

# Achtung

Die folgenden Texte sind als Stichworte für die Klausurvorbereitung zu sehen.

**Keinesfalls** sind die Fragen in der Klausur auf den Inhalt dieser Folien beschränkt, sondern werden aus dem Stoff der Vorlesung und des Praktikums stammen.

Träger der Erbinformation sind die Nukleinsäuren. Es handelt sich hierbei um hochmolekulare lineare Kettenmoleküle, die aus durch Phosphodiesterbindungen miteinander verbundenen Ribosemolekülen zusammengesetzt sind.

In den meisten Organismen besteht die Nukleinsäurekette des Erbmaterials aus Desoxyribose und wird daher Desoxyribonukleinsäure (DNA) genannt.

# Aufbau der DNA

- Grundgerüst aus durch Phosphodiesterbindungen verknüpften Ribosemolekülen
- Purin- und Pyrimidinbasen
- Doppelhelix

Prozentualer Basengehalt der doppelsträngigen DNA verschiedener Organismen und Viren. Aus dem wiedergegebenen AT-Gehalt der Organismen und Viren lässt sich durch Subtraktion von 100 der GC-Gehalt errechnen

Organismen/Viren	AT-Gehalt (%)
Bakteriophage T7	52,0
Escherichia coli	48,3
Sprosshefe ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )	74,3
Mais ( <i>Zea mays</i> )	54,0
Taufliege ( <i>Drosophila melanogaster</i> )	70,2
Mensch ( <i>Homo sapiens</i> )	71,6

An den Ribosemolekülen befinden sich heterozyklische Purin- oder Pyrimidinbasen. Durch Wasserstoffbrückenbindungen zwischen jeweils zwei Basen (Guanin and Cytosin oder Adenin und Thymin) können zwei DNA-Ketten miteinander verknüpft werden und bilden eine schraubenförmige "Doppelhelix" mit einer tieferen und einer flacheren "Furche" an ihrer Außenseite.

Die beiden gepaarten  
Nukleinsäurestränge sind in  
entgegengesetzter Richtung orientiert,  
haben also den Charakter  
antiparalleler Ketten.

# **Eukaryotisches Genom**

Doppelsträngige DNA als Informationsspeicher

Kerngenom und Plastom

Chromosomen lineare DNA-Moleküle

# **Prokaryotisches Genom**

Doppelsträngige DNA als Informationsspeicher

Chromosomenzahl meist 1, selten 2

Chromosomen meist ringförmig, selten lineare DNA-Moleküle

Extrachromosomale DNA existiert



# **Virales Genom**

DNA oder RNA als Informationsspeicher

einzelsträngig oder doppelsträngig

zirkulär oder linear

bei einigen Viren segmentiert

# Genomgröße verschiedener Organismen

<b>Art</b>	<b>Basenpaare</b>	<b>Länge</b>
<i>Escherichia coli</i>	$4,1 \times 10^6$	1,4 mm
SV40	$5,226 \times 10^3$	1,7 $\mu\text{m}$
<i>Zea mays</i>	$6,6 \times 10^9$	2,2 m
<i>Drosophila melanogaster</i>	$1,75 \times 10^8$	6,0 cm
<i>Mus musculus</i>	$2,2 \times 10^9$	75,0 cm
<i>Homo sapiens</i>	$2,75 \times 10^9$	94,0 cm

Die niedrigste Organisationsstufe der chromosomalen DNA in der 100 Å-Fibrille wird durch die Bildung von Nukleosomen erreicht. Basische chromosomale Proteine, die Histone, bilden Proteinoktamere, um die sich die DNA in zwei Windungen mit einer Gesamtlänge von etwa 140 Basenpaaren herumlegt. Nach etwa 20 bis 60 Basenpaaren folgt ein weiteres Nukleosom, so daß die Nukleosomketten entstehen, die elektronenmikroskopisch als 100 Å-Fibrillen erscheinen.

Die strukturelle Organisation chromosomaler DNA auf höherer Ebene erfolgt durch Aufwindung der 100 Å-Fibrille unter der Beteiligung des Histons H1 und anderer chromosomaler Proteine.

Chromosomale DNA ist in Längsfibrillen unterschiedlicher Hierarchiestufen organisiert. Die niedrigste Organisationsstufe ist eine 100 Å-Fibrille, die folgende eine 250-300 Å-Fibrille. Diese Fibrillen werden durch Interaktionen zwischen DNA und Protein erzeugt.

Wichtige Instrumente, um DNA zu bearbeiten:

- Exonukleasen
- Endonukleasen (Restriktionsenzyme)

Eigenschaften d. hellen und dunklen G-Banden. Unter konstitutiv exprimierten Genen versteht man solche, die permanent abgelesen werden (housekeeping genes).

helle G-Banden

früh replizierend

reich an transkribierten Genen

reich an konstitutiv exprimierten Genen und vielen gewebespezifischen Genen  
GC-reich

entsprechen den Interchromosomen

dunkle G-Banden

spät replizierend

arm an transkribierten Genen

meist gewebespezifische Gene  
AT-reich

entsprechen den Chromosomen

# Transkription bei Eukaryonten

“Umschrift“ einer DNA-Sequenz (codogener Strang) in eine mRNA-Sequenz

Die RNA-Synthese erfolgt in 5' → 3'-Richtung.  
Unterschieden werden dabei die Abschnitte Initiation, Elongation und Termination.

Der basale Transkriptionsapparat besteht aus der RNA-Polymerase und den generellen Transkriptionsfaktoren.



## Initiation (Eukaryonten)

- drei verschiedene RNA-Polymerasen mit jeweils eigenen Gen-Sets (RNA-Polymerase II: Proteinkodierende Gene, "Herstellung" der mRNA)
- hohe Komplexität von Promotor- und Enhancer-Komplexen → "individuelle" Regulation der Genaktivität
- Transkriptionsfaktoren ("general transcription factors"), Transkriptionsaktivatoren und Koaktivatoren
- Promotor Clearance mit Zurückbleiben von Teilen des Initiationskomplexes (Möglichkeit der schnellen Reinitiation)

# Transkription

- Bildung eines komplementären mRNA-Moleküls zum codogenen DNA-Strang (syn.: template, Minus-, Matrizen-, Antisense-Strang)
- RNA-Synthese durch RNA-Polymerasen in 5'-3'-Richtung
- drei Phasen: Initiation, Elongation, Termination
- mRNA-Prozessierung

# mRNA-Prozessierung

- betrifft vor allem Protein-kodierende mRNA
- Capping
- Spleißen
- Polyadenylierung

DNA

DNA-Basen

Transkription

- Initiation
- Elongation
- Termination

RNA

RNA-Basen

Translation

- Initiation
- Elongation
- Termination

Protein

Aminosäuren

# Transkriptionsfaktoren

Zusammenfassung Transkription

Basaler Transkriptionsapparat

Der Promotor des Interferon  $\beta$  - Gens: ein Lehrbuchpromotor

Struktur von Transkriptionsfaktoren

Architektonische Transkriptionsfaktoren

# Translation

Eigentliche Proteinbiosynthese

Verknüpfung von Aminosäuren zu  
Polypeptiden

Findet an den Ribosomen statt

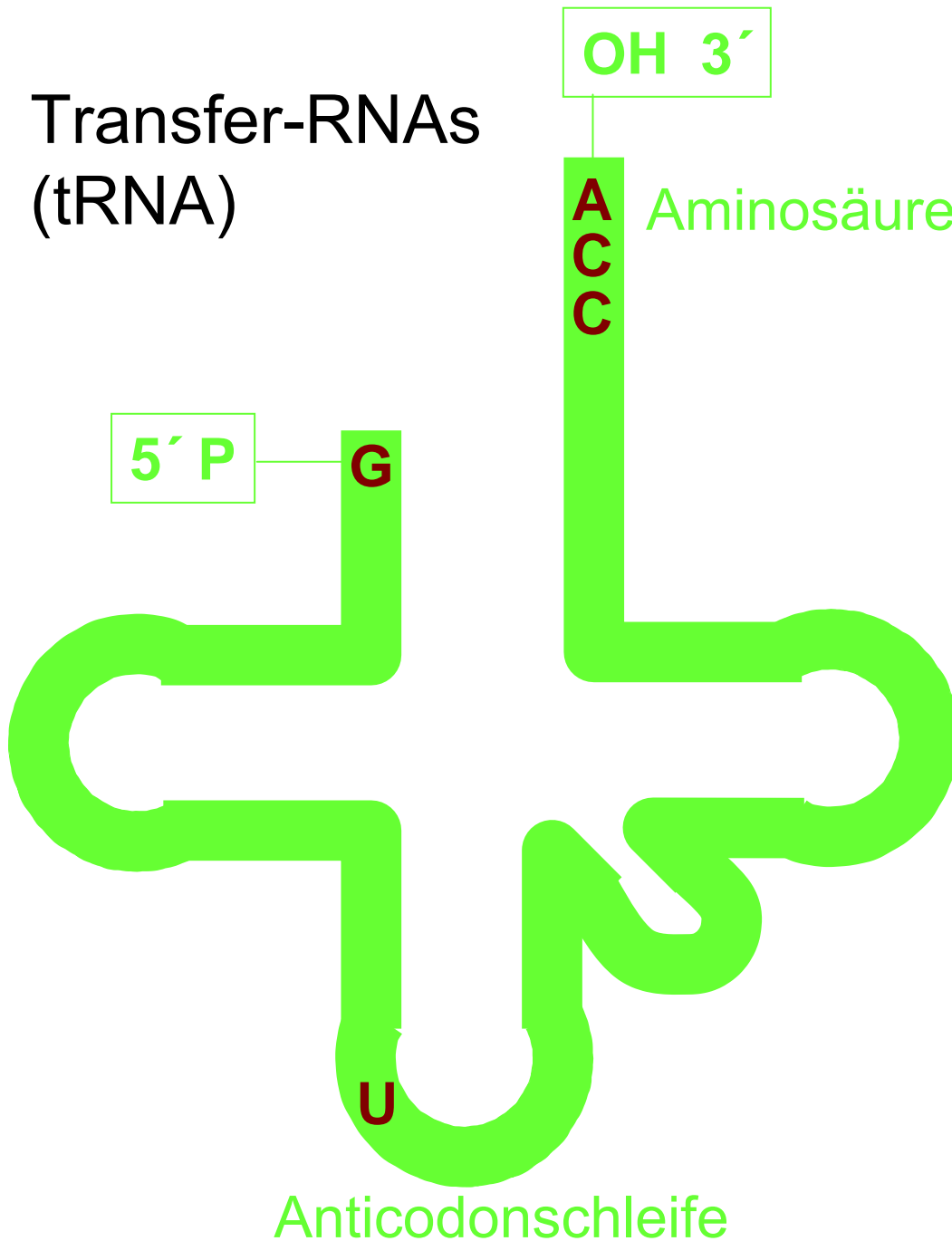
Übersetzung der Codons der mRNA über  
Anticodons der tRNAs in Aminosäuresequenzen

## Transfer-RNA (tRNA)

Ihre Transkription in Eukaryoten erfolgt durch RNA-Polymerase III

Unterliegen nach der Transkription vielfältiger Prozessierung und Modifikation

# Transfer-RNAs (tRNA)



Kurze RNA-Moleküle

Zwei charakteristische Domänen:  
Anticodonschleife und  
Aminosäureakzeptorarm

Kleeblattstruktur  
(zweidimensional)  
L-Form (dreidimensional)

Erkennen Codon über  
Basenpaarung mit Anticodon



# Genetischer Code

Besteht aus Codons, d.h. Basentriplets der mRNA

Gibt die Zuordnung von Codons zu Aminosäuren und zum Translationsstop an

Ist degeneriert: eine Aminosäure kann durch mehr als ein Triplet codiert sein

Ist weitgehend einheitlich, aber nicht universell

“Wobbeln“

Die ersten beiden Basen eines Codons sind für die Codierung einer bestimmten Aminosäure ausreichend

Letzte Position kann deshalb variabel sein und paart sich im Anticodon häufig mit Inosin

# Ribosomen

Frei im Cytoplasma oder am ER lokalisierte Protein-Nucleinsäure-Komplexe

Ort der Translation

Setzen sich aus großer und kleiner Untereinheit zusammen

Sedimentationskoeffizient bei Prokaryoten 70S, bei Eukaryoten 80S

Enthalten vier Bindungsdomänen (*sites*): A-, P-, E- (und F)- Stelle

Polysomen

Polyribosomen

Gesamteinheit von mRNA, Ribosomen und synthetisierten Polypeptiden

# Shine-Dalgarno-Sequenz

Purinreicher Abschnitt am 5'-Ende prokaryotischer mRNAs

Liegt etwa 10 Nucleotide in 5'-Richtung vor Start-Codon

Geht Wechselwirkung mit 16S RNA der 30S-Untereinheit ein

Wirkt stabilisierend auf Translationskomplex

# Schlüsselenzyme bei der DNA-Replikation:

Helicasen

Primasen

DNA-Polymerasen

Topoisomerasen

## Replikationsursprung (Origin, Replikator)

- Replikationsstart
- Charakteristische AT-reiche DNA-Sequenz
- DNA-Consensus-Sequenz

# Primer

- RNA-Strang („Zünder“), der durch DNA-Polymerase verlängert wird
- Mit freiem 3'-OH-Ende
- Von Primasen an DNA-Matrize synthetisiert
- Wird später abgebaut und durch DNA ersetzt.



# Priming

- Einzelstrangstabilisierung
- Synthese des Primers in Art einer Transkription
- Leitstrang nur einmal zu Beginn
- Am Folgestrang für jedes einzelne Okazaki-Fragment erforderlich

# Okazaki-Fragment

- DNA-Syntheseteilstücke des Folgestrangs
- Bei Prokaryoten aus 1000 - 2000 Nucleotiden
- Bei Eukaryoten aus 200 Nucleotiden

# DNA-Helicasen

- Verantwortlich für Entwindung der DNA-Doppelhelix
- Trennen die Basenpaare unter ATP-Verbrauch
- Treiben die Replikationsgabel voran
- Arbeiten in 3' 5'- oder 5' 3'-Richtung
- Bei Prokaryoten: Dann  $\beta$ -Protein, Helicase II, Rep-Protein
- Bei Eukaryoten: T-Antigen und evtl. andere

# Topoisomerasen

- Verändern die Verdrillung der DNA über die Windungszahl
- Typ I: Einzelstrangbruch, Windungszahl +1 oder -1
- Typ II: Doppelstrangbruch, Windungszahl +2 oder -2
- Kommen in Pro- und Eukaryoten vor

# Primase

- RNA-Polymerase
- Synthetisiert Primer an DNA-Matrize
- Bei Prokaryoten: DnaG-Protein als Teil des Primosoms
- Bei Eukaryoten: Untereinheit  $\alpha$  der DNA-Polymerase

# DNA-Polymerasen

- Beteiligt als Replikasen an der DNA-Synthese
- Beteiligt an DNA-Reparatur
- Bekannt bei Prokaryoten: Pol I, Pol II; Pol III, Pol IV und Pol V
- Bei Eukaryoten: u.a. Pol  $\alpha$ , Pol  $\beta$ , Pol  $\gamma$ , Pol  $\delta$  und Pol  $\epsilon$

# DNA-Polymerase-Aktivität

- 5' 3'-Exonuclease: entfernt Primer
- 3' 5'-Polymerase: polymerisiert DNA
- 5' 3'-Exonuclease: Proofreading

# DNA-Ligasen

- Verknüpfen Okazaki-Fragmente des Folgestranges
- Katalysieren Phosphodiesterbindungen
- Bei Prokaryoten: mit Cofaktor NAD
- Bei Eukaryoten: mit Cofaktor ATP



# Telomer

- Abschlussstruktur an den (linearen) Chromosomenenden
- Besteht aus kurzen Sequenzwiederholungen
- Repliziert durch Telomerase (reverse Transkriptase)

# Telomerase

- Funktionell: reverse Transkriptase
- Strukturell: Ribonucleoprotein
- Synthetisiert Wiederholungssequenzen des Telomers

# Rekombination

- homolog
- nicht-homolog
  - sequenzspezifisch
  - unspezifisch

# Homologe Rekombination

ausgedehnte Homologie der DNA-Stränge, zwischen denen die Rekombination stattfindet

Modelle zur homologen Rekombination (insbesondere Meiose)

Ist die Rekombinationswahrscheinlichkeit über das Genom identisch verteilt?

Basierend auf Untersuchungen an *Saccharomyces cerevisiae* unterscheidet *Petes (2001)* drei Typen von Hot spots:

$\alpha$ -hot spots: Aktivierung durch die Bindung von Transkriptionsfaktoren

$\beta$ -hot spots: Bereiche von Nuklease-sensitivem Chromatin, z.B.  $(CCGNN)_{12}$

$\gamma$ -hot spots: Hoher G+C-Gehalt

Eigenschaften und Erkrankungen mit  
monogenen Erbgängen

Erkrankungen und Eigenschaften mit  
polygenen und multifaktoriellen Erbgängen

## Mutagene Stoffe

### 1. Moleküle, die als solche

1.1. direkt mit DNA reagieren, z.B. Bromouracil oder salpetrige Säure

1.2. Keine chemische Verbindung mit der DNA eingehen, aber durch Interkalation deren Konformation ändern, z.B. Aflatoxin

2. Moleküle, die erst nach Metabolisierung mutagen im Sinne von 1.1. wirken, z.B. Benzpyrene



# **Die Entwicklung bösartiger Tumoren**

1. Tumoren entstehen im Regelfall aus nur einer Zelle.

# Die Entwicklung bösartiger Tumoren

1. Tumoren entstehen im Regelfall aus nur einer Zelle.
2. Die Eigenschaft „Tumorzelle“ wird von einer Zelle auf ihre Tochterzellen weitergegeben.

# Die Entwicklung bösartiger Tumoren

1. Tumoren entstehen im Regelfall aus nur einer Zelle.
2. Die Eigenschaft „Tumorzelle“ wird von einer Zelle auf ihre Tochterzellen weitergegeben.
3. Im Laufe der Entwicklung bösartiger Tumoren erwerben die Tumorzellen viele „Fähigkeiten“ wie z.B.:
  - zum autonomen Wachstum
  - zum invasiven Wachstum  
(Durchdringen d. Basalmembran).