

Vorbereitung – Interpretation von Genomen IV

Anhand der Regulation der Genexpression bei Prokaryoten haben Sie bereits gesehen, wie Zellen auf Umwelteinflüsse durch die Kontrolle der Transkription von Genen reagieren können. Doch in vielzelligen Organismen kommt mit der Spezialisierung der Zellen eine weitere Herausforderung hinzu, denn die Gene müssen entsprechend der Aufgaben der unterschiedlichen Zelltypen reguliert werden.

Die zentrale Frage bei Organismen mit verschiedenen Zelltypen lautet: Wie ist es möglich, dass sich Zellen, die alle dasselbe Genom besitzen, spezialisieren können? Der Unterschied zwischen den Zelltypen entsteht durch eine unterschiedliche Expression der Gene. In den meisten Zellen werden nur etwa 20 Prozent der im Genom vorhandenen Gene exprimiert. Das erfordert eine sehr gezielte Steuerung auf mehreren Ebenen, die Sie auf den folgenden Seiten kennenlernen werden.

Lernziele der Lektion

- Sie können beschreiben, auf welchen Ebenen die Genexpression in Eukaryoten reguliert werden kann.
- Sie können erklären, wie DNA-Methylierung und Histonacetylierung die Chromatinstruktur beeinflussen und wie dies die Transkription reguliert.
- Sie können definieren, welche Kontrollelemente bei der Transkription wichtig sind und können ihre Rolle erklären.
- Sie können erklären, was CREs zu Integratoren von Information in Zellen macht.
- Sie können Faktoren beschreiben, die die Lebensdauer der mRNA im Cytoplasma beeinflussen.
- Sie können die Rolle von nicht-codierenden RNAs erklären.
- Sie können erklären, wie Genregulation durch RNA-Interferenz (RNAi) funktioniert.
- Sie können erklären, wie die eukaryotische Genexpression auf translationaler und posttranslationaler Ebene reguliert werden kann.

Regulationsebenen der Genexpression

Erinnern Sie sich an die Abläufe der Genexpression bei Eukaryoten, die Sie zu Beginn des Kapitels kennengelernt haben: Die DNA liegt in Form von Chromatin im Nucleus vor und wird während der Transkription zu einer prä-mRNA abgeschrieben. Daran sind Transkriptionsfaktoren beteiligt. Die prä-mRNA wird in mehreren Schritten prozessiert, bevor sie den Zellkern verlässt. An den Ribosomen wird die Polypeptidkette entsprechend der Information auf der mRNA hergestellt. Die Polypeptidkette wird oft noch modifiziert und an einen anderen Zellort transportiert. Daraus ergeben sich viele Ebenen für eine Regulation, die in Abbildung 18.6 dargestellt sind. Sie können in Regulationsebenen im Zellkern und Regulationsebenen im Cytoplasma unterteilt werden. Beachten Sie, dass die Regulation der Genexpression noch vor der Transkription stattfinden kann, an mehreren Stellen während der Transkription und Translation sowie posttranslational durch Modifikationen oder Proteinabbau.

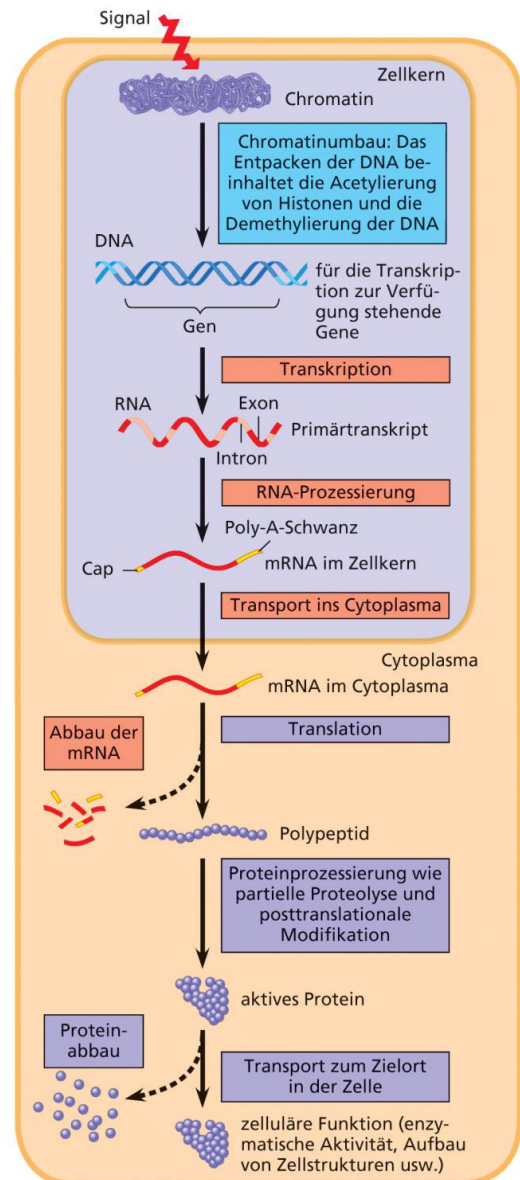


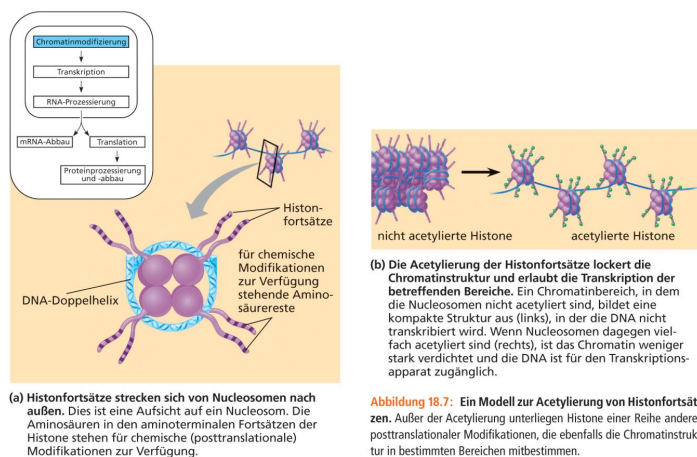
Abbildung 18.6: Die verschiedenen Stufen der Regulation der Genexpression in eukaryotischen Zellen. In diesem Schema bezeichnen die farblich unterlegten Kästchen diejenigen Prozesse, die am häufigsten reguliert werden. Die Farbe gibt die Molekülsorte an, welche der Regulation unterliegt (blau = DNA, orange = RNA, violett = Protein). Durch die Kernmembran wird die Transkription räumlich von der Translation getrennt, was im Gegensatz zu den Prokaryoten die Möglichkeit bietet, nach der Transkription die RNA-Prozessierung zur Regulation zu nutzen. Darüber hinaus verfügen Eukaryoten über eine größere Vielfalt an Steuerungsmechanismen, die vor der Transkription oder nach der Translation greifen. Die Expression eines bestimmten Gens muss nicht immer auf allen dargestellten Ebenen reguliert sein. So unterliegt beispielsweise nicht jedes Polypeptid einer gezielten proteolytischen Spaltung.

Regulation der Chromatinstruktur

Die Verpackung der DNA in Chromatin dient nicht nur der Platzsparung, sondern bildet auch die erste Ebene für die Regulation der Genexpression. Ist ein Gen beispielsweise sehr dicht im Bereich des Heterochromatins verpackt, wird es in der Regel nicht transkribiert, weil es für die entsprechenden Faktoren nicht zugänglich ist. Weiterhin können auch chemische Modifikationen an den Histonen und der DNA die Genexpression beeinflussen.

Modifikation von Histonen

Modifikationen an den positiv geladenen Histonproteinen, um die die DNA gewickelt ist, beeinflussen die Genexpression. Wie in Abbildung 18.7a dargestellt, ragen die N-terminalen Enden der Histonproteine aus dem Nucleosom heraus und sind so für modifizierende Enzyme zugänglich. Bei Histonacetylierungen werden Acetylreste ($-\text{COCH}_3$) an Lysinreste gebunden und neutralisieren deren positive Ladung. Dadurch wird die Bindung zu benachbarten Nucleosomen geschwächt (Abb. 18.7b), die Chromatinstruktur wird aufgelockert und die Transkriptionsfaktoren haben leichteren Zugang zu denen Genen. Methylierung oder Phosphorylierung der Histonproteine sind weitere Modifikationsmöglichkeiten.



DNA-Methylierung

Auch Modifikationen der DNA haben einen Einfluss auf die Genexpression. DNA-Methyltransferasen katalysieren die Methylierung von Nucleinbasen, meist Cytosinresten, was zu einer verringerten Expression des betroffenen Gens führt. Die Entfernung von Methylgruppen führt im Gegenzug zu einer Aktivierung der Gene. Während der Zelldifferenzierung im Embryo finden mehrere anhaltende Inaktivierungen durch Methylierungen statt. Die Methylierungsmuster bleiben meist in den folgenden Zellteilungen erhalten und sind für die genomische Prägung bei Säugetieren verantwortlich, die Sie später im Abschnitt „Vererbung von Genomen“ kennenlernen werden.

Epigenetik

DNA-Methylierungen und Histonmodifikationen spielen auch in der Epigenetik (*griech.* epi = ausserhalb) eine wichtige Rolle. Unter Epigenetik versteht man die Weitergabe von Merkmalen an Tochterzellen, die nicht direkt an die DNA-Sequenz gebunden ist. Der Unterschied zu Mutationen ist, dass epigenetische Modifikationen reversibel sind. Sie können als Reaktion auf die Umwelt geschehen und teilweise auch vererbt werden.

Regulation der Transkriptionsinitiation

Die Initiation der Transkription eines Gens ist ein wichtiger Schritt, an dem die Genexpression reguliert werden kann. Sie ist bei Eukaryoten sehr komplex, da zahlreiche Transkriptionsfaktoren beteiligt sind, die die Bindung der RNA-Polymerase entweder fördern oder behindern. Der Transkriptionsinitiationskomplex wird am Promotor eines Gens zusammengelagert. Dabei binden manche Faktoren direkt an die DNA, doch die meisten wechselwirken mit anderen Proteinen einschliesslich der RNA-Polymerase. Erst wenn der Initiationskomplex vollständig ist, kann die RNA-Synthese beginnen.

Bei Transkriptionsfaktoren unterscheidet man zwischen allgemeinen und spezifischen Faktoren. Allgemeine Faktoren werden für die Transkription aller Gene benötigt. Sie trennen die beiden DNA-Stränge und helfen bei der richtigen Positionierung der RNA-Polymerase am Promotor. Spezifische Faktoren sind nur an der Transkription bestimmter, für sie spezifischer Gene beteiligt. Erst durch sie wird eine hohe Transkriptionsrate erreicht. Mit dem Begriff Transkriptionsrate ist nicht die Geschwindigkeit der RNA-Polymerase an sich gemeint sondern die Effizienz der Transkription, die z. B. vom Lockern der Chromatinstruktur abhängt und davon, ob die RNA-Polymerase lange genug an die DNA gebunden bleibt, um ein Gen vollständig abzuschreiben.

Für die Regulation der Transkription sind *cis*-regulatorische Elemente (*engl.* *cis*-regulatory element, CREs) von hoher Bedeutung. CREs sind Kontrollelemente in Form von DNA-Sequenzen auf dem gleichen DNA-Molekül wie das kontrollierte Gen, daher auch der Begriff „*cis*“ (*lat.* diesseits) in ihrem Namen. Sie werden häufig auch als „Enhancer“ bezeichnet; in der Vorlesung wird allerdings der treffendere Begriff CRE verwendet. Im Lehrvideo auf der nächsten Seite wird die Rolle von CREs in Wechselwirkung mit spezifischen Transkriptionsfaktoren in der Transkriptionsinitiation ausführlich besprochen.

cis-regulatorische Elemente (Video)

Das Video im Online-Kurs zeigt Ihnen, wie *cis*-regulatorische Elemente (CREs) aufgebaut sind und welche Bedeutung diese DNA-Kontrollelemente für die Genexpression haben.

Regulation auf der Ebene der mRNA-Prozessierung

Neben Chromatinmodifizierung und Regulation der Transkriptionsinitiation gibt es andere Mechanismen zur Steuerung der Genexpression, die posttranskriptional, also nach der Transkription, stattfinden. Nachdem die mRNA transkribiert wurde, erfolgt die ebenfalls im Zellkern stattfindende RNA-Prozessierung, bei der beispielsweise durch alternatives Spleissen in die Genexpression eingegriffen werden kann. Ein Beispiel ist in Abbildung 18.11 anhand des Troponin-T-Gens gezeigt, das, abhängig davon, welche Exons aus der prä-mRNA herausgeschnitten werden, ähnliche, aber verschiedene Muskelproteine codiert. Man hat herausgefunden, dass durch alternatives Spleissen in verschiedenen Geweben unterschiedliche Varianten des Gens exprimiert werden.

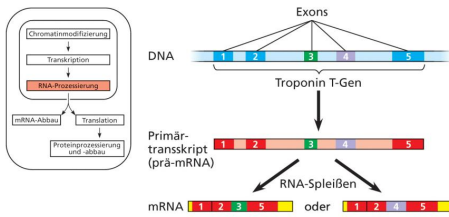


Abbildung 18.11: Alternatives RNA-Spleißen des Troponin-T-Gens. Das Primärtranskript dieses Gens (prä-mRNA) kann unterschiedlich prozessiert werden. Dabei entstehen verschiedene reife mRNA-Moleküle. Beachten Sie, dass eine mRNA-Sorte das Exon 3, aber nicht Exon 4 (grün), eine andere Variante Exon 4, aber nicht 3 (lila) enthält. Die beiden reifen mRNAs werden zu unterschiedlichen, aber ähnlichen Muskelproteinen translatiert.

Regulation der Genexpression auf der Ebene der mRNA

mRNA-Moleküle werden im Cytoplasma nicht immer wieder translatiert, sondern rasch wieder abgebaut. Der Abbau der mRNA kann beschleunigt werden, indem der Poly-A-Schwanz am 3'-Ende und die 5'-Cap-Struktur von spezifischen Enzymen entfernt werden. Andererseits können Nucleotidsequenzen im nicht-translatierten 3'-Bereich die Lebensdauer einer mRNA erhöhen, sodass sie sich zur mehrfachen Translation eignet.

Die Initiation der Translation kann verhindert werden, indem regulatorische Proteine an den nicht-translatierten 5'-Bereich der mRNA binden und den Eintritt ins Ribosom blockieren. Durch Aktivierung oder Inaktivierung der an der Translationsinitiation beteiligten Proteine kann die Translation auch global gesteuert werden.

Eine weitere wichtige Regulationsebene, die auch in der modernen Forschung Anwendung findet, ist die Regulation durch nicht-codierende RNAs. Diese RNA-Moleküle codieren nicht Proteine, sondern sind komplementär zu mRNA-Molekülen und können mit dieser einen RNA-Doppelstrang bilden. Dadurch werden die mRNA-Moleküle mithilfe eines Proteinkomplexes, der die doppelsträngige RNA bindet, entweder abgebaut oder ihre Translation wird gehemmt, was man unter dem Begriff „RNA-Interferenz“ zusammenfasst. Woher kommen nun diese RNA-Moleküle? Sogenannte microRNAs (miRNAs) sind in der DNA codiert und können nach ihrer Transkription die Genexpression regulieren. Diesen Mechanismus machen sich Molekularbiologen zunutze, indem sie nicht-zelleigene RNA-Moleküle, die man als small interfering RNAs (siRNAs) bezeichnet, in eine Zelle einführen, um dort die Genexpression zu steuern. RNA-Interferenz ist ausserdem ein Abwehrmechanismus der Zelle gegen Viruspartikel, denn das Genom einiger Virusarten besteht

aus doppelsträngiger RNA, die in dem gleichen Proteinkomplex erkannt und abgebaut werden kann.

Posttranslationale Regulationsebenen

Posttranslational kann die Genexpression durch den Umbau und Abbau von Proteinen reguliert werden, da viele Polypeptide noch modifiziert werden müssen, bevor sie ihre Funktion ausüben können. Einige Proteine werden beispielsweise erst durch Phosphorylierung, d.h. das Anfügen einer Phosphatgruppe an einen Aminosäurerest, aktiviert. An Proteinen, die über den sekretorischen Weg aus der Zelle ausgeschleust werden, werden häufig noch Zuckerreste befestigt, die für die Funktion des Proteins wichtig sind. Diesen Prozess nennt man Glycosylierung und die entstehenden Proteine Glycoproteine. Beispielsweise sind die Proteine, die die Blutgruppe des Menschen bestimmen, Glycoproteine mit für die Blutgruppe spezifischen Zuckerketten.

Eine letzte Möglichkeit der Regulation ist der gezielte Abbau von Proteinen. Dafür werden diese durch das Protein Ubiquitin markiert und von Proteasomen zersetzt (Abb. 18.12). Die Aminosäuren, die dabei zurückgewonnen werden, können wieder für den Bau neuer Polypeptide genutzt werden. Selektiver Proteinabbau ist z.B. im Zellzyklus von zentraler Bedeutung, wo während der M-Phase die Cyclin/CDK-Komplexe inaktiviert werden, indem die Cycline durch Ubiquitinierung abgebaut werden. So werden die CDKs wieder frei und liegen damit inaktiv in der Zelle vor, bis sie in der nächsten Runde des Zellzyklus wieder von Cyclinen gebunden werden.

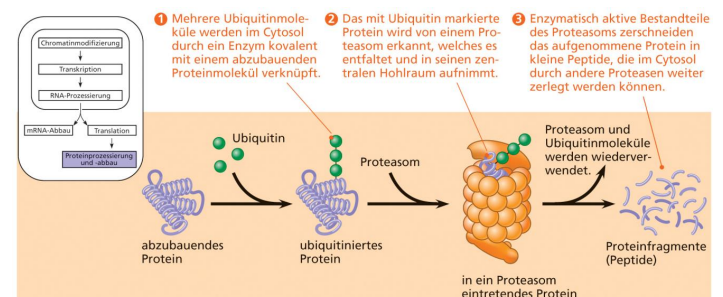


Abbildung 18.12: Abbau eines Proteins durch ein Proteasom. Ein Proteasom – ein Multiproteinkomplex von enormer Größe mit einer tonnenförmigen Gestalt – zerlegt nicht mehr benötigte Proteine in der Zelle. Meist wurden die entsprechenden Proteine vorher durch die Anknüpfung des kleinen Proteins Ubiquitin für den Abbau markiert. Die Schritte 1 und 3 erfordern ATP zur Bereitstellung von Energie. Eukaryotische Proteasomen entsprechen in ihrer Größe den Untereinheiten von Ribosomen und sind in der Zelle verteilt. Ihre Form erinnert an Chaperone, die die Proteinfaltung fördern, anstatt sie abzubauen (siehe Abbildung 5.24).