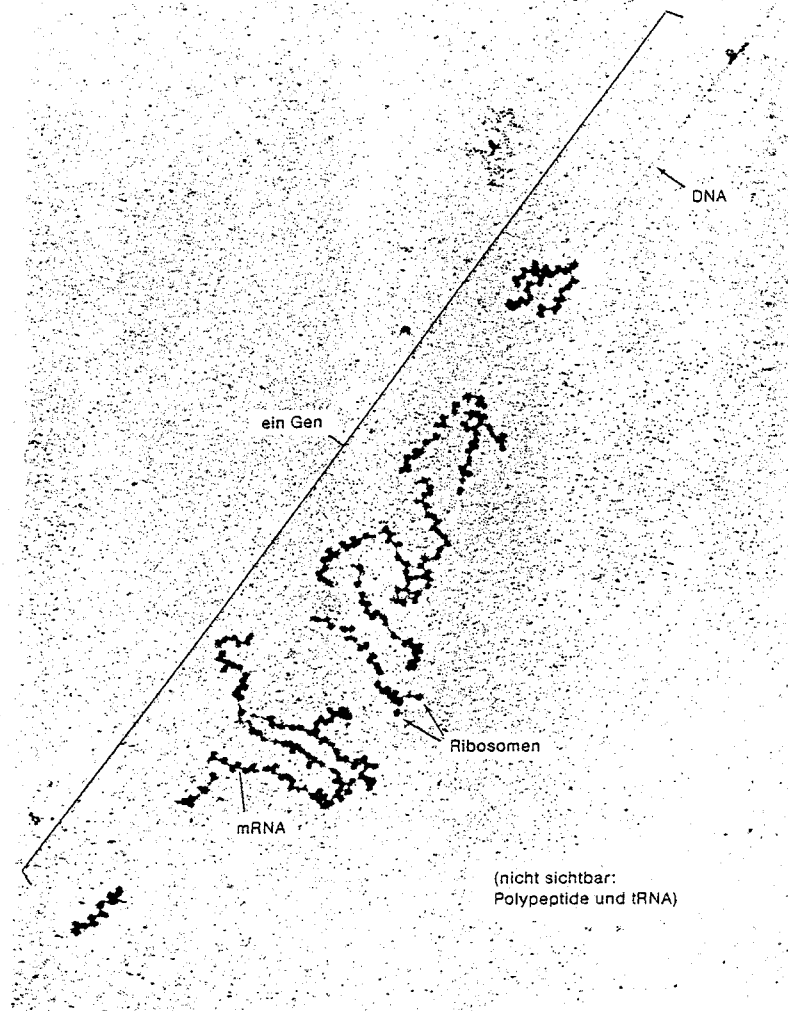


Vorlesung

Allgemeine Biologie für Informatiker und Mathematiker 1

Teilgebiet Genetik 2



Ursula Prierer

Institut für Biologie I, Ökologie des Bodens
RWTH Aachen, Worringer Weg, 52056 Aachen
Tel. 0241 80 6644; Fax 0241 8888 637
e-mail: prierer@bio1.rwth-aachen.de

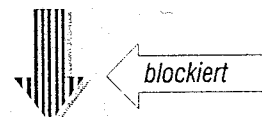

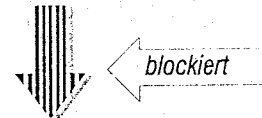



Vorlesung

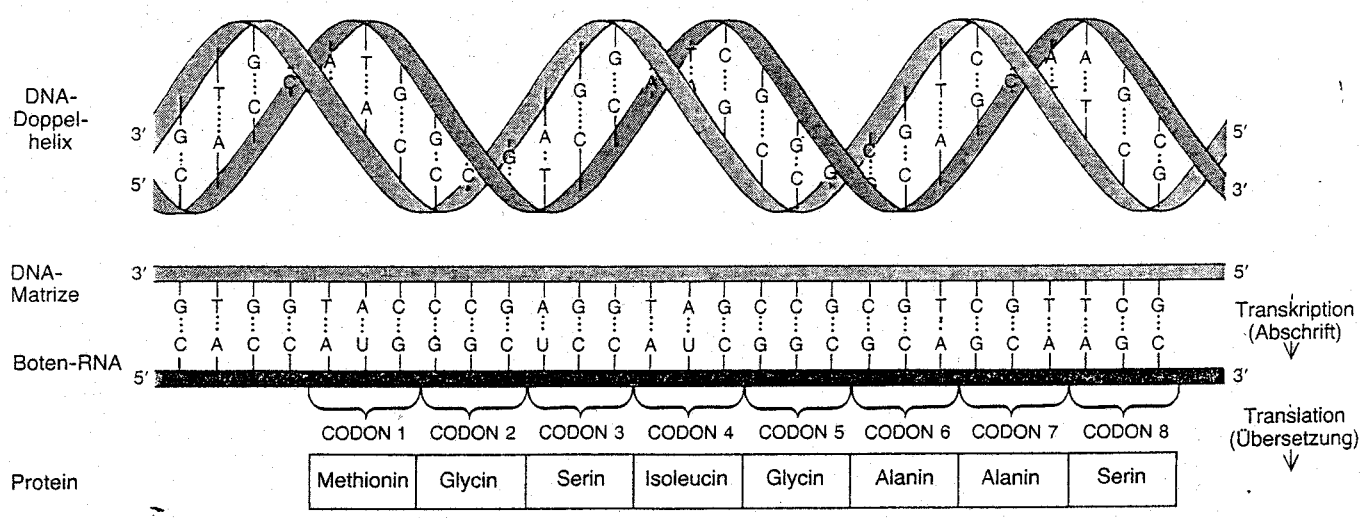
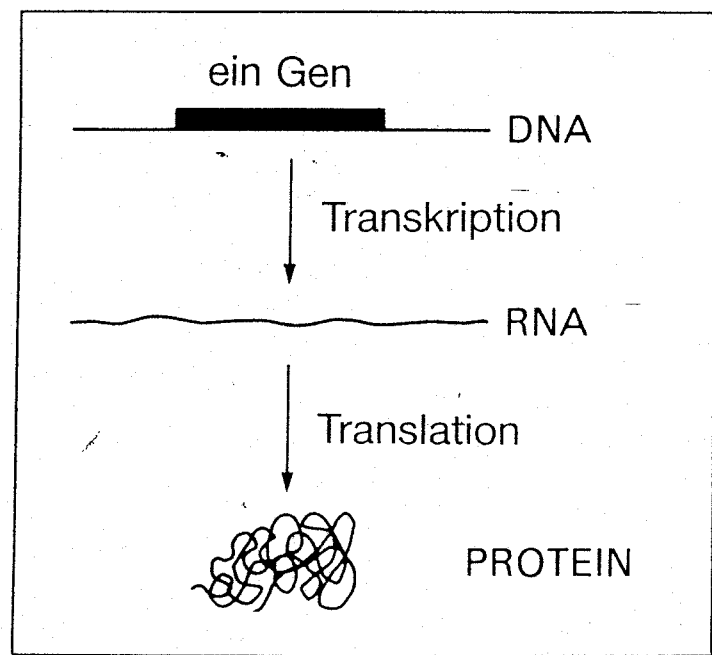
Allgemeine Biologie für Informatiker und Mathematiker 1

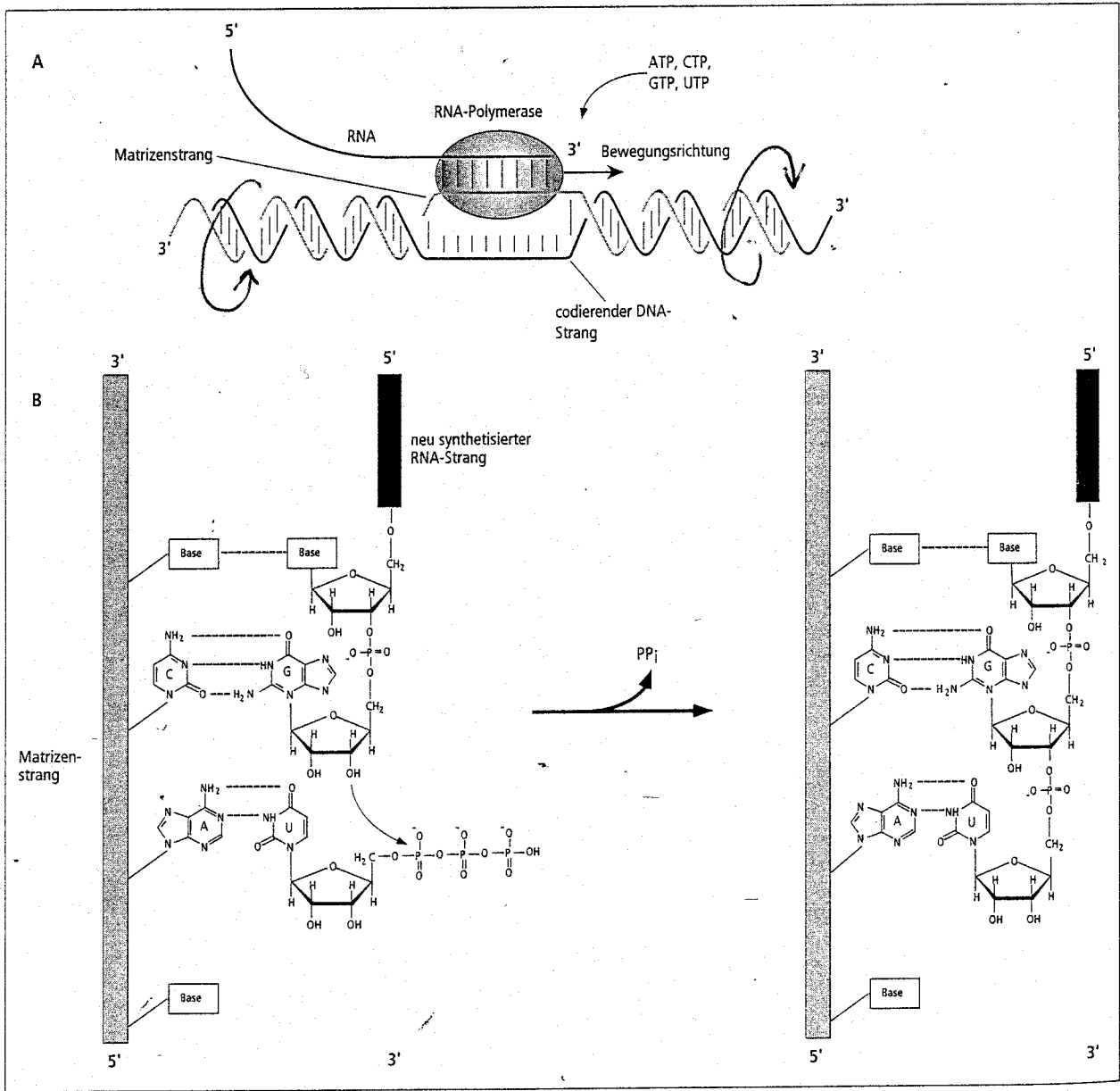
Teilgebiet Genetik 2

Inhalt

- **Grundlagen der Transkription und Translation**
 - **Genexpression in Prokaryoten**
- **Organisation und Expression des eukaryotischen Genoms**
- **Gentransfersysteme (Konjugation, Transduktion, Transformation, Transposons)**
 - **Gentechnologie**

 <p>Formylkynurenin</p>	<i>vermillion</i>	leuchtendrotes Auge	
 <p>Hydroxykynurenin</p>	<i>cinnabar</i>	hellrotes Auge	
 <p>braunes Pigment</p>		Wildtypauge (rote Farbe)	
Stoffwechsel- zwischenprodukt	Mutation	Phänotyp	

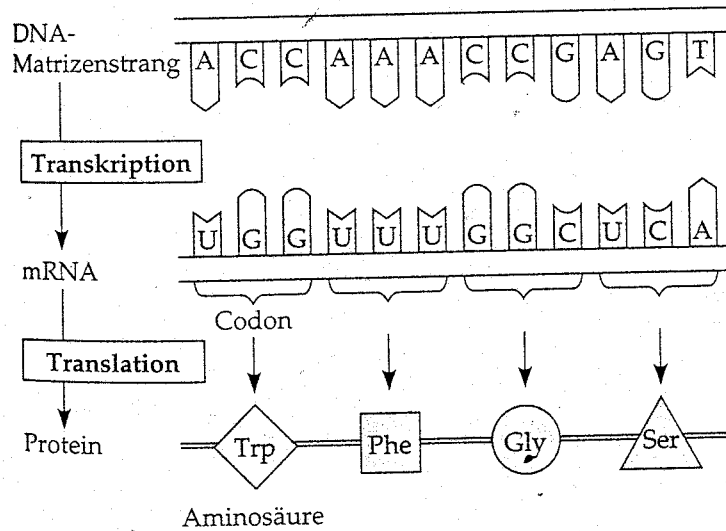


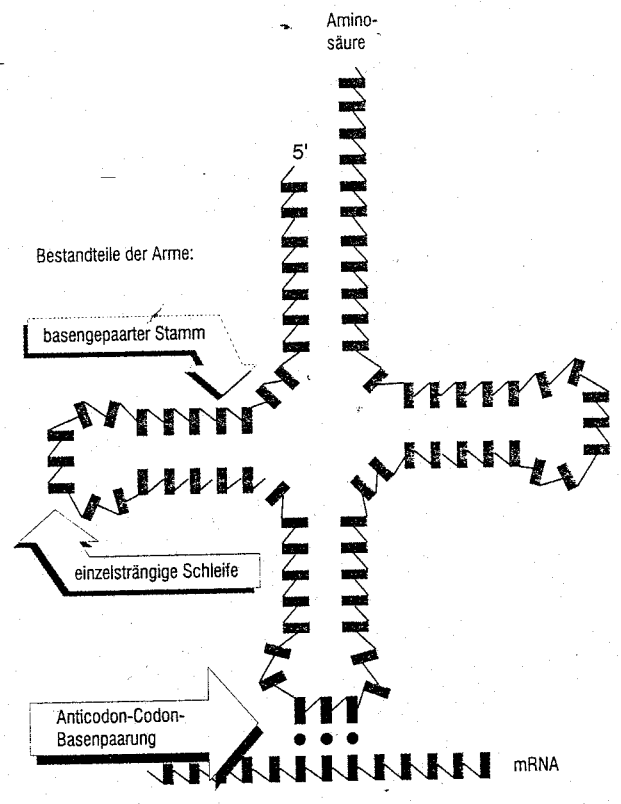
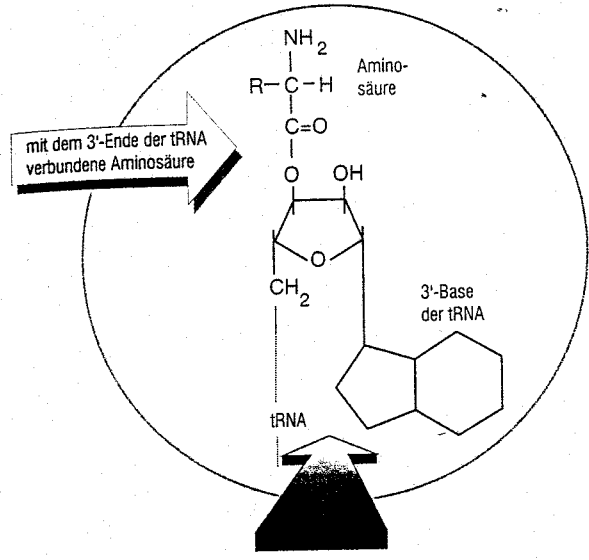


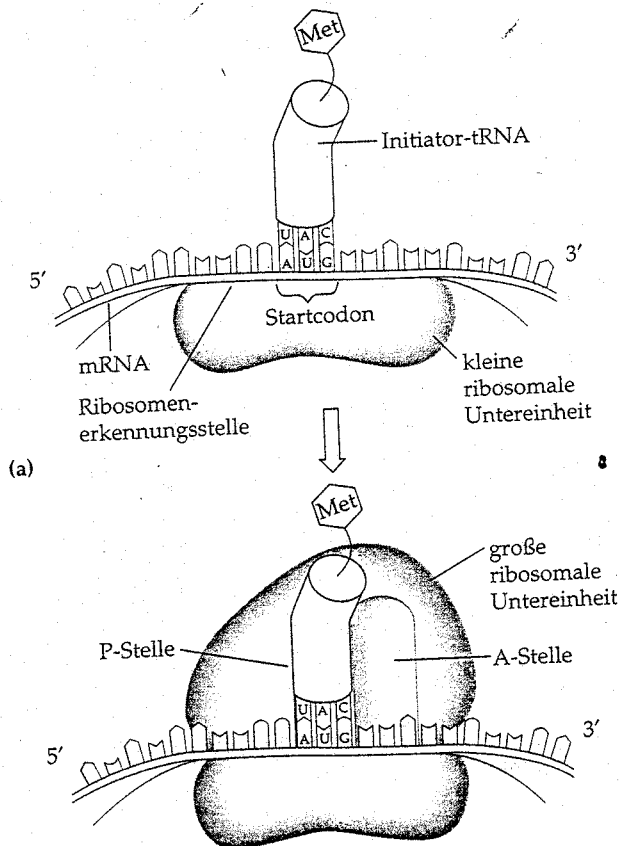
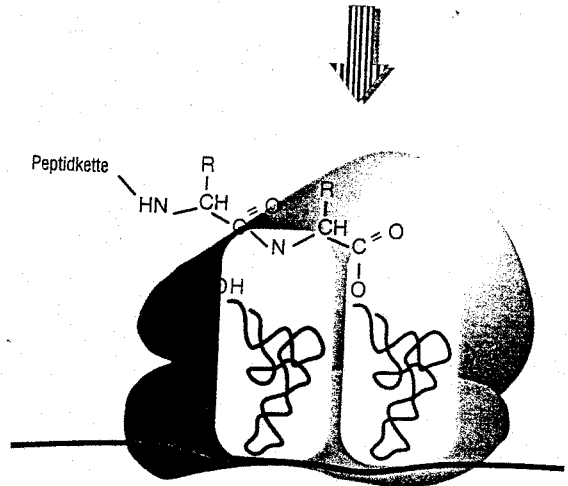
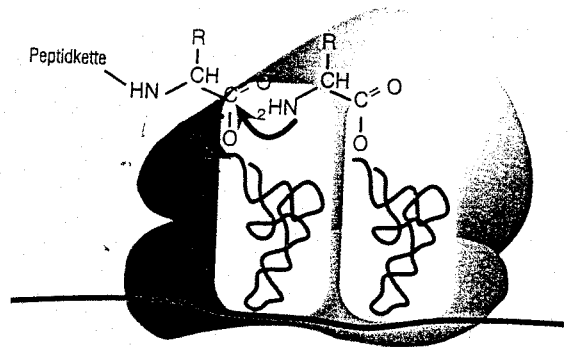
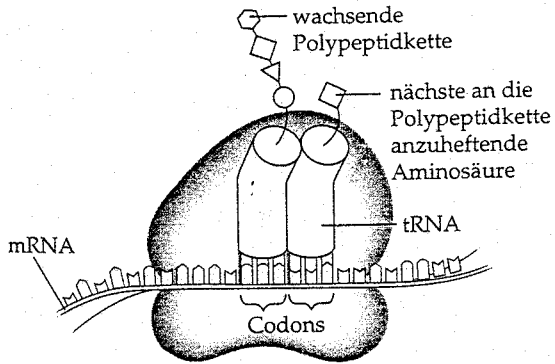
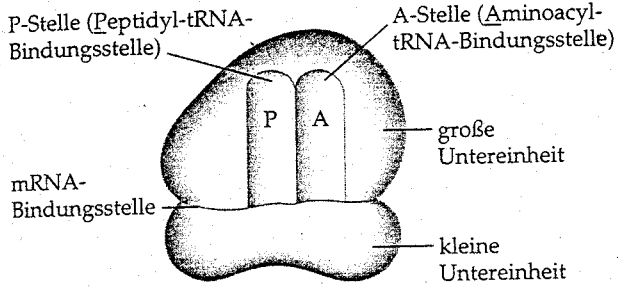
DNA	codierender Strang:	5'- G-C-G-G-C-G-A-C-G-C-G-C-A-G-T -3'
	Matrizenstrang:	3'- C-G-C-C-G-C-T-G-C-G-C-G-T-C-A -5'
mRNA:		5'- G-C-G-G-C-G-A-C-G-C-G-C-A-G-U -3'

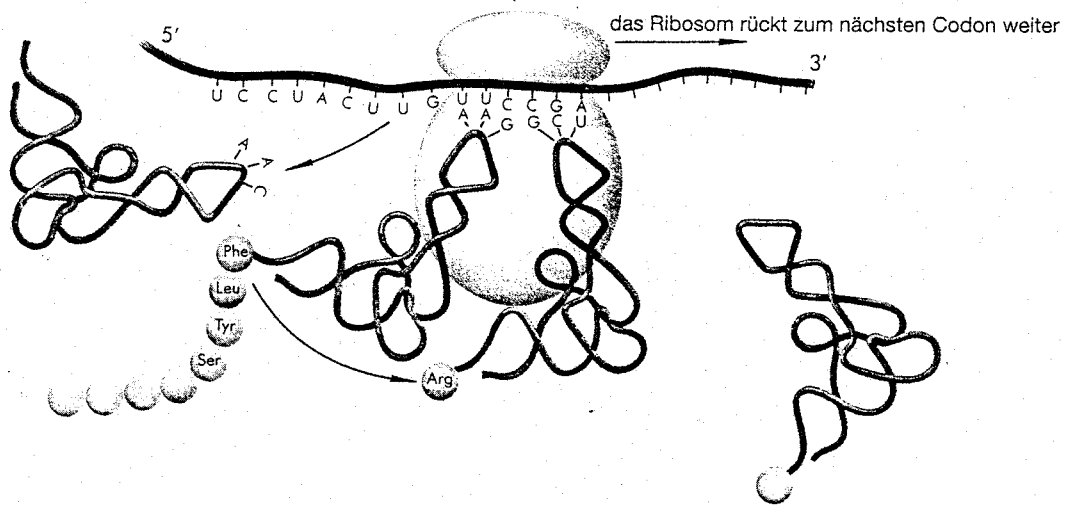
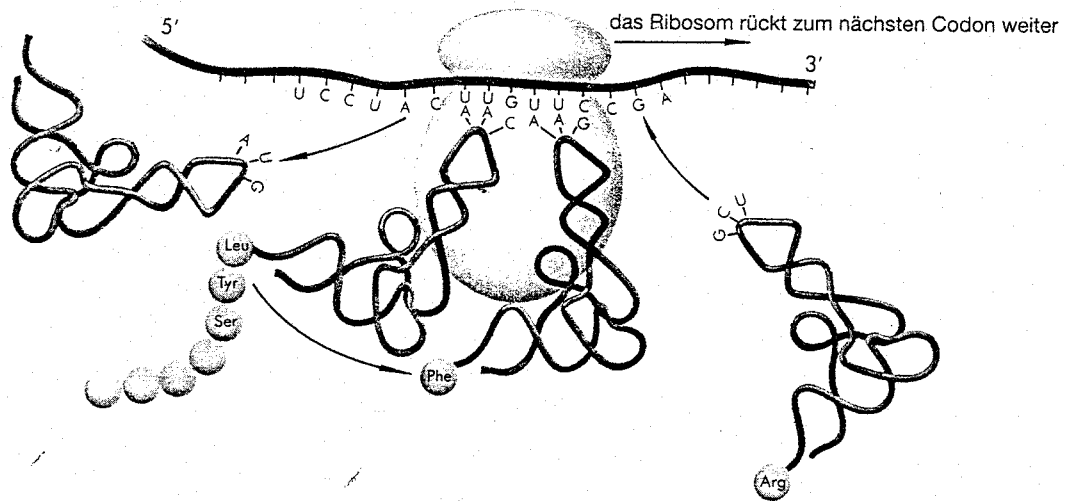
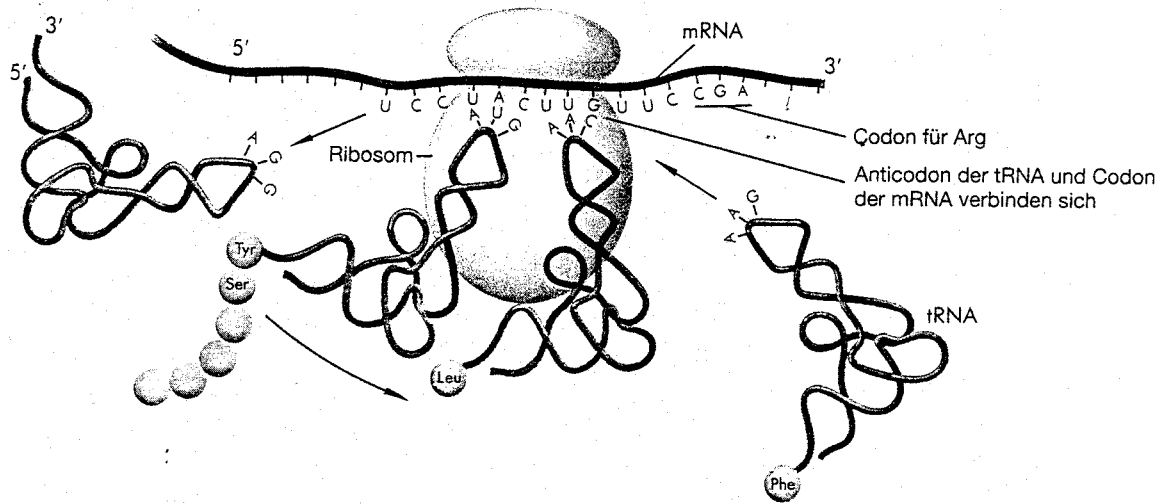
Der genetische Code

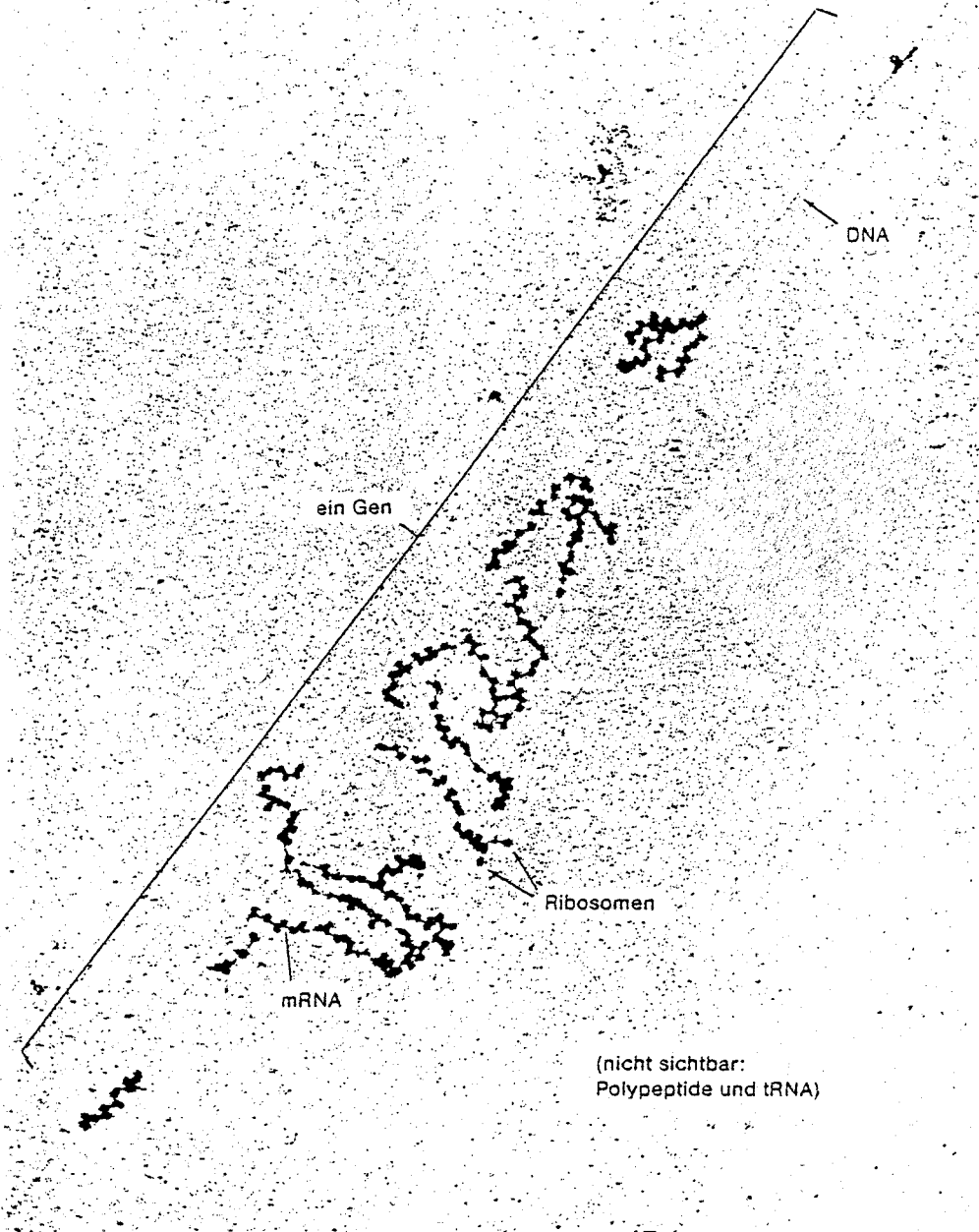
UUU } phe* UUC } UUA } leu UUG }	UCU } UCC } ser UCA } UCG }	UAU } tyr UAC } UAA } 'stop' UAG }	UGU } cys UGC } UGA } 'stop' UGG } trp
CUU } CUC } leu CUA } CUG }	CCU } CCC } pro CCA } CCG }	CAU } his CAC } CAA } gln CAG }	CGU } CGC } arg CGA } CGG }
AUU } AUC } ile AUA } AUG } met	ACU } ACC } thr ACA } ACG }	AAU } asn AAC } AAA } lys AAG }	AGU } ser AGC } AGA } arg AGG }
GUU } GUC } val GUA } GUG }	GCU } GCC } ala GCA } GCG }	GAU } asp GAC } GAA } glu GAG }	GGU } GGC } gly GGA } GGG }







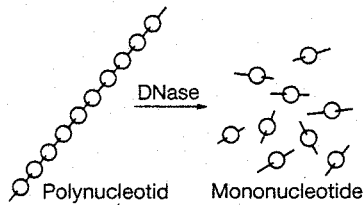




DNase-Schutzexperimente

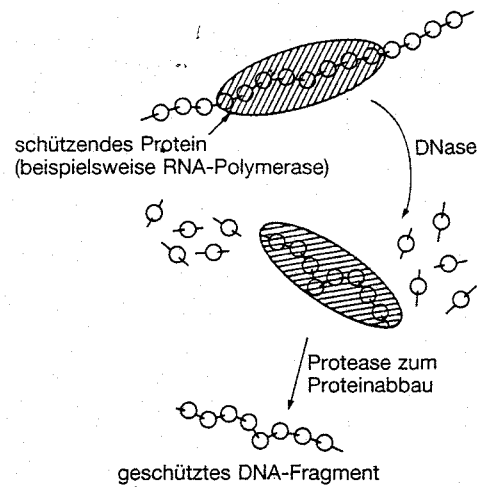
Man hat eine Reihe von Methoden eingesetzt, um die Wechselwirkung zwischen RNA-Polymerase und Promotorsequenzen zu erforschen. Die bedeutendste dieser Techniken nennt man Deoxyribonuclease (DNase)-Schutzverfahren.

DNase ist ein Enzym, das DNA abbaut, indem es Phosphodiesterbindungen spaltet. Die Auswirkung von DNase-Aktivität auf reine DNA besteht also darin, daß die Doppelhelix zu einzelnen Nucleotiden abgebaut wird.



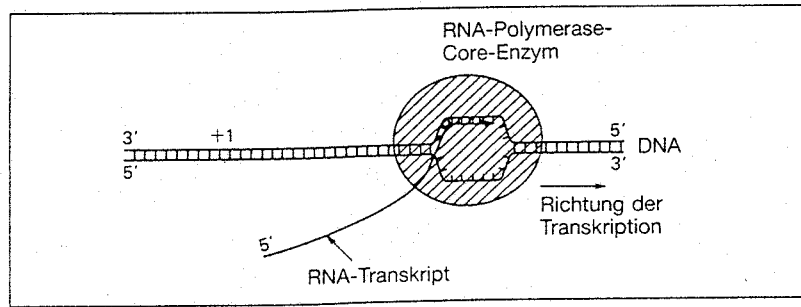
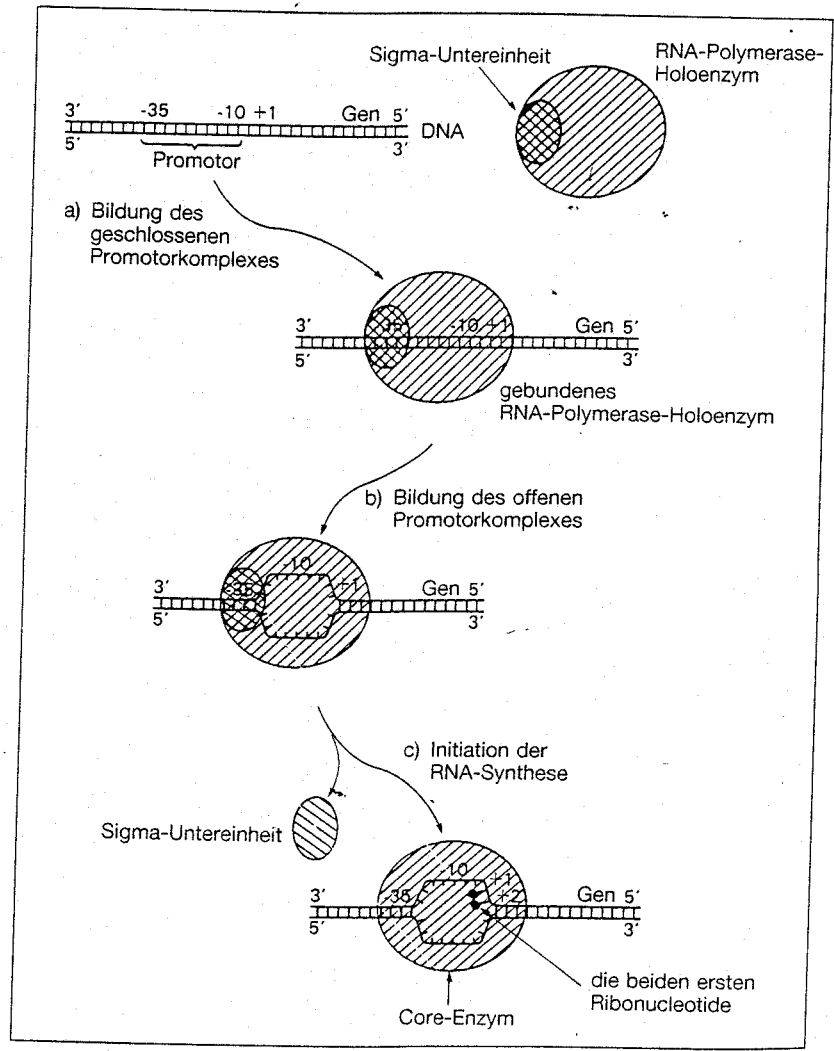
Wenn jedoch ein gereinigtes DNA-Fragment einen Promotor enthält, an den ein RNA-Polymerase-Protein gebunden ist, so sind nicht alle Phosphodiesterbindungen für den Angriff der DNase zugänglich: Einige werden durch das gebundene Enzym „geschützt“. Durch die DNase-Behandlung erhält man demnach einige wenige Mononucleotide und ein ungespaltenes DNA-Fragment. Die Größe dieses DNA-Abschnitts

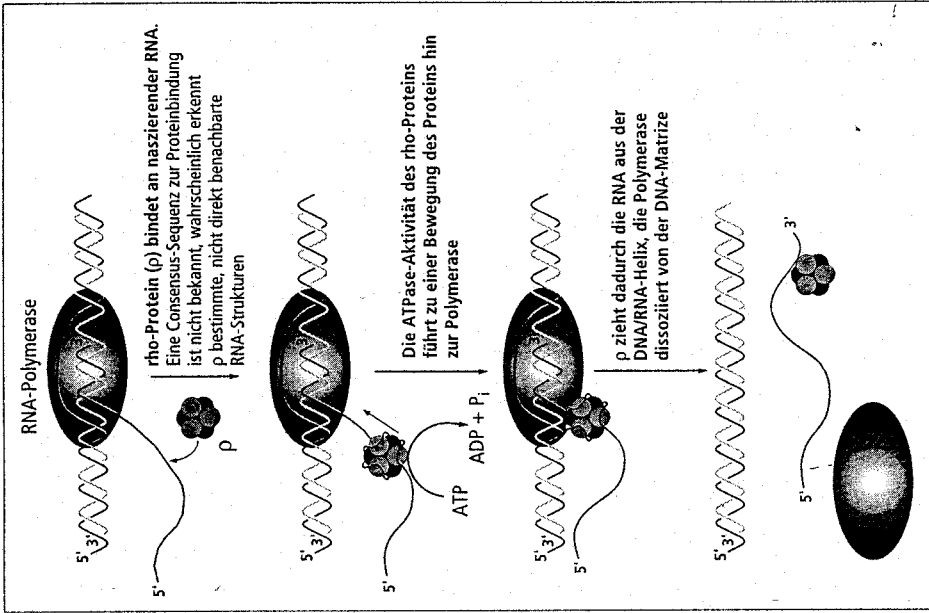
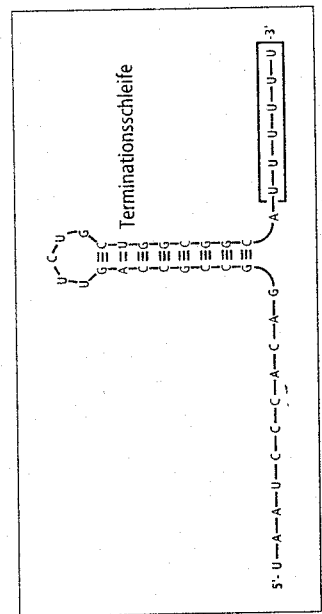
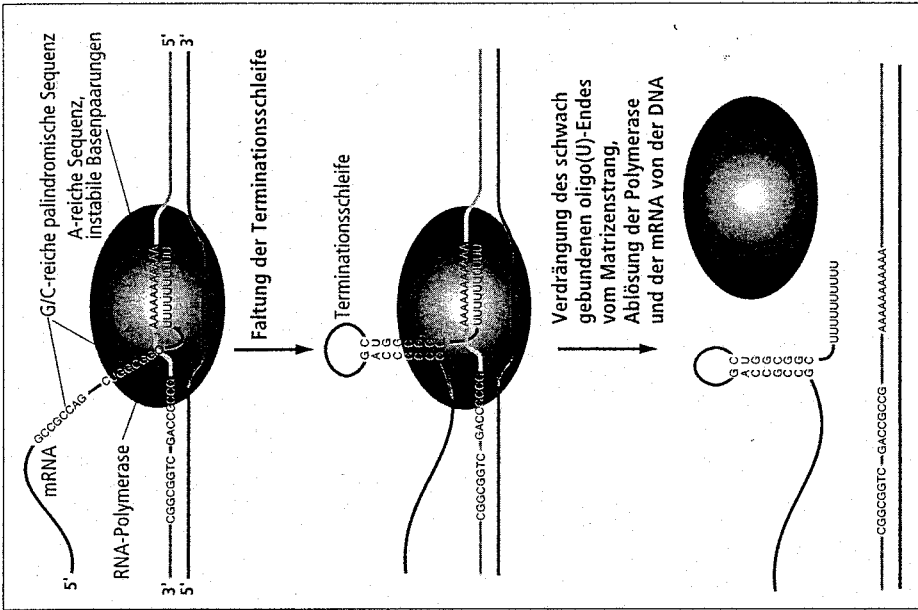
gibt Auskunft über das Ausmaß der Interaktion zwischen RNA-Polymerase und DNA: Seine Nucleotidsequenz (die man durch DNA-Sequenzierung ermitteln kann) zeigt genau, welcher Teil des Moleküls durch das Enzym geschützt ist.

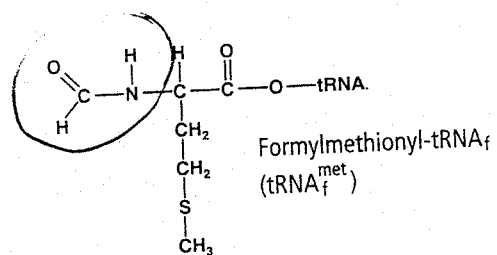
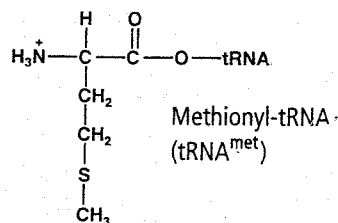
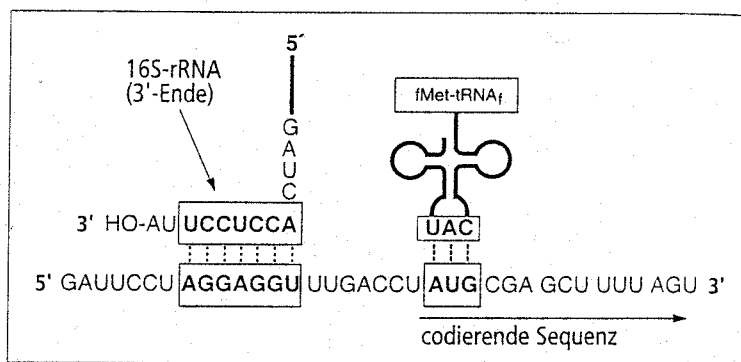
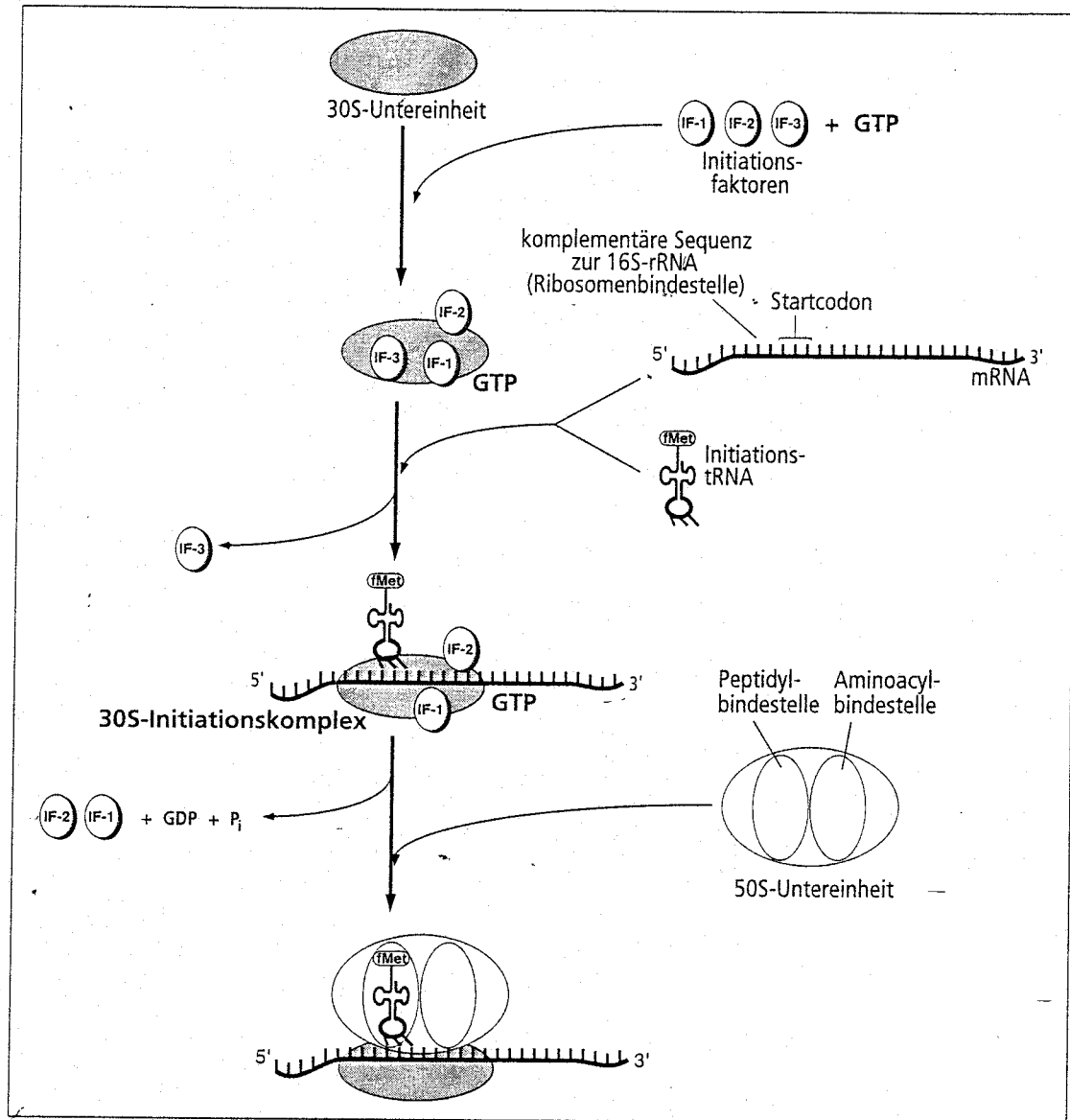


Die Ergebnisse dieser Experimente zeigen, daß die *E. coli*-Polymerase zwischen 41 und 44 bp der DNA einschließlich der -10- und der -35-Box sowie einen kleinen Abschnitt der umgebenden Sequenz abdeckt.

	-35 Region	16-17 Nucleotide	-10 Region (Pribnow-Box)	6-7 Nucleotide	Transkriptionsstart
(<i>lac</i> Operon)	TTTACA	~~~~~	TATGTT	~~~~~	↓
(<i>trp</i> Operon)	TTGACA	~~~~~	TTA ACT	~~~~~	
(<i>tyr</i> tRNA)	TTTACA	~~~~~	TATGAT	~~~~~	
(<i>lexA</i>)	TTGACA	~~~~~	TACGAT	~~~~~	
(<i>recA</i>)	TTGATA	~~~~~	TATAAT	~~~~~	
Consensus-Sequenz:					
~~~~~TTGACA~~~~~TATAAT~~~~~					







EF-Ts

GTP

GTP · EF-Tu

EF-Tu · EF-Ts

Regeneration

GDP

EF-Ts

Aminoacyl-tRNA  
(AA-tRNA)

AA-tRNA · GTP  
· EF-Tu  
(ternärer Komplex)

GDP · EF-Tu

P_i

naszierendes Polypeptid

P-Stelle mit  
Peptidyl-tRNA

A-Stelle

50S-Untereinheit

30S-Untereinheit

1. Bindung des ternären Komplexes  
am Ribosom, anschließend  
dissoziiert der GDP · EF-Tu-  
Komplex ab

5' mRNA 3'

5' mRNA 3'

2. Bildung der Peptidbindung  
und Transfer der Kette  
(bzw. Aminosäure) von der  
Peptidyl-tRNA zur Amino-  
acyl-tRNA

4. Start eines neuen Zyklus

3. Translokation der Peptidyl-  
tRNA von der A-Stelle zur  
P-Stelle, das Ribosom bewegt  
sich um ein Codon nach rechts

5' mRNA 3'

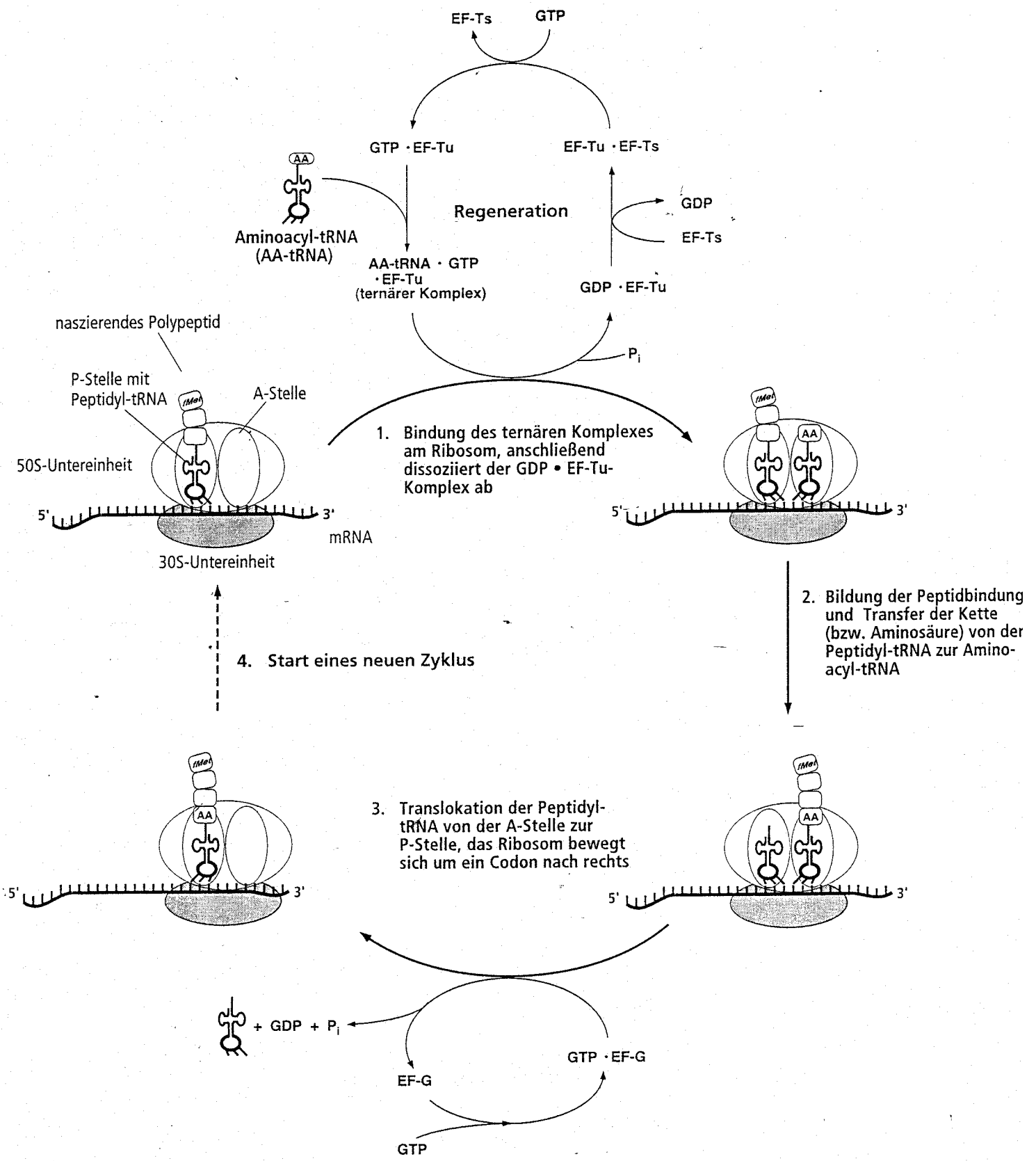
5' mRNA 3'

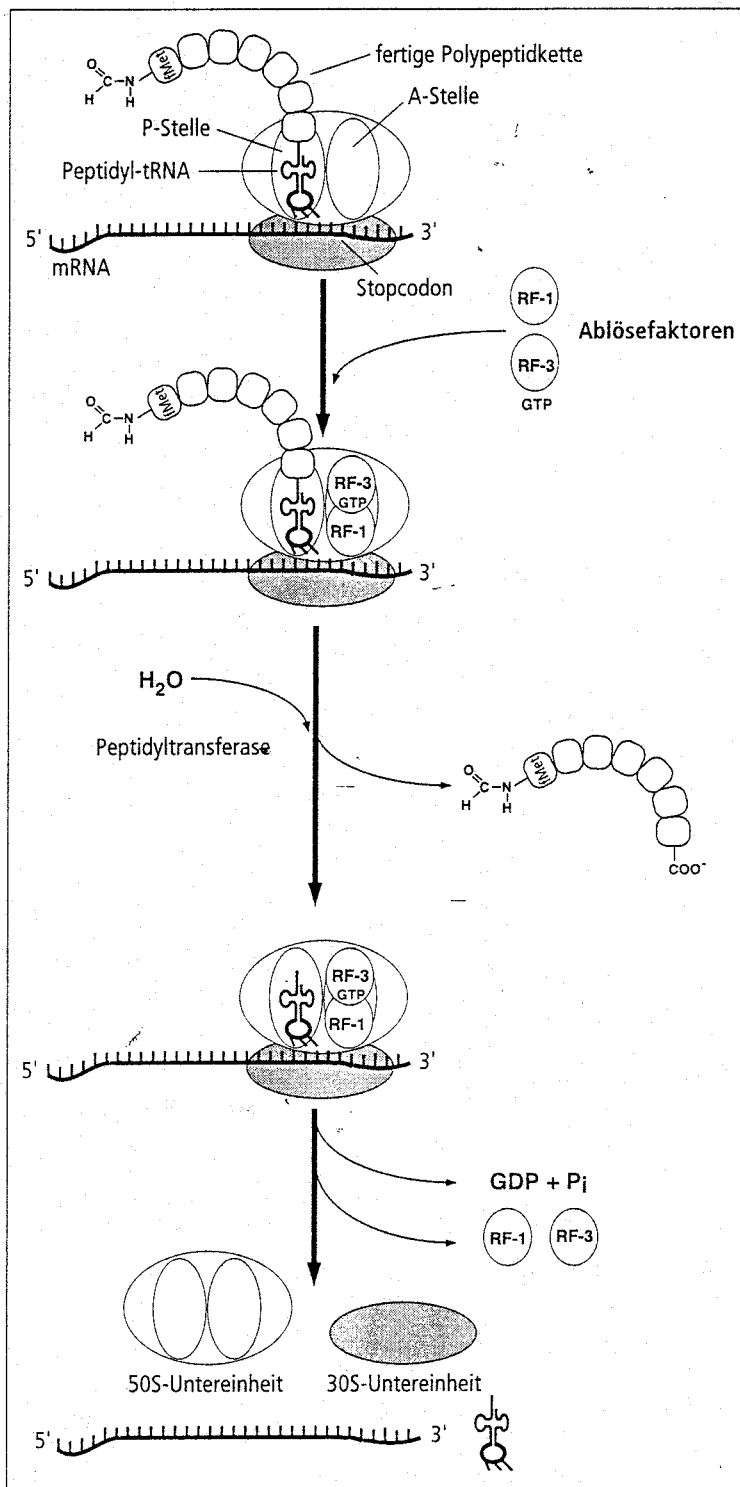
+ GDP + P_i

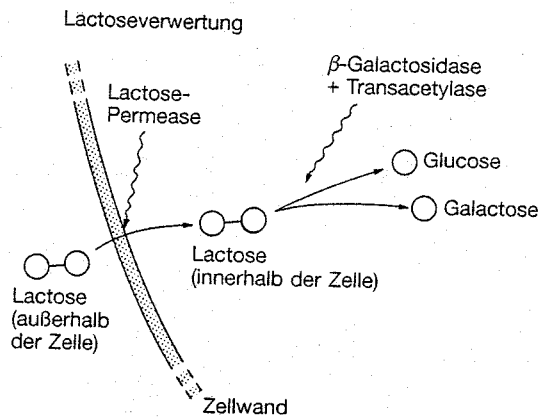
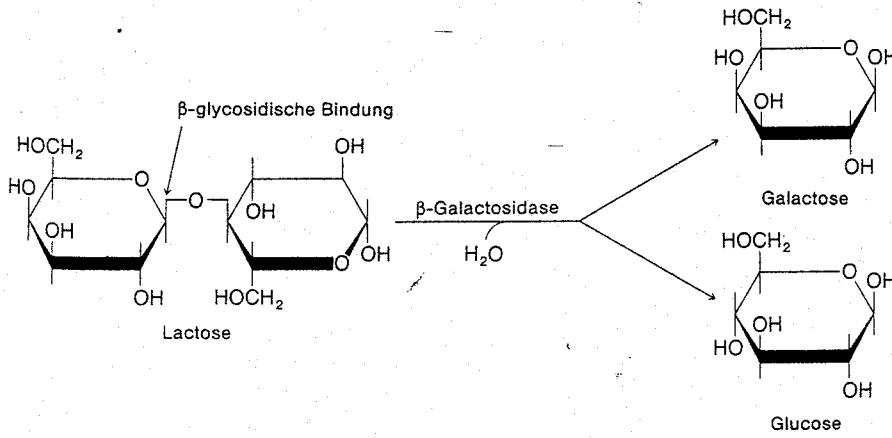
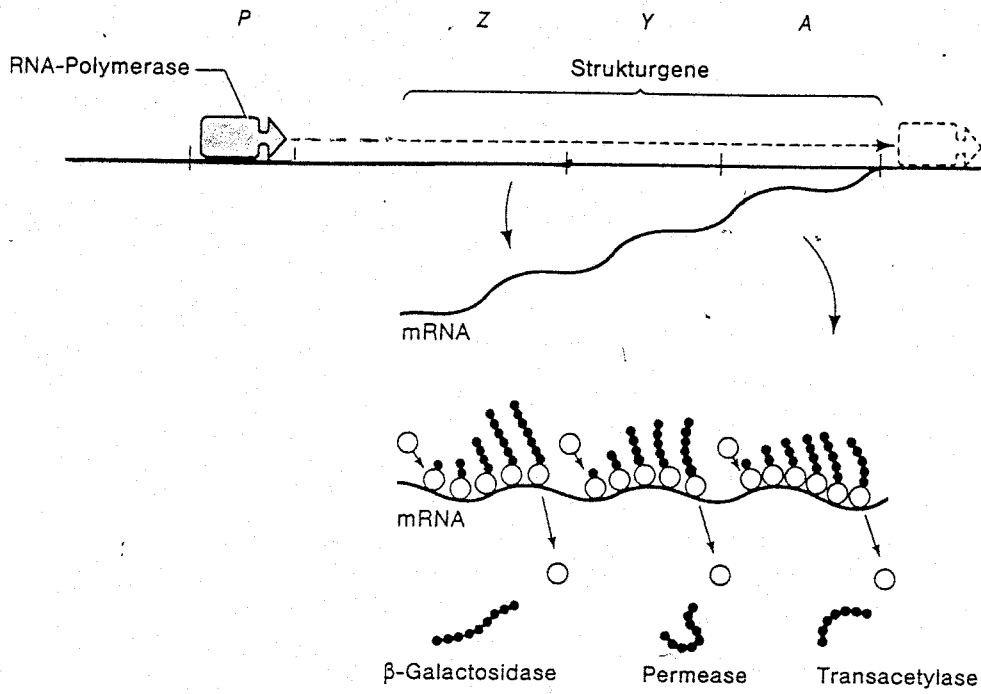
EF-G

GTP · EF-G

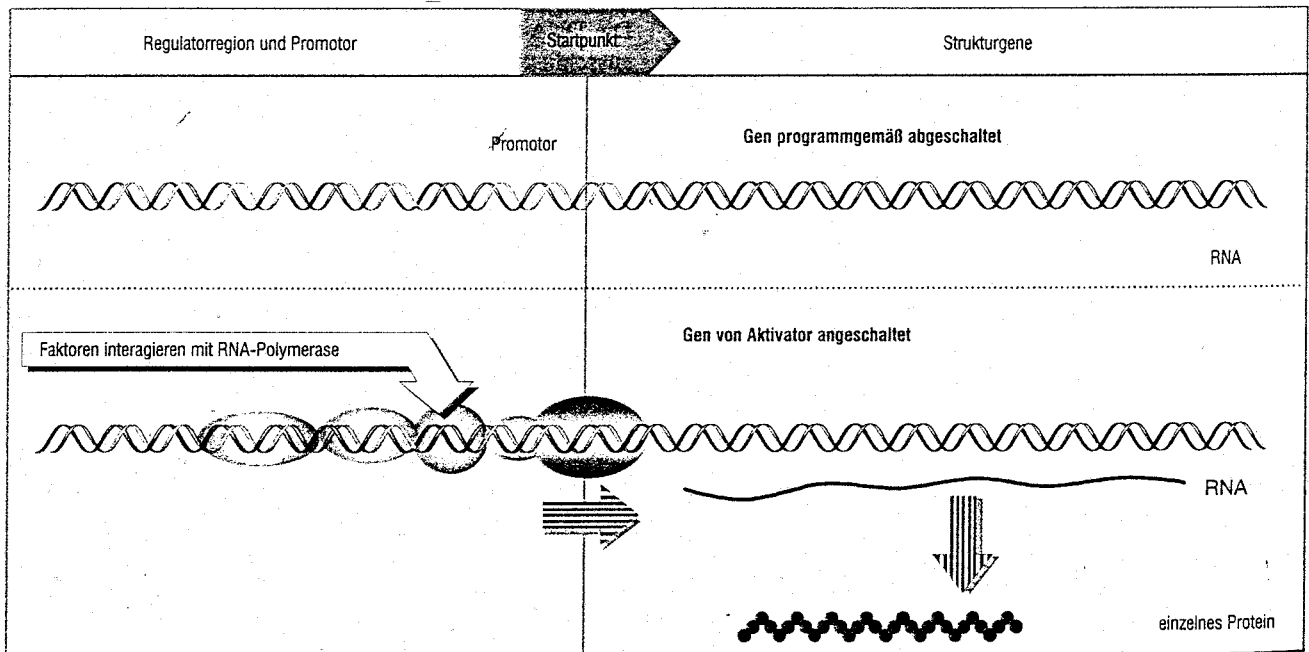
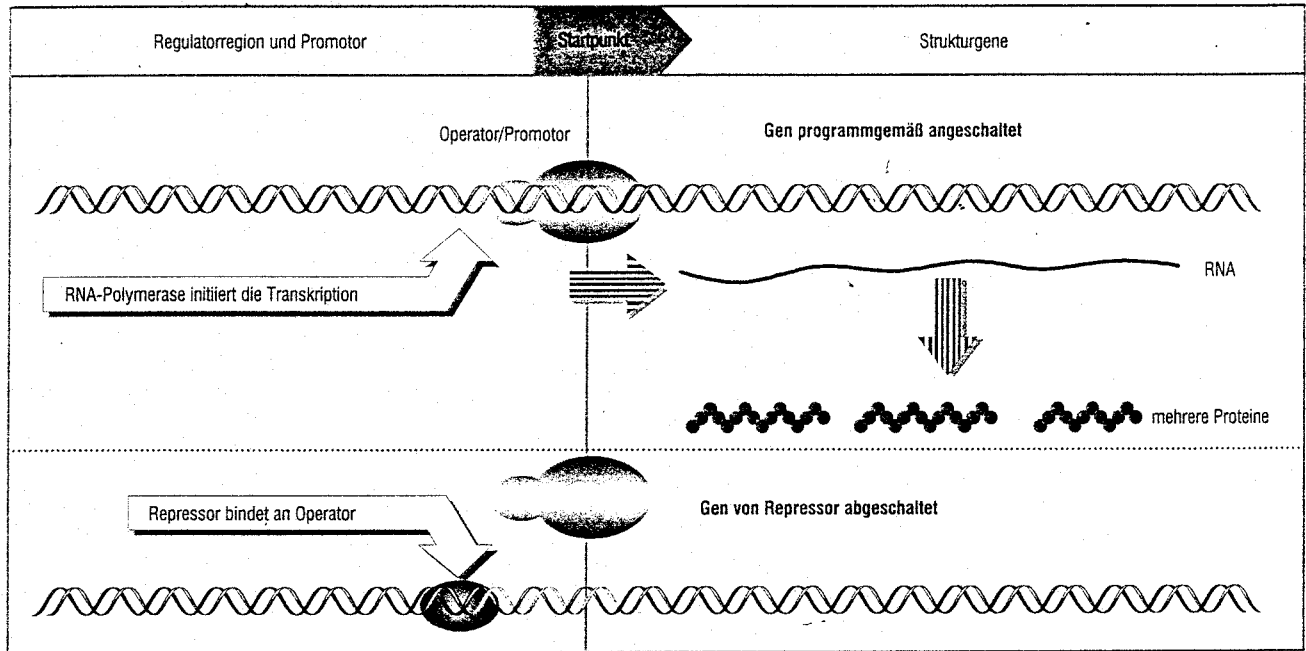
GTP

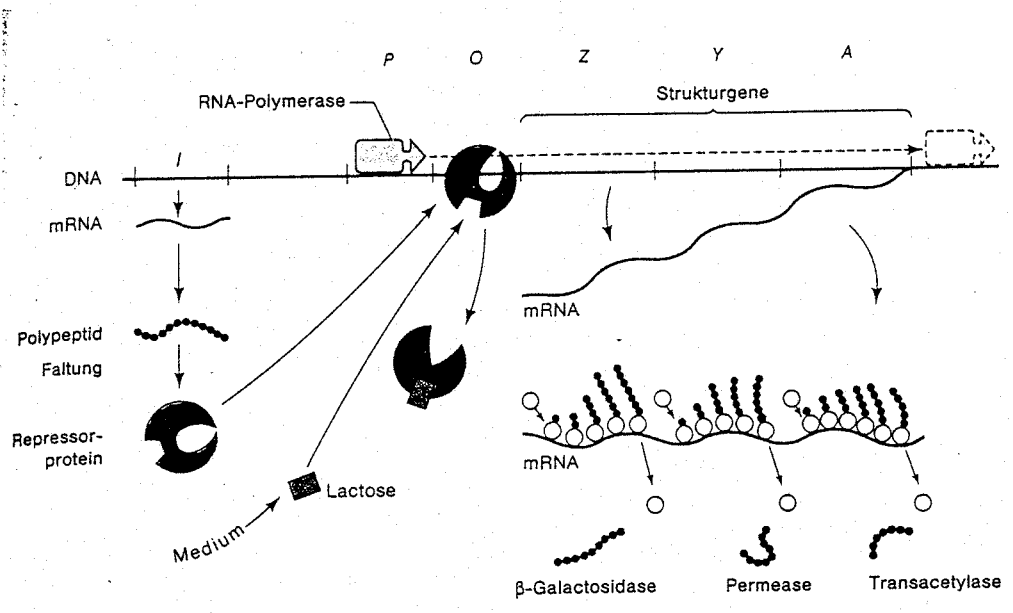
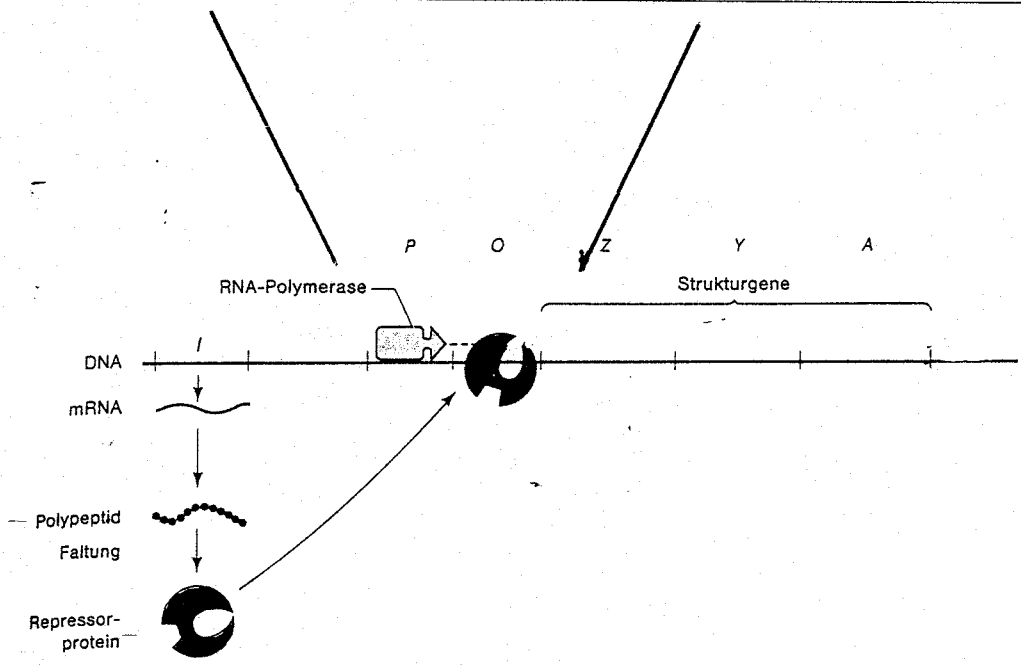
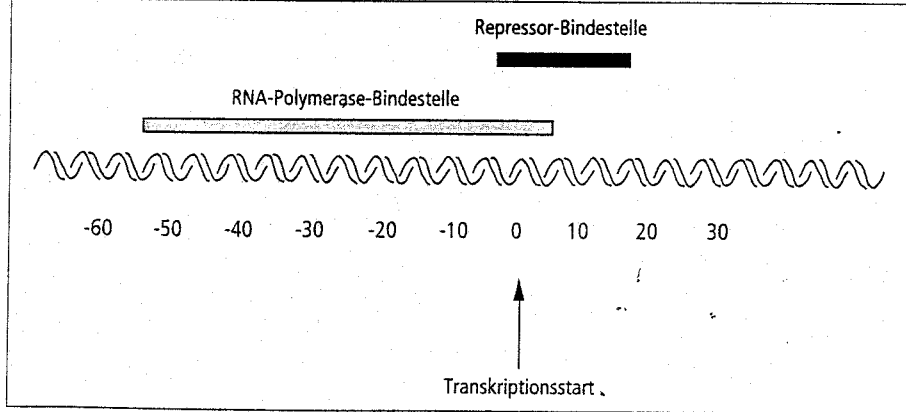










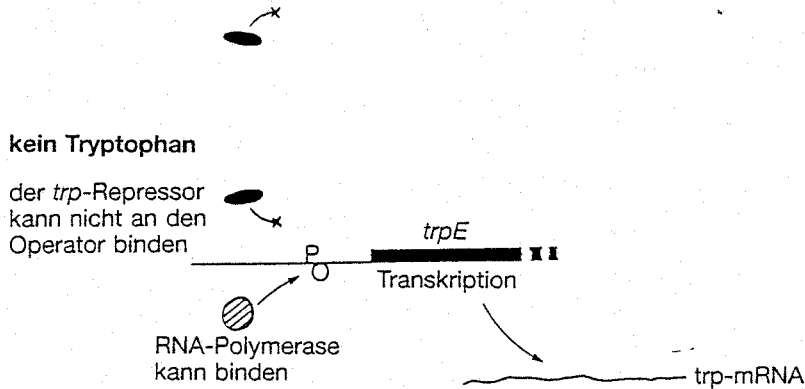


## Eigenschaften des Tryptophan-Operons

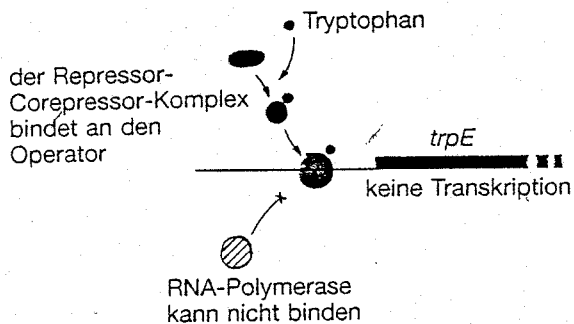
Ein zweites Operon zeigt ein Beispiel für andere Strategien der Genregulation bei *E. coli*. Das *trp*-Operon besteht aus fünf Genen,

die an der Synthese der Aminosäure Tryptophan beteiligt sind. Die Expression des Operons wird durch den *trp*-Repressor kontrolliert, der an den *trp*-Operator bindet und damit die Transkription verhindert. In diesem Fall jedoch

kann der Repressor nicht von sich aus an den Operator binden. Die Repression des Operons erfolgt nur, wenn der *trp*-Repressor Tryptophan bindet:



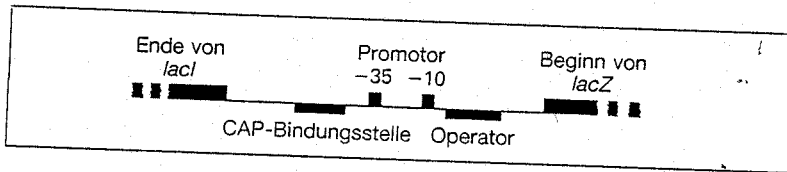
## Tryptophan vorhanden



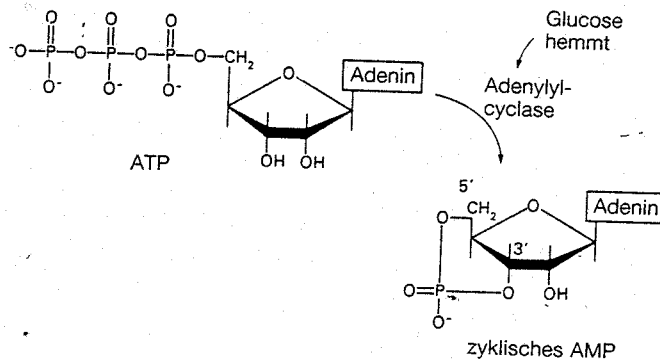
Das ist natürlich völlig logisch, denn Tryptophan ist das Produkt des biochemischen Weges, den das Operon kontrolliert. Wenn kein Tryptophan vorhanden ist, werden die Enzyme für seine Synthese benötigt, und das Operon muß transkribiert werden. In Ab-

wesenheit von Tryptophan bindet der Repressor also nicht an den Operator. Auf der anderen Seite müssen die Gene ausgeschaltet werden, wenn Tryptophan vorhanden ist; in diesem Fall bindet der Repressor-Tryptophan-Komplex an den Operator und verhindert

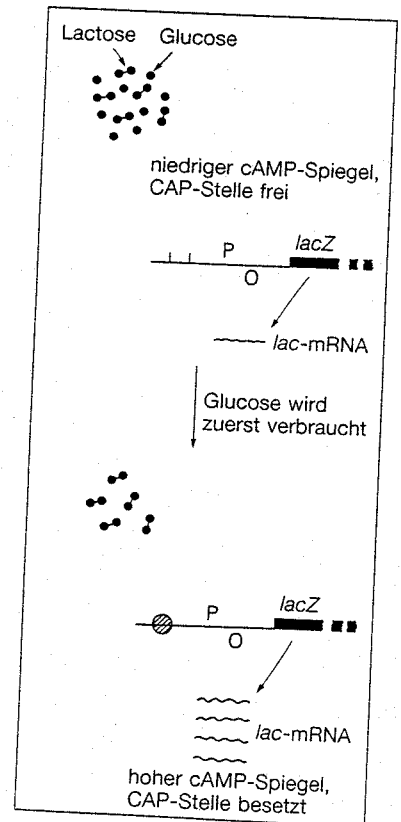
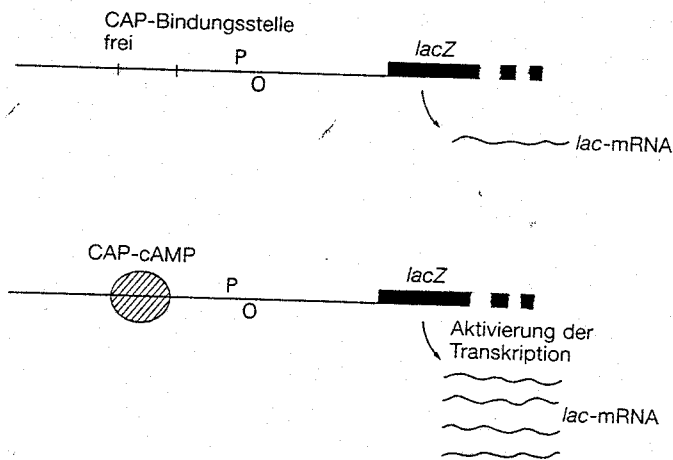
die Transkription. Tryptophan wirkt hier als sogenannter **Corepressor**. Operons dieses Typs bezeichnet man als reprimierbar, im Gegensatz zum *lac*-Operon und anderen induzierbaren Operons.



a) Glucose hemmt die cAMP-Synthese



b) CAP-cAMP stimuliert die Transkription



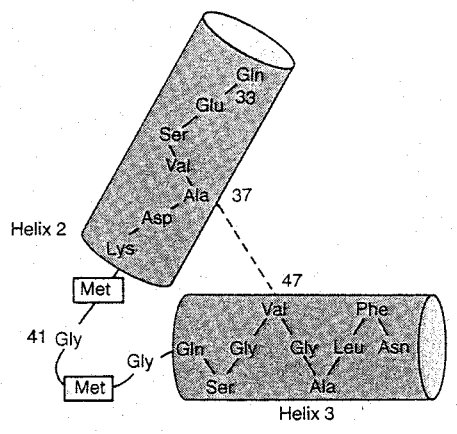
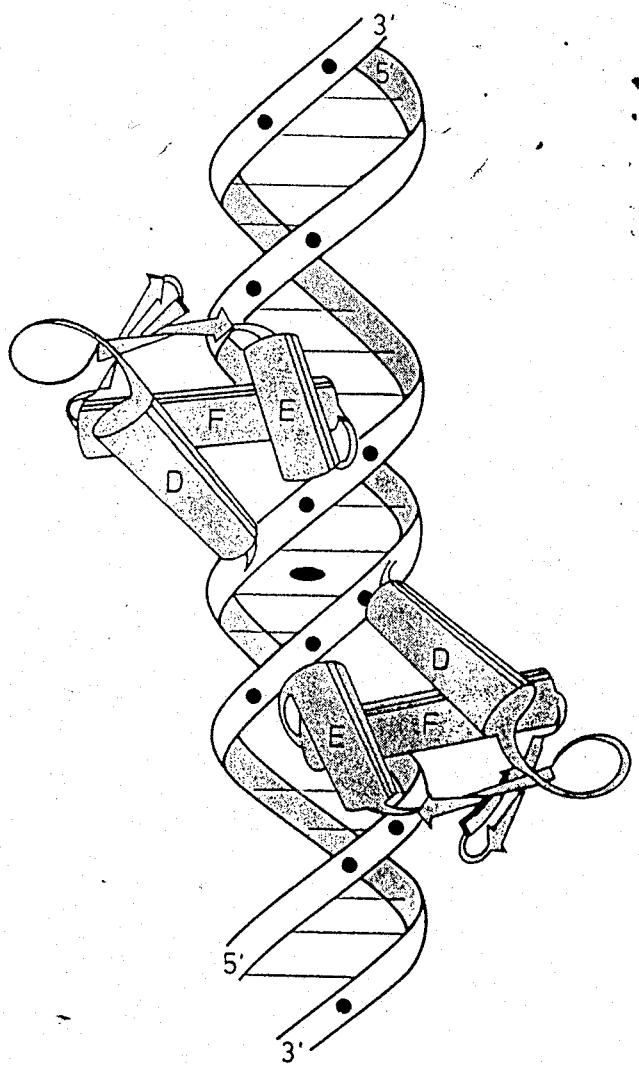
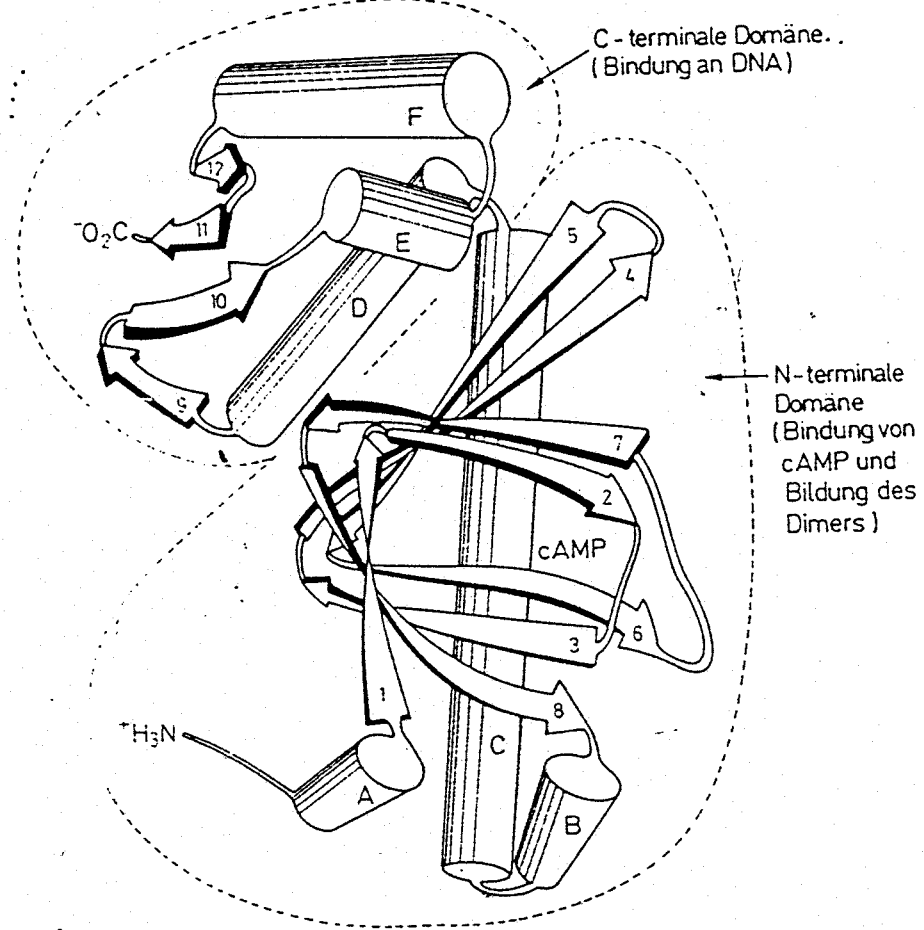
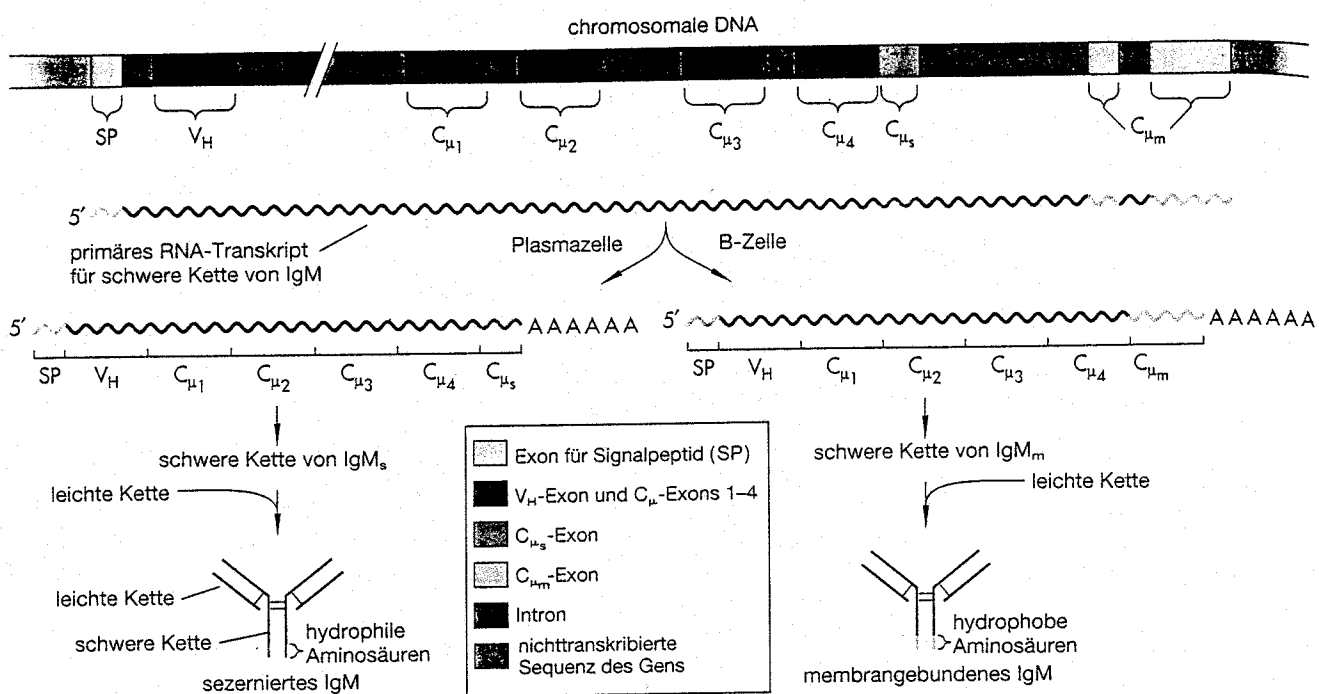


Tabelle 15.1: Größen prokaryotischer und eukaryotischer Genome

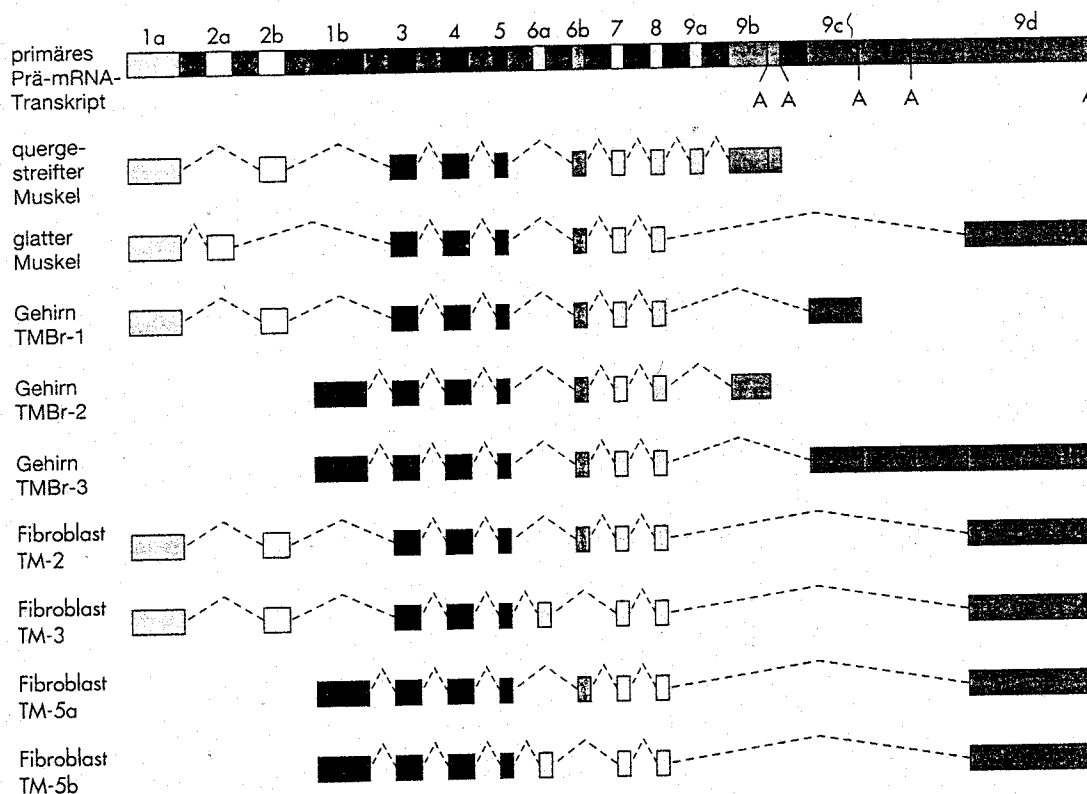
Organismus	Genomgröße (kb)	Chromosomenzahl	durchschnittliche DNA-Menge pro Chromosom (kb)
Prokaryoten			
<i>E. coli</i>	4000	1	4000
Eukaryoten			
<i>S. cerevisiae</i>	20000	16	1250
Taufliege	165000	4	41250
Mensch	3000000	23	130000
Mais	15000000	10	1500000
Salamander	90000000	12	7500000

Für Eukaryoten beziehen sich die Daten auf den haploiden Satz. Die Angaben für die Genomgrößen sind ungefähre Werte. Bemerkenswert ist, daß nicht jedes Chromosom in einem Organismus die gleiche Menge an DNA enthält; der DNA-Gehalt menschlicher Chromosomen reicht von 50000 kb (Chromosom 21) bis 250000 kb (Chromosom 1).



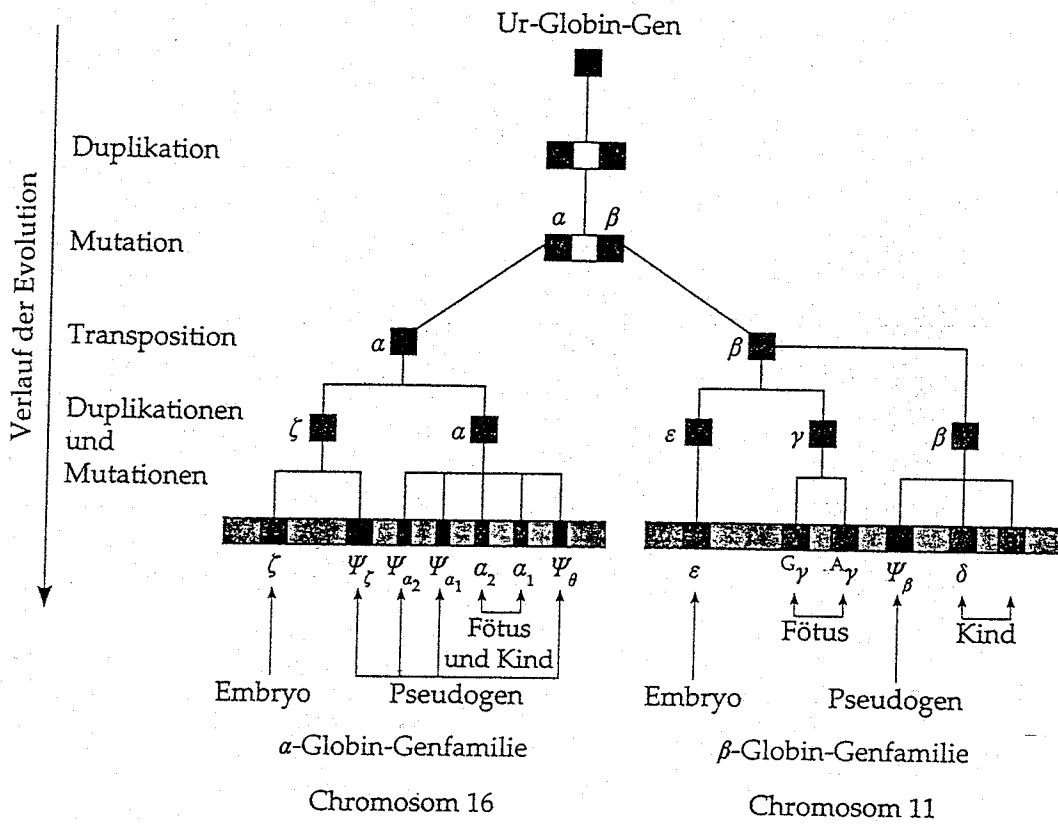
**8.7** Alternatives Spleißen erzeugt sezernierte und membrangebundene Formen des IgM aus einem einzigen Gen. Dargestellt ist das  $\mu$ -Gen, das die schwere Kette eines IgM-Moleküls codiert. Wie wir in Kapitel 16 noch sehen werden, setzen sich die schweren und leichten Ketten eines Antikörpers aus einer Reihe struktureller Domänen zusammen. Der Aufbau eines Immunglobulins spiegelt diese Domänenstruktur des Proteins wider. Bei dem hier gezeigten Gen einer schweren Kette sind zum Beispiel die codierenden Sequenzen für das Signalpeptid (SP) in dem ersten Exon enthalten. Es handelt sich dabei um Aminosäuren am Aminoende, welche die Antikörpersekretion bewirken. Die Sequenzen für die variablen

(V_H) und die konstanten (C_μ) Domänen liegen ebenfalls in eigenen Exons. In B- und Plasmazellen wird dieselbe Prä-mRNA produziert. Jeder Zelltyp verarbeitet das primäre Transkript jedoch auf andere Art. Bei einer Plasmazelle (die Immunglobuline ins Blut sezerniert) wird die reife mRNA so gespleißt, daß sie das C_{μ5}-Exon enthält, das hydrophile Aminosäuren codiert. Bei einer B-Zelle (die Immunglobuline auf ihrer Oberfläche trägt) wird die Prä-mRNA dagegen so gespleißt, daß ihre reife Form zwei C_{μm}-Exons enthält, die hydrophobe Aminosäuren codieren. Auf diese Weise kann das Immunglobulin in der Lipiddoppelschicht der Plasmamembran verankert werden.

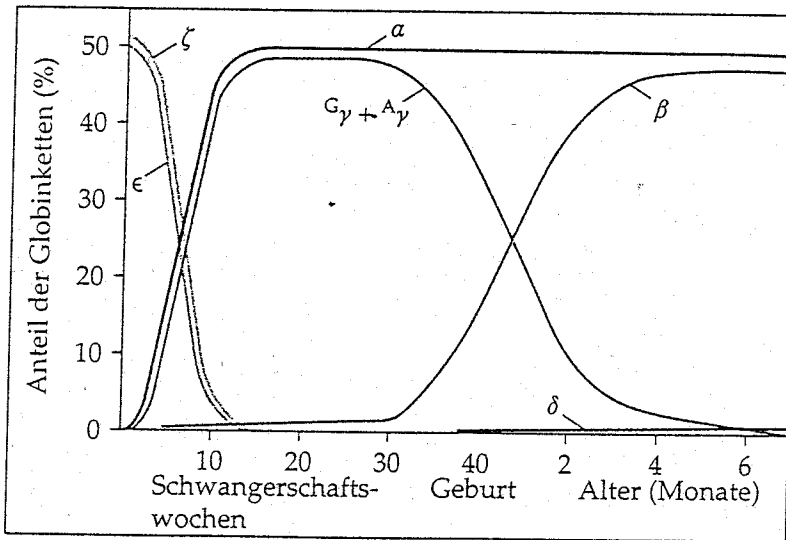


**8.8** Komplizierte Spleißmuster bei eukaryotischer mRNA. Das Prä-mRNA-Transkript des  $\alpha$ -Tropomyosins wird in verschiedenen Zellen unterschiedlich gespleißt. Die roten Blöcke stellen Introns dar, die anderen Farben markieren Exons. Polyadenylierungssi-

gnale sind mit einem A gekennzeichnet. Die gestrichelten Linien in den reifen mRNAs symbolisieren Bereiche, die durch das alternative Spleißen entfernt wurden. TM = Tropomyosin. (Nach J. P. Lees et al., 1990.)



(a)



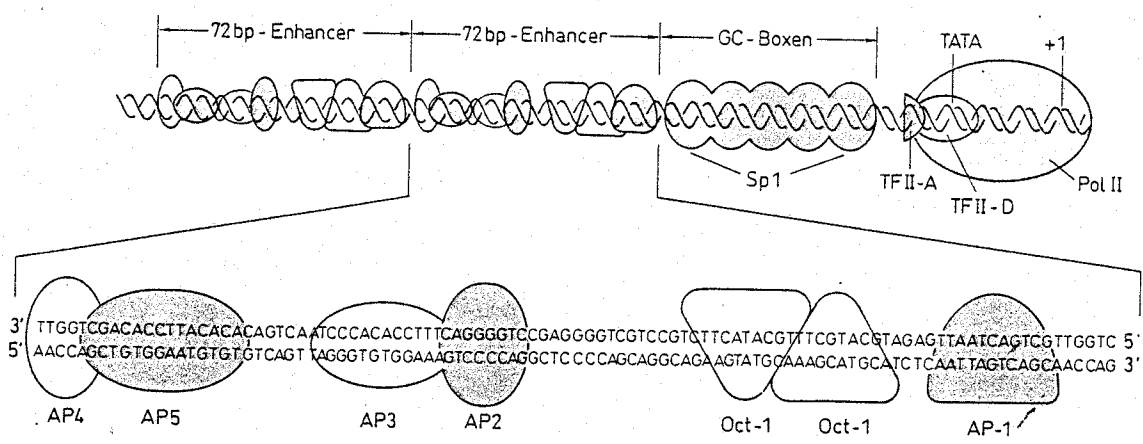
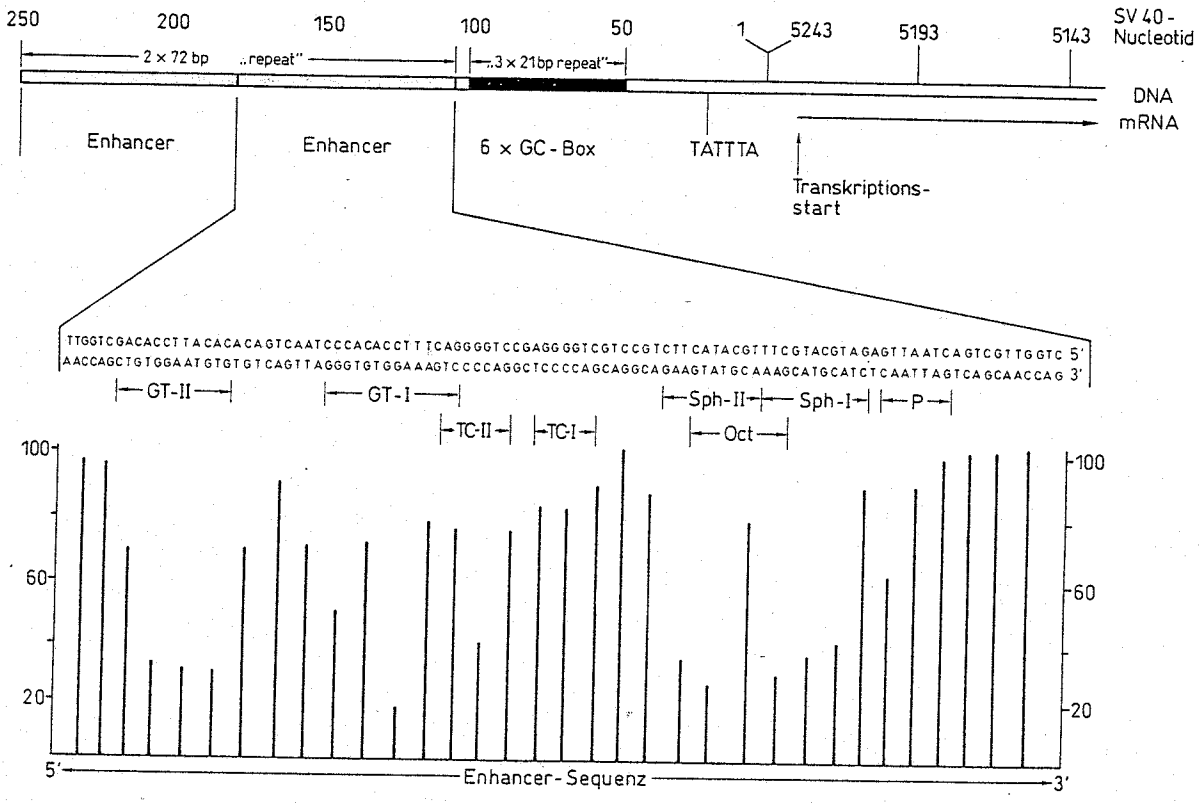
(b)



5'- TCCCACGAGG GGGCGGGCTG CGGCAAATCT CCCGCCAGTC AGCGGCCGGG  
 3'- AGGGTGCTCC CCCGCCCGAC GCCGTTTAGA GGGCGGTCAG TCGCCGCC

CAAT GC CAAT  
 5'- CGCTGAT TGG CCCCATGGCG GCG GGGCGGC TCGTG ATTGG CCAGCACGCC  
 3'- GCGAC TAACC GGGGTACCGC CGC CCC GCCG AGCAC TAACC GGTCATGCGG

-37 TATA +1  
 5'- GTGG TTTAAA GCGGTCGGCG CGCTGAACCA GGGGCTTACT GCGGGACGGC  
 3'- CACC AAATTT CGCCAGCCGC GCGACTTGGT CCCC GAATGA CGCCCTGCCG  
 5'-----ACU GCGGGACGGC  
 Anfang der mRNA



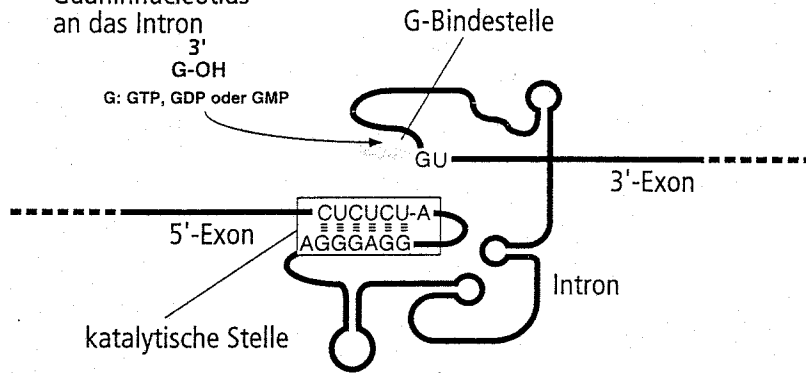
5'-Exon

Intron

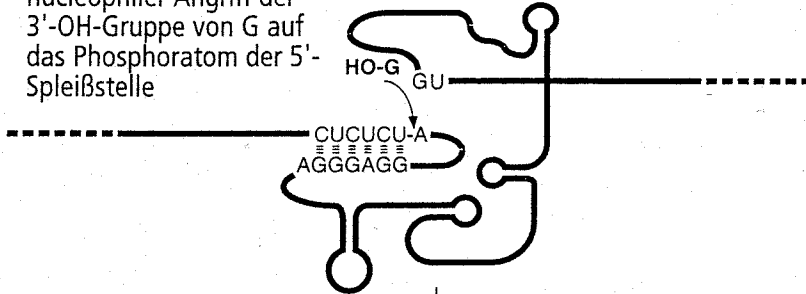
3'-Exon

## Spleißmechanismus:

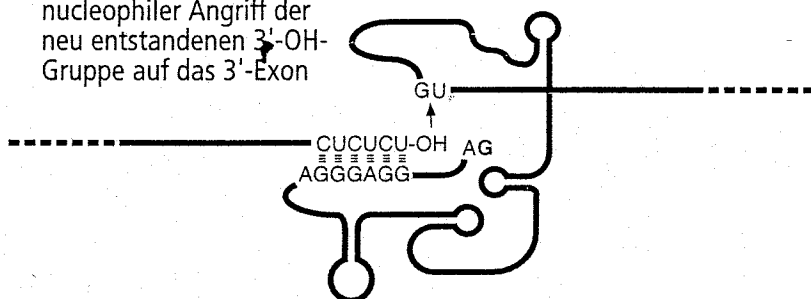
Bindung des  
Guaninnucleotids  
an das Intron



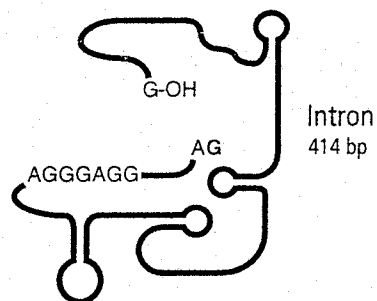
nucleophiler Angriff der  
3'-OH-Gruppe von G auf  
das Phosphoratom der 5'-  
Spleißstelle

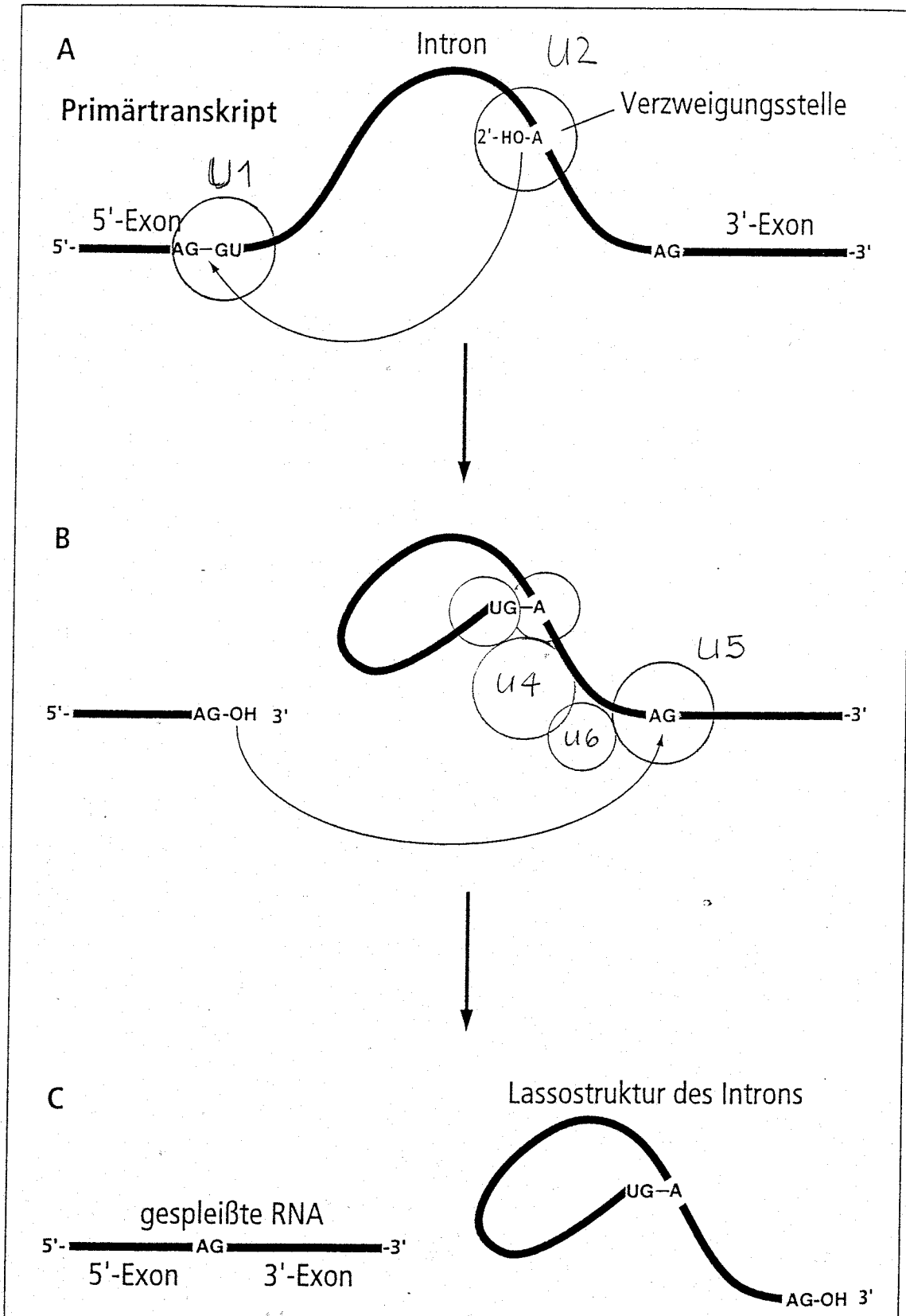
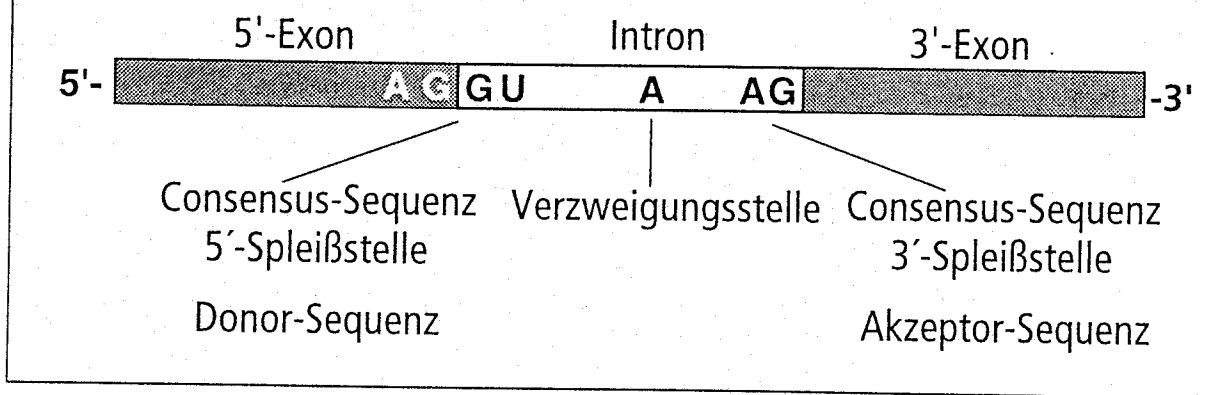


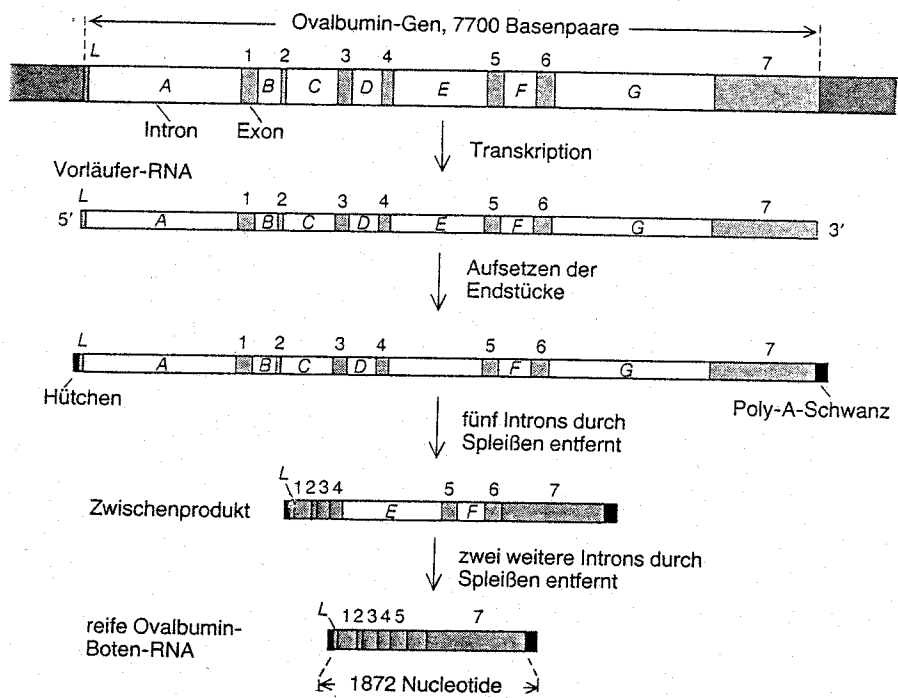
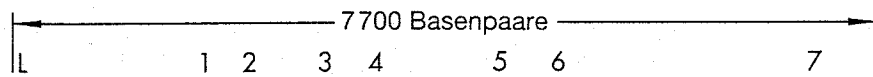
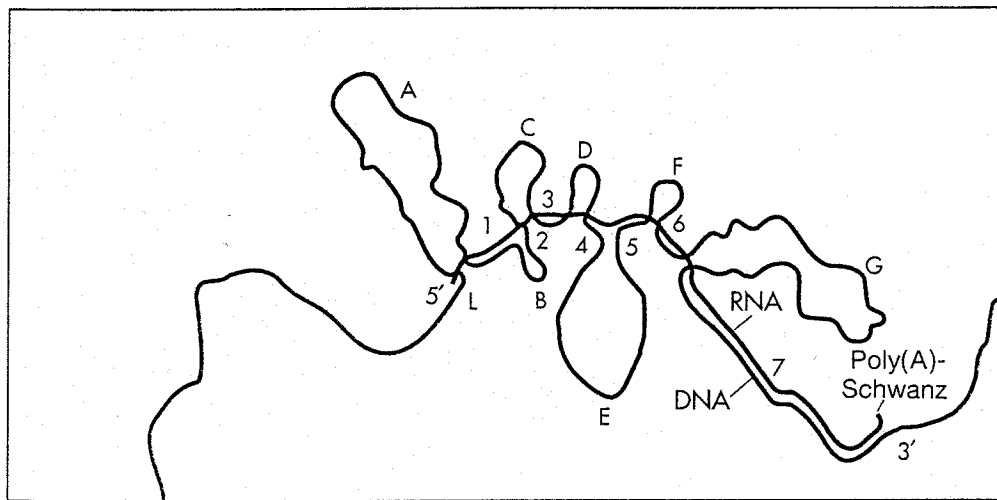
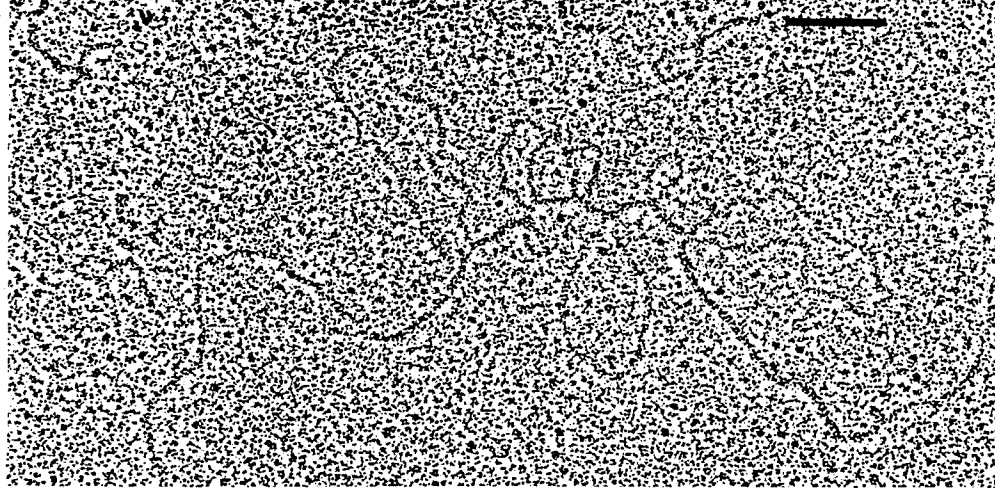
nucleophiler Angriff der  
neu entstandenen 3'-OH-  
Gruppe auf das 3'-Exon



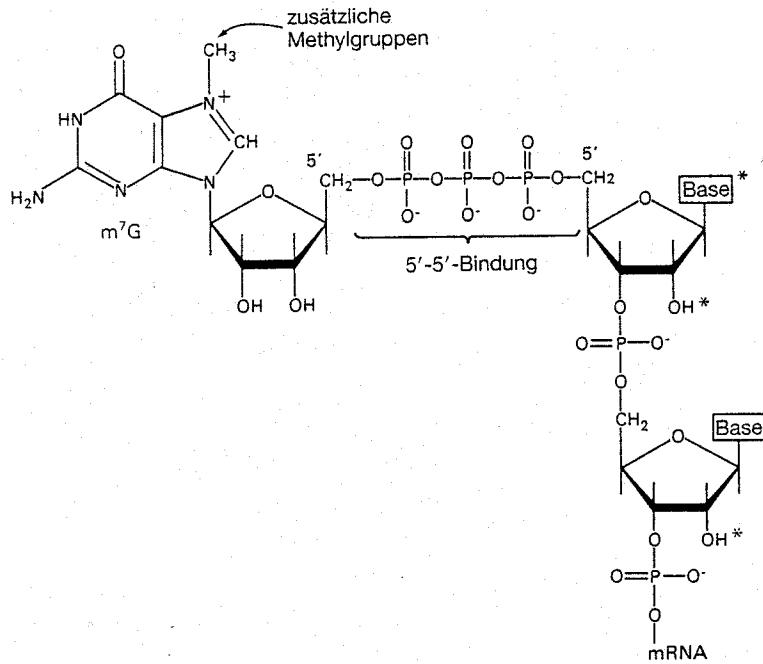
CUCUCUU + gespleißtes Exon



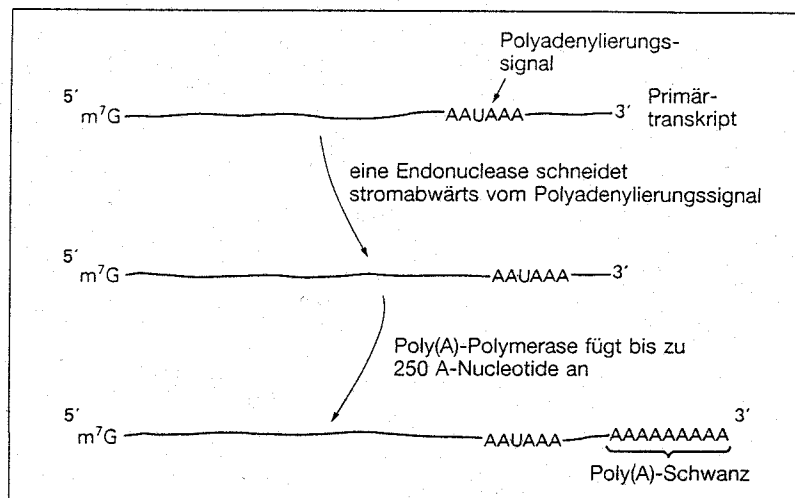
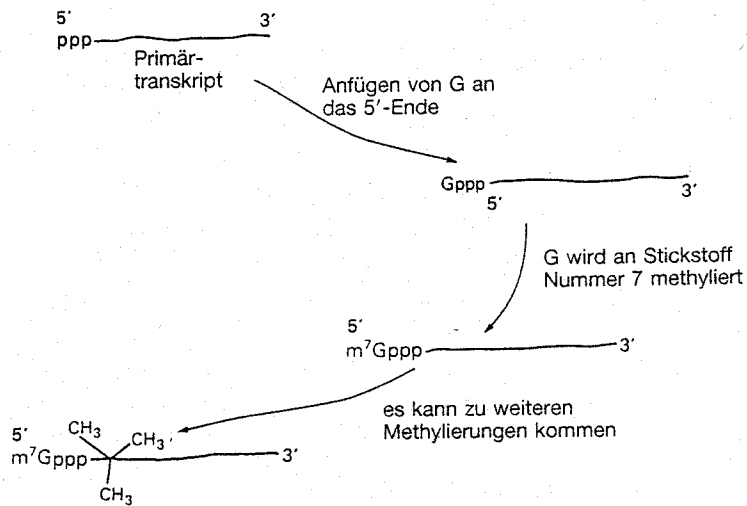


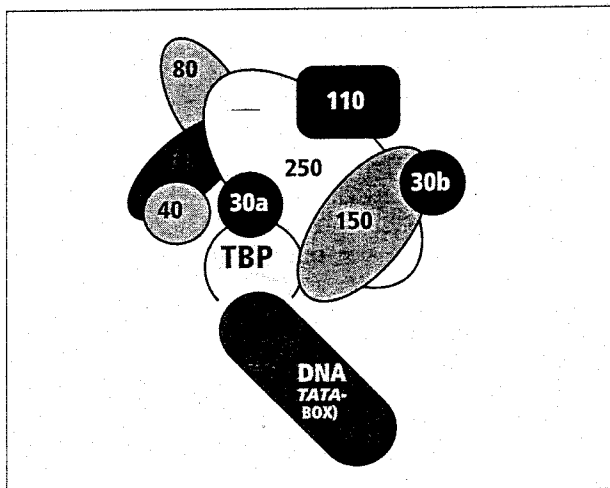
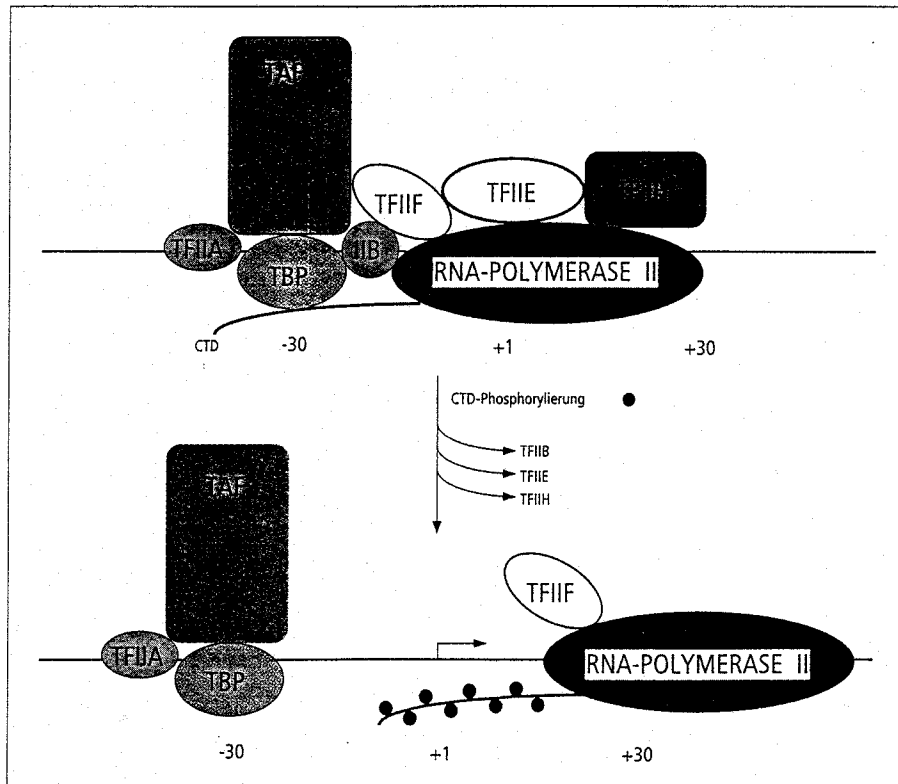


a) die Cap-Struktur

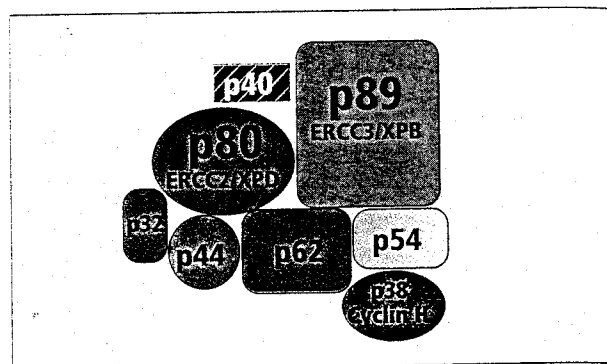


b) Bildung der Cap-Struktur

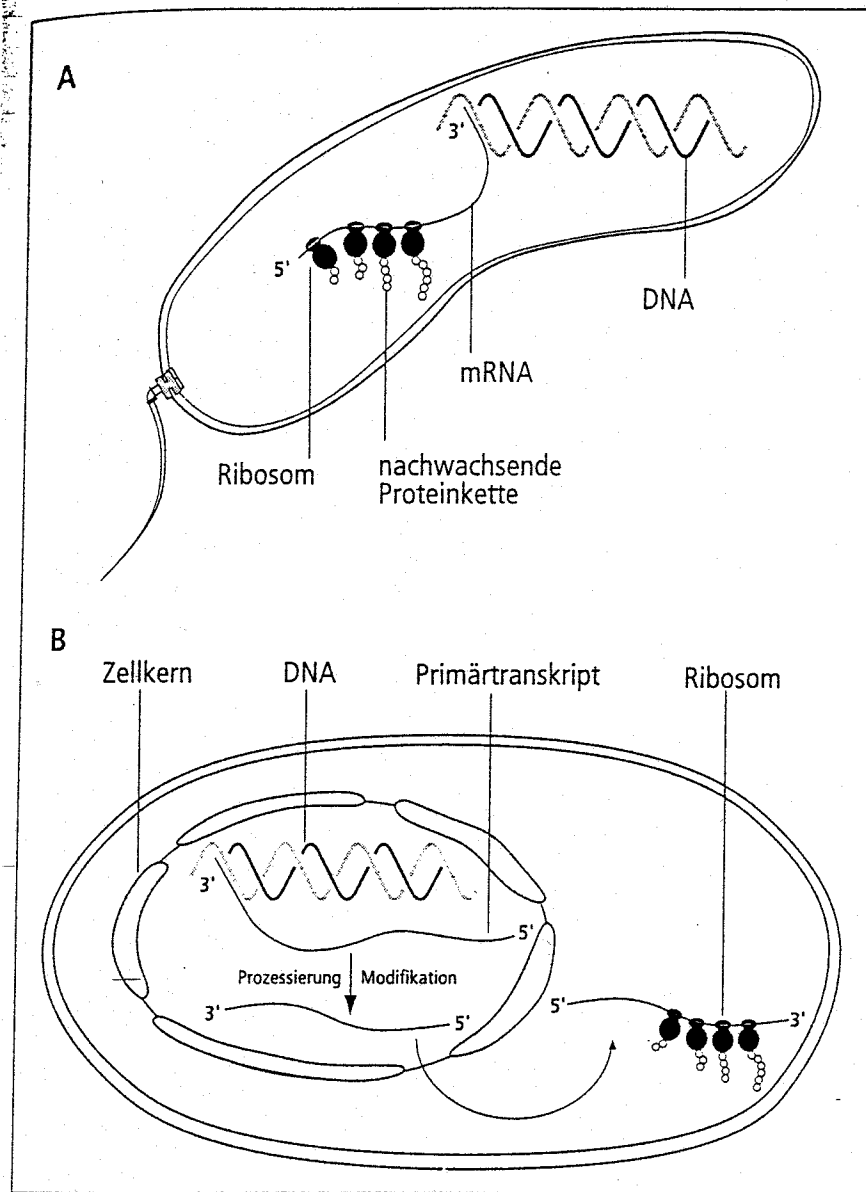




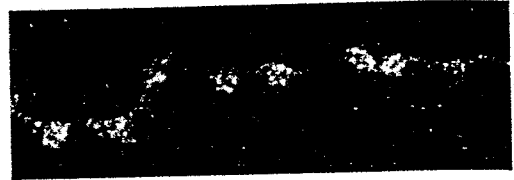
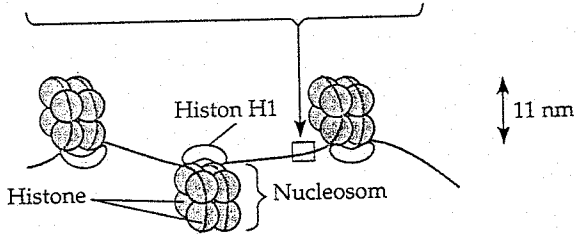
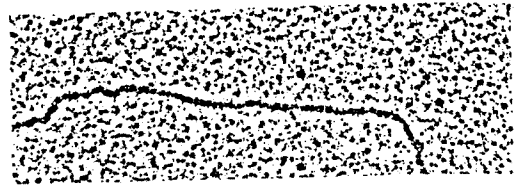
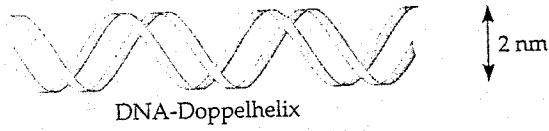
**Abb. 8-2:** TBP und seine TAFs. Die TAF-Proteine komplexieren sich um das DNA-gebundene TBP-Protein. Die DNA der TATA-Box ist als Zylinder dargestellt. Diese komplexe Struktur des TBP-TAF-Komplexes dient zur Kontaktaufnahme mit anderen generellen Transkriptionsfaktoren (GTF, wie z. B. den TFI) oder regulatorischen Transkriptionsfaktoren (RTF).



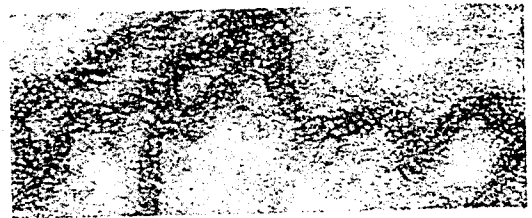
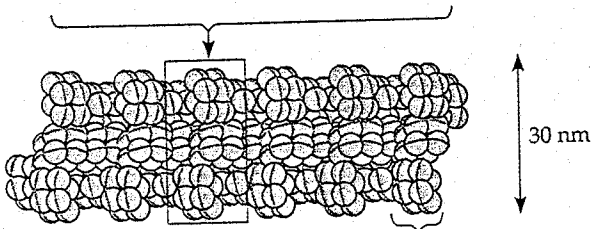
**Abb. 8-3:** Der generelle Transkriptionsfaktor TFIIH. Schematische Darstellung der verschiedenen Untereinheiten des TFIIH-Proteinkomplexes (s. Tab. 8-2).



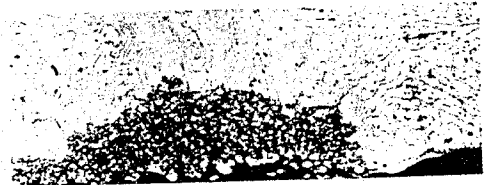
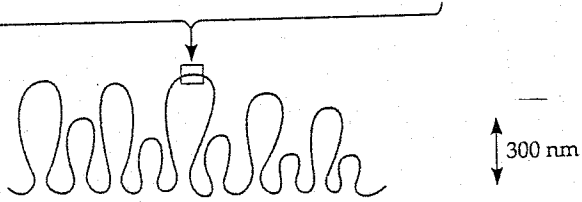
- (A) Die **prokaryotische Genexpression** verläuft kontinuierlich. Prokaryotische mRNA-Moleküle werden noch während ihrer Synthese (Transkription) zur Herstellung der kodierten Proteine mit Ribosomen besetzt und translatiert.
- (B) In einer **eukaryotischen Zelle** verlaufen die beiden Schritte räumlich und zeitlich getrennt. Die Transkription erfolgt im Kern, die Translation im Cytoplasma. Deshalb muss die mRNA aus dem Kern durch die Kernporen ins Cytoplasma gelangen. Zunächst wird ein Vorläufermolekül, das **Primärtranskript** oder die **Prä-mRNA** hergestellt, die dann vor dem Verlassen des Kerns reift, indem sie von Enzymen **prozessiert** wird.



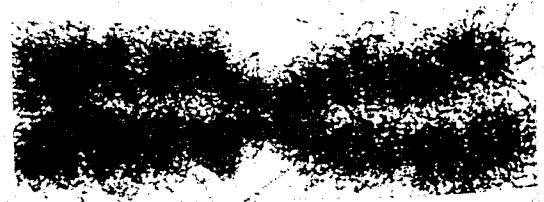
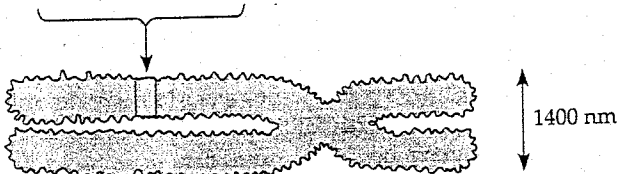
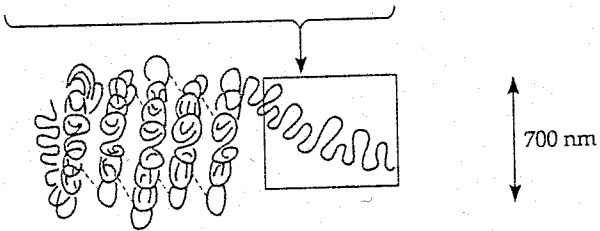
(a) Nucleosomen („Perlschnur“)



(b) 30 nm dicke Chromatinfaser



(c) schleifenförmige DNA-Domänen



(d) Metaphase-Chromosomen