches (E)
7. Antisense RNA (E – RNAi)
8. Attenuation
9. Antitermination (E)
10. Genumlagerung (E)

(E) prinzipiell ähnliche Mechanismen gibt es auch bei Eukaryoten

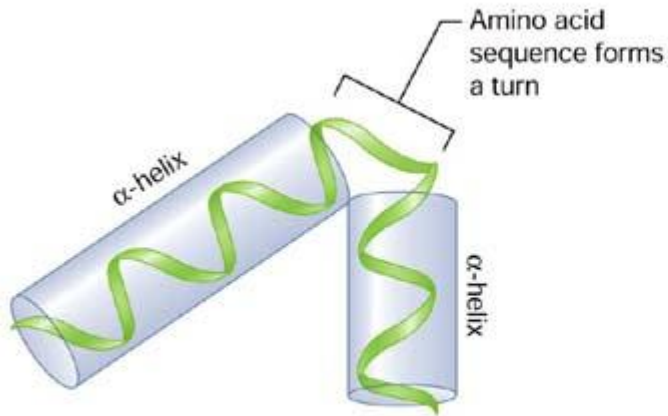


DNA-Bindedomänen

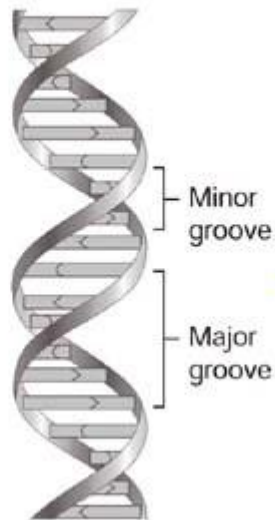
Helix-Turn-Helix-Domäne/Motif

Eine Bindehelix legt sich in die große Furche der DNA.

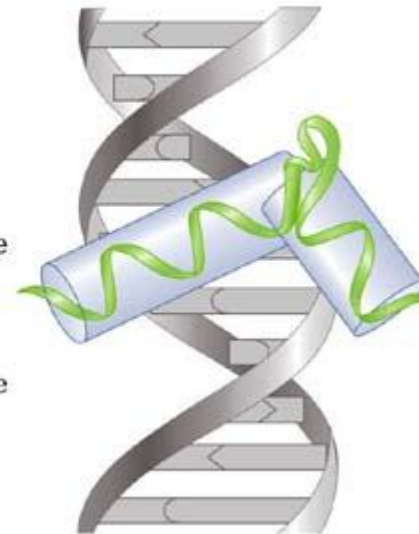
Helix-turn-helix motif of protein



Major groove of DNA



A perfect fit



The DNA-binding helix-turn-helix motif of the CAP family

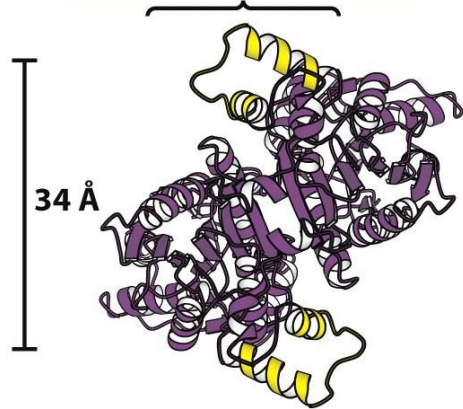


DNA-Bindedomänen

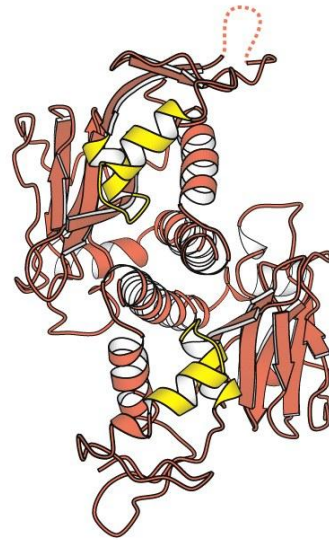
Helix-Turn-Helix-Domäne (Motif)

z.B. in diversen prokaryotischen und eukaryotischen Transkriptionsfaktoren

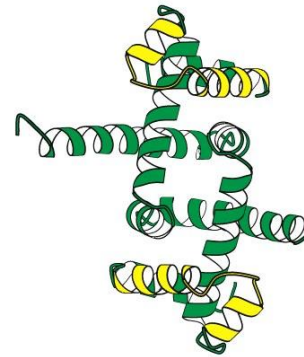
lac repressor
Helix-turn-helix motif



CAP



trp repressor



Interferonrezeptor

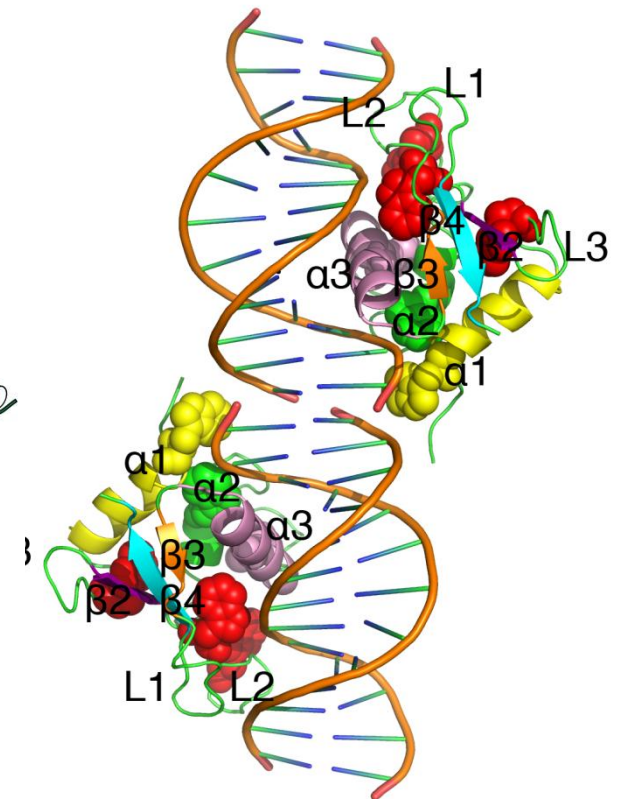


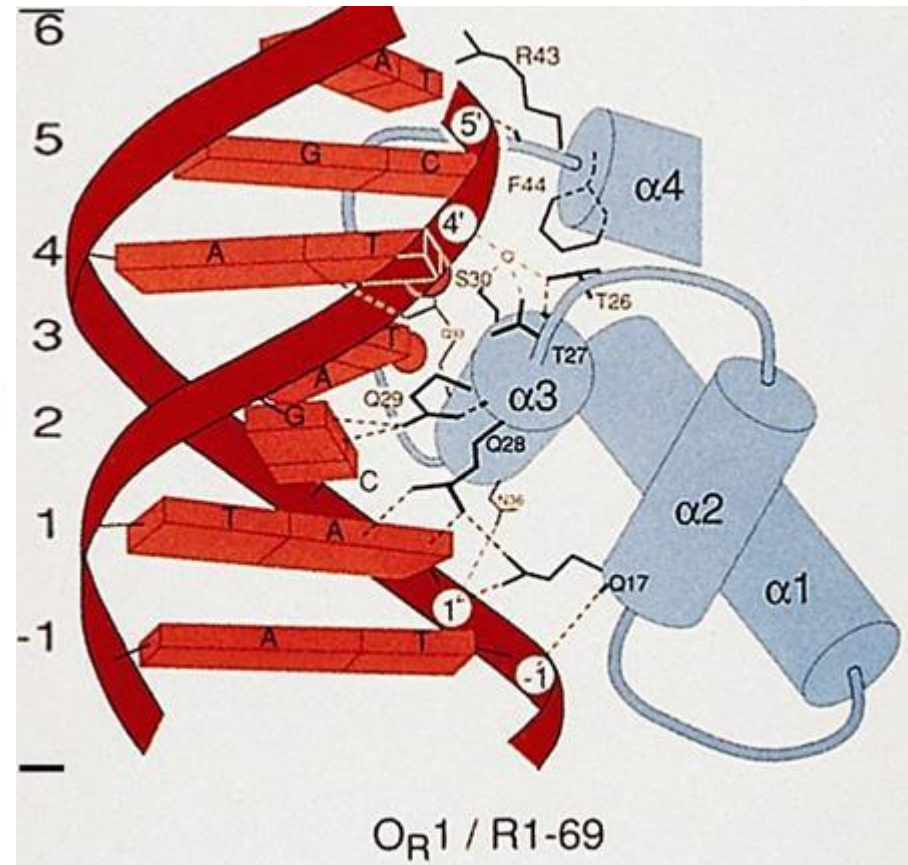
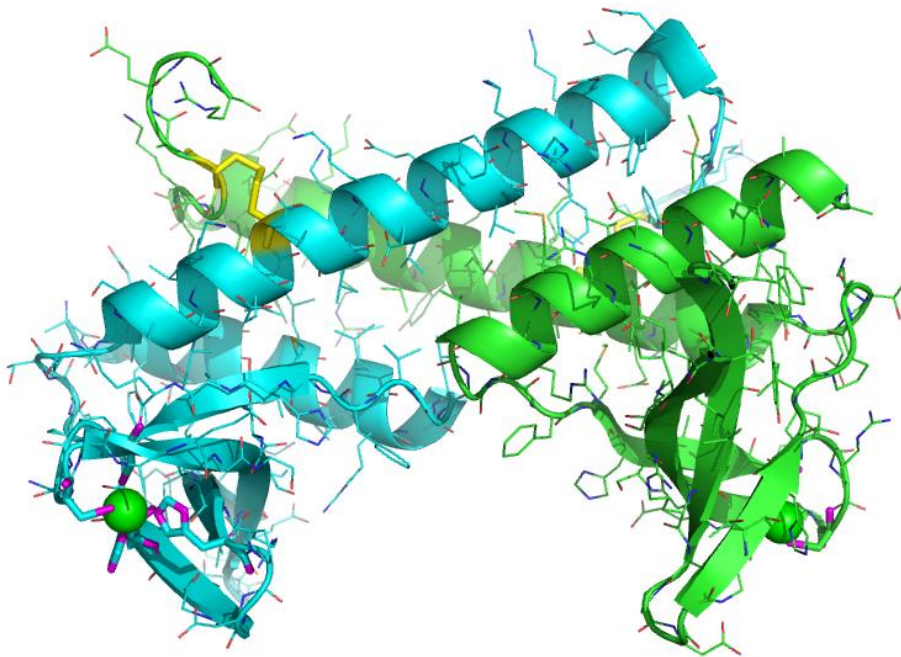
Figure 31.3
Biochemistry, Seventh Edition
© 2012 W. H. Freeman and Company



DNA-Bindedomänen

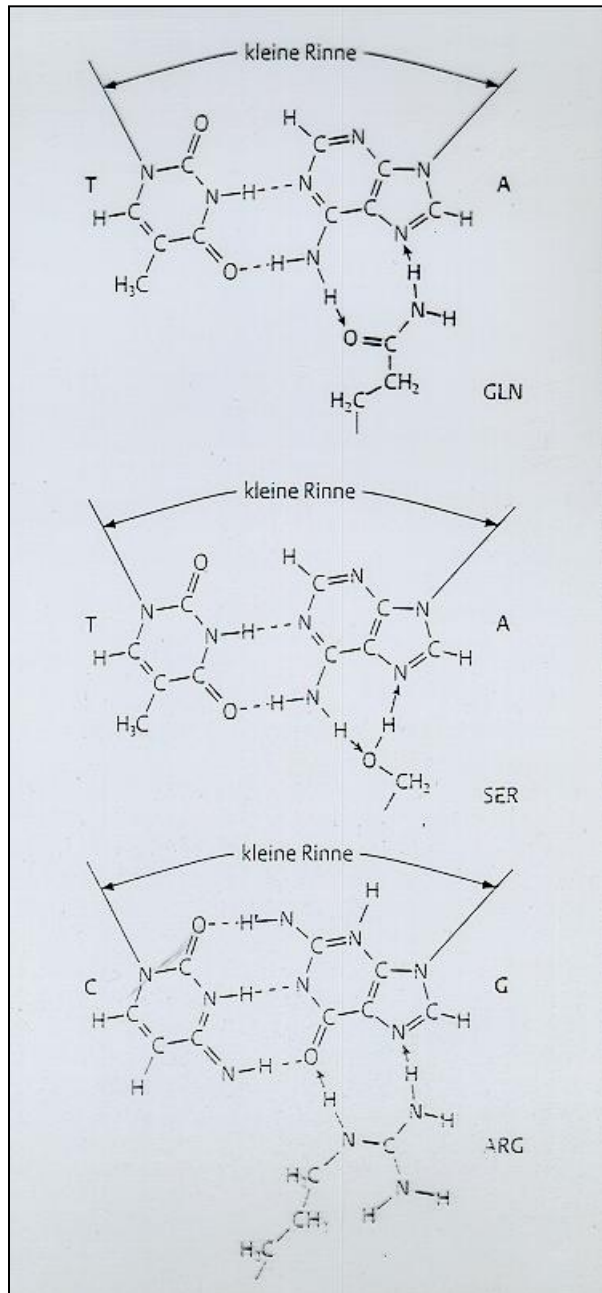
Helix-Turn-Helix-Domäne (Motif)

Die Bindehelix hat definierte Aminosäureseitenketten, die zur spezifischen Basenerkennung dienen.



DNA-Bindedomänen

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



DNA-Bindedomänen

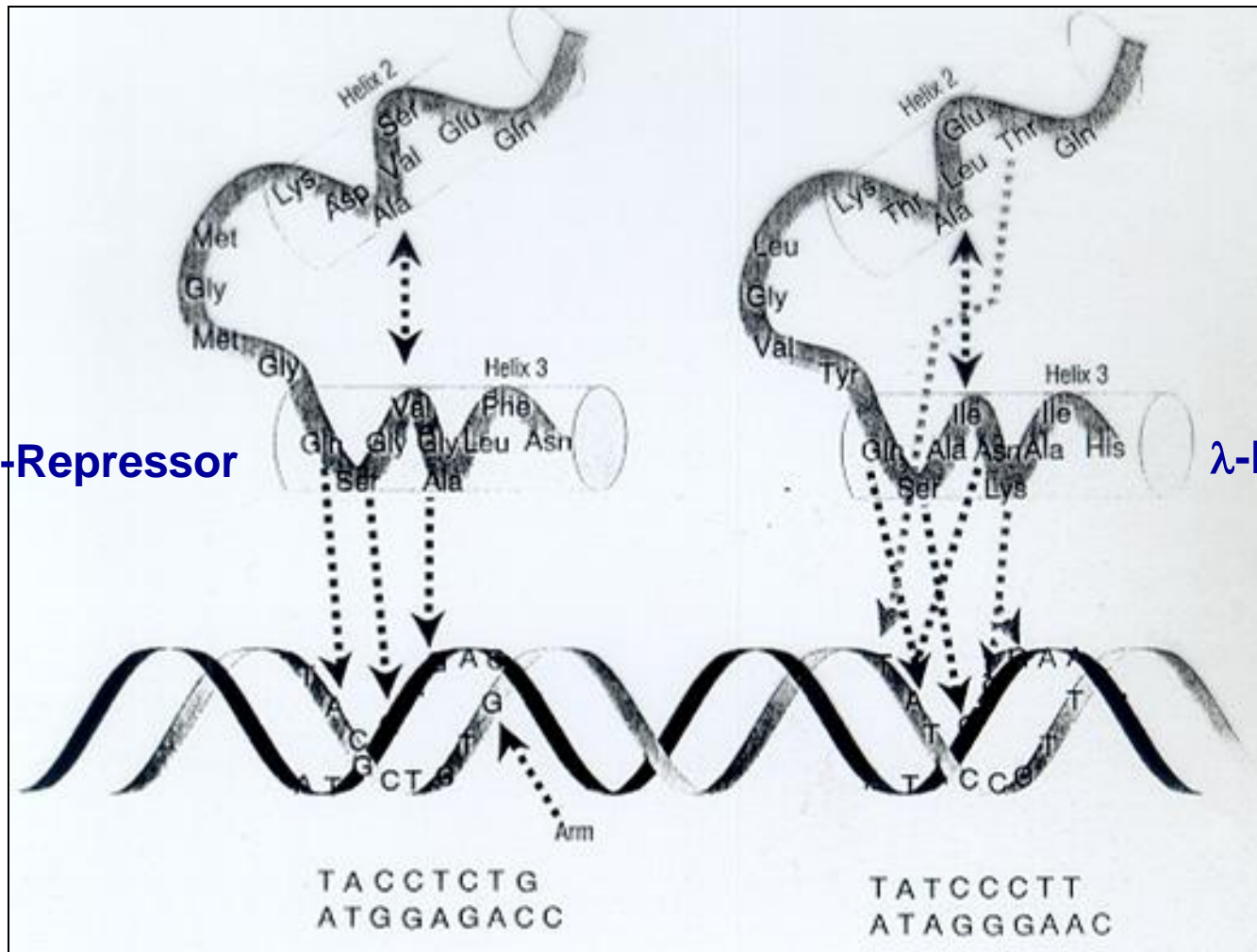
Helix-Turn-Helix-Motif

z.B. AS-Reste in weiteren HTH-Proteinen

„Domain-swapping“ zum positiven Nachweis

Cro-Repressor

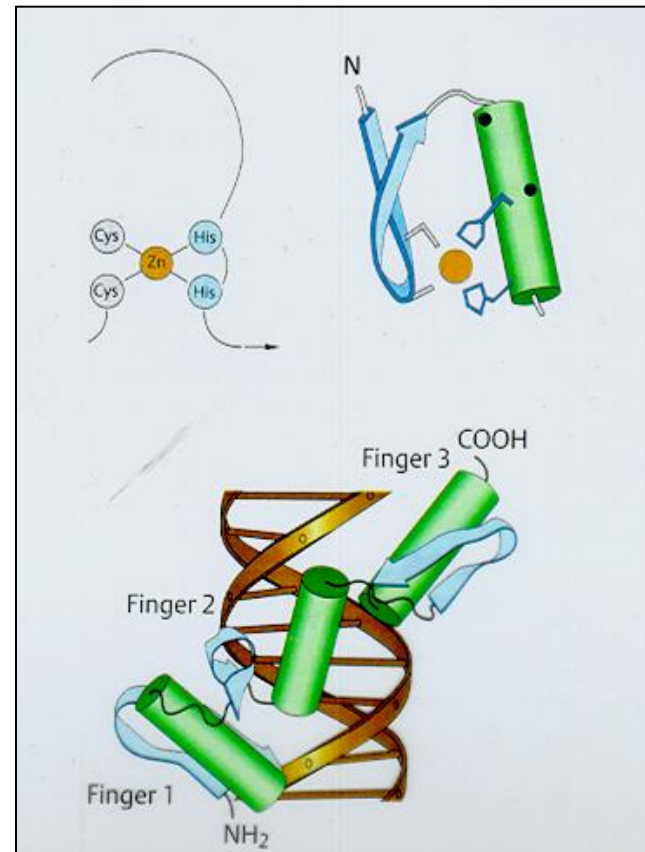
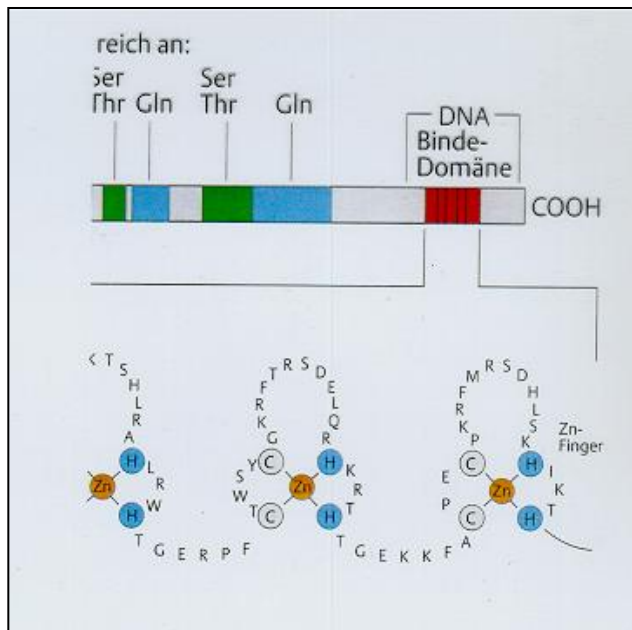
λ-Repressor



DNA-Bindedomänen

Zink-Finger-Domäne/Motif

In diversen eukaryotischen aber auch prokaryotischen TF
z.B. SP1 (bindet GC-Boxen) oder TFIIIA



DNA-Bindedomänen

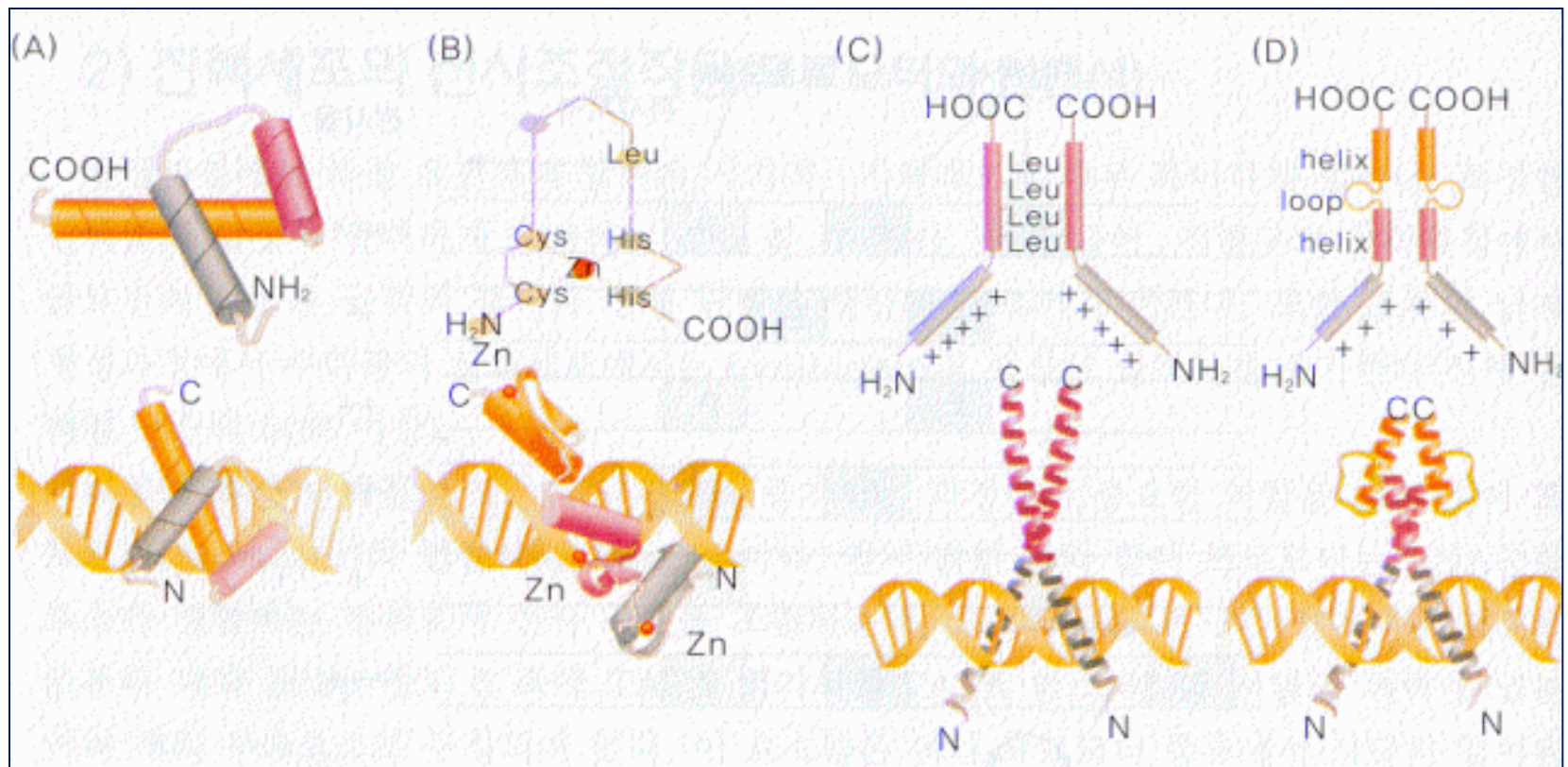
Konservierte Domänen/Motife in diversen eukaryotischen aber auch prokaryotischen TF

Helix-turn(loop)-helix

Zink-finger

Basic zipper

Basic-helix-loop-helix



Protein-Dimerisierungsdomäne

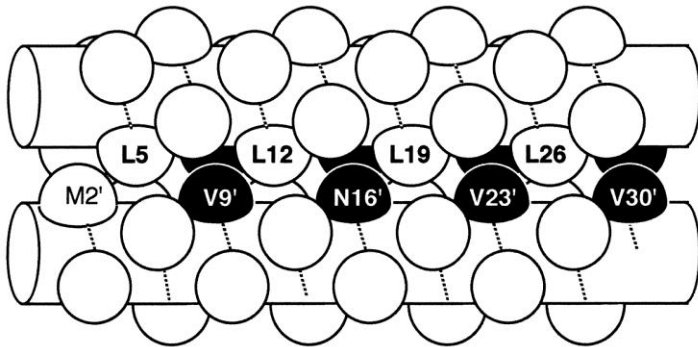
Leucin-Zipper

In diversen eukaryotischen aber auch prokaryotischen TF zur **Dimerisierung** der Proteine (Homo- und Heterodimere) durch hydrophobe Wechselwirkung!

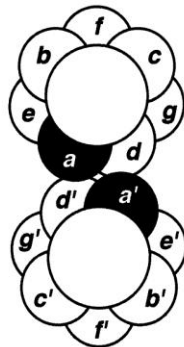
a

5 10 15 20 25 30
 HMKQLEDKVEELLSKNYHLENEVARLKKLVGER
 g a b c d e f g a b c d e f g a b c d e f g a b c d e f g a b c d

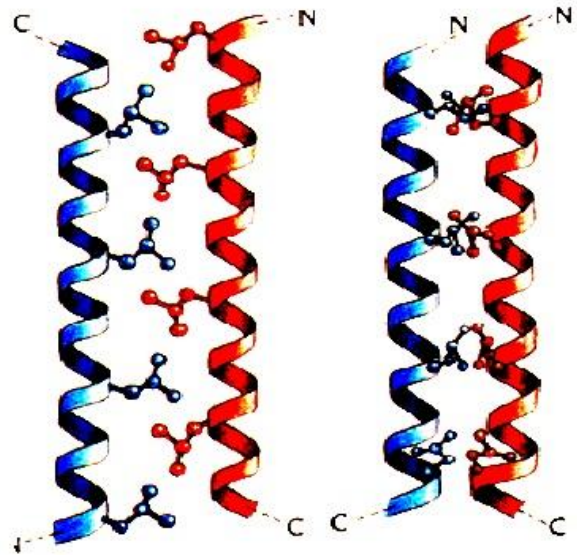
b



c



The Leucine Zipper



Original concept

More correct

