

# Programmierbare Gen-Logik

Während die kodierenden Sequenzen des Genoms den Bauplan für die Proteine enthalten, bestimmen regulatorische DNA-Sequenzen unter welchen Bedingungen diese hergestellt werden. Die Entschlüsselung der regulatorischen Information steckt noch in den Anfängen, doch grundlegende Mechanismen der Transkriptionsregulation durch Protein-DNA und Protein-Protein Wechselwirkungen sind gut verstanden. Hier soll gezeigt werden, wie das Zusammenspiel dieser Wechselwirkungen mit biophysikalischen Modellen systematisch untersucht werden kann.



Ulrich Gerland

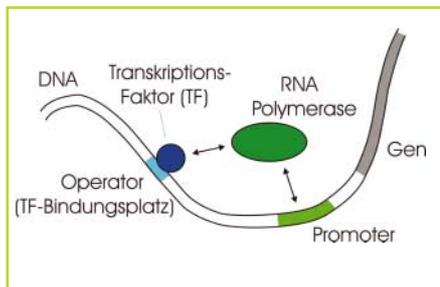


Abb. 1: Illustration von Protein-DNA und Protein-Protein Wechselwirkungen, die an der Transkriptionsregulation beteiligt sind

## Molekulare Signalverarbeitung auf der DNA

Zellen regeln die Konzentrationen ihrer Proteine in Abhängigkeit von ihrem internen Zustand und dem ihrer äußeren Umgebung. Beispielsweise müssen Bakterien die Produktion ihrer metabolischen Enzyme an das Nahrungsmittelangebot anpassen und auf externen Stress mit Notmaßnahmen reagieren. In mehrzelligen Organismen steuern komplexe Mechanismen die Differenzierung der Zellen und bewirken damit, dass genetisch identische Zellen unterschiedliche Formen und Funktionen erhalten. Die Umwandlung und Verarbeitung von Signalen sind dafür grundlegend, ähnlich wie bei Steuer- und Regelprozessen in der Technik. Viele Signale werden durch Signaltransduktions-Mechanismen umgewandelt und in Form von DNA-bindenden Proteinen, den Transkriptionsfaktoren (TF), auf die Transkriptions-Ebene weitergeleitet. Hier können mehrere Signale direkt durch Wechselwirkungen zwischen den TF, den zugehörigen Bindungsplätzen auf der DNA, und der RNA Polymerase (RNAP) in ein einziges Ausgabesignal integriert werden: die Transkriptionsrate eines Gens (Abb. 1). Verschiedene Gene erfordern unterschiedliche logische Verknüpfungen der

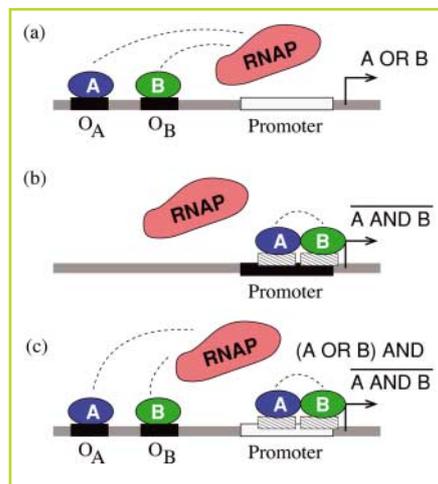


Abb. 2: Schematische Darstellung von regulatorischen Regionen, die ein logisches (a) ODER, (b) inverses UND, (c) exklusives ODER (XOR) von zwei Eingangssignalen A und B implementieren

Eingangssignale. Beispielsweise muss ein metabolisches Enzym wie  $\beta$ -Galactosidase in *E.coli* hergestellt werden, wenn das Substrat (Lactose) vorhanden UND die Zelle hungrig ist, während viele Gene in mehrzelligen Organismen in dem einen ODER anderen Zelltyp benötigt werden, aber NICHT in den restlichen. Neben der Logik spielt natürlich auch die absolute Konzentration, d.h. die Amplitude des Ausgangssignals, eine wichtige Rolle. Beides, Logik und Amplitude, muss für jedes Gen in die genomische Sequenz „einprogrammiert“ sein. Nach heutigem Wissen liegt diese Information vor allem in der regulatorischen DNA, die die Bindungsplätze für die TF enthält.

## Komplexe Funktionen mit einfachen Mechanismen?

Wie ist also die Relation zwischen Eingangssignalen und Ausgabesignal in der regulatorischen DNA kodiert? Ein Ver-

ständnis dieses Codes erfordert zunächst ein Verständnis der molekularen Mechanismen für die Transkriptionsregulation. Diese sind vielfältig, doch aus der Betrachtung von Beispielen ergeben sich einige einfache Grundprinzipien [1]: (a) Zur Erhöhung bzw. Absenkung der Transkriptionsrate durch TF genügt eine unspezifische Anziehung zu bzw. sterische Verdrängung der RNAP von ihrem Bindungsplatz, dem Promoter, am Transkriptionsstart, siehe Abbildung 1. (b) Jeder TF erkennt ein für ihn spezifisches DNA Sequenz-Motiv, und die Affinität jedes Bindungsplatzes ist durch die Wahl seiner Sequenz über einen weiten Bereich programmierbar [2]. (c) Die gegenseitige Wechselwirkung der TF auf der DNA kann ebenfalls unspezifischer Natur sein und ist programmierbar über die relative Lage der Bindungsplätze auf der DNA. Wie spielen alle diese molekularen Wechselwirkungen zusammen und welche regulatorischen Funktionen können damit implementiert werden? Für einfache Funktionen kann man sich dies relativ leicht vorstellen: Wenn z.B. eine ODER-Verknüpfung implementiert werden soll, dann kann ein schwacher Promoter mit zwei starken Bindungsplätzen für zwei verschiedene TF kombiniert werden, so dass beide unabhängig voneinander die Transkription aktivieren können, siehe Abbildung 2a. Als Beispiel für eine negative Regulation ist in Abbildung 2b die Implementierung eines inversen UND gezeigt, d.h. das Gen soll immer aktiv sein, außer wenn beide TF in hoher Konzentration vorhanden sind (hier genügt ein starker Promoter in Verbindung mit zwei schwachen reprimierenden Bindungsplätzen, an die die TF kooperativ binden). Jedoch für komplexere Funktionen, die zum Beispiel während der Entwicklung höherer Organismen benötigt werden [3], ist *a priori* unklar ob diese einfachen Prinzipien ausreichen und wie gegebenenfalls Rea-

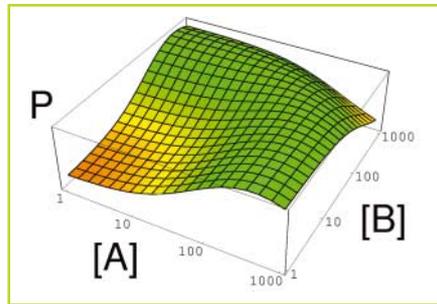
lisierungen aussehen. Für solche Fragen sind quantitative theoretische Modelle ein nützliches Instrument [4].

### Grobskalige biophysikalische Modelle

In der Molekularbiologie sind häufig mesoskopische Längen- und Zeitskalen relevant, die einerseits so groß sind, dass eine detaillierte atomare Modellierung weder möglich noch sinnvoll wäre, und andererseits klein genug, dass thermische Fluktuationen eine wichtige Rolle spielen. Für dieses Regime bietet die statistische Physik ein breites Repertoire an theoretischen Methoden, die den Schritt von einzelnen Molekülen zu molekularen Systemen ermöglichen. So kann im vorliegenden Fall das Zusammenspiel der Proteine und der DNA in der Transkriptions-Regulation durch wenige messbare effektive Wechselwirkungsparameter beschrieben werden [4]. Als Beispiel betrachten wir eine etwas komplexere logische Verknüpfung, das exklusive ODER (XOR), bei dem im Gegensatz zum gewöhnlichen ODER das Gen nicht aktiv sein soll wenn beide TF in hoher Konzentration vorhanden sind. Mit den bereits erwähnten molekularen Mechanismen lässt sich das XOR nur realisieren, wenn mehr als ein Bindungsplatz pro TF verwendet wird [4]. Die einfachste Realisierung ergibt sich durch Kombination der Realisierungen für das ODER und das inverse UND, wie in Abbildung 2c gezeigt. Dass diese Anordnung tatsächlich funktioniert zeigt die mit dem theoretischen Modell berechnete Input-Output Relation in Abbildung 3. Außerdem zeigt das Modell auch in welchem Bereich die (effektiven) Wechselwirkungsparameter liegen müssen, damit die Input-Output Relation die charakteristische XOR Form aufweist.

### Ausblick

Höhere Organismen benötigen noch viel kompliziertere regulatorische Funktionen als die hier gezeigten [3]. Es ist daher nicht verwunderlich, dass sie auch mehr molekulare Regulations-Mechanismen haben als Bakterien. Es zeigt sich, dass vor allem Mechanismen, die Aktivierung oder Reprimierung über größere Abstände auf der DNA ermöglichen, wesentlich für die Konstruktion komplexer Transkriptions-Regulation sind [4]. Deren quantitative Untersuchung steckt noch in den Anfängen und ist eine wichtige interdisziplinäre Aufgabe für die Naturwissenschaften. Schon heute kann man sich jedoch gut vorstellen, wie evo-



**Abb. 3:** Berechnete Transkriptionsrate als Funktion der TF-Konzentrationen [A] und [B] für ein Gen mit der in Abbildung 2 (c) angedeuteten XOR-Regulation, siehe [4]. Dabei sind die „programmierbaren“ Protein-DNA Affinitäten innerhalb des physiologischen Regimes geeignet gewählt, während die Protein-Protein Wechselwirkungen bei einer typischen Stärke festgehalten wurden.

lutionäre Prozesse das Regulations-Programm der Gene durch Verschieben oder Ändern der TF-Bindungssequenzen „umprogrammieren“. Dabei könnten zunächst bestehende Module neu kombiniert werden, um eine rudimentäre neue Funktionalität zu erreichen, gefolgt von „Fine-Tuning“ durch einzelne Mutationen. Mit einem ausreichenden Verständnis dieser Systeme würden sich sicherlich vielfältige wertvolle Anwendungen in der Medizin ergeben, z.B. könnte man sich vorstellen, dass eines Tages ein medizinisches Bakterium in unseren Körpern verschiedene Krankheitssignale lokal erkennt, diagnostiziert und sofort gezielte Gegenmaßnahmen einleitet.

### Referenzen

- [1] Ptashne M. und Gann A.: Genes & Signals, Cold Spring Harbor Lab. Press, Plainview, N.Y., 2002
- [2] Gerland U. *et al.*; PNAS 99 12015–12020 (2002)
- [3] Davidson E.H.: Genomic Regulatory Systems, Academic Press, 2001
- [4] Buchler N.E. *et al.*: PNAS 100, 5136–5141 (2003)
- [5] Setty Y. *et al.*: PNAS 100, 7702–7707 (2003)

### Dr. Ulrich Gerland

Leiter der Emmy-Noether-Nachwuchsforschergruppe „Statistical Biophysics“

Department für Physik und Center for Nanoscience  
LMU München  
Theresienstraße 37  
80333 München  
ulrich.gerland@physik.lmu.de  
www.theorie.physik.uni-muenchen.de/~gerland



FORSCHUNG + ENTWICKLUNG

Wo eigentlich nichts leben und wachsen dürfte, haben Forscher jetzt Hinweise auf eine komplexe Gemeinschaft verschiedenster Bakterienarten entdeckt. Ein Wissenschaftler-Team aus sechs europäischen Ländern hat DNA-Moleküle von Mikroorganismen in Wasserproben gefunden, die aus einem so genannten „Brine-Becken“ des Mittelmeers stammen. Brine-Becken sind Senken in 3.000 bis 4.000 Metern Tiefe, in denen hoher Druck und eine extreme Salzkonzentration herrschen, während Sauerstoff vollständig fehlt. Ihre Ergebnisse beschreiben die Forscher in *Science*. Jetzt wollen Forscher an der GBF versuchen, die neu entdeckten Bakterien, die ihre Existenz bislang nur durch Spuren ihrer DNA verraten, in Kultur zu züchten und näher zu untersuchen.

[www.gbf.de](http://www.gbf.de)

Wissenschaftlern des Max-Planck-Instituts für Biochemie ist es gelungen, *E. coli*-Bakterien unter Selektionsdruck dazu zu bringen, synthetische Aminosäuren ihrem genetischen Code hinzu zu fügen und neue Klassen von fluoreszierenden Proteinen zu erzeugen: Durch den Einbau einer Elektronen-spendenden Aminogruppe in das bekannte „Grün-fluoreszierende Protein“ entstand auf diese Weise ein „Gold-fluoreszierendes Protein“, ein lang erwartetes Werkzeug für dynamische biophysikalische Untersuchungen von Zellen und Geweben. Durch Hinzufügen neuer Aminosäuren zum genetischen Code lassen sich somit neuartige Proteine mit maßgeschneiderten physikalisch-chemischen Eigenschaften und Funktionen erzeugen, die in der Natur nicht vorkommen. (Angewandte Chemie, Online-Edition 1. Dezember 2004).  
[www.mpg.de](http://www.mpg.de)