

Übung 11 – Genregulation bei Prokaryoten

Konzepte:

Differentielle Genexpression

➡ Positive Genregulation

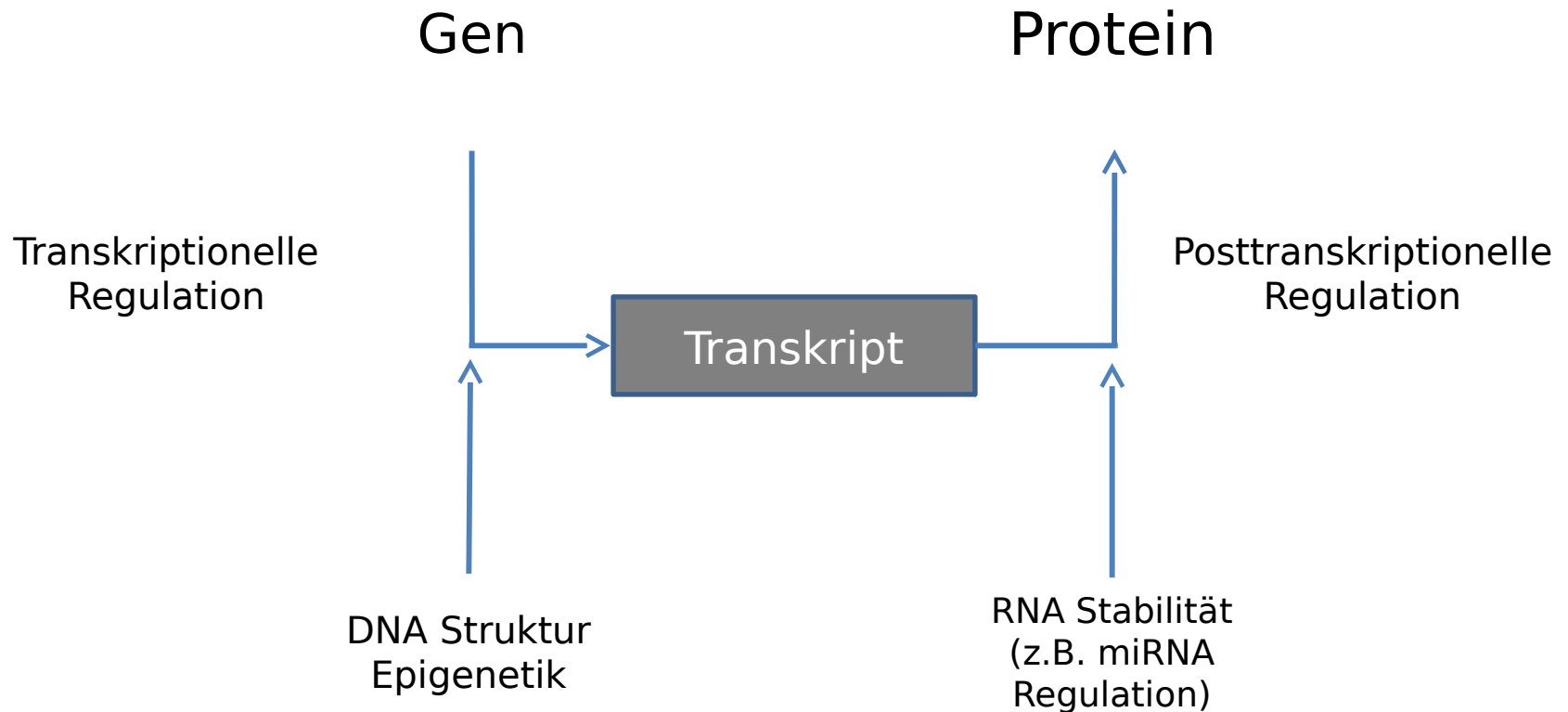
➡ Negative Genregulation

➡ *cis-/trans*-Regulation

1. Auf welchen Ebenen kann Genregulation stattfinden?

Definition Genregulation:

Die Kontrolle eines Gentranskripts und seines Genproduktes.

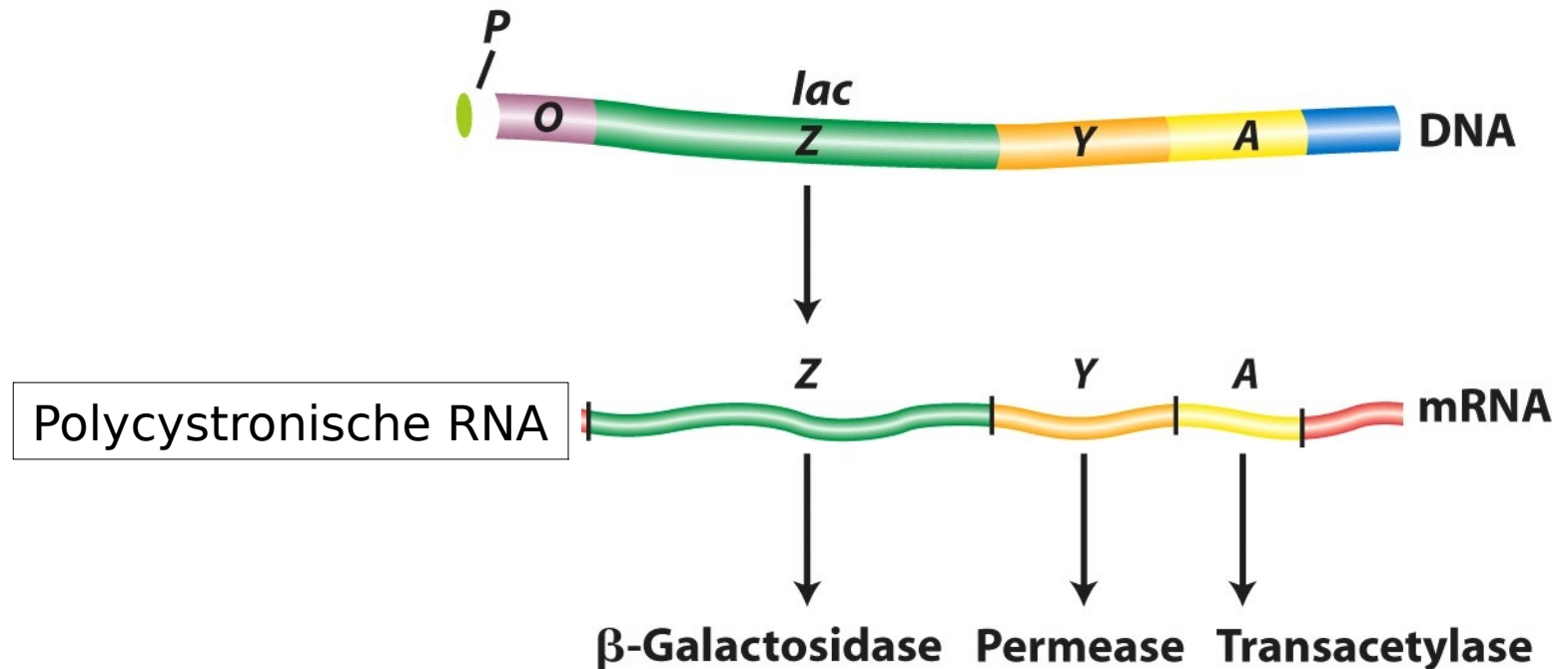


2. Was versteht man unter einem Operon?

Definition Operon:

Einheit aus Promotor, Operator und codierenden Sequenzen von zwei oder mehr Genen.

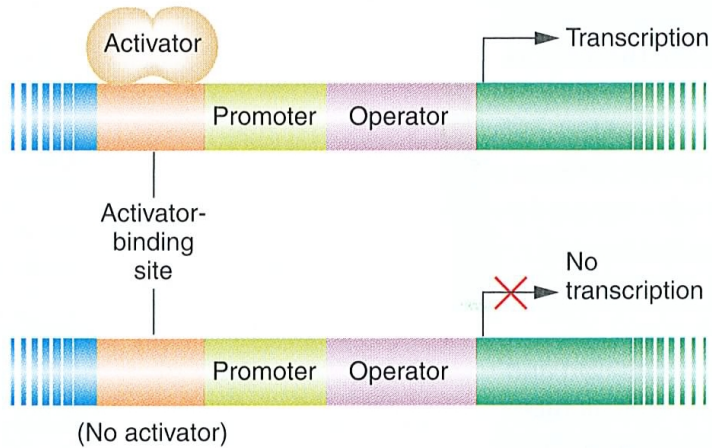
Beispiel *lac* Operon:



3. Erklären Sie die positive und negative Regulation des lac-Operons.
Welchen Einfluß hat die Glucosekonzentration auf die Expression?

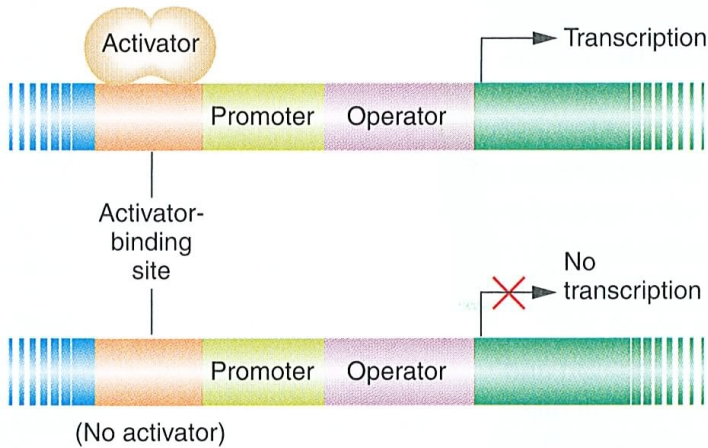
3. Erklären Sie die positive und negative Regulation des lac-Operons. Welchen Einfluß hat die Glucosekonzentration auf die Expression?

Positive Regulation

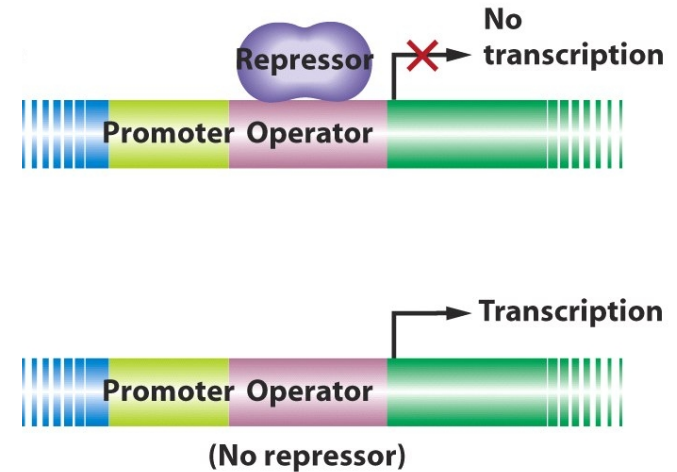


3. Erklären Sie die positive und negative Regulation des lac-Operons. Welchen Einfluß hat die Glucosekonzentration auf die Expression?

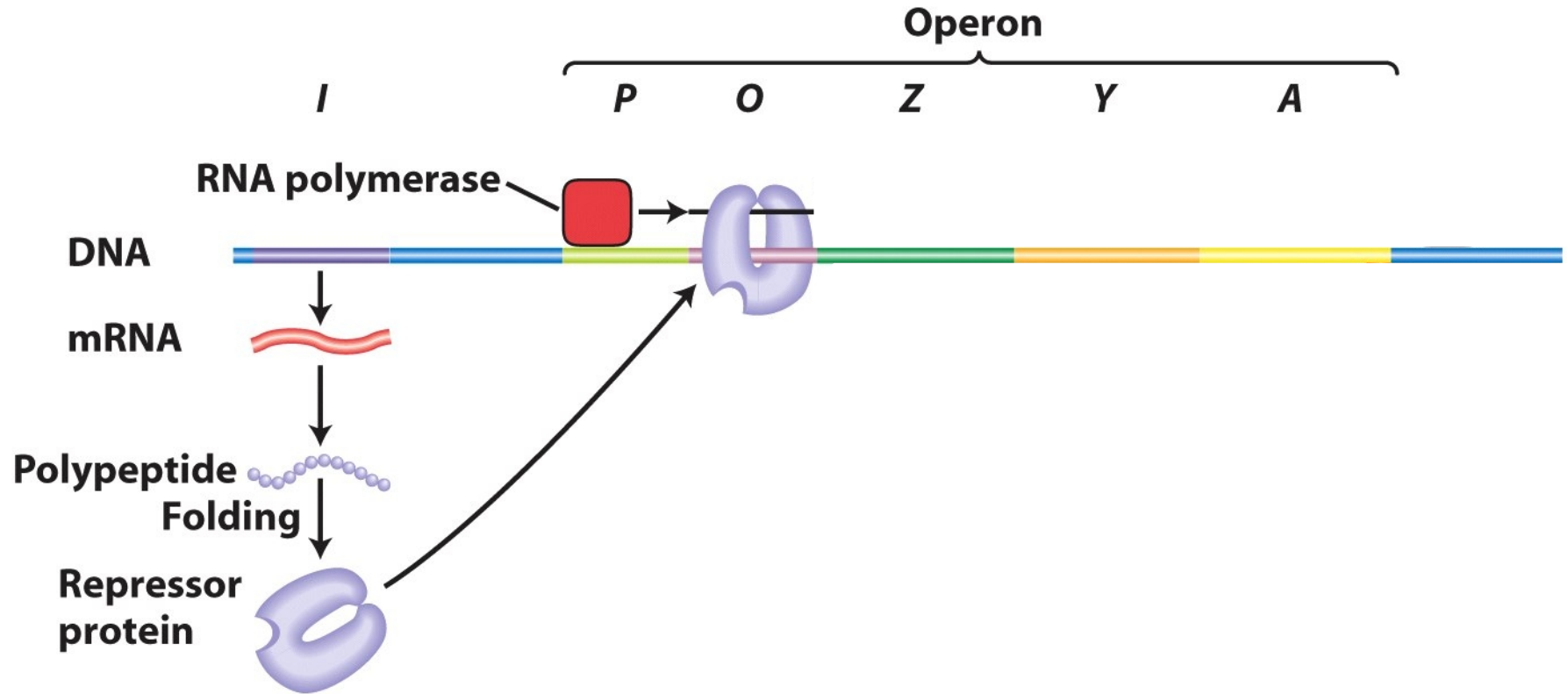
Positive Regulation



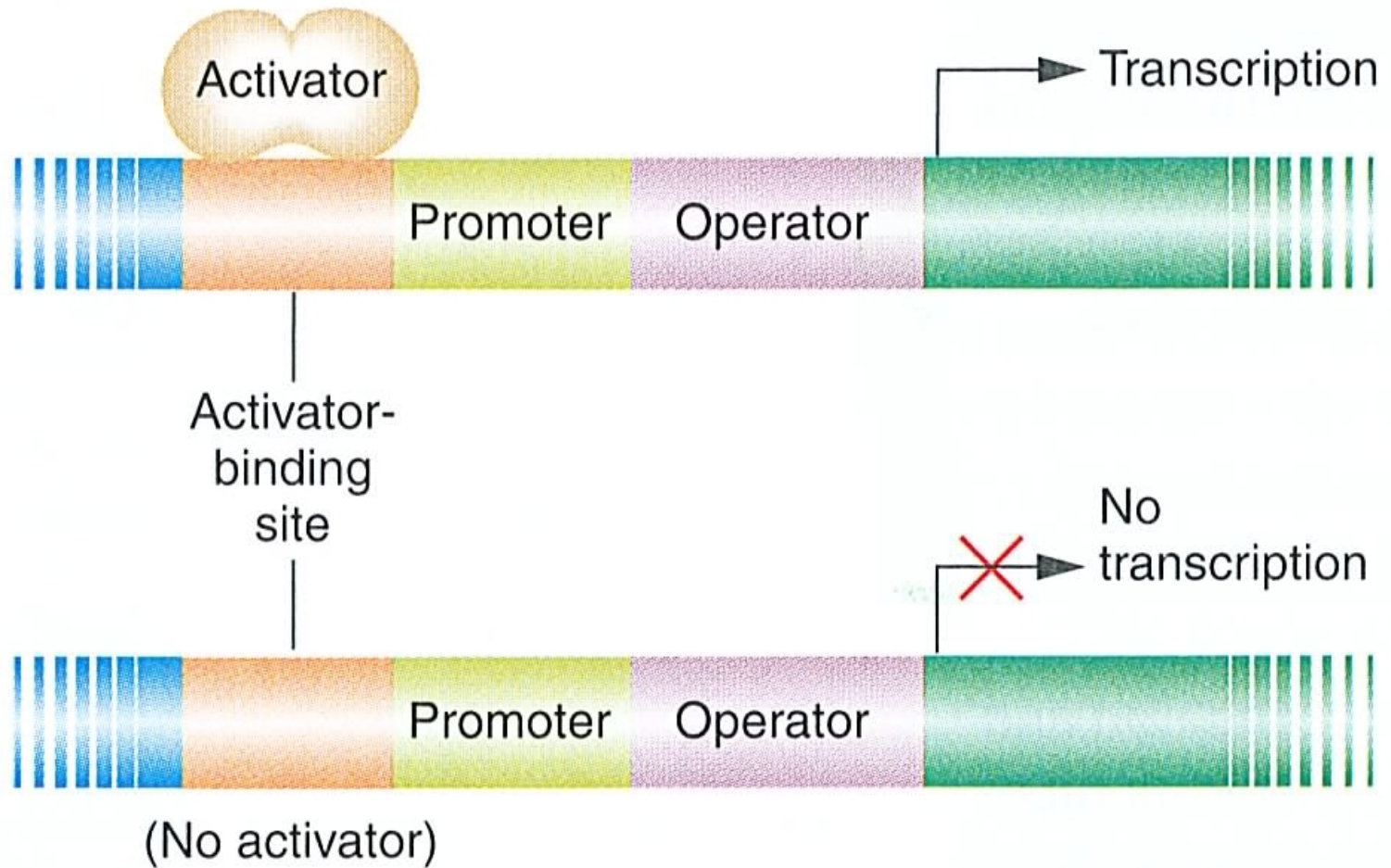
Negative regulation



Negative Regulation:

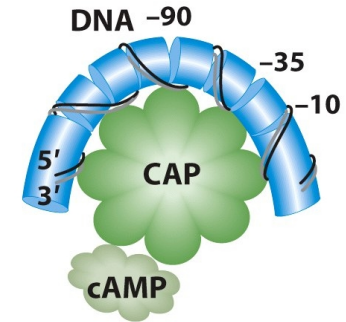
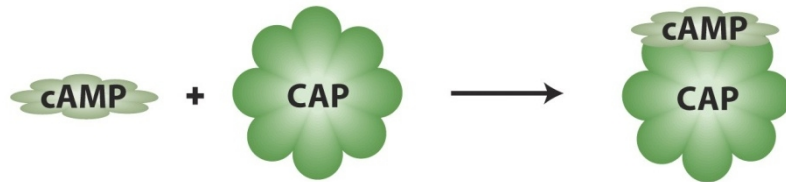


Positive Regulation



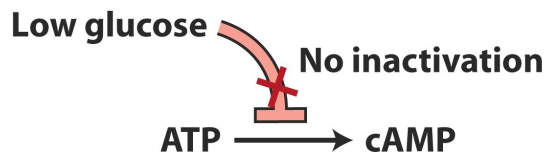
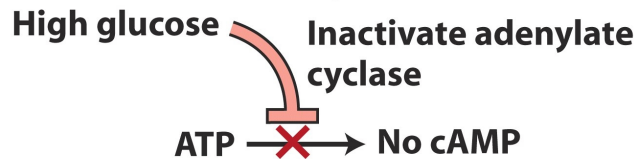
Positive Regulation des lac Operons:

cAMP-CAP complex activates transcription



6. Wie wird das lac-Operon bei a) hohem und b) niedrigem Glucosespiegel exprimiert?

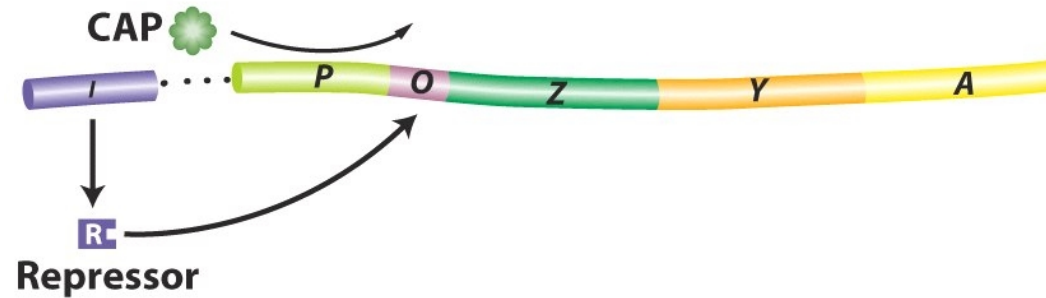
Glucose levels regulate cAMP levels



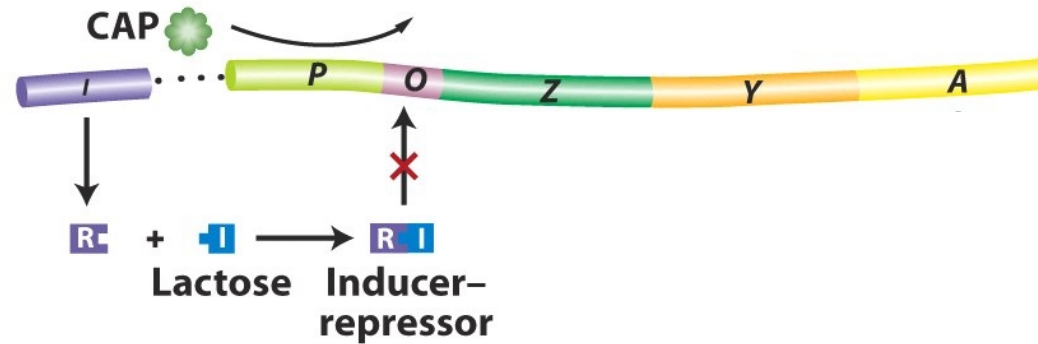
CAP = catabolite activator protein

6. Wie wird das lac-Operon bei a) hohem und b) niedrigem Glucosespiegel exprimiert?

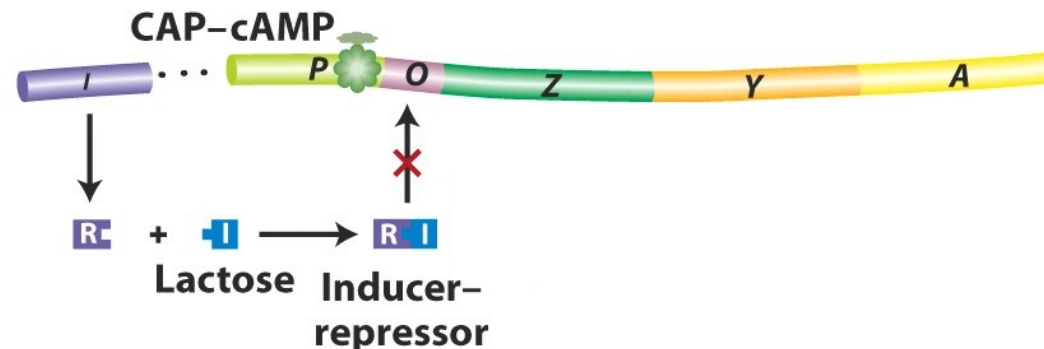
(a) Glucose present (cAMP low); no lactose;



(b) Glucose present (cAMP low); lactose present

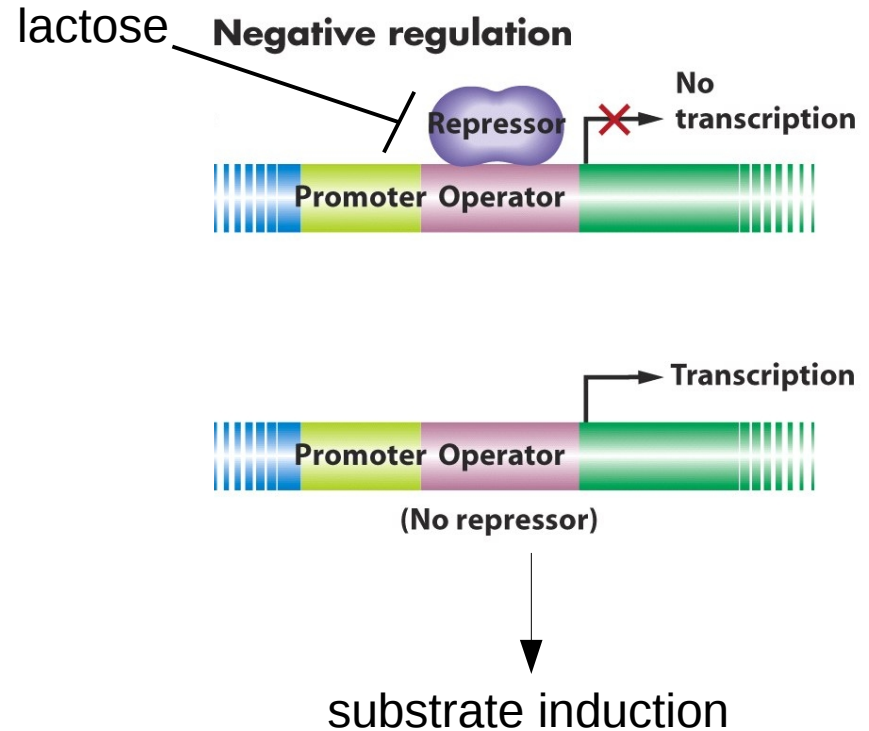
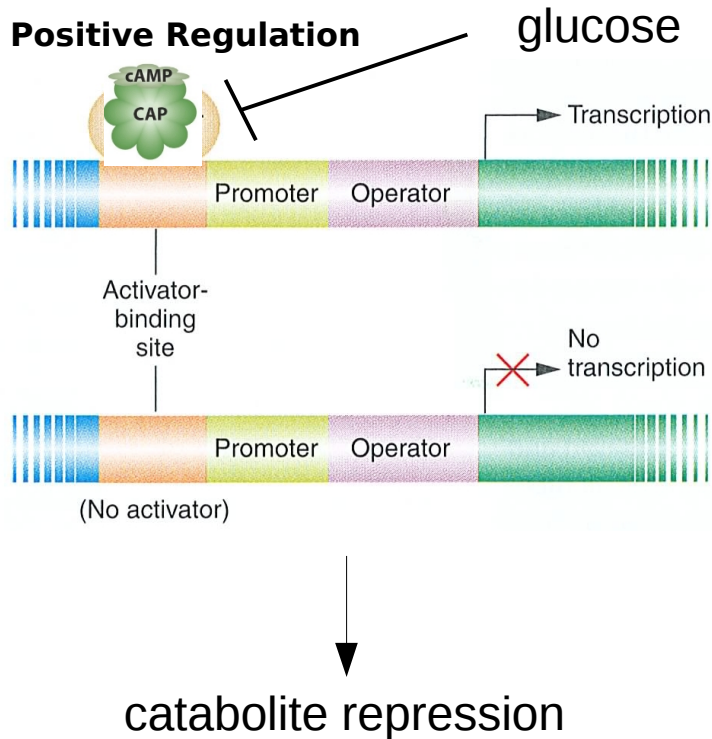


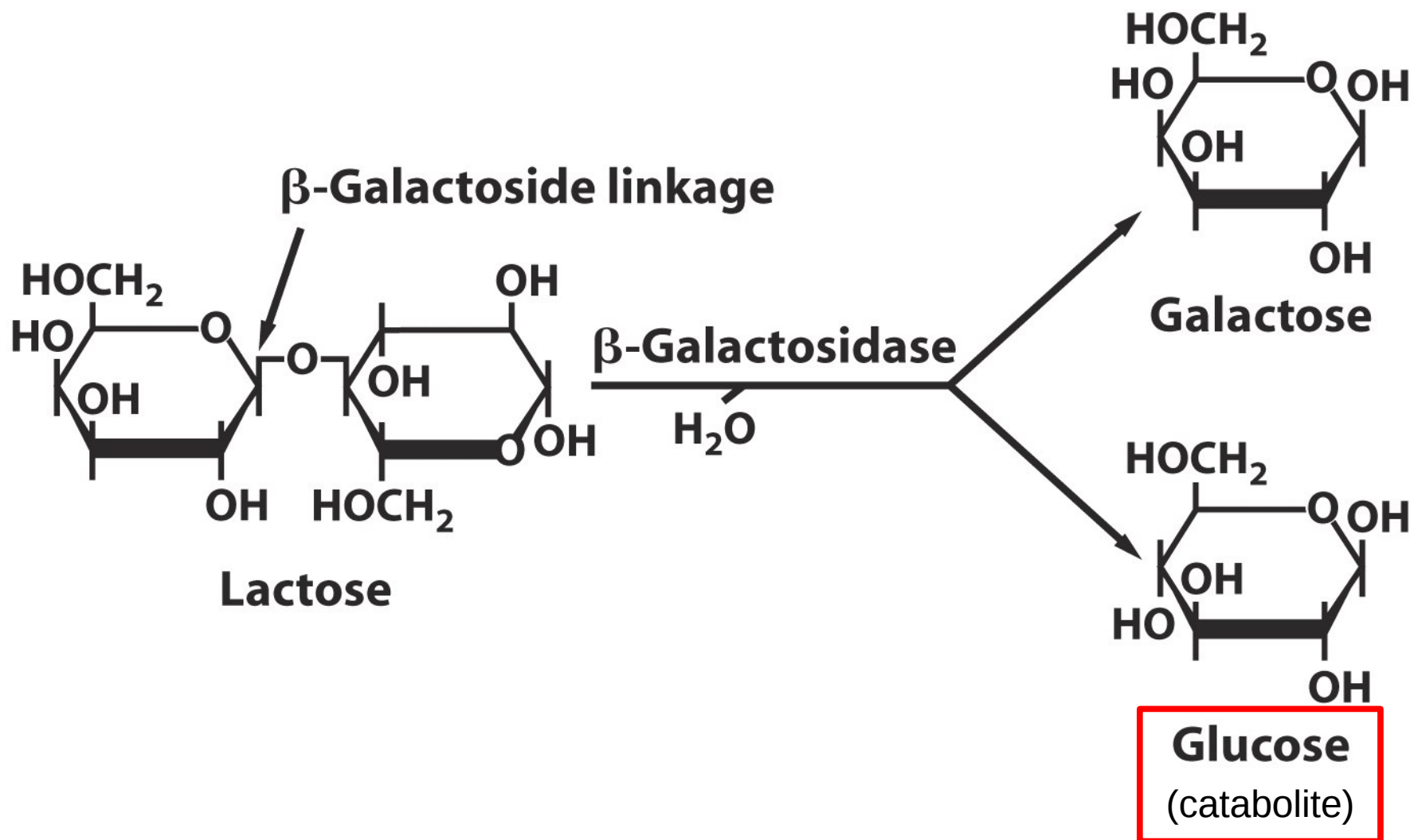
(c) No glucose present (cAMP high); lactose present



=> energieeffizient!

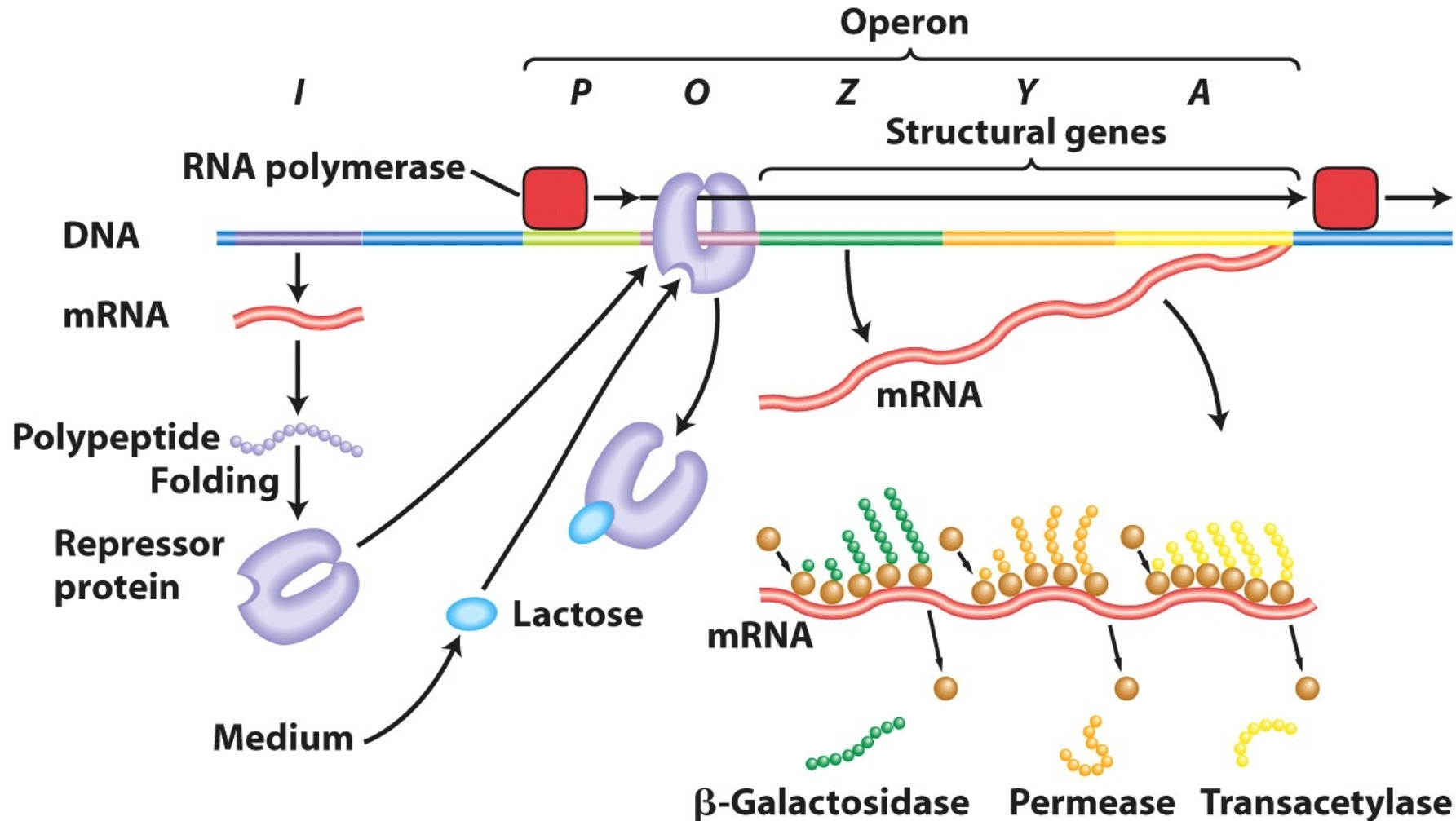
3. Erklären Sie die positive und negative Regulation des lac-Operons.
Welchen Einfluß hat die Glucosekonzentration auf die Expression?





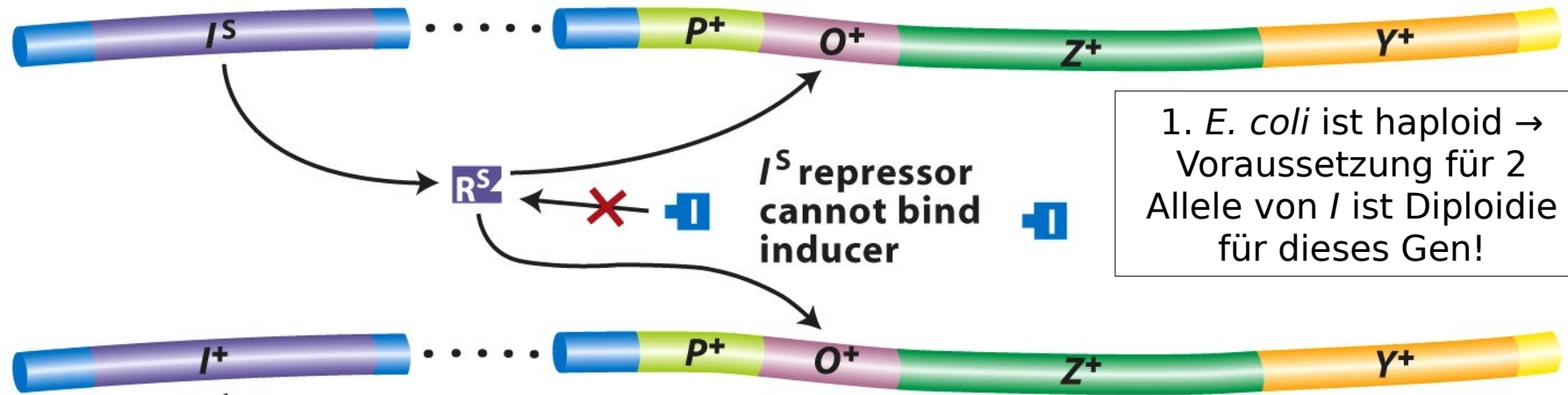
4. Woran bindet der lac-Repressor?

- a) Lactose und DNA
- ~~b) RNA Polymerase~~
- ~~c) RNA Polymerase und DNA~~
- ~~d) β -Galactosidase, Permease und Transacetylase~~
- ~~e) Promotor und Lactose~~



5. Der Repressor I^S kann keinen Induktor binden, da die Bindestelle defekt ist.
Wie wird das lac-Operon in einer Zelle exprimiert, die sowohl I als auch I^S enthält?

I^+/I^S heterozygote



1. *E. coli* ist haploid →
Voraussetzung für 2
Allele von I ist Diploidie
für dieses Gen!

4. I^S Mutanten reagieren
nicht auf den Induktor →
konstitutive Bdg. des
Repressors auf dem
Operator

2. Das I Gen reguliert die
Synthese des
Repressormoleküls R



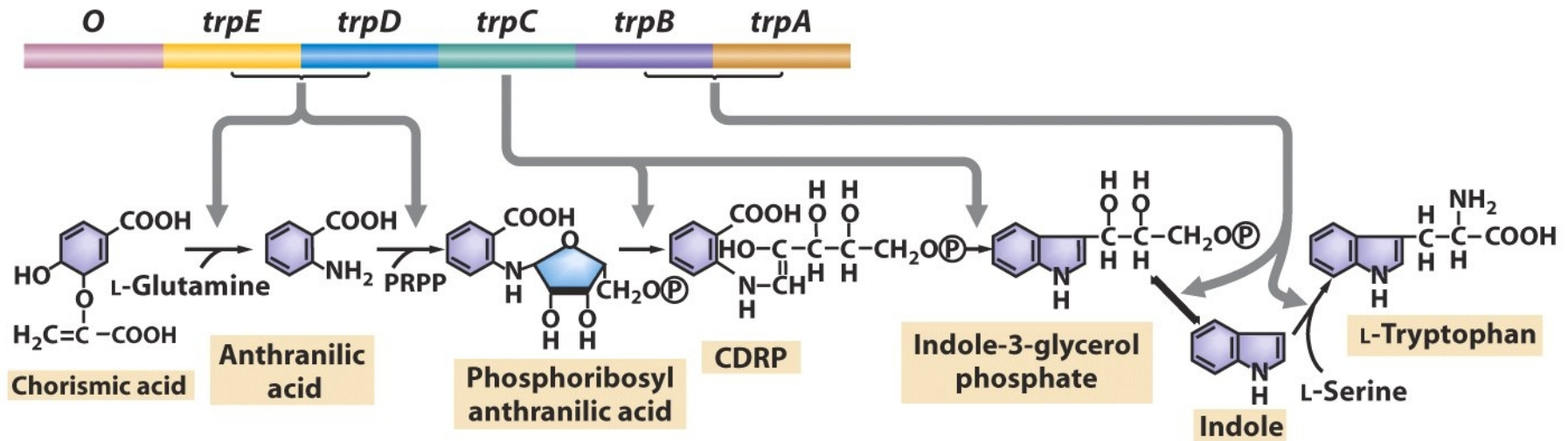
3. Das Repressormolekül R
löst sich durch Binden des
Induktors vom Operator →
mRNA

**6. Praktisch keine
Transkription des
Operons**

5. I^+/I^S Zellen →
Kompetitive Reaktion
zwischen WT Repressor
R und mutantem
Repressor R^S

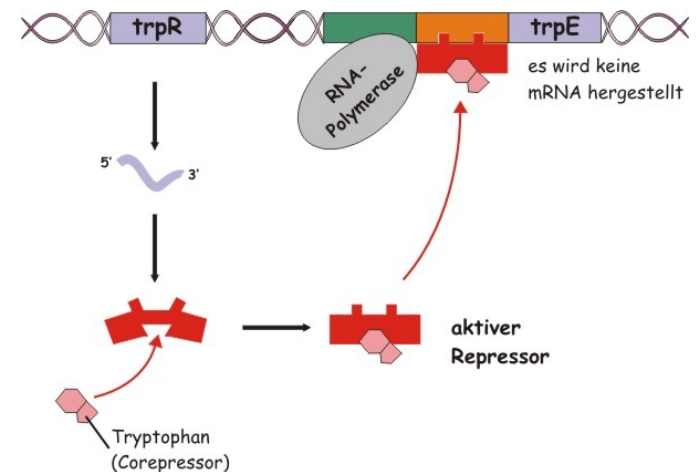
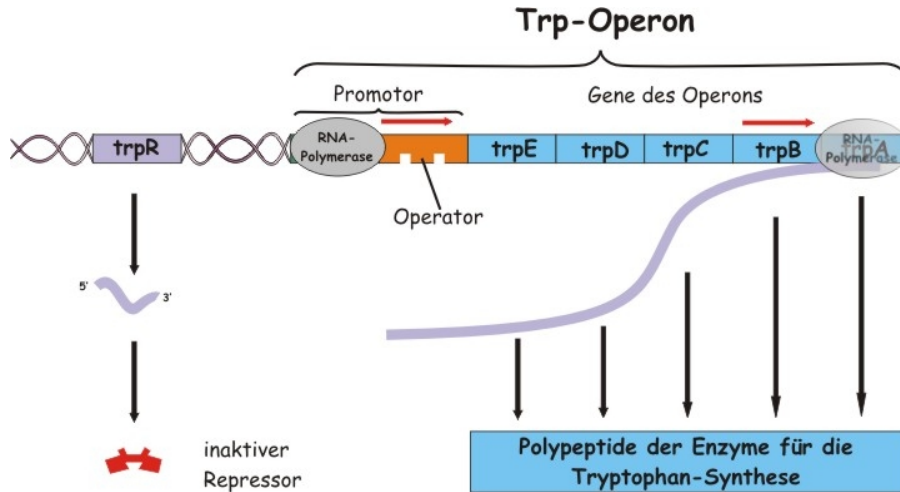
7. Was versteht man unter Attenuation?

Form der negativen Regulation von Genexpression die erst nach Initiation der Transkription angreift (Vorrauss.: Kopplung von Transkription und Translation = Prokaryoten)



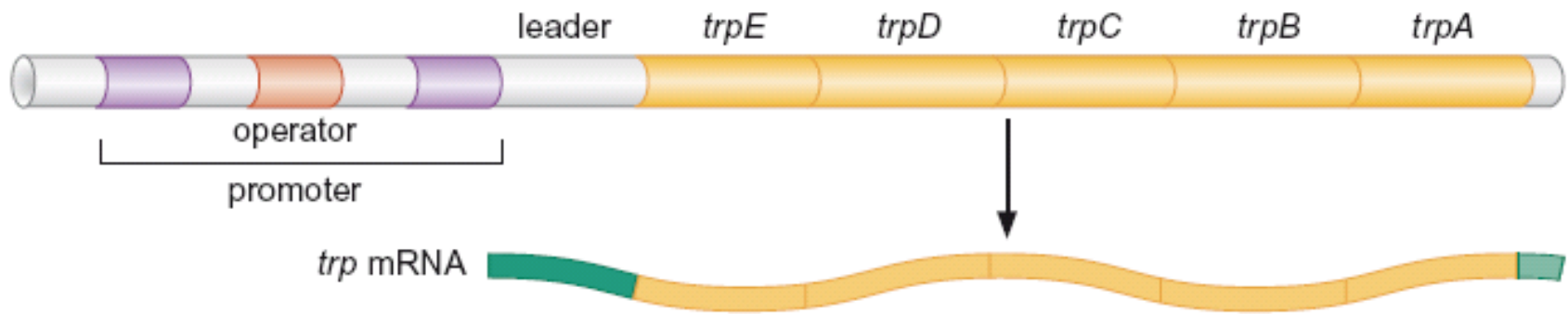
7. Was versteht man unter Attenuation?

Form der negativen Regulation von Genexpression die erst nach Initiation der Transkription angreift (Vorrauss.: Kopplung von Transkription und Translation = Prokaryoten)



- Trp Repressor bindet nur an den Operator, wenn er selbst an Trp gebunden ist
→ Trp = Induktor → aber Funktion gegensätzlich zum *lac* Operon
→ negative Feedback-Inhibierung

→ **Repressives System, in dem Überschuss eines Produktes (Trp) zum Abschalten der Enzyme führt, die dieses Produkt synthetisieren**



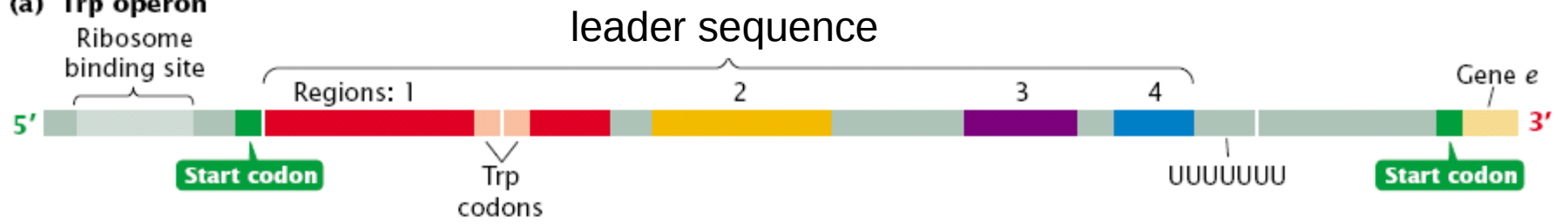
Weiteres Level der Regulation wurde durch *trpR*- (Repressor Locus abwesend) Mutanten bekannt:

- *trpR*- Mutanten produzieren auch in Anwesenheit von Trp weiterhin *Trp* mRNA
→ Repressor inaktiv
- wenn diese Mutanten auf Medium ohne Trp transferiert werden, produzieren sie auf einmal 10X mehr *Trp* mRNA
- da Repressor inaktiv kann das nicht mit normaler Derepression des Operators durch die Abwesenheit von Trp erklärt werden

Additional Examples of Control: Attenuation



(a) Trp operon



When tryptophan is high

(a)

- 1 RNA polymerase begins transcribing DNA, producing region 1 of the 5' UTR.

(b)

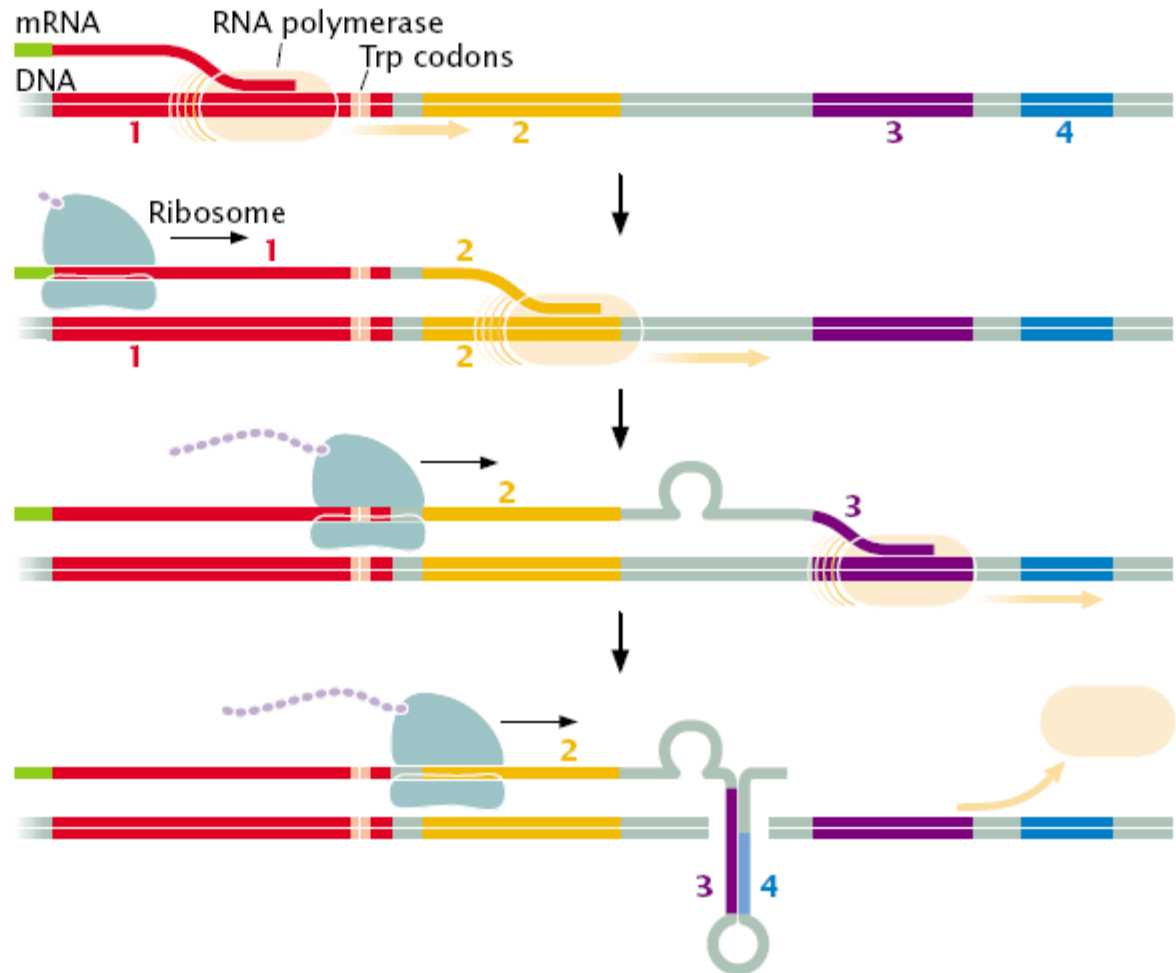
- 2 A ribosome binds to the 5' end of the 5' UTR and begins to translate region 1, while region 2 is being transcribed.

(c)

- 3 The ribosome translates region 1 while RNA polymerase transcribes region 3.
- 4 The ribosome does not stall at the Trp codons, because tryptophan is abundant.

(d)

- 5 The leading edge of the ribosome covers part of region 2, preventing it from pairing with region 3.
- 6 Region 4 is transcribed and pairs with region 3. The pairing of regions 3 and 4 produces the attenuator that terminates transcription.



When tryptophan is low

(e)

- 1 RNA polymerase begins transcribing the DNA, producing region 1 of the 5' UTR.

(f)

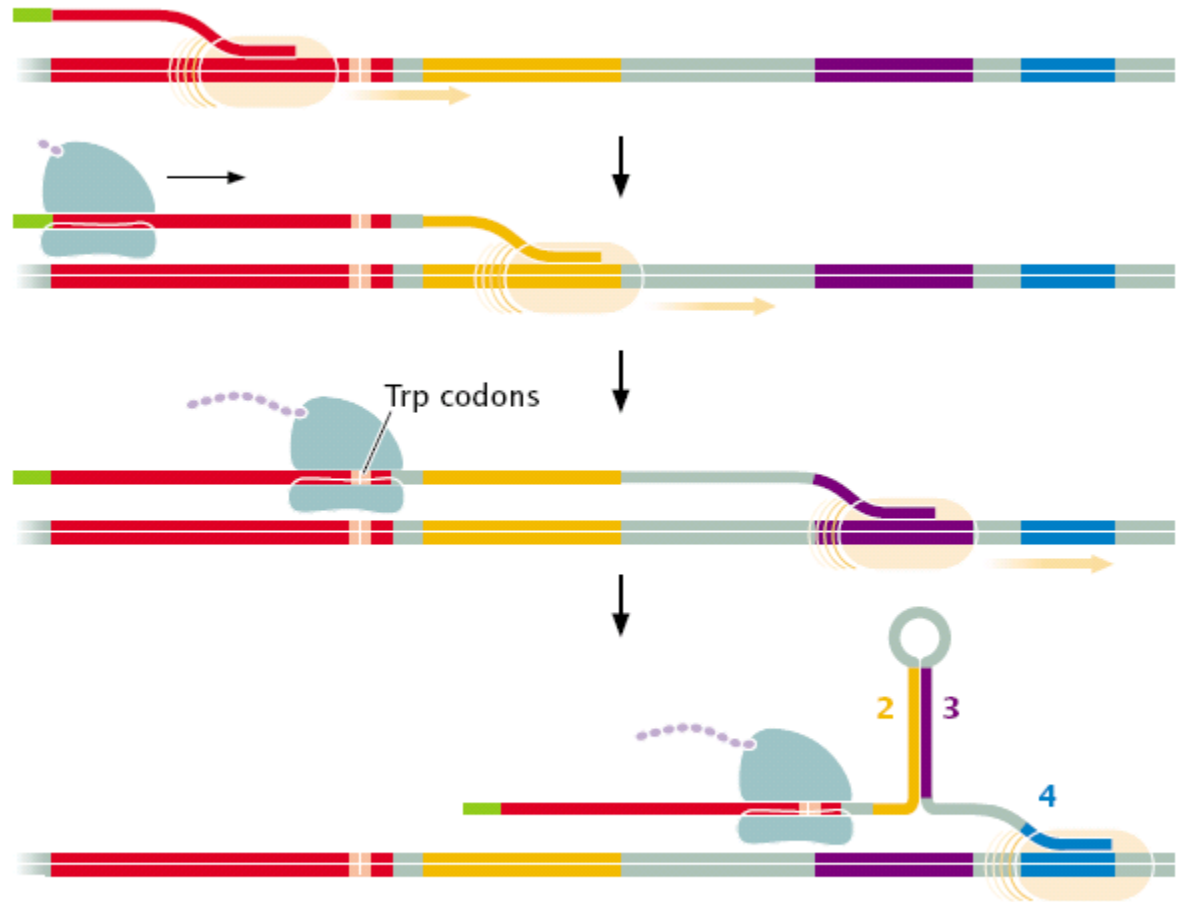
- 2 A ribosome attaches to the 5' end of the 5' UTR and begins to translate region 1 while region 2 is being transcribed.

(g)

- 3 The ribosome stalls at the Trp codons in region 1 because tryptophan is low.
- 4 Because the ribosome is stalled, region 2 is not covered by the ribosome when region 3 is transcribed.

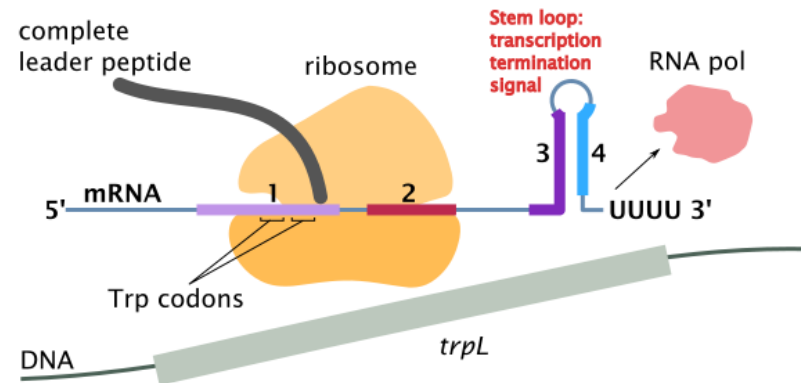
(h)

- 5 When region 3 is transcribed, it pairs with region 2.
- 6 When region 4 is transcribed, it cannot pair with region 3, because region 3 is already paired with region 2; the attenuator never forms, and transcription continues.

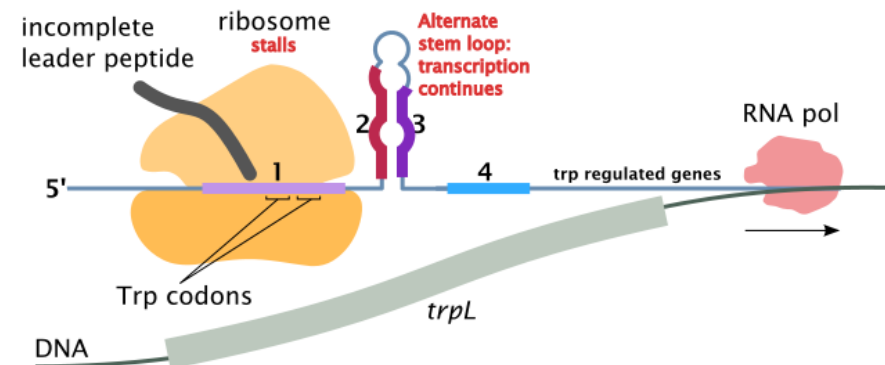


zsammengefasst:

High level of tryptophan



Low level of tryptophan



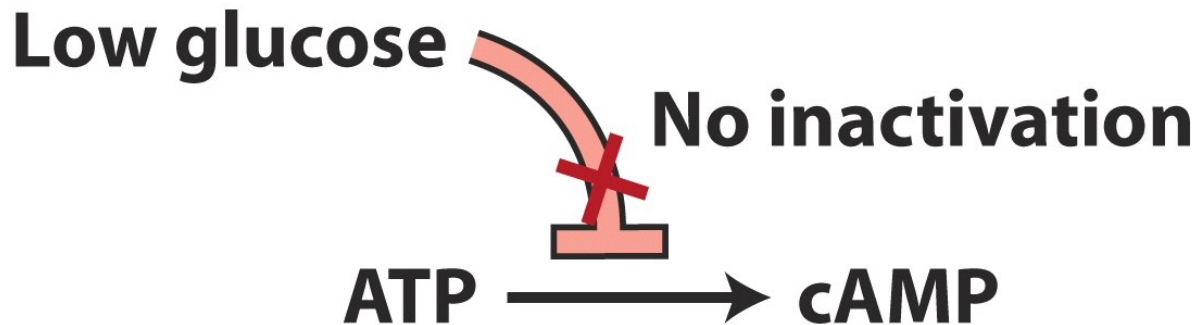
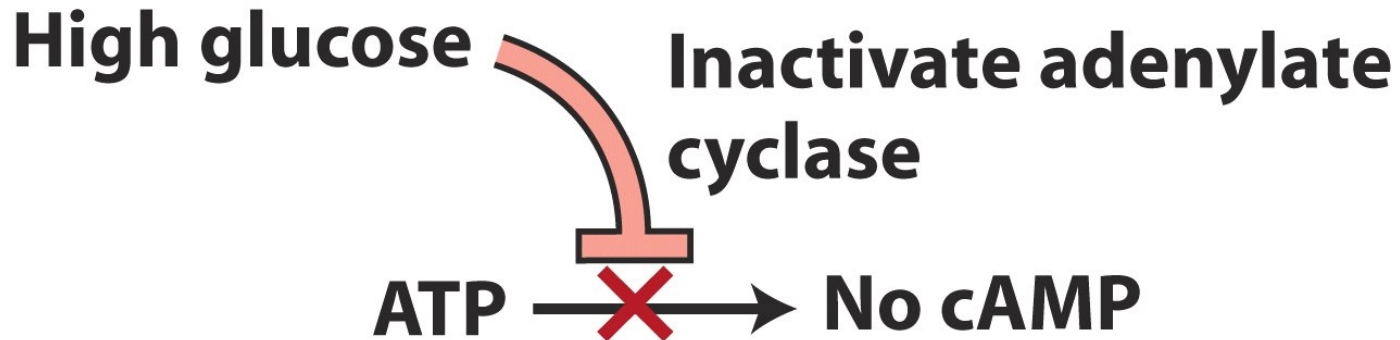
8. Was ist gemeint?

- a) Dieses Molekül akkumuliert im Cytoplasma der Bakterien bei niedrigem Glucosespiegel. Es ist essentiell für das Signal der Katabolitrepression.
- b) Dieses regulatorische Protein bindet an cAMP und stimuliert die Bindung der RNA-Polymerase an den Promotor des lac-Operons.
- c) Dieser Begriff beschreibt den Effekt genetischer Elemente auf andere Elemente, wenn sie benachbart zu diesen liegen. Z.B. hat ein Operator diesen Effekt auf die nachfolgenden Gene.
- d) Ein Umweltmolekül, welches die Transkription eines Operons aktiviert.
- e) Eine Region eines Operons, die dem Repressor die Bindung ermöglicht.
- f) Ein Set von Genen, deren RNA in einem Molekül synthetisiert wird.
- g) Dieser Begriff beschreibt die Beschleunigung/Aktivierung von Transkription, wie z.B. durch cAMP-CAP.
- h) Dieser Begriff bezeichnet ein Protein, welches an den Operator bindet.
- i) Regulation durch Faktoren, die die Transkription verhindern.
- j) Genregion, an welcher die RNA-Polymerase bindet, um die Transkription zu starten.

8. Was ist gemeint?

- a) **Dieses Molekül akkumuliert im Cytoplasma der Bakterien bei niedrigem Glucosespiegel. Es ist essentiell für das Signal der Katabolitrepression.**

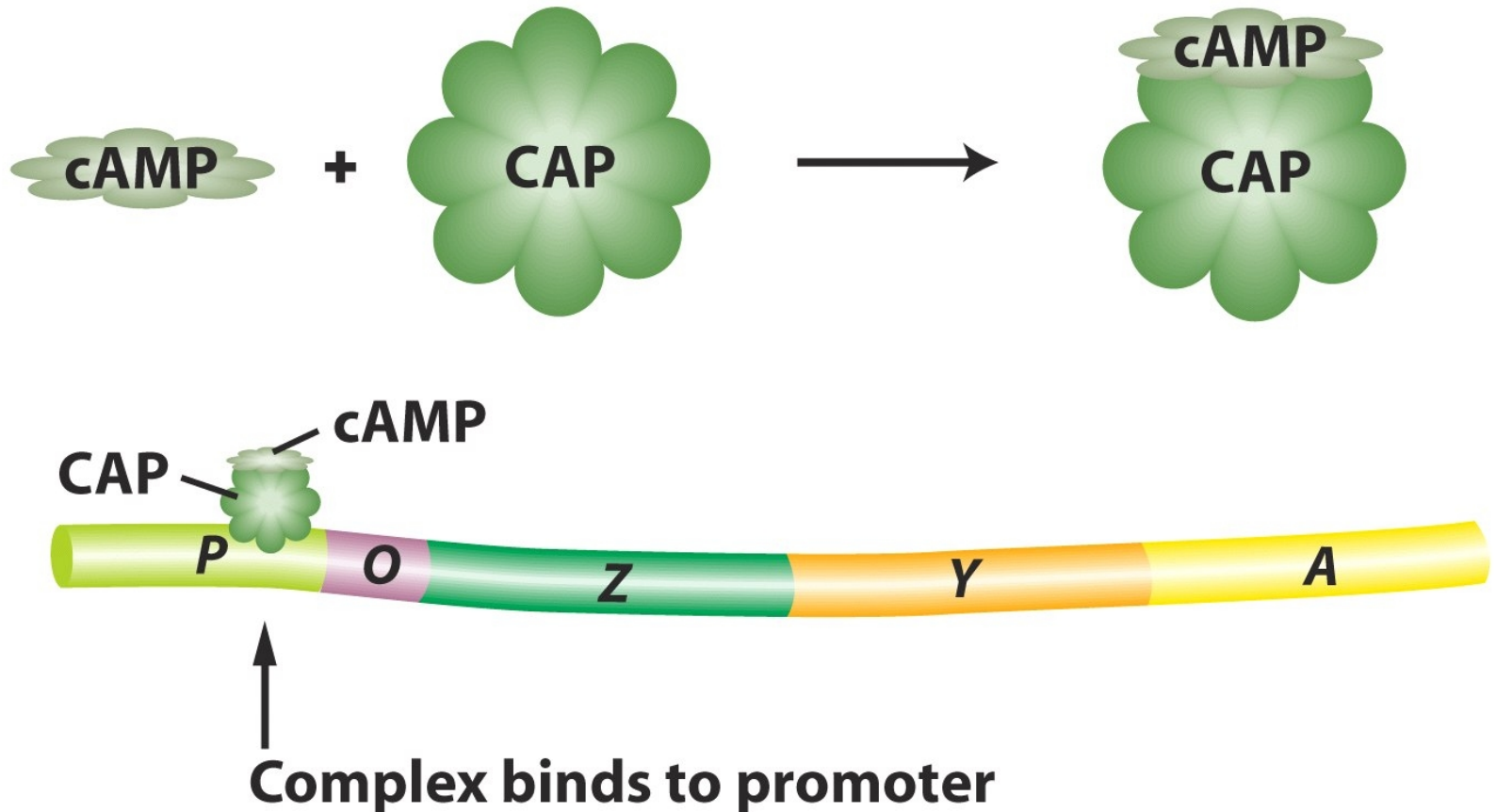
Glucose levels regulate cAMP levels



8. Was ist gemeint?

- b) Dieses regulatorische Protein bindet an cAMP und stimuliert die Bindung der RNA-Polymerase an den Promotor des lac-Operons.

cAMP–CAP complex activates transcription

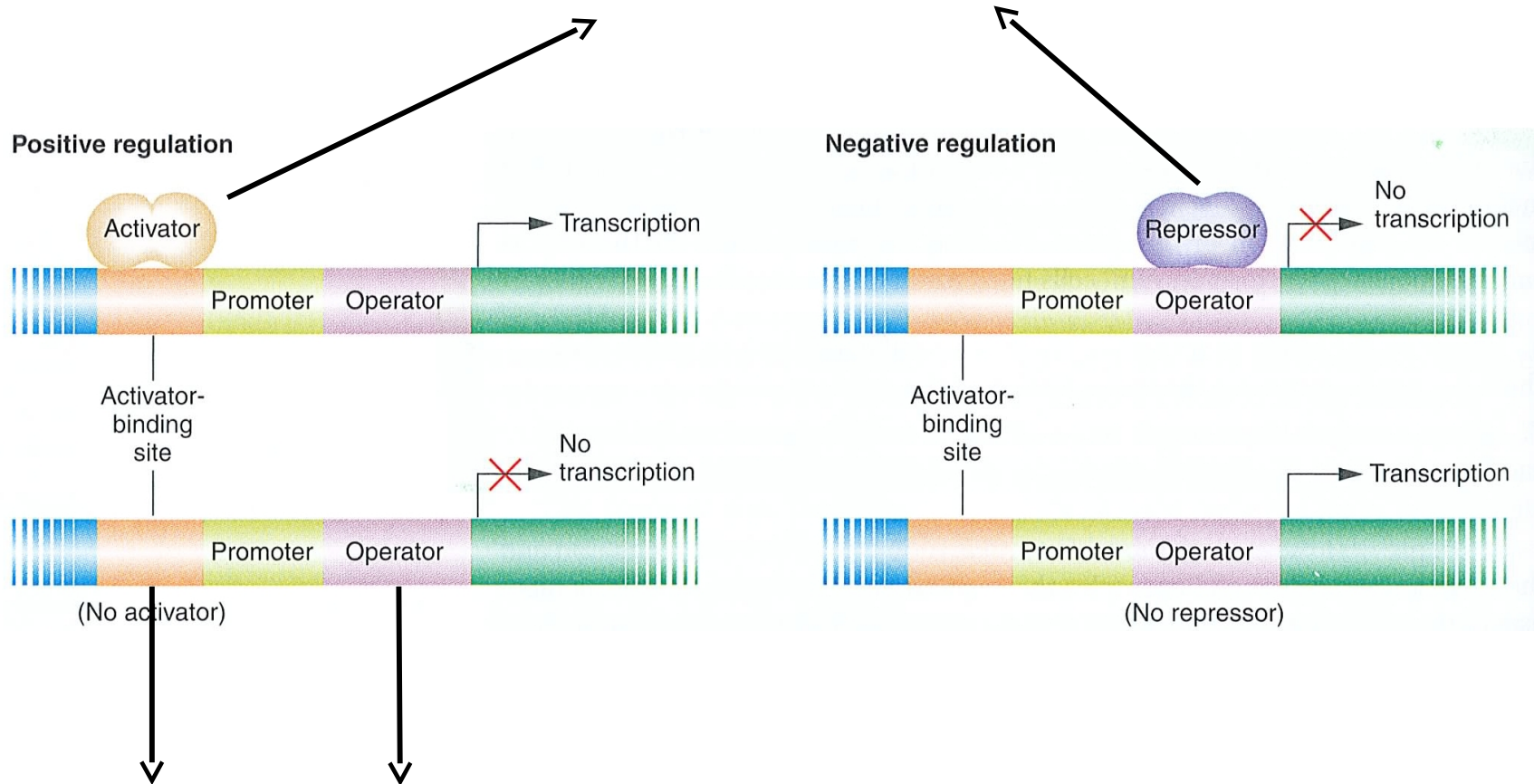


CAP = catabolite activator protein

8. Was ist gemeint?

- c) **Dieser Begriff beschreibt den Effekt genetischer Elemente auf andere Elemente, wenn sie benachbart zu diesen liegen. Z.B. hat ein Operator diesen Effekt auf die nachfolgenden Gene.**

im Gegensatz dazu: *trans*-acting factors
(i.d.R. unabhängig vom Zielgen kodiert)

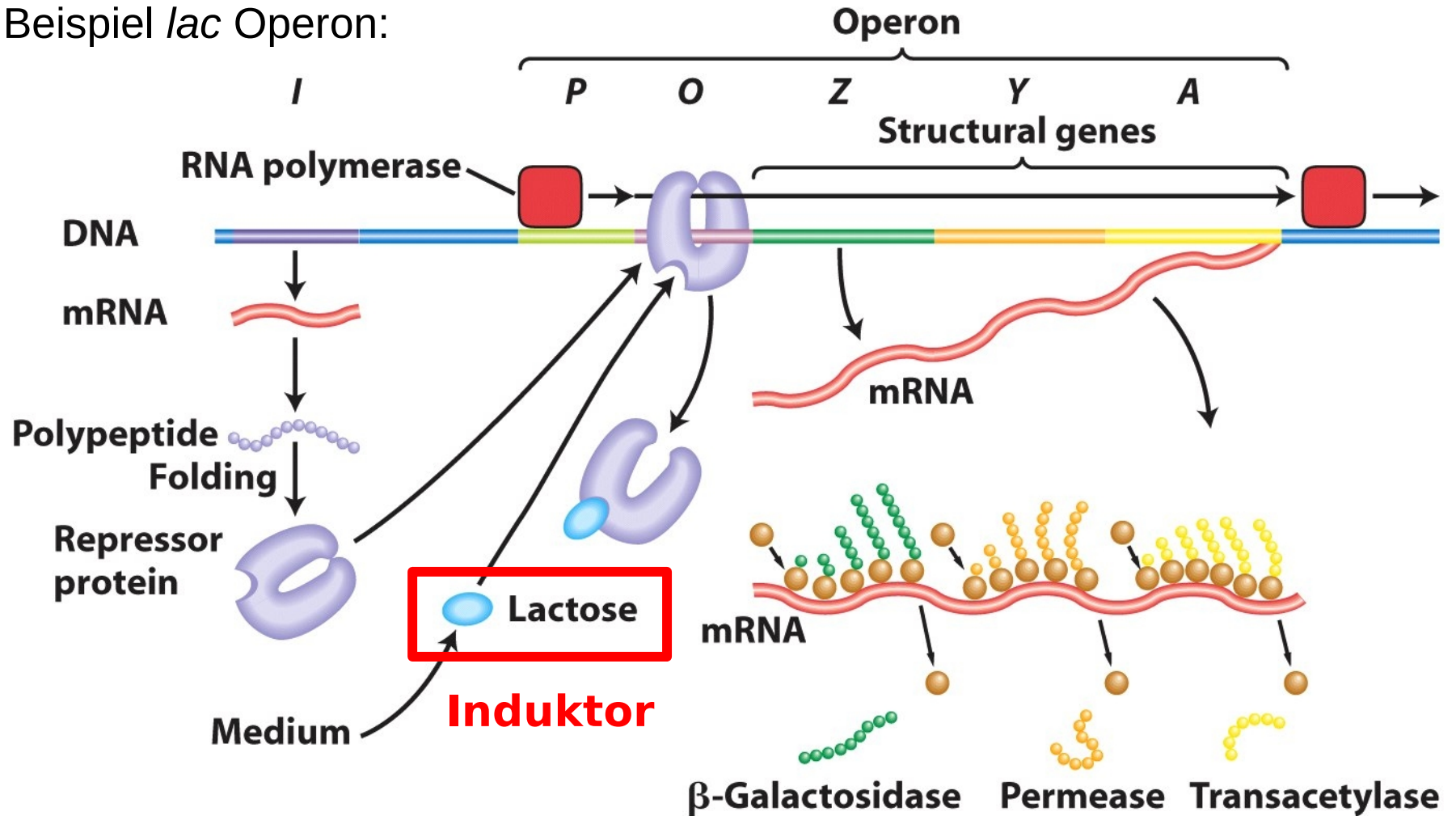


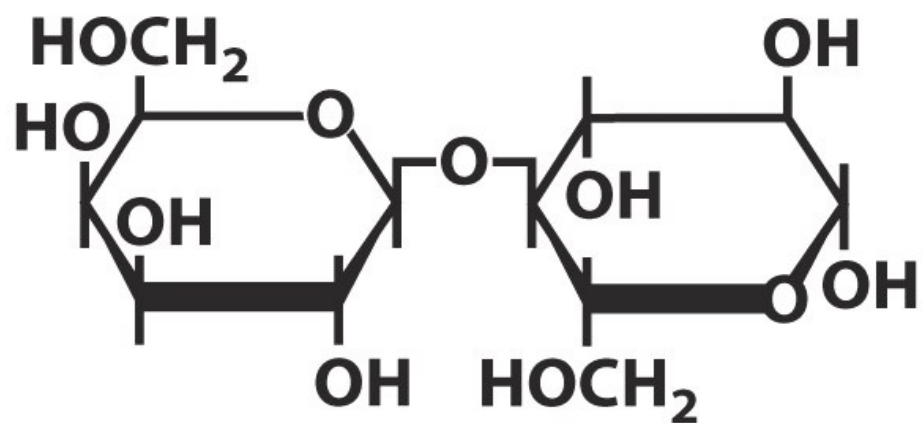
***cis*-regulatorische Sequenzen / *cis*-Elemente (→ *cis* Regulation)**

8. Was ist gemeint?

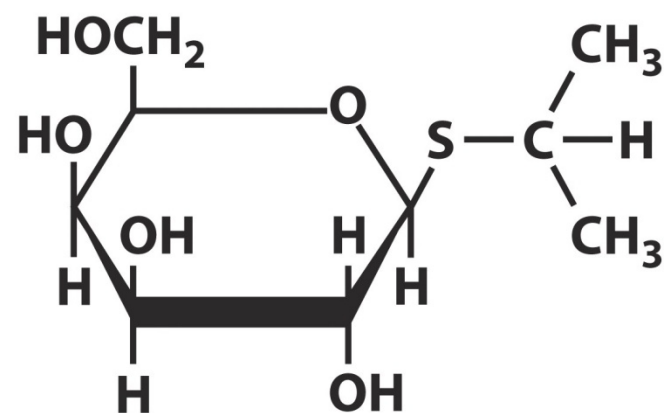
d) Ein Umweltmolekül, welches die Transkription eines Operons aktiviert.

Beispiel *lac* Operon:





Lactose



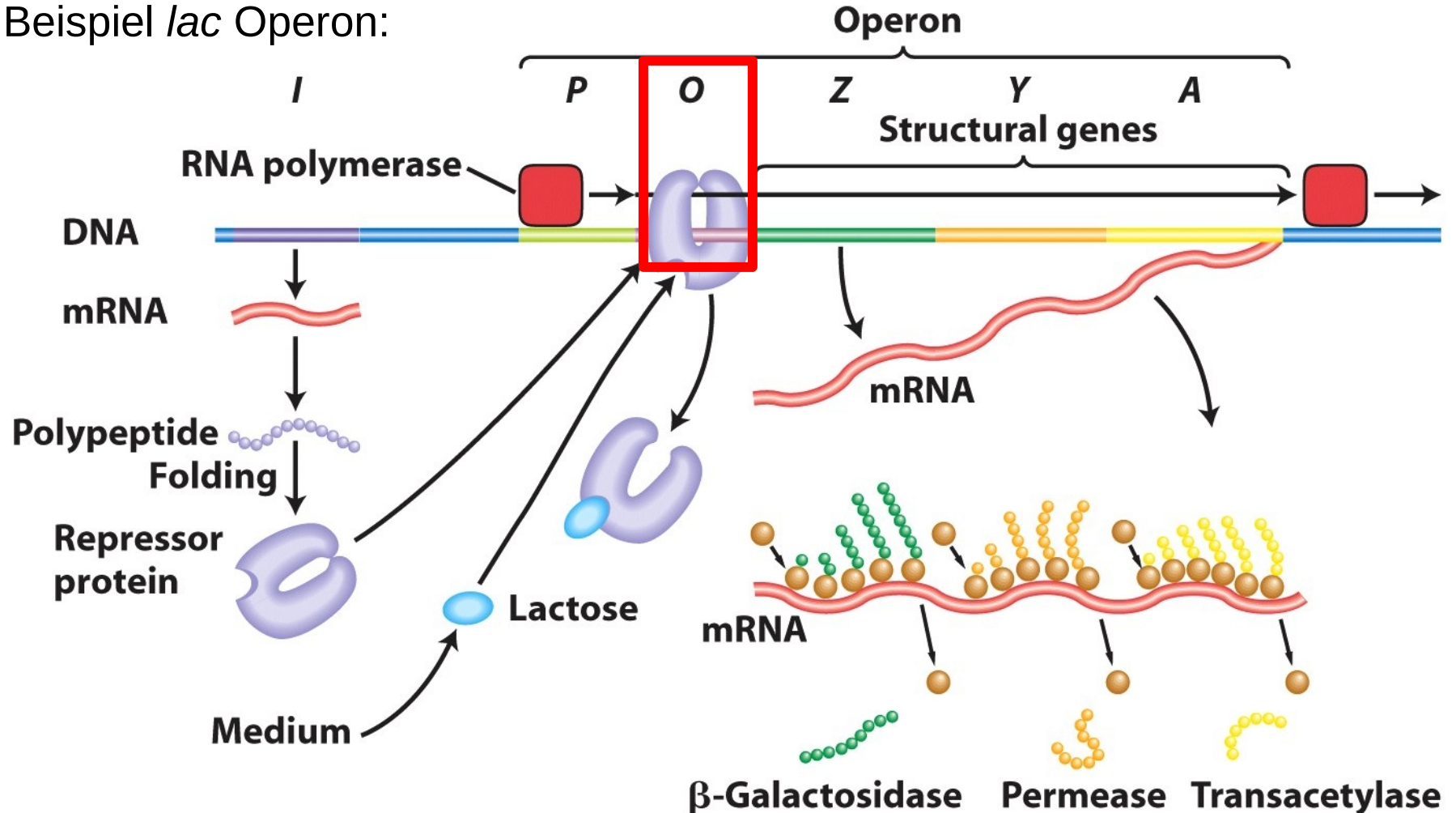
**Isopropyl- β -D-thiogalactoside
(IPTG)**

8. Was ist gemeint?

e) **Region eines Operons, die dem Repressor die Bindung ermöglicht.**

O = Operator

Beispiel *lac* Operon:

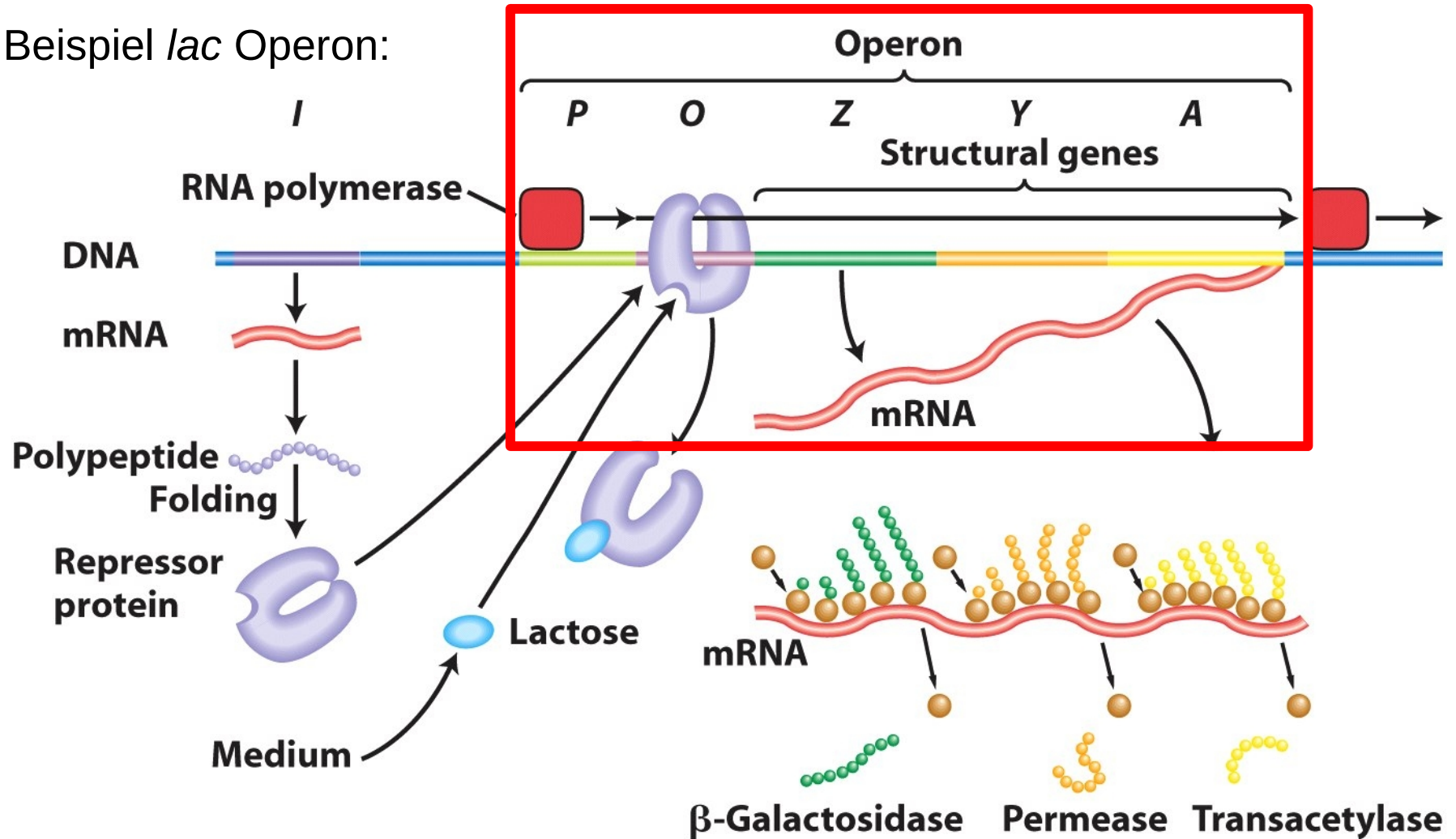


5' T G G A A T T G T G A G C G G A T A A C A A T T 3'
3' A C C T T A A C A C T C G Ć C T A T T G T T A A 5'

8. Was ist gemeint?

f) Ein Set von Genen, deren RNA in einem Molekül synthetisiert wird.

Beispiel *lac* Operon:

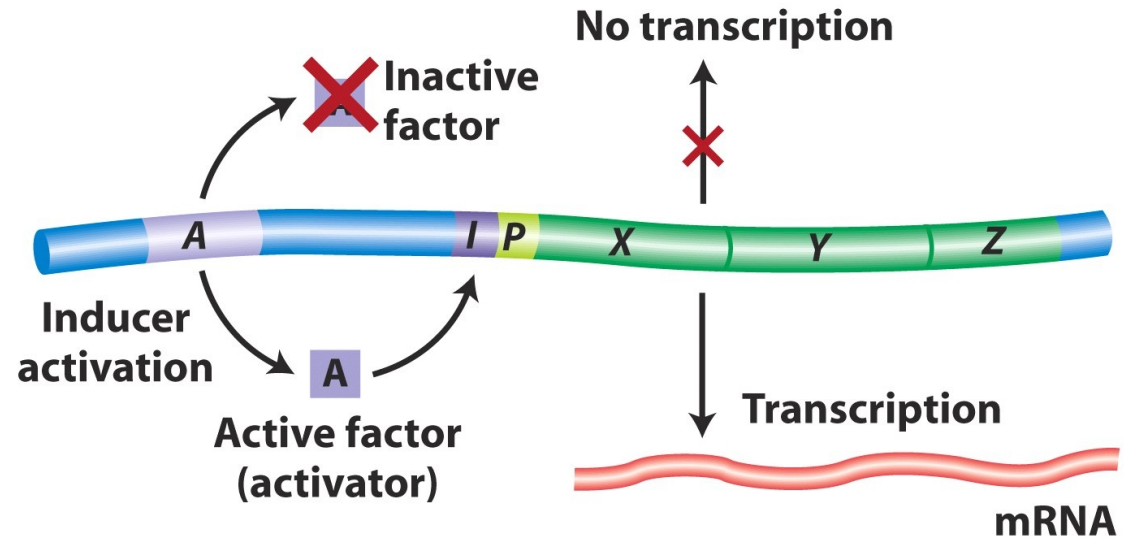


8. Was ist gemeint?

- g) **Dieser Begriff beschreibt die Beschleunigung/Aktivierung von Transkription, wie z.B. durch cAMP-CAP.**

Positive Regulation

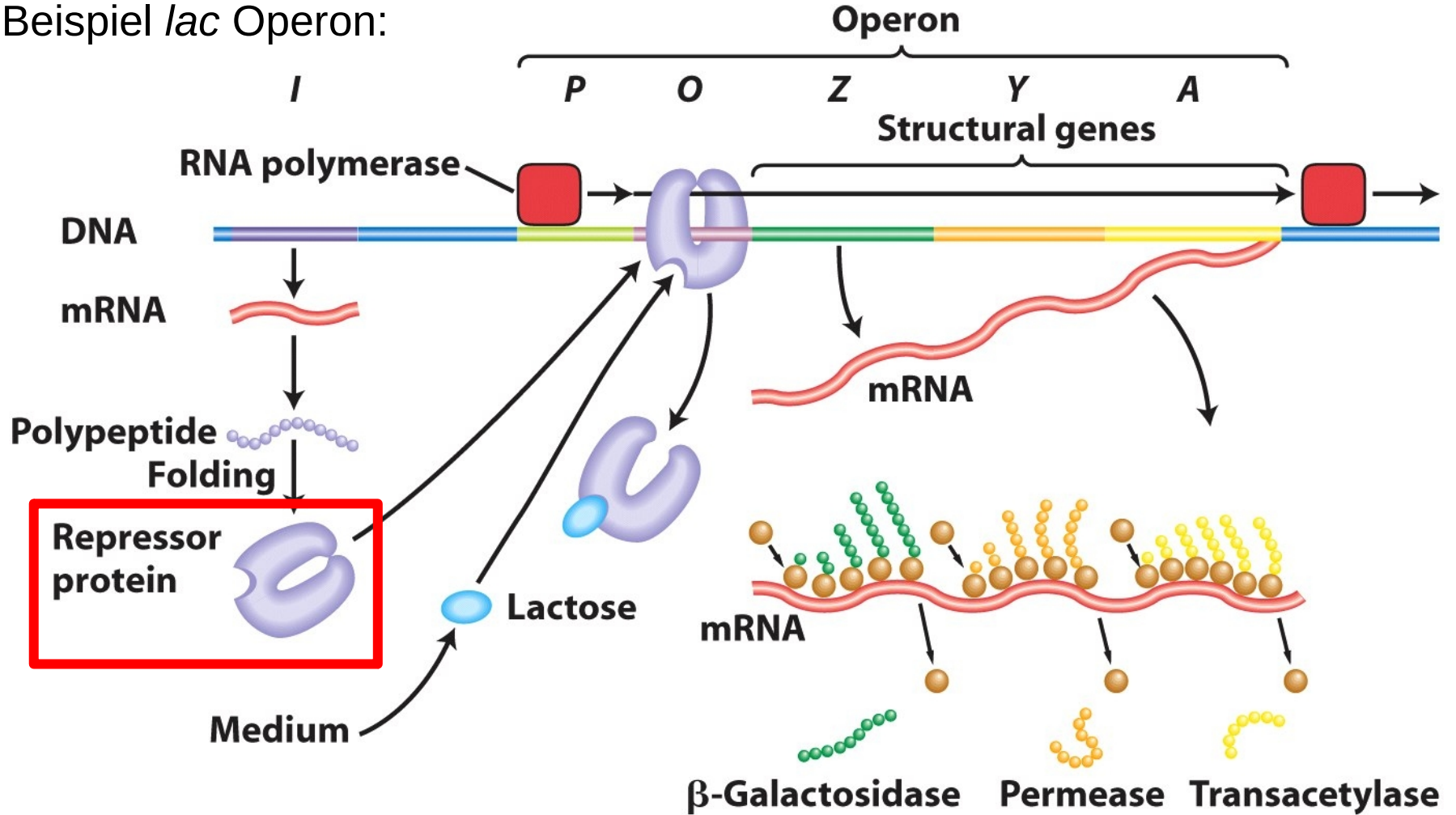
Activation



8. Was ist gemeint?

h) Dieser Begriff bezeichnet ein Protein, welches an den Operator bindet.

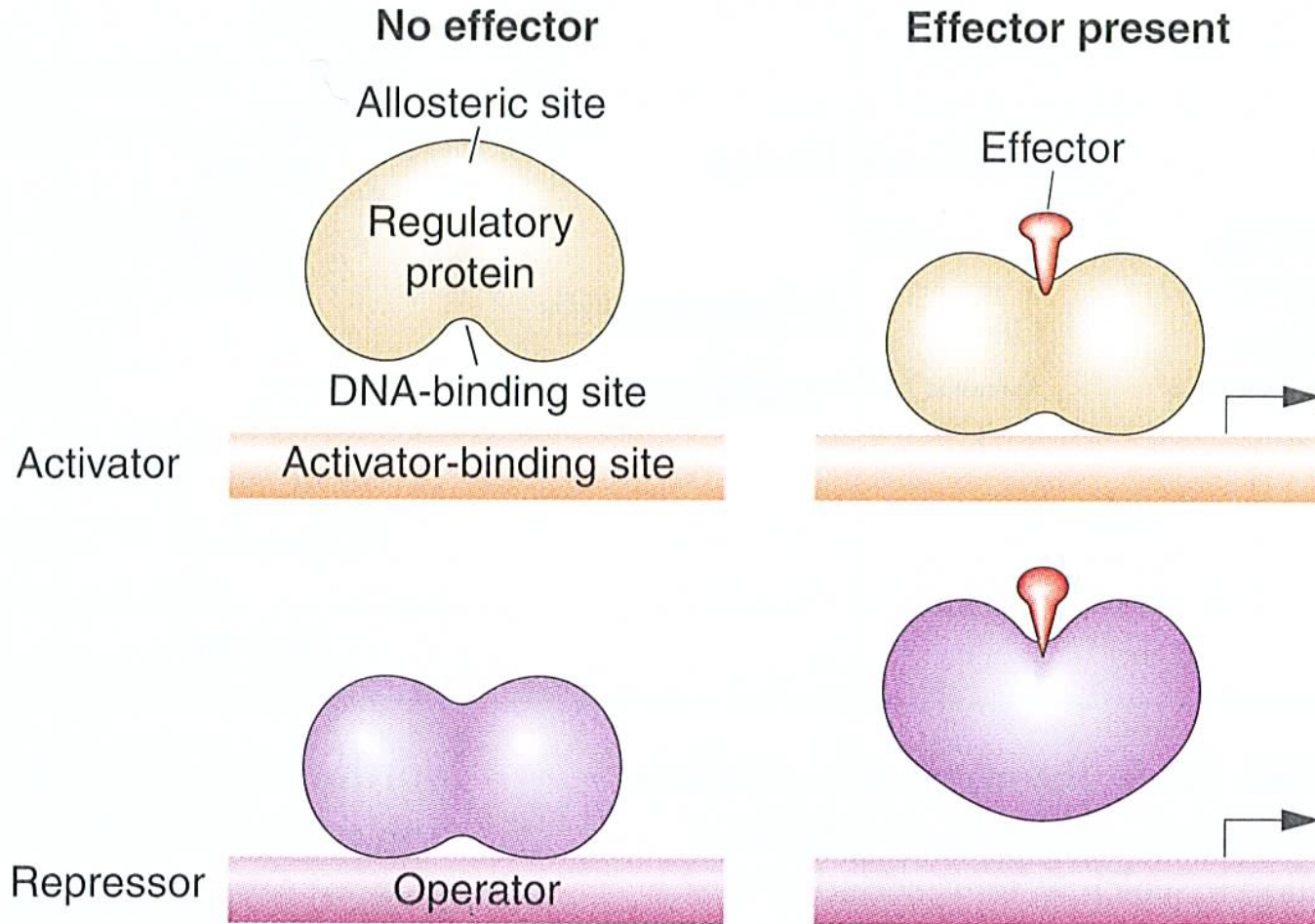
Beispiel *lac* Operon:



alternativ:
Aktivator

= allosterische Bindungsstelle:

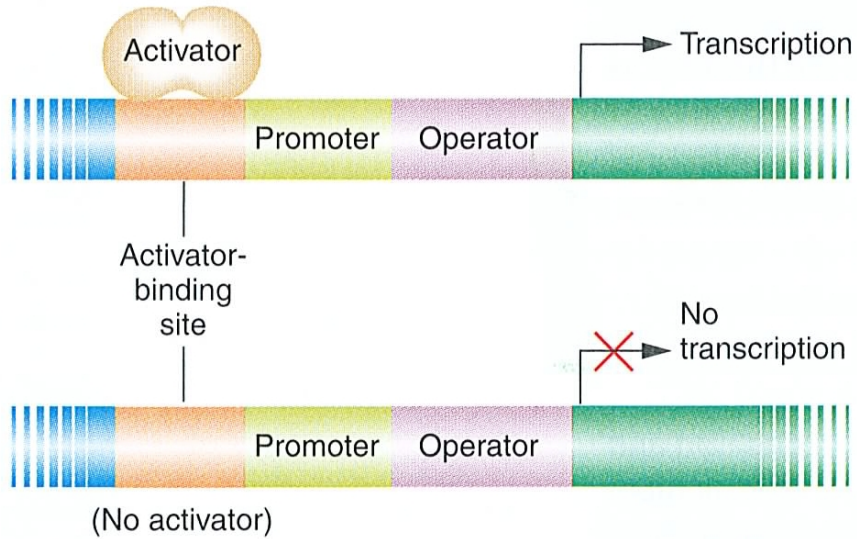
Fungiert als Schalter, der die DNA-Bindedomäne in funktionalen oder nicht funktionalen Zustand versetzt (durch Bindung eines Induktors / Effektors).



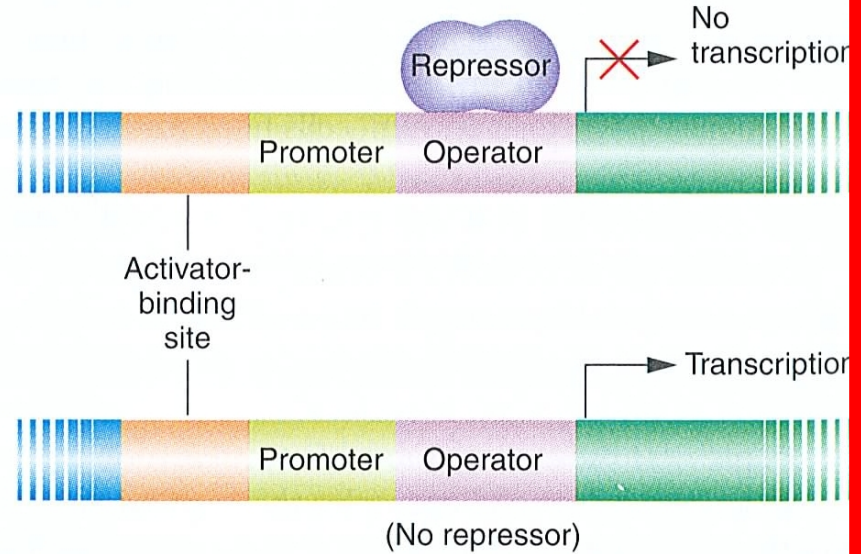
8. Was ist gemeint?

i) **Regulation durch Faktoren, die die Transkription verhindern.**

Positive regulation



Negative regulation

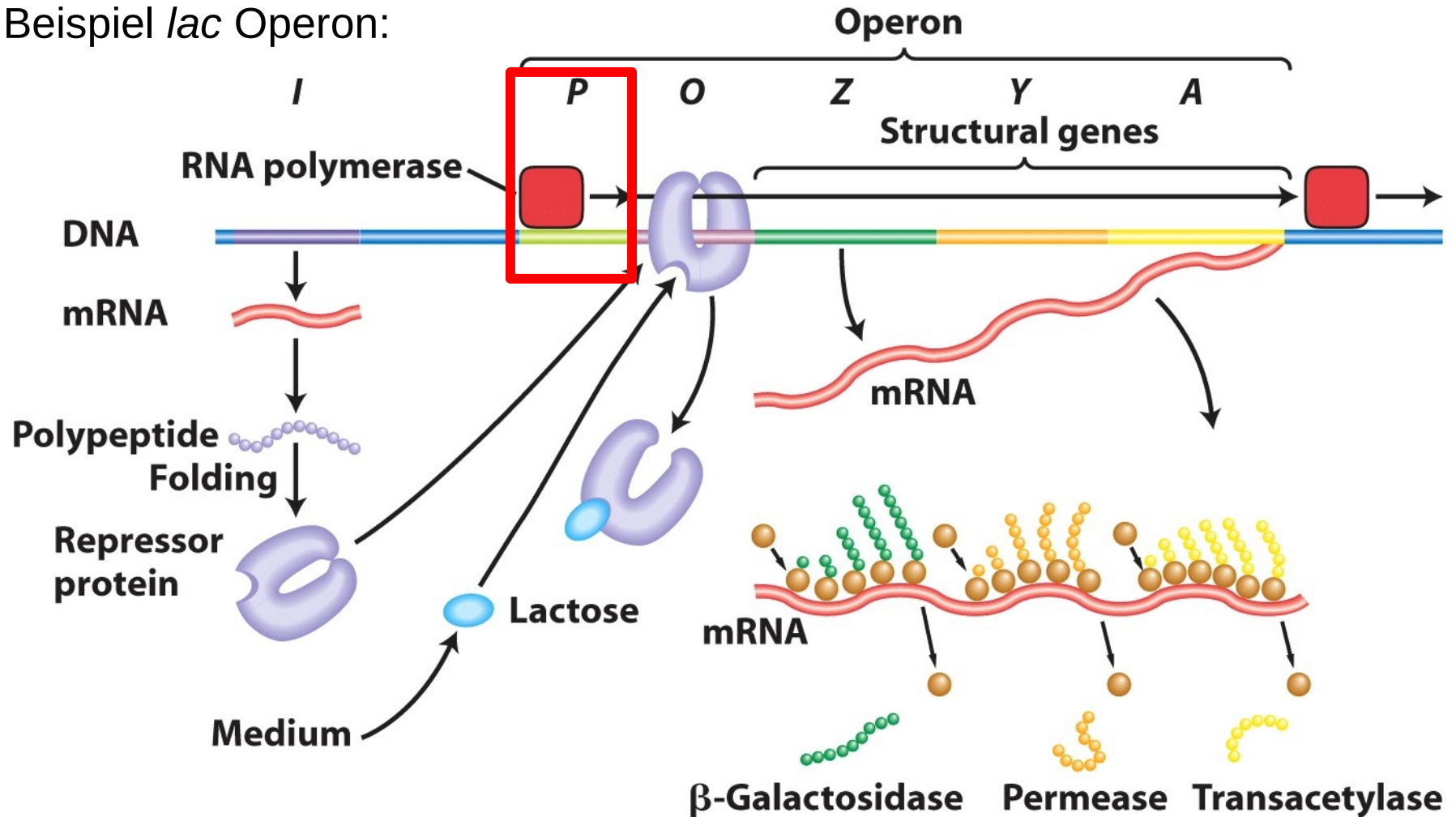


8. Was ist gemeint?

j) **Genregion, an welcher die RNA-Polymerase bindet, um die Transkription zu starten.**

P = Promotor

Beispiel *lac* Operon:



RNA polymerase

Promoter region

Transcription
start site

5' AGTTAGTGTA ⁻³⁵ TTGACAT TGATAGAAGCACTCTAC ⁻¹⁰ TATATT CTCAATAGGTCCACGG 3'

GT



One-base
deletion

GCAGT
A TC

AT

Two-base
change

CGAT
AT

AT A
CG CA
G

Mild effects
on transcription

CGAT
AT

Severe effects
on transcription

I - Zusatztermin

1. Wer Interesse an einem Zusatztermin hat, bitte per email melden:
mquint@ipb-halle.de
2. Fragen/Themen für Zusatztermin bis 07.03. per email an Marcel
3. Termin wird über die Website/per email bekannt gegeben?
→ email an Marcel wer informiert werden will (Adressen in Liste teilw. unlesbar!)

II – Seminar Signaltransduktion SS 2014

- Seminar (2 SWS) über molekulare Mechanismen der Signaltransduktion
- Nachvollziehen eines Signalweges anhand von Primärliteratur in chronologischer Reihenfolge
- Viele Methoden im Kontext erklärt (was, wie, wozu...)