

PROTEINBIOSYNTHESE

"Das zentrale Dogma der Molekularbiologie"

Die für die Synthese von Eiweißstoffen notwendigen Schritte sind:

- (1) **Replikation der DNA:** Vor jeder Zellteilung wird die gesamte zelluläre DNA semikonservativ redupliziert.
- (2) **Transkription ("Überschreibung"):** Eine bestimmte Basensequenz der doppelsträngigen DNA wird in eine einsträngige mRNA umgeschrieben.
- (3) **Anlagerung am Ribosom:** Die mRNA wandert aus dem Zellkern zu den Ribosomen in das ER (bzw. Cytosol) und wird dort als "Matritze" angelagert.
- (4) **Translation ("Übersetzung"; die eigentliche Proteinbiosynthese):** Die Basentriplets der mRNA werden mit Hilfe von spezifischen tRNA's, an welche Aminosäuren gebunden sind, in eine Peptidkette übersetzt.

ad (1) REPLIKATION DER DNA

Prinzipiell wären drei Mechanismen möglich:

- Konservativer Mechanismus:**
Keine Entspiralisierung der DNA; Elternhelix ist Matrix für die Bildung einer neuen Tochterhelix.
- Dispersiver Mechanismus:**
Elternhelix zerbricht während der Verdoppelung nach jeder halben Windung; zur Neusynthese werden die Bruchstücke kreuzweise miteinander verschmolzen.
- Semikonservativer Mechanismus:**
Entspiralisierung und Synthese zweier komplementärer Stränge.

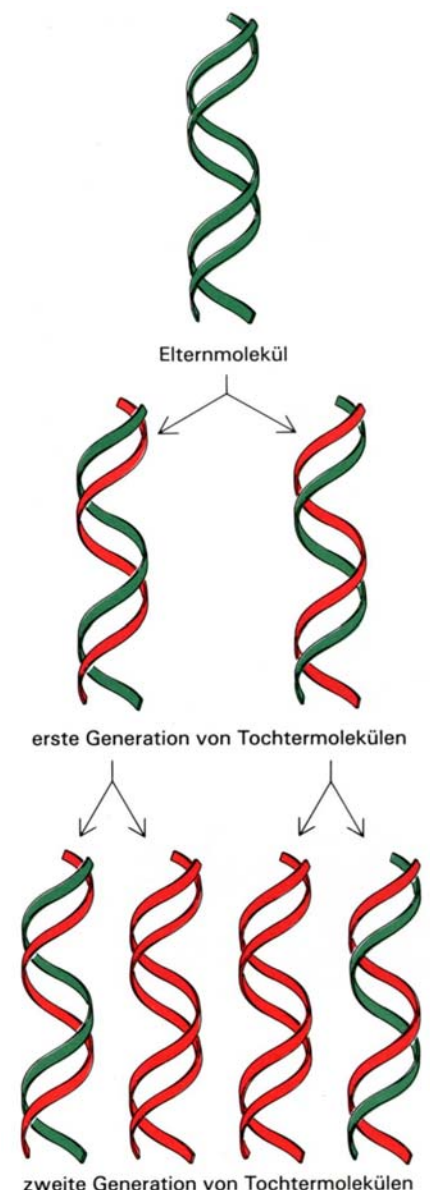
Die Replikation der DNA erfolgt semikonservativ;
bewiesen von **Meselson** und **Stahl** 1957
(Experimente mit radioaktivem Stickstoff ^{15}N).

Die wichtigsten Enzyme der DNA-Replikation sind:

- ☉ DNA-Polymerase I
- ☉ DNA-Ligase
- ☉ DNA-Polymerase II
- ☉ DNA-Polymerase III und III*

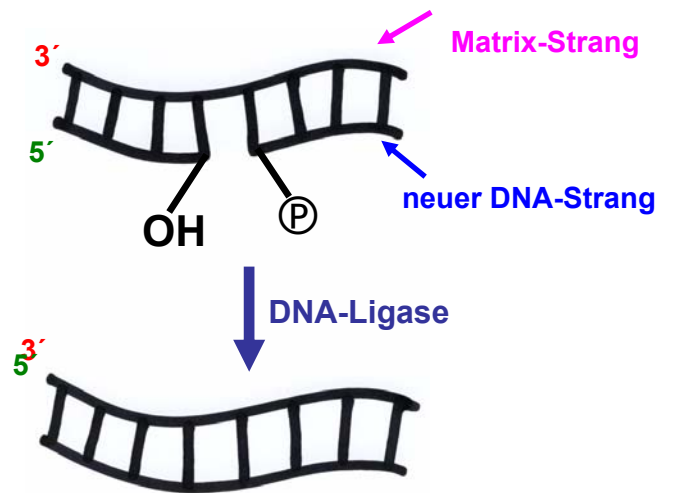
📖 **DNA-Polymerasen** sind Enzyme, die monomere Nucleotide zu langen Polynucleotid-Ketten verknüpfen.

Nucleosid: Base + Zucker
Nucleotid: Base + Zucker + Phosphat



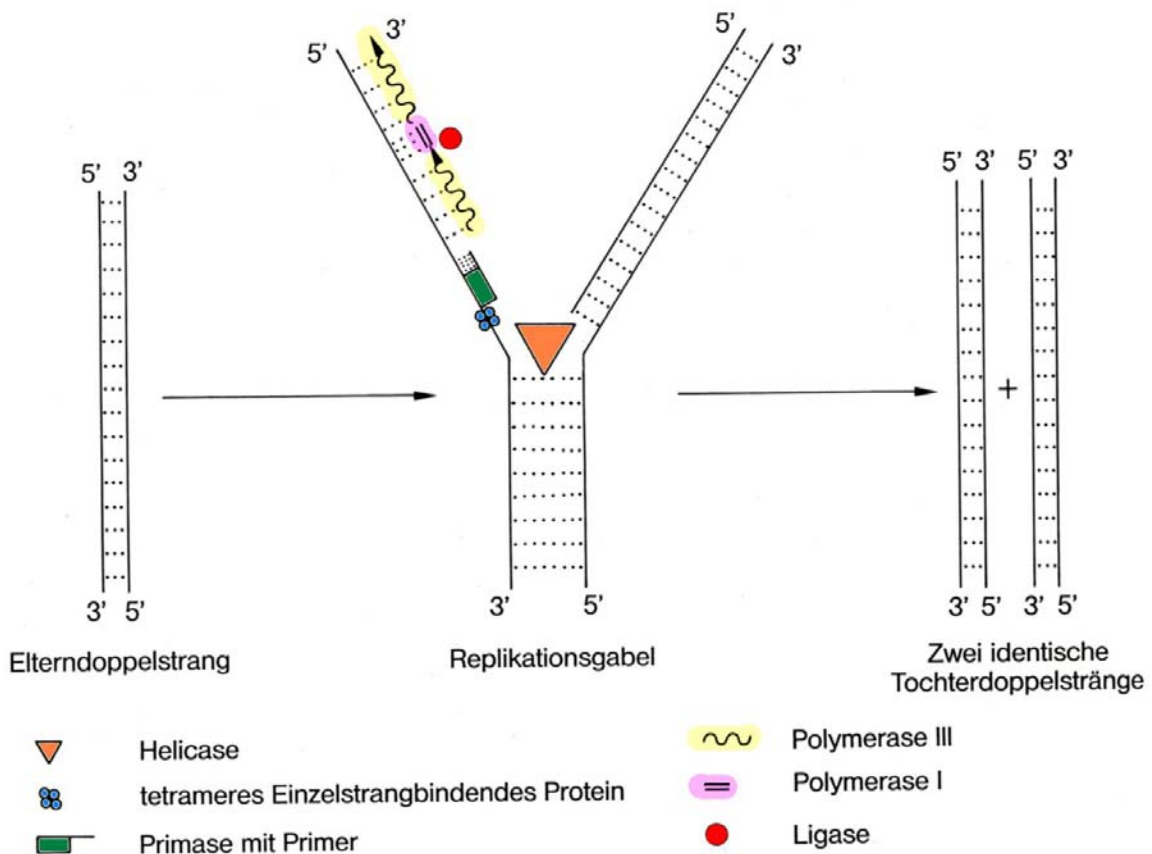


DNA-Ligase besitzt keine replikativen Eigenschaften, sie verbindet zwei DNA-Stränge miteinander (Ⓟ-Brücke zwischen 3' und 5'):



DNA-Replikation in PROKARYONTEN:

Die Replikation der DNA erfolgt unter Ausbildung einer „Replikationsgabel“:



- ① Am Startpunkt der Replikation beginnt ein **DNA-aufwindendes Protein** („**Helicase**“) die DNA zu entwenden.
- ② Eine spezifische **RNA-Polymerase** („**Primase**“) bildet einen „**Primer**“ aus etwa 5 Nucleotiden („**RNA-primer-strands**“). Diese kurzen RNA-Stränge sind dem DNA-Strang komplementär.
- ③ Danach werden die **zwei neuen DNA-Stränge** in **5' → 3'-Richtung** synthetisiert.

☒ Der **Leitstrang** wird **kontinuierlich** von DNA-Polymerase III **synthetisiert**. („Pol-III“; bildet ein Dimer: „Pol-III“*).

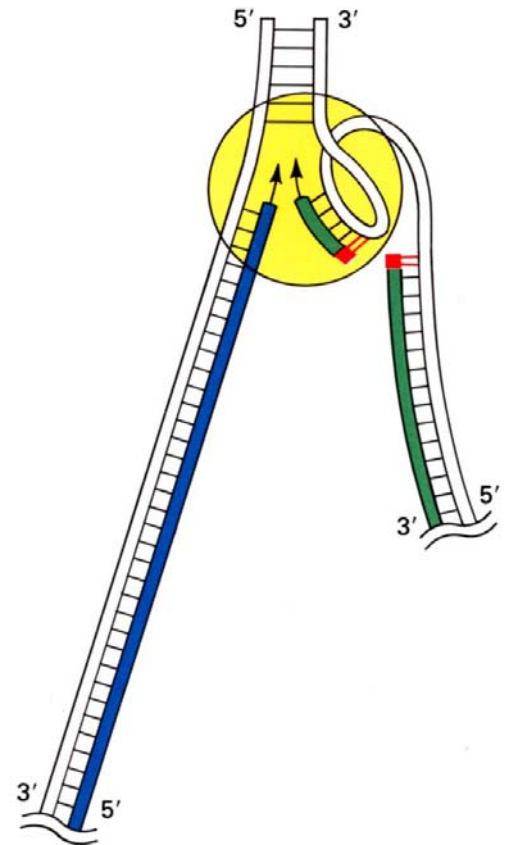
☒ Der **Folgestrang** bildet eine Schleife und wird in sogenannten „**Okazaki-Fragmenten**“, ebenfalls von DNA-Polymerase III aufgebaut. Die dabei entstehenden Lücken werden von DNA-Polymerase I aufgefüllt und mit DNA-Ligase geschlossen.

- ④ Am Ende der Replikation wird der Primer durch **DNA-Polymerase I** abgespalten.
- ⑤ Nach etlichen solcher kurz ablaufenden Zyklen treffen sich die gegabelten Stränge und die Replikation ist beendet.
- ⑥ Eine **DNA-Gyrase** erzeugt wieder negative Superhelices.

📖 **DNA-Polymerase II** kann in Richtung 3' → 5' synthetisieren; ihre genaue Funktion ist noch nicht geklärt.

📖 **DNA-Replikation bei EUKARYONTEN:**

- 🕒 DNA ist viel größer und in Nucleosomen verpackt.
- 🕒 Replikation beginnt an mehreren tausend Stellen der DNA gleichzeitig.
- 🕒 Gleichzeitig findet die Histon-Biosynthese statt.



D e r g e n e t i s c h e C o d e

- 🕒 Proteine bestehen aus **20 Aminosäuren**.
- 🕒 jeweils **3 Basen ("Triplet")** auf der mRNA codieren für eine AS.
- 🕒 Es gibt 4 DNA-Basen und daher $4^3 = 64$ mögliche Basentriplets.

*Sind daher 44 Tripletts sinnlos ? **NEIN !***

| | | Second base | | | | |
|---|---|----------------------|----------------|-----------------|-----------------|---|
| | | U | C | A | G | |
| U | U | UUU Phe | UCU | UAU Tyr | UGU Cys | U |
| | U | UUC | UCC Ser | UAC | UGC | C |
| | A | UUA Leu | UCA | UAA Stop | UGA Stop | A |
| | G | UUG | UCG | UAG Stop | UGG Trp | G |
| C | U | CUU | CCU | CAU His | CGU | U |
| | C | CUC Leu | CCC Pro | CAC | CGC Arg | C |
| | A | CUA | CCA | CAA Gln | CGA | A |
| | G | CUG | CCG | CAG | CGG | G |
| A | U | AUU | ACU | AAU Asn | AGU Ser | U |
| | C | AUC Ile | ACC Thr | AAC | AGC | C |
| | A | AUA | ACA | AAA Lys | AGA Arg | A |
| | G | AUG Met/Start | ACG | AAG | AGG | G |
| G | U | GUU | GCU | GAU Asp | GGU | U |
| | C | GUC Val | GCC Ala | GAC | GGC Gly | C |
| | A | GUA | GCA | GAA Glu | GGA | A |
| | G | GUG | GCG | GAG | GGG | G |

1. Der genetische Code ist **redundant (degeneriert)**:

Für **ein- und dieselbe AS** können **mehrere Basentriplets** stehen.

Wahrscheinliche Gründe:

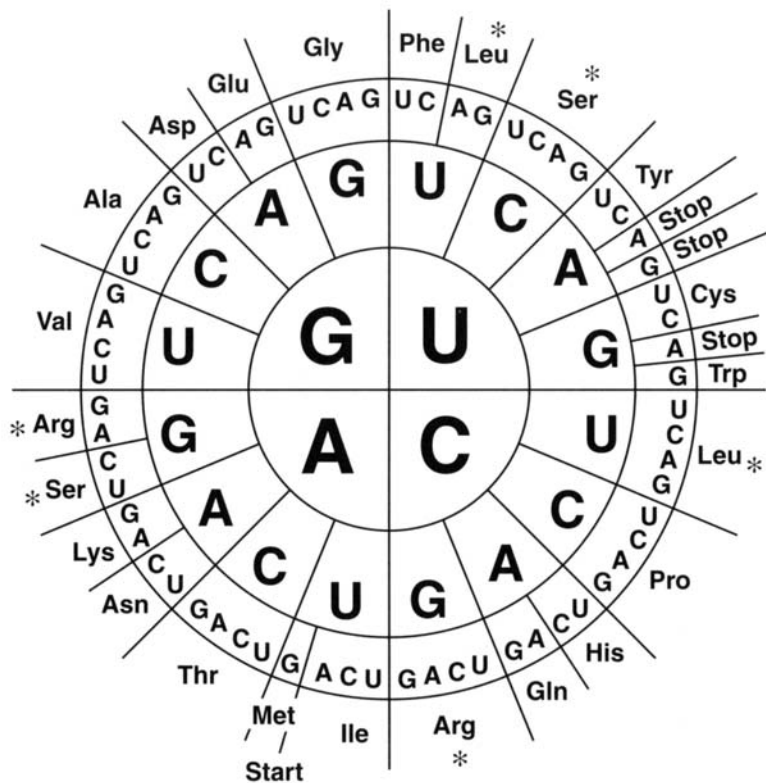
- (a) Sicherheitsfaktor
- (b) strukturebedingte "Leseprobleme" für Enzyme an manchen DNA-Stellen:
z.B. **C U U** (für Leucin) manchmal besser lesbar als **U U A**

Anm.: für Leu gibt es 6 mögliche Triplets, für andere AS wie Met oder Trp nur eines !

Aber **NIEMALS** kann ein Triplet für mehrere AS gelten !!!

2. **Viele Triplets** (bzw. andere Kombinationen) stehen nicht für AS, sondern **tragen funktionelle Informationen**.

Der genetische Code



Leserichtung der Codons von innen nach außen

In der gewählten Darstellung werden als Nucleoside die RNA-Bausteine benutzt, da die mRNA als Matrize zur Proteinsynthese dient. Würde man die DNA-Symbolik bevorzugen, so müßte nur Uridin (U) durch Desoxythymidin (T) ersetzt werden.

* Aminosäuren mit Sternchen sind durch 6 Codons spezifiziert

ad (2) T R A N S K R I P T I O N - „Umschreiben von DNA in mRNA“

Die gesamte zelluläre RNA wird von **DNA-abhängiger RNA-Polymerase** synthetisiert.

- Diese benötigt dazu
 - ☉ eine **Matritze**: doppelsträngige DNA
 - ☉ **aktivierte Vorstufen** (ATP, GTP, UTP, CTP)
 - ☉ **Mg²⁺** oder **Mn²⁺**

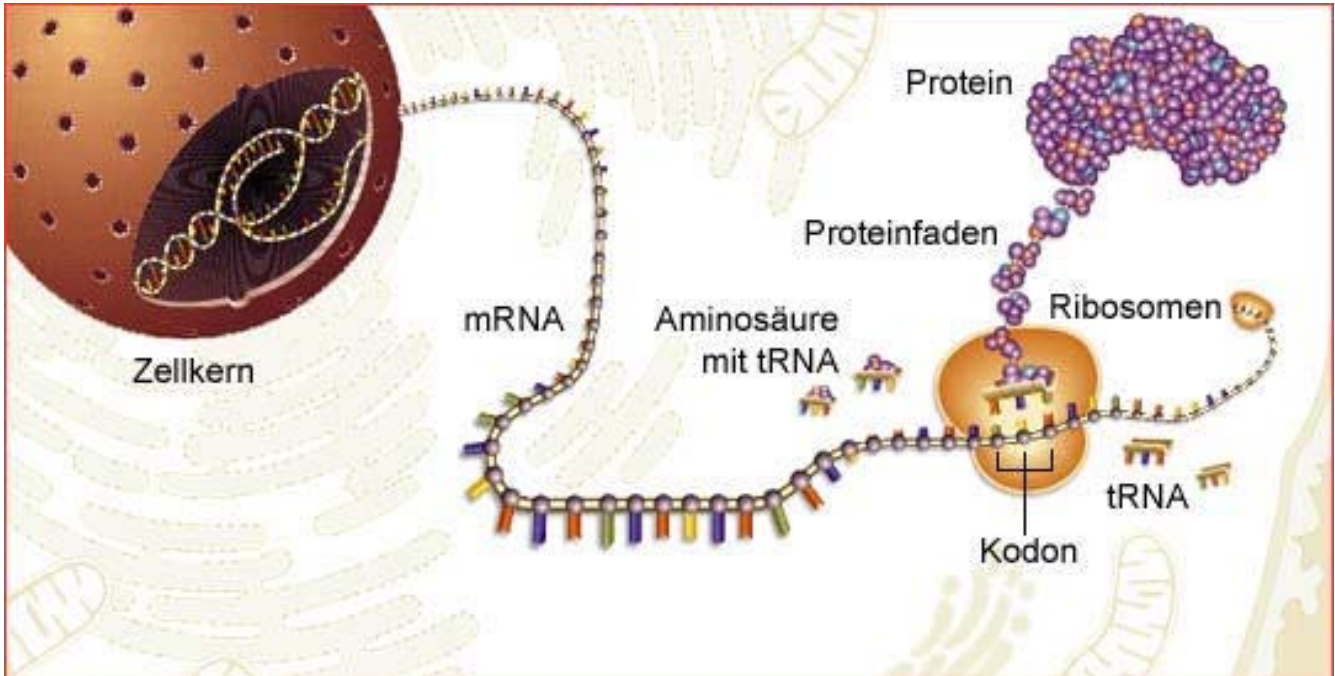
- Die RNA-Ketten werden in **5' → 3'-Richtung** synthetisiert (die Energie dazu stammt aus der Abspaltung von PP_i; z.B. **CTP → CMP + PP_i**).

- Ein Strang (der "**codogene Strang**") wird abgeschrieben, der andere Strang dient als komplementäre Matritze.

- Bei Erreichen einer **Stoppsequenz (Terminator)**:
 - * Die RNA wird freigesetzt,
 - * die RNA-Polymerase diffundiert ab und
 - * die DNA schließt sich wieder zur Doppelhelix.

ad (3) und (4) Anlagerung am Ribosom und TRANSLATION

- Bei **Prokaryonten** beginnt die Translation bereits **während der Synthese der mRNA**.
- Bei **Eukaryonten** wandert die fertige mRNA durch Kernporen **aus dem Zellkern in das Cytoplasma** zu den Ribosomen (am *Endoplasmatischen Reticulum*).

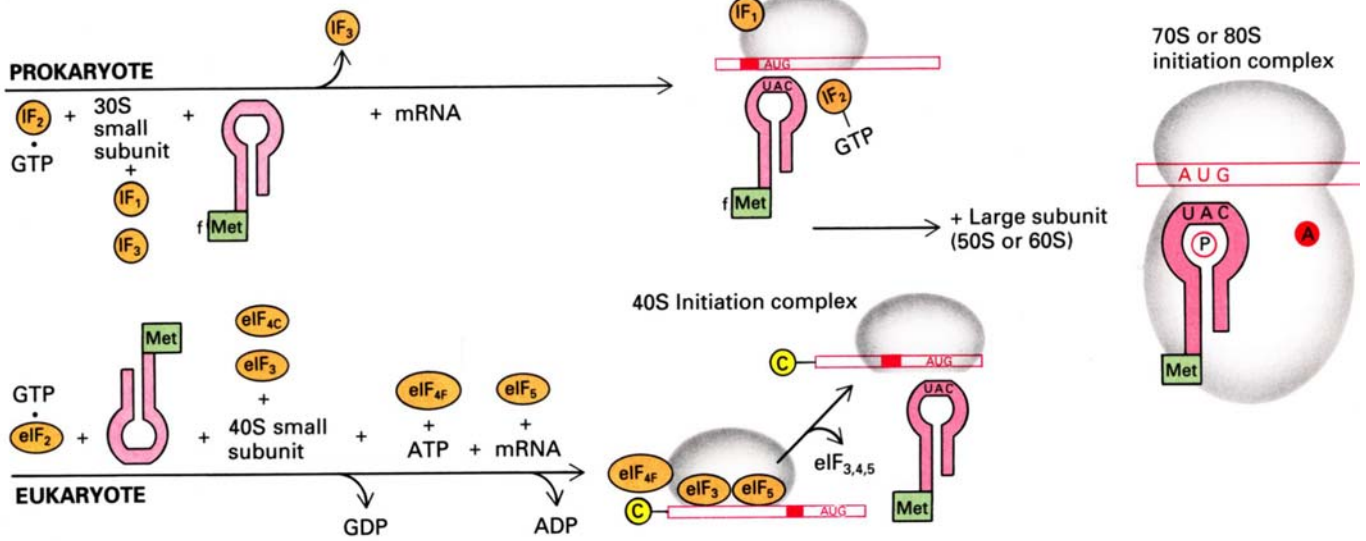


- Die **Translation** (Übersetzung der mRNA-Sequenz in ein Protein) verläuft in drei Stufen:
 - ① **Initiation**
 - ② **Elongation**
 - ③ **Termination**

INITIATION

- Die mRNA bindet mit dem **Startcodon AUG** an die **kleine 30S-Untereinheit des Ribosoms**.
- Eine **tRNA** mit dem komplementären **Anticodon UAC** bindet an die mRNA. Sie trägt die Aminosäure **Methionin** (formyliertes Met, „fMet“).
- Nun erfolgt die **Bindung der großen Untereinheit des Ribosoms (50S)** unter Ausbildung des **70S-Initiationskomplexes**.
- Bei **Eukaryonten**: **40S- und 60S-Untereinheiten**
80S-Initiationskomplex

INITIATION

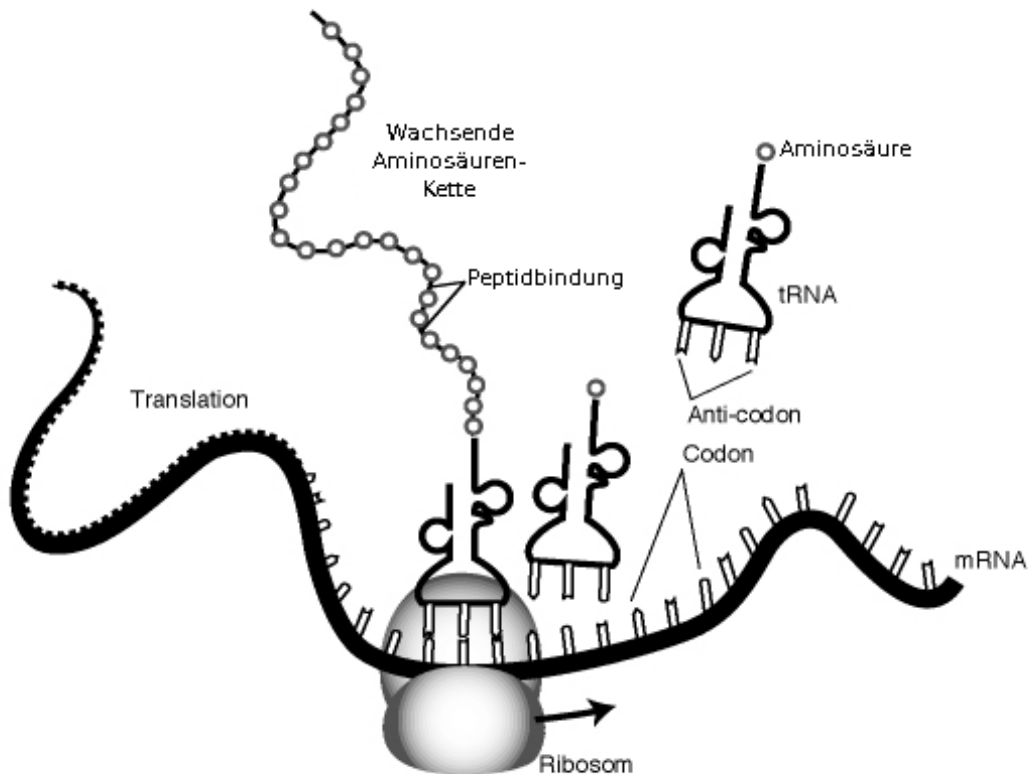


ELONGATION

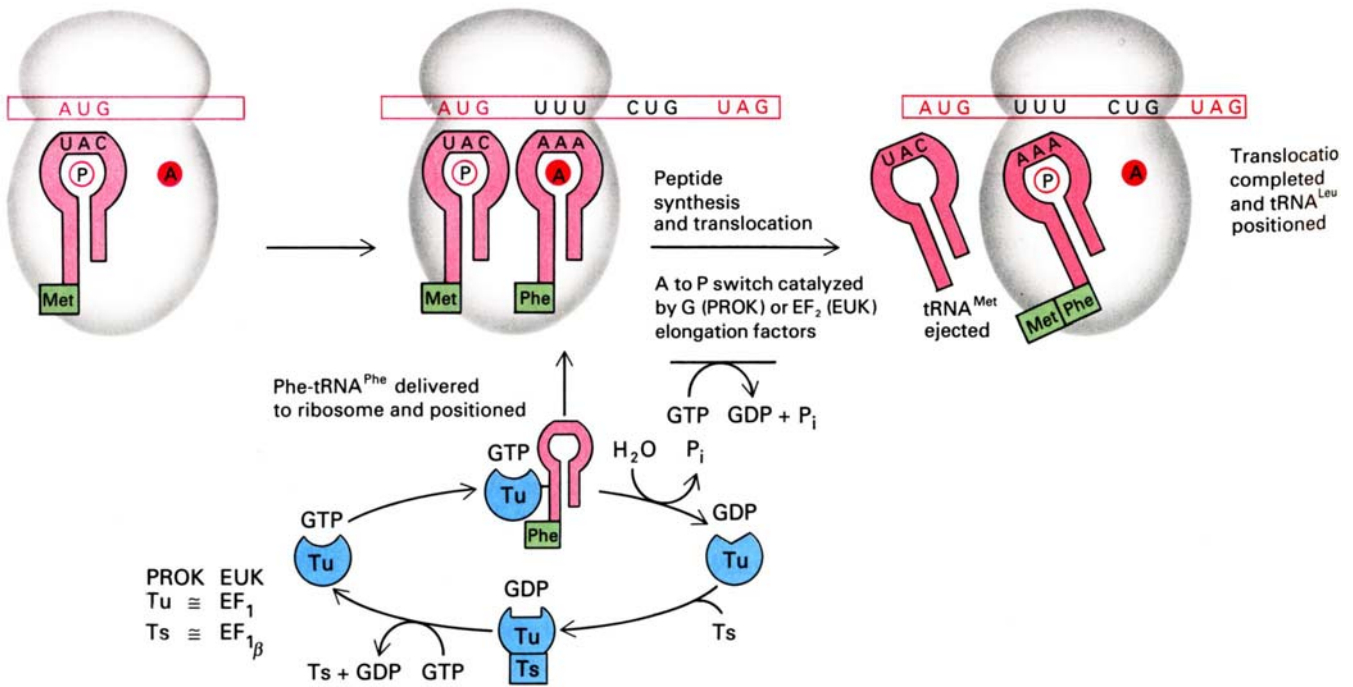
- ⊗ Bindung einer Aminoacyl-tRNA,
- ⊗ Ausbildung der Peptidbindung,
- ⊗ Translokation

Dazu sind verschiedene **Elongationsfaktoren** (Tu, Ts, EF,...) und **Enzyme** notwendig (z.B. **Translokase** zur Translokation des Ribosoms, **Peptidyltransferase** zur Knüpfung der Peptidbindung).

Die **Elongationsgeschwindigkeit** beträgt etwa **20 AS/sec**



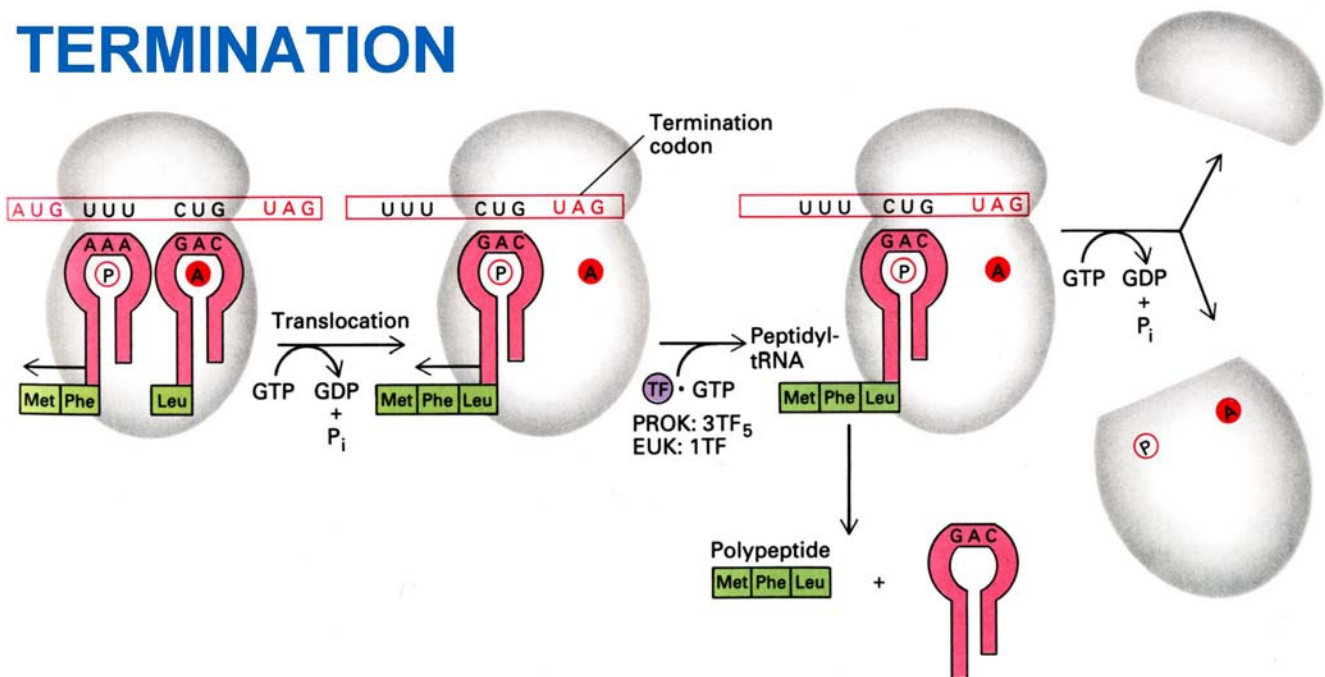
ELONGATION



TERMINATION

- ✳ Wenn auf der mRNA ein **Stoppcodon** (UUA, UAG oder UGA) auftritt, erfolgt der **Kettenabbruch**.
- ✳ Die Stopp-Signale werden von sogenannten **Terminationsfaktoren TF** (auch Ablösefaktoren, RF....release factor) erkannt; Sie lösen die Peptidkette aus dem Ribosom.
- ✳ Anschließend dissoziiert das Ribosom in seine beiden Untereinheiten.

TERMINATION



Anschließend erfolgt das „**Processing**“ (**Posttranslationale Modifikation**):

- ✳ Deformylierung oder Abspaltung des Met
- ✳ Ausbildung kovalenter Bindungen (z.B. -S-S-)
- ✳ Verknüpfung mit Kohlenhydraten (Glycoproteine) oder mit Lipiden (Lipoproteine)
- ✳ Bindung prosthetischer Gruppen