

# 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



# Regulation der Transkription – bei Prokaryoten

Wichtigste Regulationsebene ist Initiation der Transkription

Stimmt weitgehend bei Bakterien – Transkription direkt mit Translation gekoppelt

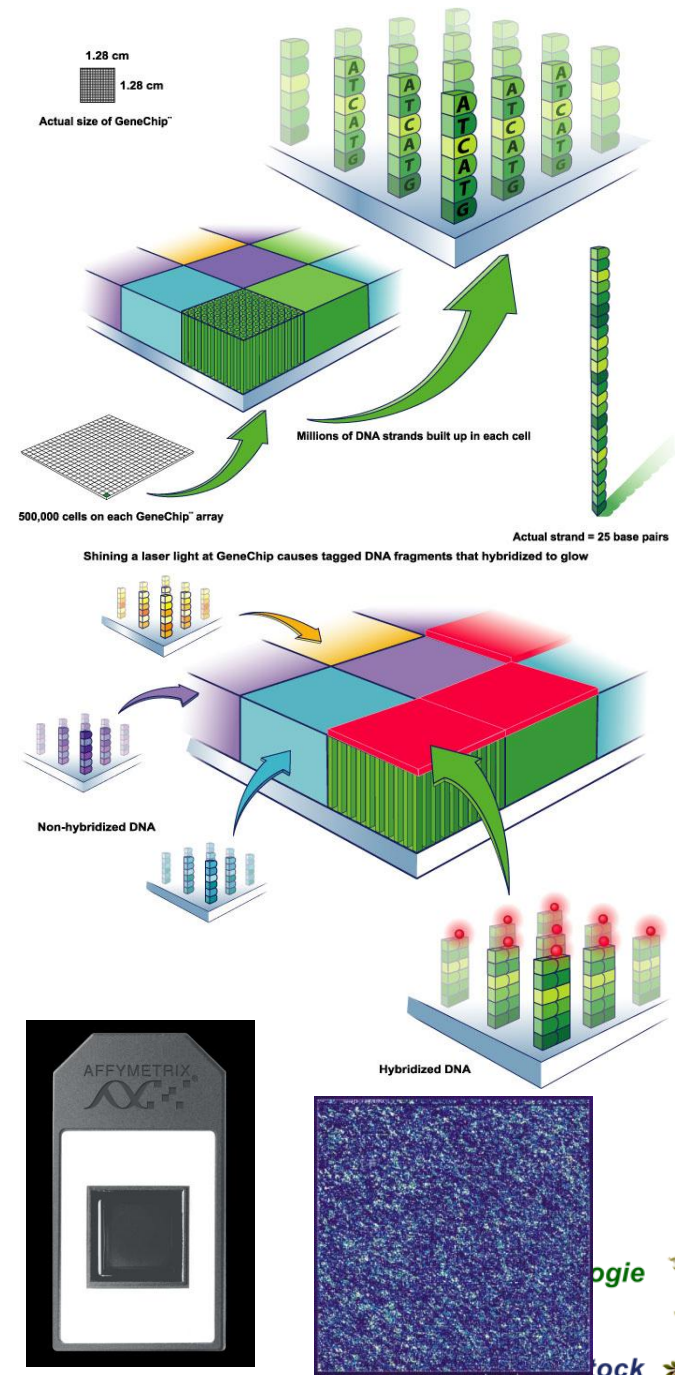
Bei Eukaryoten auch so bisher dargestellt – evtl. fraglich!

Gemessen wird häufig die „Steady State“-Menge der mRNA!!

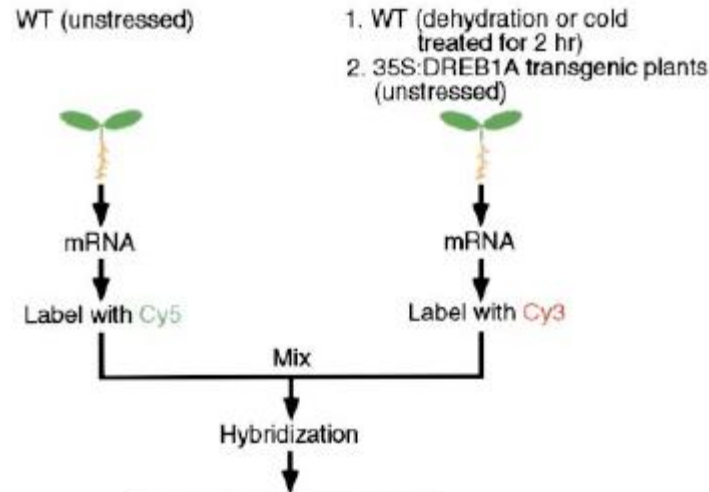


# DNA-Microarrays

- Pro Gen existieren mehrere Sonden
- Sonden bestehen aus maximal 25 bp
- Arrays sind extrem spezifisch, selbst Unterschiede von nur einem bp werden erkannt
- Erlauben genomweite quantitative Transkriptuntersuchungen
- Transkripte werden in cDNA umgeschrieben, fragmentiert, markiert, und danach hybridisiert
- Nach Hybridisierung erfolgt Scanning und Auswertung



# Differentielle RNA-Markierung und Auswertung von DNA-Microarrays



Doppelspotting zur Absicherung

keine Expression



Tubulin als interne Kontrolle

Auslöschung des Signals durch gleich starke Expression in beiden Zuständen

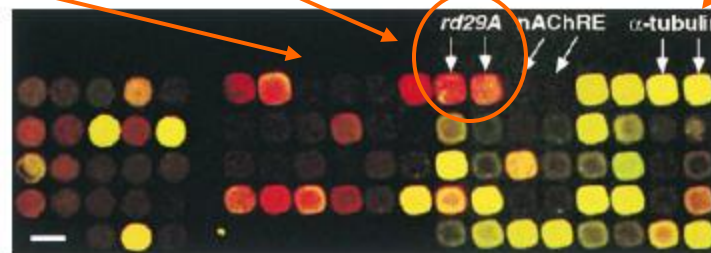


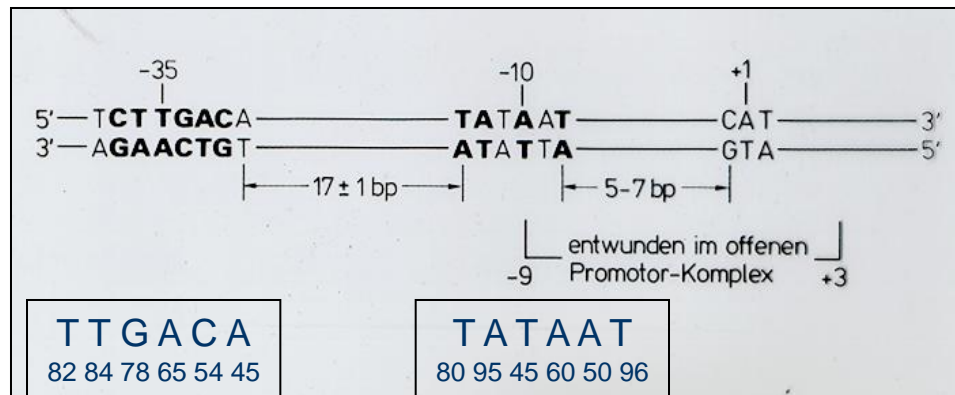
Figure 1. cDNA Microarray Analysis of Gene Expression under Cold Stress.



# Regulation der Transkription bei Prokaryoten

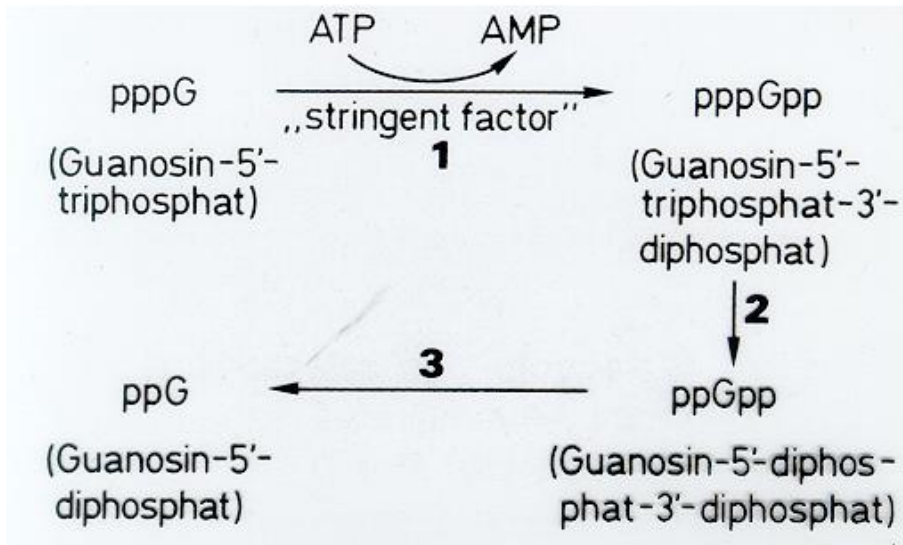
## 1. Promotorsequenz – starke Promotoren ähneln der consensus-Sequenz

Ergebnis einer langen Adaptation (Kurzzeit – Akklimation)  
Biotechnologie



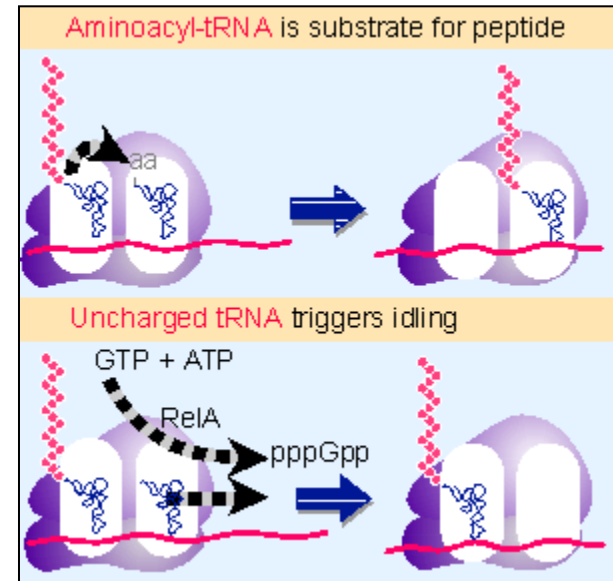
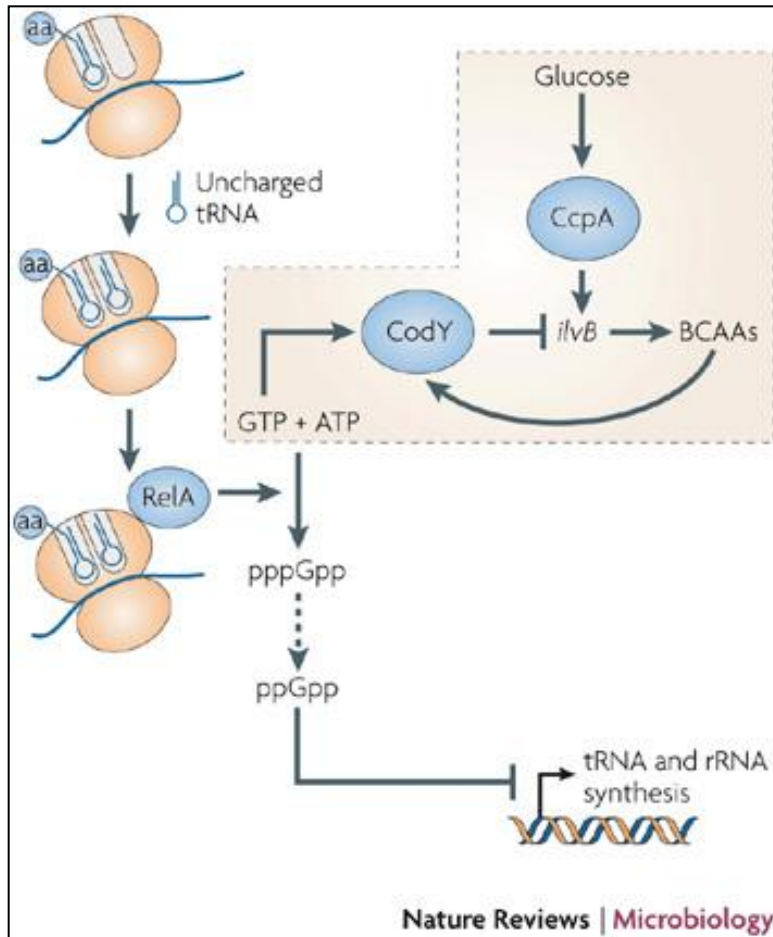
# Regulation der Transkription bei Prokaryoten

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



# Regulation der Transkription bei Prokaryoten

## 2. „stringent – response“, generelle Beeinflussung der Transkriptionsrate niedermolekularer Faktor beeinflusst RNAP Unbeladene tRNAs am Ribosom dienen als Sensor



Neben dem Translationsstopp wird die RNA-Polymerase gehemmt und damit global die Transkription abgebrochen.



# 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

## 3. Alternative Sigmafaktoren

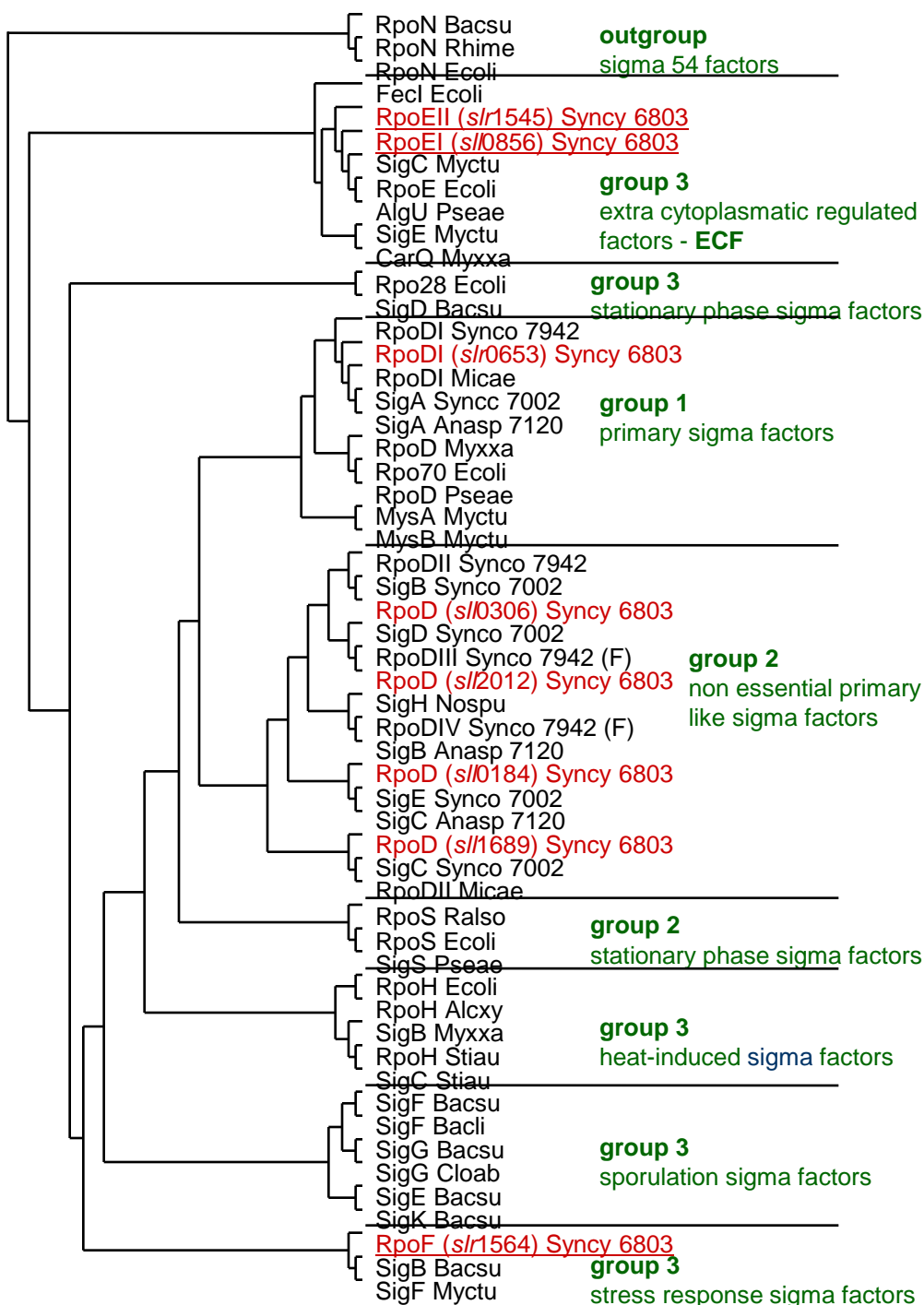
lassen sich in Gruppen einteilen:

Sig70 versus Sig54

Sig70 Group 1

Sig70 Group 2

Sig70 Group 3 (ECF)

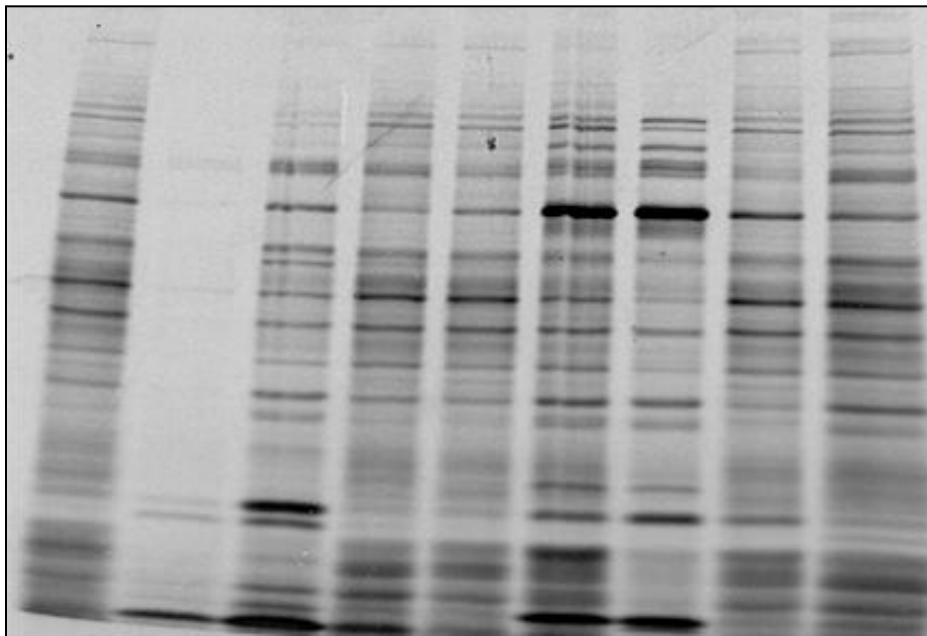


# Regulation der Transkription bei Prokaryoten

## 3. Alternative Sigmafaktoren

z.B. Regulation der Hitzeschockantwort bei *E. coli*

### Stressproteinsynthese in *Synechocystis*



30°C  
Kontrolle

43°C 45°C  
Hitzeschock

Tab. 5.4 Einige Hitzeschock-Gene und Hitzeschock-Proteine von *E. coli*

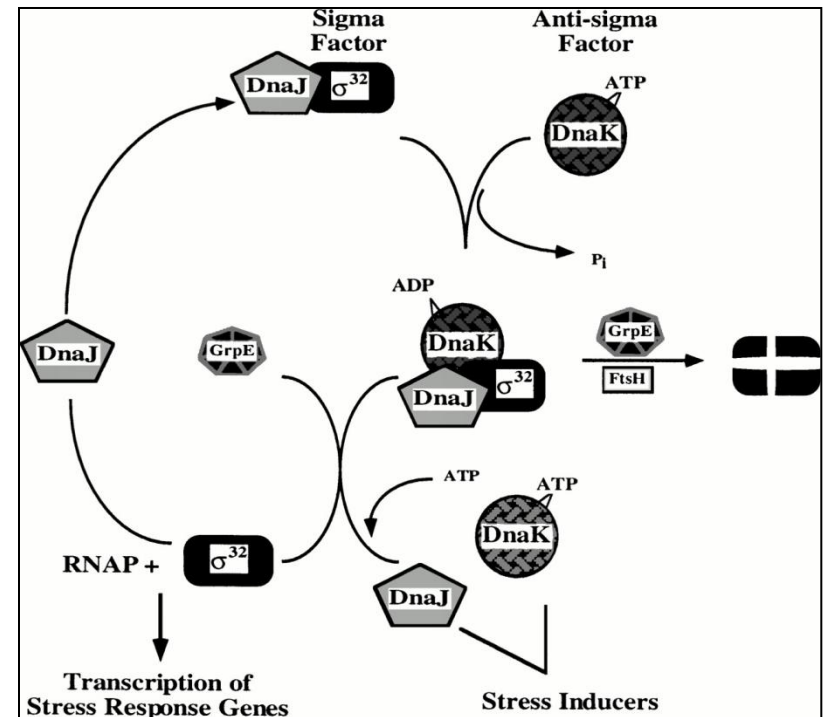
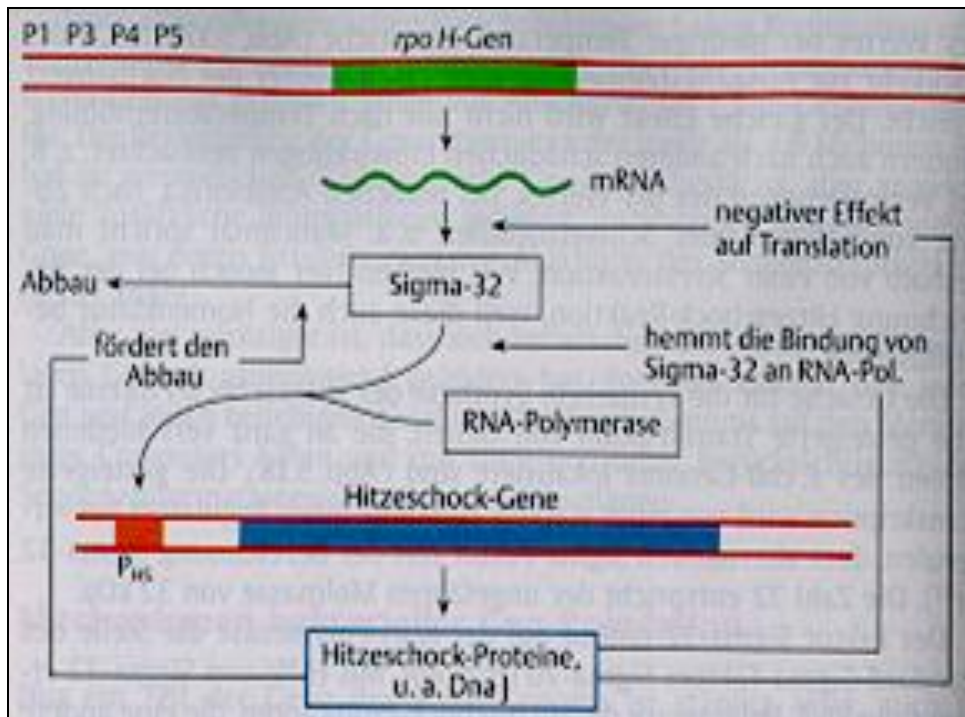
Gen	Protein	Funktion
<i>dnaK</i>	DnaK (Hsp 70)	diese 3 Proteine bilden zusammen eine funktionelle Einheit, die als Chaperon die native Faltung von Polypeptiden fördert
<i>dnaJ</i>	DnaJ	
<i>grpE</i>	GrpE	
<i>groEL</i>	GroEL	auch diese Proteine bilden ein Chaperon, das die native Proteinfaltung fördert
<i>groES</i>	GroES (Hsp 10)	
<i>hspG</i>	ähnlich dem eukaryotischen Protein Hsp90	
<i>lon</i>	ATP-abhängige Protease	
<i>lysU</i>	Lysyl-tRNA-Synthetase, Form II	
<i>rpoD</i>	Sigma-70-Faktor	

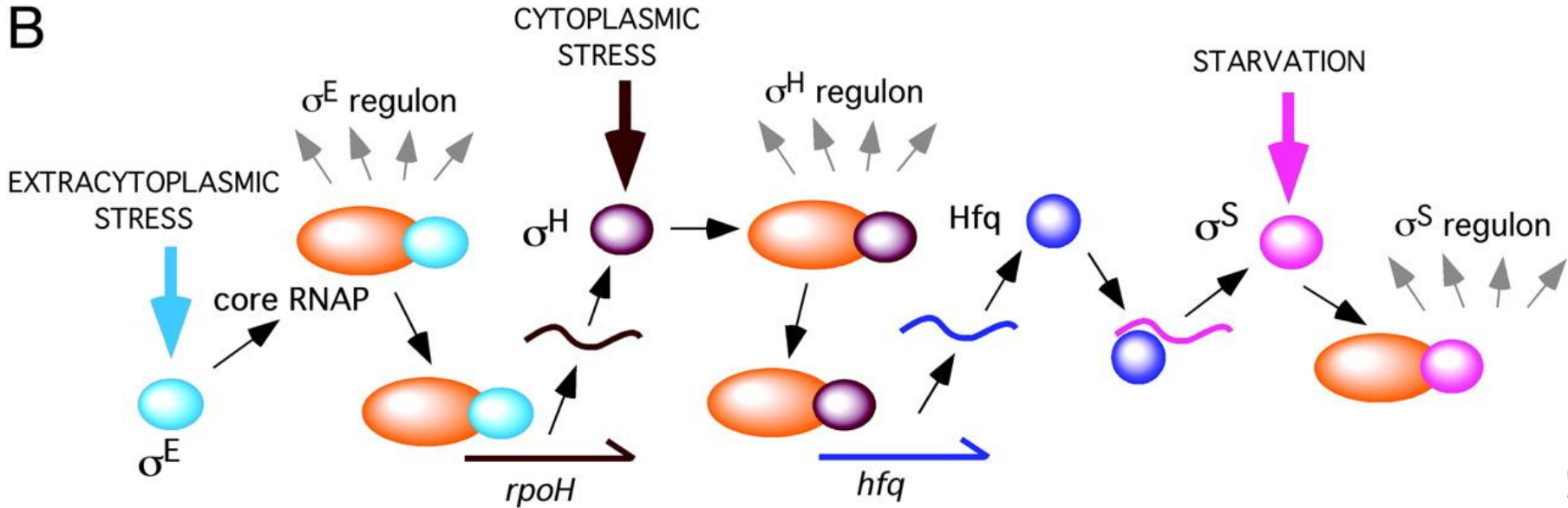
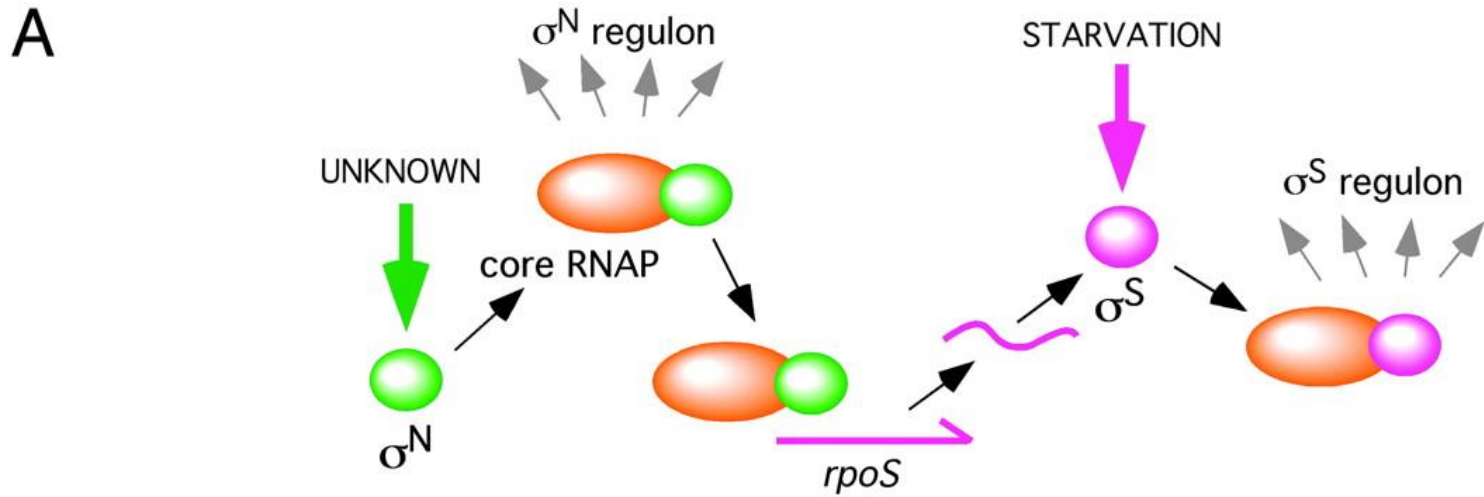


# Regulation der Transkription bei Prokaryoten

## 3. Alternative Sigmafaktoren

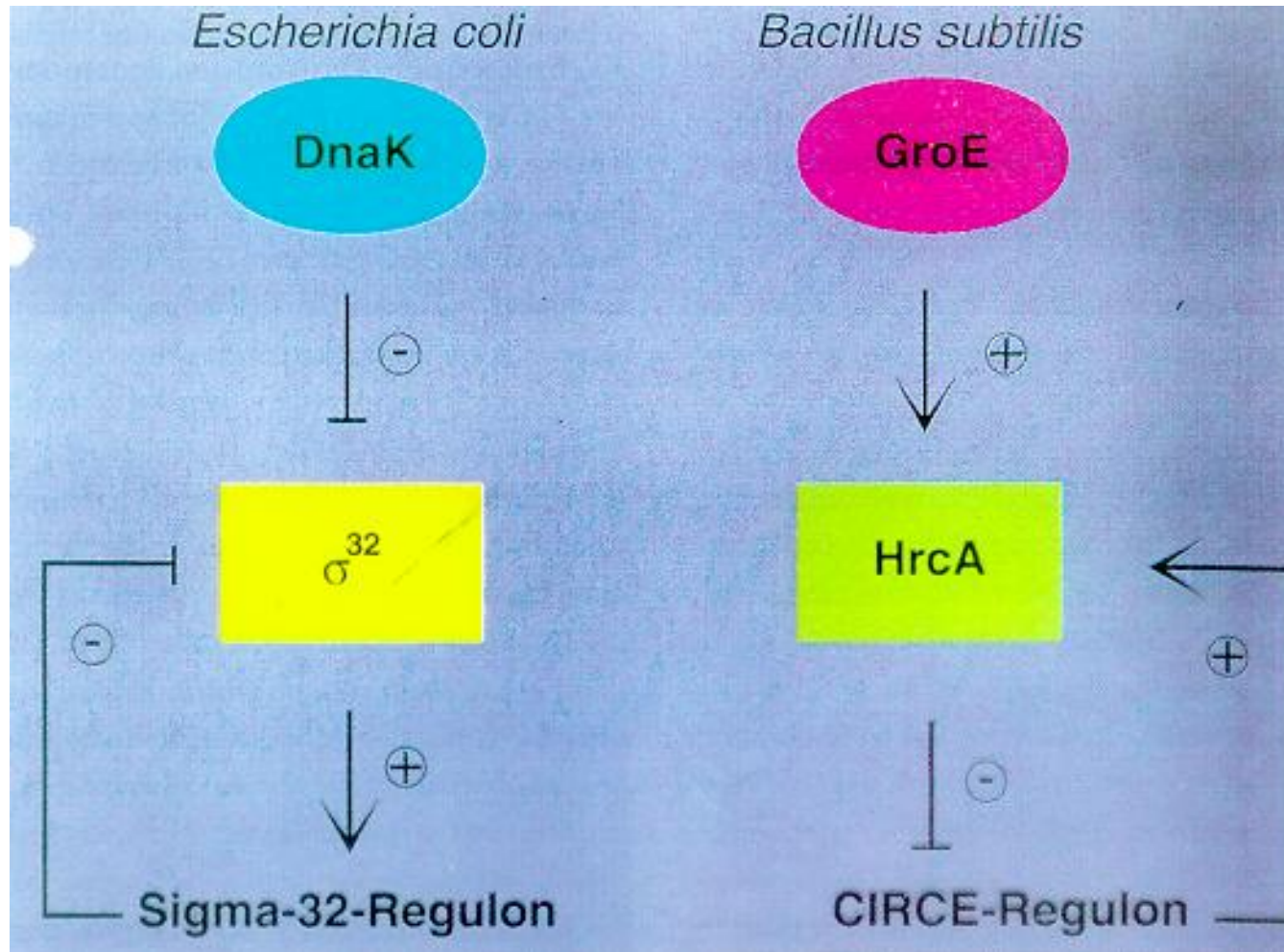
z.B. Modell zur Regulation der Hitzeschockantwort bei *E. coli*  
Hitzeschockgene haben mehrere Promotoren





# Regulation der Transkription bei Prokaryoten

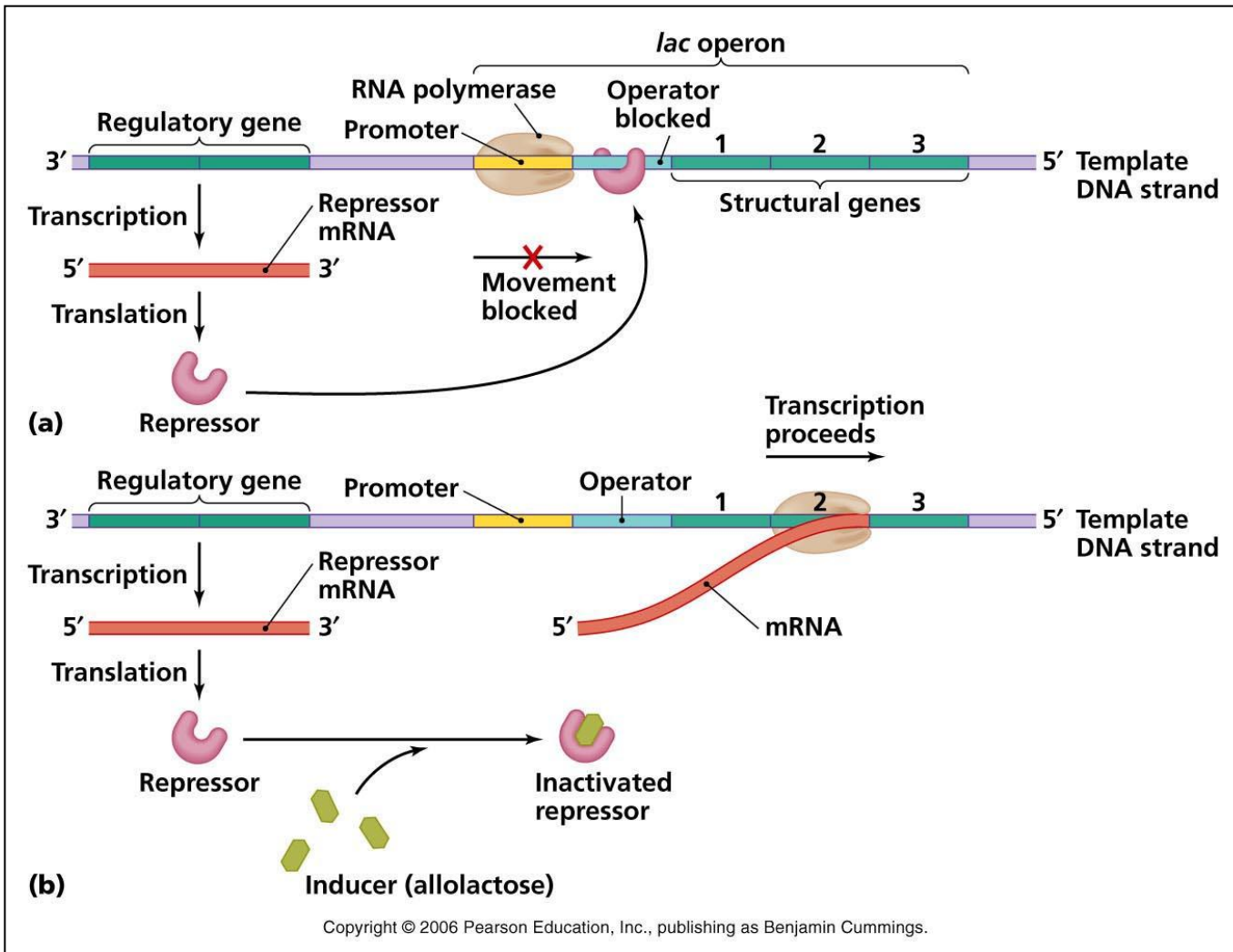
! In vielen Bakterien wird die Hitzeschockantwort anders als bei *E. coli* durch ein Repressorprotein reguliert !



# Regulation der Transkription bei Prokaryoten

## 4. Regulatorproteine Repressoren/Aktivatoren

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



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

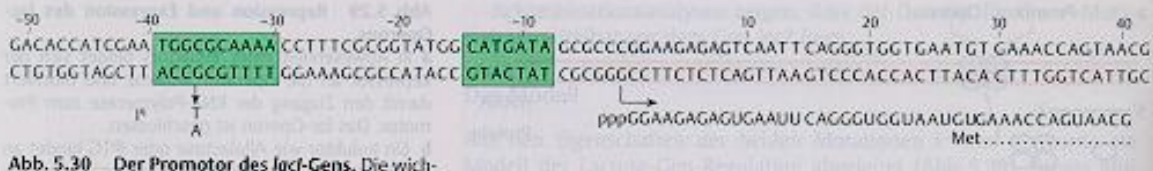


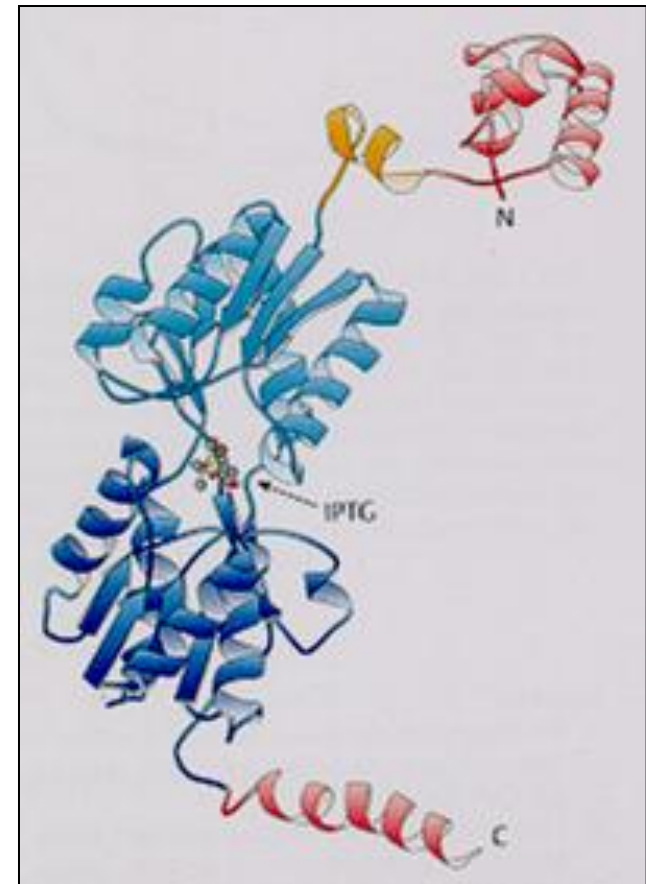
Abb. 5.30 Der Promotor des *lacI*-Gens. Die wicht-

### LacI mit drei Domänen:

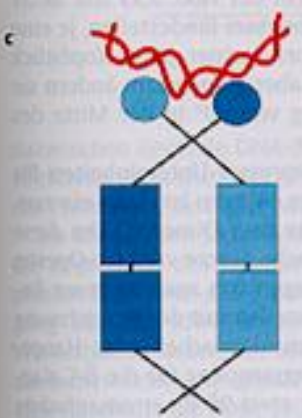
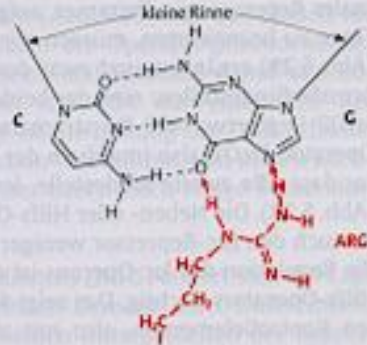
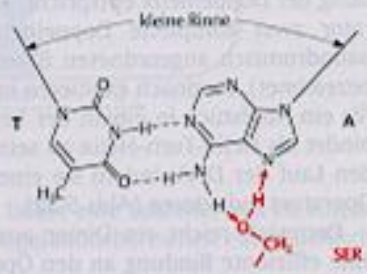
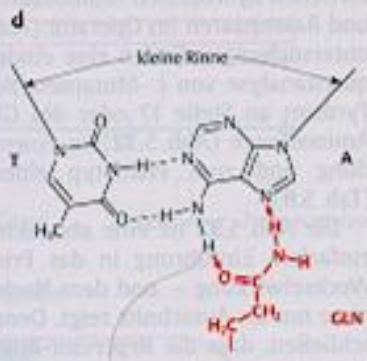
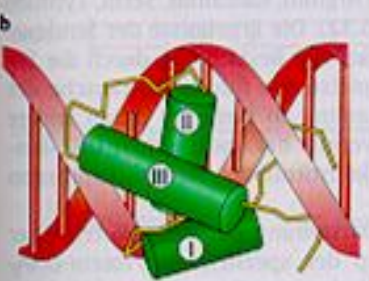
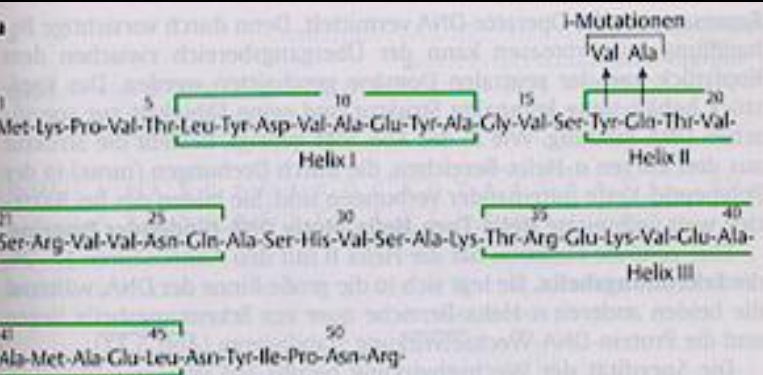
N-terminal ist die DNA-Bindedomäne

Zentral ist die Induktorbindedomäne

C-terminal ist die Dimerisierungsdomäne

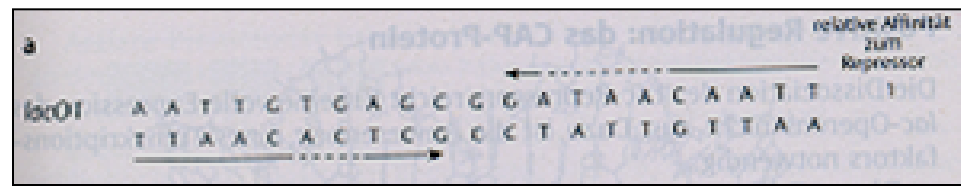


# Regulation der Transkription bei Prokaryoten



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

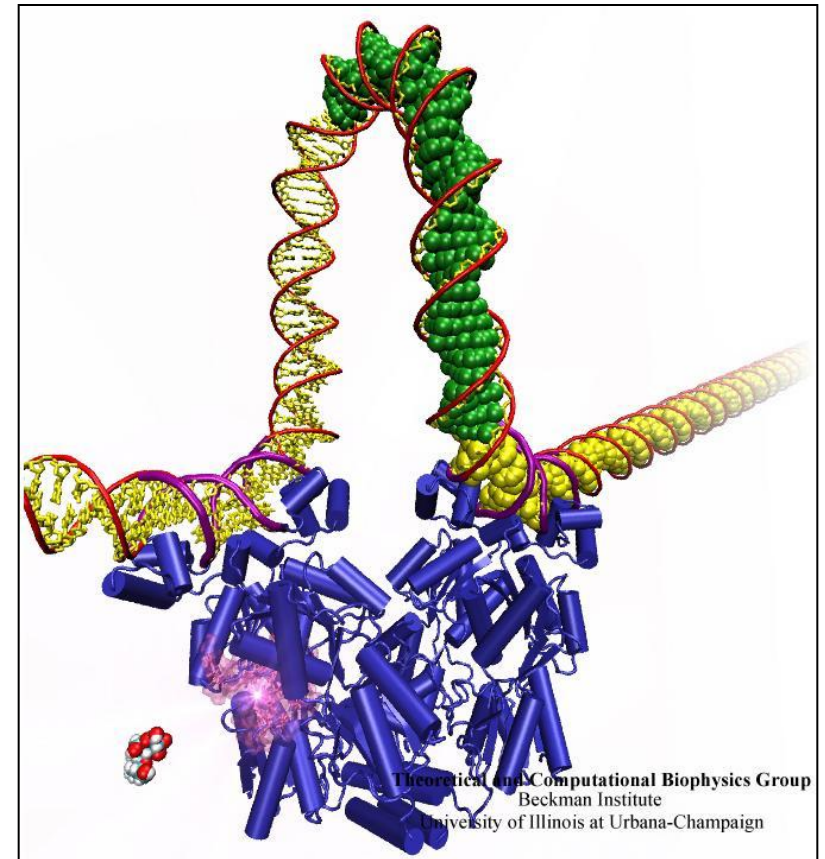
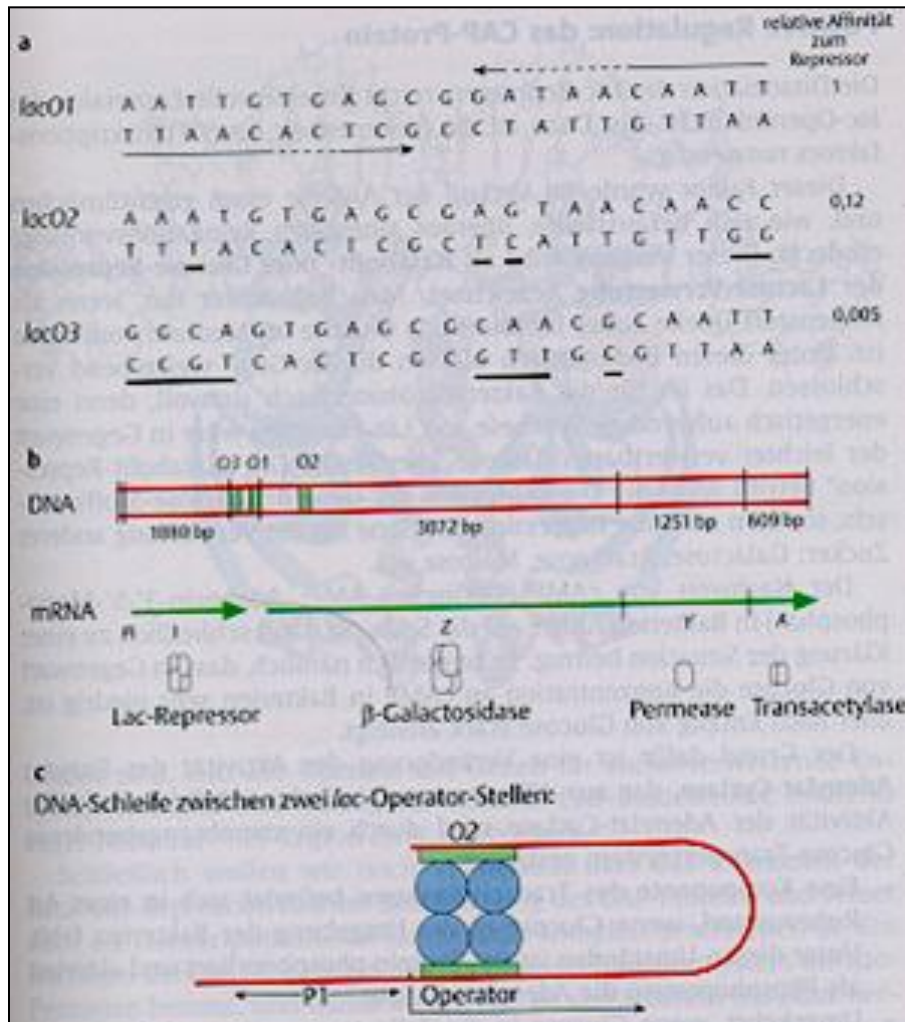
Modell zur Bindung des  
 Repressors LacI an den  
 Operator



# Regulation der Transkription bei Prokaryoten

## 4. Regulatorproteine Repressoren/Aktivatoren

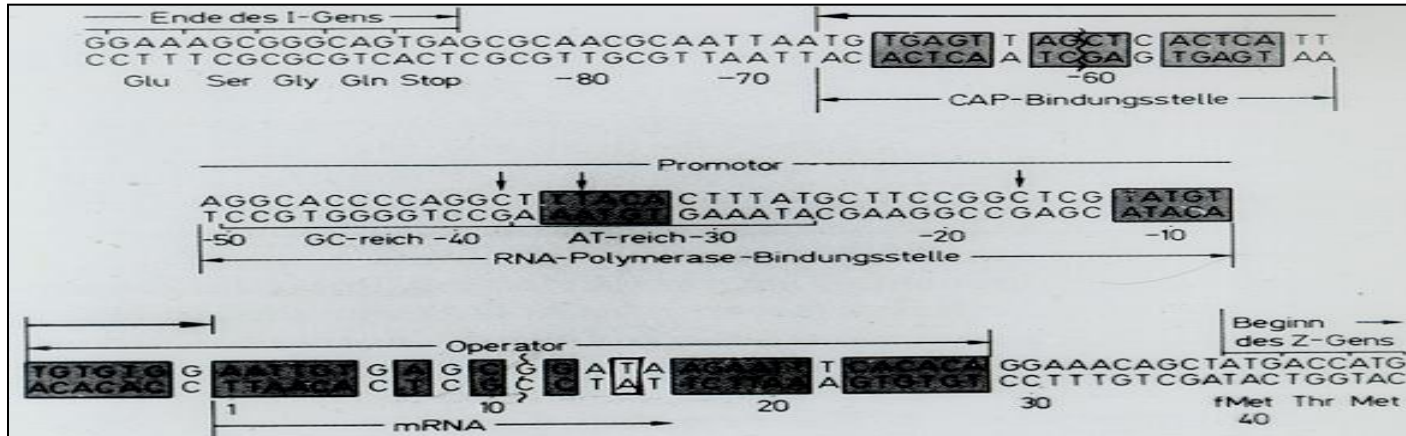
z.B. Modell zur Repression des *lac* Operons am Operator(en)



# Regulation der Transkription bei Prokaryoten

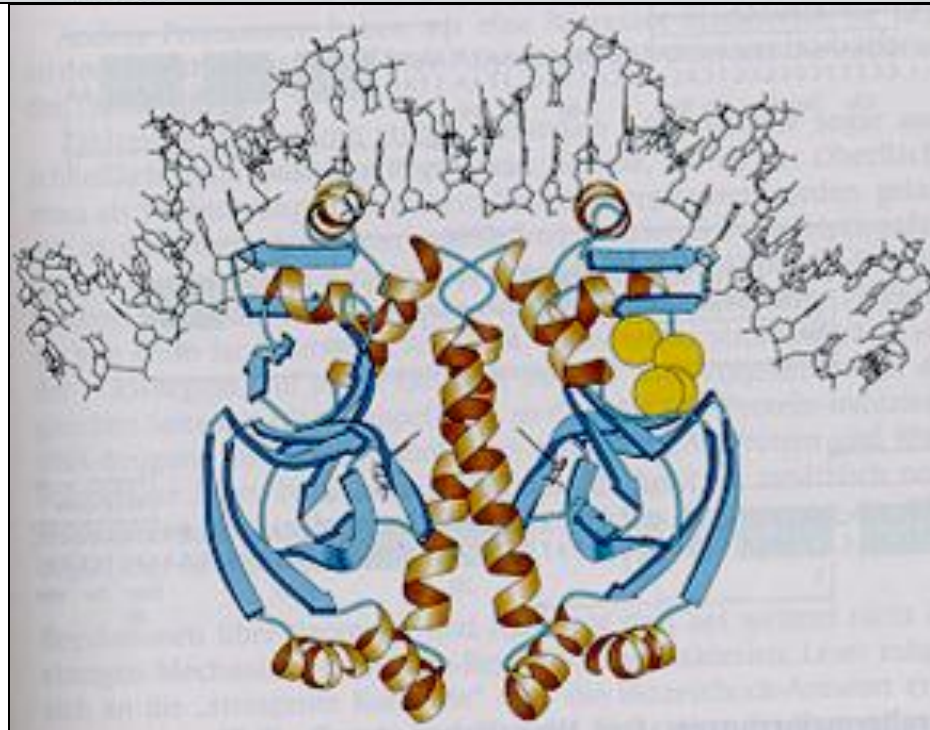
## 4. Regulatorproteine Repressoren/Aktivatoren

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

## 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

