

Aufgabe 1: Prinzipieller Ablauf der Proteinbiosynthese

a) Erklären Sie folgende Begriffe möglichst in Ihren eigenen Worten (1 kurzer Satz):

Gen	z.B. Die DNA-Sequenz, welche ein funktionsfähiges Protein codiert.
Nukleotid	z.B. Bausteine der Nukleinsäuren. Sie setzen sich aus einer Base, einem Zuckerrest und einer Phosphatgruppe zusammen.
RNA-Polymerase	z.B. Das Enzym, welches die Bildung der RNA (Transkription) katalysiert.
Promotor	z.B. Spezifische DNA-Sequenzen, die sich am 5'-Ende vor einem Gen befinden und den „Startpunkt“ der Transkription signalisieren.
Codon	z.B. Ein Basen-Triplett auf der mRNA
Anti-Codon	z.B. Ein Basen-Triplett auf der tRNA, welches komplementär zu einem Codon auf der mRNA ist.
Stop-Codon	z.B. Ein Basen-Triplett auf der mRNA, zu welchem kein komplementäres Anti-Codon existiert und welches somit die Translation beendet.

Aufgabe 2: Translation

a) Erläutern Sie stichwortartig den Ablauf der Translation. Beschreiben Sie dabei, was während der einzelnen Teilschritte (Initiation, Elongation und Termination) geschieht. Diskutieren Sie die Bedeutung der verschiedenen Stellen des Ribosoms.

Initiation: Bindung der Shine-Dalgarno-Sequenz der mRNA an die komplementäre Region der 30S Untereinheit --> Initiationskomplex, Anlagerung der 50S Untereinheit an den Initiationskomplex --> aktives 70S Ribosom, Bindung der Methionin-tRNA über das Anticodon (UAC) an das Start-Codon der mRNA (AUG).

Elongation: Met-tRNA in der Peptidstelle, Bindung der zweiten tRNA an die Akzeptorstelle, Bildung der Peptidbindung zwischen Met und der zweiten AS bei gleichzeitiger Ablösung des Met von der tRNA. Verschiebung um drei Basen (Translokation): unbeladene tRNA in die Exitstelle, tRNA mit Dipeptid in die Peptidstelle. Entlassung der unbeladenen tRNA und Anlagerung einer neuen beladenen tRNA an die Akzeptorstelle. usw.

Termination: Bei Stop-Codon in der Akzeptorstelle: keine Anlagerung einer tRNA, Stillstand der Translation und Zerfall des Ribosoms in die Untereinheiten.

b) Wie viele Triplets lassen sich aus vier Basen theoretisch bilden? Warum besteht ein Codon aus 3 und nicht aus 2 oder 4 Basen? Was könnte der Vorteil für eine Zelle in Bezug auf Mutationen sein, dass eine Aminosäure durch mehrere mögliche Triplets codiert wird?

3 Basen mit je 4 Möglichkeiten = $4^3 = 64$ mögliche Triplets

2 Basen: 16 mögliche Triplets

4 Basen: 256 mögliche Triplets

→ Für die Bildung von 20 Aminosäuren sind 2 Basen zu wenig und 4 deutlich zu viel.

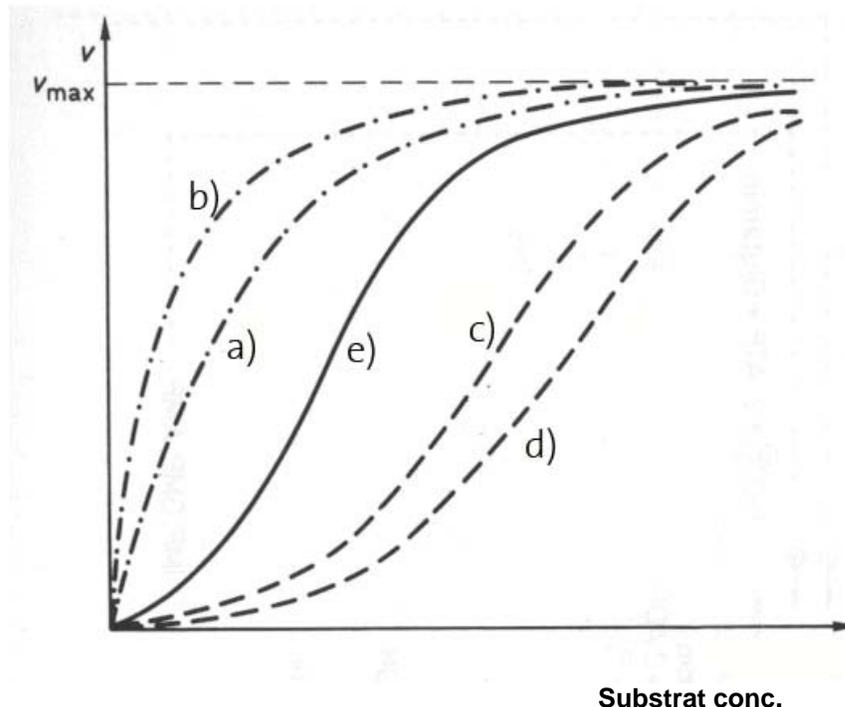
Auch 64 mögliche Triplets sind zu viel für die Bildung von 20 Aminosäuren. Eine Aminosäure kann also durchschnittlich aus 3 verschiedenen Triplets gebildet werden. Dies vergrößert die Chance, dass bei einer Mutation (z.B. Austausch einer Base) keine Änderung in der Aminosäuresequenz entsteht und die Proteinsynthese weiterläuft. Beispiel: Mutation UUU --> UUC (vgl. Skript Folie 12). Wenn jede Aminosäure nur durch ein Triplett codiert würde (--> Pro AS nur eine tRNA), gäbe es 44 Stop-Codons. Dann würde eine Mutation mit grosser Wahrscheinlichkeit zu einer Termination führen.

Aufgabe 3: Regulation der Enzymaktivität

1) Unten ist eine Enzymkinetik-Kurve abgebildet, die die Reaktionsgeschwindigkeit in Abhängigkeit der Substrat Konz. zeigt. Nehmen wir an, dass dieses Enzym allosterisch reguliert ist. Zeichnen Sie direkt ins Diagramm ein, wie sich das Verhalten der Geschwindigkeit ändert, wenn

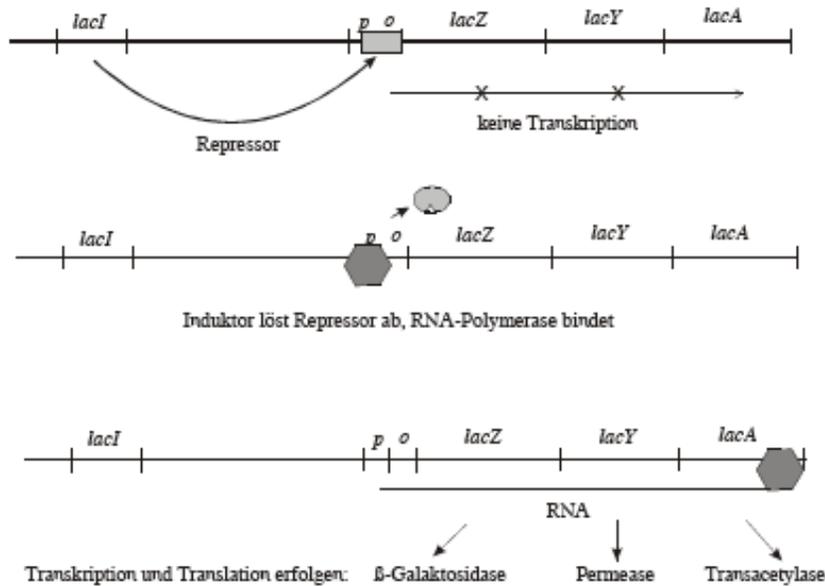
- eine geringe Konz. Aktivator
- eine hohe Konz. Aktivator
- eine geringe Konz. allosterischem Inhibitor
- eine hohe Konz. allosterischem Inhibitor
- die gleiche Konz. Aktivator wie Inhibitor

beigegeben wird?



Aufgabe 4: Regulation der Enzymkonzentration

Das *lac*-Operon ist ein klassisches Beispiel für eine Genregulation. Im Folgenden ist die Funktionsweise dargestellt:



a) Beschreiben Sie in Worten die in der Abbildung dargestellten Vorgänge. Erläutern Sie dabei auch, was die Abkürzungen o und p bedeuten.

Die neg. Regulation des *lac*-Operons: Repressor bindet Operator und die RNA-Polymerase kann nicht mehr binden.

Die pos. Regulation des *lac*-Operons: Induktor löst Repressor ab, RNA-Polymerase bindet. Die Transkription findet statt.

p: Promoter

o: Operator

b) Was könnte der Induktor sein?

Substrat für β -Galactosidase oder Transacetylase. (z.B. Laktose)

c) Was könnte die Permease für eine Rolle spielen?

Permease könnte was mit permeable zu tun haben. Undurchlässig in der Zelle sind meist nur die Membranen. Permease transportiert das Substrat in die Zelle.

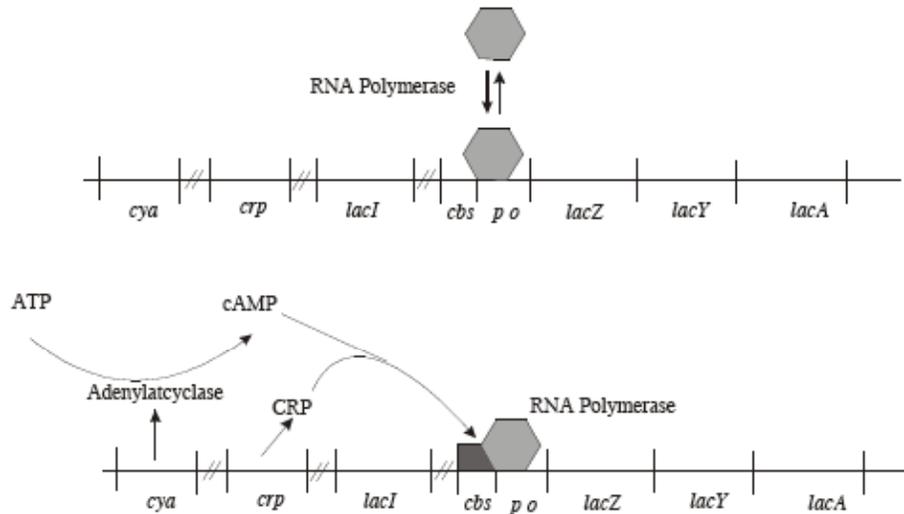


Abbildung 2: Positive Regulation des lac-Operons. Selbst in Abwesenheit des Repressors wird das lac-Operon nicht maximal exprimiert, weil die RNA-Polymerase nur instabil am Promotor bindet. Erst die Bindung des CRP-Proteins an seinen Bindungsort (*cbs*) neben der RNA-Polymerase stabilisiert deren Bindung und führt so zur Aktivierung der Transkription. Dazu ist noch das Effektormolekül cAMP nötig, das durch die Adenylatcyclase aus ATP gemacht wird.

d) Wie nennt man ein Protein, das die Funktion von CRP hat?

Aktivator

e) Das lac-Operon ist Teil des Katabolismus, seine Funktion ist die Regulation des Lactose Abbaus. Man spricht bei diesem Mechanismus auch von Katabolitrepresion oder Glucose Effekt. (hoher Glucosegehalt => geringe cAMP Konzentration in der Zelle)

Was hat es für einen Effekt auf das lac operon wenn ich der Zelle Glucose gebe?

Die Glucose Konz. in der Zelle steigt, was zur Abnahme der cAMP Konz. führt. CRP bindet nicht mehr. Die RNA-Polymerase bindet schlecht, keine effiziente Transkription.

f) Was könnte der Sinn hinter diesem Effekt sein?

Es ist für die Zelle von Vorteil Glucose und nicht Lactose abzubauen. Bringt mehr Energie.

g) Können Sie sich vorstellen weshalb das System Katabolitrepresion heisst?

Weil die Transkription von Kataboliten des Glucoseabbaus abhängig ist.

Das *lac*-Operon von *Escherichia coli* als klassisches Beispiel für Genregulation

Die Expression von Genen wird in den meisten Fällen auf der Transkriptionsebene reguliert. Im Prinzip gibt es zwei Mechanismen dieser Regulation. Bei der **negativen Regulation** wird die Transkription von einem Repressor verhindert, der entfernt werden muss, um die Genexpression zu ermöglichen. Bei der **positiven Regulation** wird die Transkription durch einen Aktivator ermöglicht, ohne den die Gene nicht oder nur in geringem Maße abgelesen werden. Beide Mechanismen können auch zusammenwirken. Dies ist bei der Regulation des *lac*-Operons in *E. coli* der Fall.

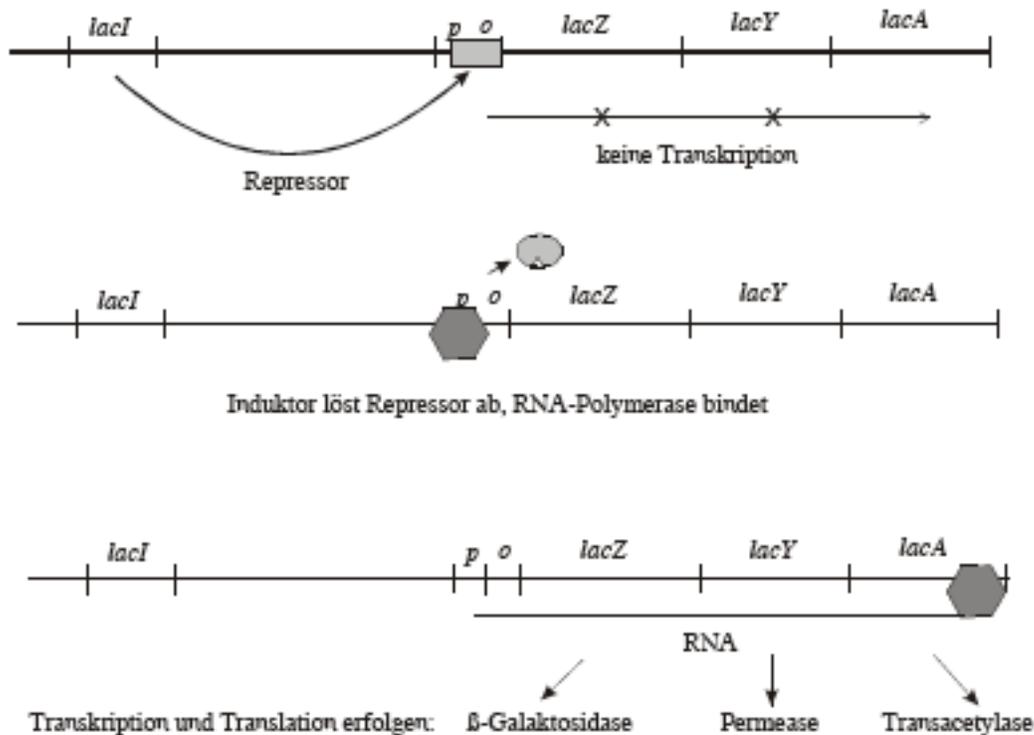


Abbildung 1: Negative Regulation des *lac*-Operons

Das *lac*-Operon (Abb. 1) ist eine Kette von drei Genen, *lacZ*, *lacY* und *lacA*, die gemeinsam abgelesen und reguliert werden. Vor der Gengruppe liegt der **Promotor** (*p*), das Erkennungssignal für die RNA-Polymerase. Er wird vom **Operator** (*o*) überlappt. Dies ist die Bindungsstelle des **Repressors**, eines negativ regulierenden Proteins. Es wird von einem nicht im Operon liegenden Gen *lacI* codiert. Der Repressor verhindert also die Transkription des Operons. Ein **Induktor** kann an den Repressor binden und ihn dadurch vom Operator entfernen. Dann wird das Operon transkribiert. Der Induktor ist ein kleines Molekül, das in der Regel vom Substrat abgeleitet ist, das von den im Operon codierten Enzymsystem verwertet wird. In unserem Fall ist das Substrat die Lactose, die durch das *lacZ*-Genprodukt, die **β -Galactosidase**, gespalten wird. Lactose im Medium führt tatsächlich zu einer Induktion des Operons. Dazu muß sie mit Hilfe eines Aufnahme Proteins, der **Permease**, dem Produkt des *lacY*-Gens in die Zelle transportiert werden. Fällt die Permease aus, kann das Operon

nicht mehr durch Lactose induziert werden. Es gibt aber Induktoren, die Strukturanaloga der Lactose sind, wie das IPTG, die ohne Permease in die Zelle gelangen und die Transkription induzieren. Die Funktion des dritten Gens, *lacA*, der sog. Transacetylase ist in unserem Zusammenhang uninteressant.

Die Aufhebung der negativen Regulation des *lac*-Operons durch die Induktion reicht nicht zur vollen Expression. Das Operon ist außerdem abhängig von einer Aktivierung (Abb.2). Dazu muss der **Aktivator**, das **Produkt des Gens *crp*** an eine Bindestelle neben dem Promotor binden. Das kann er nur zusammen mit einem kleinen Molekül, **cAMP**, das mit Hilfe der **Adenylatcyclase**, dem **Genprodukt des *cya*-Gens**, gebildet wird. Der Vorteil dieses scheinbar komplizierten Systems für die Zelle ist, daß sie entscheiden kann, ob die Induktion des Lactoseabbauwegs sinnvoll ist. Gibt es nämlich viel Glucose im Medium, so ist deren Verwendung für die Zelle ökonomischer. Die Verwendung der Glucose führt in der Zelle zur Abnahme der cAMP-Konzentration. Dadurch wird die Aktivierung der Transkription des *lac*-Operons vermieden. Dieser Mechanismus wird daher "Glucoseeffekt" genannt, aber auch **Katabolitrepresion**, weil tatsächlich Stoffwechselprodukte der Glucose den Effekt auslösen.

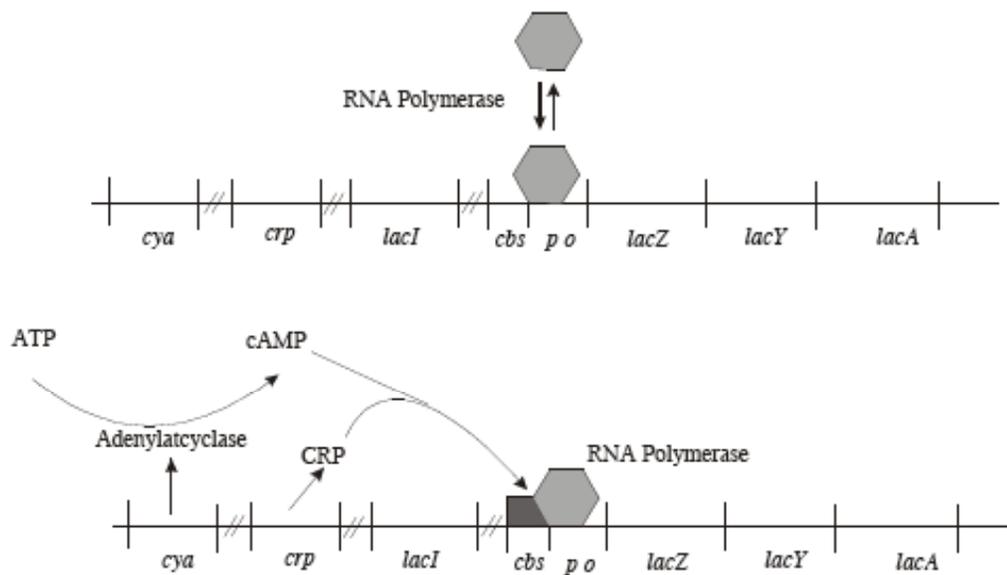


Abbildung 2: Positive Regulation des *lac*-Operons. Selbst in Abwesenheit des Repressors wird das *lac*-Operon nicht maximal exprimiert, weil die RNA-Polymerase nur instabil am Promotor bindet. Erst die Bindung des CRP-Proteins an seinen Bindungsstelle (*cbs*) neben der RNA-Polymerase stabilisiert deren Bindung und führt so zur Aktivierung der Transkription. Dazu ist noch das Effektormolekül cAMP nötig, das durch die Adenylatcyclase aus ATP gemacht wird.