Molekulare und genetische Grundlagen der Entwicklung

1

Seit Mendels bahnbrechenden Entdeckungen in seinem Garten hat sich ein Prinzip fest etabliert: Wachstum, Entwicklung und Reaktion auf Umwelteinflüsse werden selbst beim einfachsten Mikroorganismus durch die programmierte Expression seiner Gene bestimmt.

Taiz und Zeiger [150]

Ein gutes Verständnis der grundlegenden Prozesse bei der Realisierung der auf den Gegen codierten Information und den zahlreichen Regulationsmöglichkeiten dieses Prozesses ist Grundlage und Schlüssel zugleich für die zunehmend biochemisch–molekularbiologische Herangehensweise auch an die Pflanzenphysiologie.

Der Weg zu einem mechanistischen Verständis der Vorgänge ist noch weit. Doch es zeichnet sich bereits ab: Alle Lebensvorgänge lassen sich mit Prozessen der Genexpression in Zusammenhang bringen. Leben wird zu einem wesentlichen Teil durch die hochgradig regulierte Verarbeitung von Information bestimmt.

Diese im eigentlichen Sinne biochemisch/molekularbiologisch/genetische Ebene löst zunehmend die klassischen Methoden der Physiologie ab. Sie ist Fundament und Bindeglied aller Disziplinen der Life Science *bis hin zur Bioinformatik.*

Mini–Glossar

differentielle Genexpression Ausprägung eines bestimmten, im genetischen Material verankerten Merkmalskomplexes im Verlauf der Entwicklung; Folge einer differentiellen Genaktivierung oder –inaktivierung

Gen DNA–Abschnitt, der eine Polypeptidkette codiert [87]

Genom Gesamtheit aller Gene eines Organismus

Processing posttranskriptionelle (mRNA) bzw. posttranslationelle (Proteine) Veränderung von mRNA und Proteinen durch Verkürzung etc.

Promoter Regulationselement eines Gens, initiiert Funktion der RNA–Polymerase [57]

Splicing Schneiden des primären RNA–Transkriptes; führt zum endgültigen RNA–Transkript

1.1 Die DNA: Träger der genetischen Information

1.1.1 Die DNA ist Träger der genetischen Information

- Mendel (1850er): Es gibt diskrete Informationseinheiten im Erbgut, die getrennt voneinander vererbt werden (→ Gene)
- Avery (1940er): Die DNA ist Trägerin der genetischen Information

1.1.2 Die DNA ist ein doppelhelikales Molekül

- Watson/Crick 1953: Die DNA ist ein doppelhelikales Molekül
  - Gleichzeitig mit der Struktur postulieren die beiden einen Replikationsmechanismus.

> We wish to suggest a structure for the salt of deoxyribose nucleic acid (D.N.A.). This structure has novel features which are of considerable biological interest...
>
> This structure has two helical chains each coiled round the same axis ... each chain consists of phosphate diester groups joining β–D–deoxyribofuranose residues with 3',5' linkages. The two chains (but not their bases) are related by a dyad perpendicular to the fibre axis. Both chains follow righthanded helices, but woing to the dyad the sequences of the atoms in the two chains run in opposite directions. Watson und Crick [163]

1.1.3 Der genetische Code besteht aus Tripletts der vier Buchstaben

- 1960er?: Der genetische Code besteht aus Tripletts der 4 Buchstaben der Nukleinsäuren

First position (5' end)	Second position U	C	A	G	Third position (3' end)
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	STOP	STOP	A
	Leu	Ser	STOP	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	MET	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

Tab. 1.1: Der genetische Code. Diese Tabelle identifiziert die Aminosäuren, die von jedem Triplett codiert werden. Zum Beispiel codiert das Codon 5' AUG 3' auf der mRNA für Methionin. UAA, UAG und UGA sind Terminationssignale. AUG ist Teil des Initiationssignals, zusätzlich zu seiner Codierung für interne Methioninreste. Aus Berg et al. [10]

- Es gibt 64 verschiedene Tripletts, aber nur 20 verschiedene von diesen codierte Aminosäuren.

  → **Degeneration** des genetischen Codes; führt zu Phänomenen wie *codon bias* und *GC skew*

- Wobble–Hypothese

➤ Der dritte Buchstabe eines Tripletts des genetischen Codes ist nach der Wobble–Hypothese flexibel und gewährt größere Freiheit bei der Erkennung durch die tRNA als die ersten beiden Buchstaben. [57]

Codierungspotential

Codierungs-potential

▲ **Codierungspotential** *coding potential*, spezifische Muster der Codon–Verwendung, die sich von den Triplett–Häufigkeiten nichtcodierender Regionen unterscheidet. [45]

Es existiert eine Korrelation zwischen dem Codierungspotential und der Wahrscheinlichkeit, daß es sich bei einer bestimmten DNA–Region um eine Protein–codierende Sequenz handelt. Aus diesem Grund ist das Codierungspotential der Kern vieler Genidentifizierungs–Programme, um ORFs grob zu lokalisieren. [66]

biologische Hintergründe Die unterschiedlichen Häufigkeiten von Nukleotiden für jede Position in einem Triplett (Codierungspotential) haben ihre Ursache im genetischen Code und der (ebenfalls nicht zufälligen) Anordnung und Häufigkeit von Aminosäuren in Proteinen. Folgende Häufigkeiten und biologische Begründungen lassen sich festhalten:

- **1. Position im Triplett**: `G`

  Häufig in Proteinen auftretende Aminosäuren werden mit `G` an der 1. Stelle des Codons im genetischen Code codiert.

- **2. Position im Triplett**: `A`/`T`

  Die zweite Position des Codons entscheidet meist darüber, ob die betreffende Aminosäure hydrophil oder hydrophob ist.

- **3. Position im Triplett**: relativ variabel

  Die dritte Stelle des Codons ist für die Aminosäure–Codierung meist redundant. Sie dient daher der Anpassung an das Milieu auf der DNA (`GC`–reich oder `AT`–reich).

Weiter kommt hinzu, daß nicht alle tRNA–Species in allen Organismen verhanden sind. Das führt zu sogenannten **codon usage statistics** [55], Abweichungen der Codonhäufigkeiten in codierenden Bereichen von den mittleren Häufigkeiten, die ihrerseits als schwaches Signal zur Identifizierung von Genen herangezogen werden können.

codon usage statistics

CONCEPT CHECK 1.1

✓

1.2 Pflanzliche Genome

▲ **Gen** Als Gen bezeichnen wir einen DNA–Abschnitt, der eine Polypeptidkette codiert [87]. Manche Autoren schließen in diesen Begriff die codierenden Sequenzen für rRNAs und tRNAs mit ein [138].

Tab. 1.2: Die Nucleotidverteilung an den drei Codonpositionen für die translatierte Exonsequenz in *A. thaliana*. Das nicht organismenspezifische Leserahmen–Muster "G/nicht–G" der ersten beiden Codonpositionen ist klar sichtbar. Aus Hebsgaard et al. [55]

Nucleotide	Position 1	Position 2	Position 3
A	0.29	0.31	0.23
C	0.19	0.23	0.21
G	0.34	0.18	0.23
T	0.18	0.28	0.33

- Begriff Genom
  - "Im Gegensatz zu dem Begriff "*Genom*", der kurz nach dem ersten Weltkrieg vom deutschen Botaniker Hans Winkler [166, 12] geprägt wurde, ist der Begriff "*Proteom*" vergleichsweise jung: Er taucht zum ersten mal in Papers von Mark Wilkins and Keith Williams [165] in der wissenschaftlichen Literatur auf." [5, p. 16]
- Proteom

  Proteom–Analyse beschäftigt sich nicht ausschließlich mit der Bestimmung von Sequenz, Lokation und Funktion von Protein–codierenden Genen, sondern ist genauso eng befaßt mit der Erforschung des präzisen biochemischen Zustandes jedes Proteins in seiner posttranslationalen Form. Diese aktiven und funktionalen Formen der Proteine wurden in einigen Fällen erfolgreich durch die Nutzung von *machine–learning techniques* vorhergesagt. [5, p. 16]

Die DNA von Eukaryoten weist gegenüber der von Prokaryoten eine Reihe von Besonderheiten auf:

- **Promotoren**
  Die Promotoren sind nur schwach konserviert und sehr variabel.
- **regulatorische Proteine**
  Viele regulatorische Proteine binden an die DNA (Aktivatoren, Repressoren; Enhancer, Silencer), und das teilweise bis zu 85 kb vom regulierten Gen entfernt.
- **räumliche Struktur**
  Die räumliche Struktur der DNA spielt eine große Rolle.
- **alternatives Splicen**
  Möglichkeit zur Aufklärung der Differenz zwischen der Zahl der Vorhergesagten Gene und der der cDNAs.

  cDNA: copy DNA bzw. complementary DNA, entsteht aus Rückschreiben der mRNA mittels reverser Transkriptase und enthält deshalb keine Introns mehr.
- **repeats**
  Bis zu 50% des eukaryotischen Genoms bestehen aus repetitiven Sequenzen (*repeats*): Satelliten–DNA, dispersed repeats (SINEs, LINEs), low–complexity regions, microsatellites, triplett diseases
- **wenig codierende Sequenzen**
  Nur 1–2 % des gesamten Genoms sind Protein–codierend. Das macht die Genidentifikation extrem schwierig

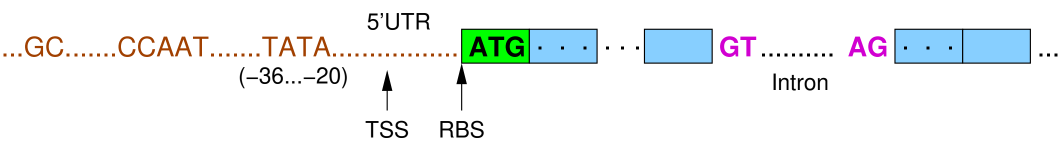

Abb. 1.1: Typischer Aufbau eines eukaryotischen Gens (schematisch). Die Besonderheit des eukaryotischen Gens sind die langen Introns, die die codierenden Abschnitte (Exons) eines Gens unterbrechen. TSS — *Transcription start sequence*, RBS — *ribosome binding site*. Die mittlere Länge eines Exons beträgt ca. 150 bp (z.T. nur 9 bp), die eines Introns 50 bp . . . 100 kb.

- **Intronlänge**
  Die Introns sind typischerweise *wesentlich länger* als Exons.

- **Komparimentierung**
  Das genetische Material der Eukaryoten ist sowohl im Kern als auch in Plastiden und Mitochondrien lokalisiert. Zwischen den einzelnen Kompartimenten findet ein Austausch von genetischem Material und Informationsübertragung statt.

1.2.1 Die Genomgröße bei Pflanzen variiert stark

➤ Die Genomgröße in Pflanzen variiert stärker als in jeder anderen Gruppe von Eukaryoten. [150]

➤ Gegenwärtiger Konsens ist, daß die Genome der meisten Pflanzen zwischen 20.000 und 30.000 Genen enthalten. [150]

Zoglauer

- Größe und Komplexität des Genoms
  - DNA–Menge im Kerngenom
    - Pflanzen: $10^9 - 10^{11}$ bp
      - Mais: $5.5 \cdot 10^7$ bp / haploides Genom $\triangleq$ 5.5 pg
      - *Arabidopsis thaliana* 0.07 pg
      - *Fritillaria davisii* 98.35 pg
  - Anzahl der Gene
    - *Arabidopsis*: 25.000
    - allgemein: 28–32.000

    → wichtige Proteine werden durch Multigenfamilien codiert
  - Korrelation zwischen Genomgröße und Komplexität der Organismen

    - C–Wert–Paradoxon: Es gibt keine direkte Beziehung zwischen der Größe eines Genoms und der Komplexität des Organismus [17]
    - C–Wert basale DNA–Menge
  - hochrepetitive DNA
    - $10^5 - 10^6$ Kopien
  - mittelrepetitive DNA
    - $10^2 - 10^4$
    - mtDNA, ptDNA, tRNA/rRNA–Gene
  - unique/single copy DNA
    - $1 - 10^2$ Kopien

- *Arabidopsis*
  - Ackerschmalwand, Brassicaceae
  - Vorteile
    - kurze Generationsfolge
      - im Labor sechs Wochen
    - Größe des Genoms
      - kleinstes Genom unter den höheren Pflanzen
      - 25.000 Gene

        > The genome contains 25,498 genes encoding proteins from 11,000 families, similar to the functional diversity of Drosophila and Caenorhabditis elegans — the other sequenced multicellular eukaryotes. [2]
      - $7 \cdot 10^7$ bp
      - nur ca. 10% des Genoms hochrepetitive DNA

> Arabidopsis has many families of new proteins but also lacks several common protein families, indicating that the sets of common proteins have undergone differential expansion and contraction in the three multicellular eukaryotes. This is the first complete genome sequence of a plant and provides the foundations for more comprehensive comparison of conserved processes in all eukaryotes, identifying a wide range of plant-specific gene functions and establishing rapid systematic ways to identify genes for crop improvement. [2]

1.2.2 Polyploidie ist ein typisch pflanzliches Phänomen

Polyploidie

Wir sprechen von **Polyploidie**, wenn ganze Chromosomensätze mehrfach in demselben Genom vorliegen. Es gibt prinzipiell zwei Formen der Polyploidisierung:

1. **Autopolyploidie**
   Vervielfachung des eigenen Chromosomensatzes; tritt spontan auf oder wird künstlich in der Züchtung hervorgerufen

2. **Allopolyploidie**
   Genome verschiedener Pflanzenarten verschmelzen in einer Pflanze miteinander. Bsp.: Brassica ... × ...

Allopolyploide Pflanzen sind oft steril, weil durch die verschiedenen Genome die Chromosomenpaarung in der Meiose gestört ist. Das kann in der Züchtung durch einen Trick behoben werden: Durch künstlich erzeugte Tetraploidie (z.B. durch Colchizin) kommt es zur Paarung der Chromosomen mit sich selbst.

Allopolyploidie ist bei normalen Wildpflanzen weit verbreitet. Der Raps ist z.B. vor ca. 2000 Jahren spontan im Mittelmeerraum entstanden. Aber: Allopolyploide Hybride sind oft weniger fertil.

Das Phänomen der Allopolyploidie führt dazu, daß die Artdefinition bei Pflanzen anders als bei Tieren nicht über die Kreuzbarkeit mit fertilen Nachkommen geführt werden kann ("bei Pflanzen kreuzt alles mögliche durcheinander").

➤ Pflanzen bilden im Gegensatz zu Tieren **keine exklusiven Fortpflanzungsgemeinschaften**.

Polysomatie

Ein weiteres nur bei Pflanzen auftretendes Phänomen ist die **Polysomatie**: In derselben Pflanze kommen (somatische) Zellen mit unterschiedlichen Ploidiestufen vor.[1]

1.2.3 Nach ihrer Funktion können homöotische und Strukturgene unterschieden werden

Zoglauer

- zwei Gruppen von Genen
  (a) Strukturgene/Effektorgene
  (b) Regulatorgene
    - homöotische Gene
    - codieren für Transkriptionsfaktoren
    - Beispiel: Zellidentitätsgene, Meristem–/Organidentitätsgene
- Steuerung der Zelldifferenzierung

[1] Strenggenommen gilt das zumindest für alle Angiospermen: In der Samenanlage entsteht das *triploide* Endosperm durch Verschmelzung der beiden verbleibenden Kerne der Embryosackmutterzelle und eines Spermakerns aus dem Pollen; vgl. Kap. 6.4.4, S. 166.

1. induzierendes Signal und Signalwahrnehmung
2. Expression von Genen, die die Zellidentität spezifizieren
3. Expression von Genen, die für die spezifische Funktion der Struktur der differenzierten Zelle verantwortlich sind
4. Genprodukte entfalten ihre Wirksamkeit, verändern die Zellstruktur, so daß die Zelle im ausdifferenzierten Zustand ihre Funktion erfüllen kann

- homöotische Gene
  - dramatische Beeinflussungen der ganzen Entwicklung durch Mutationen
    → homöotische Mutationen
  - Bsp.: gefüllte Blüten
    "falsches Organ zur falschen Zeit am falschen Ort"
  - Begriff ursprünglich aus der Drosophila–Genetik

1.2.4 Transposons sind mobile genetische Elemente

Zoglauer

- Transposoms — springende Gene
  - entdeckt von Barbara McClintock[104] (1940er, Nobelpreis 1983)
  - in riesigen Mengen im Genom vorhanden
    - Schätzung bei Menschen: 10% des Genoms
  - meiste harmlos und stabil, nur wenige mit hoher Frequenz des Ein– und Ausbaus

CONCEPT CHECK	1.2
✓	

1.3 Zellzyklus

- Zellteilung i.d.R. nur bei weitgehend undifferenzierten Zellen
- Zellen verlassen zur Differenzierung den Zellzyklus (sind arretiert)
- vgl. Abb. 1.2

CONCEPT CHECK	1.3
✓	

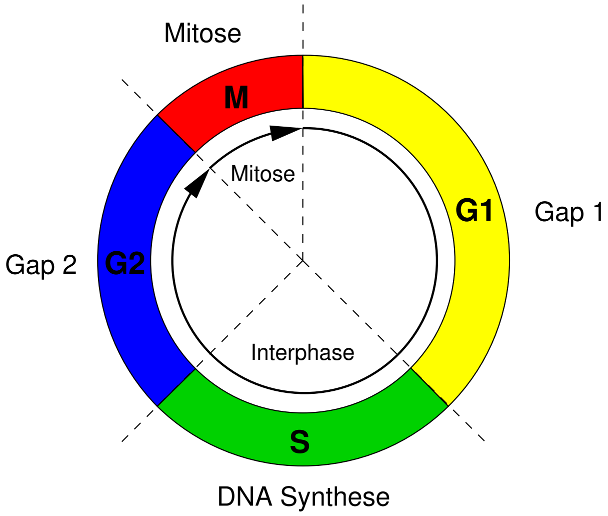

Abb. 1.2: Phasen des Zellzyklus. Mikroskopische Untersuchungen ergaben zwei eindeutige Zustände: (1) die durch Kondensation der Chromosomen und Kernteilung charakterisierte Mitose und (2) die Interphase, in der die Chromosomen diffus erscheinen und sich die Zelle nicht teilt. Die Entdeckung, daß die DNA–Synthese in der Interphase abläuft, führte zur Identifikation von vier Phasen des Zellzyklus: Mitose (M), DNA–Synthese (S) und zwei Lückenphasen (Gap–Phasen, G1 und G2), die diese beiden Ereignisse voneinander trennen. [17]

1.4 Zellteilung: DNA–Replikation und Mitosezyklus

1.4.1 Die DNA–Replikation ist semikonservativ

- semikonservative Replikation von Watson und Crick schon 1953 postuliert [163, 162]

  > It has not escaped our notice that the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material. [163]

  > Despite these uncertainties we feel that our proposed structure for deoxyribonucleic acid may help to solve one of the fundamental biological problems—the molecular basis of the template needed for genetic replication. The hypothesis we are suggesting is that the template is the pattern of bases formed by one chain of the deoxyribonucleic acid and that the gene contains a complementary pair of such templates.

- Okazaki–Cairns Modell
- ...

BOX 1.1: *Hintergründe* — MESELSON–STAHL–*Experiment*

Einfaches wie geniales Experiment zum Nachweis der semikonservativen Replikation der DNA (1957) [106].
Methodik: Anzucht von Zellen zunächst auf ^{15}N–Medium mit anschließender Dichtegradienten–Zentrifugation, danach Anzucht auf ^{14}N–Medium und Massebestimmung nach einer und zwei Zellteilungszyklen.
Ergebnisse: Bei der ersten Zentrifugation existiert eine Bande "schwere" DNA, bei der zweiten eine Bande "mittelschwere" DNA. Ab der dritten Zentrifugation existieren zwei Banden mit "leichter" und "mittelschwerer DNA".
Interpretation: Die DNA–Replikation läuft semikonservativ, d.h. je an einen parentalen Strang wird ein (komplementärer) neuer Strang ansynthetisiert.

Die Ergebnisse decken sich mit dem von WATSON und CRICK schon 1953 postulierten [163, 162] Replikationsmechanismus der DNA.

Mibi–Skript

- semikonservativ
- Auftrennung der beiden DNA–Stränge
  - Voraussetzung für die Replikation
  - relativ komplizierter Vorgang
  - unter Beteiligung von Enzymen
    - Topoisomerasen
    - Helicase
      - zieht Helix der DNA auseinander
- Synthese der Tochterstränge
  - durch/an DNA–Polymerasen
  - Replikationsgabel
    - *replication fork*
    - Ort der Neusynthese der Tochterstränge
  - Chemie
    - Phosphodiesterbindung schließt eine hydrophile Attacke des 3'–OH–Endes des letzten Nucleotids auf das 5'–Ende der Triphosphatkette ein
    - Freisetzung von Polyphosphat
  - Nucleotid
    - Base + Zucker (Desoxyribose) + Phosphatrest
  - Vorgang an den DNA–Polymerasen
    1. Transphosphorylierung
    2. Hydrolyse des Pyrophosphates
- Vorwärts–Strang

  - *leading strand*
  - wird von der Polymerase III in einem Zug synthetisiert

- Rückwärts–Strang
  - *lagging strand*
  - Synthese in Abschnitten
    * **Okasaki–Fragmente**
    * ein Abschnitt ca. 2000 bp
  - Grund
    * Synthese nur in 3'–5'–Richtung möglich

  → semikonservative Replikation

- Aufgabe der DNA–Polymerase I
  - Abbau der RNA–Primer
  - Ersetzung durch DNA–Sequenzen

- Ligase
  - verbindet Einzelstücke (Okasaki–Fragmente) des langing strand

1.4.2 Morphologisch: Mitose und Teilungswachstum

- Pflanzen bestehen bis auf die Meristeme aus nicht mehr teilungsbereiten ausdifferenzierten Zellen.

- Meristeme stellen die große Ausnahme dar: Sie bestehen aus teilungsbereiten Zellen, deren Aufgabe es ist, durch Zellteilungen neue Zellen zu produzieren. (vgl. Band 1, Kap. 2, S. 12)

Achtung: Bei Pflanzen gibt es *keine* Centriolen!

Prophase

- Beginn der Kondensation des Chromatins (2 Schwesterchomatiden werden sichtbar)

- Nucleolus löst sich auf

- Beginn der Ausbildung der Mitosespindel außerhalb des Zellkerns

- Die *Centriolen*, die sich schon vor Beginn der S–Phase zu teilen begonnen haben, organisieren die Teilungsspindel (Mitosespindel).
  - cytoplasmatische Mikrotubuli (MT) des Cytoskeletts werden depolymerisiert; → die Zelle rundet sich ab

- aus dem entstandenen Reservoir an Tubulinuntereinheiten Aufbau der MT der Spindel
  - zunächst sternförmig um die Centriolen angeordnet (→ *Astral–MT, Aster*)
- ein Centriolenpaar wandert auf die gegenüberliegende Seite des Zellkerns

  → zwei Aster sichtbar
- Centriolen bilden nun die beiden Pole der Kernteilungsspindel
- Die *Pol–MT* erstrecken sich von einem Pol bis über den Spindeläquator hinaus und überlappen ein Stück weit mit den vom anderen Pol ausstrahlenden MT
- Reife Kinetochoren (Proteinkomplexe, s. u.) bilden sich an der Centromerregion jeder Schwesterchromatide

Prometaphase

- Auflösung der Kernhülle; ihre Überreste unterscheiden sich morphologisch kaum vom ER
- Spindel dringt ins Nucleoplasma ein
- Ausbildung der *Kinetochore*
- Spindelmikrotubuli (*Kinetochor–Mikrotubuli*) setzen an den senkrecht zur Chromosomenachse und parallel zu den Polfasern stehenden Kinetochoren an
- gleitende Bewegung zwischen den MT bewegt die Chromosomen

Metaphase

- Die Chromosomen sind unter dem Einfluß der Kinetochor–MT in der Metaphaseplatte senkrecht zur Spindel angeordnet.
- Zugkräfte zu beiden Polen gleich

Anaphase

- plötzliche Trennung der Schwesterchromatiden, die bisher noch an den Centromeren zusammenhingen
- Verkürzung der Kinetochor–Mikrotubuli:
  - Chromosomen werden zu den Spindelpolen gezogen

  - Kinetochoren gehen voran und ziehen die Arme der Chromosomen nach
  - Bewegungsgeschwindigkeit ca. 1 μm pro min. (zum Vergleich: ø Zellkern ca. 5–7 μm)

- *Pol–MT* werden länger und gleiten aneinander vorbei; dadurch werden die Pole voneinander weggestoßen

Telophase

- Die Tochterchromatiden sind an den Zellpolen angekommen.
- Die *Kinetochor–Mikrotubuli* werden zunehmend kürzer, depolymerisieren
- Die Pol–MT verlängern sich zunächst weiter (→ Pole weichen noch weiter auseinander) und werden dann bis auf einen Rest abgebaut.
- Bildung der Kernhüllen; Chromatin dekondensiert; Nucleoli bilden sich

CONCEPT CHECK 1.4

✓

1.5 Zelldifferenzierung: Realisierung der genetischen Information durch differenzielle Genexpression

▲ **differentielle Genexpression** Ausprägung eines bestimmten, im genetischen Material verankerten Merkmalskomplexes im Verlauf der Entwicklung; Folge einer differentiellen Genaktivierung oder –inaktivierung.

Gene können nach der Art ihrer Expression unterschieden werden:

(a) Gene, deren Produkte für grundlegende Funktionen der Zelle essentiell sind, werden permanent exprimiert, man spricht auch von **konstitutiver Expression**.

(b) Gene, die in der Entwicklung und Differenzierung einer Zelle eine wichtige Rolle spielen, sind hochgradig **reguliert**. Sie werden nur in wohldefinierten Stadien der Entwicklung exprimiert.

➤ Entwicklungsbiologische Studien haben gezeigt, daß jedes pflanzliche Organ eine große Zahl organspezifischer mRNAs enthält. [150]

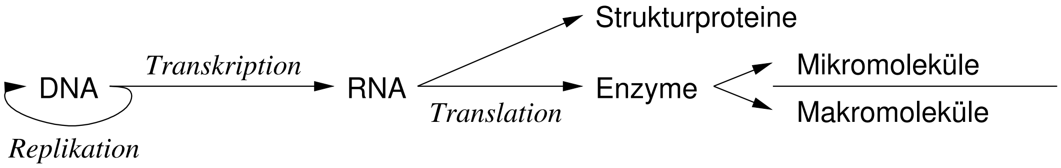

Abb. 1.3: 1. Hauptsatz der Molekularbiologie ("Zentrales Dogma", Crick, 1958, vgl. Crick [26]): Der Fluß genetischer Information ist nur von DNA zu DNA oder von DNA über RNA zum Protein möglich. Aus Czihak et al. [31]

1.5.1 Die Hauptsätze der Molekularbiologie geben die Richtung des Informationsflusses wieder

1. Hauptsatz der Molekularbiologie, Zentrales Dogma

> *DNA steuert ihre eigene Replikation und ihre Transkription zu RNA, die ihrerseits ihre Translation zu Proteinen steuert. [159]*

- "zentrales Dogma"[2], Crick (1958)

2. Hauptsatz der Molekularbiologie

> *Eine umgekehrte Informationsübertragung ist nur von RNA auf DNA, nicht von Proteinen auf RNA möglich.*

$$\text{DNA} \quad \rightleftharpoons \quad \text{RNA} \quad \rightarrow \quad \text{Proteine}$$

- notwendig geworden durch die Entdeckung der Reversen Transkriptase
  - *reverse transcriptase*, RNA–abhängige DNA–Polymerase
  - Enzym, das RNA in DNA (zurück–)schreiben kann
  - Entdeckung: Temin [151] und Baltimore [6] (1970), unabhängig voneinander
    dafür zusammen mit Renato Dulbecco Nobelpreis für Medizin 1975

[2]Die eigenartige Verwendung des Wortes "Dogma", das u.a. definiert werden kann als "eine religiöse Lehre, die der wahre Gläubige nicht anzweifeln kann", rührt von einem Mißverständnis her: Als Crick das Zentrale Dogma formulierte, stand er unter dem Eindruck, daß das Wort Dogma soviel bedeute wie "eine Idee für die es keinen angemessenen Beweis gibt". [159]

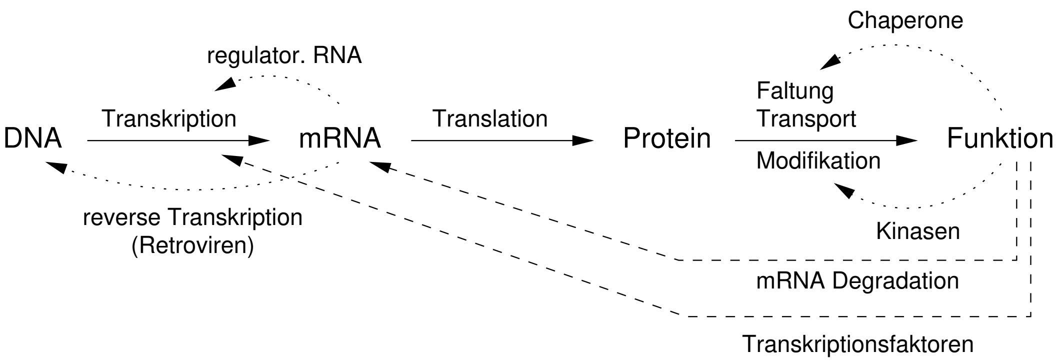

Abb. 1.4: Schema der Realisierung der auf den Genen codierten Information. Dem Schema zugrunde liegt das Zentrale Dogma der Molekularbiologie (*Central Dogma*, Crick [27]), daß der Informationsfluß immer von der DNA über die RNA zum Protein hin gerichtet ist. Erst mit der Entdeckung der Reversen Transkriptase 1970 [151, 6] wurde die Grundlage für heute in der Genomforschung wichtige Verfahren (z.B. cDNA) gelegt.

> Die Entdeckung der reversen Transkriptase erregte unter den Biochemikern einiges Aufsehen: Sie wurde von manchen als Häresie gegen das Zentrale Dogma der Molekularbiologie wahrgenommen. Doch es gibt kein thermodynamisches Verbot der Reaktion der Reversen Transkriptase. Tatsächlich kann unter bestimmten Bedingungen Pol I in ähnlicher Weise RNA Templates kopieren. [159]

- Eine Informationsübertragung von Proteinen auf RNA findet biochemisch tatsächlich nicht in der Weise statt, daß die in der Aminosäure–Sequenz codierte Information auf RNA zurückgeschrieben würde. Das ist wegen der Degeneriertheit des genetischen Codes (eine Aminosäure kann von mehreren Codons codiert werden[3]) nicht möglich.

- Eine Informationsübertragung von Proteinen auf RNA und DNA im Sinn einer Regulation ist dagegen essentiell für die differentielle Genexpression (vgl. Abb. 1.4).

Die reverse Transkriptase ist das Schlüsselenzym wichtiger molekularbiologischer Untersuchungen

DNA hat gegenüber der RNA einen entscheidenden Vorteil: Sie ist stabil und langlebig.

- RNA ist aufgrund ihrer Einsträngigkeit thermodynamisch instabiler als DNA.

[3]Dabei ist es *nicht* egal, welches Codon verwendet wird: Z.B. dient die hohe Variabilität insbesondere der dritten Codonposition auf DNA–Ebene der Anpassung des GC–Gehaltes. Außerdem sind nicht alle tRNA–Species gleich häufig.

- RNAsen zersetzten die RNA hocheffektiv.
  Sie dienen dem Schutz vor fremdem Erbgut und sind z.B. bei Menschen auf allen Körperoberflächen vorhanden. Das macht das Arbeiten mit RNA im Labor extrem aufwendig.

Durch Rückschreiben von RNA in cDNA mittels reverser Transkriptase und anschließende PCR können bequem entwicklungsspezifische Expressionsmuster von Genen untersucht werden.

Die aus eukaryotischer mRNA rückgeschriebene cDNA hat den Vorteil, nur noch codierende Sequenzabschnitte zu enthalten (keine Introns mehr). In cDNA–Datenbanken hinterlegte Sequenzen von cDNAs ermöglichen daher eine effiziente und treffsicherere Suche nach homologen Genen ausgehend von extrahierter mRNA eines Organismus.

1.5.2 Die Transkription ist das Umschreiben der genetischen Information von DNA auf mRNA

▲ **Transkription** Der erste Schritt der Genexpression ist die Transkription, die Synthese einer mRNA–Kopie des DNA–Templates, das ein Protein codiert [1, 95].

- Unterschied zur Replikation
  - RNA
  - nur ein Strang
- Definitionen

  template strand dient als Matrize

  coding strand entspricht der mRNA–Sequenz

  Transkriptionseinheit zu RNA transkribierte DNA, die am Promoter beginnt und am Terminator endet
- Transkriptionseinheit immer länger als das Transkriptionsprodukt
- Promoter[4]
  - bestimmte Basensequenz

[4] Achtung: Promot**e**r, nicht Promot**o**r!

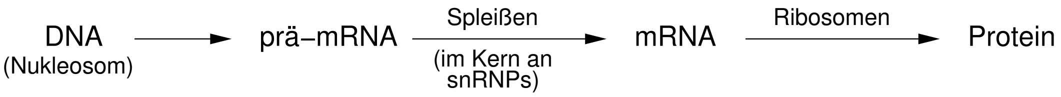

Abb. 1.5: Eukaryotische Genexpression (schematisch). Die Besonderheit der Eukaryoten ist das Spleißen (*splicing*) der prä–mRNA im Zellkern, d.h. das Herausschneiden der Introns.

  - Protein–DNA–Wechselwirkung
    * dient der Anheftung der RNA–Polymerase
  - Prokaryoten
    * −35– und −10–Region

- Terminator
  - Stop–Signal für Transkription

Eukaryotische Transkription unterscheidet sich in drei Punkten von prokaryotischer Transkription

1. Es gibt drei verschiedene RNA–Polymerasen (I, II, III)
   - RNA–Polymerase I dient der Synthese der meisten ribosomalen RNAs. Sie ist im Nucleolus lokalisiert.
   - RNA–Polymerase II ist verantwortlich für die prä–mRNA–Synthese. Sie ist im Kernplasma lokalisiert.
   - RNA–Polymerase III synthetisiert kleine RNAs wie tRNA und 5S rRNA. Sie ist ebenfalls im Kernplasma lokalisiert.
2. Eukaryotische RNA–Polymerasen benötigen zusätzliche Proteine, sogenannte **allgemeinen Transkriptionsfaktoren** (*general transcription factors*), für die Positionierung an der korrekten Startposition.
   - Der große, aus vielen Untereinheiten bestehende Komplex von Transkriptionsfaktoren und RNA–Polymerase wird als **Transkriptions–Initiations–Komplex** (*transcription initiation complex*) bezeichnet.
3. Eukaryotische Promotoren sind wesentlich komplexer als ihre prokaryotischen Counterparts.
   - Eukaryotische Promotoren können in zwei Teile, den **Kern– oder minimalen Promoter** und zusätzliche **regulatorische Sequenzen** unterteilt werden.
   - Der minimale Promoter stellt die minimale *upstream* gelegene Sequenz dar, die für die Genexpression notwendig ist.
   - Die regulatorischen Sequenzen kontrollieren die Aktivität des Kernpromoters.

1.5.3 Die Transkription wird durch RNA–Polymerasen vermittelt

Aufbau der (prokaryotischen) RNA–Polymerase

- bei Prokaryoten nur eine RNA–Polymerase (RNA–P)
  - durch verschiedene Gene codiert
    → verschiedene Untereinheiten
- 4 verschiedene Untereinheiten
  - α, β, β'
    * konstante Größe in den einzelnen Species
  - σ
    * stark abweichende Größe bei einzelnen Bakterienspecies
- aktives Zentrum
  - in β–β'–Komplex
- Core: 2 α, β, β'
  - hohe Affinität zueinander
  - reicht zur Bindung an die DNA
    * aber: nicht spezifisch
      → Promoter
- σ–Faktor
  - bestimmt Spezifität der DNA–Bindung
    → Erkennung eines bestimmten Promoters

eukaryotische RNA–Polymerasen

- 3 RNA–Polymerasen
- einzelne RNA–Polymerasen aus wesentlich mehr Untereinheiten
- vielfältige Transkriptionsfaktoren
  - analog zum σ–Faktor
- Hefe–RNA–Polymerase
  - meist Gruben mit Nucleinsäure–Bindungsstellen
  - untere Grube
    * 25 Å breit, 5–10 Å tief
    * Bindungsstelle für DNA
  - oberer Kanal
    * 12–15 Å weit, 20 Å tief
    * Bindungsstelle für RNA

1.5.4 Die Transkription läuft in vier Schritten ab

Stadien der Transkription

1. Erkennung spezifischer Matrizen–Sequenzen
   - RNA–P bindet an den DNA–Doppelstrang
   - DNA wird im Promoterbereich entwunden
2. Initiation
   - Ketten von 2–9 bp (Oligopeptide) werden synthetisiert und freigesetzt
   - bei Überschreitung der kritischen Kettenlänge von 9 bp Elongation
3. Elongation
   - RNA–P "gleitet" auf dem DNA–Strang entlang
     → Transkriptionsfaktor wird gelöst
   - "Gleiten"
     - ruckartiges Gleiten
     - diskontinuierliches Vorwärtsschreiten
     - daher bei der Initiation 9–10 bp synthetisierbar
       * obwohl die RNA–P festsitzt
   - RNA wird durch Basenpaarung mit einem DNA–Strang ("Matrizenstrang", template strand) synthetisiert
   - DNA–Blase
     - *Transkriptionsblase*
     - entwundene DNA
     - begleitet RNA–P
   - RNA–P erreicht das Ende des Gens
4. Termination
   - RNA–P und RNA werden freigesetzt
   - Wiederherstellung des DNA–Doppelstrangs

Promoter

- typischerweise 3 Komponenten
  1. Consensus–Sequenzen
     - bei −35 und −10
  2. Startpunkt der Transkription

3. Window
   - zwischen −35 und −10
   - 16–19 bp lang

- Stärke des Promoters
  - korreliert mit Häufigkeit des Ablesens
  - hängt mit Ähnlichkeit zu konservierten Sequenzen der −35– und −10–Region zusammen
  - starke Promotoren
    → starke Transkription
    → hohe Effektivität/Ausbeute (→ wichtig in der Gentechnik)

intrinsische Terminatoren

- in der DNA vorgegeben (codiert)
- mechanisch aufgrund der Struktur der mRNA ausgelöst
- G–C–reiche Region
  - gefolgt von U
- schließen Palindrom–Strukturen mit ein

  Palindrome Erkennungssequenzen aus vier, fünf oder sechs Basenpaaren [46]

  A palindrome is a word, phrase, number or any other sequence of units (like a thread of DNA) which has the property of reading the same in either direction (the adjustment of spaces between letters is generally permitted). The word palindrome comes from the Greek words palin (back) and dramein (to run) meaning running back. [...] In genetics, a palindromic DNA sequence can form a hairpin. `http://www.wikipedia.org/wiki/Palindrome`

  - Ausbildung von Haarnadelstrukturen
  - 7–20 bp

hier sagt sich die RNA–P: “Halt, was soll das ganze, diese Struktur hindert mich am Weitergleiten”, und macht erst mal eine Denkpause

- Haarnadel–/Bäumchenstruktur von neusynthetisierter mRNA gebildet
  - nie von DNA, dort nur codiert
- echte und Pseudo–Terminatoren
  - echte Terminatoren
    * rho–unabhängig
  - rho–abhängiger Terminator

Jetzt kann dieser rho–Faktor, der egtl. immer zu spät kommt, aufschließen.

    * rho–Protein unterstützt Ablösung der RNA–Polymerase am Terminator

➤ Transkriptionsfaktoren haben allgemein drei gemeinsame Strukturmerkmale: Eine DNA–Bindungs–Domäne, eine transkriptionsaktivierende Domäne und eine Ligandenbindungs–Domäne. [150]

➤ Betrachten wir die große Zahl der Kontroll–Elemente, die die Aktivität eines einzelnen Promoters beeinflussen können, dann erscheint die Zahl der Möglichkeiten der differentiellen Genexpression bei Eukaryoten nahezu unendlich groß. [150]

1.5.5 Posttranskriptionelles Processing

▲ **Processing** posttranskriptionelle (mRNA) bzw. posttranslationelle (Proteine) Veränderung von mRNA und Proteinen durch Verkürzung etc.

1.5.6 An der Translation sind zwei Komponenten beteiligt

tRNA

- Acceptorstelle für Aminosäuren
- Anticodon
  - Kontaktstelle für genetischen Code
- Aminoacyl–tRNA–Synthetase
  1. Aktivierung der Aminosäure
  2. kovalente Bindung an tRNA

Ribosom

- 2 Bindungsstellen für beladene tRNA
  - P = Peptidyl–Bindungsstelle, P–site
  - A = Aminoacyl–Bindungsstelle, A–site

1.5.7 Die Translation läuft in drei Schritten ab

▲ **Adaptorhypothese** [164] *adaptor hypothesis*, von Crick 1955 [159] zur Erklärung des Übersetzungsvorganges von Nucleinsäure–Sequenz in Aminosäure–Sequenz auf der Basis rein theoretischer Überlegungen entwickelte Hypothese.

Adaptor-hypothese

Die Hypothese beinhaltet die folgenden Postulate:

Aminosäuren binden nicht direkt an die Nucleotide des entsprechenden Codons.

- Ein Adaptormolekül stellt die spezifische Bindung an das Codon her. Es enthält Nucleotide, die sich mit dem Codon über H–Brücken paaren können (→ Erkennungsmechanismus über Basenpaarung).
- Es existiert ein hochgradig spezifisches Enzym, das die Aminosäure an den entsprechenden Adaptor bindet.

Der experimentelle Befund bestätigte diese Hypothese in allen Punkten: Als Adaptormolekül wurde die *transfer–RNA* (tRNA), als spezifische Enzyme die Aminoacyl–tRNA–Synthetasen gefunden.

Wobble-hypothese

▲ **Wobblehypothese** [164] *wobble hypothesis* (von engl. *wobble*, wackeln), von Crick zur Erklärung der Degeneration des Genetischen Codes (*genetic code degeneracy*) aufgestellte Hypothese. [159]

Postuliert, daß viele tRNAs an zwei oder drei unterschiedliche Codons binden, da die Basenpaarung des dritten Nucleotids eines Codons weniger spezifisch ist als diejenige der ersten beiden.

Sogenannte *isoaccepting tRNAs*, unterschiedliche tRNAs, die für die gleiche Aminosäure codieren und an verschiedene Codons binden.

Initiation

- erfordert 30S–Untereinheit und IF 3 (Initiationsfaktor 3)
- nur fMET–RNA entert den partiellen P–Site an der 30S–UE
  - fMET = Formyl–Methionin, nur bei Prokaryota
- Ribosomen–Bindungsstelle
  - mRNA
    - AGGAGG
    - hochkonserviert[5]: vor jedem Gen maximal 1–2 Basen ausgetauscht
  - 16S–rRNA
    - am 3'–Ende CCTCCT
    - 3'–Ende Anticodon zur Ribosomen–Bindungsstelle der mRNA
- polycistronische mRNA

[5] Dieser Begriff impliziert die evolutive Sicht, die betreffende Sequenz habe sich innerhalb der postulierten mehr als 2 Mrd. Jahre nur extrem wenig verändert. Sie wird vom Verfasser *nicht* geteilt.

polycistronische mRNA *polycistronischer Messenger*, mRNA, die das Transkript mehrerer Gene trägt [57]

- i. d. R. jedes Gen getrennt translatiert

Elongation

[164]

1. Bindung der entsprechenden Aminoacyl–tRNA
    - Codon–Erkennung
    - durch Elongationsfaktor
        - Protein
        - nicht permanent mit dem Ribosom gebunden
    - Bindung an die Aminoacyl–tRNA–Bindungsstelle
    - Energiebereitstellung durch Hydrolyse von GTP zu GDP
2. Bildung der Peptidbindung
    - durch Peptidyltransferase
        - integraler Bestandteil der großen Ribosomenuntereinheit
3. Translokation
    (a) unbeladene tRNa verläßt P–Bindungsstelle
    (b) Peptidyl–tRNA wird von der A– auf die P–Stelle verschoben
    (c) mRNA verschiebt sich um drei Basen
    - mindestens ein weiterer Elongationsfaktor beteiligt
        - benötigt GTP als Energiequelle

Termination

[164]

- an Stopcodons
    - UAA, UGA, UAG
    - normalerweise keine tRNA–Moleküle mit entsprechenden Anticodons
        - Ausnahme: sog. *Nonsense–Suppression*
    - Stopcodons werden von Terminationsfaktoren erkannt
- Bindung eines Terminationsfaktors

  - an das Stopcodon
  - aktiviert Peptidyltransferase
    * hydrolysiert Bindung zwischen tRNA und Polypeptid

    → Polypeptid löst sich vom Ribosom

- Ribosom dissoziiert in seine beiden Untereinheiten

1.5.8 Posttranslationelles Processing

CONCEPT CHECK 1.5

✓

1.6 Regulation der Genexpression und des Stoffwechsels

➤ Genregulation in Eukaryoten ist weit komplexer als in Prokaryoten. Diese größere Komplexität ermöglicht die Differenzierung von Zellen und Geweben und ist die Voraussetzung für die verschiedenen Lebenszyklen von Pflanzen und Tieren. [150]

In Prokaryoten ist die Translation mit der Transkription gekoppelt: Noch während der Transkription binden an die entstehende mRNA Ribosomen und beginnen mit der Translation. [150]

In Eukaryoten trennt die Kernhülle das Genom von der Translations–Maschinerie. Das Transkript muß erst in das Cytoplasma exportiert werden, bevor die Translation stattfinden kann. Diese Passage der Kernhülle ist eine zusätzliche Ebene der Kontrolle gegenüber Prokaryoten. [150]

Für eine Übersicht über die verschiedenen Regulationsprozesse und die Ebenen der Regulation der Genexpression vgl. Abb. 1.6, S. 33.

1.6.1 Die Transkription ist die am stärksten regulierte Phase der Genexpression

Eukaryotischen RNA–Polymerasen benötigen zahlreiche Transkriptionsfaktoren zur korrekten Bindung an die DNA

- Wie schon beschrieben benötigen eukaryotische RNA–Polymerasen zusätzliche Proteine, die sogenannten **allgemeinen Transkriptionsfaktoren** (*general transcription factors*), für die Positionierung an der korrekten Startposition.

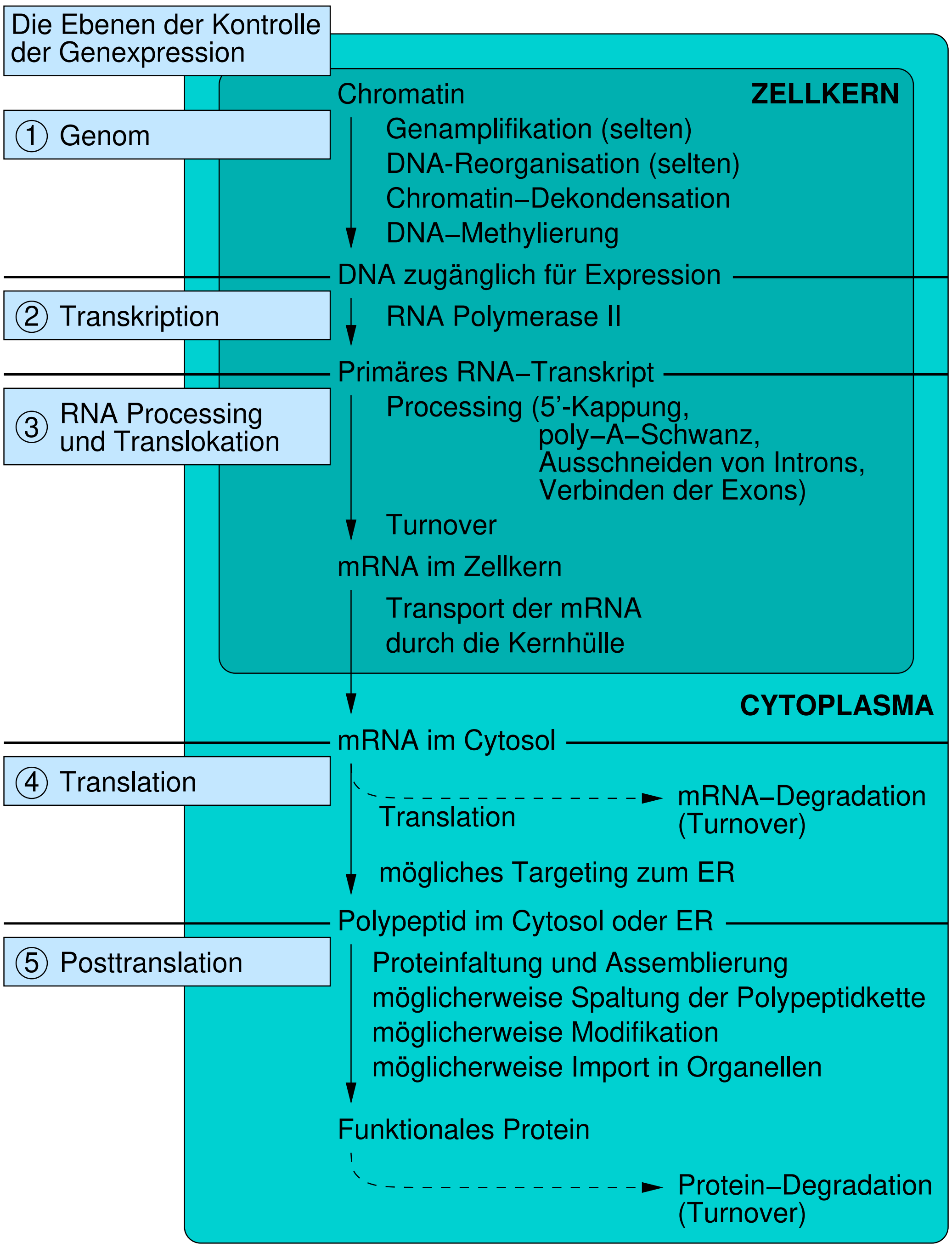

Abb. 1.6: Die Regulation der eukaryotischen Genexpression kann auf vielen Ebenen erfolgen: (1) Regulation auf Genom–Ebene durch Genamplifikation, DNA–Reorganisation, Chromatin–Dekondensation oder –Kondensation oder DNA–Methylierung; (2) Regulation auf Transkriptions–Ebene; (3) RNA–Prozessierung und RNA–Turnover im Zellkern, Transport der RNA über die Kernporen in das Cytosol; (4) Regulation auf Translations–Ebene (inklusive Bindung an das ER in manchen Fällen); (5) posttranslationale Regulation durch mRNA–Turnover im Cytosol, Faltung, Assemblierung Modifikation und Import von Proteinen in Organellen. Nach Becker et al. [8] aus Taiz und Zeiger [150], verändert.

– Der große, aus vielen Untereinheiten bestehende Komplex von Transkriptionsfaktoren und RNA–Polymerase wird als **Transkriptions–Initiations–Komplex** (*transcription initiation complex*) bezeichnet. Er besteht bei der RNA–Polymerase II z.B. aus sieben allgemeinen Transkriptionsfaktoren.

Eukaryotische Promotoren werden durch zahlreiche *cis*–acting sequences reguliert.

- Die eukaryotischen Promotoren lassen sich in den Kern– oder minimalen Promoter und die regulatorischen Sequenzen unterteilen. Letztere kontrollieren die Aktivität des Kernpromoters.

  Der Promoter ist dabei die DNA–Sequenz, an die spezifische Proteine, die Transkriptionsfaktoren, binden.

  – Die Promotoren jeder der drei RNA–Polymerasen unterscheiden sich voneinander.
  – Ein typischer minimaler Promoter der RNA–Polymerase II erstreckt sich ca. 100 bp *upstream* der Transkriptions–Initiations–Stelle. Er enthält verschiednene Sequenzelemente, die sogenannten **proximalen Promoter–Sequenzen**: die TATA–Box, die CAAT–Box und die GC–Box.
  – Die TATA–Box befindet sich ca. 25–35 bp *upstream* vom Transkriptionsstart. Sie spielt eine entscheidende Rolle in der Transkription: Hier wird der Transkriptions–Initiations–Komplex assembliert.
  – Die CAAT–Box und GC–Box sind zusätzliche regulatorische Sequenzen. Hier binden Transkriptionsfaktoren, die die Transkriptionsrate dadurch erhöhen, daß sie die Assemblierung des Initiations–Komplexes unterstützen.

➤ Die TATA–Box spielt eine entscheidende Rolle in der Transkription: Hier wird der Transkriptions–Initiations–Komplex assembliert.

- Die regulatorischen Sequenzen auf der DNA werden ***cis*–acting sequences** genannt, da sie in der Nähe der durch sie regulierten Transkriptionseinheiten liegen.
- Die Transkriptionsfaktoren, die an die regulatorischen Sequenzen auf der DNA binden, heißen ***trans*–acting factors**, da die Gene, die sie codieren, an anderen Stellen im Genom liegen, fernab der durch die Genprodukte regulierten Gene.
- Neben den *cis*–acting sequences des proximalen Promoters existieren noch zahlreiche andere regulatorische Sequenzen weiter *upstream* innerhalb eines Bereiches von 1000 bp vor der Transkriptions–Initiations–Sequenz, die sogenannten **distalen regulatorischen Sequenzen**.

▲ **distale regulatorische Sequenzen** *distal regulatory sequences* Außerhalb des proximalen Promoters liegende regulatorische Sequenzen innerhalb eines Bereiches von 1000 bp vor dem Transkriptionsstart. Die hier bindenden Transkriptionsfaktoren werden **Aktivatoren** (*activators*) bzw. **Repressoren** (*repressors*) genannt, je nach ihrer Wirkung auf die Transkription. [150]

➤ Die Regulation der Genexpression durch pflanzliche Hormone und Phytochrome schließt vermutlich die Deaktivierung von Repressor–Proteinen ein.

- *Cis*–acting sequences, die an der Genregulation durch Hormone oder andere Signale beteiligt sind, werden auch als **response elements** bezeichnet. Zahlreiche solcher Sequenzen wurden in Pflanzen identifiziert.
- Zusätzlich zu den regulatorischen Sequenzen im Promoter selbst existieren noch Kontroll–Elemente, die zehntausende von Basenpaaren vom Transkriptionsstart eines Gens entfernt liegen. Solche regulatorischen Sequenzen werden auch als **Enhancer** bezeichnet, wenn sie die Transkription positiv beeinflussen. Sie können sowohl *upstream* als auch *downstream* vom Promoter lokalisiert sein.

  Sundaresan et al. [144] haben nachgewiesen, daß viele für die Entwicklung wichtige Gene in Pflanzen durch solche Enhancer reguliert werden.
- Die Einflußnahme all dieser teilweise sehr weit vom Transkriptionsstart entfernt liegenden regulatorischen Sequenzen auf die Transkription eines Gens wird durch die Schleifenbildung der DNA zwischen dem Kernpromoter und den am weitesten entfernten regulatorischen Sequenzen ermöglicht. [150]

Transkriptionsfaktoren enthalten charakteristische Strukturmotive

-

Eukaryotische Gene können koordiniert reguliert werden

1.6.2 mRNA–Turnover im Zellkern ermöglicht posttranskriptionelle Kontrolle

mRNA–Turnover

Die Turnover–Raten der mRNA unterscheiden sich von RNA zu RNA und von Gewebe zu Gewebe, abhängig von den physiologischen Bedingungen. [150]

- **Expression von SSU5B in den Wurzeln von *Lemna gibba*** Ein Beispiel für die Regulation der Genexpression über mRNA Turnover ist die Expression von SSU5B in den Wurzeln von *Lemna gibba*. SSU5B codiert für eine kleine Untereinheit der Rubisco. Es konnte gezeigt werden, daß die im Vergleich zu den Blättern niedrige Expressionsrate von SSU5B in Wurzeln von *Lemna gibba* durch eine hohe Turnover Rate der prä–mRNA des SSU5B–Gens im Zellkern verursacht wird. [120]

Tab. 1.3: Übersicht über DNA–bindende Motive. Obwohl die Bindung eines Transkriptionsfaktors an die DNA individuell ist, existiert eine kleine Zahl hochkonservierter Strukturmotive, die die Bindung des Faktors an die DNA vermitteln.

Name	Beispiele	Schlüsselstrukturen
Helix–turn–helix	Transkriptionsfaktoren, die Gene in der Anthocyanin–Biosynthese regulieren	Zwei α–Helices, durch eine Windung (*turn*) in der Polypeptidkette getrennt; funktioniert als Dimer
Zinc finger	COP1 in *Arabidopsis*	Verschiedene Strukturen, in denen Zink eine wichtige strukturelle Rolle spielt; binden als Mono– oder Dimere an die DNA
Helix–loop–helix	GT Element–bindendes Protein der Phytochrom–regulierten Gene	Eine kurze α–Helix ist durch eine Schleife an eine längere α–Helix gebunden; funktioniert als Dimer
Leucine zipper	Fos und Jun	Eine α–Helix von ca. 35 Aminosäuren, die Leucin an jeder 7. Position enthält; Dimerisierung entlang der hydrophoben Oberfläche
Basic zipper (bZip)	Opaque 2 Protein in Mais, G–Box Faktoren Phytochrom–regulierter Gene, Transkriptionsfaktoren, die ABA Response–Elemente binden	Variation des Leucine zipper Motivs, in dem andere hydrophobe Aminosäuren Leucin ersetzen

1.6.3 Translationelle Kontrolle wird durch verschiedene Faktoren ausgeübt

Translatierbarkeit (*translatability*) der mRNA

RNAs können sich durch Basenwechselwirkungen zu Molekülen mit unterschiedlicher Sekundär– und Tertiärstruktur falten. Diese Faltung kann die Zugänglichkeit des Startcodons der Translation (AUG) für die Ribosomen beeinflussen. [150]

codon usage

Wie schon angesprochen codieren verschiedene Tripletts für dieselbe Aminosäure (Degeneriertheit des genetischen Codes). Jede Zelle hat eine charakteristische Konzentrationsverteilung der verschiedenen tRNA–Species, auch **codon bias** genannt. Enthält ein Transkript überwiegend Codons, deren zugehörige tRNA–Species nur in geringer Konzentration in der Zelle vorhanden sind, verringert das die Translationsgeschwindigkeit. [150]

codon bias

zelluläre Lokalisation

Der Ort der Translation einer mRNA scheint die Geschwindigkeit der Translation entscheidend zu beeinflussen: Die Geschwindigkeit der Translation an freien Polysomen unterscheidet sich deutlich von der an Polysomen, die an das ER gebunden sind.

Für jede dieser verschiedenen Regulationsmöglichkeiten gibt es experimentelle Befunde. Trotzdem gilt:

➤ Die Expression der meisten eukaryotischen Gene scheint, wie ihr prokaryotisches Gegenstück, auf der Ebene der Transkription reguliert zu werden. [150]

1.6.4 Posttranslationelle Kontrolle ist durch Protein–Turnover und Protein–Modifikationen möglich

Ubiquitin reguliert den Protein–Turnover

Ubiquitin ist ein kleines Polypeptid von 76 AS Länge.

Ubiquitinierung eines Enzyms markiert dieses Molekül für den Abbau durch einen großen ATP–abhängigen proteolytischen Komplex, das **26S–Proteasom**, der das markierte Enyzm spezifisch erkennt [24].

Über 90% der kurzlebigen Proteine in eukaryotischen Zellen werden über den Ubiquitin–Weg abgebaut [82].

Der Turnover cytosolischer Proteine in Pflanzen wird ebenfalls über den Ubiquitin–Weg reguliert [139].

Enzyme können u.a. durch ihren Phosphorylierungszustand in ihrer Aktivität reguliert werden

➤ Jeder Schritt der eukaryotischen Genexpression kann potentiell den Anteil des Genproduktes in der Zelle zu jeder Zeit regulieren. [150]

CONCEPT CHECK **1.6**

✓

Zusammenfassung und Wiederholung

Die DNA: Träger der genetischen Information

■

Pflanzliche Genome

■

Zellzyklus

■

DNA–Replikation und Mitosezyklus

■

Differentielle Genexpression

■

Regulation der Genexpression und des Stoffwechsels

■

URL Aktuelle Informationen und Links zu diesem Kapitel im Internet unter http://www.till-biskup.de/botanik/band2/kapitel1.html

Fragen

Die DNA: Träger der genetischen Information

1.

Pflanzliche Genome

1.

Zellzyklus

1.

DNA–Replikation und Mitosezyklus

1.

Differentielle Genexpression

1.

Regulation der Genexpression und des Stoffwechsels

1.

weiterführende Literatur

Buchanan B, Gruissem W, Jones R, (Hg.) (2000) Biochemistry and Molecular Biology of Plants, American Society of Plant Physiologists, Rockville

Hennig W (1998) Genetik, Springer, Berlin Heidelberg, 2. Aufl

Lewin B (1997) Genes VI, Bd. 6, John Wiley & Sons, New York

Madigan MT, Martinko JM, Parker J (1997) Brock Biology of Microorganisms, Prentice Hall, New Jersey, eighth edition Aufl

Taiz L, Zeiger E (2002) Plant Physiology, Sinauer Associates, Sunderland, 3.

Aufl

zitierte Literatur

Arabidopsis Genome Initiative (2000) Analysis of the genome sequence of the flowering plant Arabidopsis thaliana. Nature **408**(6814):796–815

Baldi P, Brunak S (2001) Bioinformatics, Adaptive Computation and Machine Learning, MIT Press, Massachusetts, 2. Aufl

Baltimore D (1970) RNA-dependent DNA polymerase in virions of RNA tumour viruses. Nature **226**(252):1209–11

Bernardi G (1995) The human genome: Organization and evolutionary history. Annu Rev Genet **29**:445–476

Crick F (1970) Central dogma of molecular biology. Nature **227**:561–563

McClintock B (1945) Neurospora. I. Preliminary observations of the chromosomes of Neurospora crassa. Am J Bot **32**:671–678

Meselson M, Stahl FW (1958) The replication of DNA in *Escherichia coli*. Proc Natl Acad Sci **44**:671–682

Taiz L, Zeiger E (2002) Plant Physiology, Sinauer Associates, Sunderland, 3. Aufl

Temin H, Mizutani S (1970) RNA-dependent DNA polymerase in virions of Rous sarcoma virus. Nature **226**(252):1211–3

Theißen G, Kim JT, Saedler H (1996) Classification and Phylogeny of the MADS-Box Multigene Family Suggest Defined Roles of MADS-Box Gene Subfamilies in the Morphological Evolution of Eukaryotes. J Mol Evol **43**:484–516

Voet D, Voet JG (1995) Biochemistry, Wiley & Sons, New York, etc., 2. Aufl

Watson J, Crick F (1953b) A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. Nature **171**:737–738

Watson J, Crick F (1953a) Genetical implications of the structure of desoxyribonucleic acid. Nature **171**:964–967

Williams KL, Gooley AA, Packer NH (1996) Proteome: Not just a made–up name. Todays Life Sciences S. 16–21

Winkler H (1920) Verbreitung und Ursache der Parthenogenesis im Pflanzen und Tierreich, Fischer, Jena