

# **Genregulation**

**Prokaryoten**

**Transkription**

**Aufbau des Promotors**

**RNA Polymerase**

**Hitzeschock Reaktion**

**alternative Sigma-Faktoren**

**das lac-Operon**

# **Eukaryoten**

**Regulations-Elemente und Promotoren**

**Promotoraufbau**

**Regulierte Gene / Haushaltsgene**

**Transkriptionsfaktoren (TF)**

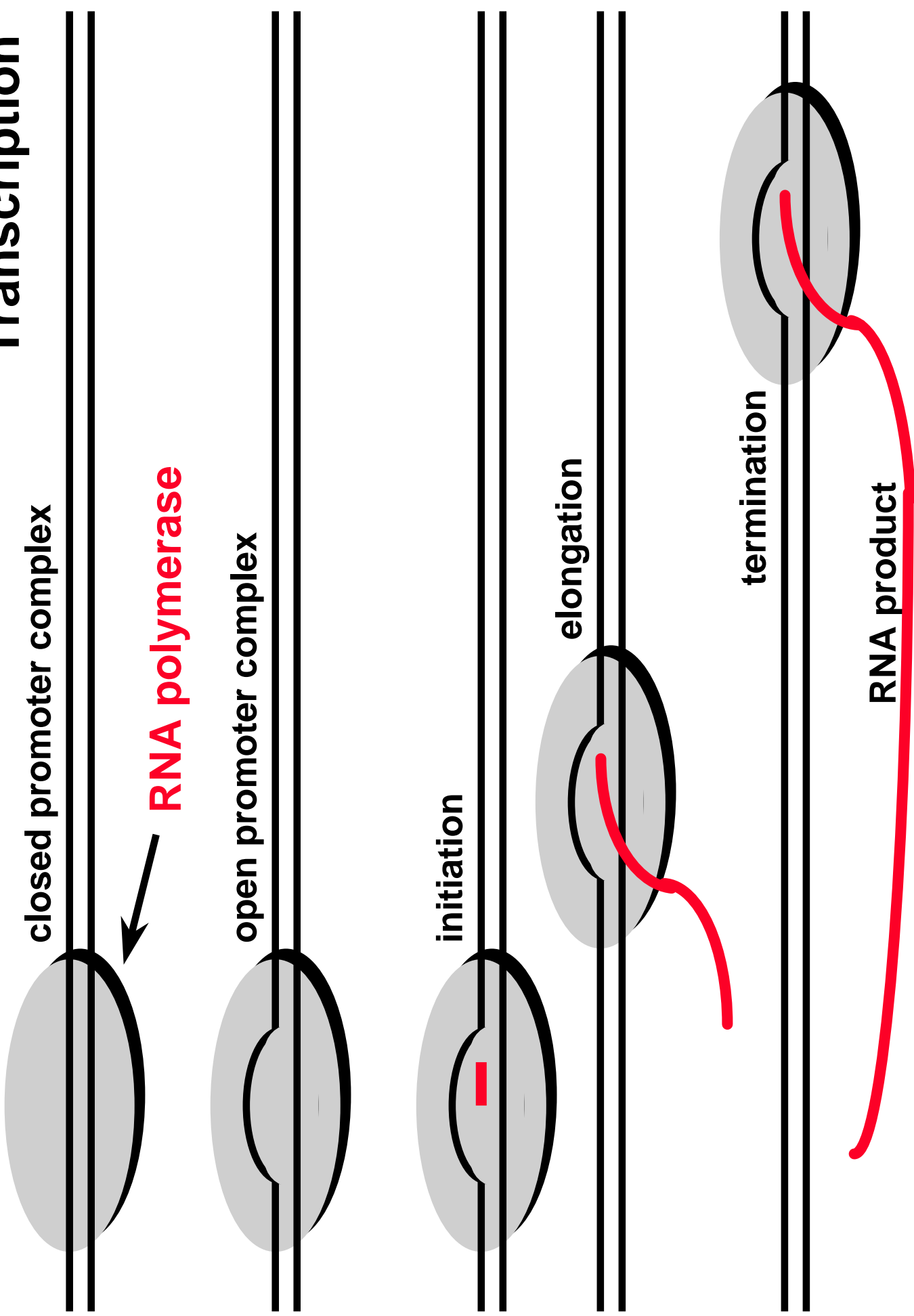
**Initiation der Transkription bei RNA Pol II**

**Zusammenspiel von Regulatoren und TFs**

A scanning electron micrograph (SEM) showing a dense population of rod-shaped bacteria. The bacteria are green and appear to be arranged in various orientations, some singly and some in small groups. The background is dark, highlighting the individual cells.

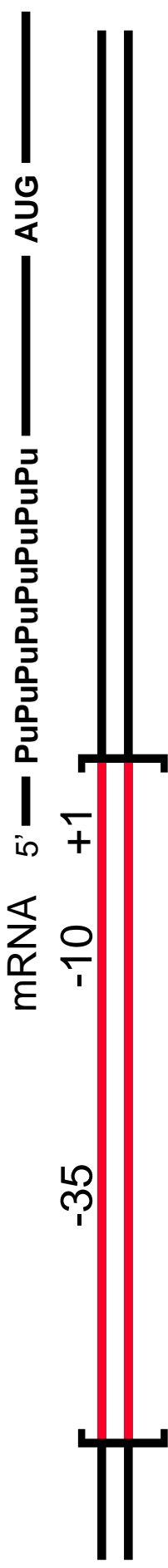
# Prokaryoten

# Transcription

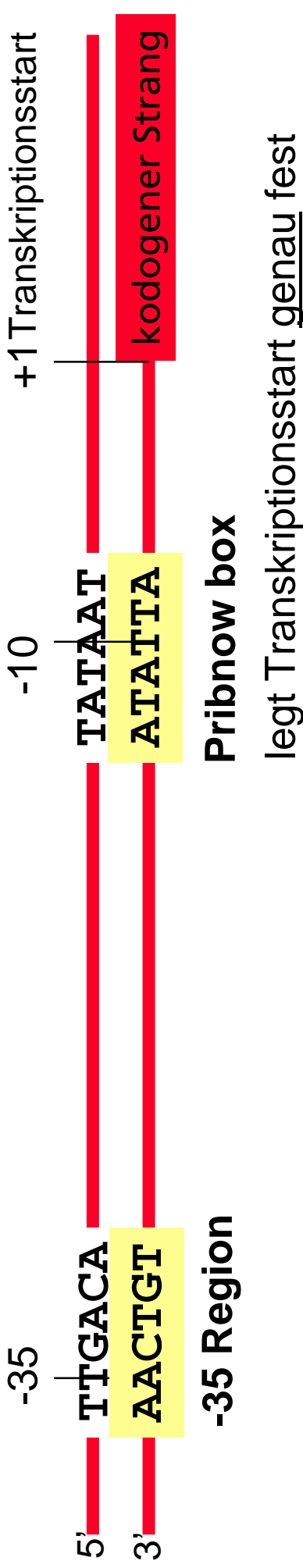


# Promotor Aufbau in Prokaryoten

- Erkennungsstelle für RNA Polymerase
- markiert den kodogenen Strang



## Musterpromotor: Konsensus Sequenz (hier E.coli.)



Konsensus Sequenz: Idealfall

Abweichung von Konsensus -> Veränderte Transkriptionseffizienz

# Prokaryoten RNA-Polymerase

E. coli RNA-Polymerase besteht aus mehreren Einheiten

## Untereinheit    Anzahl    Funktion

$\alpha$	2	?
$\beta$	1	bildet Phosphodiester Bindungen
$\beta'$	1	bindet an DNA
$\sigma$	1	erkennt Promotor und positioniert die Pol. am Start



**Holoenzym**

**Core Enzym**

**Sigma Factor**

## Wie findet die RNA Polymerase den Transkriptionsstart ?

- RNA-Pol. Holoenzym bindet an DNA (schwache Bindung, destabilisiert durch  $\sigma$  Faktor)
- gleitet am Strang entlang unter ständigem lösen und binden
- am Promotor starke Bindung ( stabilisiert durch  $\sigma$  Faktor)
  - Sigma-Faktor bindet stark an den Promotor, besonders gut an Pribnowbox -> positioniert dadurch die RNA-Pol genau am Transkriptionsstart
- Beginn der Transkription, nach ca. 37 bp wird der  $\sigma$  Faktor aus dem Holoenzym entlassen, Coreenzym synthetisiert alleine weiter

# Hitzeschock Reaktion

Schnelle und starke Zunahme der Produktion von Reparatur Proteinen (v.a Chaperone) bei Stress, wie Temperatur, pH, Antibiotika, Ethanol, Schwermetalle (-> denaturierte Proteine)

korreliert mit

15 x Anstieg der  $\sigma^{32}$  Konzentration

stress -->

1. Aktivierung von *rpoH* (codiert für  $\sigma^{32}$ )
2. Steigerung der Translation von  $\sigma^{32}$  m-RNA
3. Stabilisierung von  $\sigma^{32}$  bei hohen Temperaturen (10x stabiler)  
wird bei niedriger Temp. schnell abgebaut.



# Alternative Sigma Faktoren

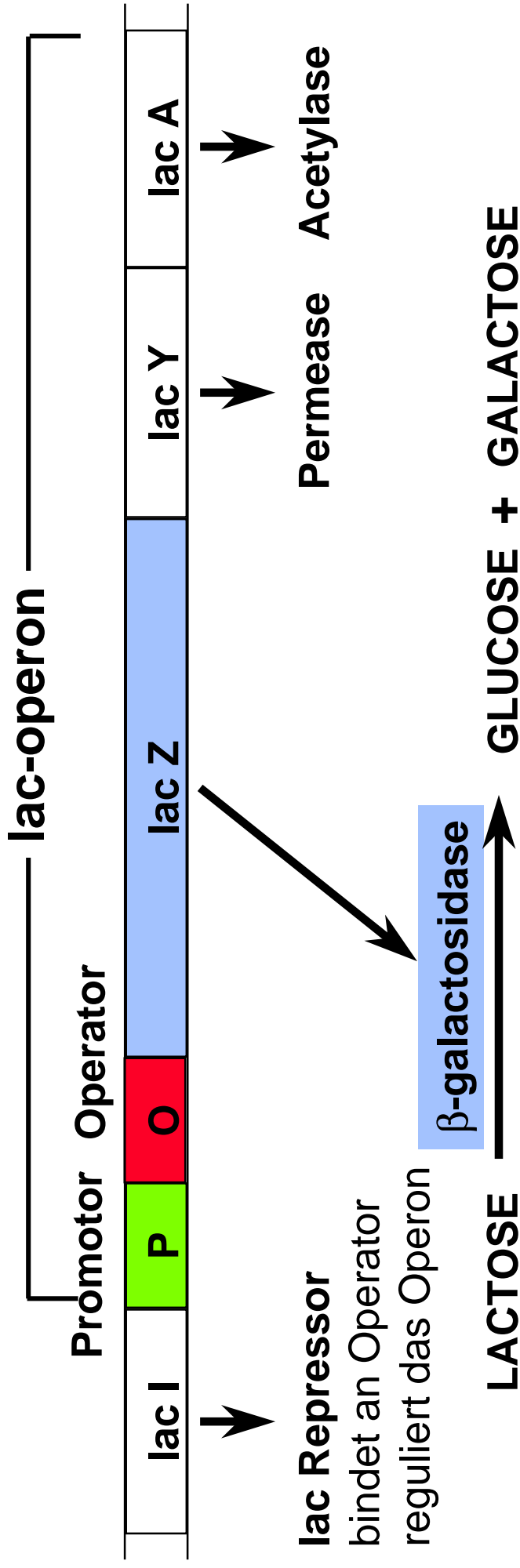
- $\sigma^{70}$  Standard Sigma-Faktor,  
bindet gut an Standard Promotor,  
schlecht an Promotoren von Hitzeschock Genen.
- $\sigma^{32}$  Hitzeschock Sigma-Faktor,  
bindet gut an Hitzeschock Promotor,  
schlecht an Standard Promotor.
- $\sigma^{54}$  Stickstoffmangel Sigma-Faktor

## Regulon

Gene einer gemeinsam als Einheit reguliert werden.

z.B.: durch  $\sigma^{32}$  werden alle Hitzeschockproteine gemeinsam reguliert

# Lactose Operon in E. coli



**Das lac-Operon reguliert die Gene für den Lactose Abbau**

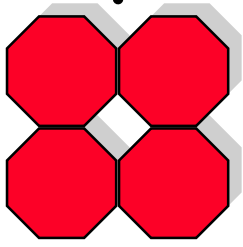
- die Gene des Operons werden gemeinsam reguliert und transkribiert
- lac-operon wird negativ und positiv reguliert

# Regulation des lac Operon: Negative Kontrolle

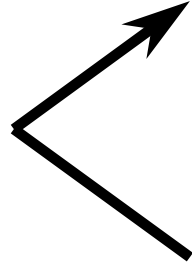
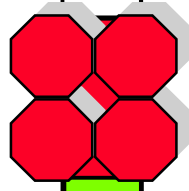
promotor - operator



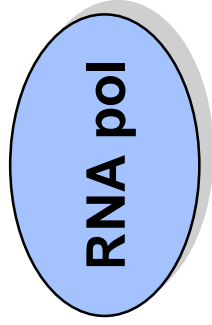
lac repressor



- der **repressor tetramer** bindet an den operator und verhindert die Bindung der RNA Polymerase and den Promotor



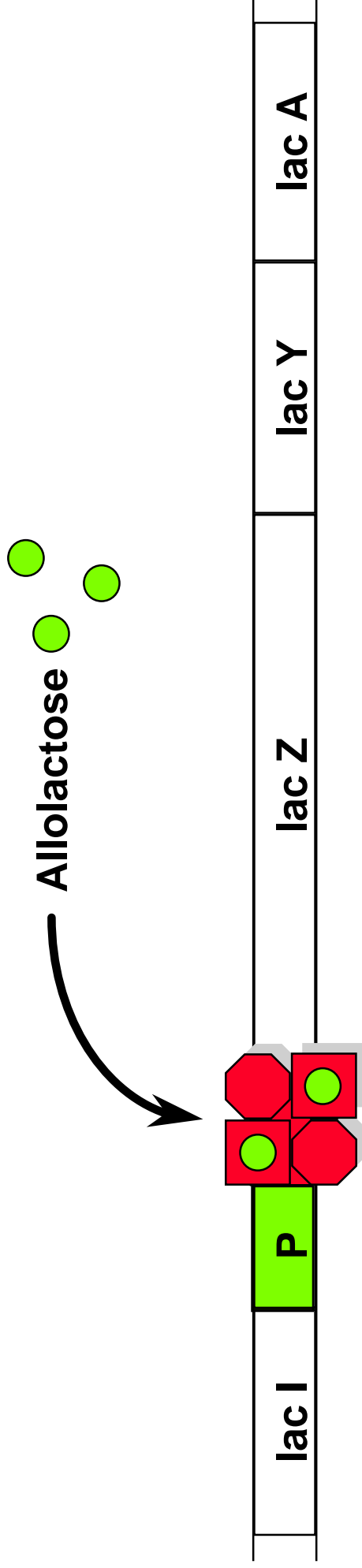
**KEINE TRANSCRIPTION**



- RNA polymerase kann nicht an Promotor binden

## Aufhebung der Negativkontrolle durch den Induktor

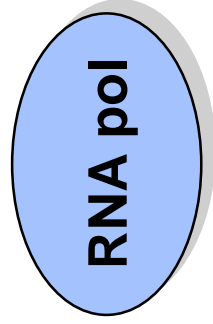
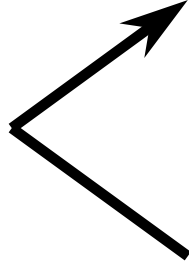
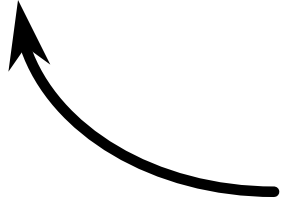
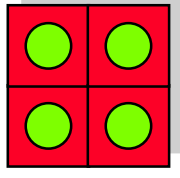
- verfügbare Lactose --> Abbau --> Zwischenprodukt: Allolactose
- Repressor Untereinheiten binden Allolactose => Konformationsänderung
- Konformationsänderung => geringere Affinität des Repressors zum Operator



**NO TRANSCRIPTION**

IPTG (Isopropyl thiogalactoside) ist ein nicht-physiologischer Induktor und wird im Labor häufig eingesetzt (transgene Organismen).

Repressor Tetramer mit 4 gebundenen Induktoren dissoziiert vom Operator, jedoch kann noch keine Transkription stattfinden ...



KEINE TRANSCRIPTION

.. denn, die RNA-Polymerase kann nicht stabil an den Promotor binden

Quiz

?

was soll das

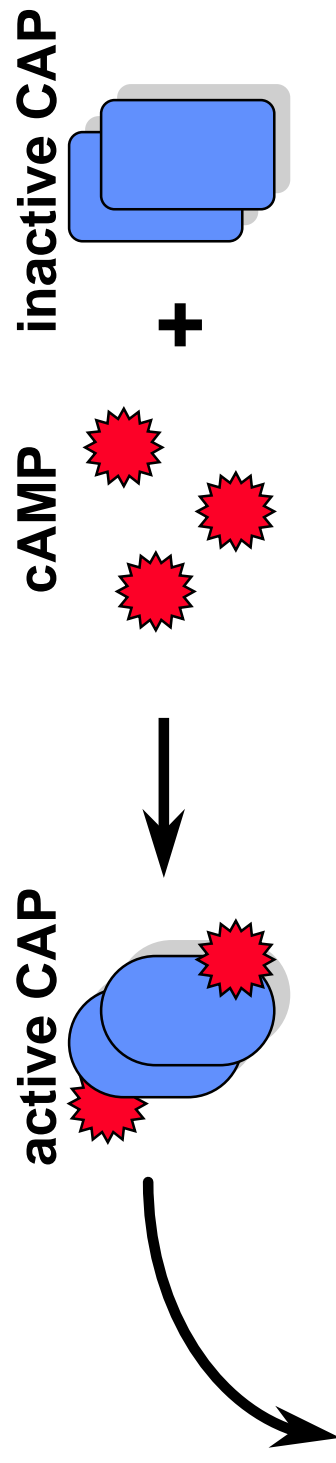
## **Auflösung**

**Bei Anwesenheit von Glucose und Lactose muß die Zelle keine Energie durch den Lactose Abbau gewinnen, die Glycolyse ist ausreichend. Es ist also nicht nötig zusätzliche Enzyme zu synthetisieren um Lactose in Glucose umzuwandeln.**

**Bei Abwesenheit von Glucose und Anwesenheit von Lactose ist für die Zelle jedoch vorteilhaft über den Lactose Abbau Energie zu gewinnen.**

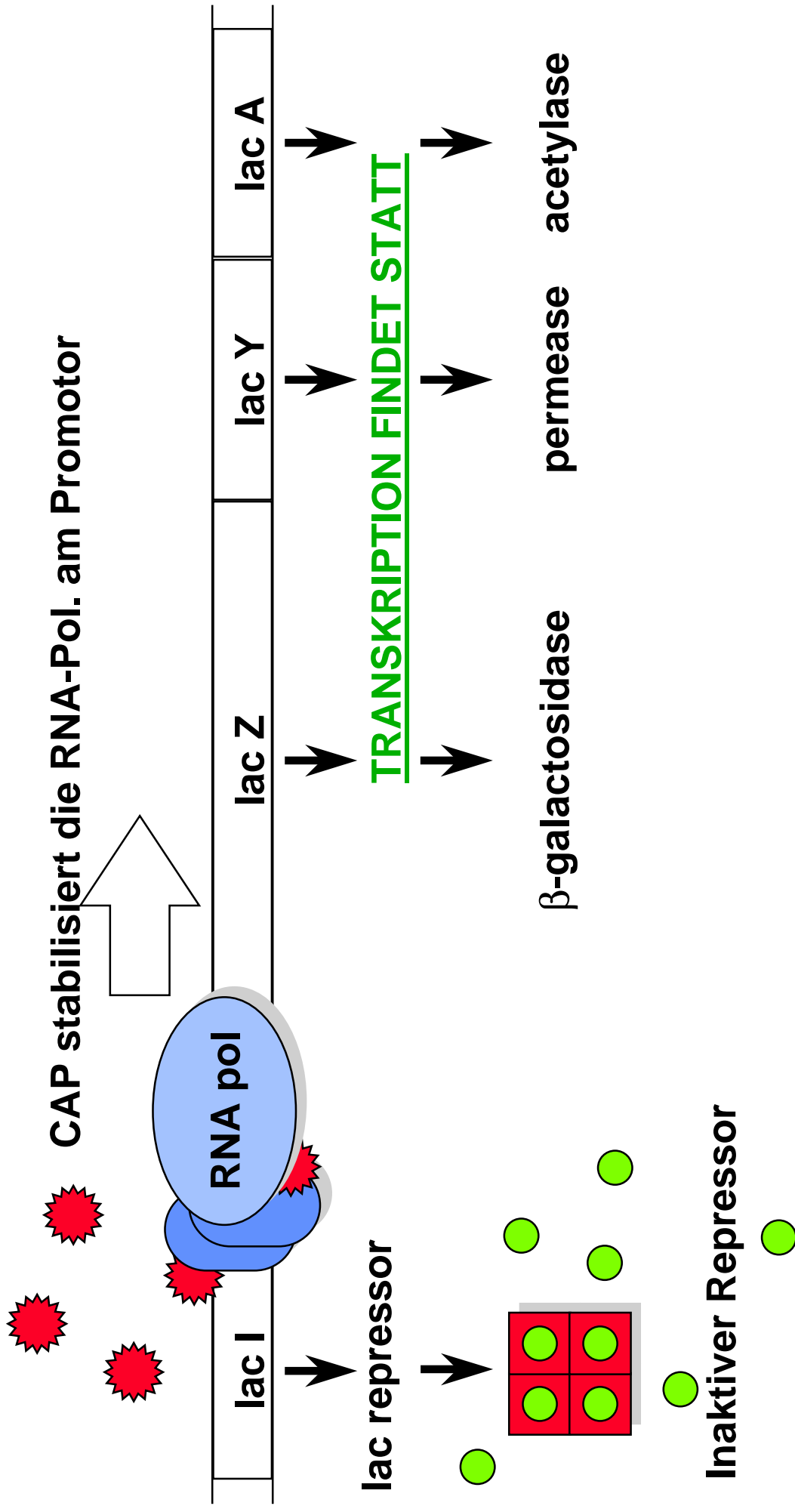
## Regulation des lac Operon: Positive Kontrolle

- In Abwesenheit von Glucose produziert die Zelle cAMP
- cAMP dient als positiver Regulator des lac-Operons und anderer Operons des Katabolismus
- cAMP bindet an den CAP Dimer (catabolite activator protein)
- --> Affinität von CAP zum Promoter erhöht sich
- CAP bindet an Promotor und kann jetzt die Bindung der RNA Pol. an den Promotor stabilisieren



cAMP = 3', 5' cyclic adenosine monophosphate

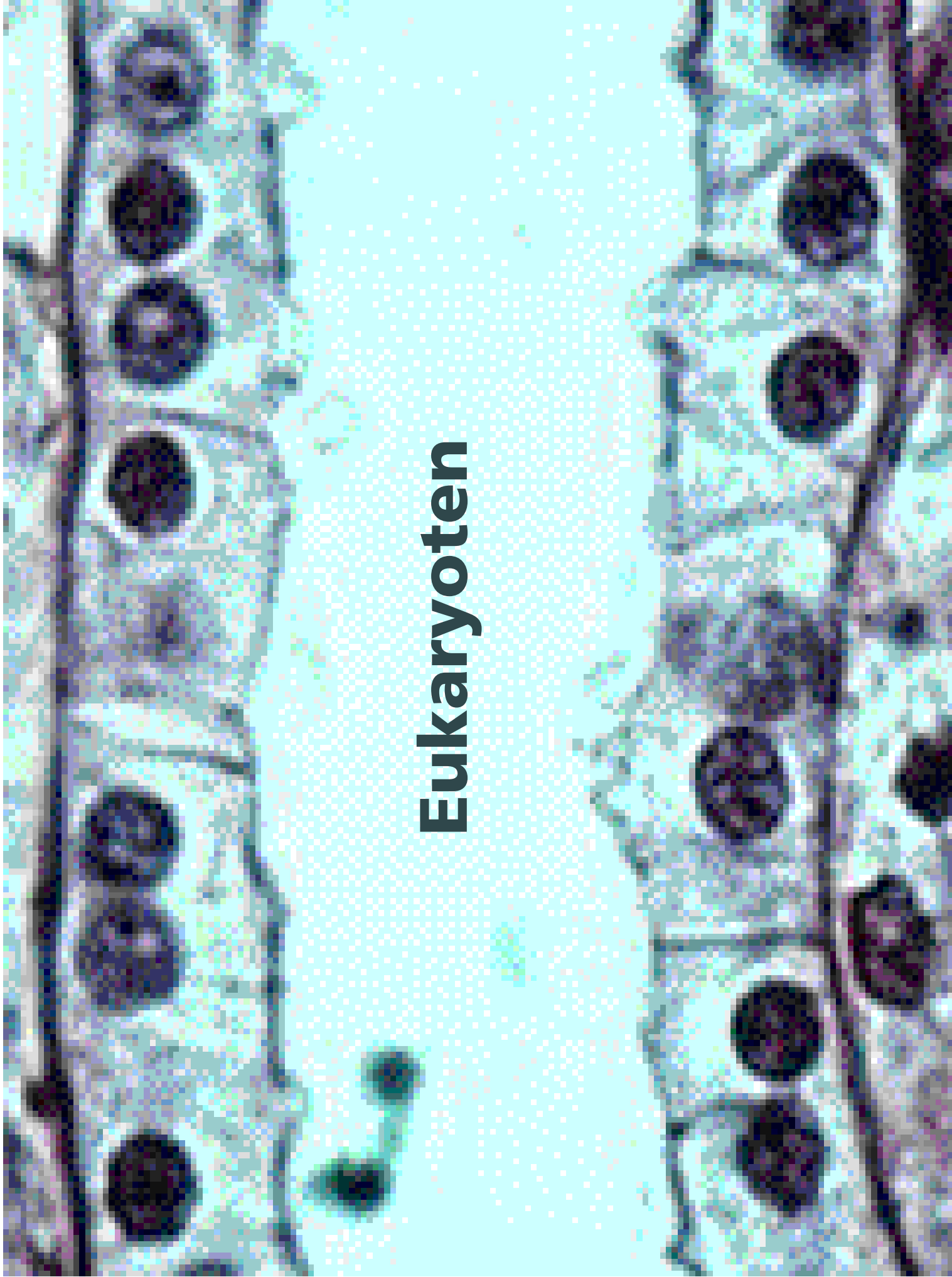
# Aktivierung der lac-Operon Transkription



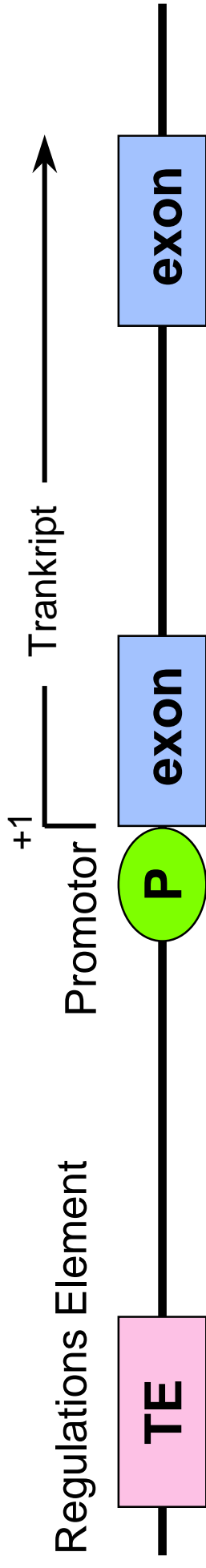
Das lac Operon hat die Funktion die Enzyme für den Lactoseabbau nur dann zur Verfügung zu stellen wenn sie wirklich gebraucht werden.



# Eukaryoten



# Regulationselemente und Promotor für RNA Polymerase II



## Promotor

- legt den Transkriptionsstart (+1) fest
- Promotor ohne Regulations Element: geringe, basale Transkriptionsrate

## Regulations Element (DNA Sequenz Motiv)

- reguliert Transkriptionsrate
- kann vor, hinter oder innerhalb von Genen liegen
- kann sehr nahe am Gen oder einige 1000 bp davon entfernt sein
- weit entfernt liegende Regulations Elemente:

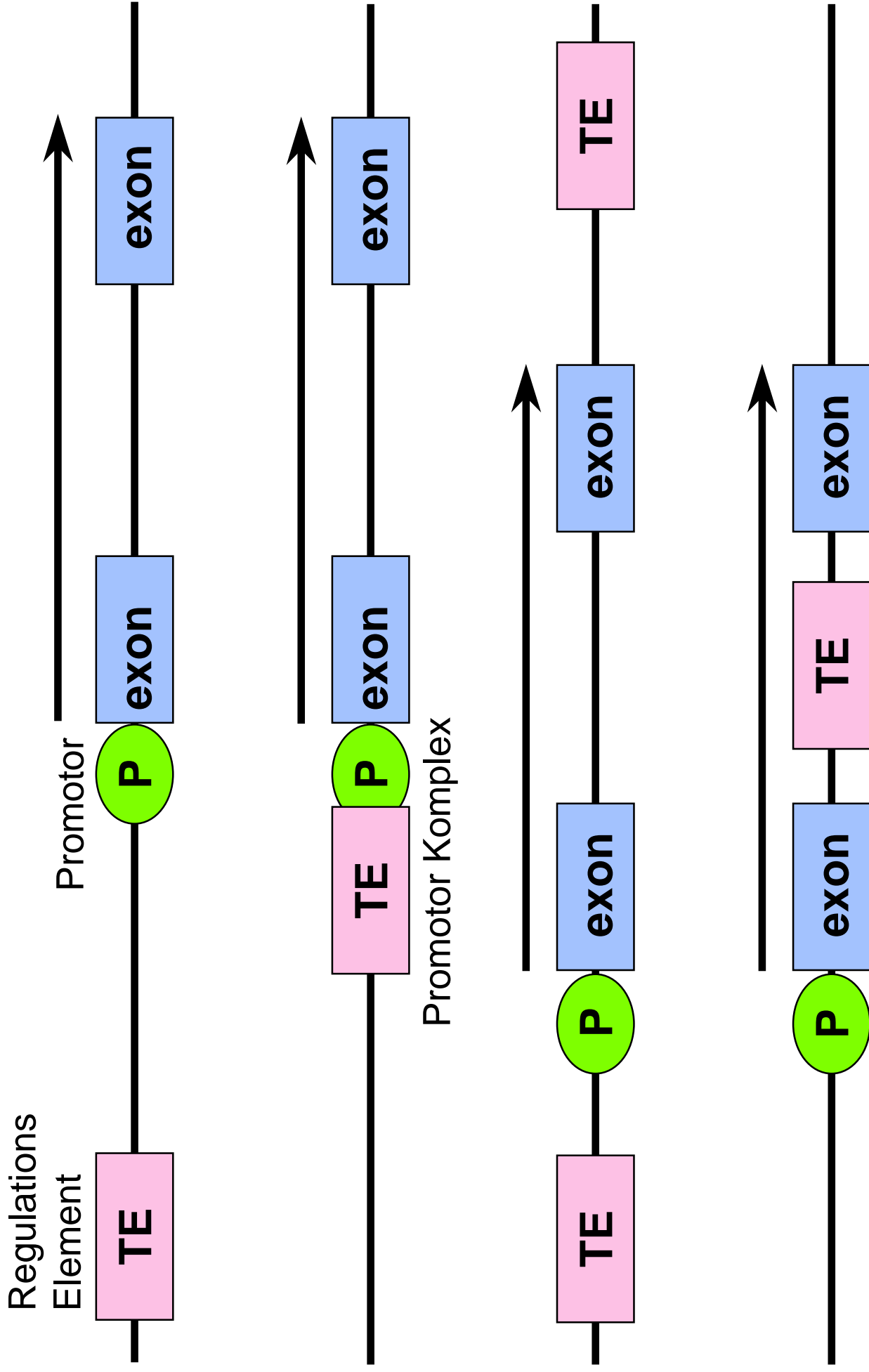
**Enhancer** (erhöhen Transkriptionsrate)

**Silencer** (erniedrigen Transkriptionsrate)

**Response Elements** (Zielsequenzen für Signal Moleküle, zB: Hormone)

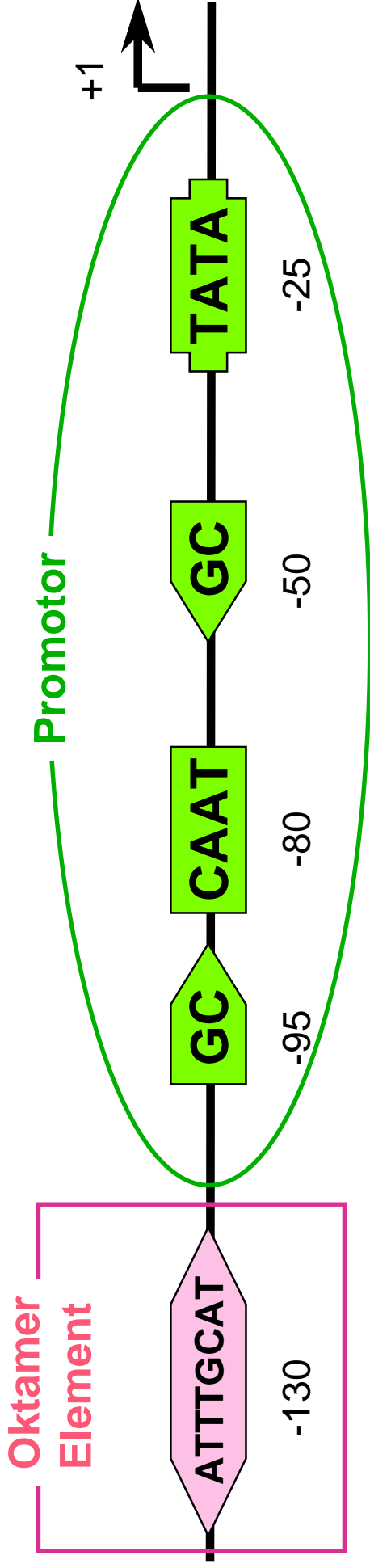
- pro Gen meist mehrere Regulations Elemente, das ermöglicht eine sehr feine und gewebsspezifische Abstimmung der Transkriptionsrate.

# Mögliche Positionen von Regulations Elementen



# Aufbau eines Eukaryoten Promotors

basierend auf dem Thymidine Kinase Gen



**TATA Box (TATAAAA)** bindet das TATA Binde Protein (TBP, UE von TFIID)

- ca. 25-30 bp stromaufwärts des Transkriptionsstarts
- legt den Transkriptionsstart exakt fest (nicht in allen Promotoren)

## Motive für TFs

**GC Box (ccgccc)** bindet Sp1 (Specificity factor 1)

**CAAT Box (GGCCAATCT)** bindet CTF (CAAT box transcription factor)

**Octamer (ATTTCAT)** bindet OTF (Octamer transcription factor)

# Vergleich von Promotoren in regulierten Genen mit dem in Haushaltsgenen

## Regulierte Gene

- CCAAT Boxen in 2x oder mehrfacher Ausführung
- GC Boxen 1x oder mehrfach

## Haushaltssgene werden zu jeder Zeit gleich stark exprimiert

- keine TATA Box: kein einheitlicher Transkriptionsstart  
(mehrere Startpunkte)
- häufiges Auftreten von GC Boxen

# Transkriptionsfaktoren

**Generelle Transkriptions Faktoren** (erforderlich für RNA Pol II) positionieren die RNA Pol II genau am Transkriptionsstart und aktivieren sie

**TFIID** (aus mehreren Untereinheiten aufgebaut) bindet an TATA Box und initiiert die Zusammenlagerung des Präinitiations-Komplexes

**TFIIH** (Protein Kinase) spielt Schlüsselrolle bei der Initiation phosphoryliert die RNA Pol II und startet dadurch die Transkription

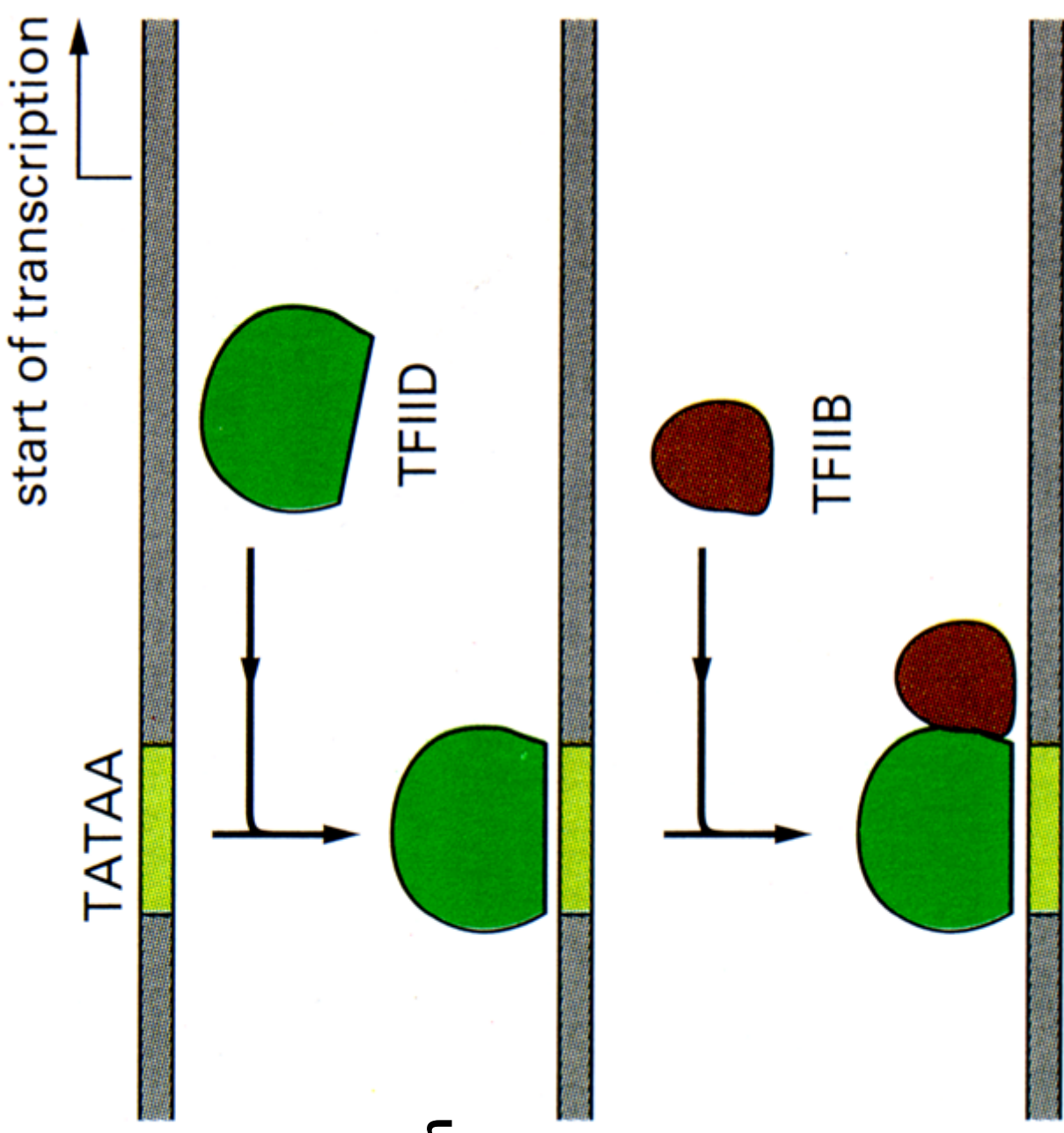
weitere TF die sich mit TFIID, TFIIH und der RNA Pol II zusammenlagern :  
**TFIIA, TFIIB, TFIIE, TFIIF, TFIJ**

## Andere Transkriptionsfaktoren

- binden an weitere Promotorelemente
- binden an Regulationselemente

interagieren mit Proteinen am Promotor und stabilisieren oder behindern die Ausbildung des Präinitiations-Komplexes

# Initiationskomplex der RNA Pol. II (1)

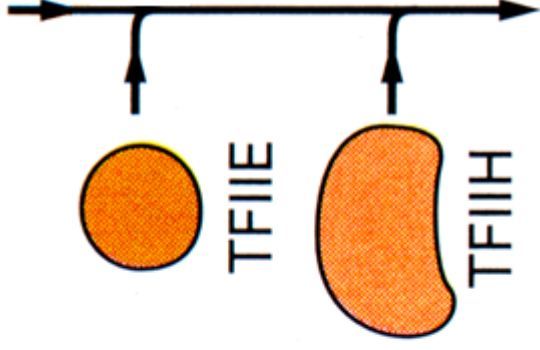
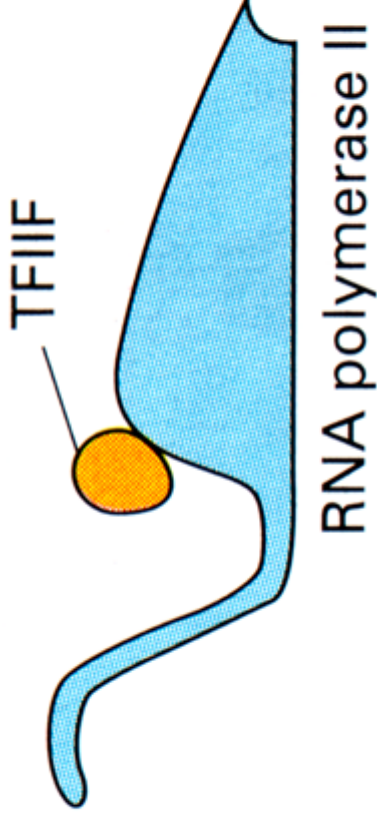


TFIID bindet spezifisch an TATA Box

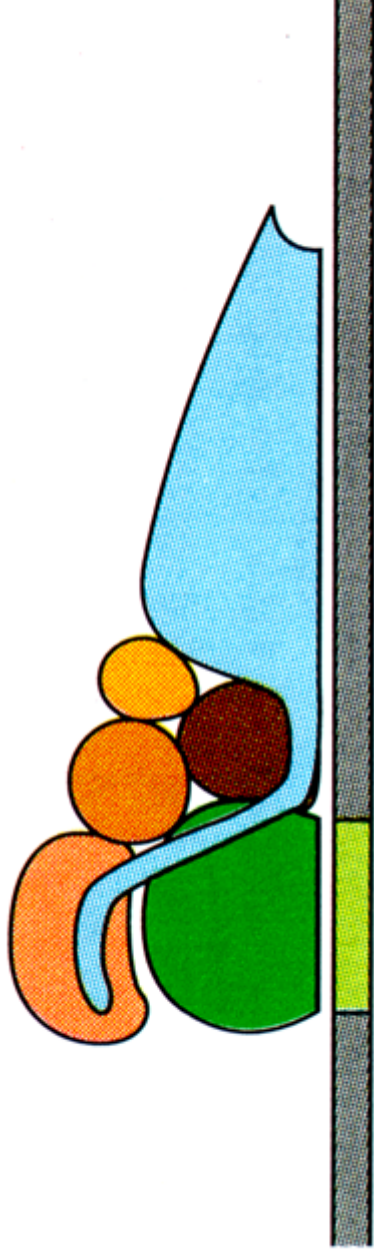
TFIIB tritt in den Komplex ein

# Initiationskomplex der RNA Pol. II (2)

TFIIF und RNA Pol II lagern sich zusammen und treten in den Komplex ein

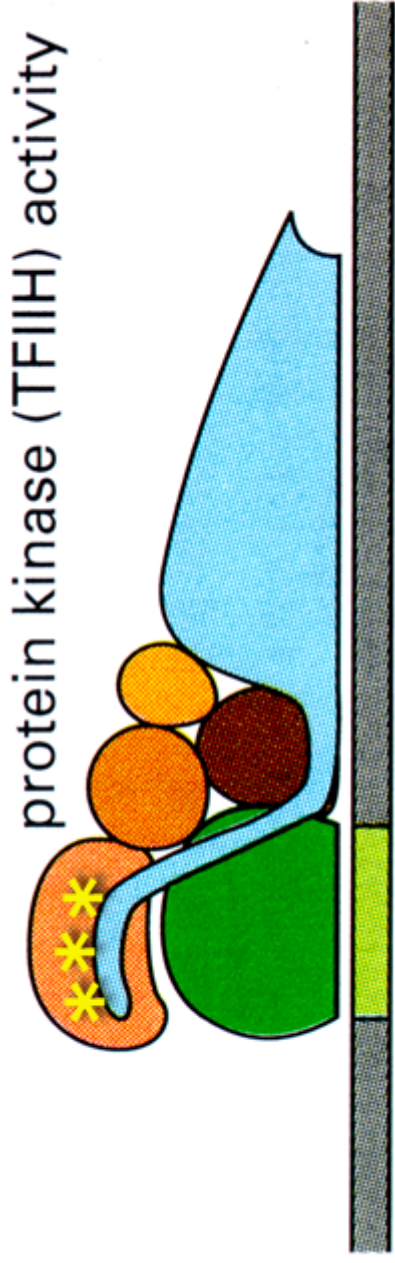


dann folgen TFIIE und TFIIH



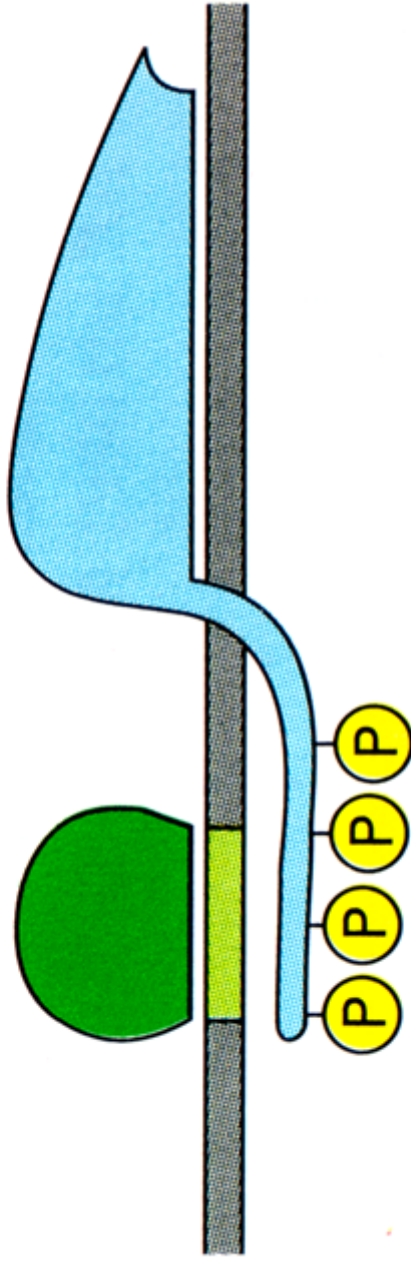


# Initiationskomplex der RNA Pol. II (3)



TFIIH phosphoryliert die RNA Pol II

dadurch ändert sich die räumliche Konfiguration der RNA Pol II



die RNA Pol II verlässt den Komplex und beginnt mit der Transkription

TRANSCRIPTION BEGINS

# Zusammenspiel von Aktivatoren, Repressoren, Coaktivatoren und Transkriptionsfaktoren

