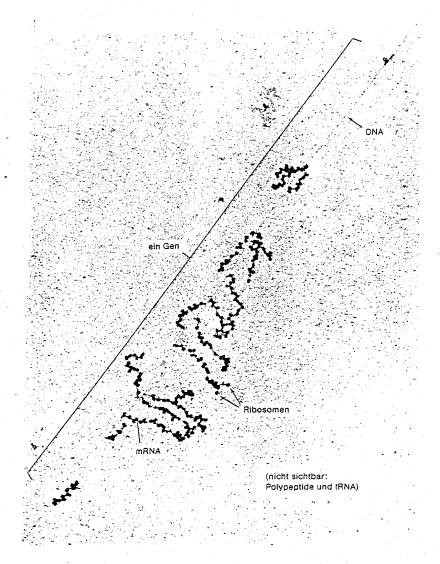
Vorlesung

Allgemeine Biologie für Informatiker und Mathematiker 1

Teilgebiet Genetik 2



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

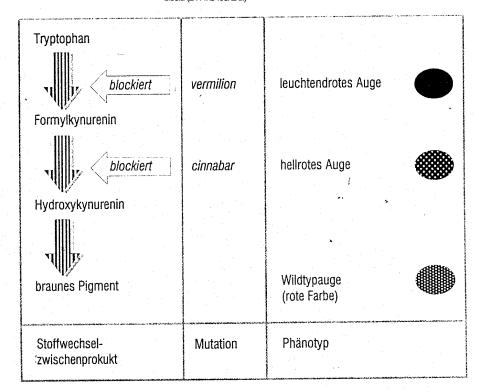
Vorlesung

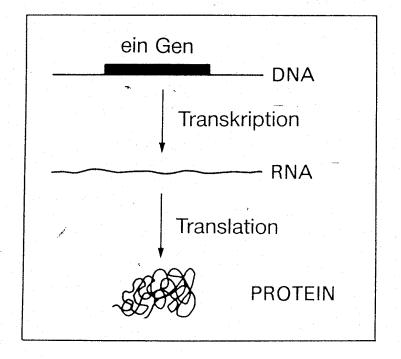
Allgemeine Biologie für Informatiker und Mathematiker 1

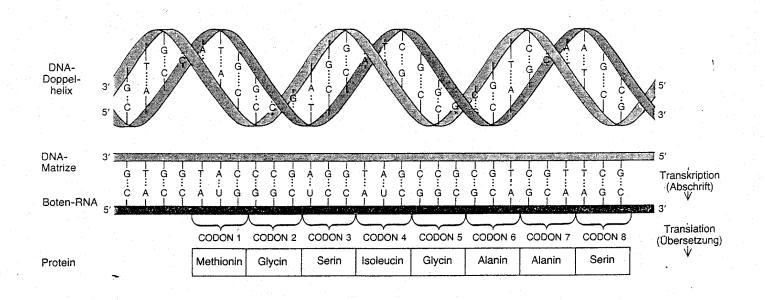
Teilgebiet Genetik 2

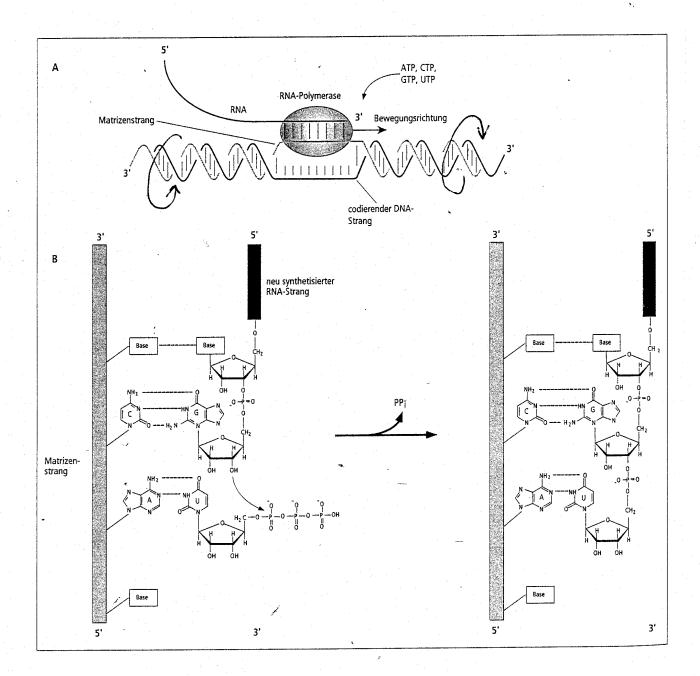
Inhalt

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



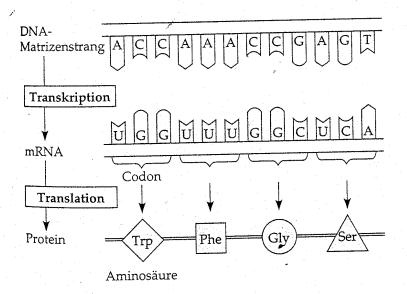


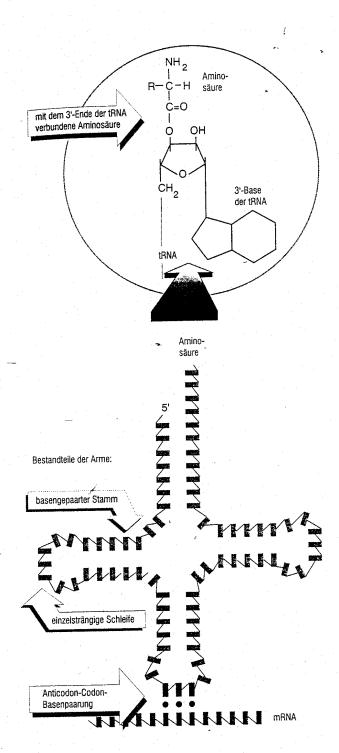


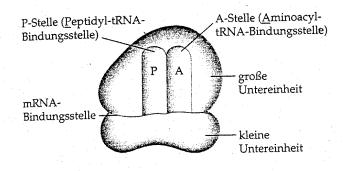


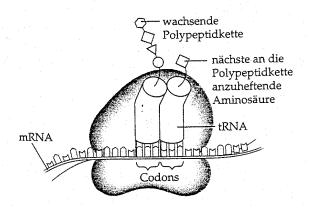
Der genetische Code

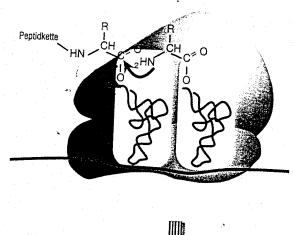
UUU } phe* UUC } leu UUG }	UCU UCC UCA UCG	UAU } tyr UAC } tyr UAA } 'stop'	UGU } cys UGC } cys UGA 'stop' UGG trp
CUU CUC CUA CUG	CCU CCC CCA CCG	CAU } his CAC } cAA } gIn	CGU CGC CGA CGG
AUU } ile AUA AUG met	ACU ACC ACA ACG	AAU } asn AAA } lys AAG }	AGU } ser AGA } arg AGG }
GUU GUC GUA GUG	GCU GCC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

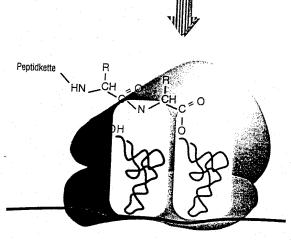


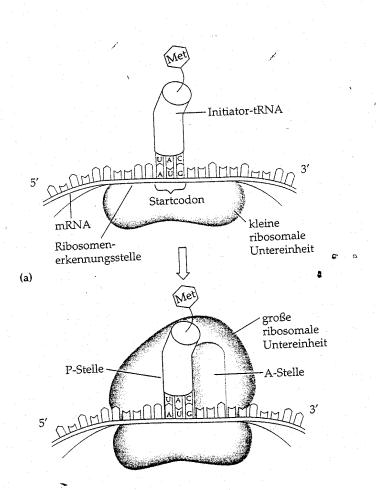


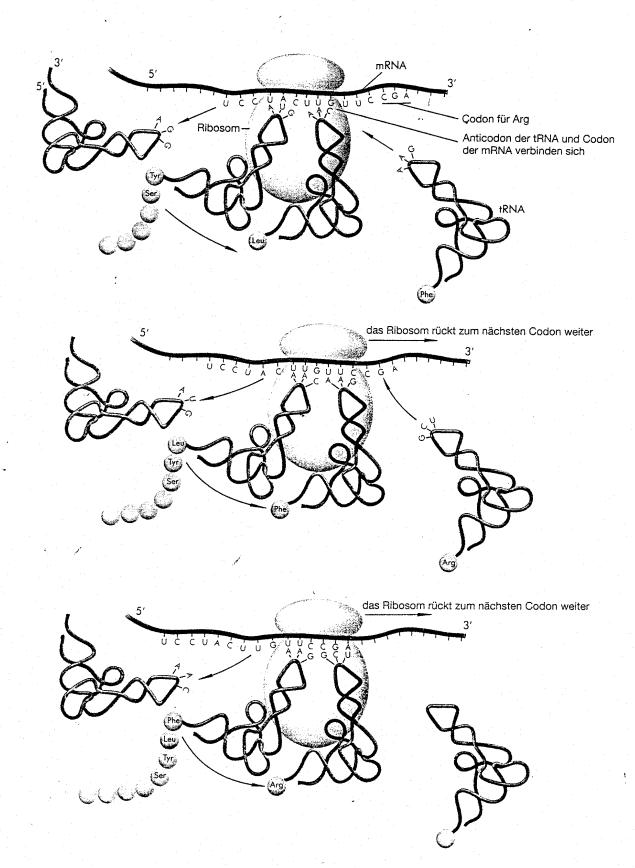


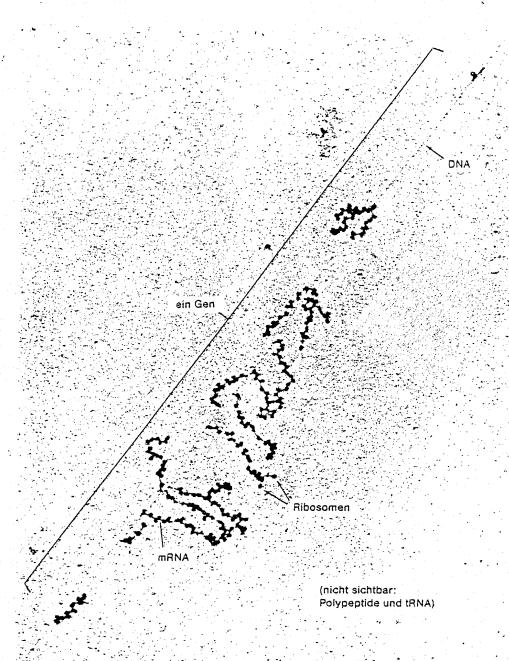








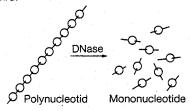




DNase-Schutzexperimente

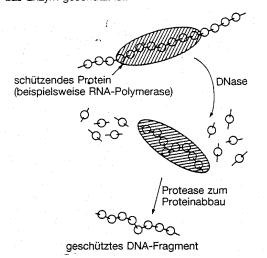
Man hat eine Reihe von Methoden eingesetzt, um die Wechselwirkung zwischen RNA-Polymerase und Promotorsequenzen zu erforschen. Die bedeutendste dieser Techniken nennt man Deoxyribonuclease (DNase)-Schutzverfahren.

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.



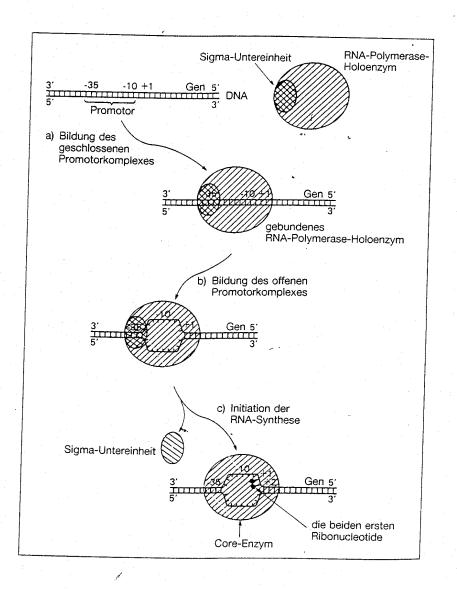
Wenn jedoch ein gereinigtes DNA-Fragment einen Promotor enthält, an den ein RNA-Polymerase-Protein gebunden ist, so sind nicht alle Phosphodiesterbindungen für den Angriff der DNase zugänglich: Einige werden durch das gebundene Enzym "geschützt". Durch die DNase-Behandlung erhält man demnach einige wenige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

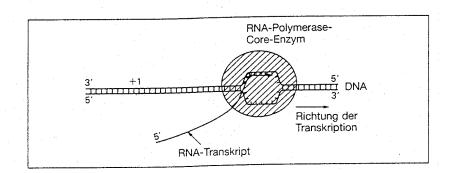
gibt Auskunft über das Ausmaß der Interaktion zwischen RNA-Polymerase und DNA: Seine Nucleotidsequenz (die man durch DNA-Sequenzierung ermitteln kann) zeigt genau, welcher Teil des Moleküls durch das Enzym geschützt ist.

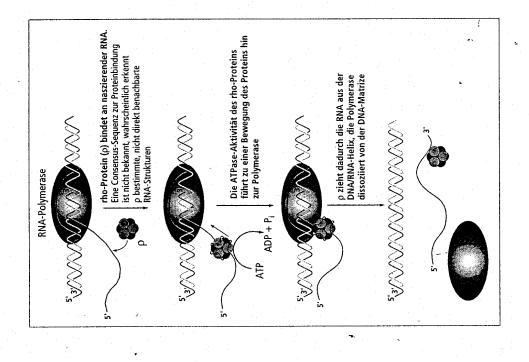


Die Ergebnisse dieser Experimente zeigen, daß die E. coli-Polymerase zwischen 41 und 44 bp der DNA einschließlich der – 10- und der – 35-Box sowie einen kleinen Abschnitt der umgebenden Sequenz abdeckt.

		✓ -35 Region	-10 Regio (Pribnow-B	· •	t
			16-17 Nucleotide	6-7 Nucleotide	
	(lac Operon)	~~~~TTTACA	$\sim\sim\sim$ TATG	T T ~~~~~	
	(trpOperon)	~~~~TTGACA	$A A T T \longrightarrow A A$	C T ~~~~~	
	(tyrtRNA)	$\sim\sim\sim$ TTTACA	$\sim\sim\sim$ TATG	A T ~~~~~	
	(lexA)	TTGACA	. ~~~~T A C G	A T ~~~~~	
	(recA)	$\sim\sim\sim$ TTGATA	. ~~~~T A T A	A T ~~~~~	
•		Consensus-Sequenz:			
* .		~~~~TTGACA	$\sim \sim \sim $ ATA	A T ~~~~~	







gebundenen oligo(U)-Endes vom Matrizenstrang, Ablösung der Polymerase und der mRNA von der DNA

-cggcggtc-gaccgccg-

Verdrängung des schwach

-cecceerc -eac

A-reiche Sequenz, instabile Basenpaarungen

Faltung der Terminationsschleife

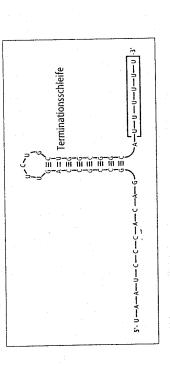
-CGGCGGTC -GACC

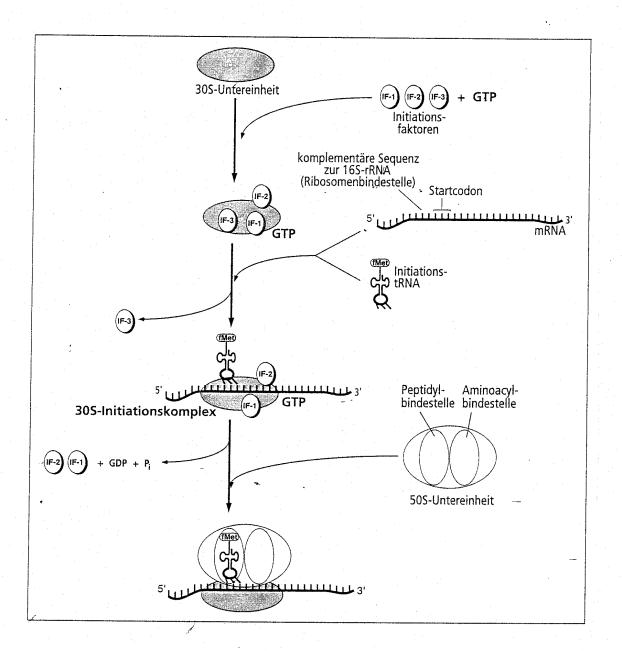
RNA-Polymerase ~

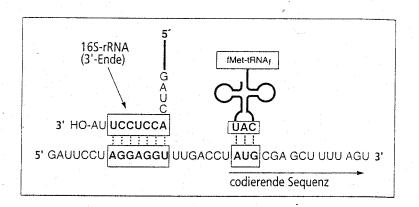
) Terminationsschleife

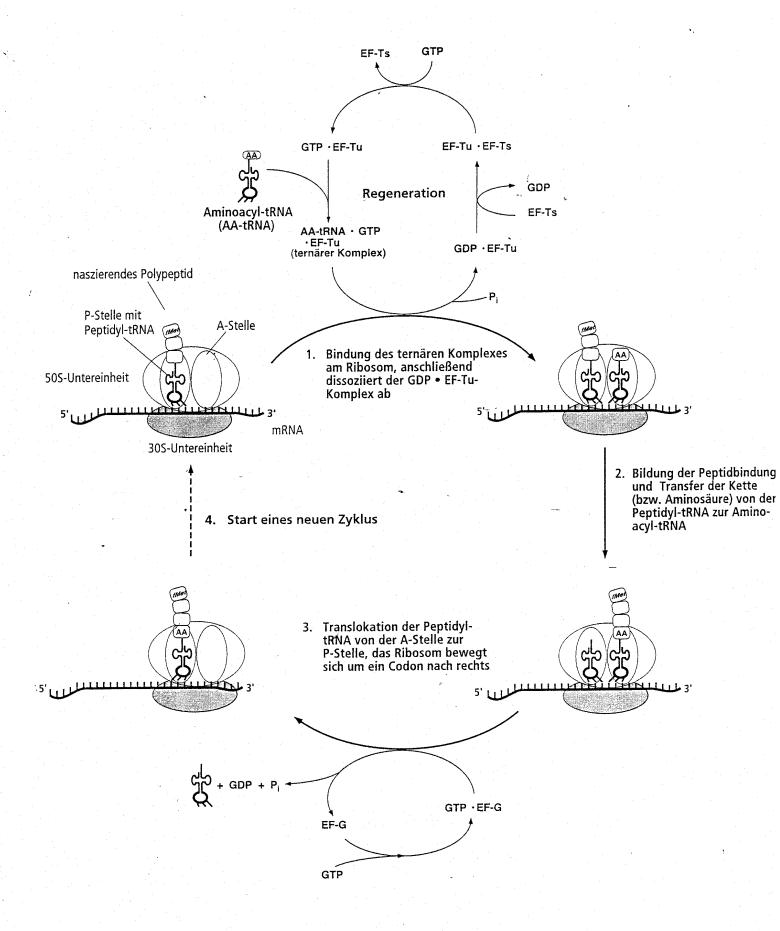
G/C-reiche palindromische Sequenz

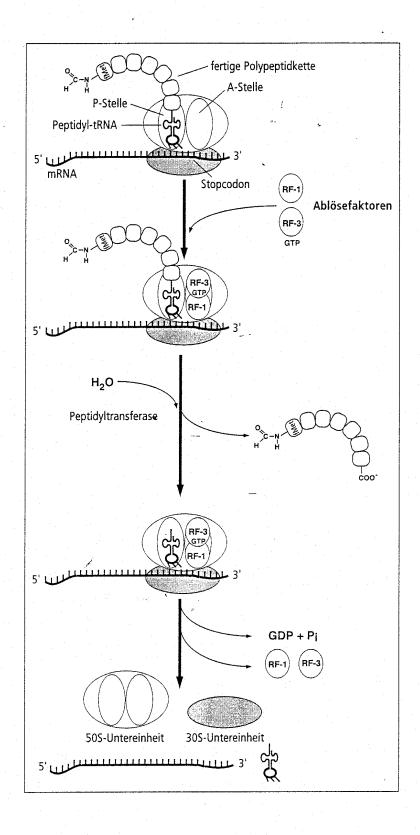
mRNA 🔅

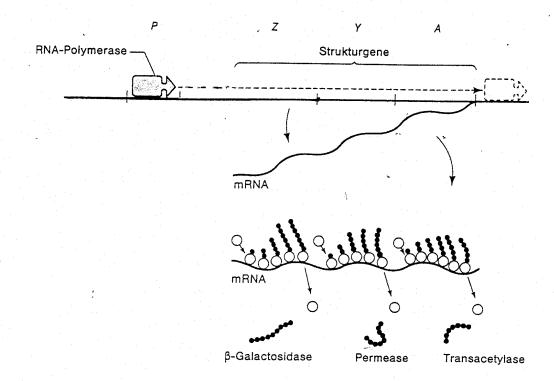


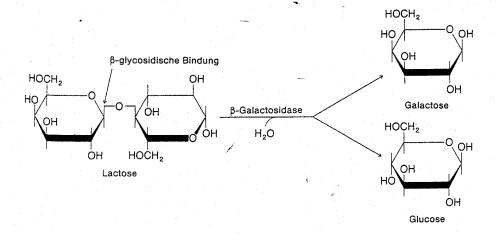


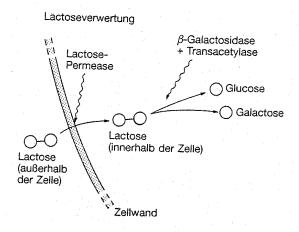


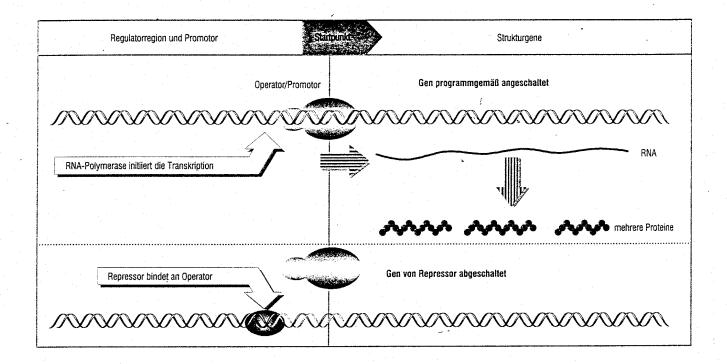


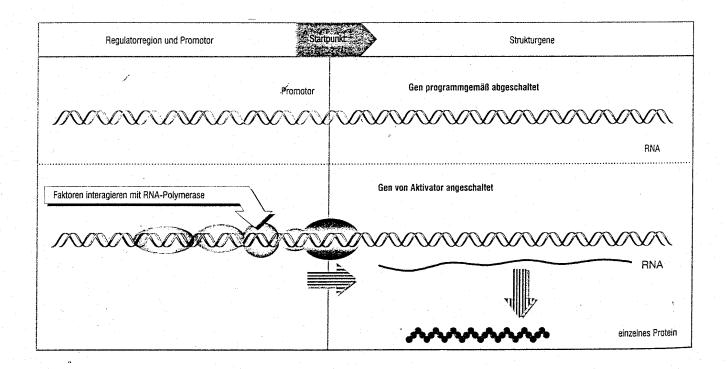


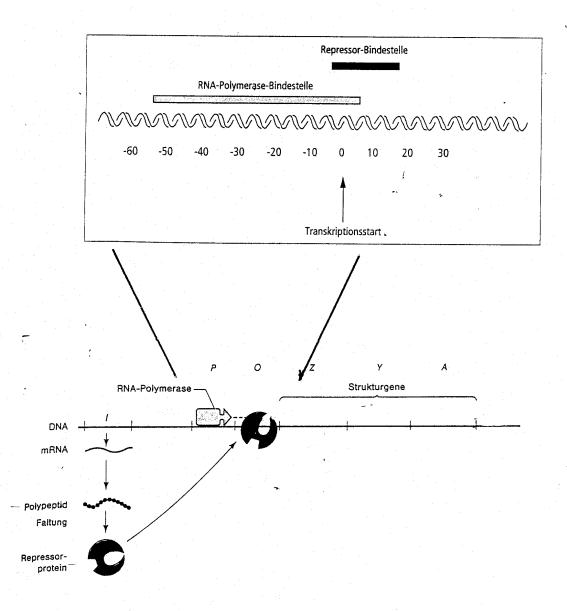


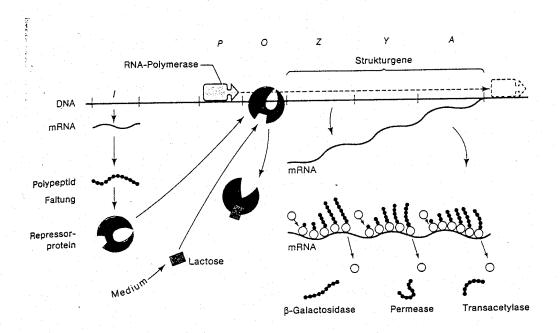












Eigenschaften des Tryptophan-Operons

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:

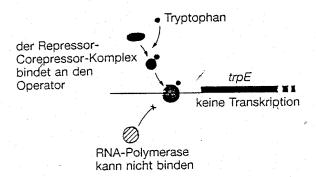


kein Tryptophan

der trp-Repressor kann nicht an den Operator binden P Transkription

RNA-Polymerase kann binden trp-mRNA

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 Abwesenheit 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.

