

**1. Grundlagen**

1)

	Richtig	Falsch
Die Proteinsynthese in der Zelle wird weitgehend von ihrer Umgebung beeinflusst	X	
Die Regulatorproteine sind als Repressoren und Induktoren bekannt <b>Repressoren und Aktivatoren</b>		X
In beiden Regulationsmechanismen (Repression & negative Induktion) spielt die Interaktion mit dem Repressor eine wichtige Rolle	X	

2) Was versteht man unter einem allosterischen Effekt?

Ein allosterischer Effekt in einem Enzym beschreibt eine gezielte Veränderung der Kinetik eines Enzyms bei Bindung eines Metaboliten außerhalb des aktiven Zentrums (im allosterischen Zentrum).

3) Wieso reguliert die Zelle ihren Stoffwechsel?

- Um die zahlreichen chemischen Reaktionen in einer Zelle unter Kontrolle zu haben.
- Um einen optimalen Verbrauch von den zur Verfügung stehenden Ressourcen zu gewährleisten
- Um Entwicklungsprozesse zu koordinieren.

4) Es gibt verschiedene Ebenen, auf denen die Regulation des Zellstoffwechsel stattfindet. Wie heissen diese und was ist der jeweilige Vor- bzw. Nachteil?

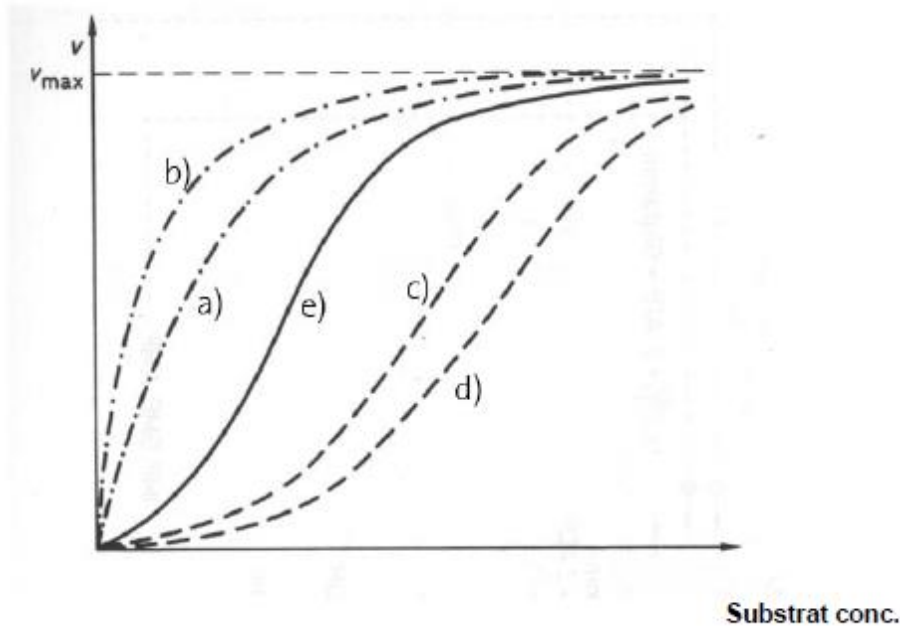
- Transkription: langsam, spart Energie (Das Protein ist nicht vorhanden, muss neu synthetisiert werden, aber nur wenn es gebraucht wird)
- Translation: mittel schnell, mechanistisch kompliziert (mRNA ist vorhanden, liegt aber in einer für die Translation ungünstigen Form vor)
- Protein Aktivität: schnell, verbraucht Energie (Protein immer vorhanden, muss nicht neu synthetisiert, nur aktiviert werden)

**2. Regulation der Enzymaktivität**

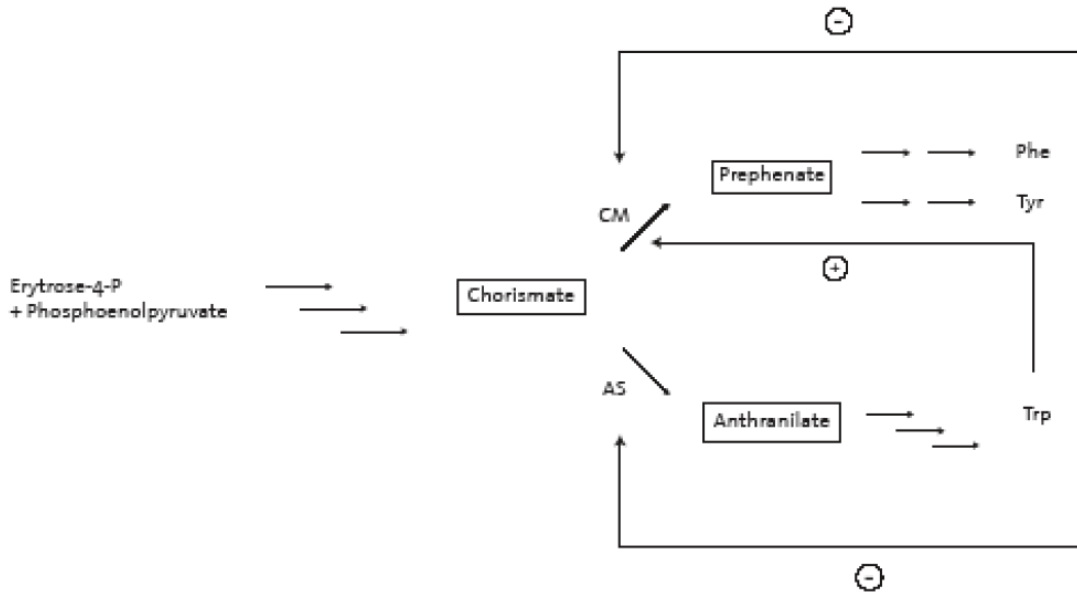
1) Unten ist eine Kurve fuer die Reaktionsgeschwindigkeit in Abhängigkeit von der Substratkonzentration eines Enzyms abgebildet. Nehmen wir nun an, dass dieses Enzym allosterisch reguliert ist. Zeichnen Sie direkt ins Diagramm, wie sich das Verhalten der Geschwindigkeit ändert, wenn folgendes beigegeben wird:

- a. eine geringe Konz. Aktivator
- b. eine hohe Konz. Aktivator

- c. eine geringe Konz. Inhibitor
- d. eine hohe Konz. Inhibitor
- e. die gleiche Konz. Aktivator wie Inhibitor (und der Aktivator ungefähr so stark aktiviert wie der Inhibitor inhibiert)



- 2) Der Shikimat-Biosynthesepfad ist im Anabolismus dafür zuständig, um die aromatischen Aminosäuren Tryptophan (Trp), Tyrosine (Tyr) und Phenylalanine (Phe) zu synthetisieren. Ausgehend von D-Erythrose-4-Phosphat und Phosphoenolpyruvat wird eine Reihe von Enzymen verwendet, die verschiedene Zwischenprodukte bilden. Eines von diesen Zwischenprodukten ist Chorismat, das von der Chorismatmutase (CM) weiter zu Prephenat oder von der Anthranilatsynthase (AS) weiter zu Anthranilat umgewandelt wird.



AS: Anthranilatsynthase

CM : Chorismatmutase

Zeichnen sie im Schema eine sinnvolle Möglichkeit zur Regulation der Enzyme CM und AS ein. Was sind in diesem Fall dann die Stoffe Trp, Phe, und Tyr für die einzelnen Enzyme?

Sinnvoll ist die neg. Regulation von CM durch Phe,Tyr und von AS durch Trp, also die neg. Regulation der Enzyme durch die Endprodukte des Stoffwechselweges. Pos. Regulation durch Aktivatoren (Trp zu CM),neg. Regulation durch Inhibitoren (Trp zu AS, Phe,Tyr zu CM). Die pos. Regulation stellt sicher, dass alle Aminosäuren in etwa gleichen Mengen vorhanden sind.

**3. Regulation der Enzymkonzentration**

1) Ordnen Sie folgende Begriff der richtigen Definition zu

a. Repression

**Repression** ist die neg. Regulation der Transkription. Transkription wird durch Repressor verhindert.

b. Induktion

**Induktion** ist die pos. Regulation der Transkription. Transkription wird durch Aktivator ermöglicht.

c. Promoter

**Promotoren** sind Bereiche des Operons, an welche die RNA-Polymerase andocken und mit der Synthese der mRNA beginnen kann.

d. Operator

DNA-Sequenzen, an die Regulatorproteine binden und damit das Operon kontrollieren, heissen **Operatoren** (Kontrollelemente)

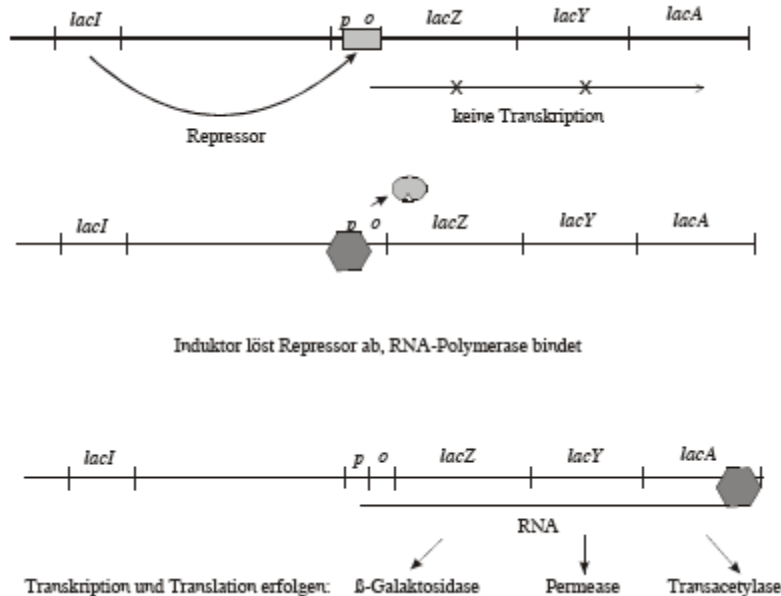
e. Gen

Ein **Gen** ist die DNA-Sequenz, welche ein funktionsfähiges Protein kodiert.

f. Operon

Ein **Operon** ist eine komplette Einheit der Genexpression, welche neben den Genen (Gen A, Gen B, etc.), die für die mRNA und somit für ein bestimmtes Enzym kodieren, auch die entsprechenden Kontrollelemente (Promoter, Operator) enthält.

- 2) Das sogenannte „lac operon“ ist ein klassisches Beispiel für eine Genregulation. Im Folgenden ist die Funktionsweise dargestellt:



- a. Beschreiben Sie in Worten die 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 RNAPolymerase kann nicht mehr binden.

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

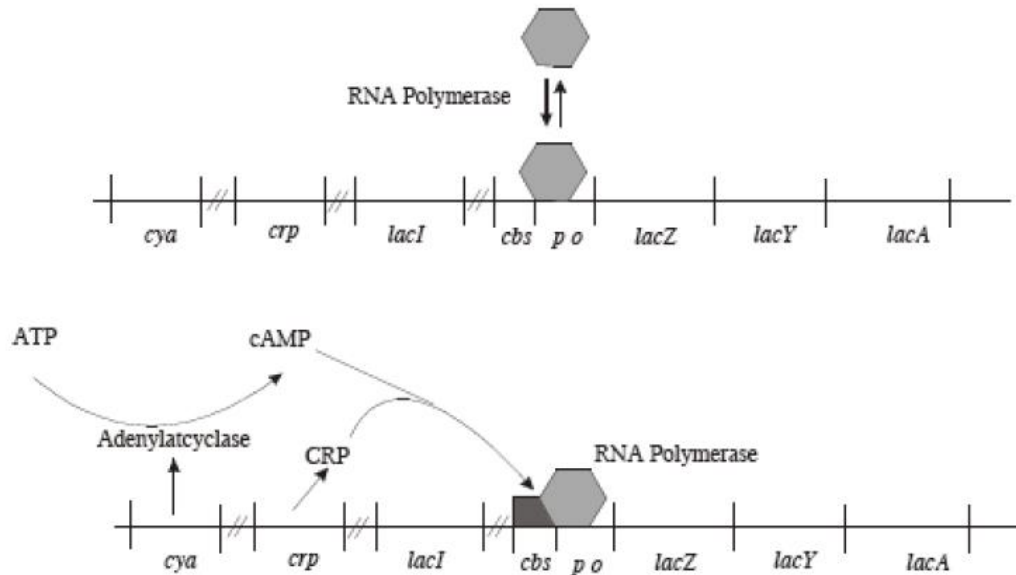
p: Promoter  
o: Operator

- b. Welche Substanz könnte hier der Induktor sein?

Substrat für beta-Galactosidase oder Transacetylase.

- 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 der Lactoseabbau. Man spricht bei diesem Regulationsmechanismus auch von Katabolitrepresion oder Glucoseeffekt. Es ist nämlich so, dass bei viel Glucose die cAmp Konz. in der Zelle gering ist. Was hat es dann für einen Effekt auf das lac operon, wenn man der Zelle Glucose anbietet?

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?

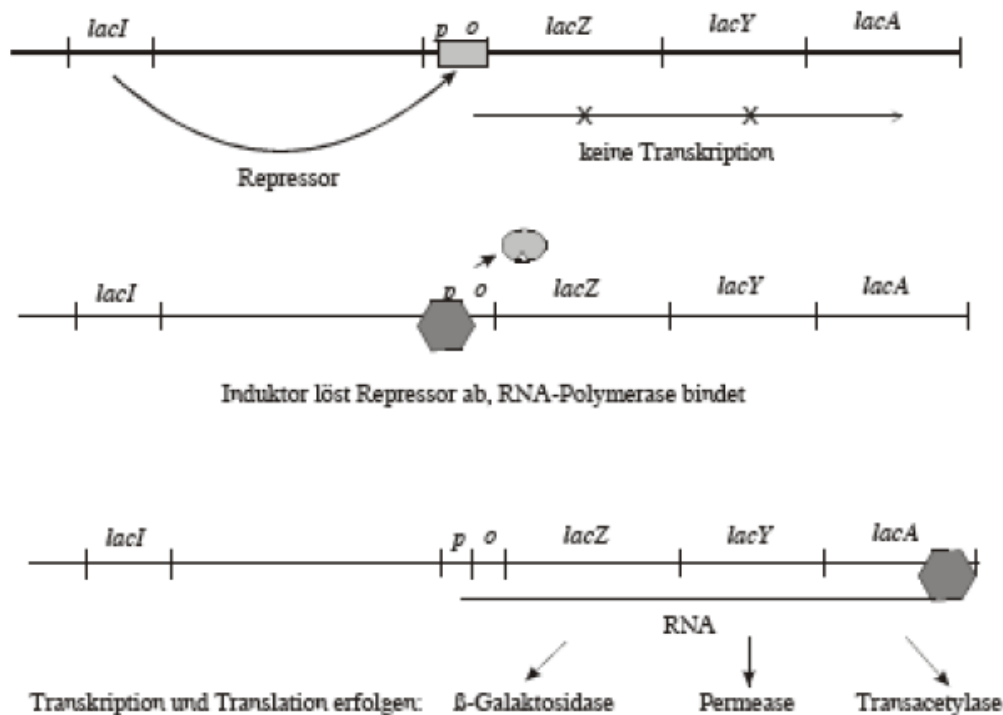
Es ist für die Zelle von Vorteil Glucose und nicht Lactose abzubauen. Bringt mehr Energie.

**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  **$\beta$ -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 Struktur analoge 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 **Katabolitrepression**, weil tatsächlich Stoffwechselprodukte der Glucose den Effekt auslösen.

#### **4. Replikation**

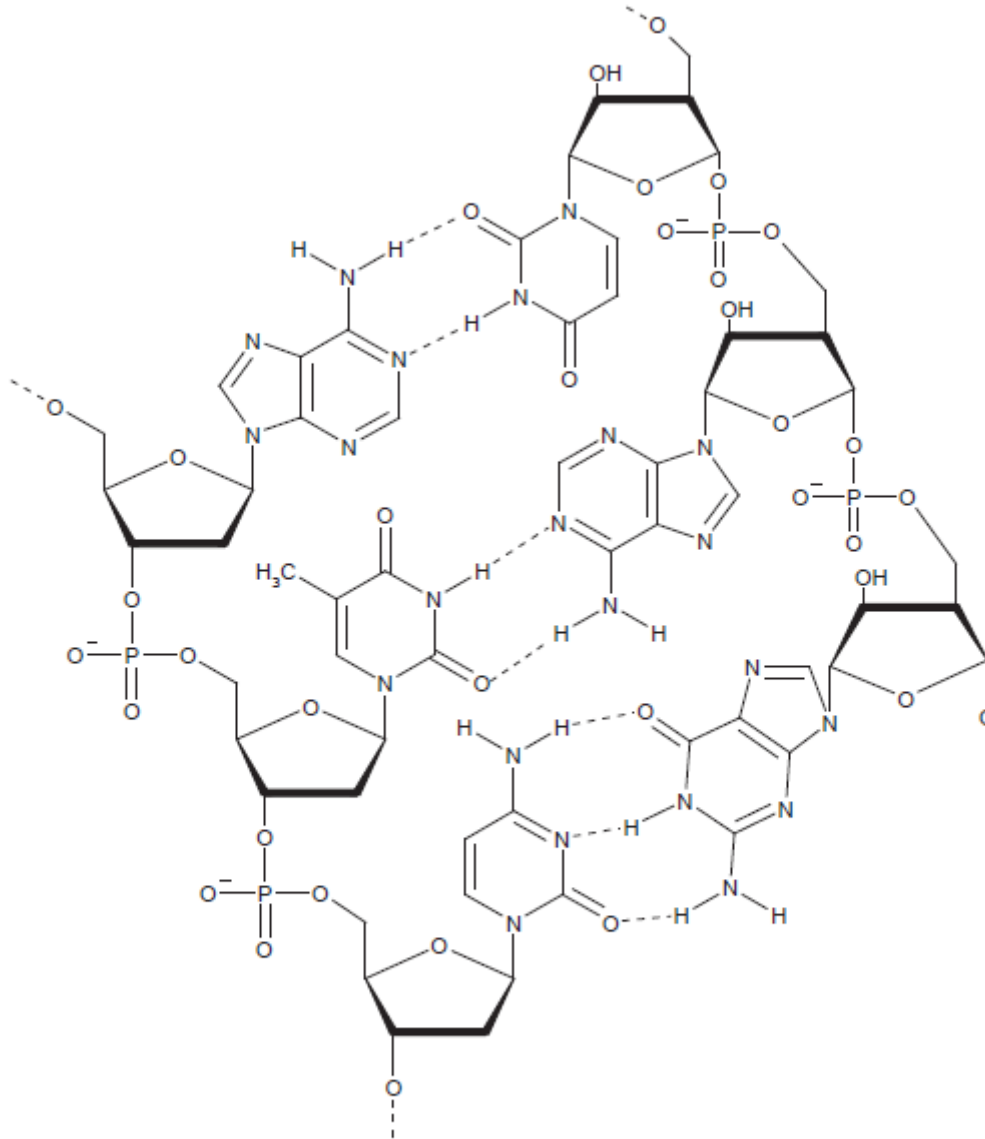
*Die DNA-Replikation dient der Verdopplung der Erbsubstanz für die Zellteilung. Anders als bei der Transkription wird der ganze DNA-Strang abgelesen. Aus dem Prozess der DNA-Replikation resultieren dann zwei komplette «Tochter/Daughter» DNA-Doppelstränge*

- 1) In der Vorlesung war im Kapitel Transkription von der RNA-Polymerase die Rede. Worin unterscheidet sich diese von der DNA-Polymerase?

Ein wesentlicher Unterschied zur DNA-Polymerase besteht darin, dass die RNAPolymerase die Neusynthese des mRNA Stranges am DNA-Einzelstrang auch ohne Primer beginnen kann.



- 2) Am untenstehenden DNA-Ausschnitt (*Abb. 1*) wird ein Primer erzeugt. Überlegen Sie sich dazu, welche Basenabfolge dieser haben muss und aus was für Elementen (Basen, Zucker) er besteht. Wo im gezeigten Molekül befindet sich das 3'- und das 5'-Ende? Zeichnen Sie die Strukturformel für den Ausschnitt des Primers.



- 3) Was ist mit den Begriffen „kontinuierlich“ und „diskontinuierlich“ wohl gemeint? Überlegen Sie sich dazu, unter was für Bedingungen und Regeln die DNA-Polymerase arbeitet und betrachten Sie *Abb. 2*.

Der untere Strang besitzt eine 3'→5'-Orientierung und die Synthese des neuen DNA-Stranges kann in 5'→3'-Richtung erfolgen. Die Synthese erfolgt deshalb in Richtung der Replikationsgabel und besitzt dadurch die gleiche Richtung wie die Öffnung der Doppelhelix durch die Helicase. Die DNA-Synthese erfolgt kontinuierlich. Der obere Strang ist antiparallel und besitzt eine gegenläufige Orientierung im Vergleich zum unteren Strang. Deshalb erfolgt die Synthese des neuen DNA-Stranges von der Replikationsgabel weg und in entgegengesetzter Richtung zum unteren Strang, d.h. diskontinuierlich. Zunächst erfolgt die Synthese von RNA-Primern durch die Primase, wodurch eine freie 3'-OH-Gruppe vorhanden ist. Diese kann durch die DNA-Polymerase solange in 5'→3'-Richtung verlängert werden, bis das nächste dieser DNA-Fragmente erreicht wird. Danach wird der RNA-Primer entfernt und die beiden DNA-Fragmente mit Hilfe des Enzyms Ligase miteinander verknüpft. Die DNA-Polymerase wird wieder freigesetzt. Die entstehenden Fragmente werden nach seinem Erfinder Okazaki-Fragmente genannt.