Proteinbiosynthese bei Prokaryoten und Eukaryoten sind unterschiedlich komplex

CC BY NC SA
↓: laborberufe.de

1. Proteinbiosynthese bei Prokaryoten: Cotranskriptionale Translation

Bei Prokaryoten finden die Transkription und Translation am selben Ort, nämlich im Zellplasma, statt. **Noch bevor die Transkription beendet ist, kann die Translation beginnen (cotranskriptionale Translation, *vgl. Abb. 1.1*).**

Durch mehrere hintereinander laufende RNA-Polymerase-Moleküle wird das Gen gleich mehrmals transkribiert. Jedes der entstehenden mRNA-Moleküle wird dabei von vielen Ribosomen hintereinander abgelesen. Dazu setzen die Ribosomen am 5'-Ende der mRNA an und arbeiten sich während der Translation in 3'-Richtung voran. Die Aneinanderreihung von Ribosomen an einem mRNA-Strang wird als **Polysom** bezeichnet. Die *cotranskriptionale Translation* führt deshalb zu einer großen Zahl an Proteinmolekülen.

Die Ribosomen der Prokaryoten, der Mitochondrien und der Chloroplasten sind etwas kleiner, als die des eukaryotischen Cytolplasmas. Sie bestehen aus einer 30S-Untereinheit und einer 50-S-Untereinheit. Bei der Translation lagern sie sich zu einem 70S-Ribosom zusammen. „S" ist dabei die Abkürzung für SVEDBERG-Einheiten. Sie gibt an, wie schnell sich ein Partikel bei einer Zentrifugation in einem Gel absetzt. Das hängt von der Masse, der Größe und der Form der Partikel ab. Die Größe ist nicht additiv: 30S + 50S ≠ 80S

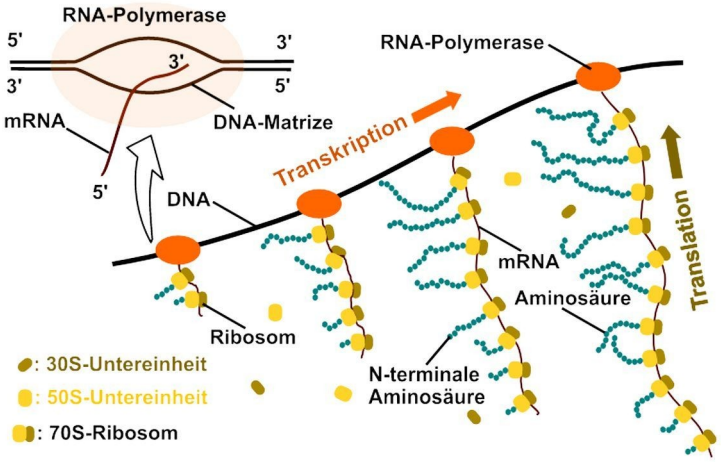

***Abb. 1.1:* Cotranskriptionale Translation der Prokaryoten** *Q: eigenes Werk.*

Merkhilfe: Alle Polymerasen lesen in 3'→5'-Richtung. Die Stränge die dabei synthetisiert werden, sind stets antiparallel zur Matritze. ⇒ Bei der Transkription bildet sich also zuerst das 5'-Ende der mRNA. Da Prokaryoten sofort mit der Translation beginnen, muss logischerweise das Ribosom den mRNA-Strang in 5'→3'-Richtung ablesen. Das Protein entsteht mit dem N-Terminus zuerst, entspricht also der üblichen Notation der Primärstruktur auf einem Stück Papier.

***1.1** Markieren Sie im unteren Teil der Abb. 1.1 überall 3' und 5', sowie N- und C-Terminus.*

2. Die Entdeckung, dass die DNA eines Gens bei Eukaryoten nicht zur dazugehörigen mRNA passt

Da bei Eukaryoten die Transkription im Zellkern und die Translation im Zellplasma erfolgt, kann es keine *cotranskriptionale Translation* geben. Hier muss die mRNA erst durch die Kernporen in das Cytoplasma gelangen.

Im Jahr 1977 waren die grundlegenden Entdeckungen zur Transkription und Translation schon fünfzehn Jahre alt. Man nahm es als selbstverständlich an, dass die Information aus der DNA über die mRNA hin zum Protein 1:1 weitergegeben wird: Jedes transkribierte Basentriplett der DNA führt zu einem Codon und letztlich zu einer Aminosäure. Etwas schien an diesem Modell allerdings nicht zu passen: Eukaryoten haben nämlich ein tausend mal größeres Genom als Bakterien. Wozu so viel DNA, wozu tausend mal mehr Gene? Die unterschiedliche Komplexität der Organismen alleine kann das nicht rechtfertigen. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die im Zellkern synthetisierten RNA-Moleküle im Mittel fünf mal größer waren, als die RNA-Moleküle, die man dann aus dem Zellplasma isolieren konnte.

Um diese Widersprüche zu lösen, experimentierten PHILLIP SHARP, SUE BERGET und andere mit einfachen Genen von Adeno-Viren.

Sie konnten im Reagenzglas über komplementäre Basenpaarung **Aneinanderlagerungen (DNA-RNA-Hybrid)** des codierenden DNA-Strangs und der dazugehörigen fertigen mRNA herstellen. Mithilfe des Elektronenmikroskop gelangen Ihnen Aufnahmen dieser Hybride. Sie zeigen durch die DNA-Schleifen, dass es im Gen Bereiche gibt, zu denen in der mRNA keine komplementären Basen gibt.

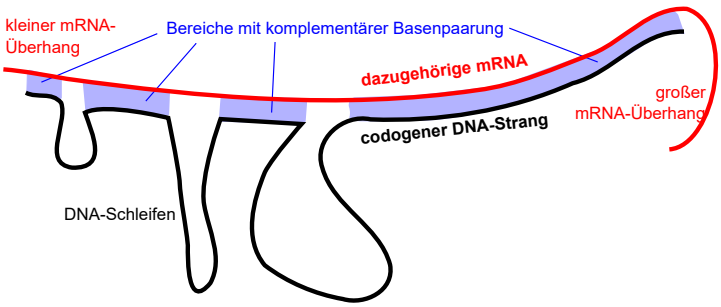

Abb. 2.1: Schematische Darstellung des Ergebnisses. Quelle: e. W.

Die Ergebnisse und deren richtige Deutung brachen PHILLIP SHARP und RICHARD ROBERTS 1993 den Nobelpreis für Medizin und Physiologie ein. Sie erkannten, dass mitten in Genen der Eukaryoten, häufig sogar mitten im einzelnen Basen-Triplett nicht-codierende Bereiche liegen, die bei aus dem Transkript offensichtlich herausgeschnitten werden.

3. Bei Eukaryoten muss das Transkript im Zellkern reifen: Die Prozessierung der prä-mRNA zur reifen mRNA

Die Bereiche der DNA, deren Information aus dem Transkript herausgeschnitten werden, nennt man, da sie mitten in Genen liegen, **Introns** (*engl. intragenic regions*) . Sie haben eine sehr variable Länge von 50–30000 Nucleotiden. Sie trennen die *codierende DNA*, deren Information auch noch in der reifen mRNA erhalten ist, in Teilbereiche auf. Diese codierenden Teilbereiche werden **Exons** (engl.: *expressed region*) genannt. Der Vorgang des Herausschneiden der Introns und Zusammenlagerung der Exons wird als **Spleißen** bezeichnet (engl. splicing: Verkleben) uns findet noch im Zellkern statt.

Für das Spleißen sind in häufig spezielle Enzyme nötig, manchmal erfolgt es jedoch ohne Fremdmoleküle *(autokatalytisches Spleißen)*.

Woher die Introns kommen: Es handelt sich bei Introns um nicht-codierende DNA. Es kann sich um stillgelegte Codesequenzen handelt, Relikte von evolutiven Vorfahren odewr beispielsweise um Erbinformation virale Herkunft, die unschädlich gemacht wurde, aber weitervererbt wird. Auch kann es sich um DNA-Molekülabschnitte handeln, die zur Aufrechterhaltung und Stabilisierung der korrekten räumlichen Struktur wichtig ist.

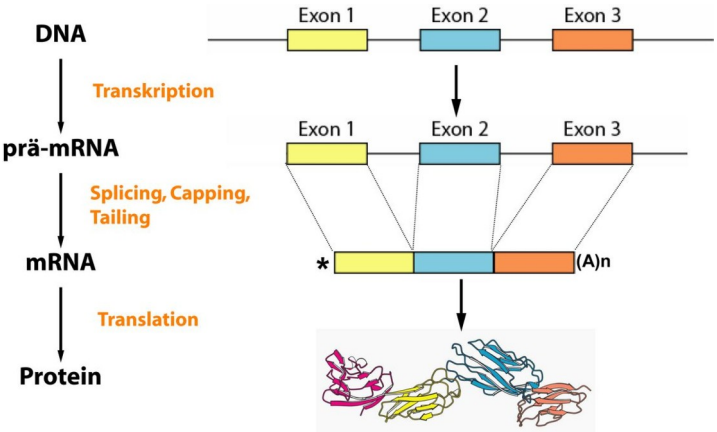

Abb. 3.1: Überblick über die Prozessierung der prä-mRNA mit dem Spleißen. Quelle: commons.wikimedia. A: Jan Medenbach.

Polyadenylierung (Poly-A-Tailing)

Neben dem Spleißen findet beim Reifen auch noch die Anlagerung eines Schwanzes aus 80–250 A-Nucleotiden, statt. Der Poly-A-Schwanz wird nicht durch die DNA codiert, sondern durch eine bestimmte Polymerase ohne Matrize an das 3'-Ende der reifenden mRNA angehängt. Dieser Vorgang findet wie das Spleißen, *posttranskriptional* und auch noch im Zellkern statt.

Der Poly-A-Schwanz verlängert die Halbwertszeit der reifen mRNA. Er verkürzt sich bei der Translation mit fortschreitendem Alter immer weiter. Man vermutet, dass er damit die Anzahl der Translationsereignisse reguliert.

Capping

Die **Cap-Struktur** ist ein chemisch modifiziertes Nucleotid, das am 5′-Ende der RNA angeknüpft wird. Das Capping findet im Zellkern schon *cotranskriptional* statt, also vor den anderen beiden Reifungsvorgängen.

Die Cap-Struktur ist offenbar für den Export der mRNA aus dem Zellkern wichtig. Ohne diesen Aufsatz, ist sie dazu nicht in der Lage. Wie auch der Poly-A-Schwanz am 3′-Ende von mRNAs spielt die Cap-Struktur eine wichtige Rolle beim Stabilisieren der mRNAs. Ohne diese Struktur werden die mRNAs im Cytoplasma schnell von 5′ nach 3′ durch RNA-spaltende Enzyme abgebaut.

In Prokaryoten finden die drei vorgestellten Vorgänge (Spleißen, Polyadenylierung und Capping) nicht statt. Die Proteinbiosynthese verläuft auch deshalb viel schneller.

Mitochondrielle und Plastiden-DNA werden jedoch gespleißt und die mRNA polyadenyliert. Capping findet sich auch hier nicht.

Aufgabe 3.1: *Beschriften Sie die Abbildungen 2.1 (auf vorangegangener Seite) und 3.2 vollständig und geben Sie 5' und 3', sowie N- und C-Terminus an.*

4. Translation bei Eukaryoten

Die Translation der Eukaryoten verläuft ähnlich wie bei den Prokaryoten. Allerdings kann die Übersetzung ins Protein nicht *cotranskriptionell* erfolgen. Die gereifte mRNA muss vor Translationsbeginn den Zellkern durch die Kernporen zuerst in das Cytoplasma gelangen. Dort lagern sich an den mRNA-Strang die beiden Untereinheiten der Ribosomen an.

Anders als bei Prokaryoten handelt es sich hierbei um **40S**- und **60S-Untereinheiten**. Zusammen genommen besitzen Eukaryoten-Ribosomen eine Sedimentationsgeschwindigkeit von 80 S, man spricht also auch von **80S-Ribosomen**. *Zum Vergleich:* Prokaryoten besitzen 70S-Ribosomen aus einer 30 S- und einer 50 S-Untereinheit.

Aufgabe 4.1: *Die folgende Abbildung fasst die Proteinbiosynthese bei Eukaryoten zusammen. Geben Sie eine stichwortartige Übersetzung ins Deutsche an.*

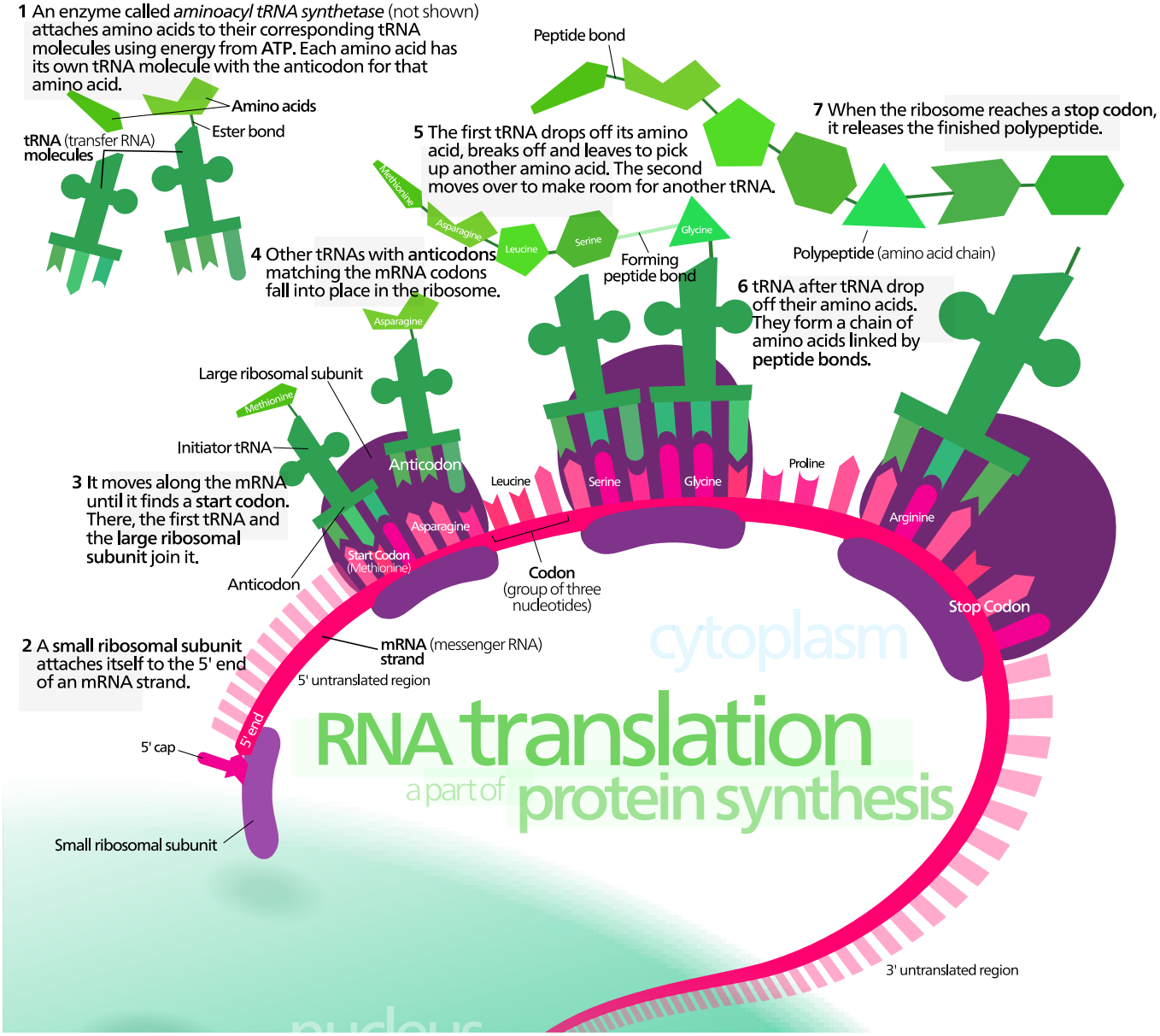

Abb. 4.1: Proteinbiosynthese bei Eukaryoten. (Quelle: commons.wikimedia Autor: Kelvinsong)