

Einführung in die Molekularbiologie

Prof. Dr. Martin Hagemann

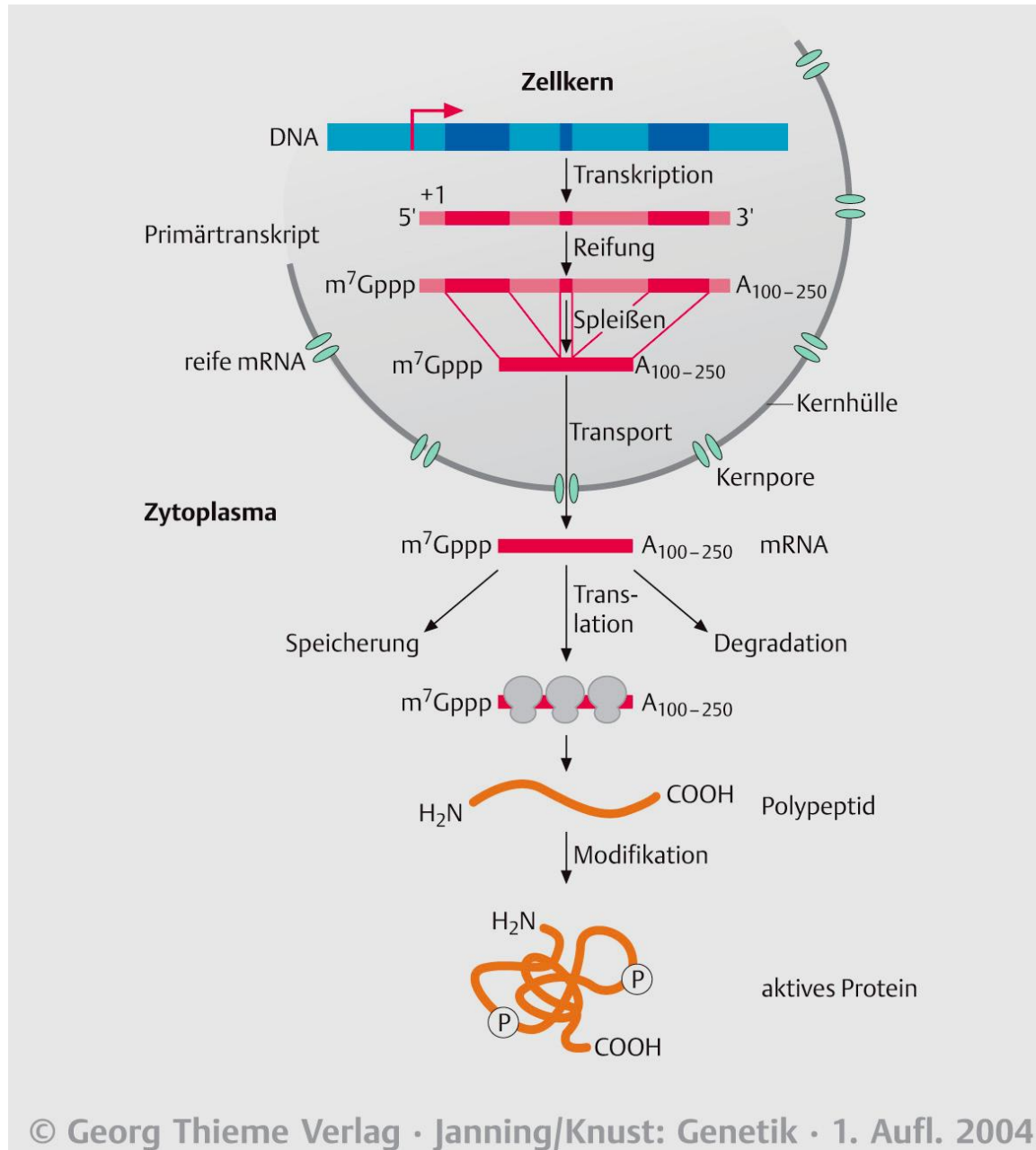
Vorlesung 7

Regulation der Transkription bei Eukaryoten

cAMP-abhängige Gene
Homöobox-Proteine
NF-kappa B
Rolle der DNA-Struktur
DNA-Remodelling

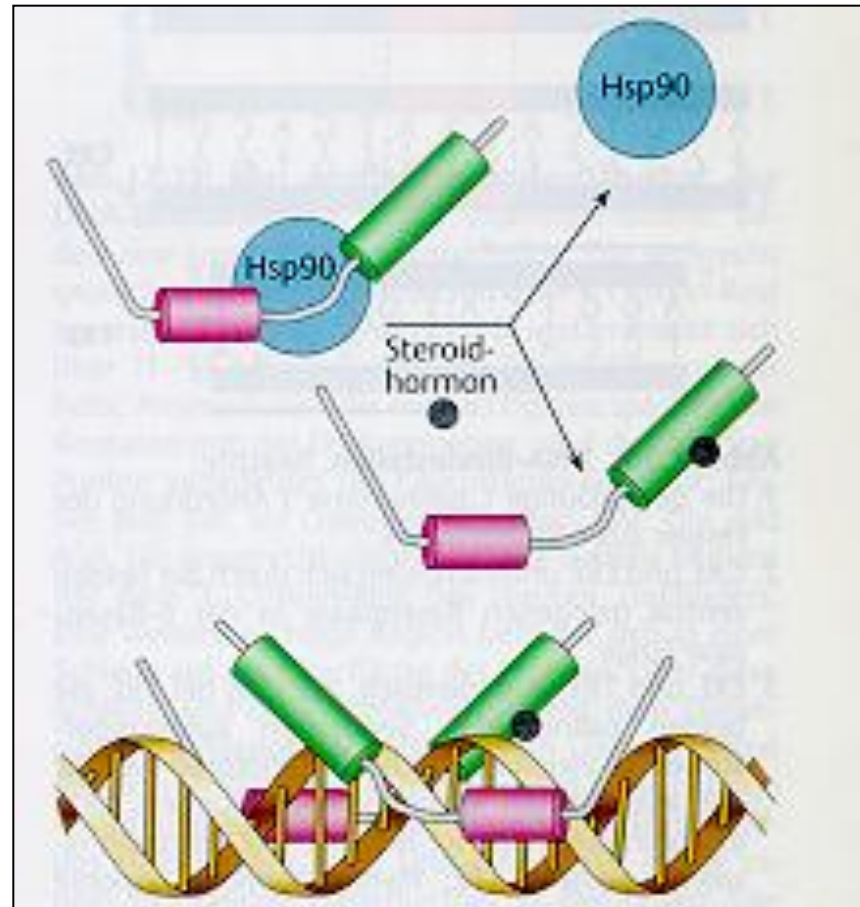


Ebenen der Genregulation bei Eukaryoten



Regulation der Transkription bei Eukaryoten Protein-codierende Gene mit RNAPII

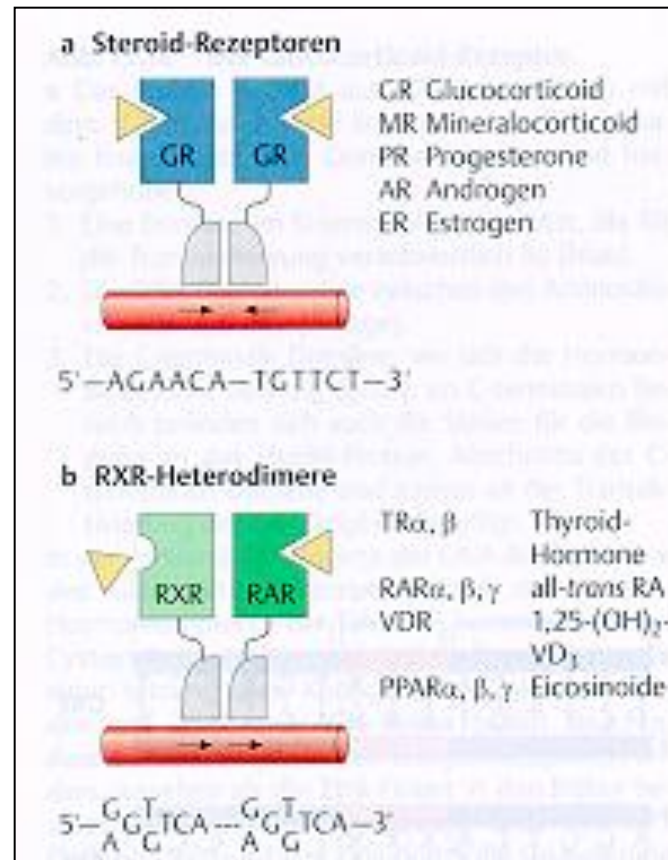
Regulatorproteine - z.B. Steroid-Hormon-Rezeptoren



Regulation der Transkription bei Eukaryoten

Protein-codierende Gene mit RNAPII

Regulatorproteine - z.B. Steroid-Hormon- und ähnliche Rezeptoren – Vgl.

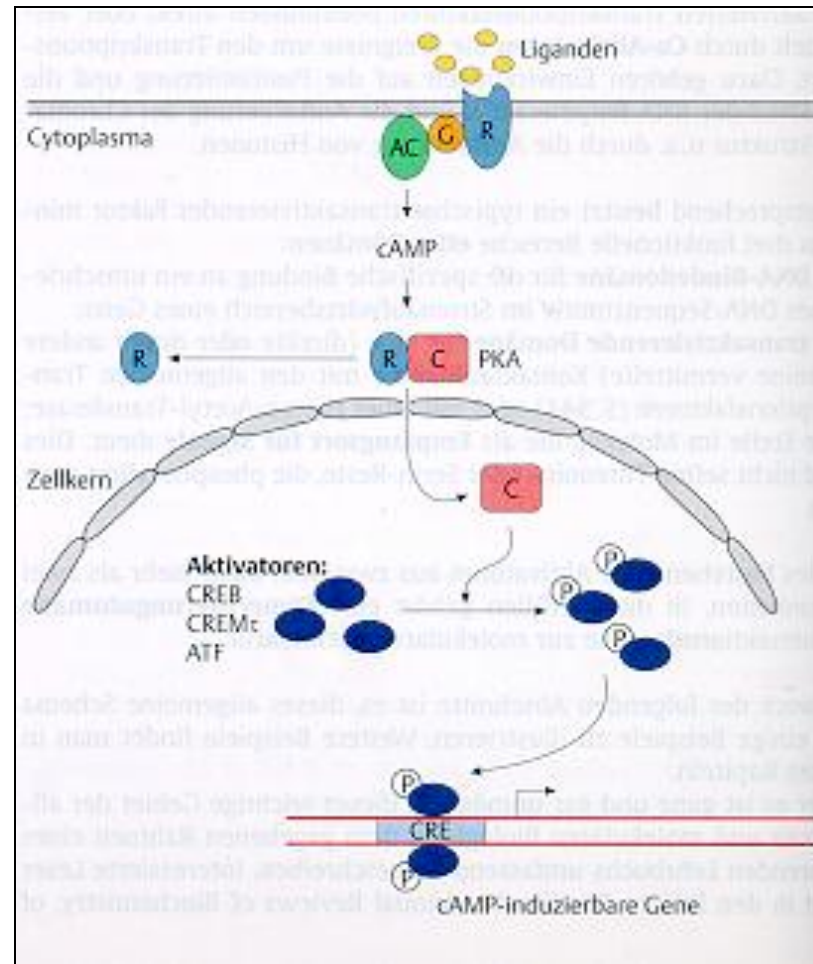


Regulation der Transkription bei Eukaryoten

Protein-kodierende Gene mit RNAPII

cAMP-abhängige Promotoren:
Bindestelle: 5'-TGACGTCA-3'

CRE: cAMP-response element
CREB: CRE-Bindeprotein



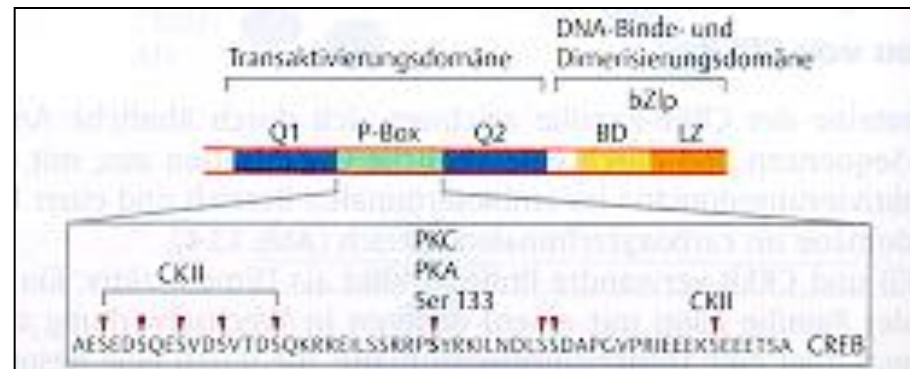
Regulation der Transkription bei Eukaryoten

Protein-kodierende Gene mit RNAPII

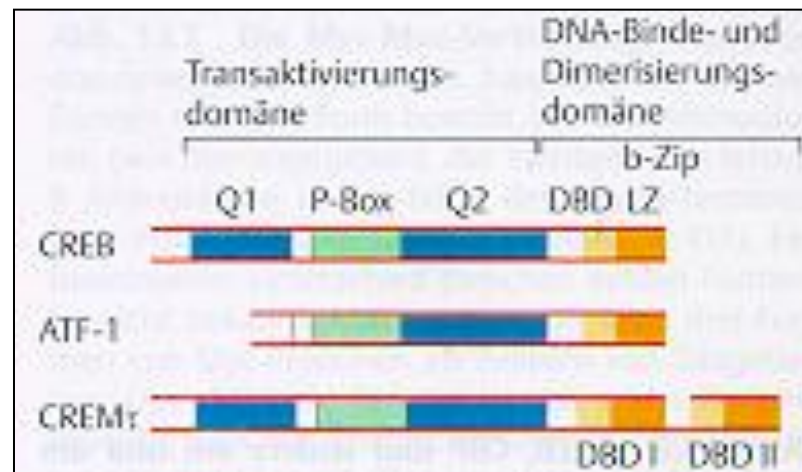
CREB wird durch viele Signale aktiviert?

P-Box nimmt Signale auf und führt zur Konformationsänderung

Q1 und Q2 interagieren mit TFIIB bzw. TFIID



CREB gehört zu einer Familie verwandter Transkriptionsfaktoren

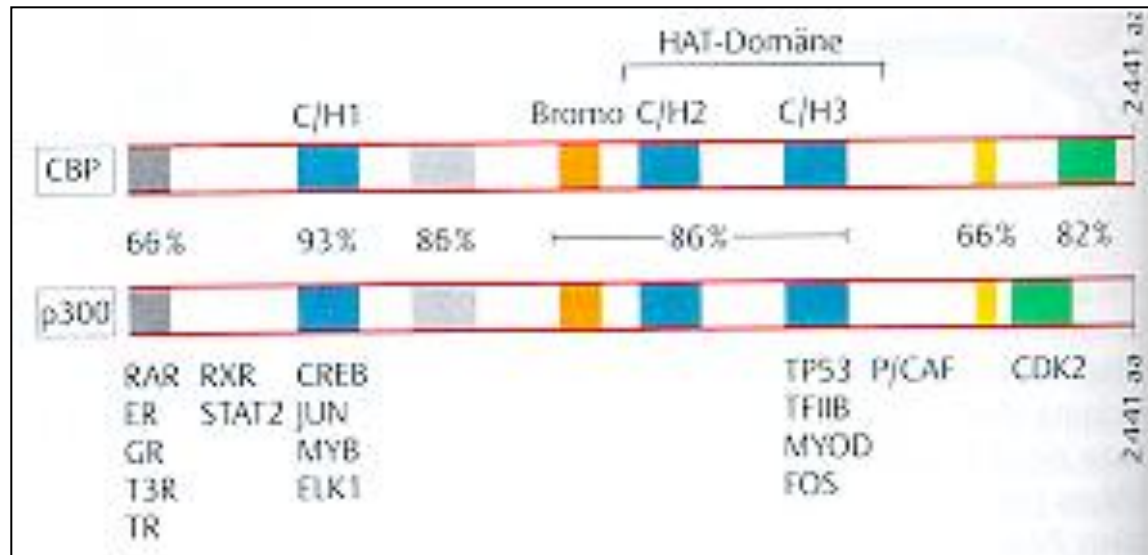


Regulation der Transkription bei Eukaryoten

Protein-kodierende Gene mit RNAPII

CREB benötigt CBP (CREB-Binde-Protein) oder P300 als
Co-Aktivatorproteine

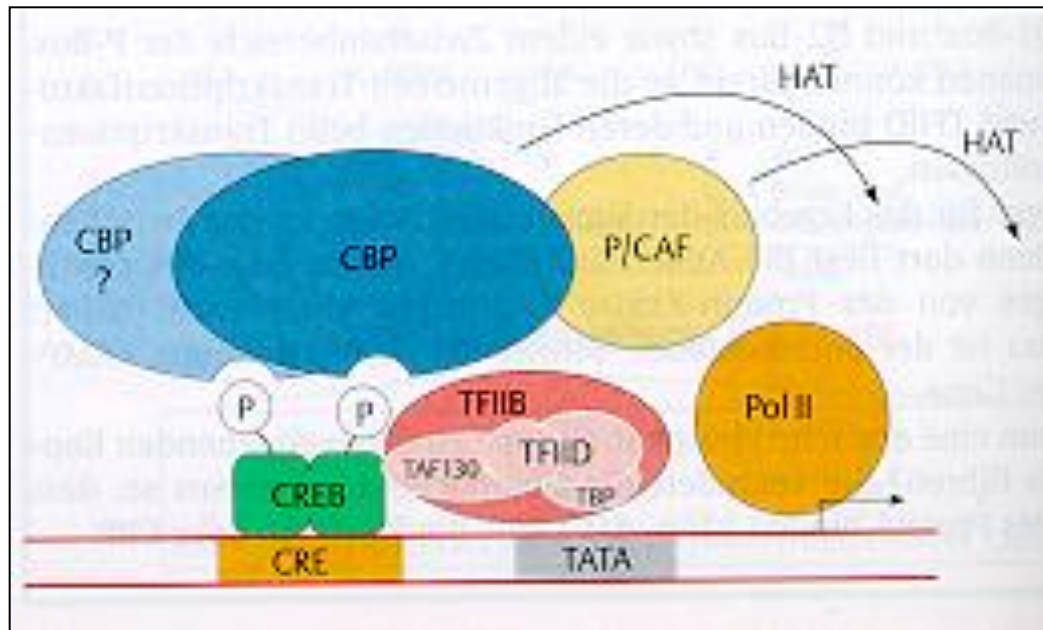
Beide sind essentiell für die Zelle!



Regulation der Transkription bei Eukaryoten

Protein-kodierende Gene mit RNAPII

Modell für die Genaktivierung durch den CREB/CBP Komplex
HAT – Histon-Acetyltransferase-Aktivität, Chromatinlockerung
P/CAF – P300/CREB-assoziiierter Faktor



Regulation der Transkription bei Eukaryoten

Protein-kodierende Gene mit RNAPII

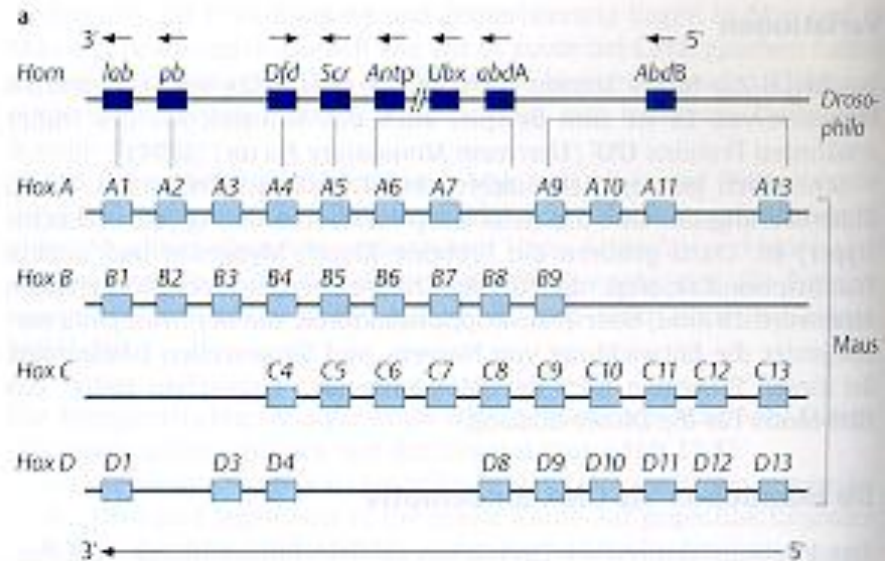
Homöobox-Proteine dienen der Regulation der Embryosegmentierung

Abb. 13.9 Homöobox.

a Die Lage von Hox-Genen im Drosophila- und Mausgenom.

b Die gemeinsame Domäne in einigen Homöoproteinen.

Die Bezeichnung der Proteine ist im Text erläutert. Computer-Analysen über die Wahrscheinlichkeit mit der einzelne Sequenzabschnitte Sekundärstrukturen einnehmen können, weisen auf die mögliche Ausbildung von drei α -Helices hin. Diese Befunde werden durch die Aufklärung der dreidimensionalen Struktur bestätigt. Für die Struktur wichtige gemeinsame Aminosäuren sind blau hinterlegt, mit dunklen Kreisen markierte Aminosäuren nehmen Kontakt zu den DNA-Basen auf, mit weißen Kreisen definierte Aminosäuren zum Phosphodiester-Band [nach 2, 10].



b

```

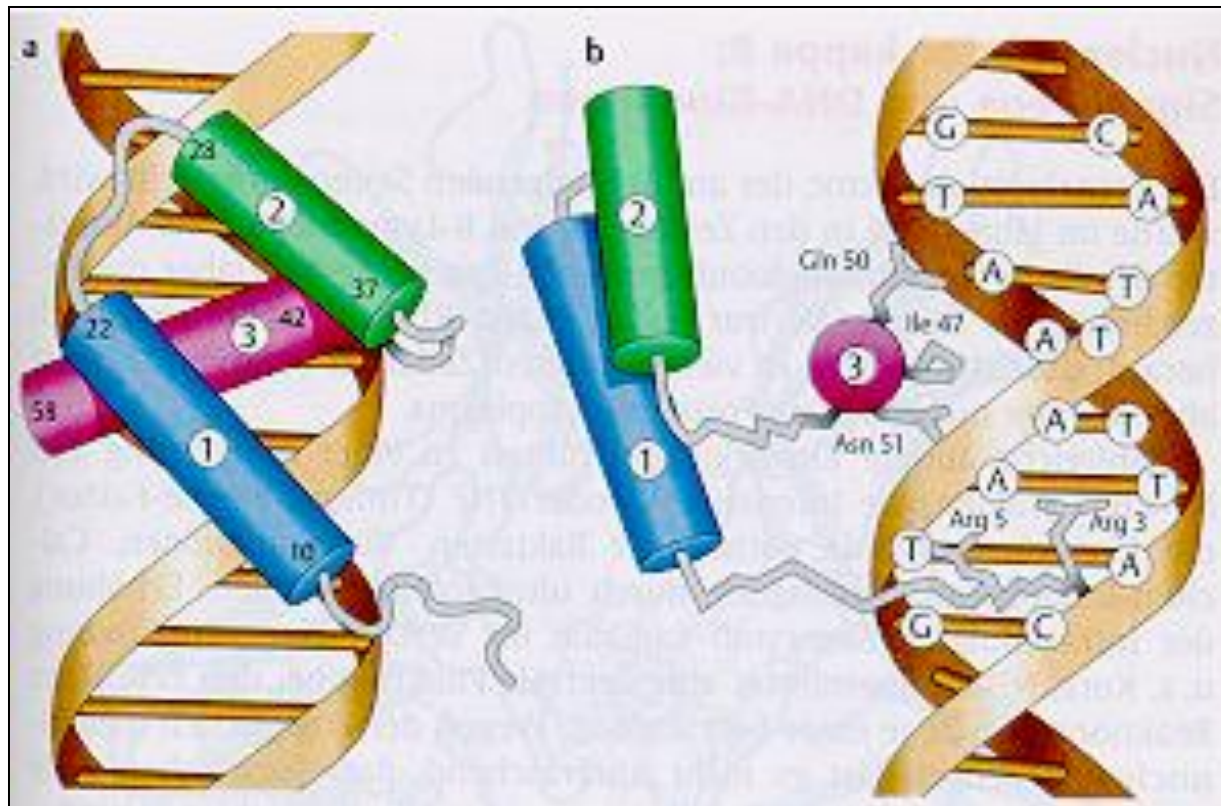
RRRCGRQTYTRYQTLELEKEFHFNHYLTRRRRIEMAHALCLTERQIKIWFQNRMRMLKKEI  ubx
VRRYRTAFTRDQLGRLEKEFYKENYVSRPRRCELAAQLNLPSTIKVWFQNRMRMKDKRQR    eve
SKRTRQTYTRYQTLELEKEFHFNRYITRRRRIDIANALSLSERQIKIWFQNRMRMKSCKDR    ftz
RKRRERQTYTRYQTLELEKEFHFNRYLTRRRRIEIAHALCLTERQIKIWFQNRMRMKWKKEN    antp
EKRPRTAFESSEQLARLKRFEFNENRYLTERRRQQLSSELGLNEAQIKIWFQNKRAKIKKST    en
    
```

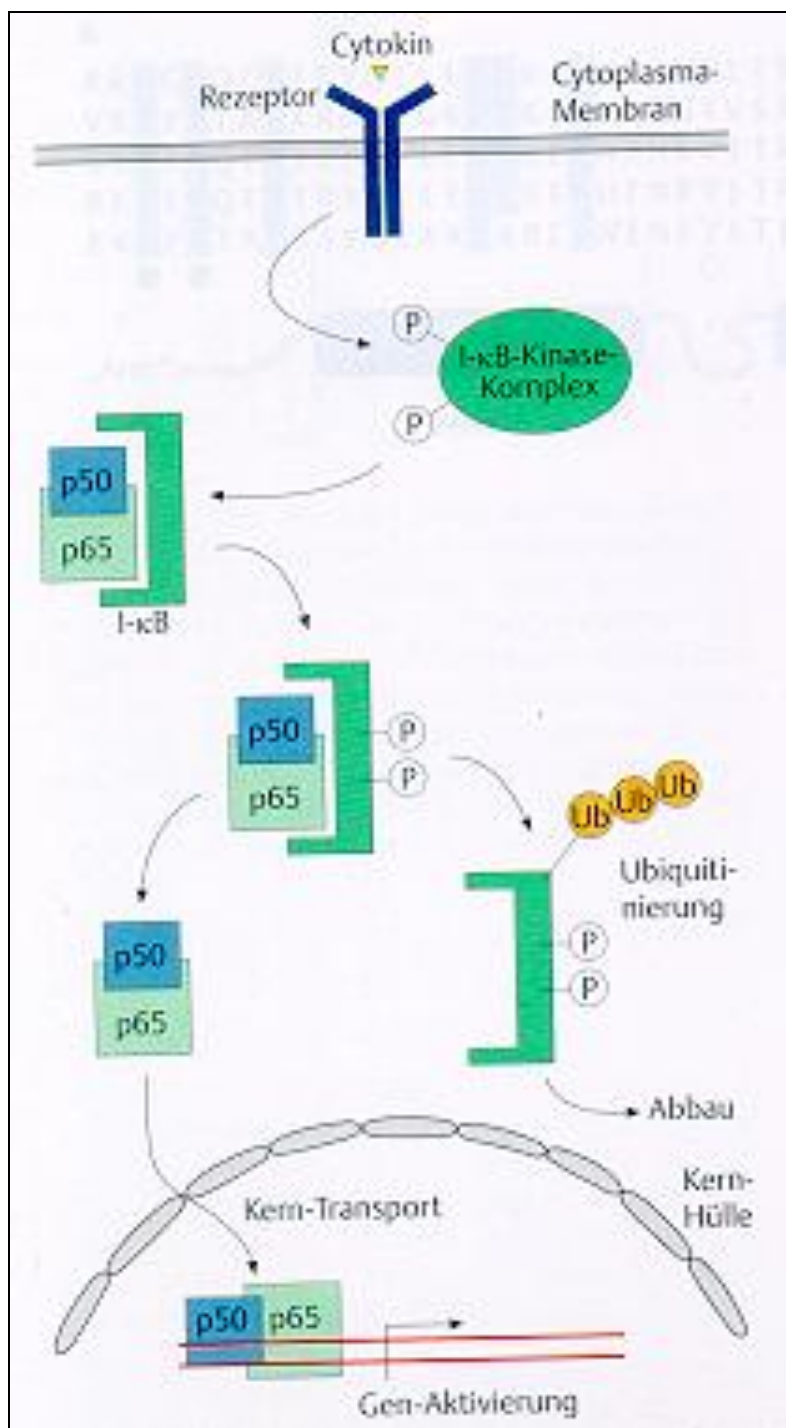


Regulation der Transkription bei Eukaryoten

Protein-kodierende Gene mit RNAPII

Homöobox-Proteine haben eine Helix/Turn/Helix-Domäne zur DNA-Erkennung
Können sowohl aktivierend als auch inhibierend wirken





Regulation der Transkription bei Eukaryoten

Protein-kodierende Gene mit RNAPII

Kernfaktor-kappaB (NF κ B)
 Aktivierungsschema und Wirkung auf die Genexpression

Ein Inhibitor wird inaktiviert

Bindestelle: 5'-GGGRNNYYCC-3'

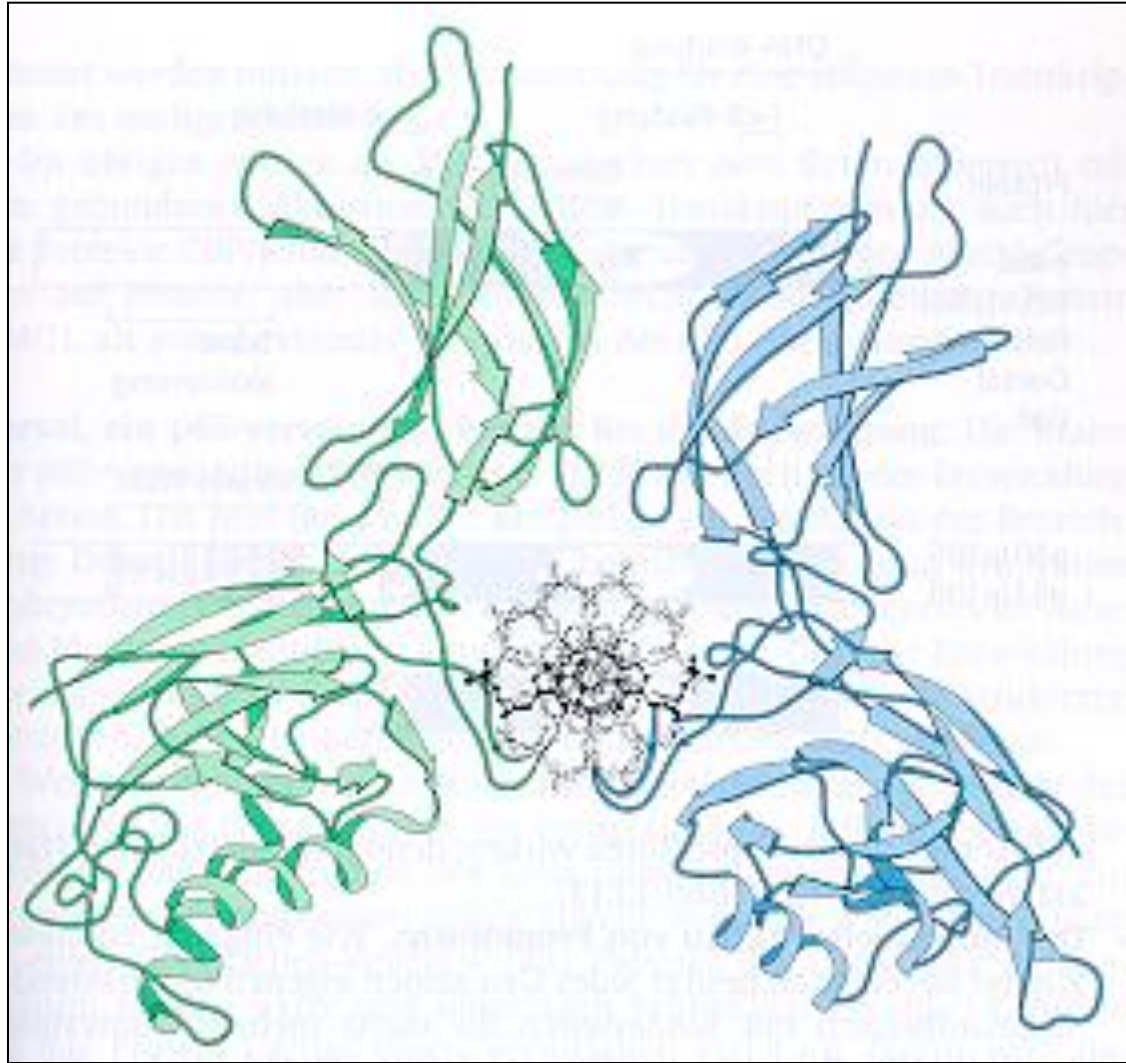


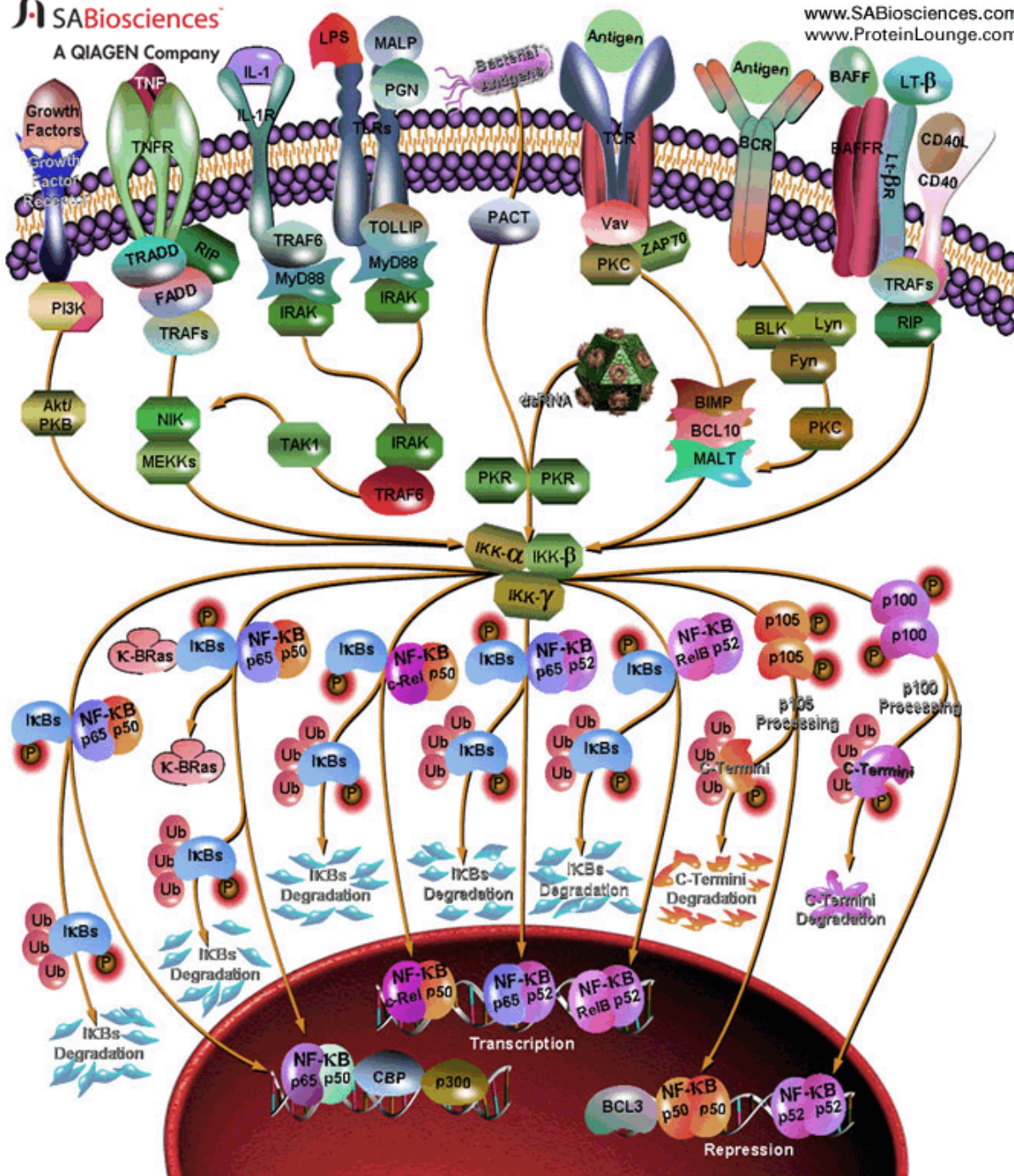
Regulation der Transkription bei Eukaryoten

Protein-kodierende Gene mit RNAPII

Kernfaktor-kappaB (NF- κ B)

DNA-Bindung nach Dimerisierung über Schleifen im zentralen Teil





Regulation der Transkription bei Eukaryoten

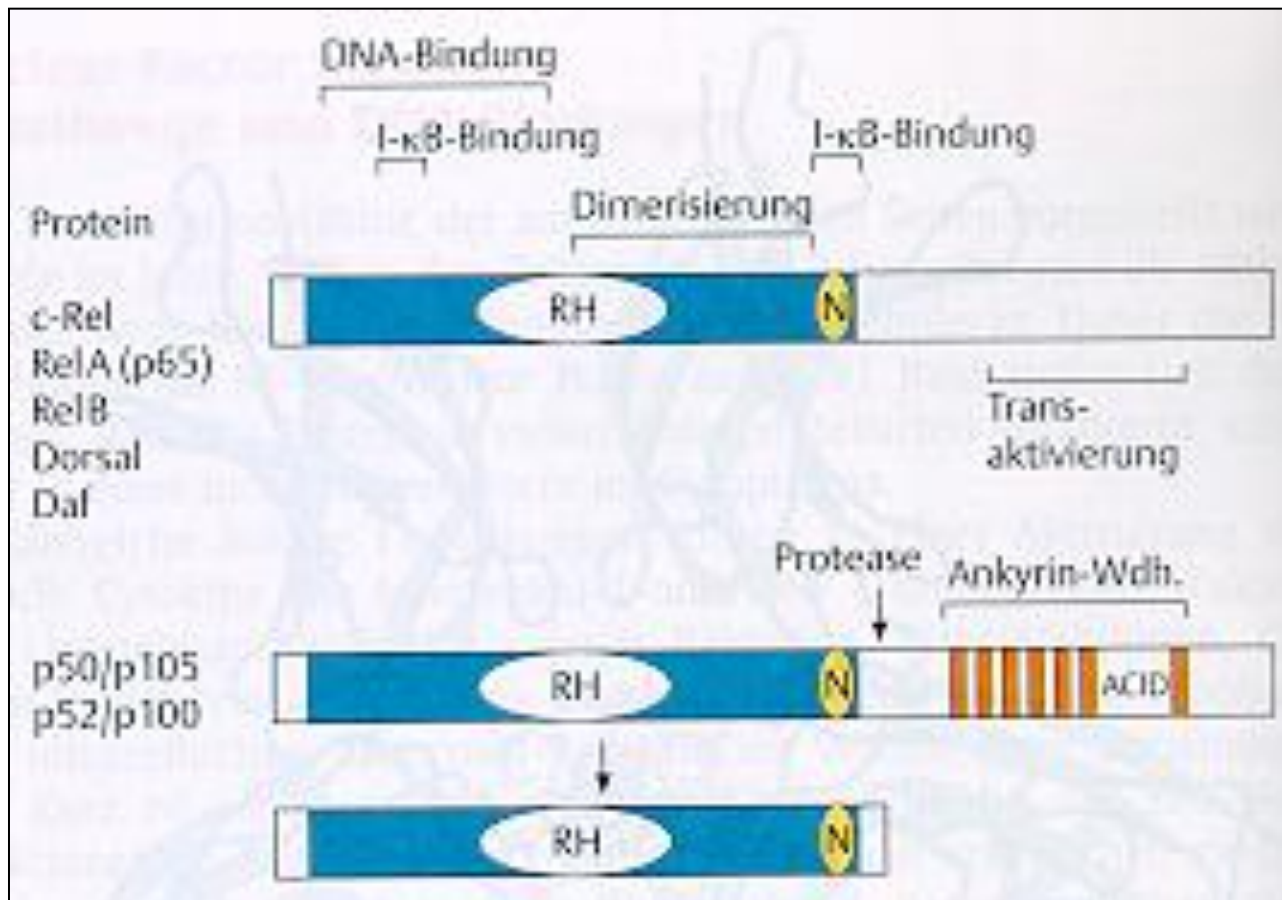
Protein-kodierende Gene mit RNAPII

NF κB - Pathways

Regulation der Transkription bei Eukaryoten

Protein-kodierende Gene mit RNAPII

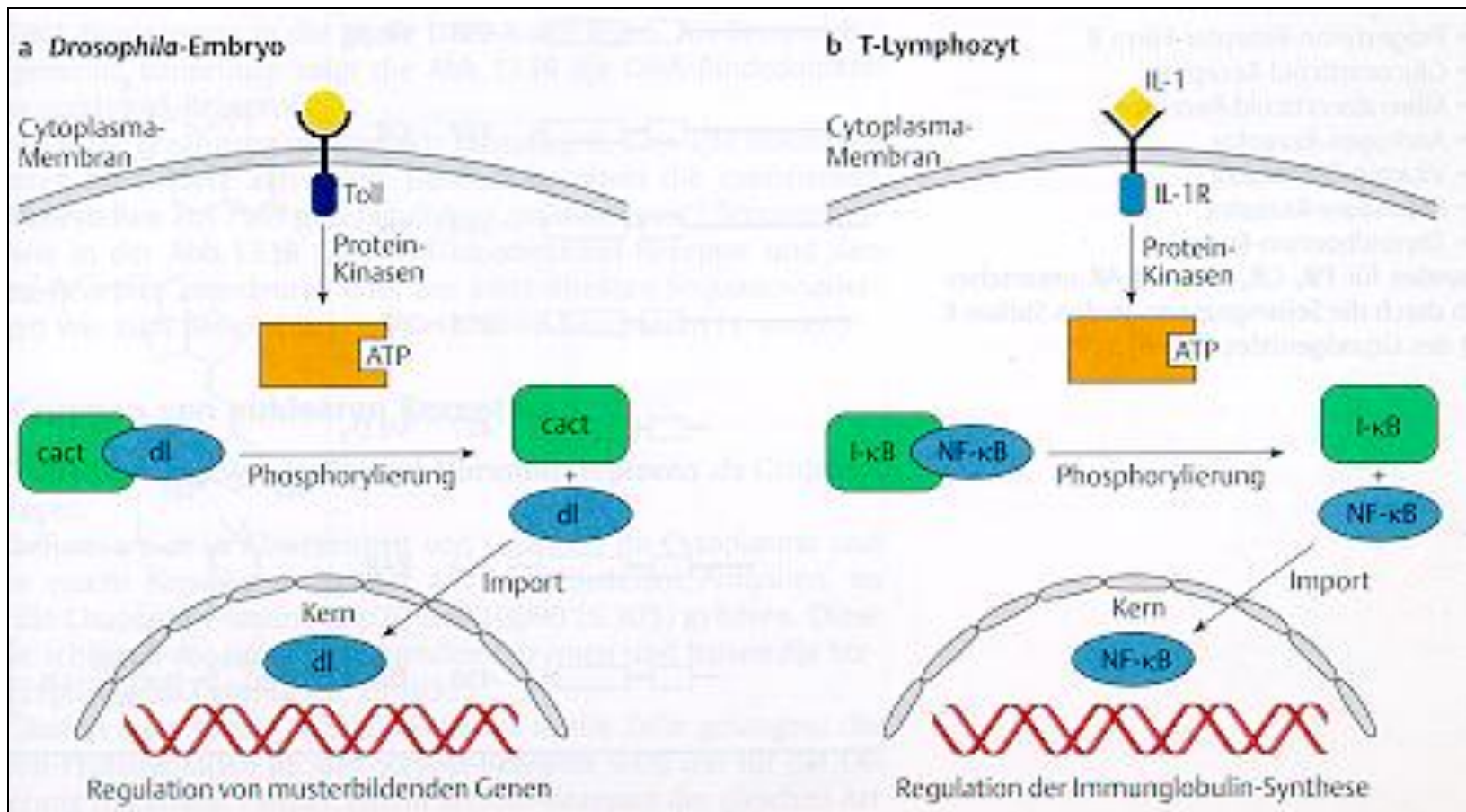
NF- κ B gehört zur Familie der Rel-Proteine – RH(Rel-Homolog)-Domäne
2 Klassen, mit und ohne Transaktivierungsdomäne
Homo- und Heterodimere sind in vielen Kombinationen möglich



Regulation der Transkription bei Eukaryoten

Protein-kodierende Gene mit RNAPII

Struktur und Regulationsprinzip des Humanen NF- κ B ähnelt dem TF Dorsal für die Embryogenese in Drosophila

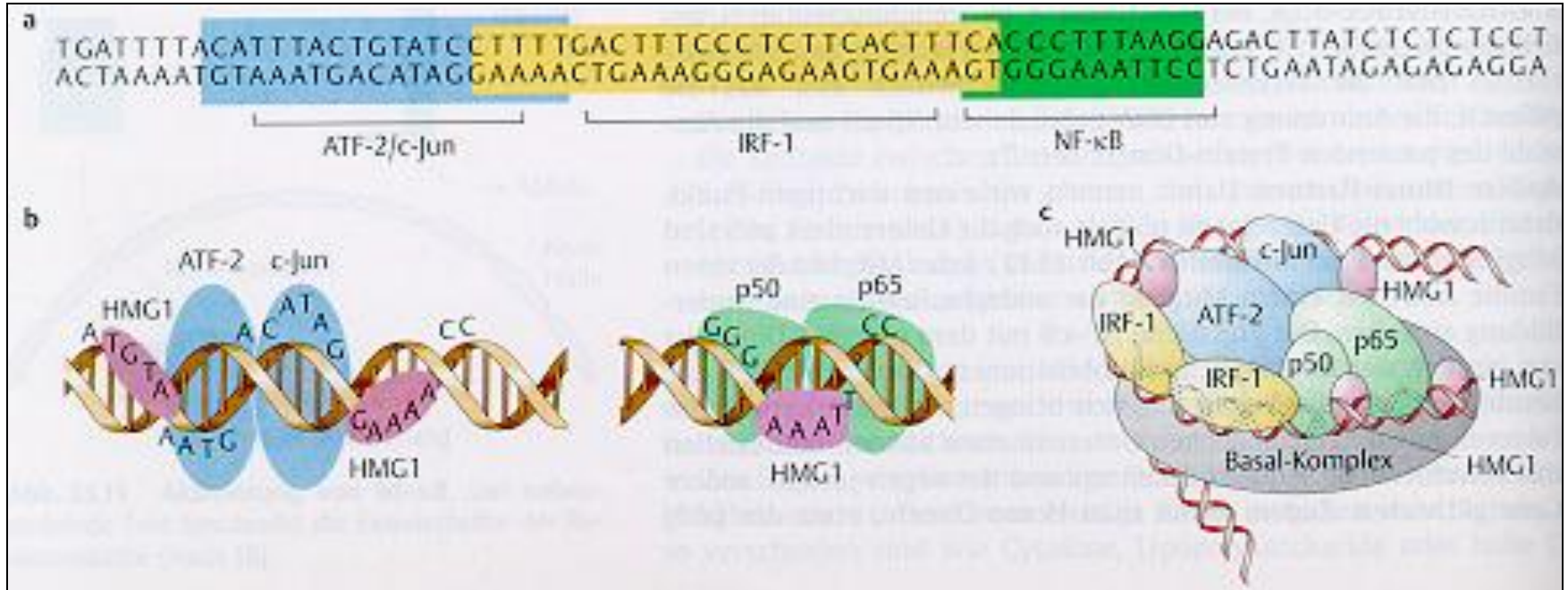


Regulation der Transkription bei Eukaryoten

Protein-kodierende Gene mit RNAPII

NF- κ B wirkt mit anderen Transkriptionsfaktoren zusammen
z.B. am Interferon- β -Gen

Zusätzlich werden Co-Aktivatorproteine rekrutiert



Regulation der Transkription bei Eukaryoten

Protein-kodierende Gene mit RNAPII

Neben Genaktivierungen existieren auch Beispiele für negative Kontrolle

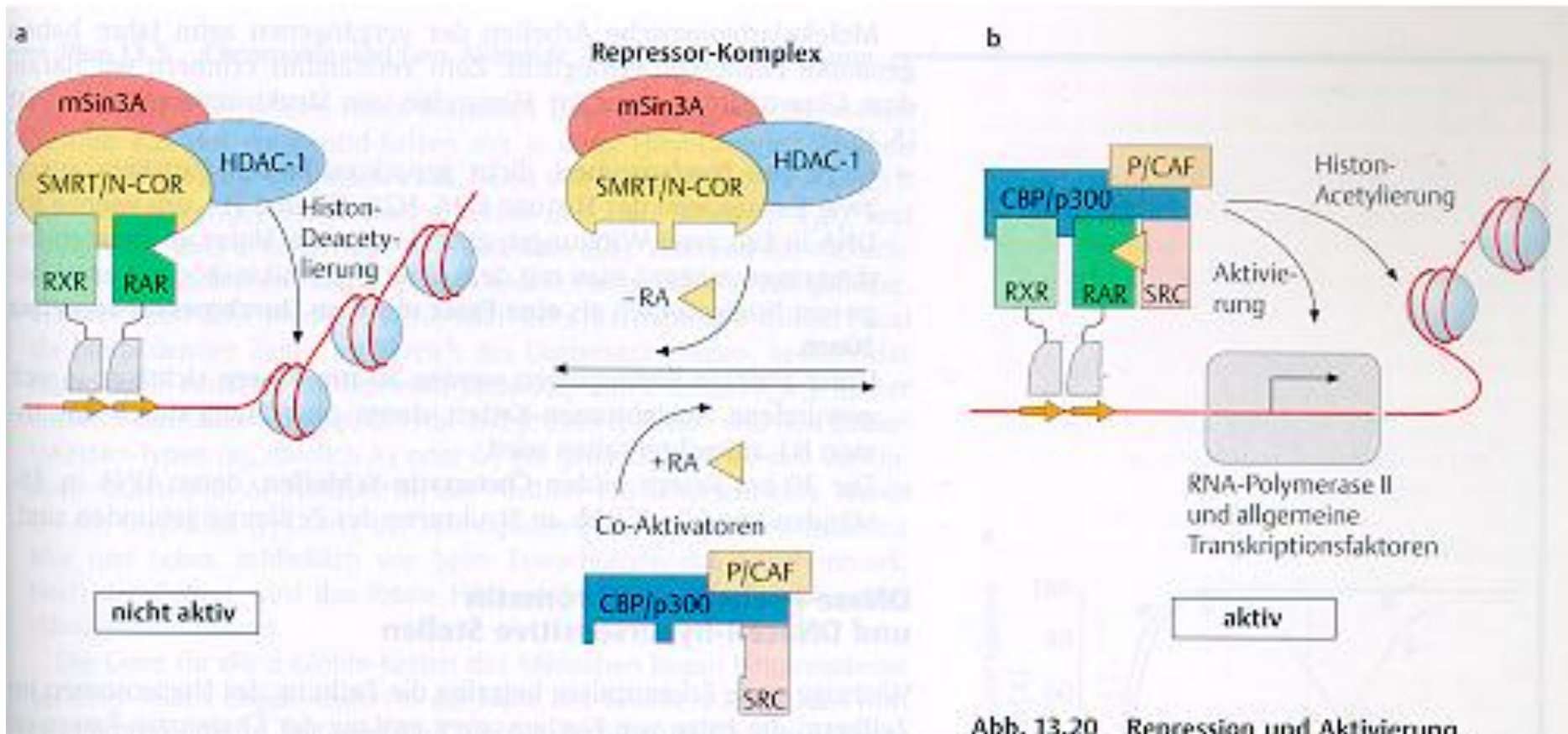


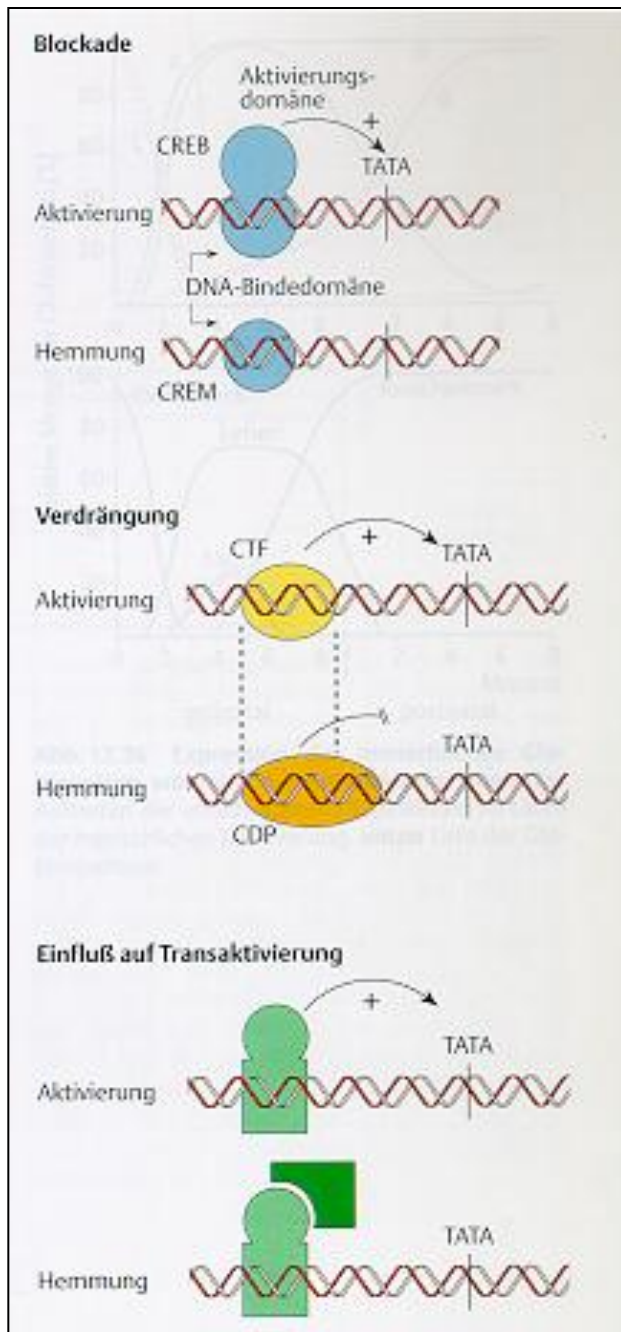
Abb. 13.20 Repression und Aktivierung

Regulation der Transkription bei Eukaryoten

Möglichkeiten für Hemmung der Transkription

Dephosphorylierung
Abbau

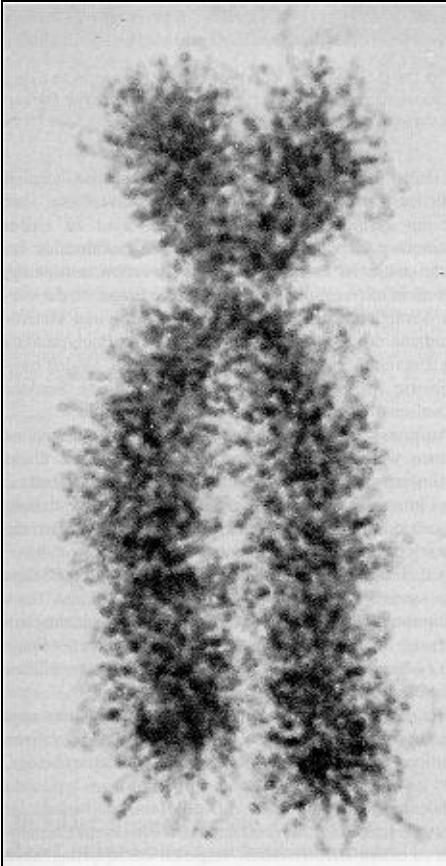
v.a. Chromatinbeeinflussung



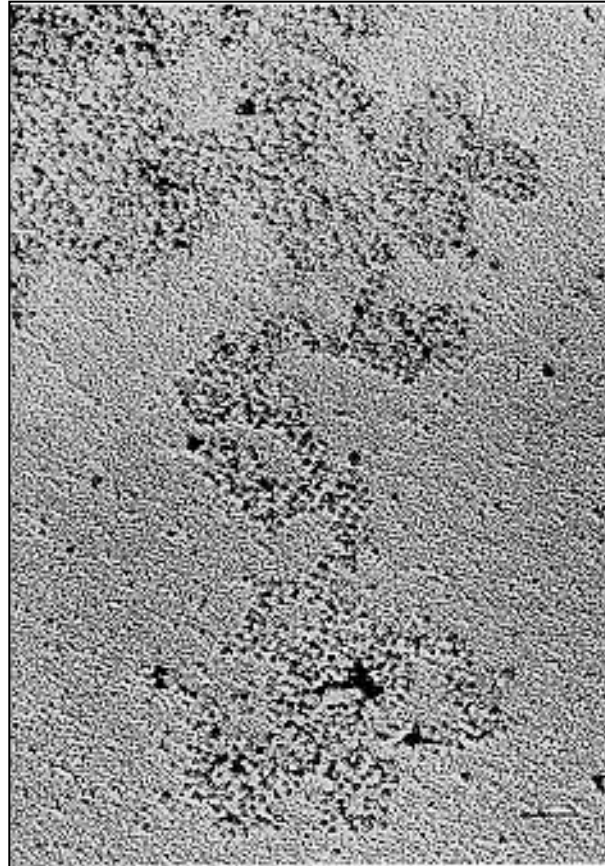
Regulation der Transkription bei Eukaryoten

Rolle der DNA-Struktur

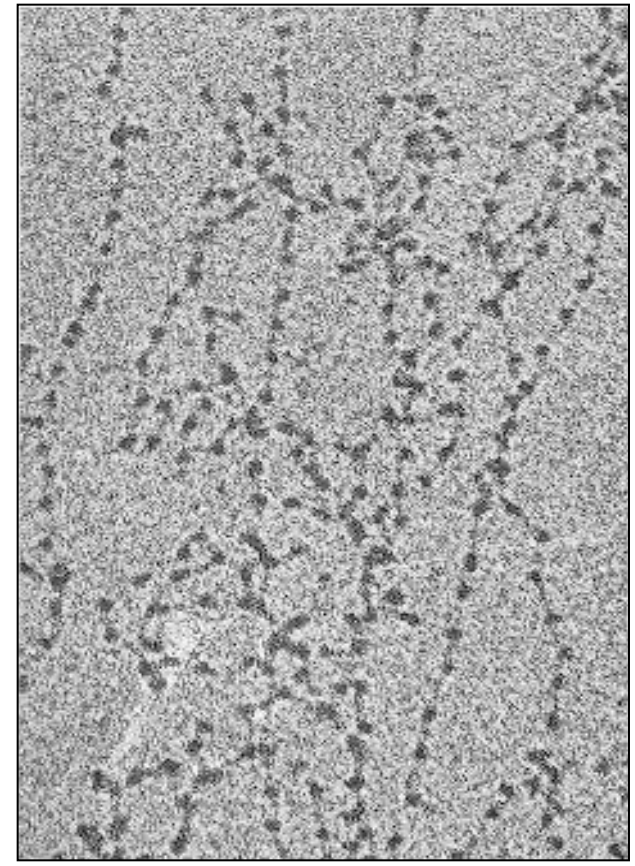
Chromosom



Freigesetzte 30 nm Faser



Nucleosomenstruktur





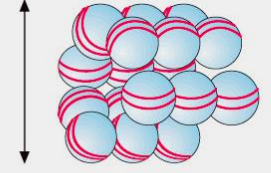
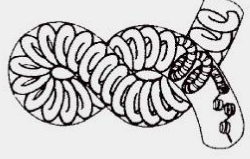
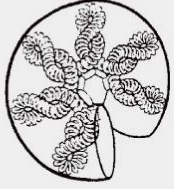
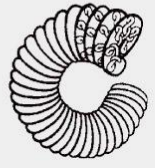
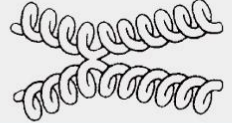
30 nm Faser in S-Phase

Ca. 150 kb Chromatinschleifen binden an Kernskelett



Regulation der Transkription bei Eukaryoten

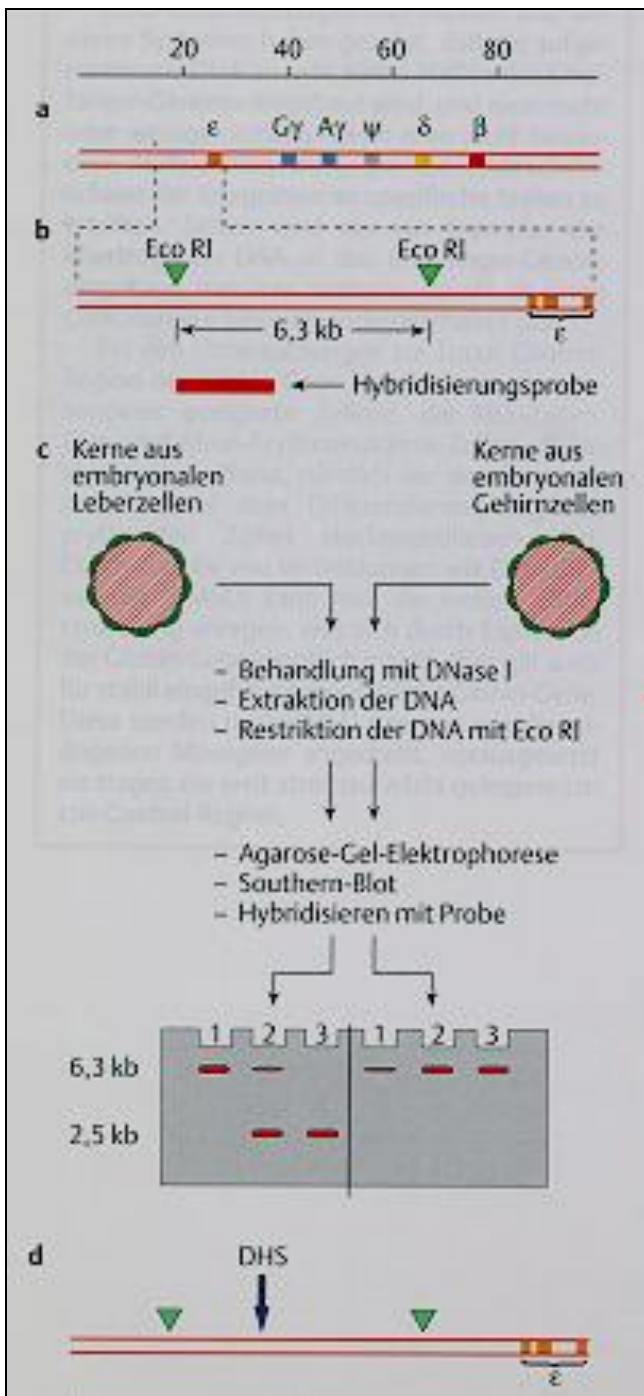
Rolle der DNA-Struktur

Bezeichnung Packungsgrad	Struktur
DNA 1	2 nm 
Nukleosomenfilament 6-7	10 nm 
30 nm Fibrille (Solenoid) ± 40	30 nm 
Chromatinschleife	
300 nm Fibrille	300 nm 
Chromatide ± 10000	700 nm 
Chromosom ± 10000	



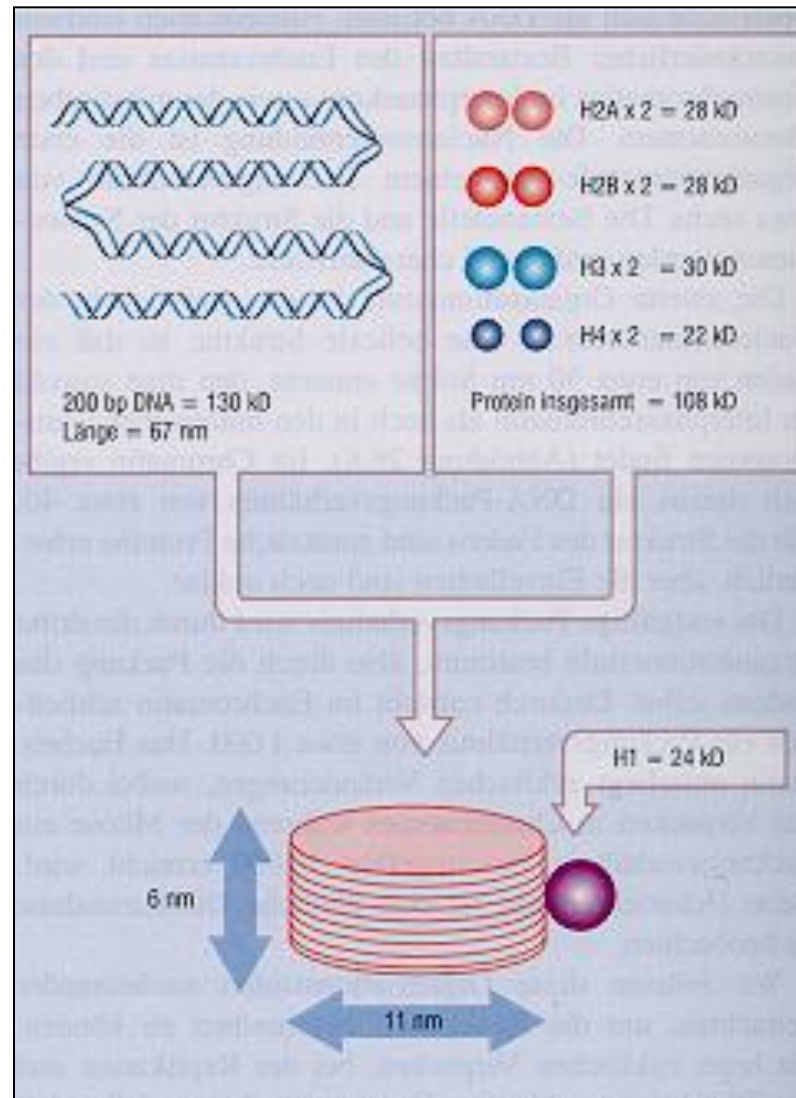
Regulation der Transkription bei Eukaryoten

Modifikation der DNA-Struktur führt zu DNase1-hypersensitiven Bereichen



Regulation der Transkription bei Eukaryoten

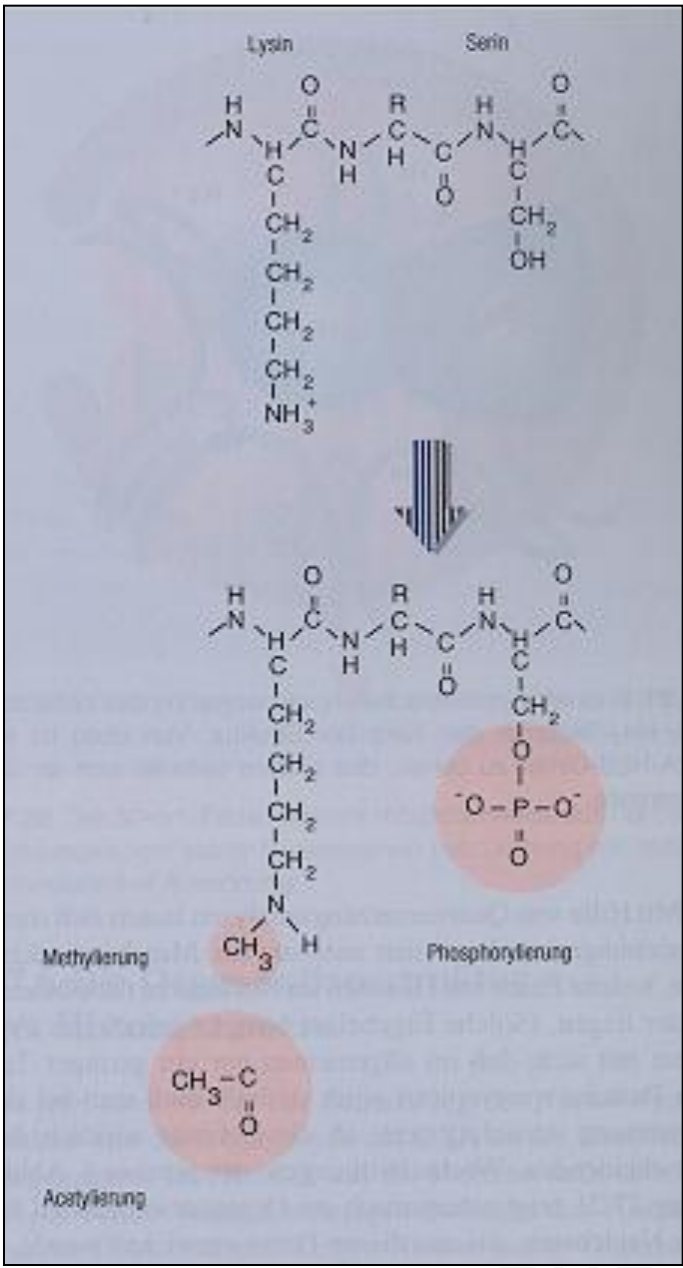
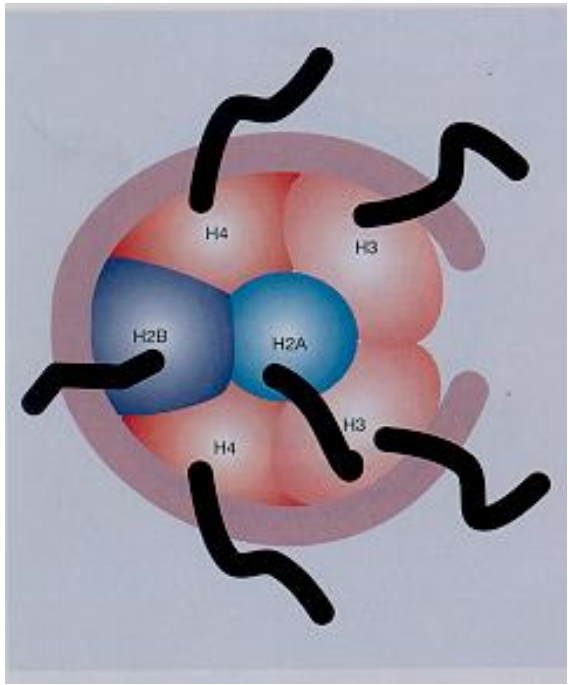
Rolle der DNA-Struktur Rolle der Histone



Regulation der Transkription bei Eukaryoten

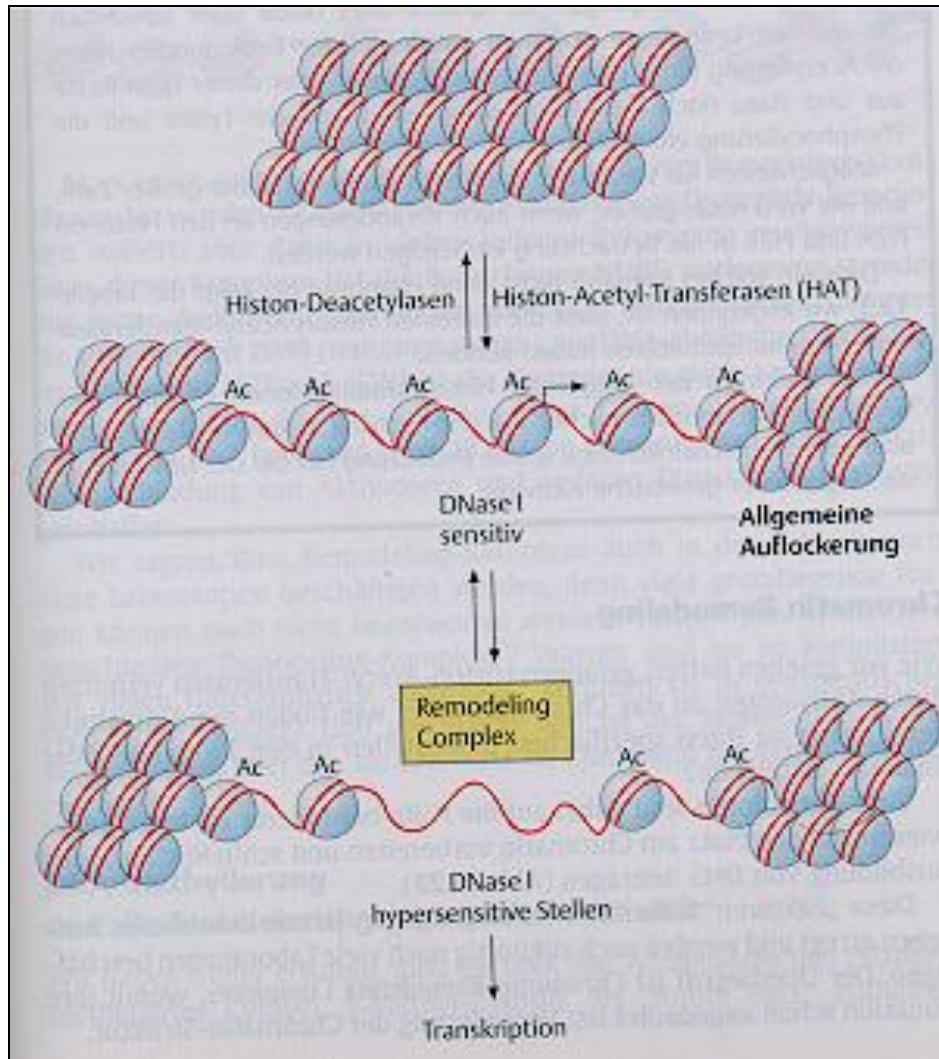
Rolle der DNA-Struktur

Histone haben flexible N-terminale Domänen, die modifiziert sein können



Regulation der Transkription bei Eukaryoten

DNase1-hypersensitive Bereiche sind Ergebnis von Chromatin-Remodeling
Dabei sind v.a. Histon-Acetylierungen beteiligt



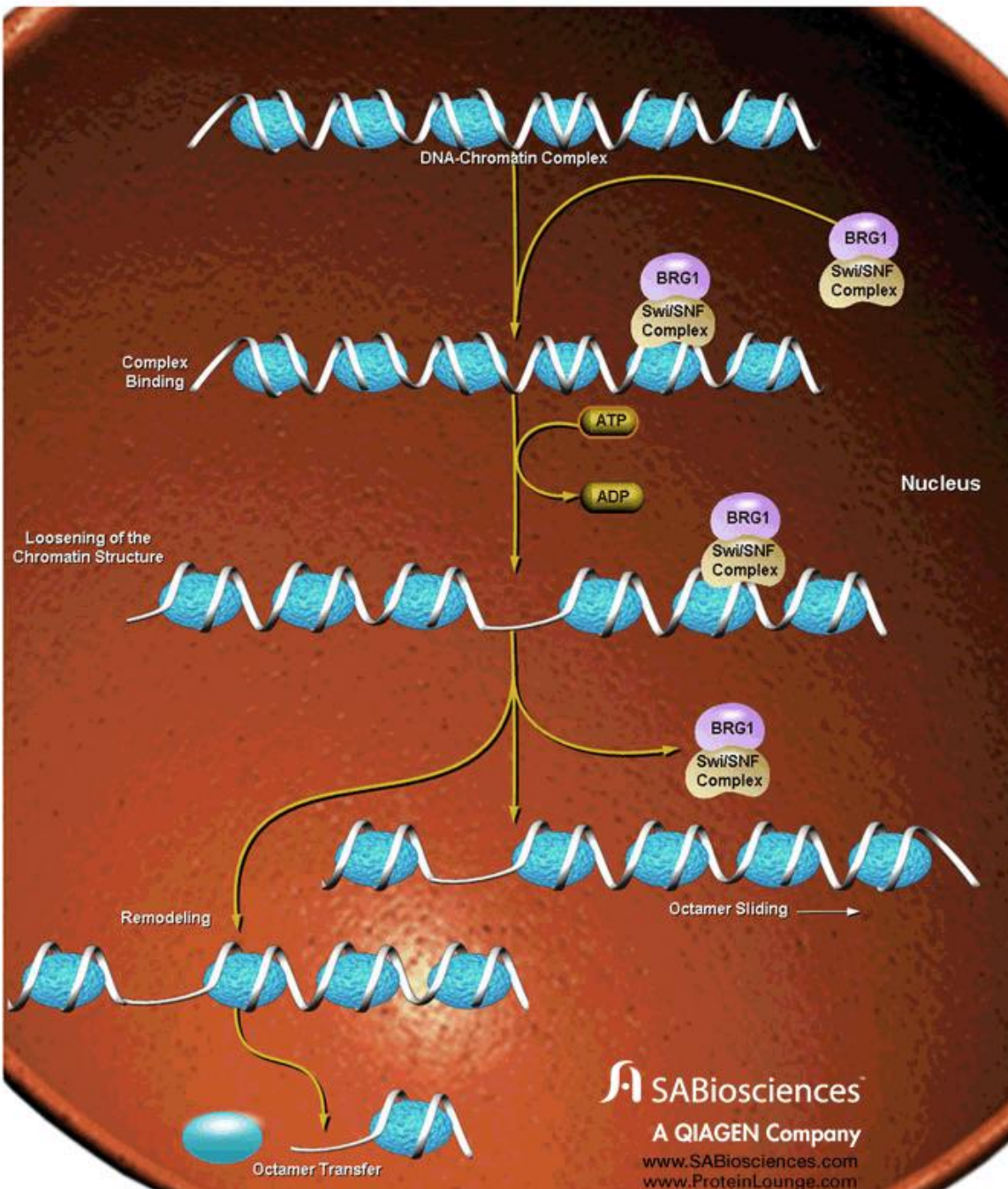
Tab. 13.3 Einige Histon-Acetyl-Transferasen in den Kernen menschlicher Zellen [aus 3]

Enzym	Komplex	Spezifität/Funktion
p300/CBP (S. 370)	-	Acetylierung der vier Core-Histone Acetylierung von Transkriptionsfaktoren, z. B. p53
SCR1/ACTR (S. 385)	-	Acetylierung der Histone H3 und H4
PCAF (S. 370)	-	Acetylierung von Histon H3 und Transkriptionsfaktoren
hGCN5L	STAGA	Acetylierung von Histon H3
TFIIIC (S. 359)	-	Acetylierung der Histone H2A, H3 und H4
hTAF ₂₅₀ (S. 343)	TFIID	Acetylierung der (freien) Histone H3 und H4 sowie Transkriptionsfaktoren
Elp3	Elongator	Acetylierung der vier Core-Histone Funktion bei der Elongation der Transkription



Chromatin-Remodeling

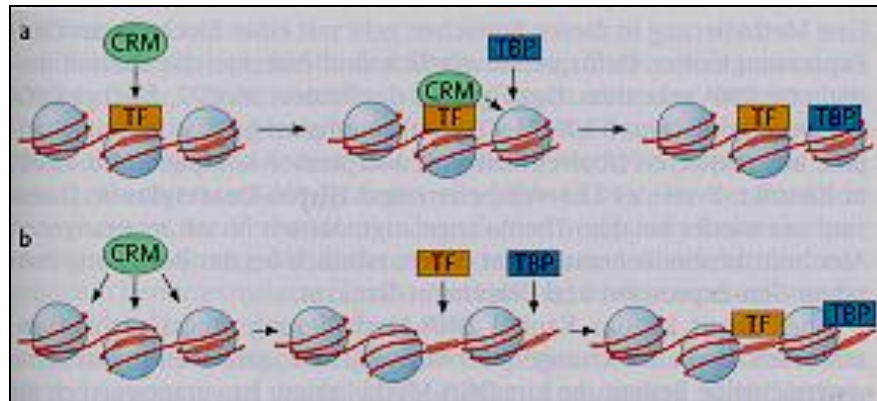
Verschiebung (Auflösung) von Nucleosomen im aufgelockerten Chromatin



Regulation der Transkription bei Eukaryoten

Chromatin-Remodeling lockert Nucleosomen (a) oder verdrängt sie (b):

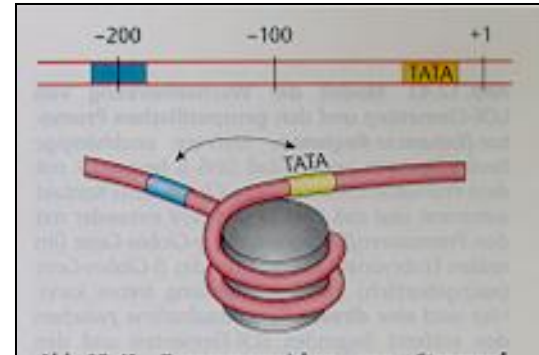
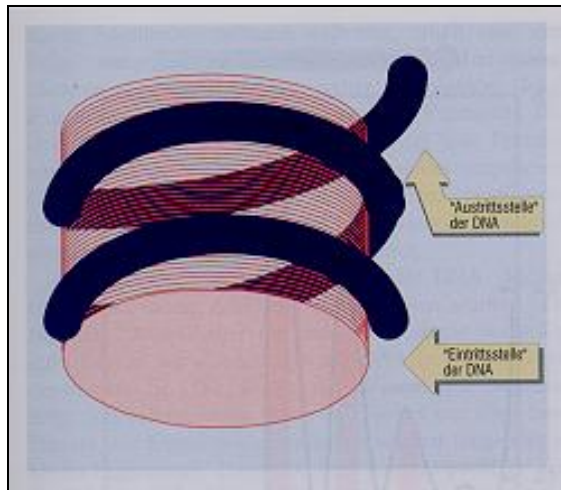
- a) TF können an der aufgelockerten Nucleosomenstruktur DNA erkennen
- b) DNA-Elemente sind nur in Nucleosomen-freien Stellen erkennbar



Regulation der Transkription bei Eukaryoten

Histone wickeln ca. 200 bp der DNA auf.

Histon-assoziierte DNA ist vermutlich für TF nicht zugänglich (Repression)
kann aber auch DNA-Boxen entsprechend positionieren (Aktivierung).



Regulation der Transkription bei Eukaryoten

DNase1-hypersensitiver Bereiche im Genlocus des β -Globingens
Locus-control-region – gesamter DNA-Bereich wird zugänglich

