

Einführung in die Molekularbiologie

Prof. Dr. Martin Hagemann

Vorlesung 9

Translation

Einführung

Beladung von tRNAs – 2. genetischer Code

Ablauf der Translation

Regulation der Translation

Proteinexport



Einschub

Rolle kleiner RNAs als epigenetischer Speicher

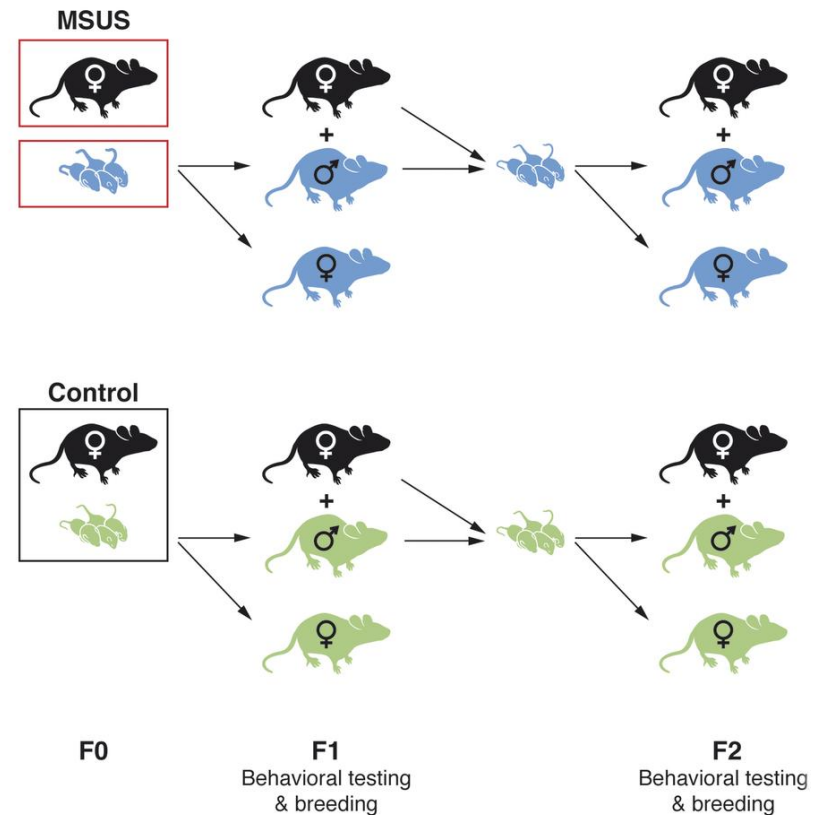
nature
neuroscience

Implication of sperm RNAs in transgenerational inheritance of the effects of early trauma in mice

Katharina Gapp¹, Ali Jawaid¹, Peter Sarkies², Johannes Bohacek¹, Pawel Pelczar³, Julien Prados^{4,5}, Laurent Farinelli⁴, Eric Miska² & Isabelle M Mansuy¹

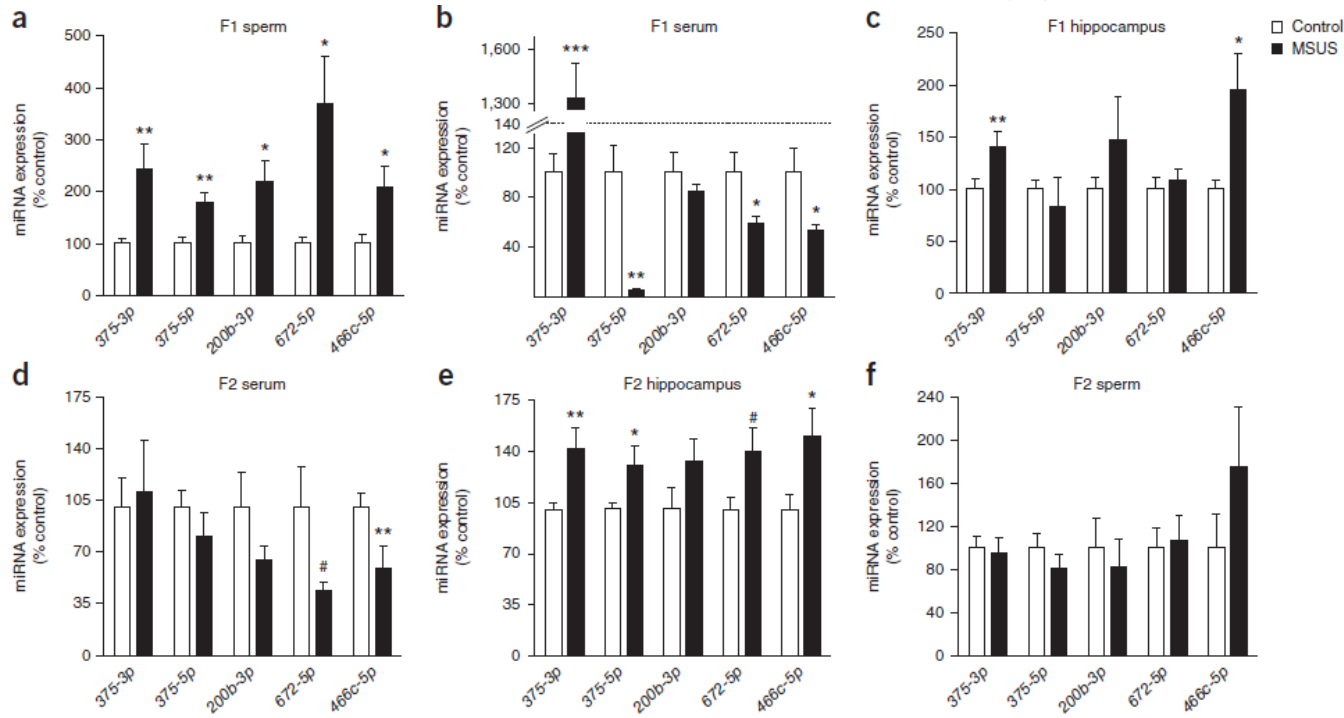
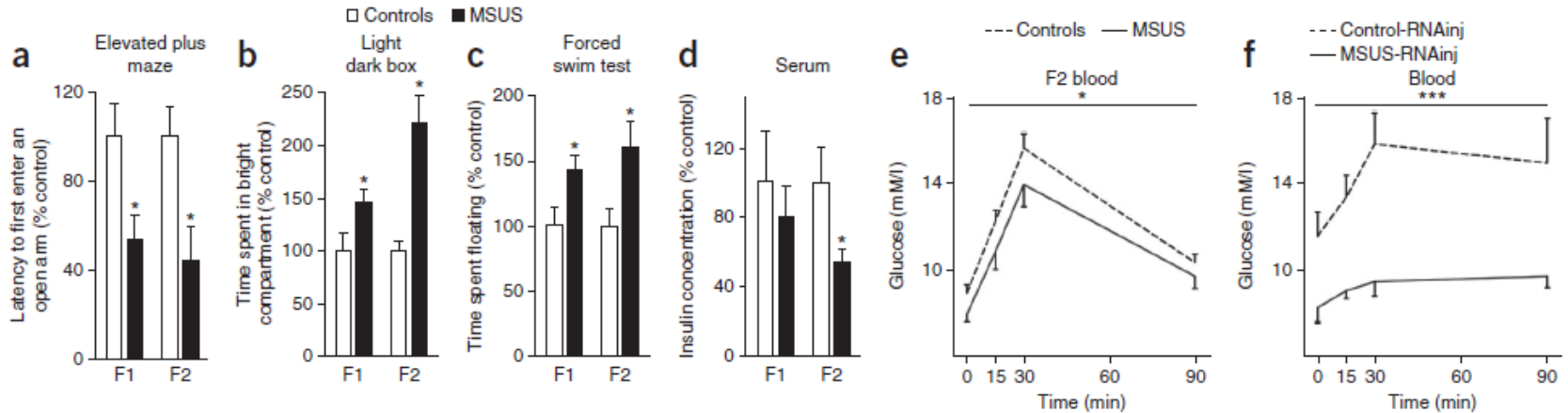
Small non-coding RNAs (sncRNAs) are potential vectors at the interface between genes and environment. We found that traumatic stress in early life altered mouse microRNA (miRNA) expression, and behavioral and metabolic responses in the progeny. Injection of sperm RNAs from traumatized males into fertilized wild-type oocytes reproduced the behavioral and metabolic alterations in the resulting offspring.

life on sperm sncRNAs using a mouse model of unpredictable maternal separation combined with unpredictable maternal stress (MSUS)



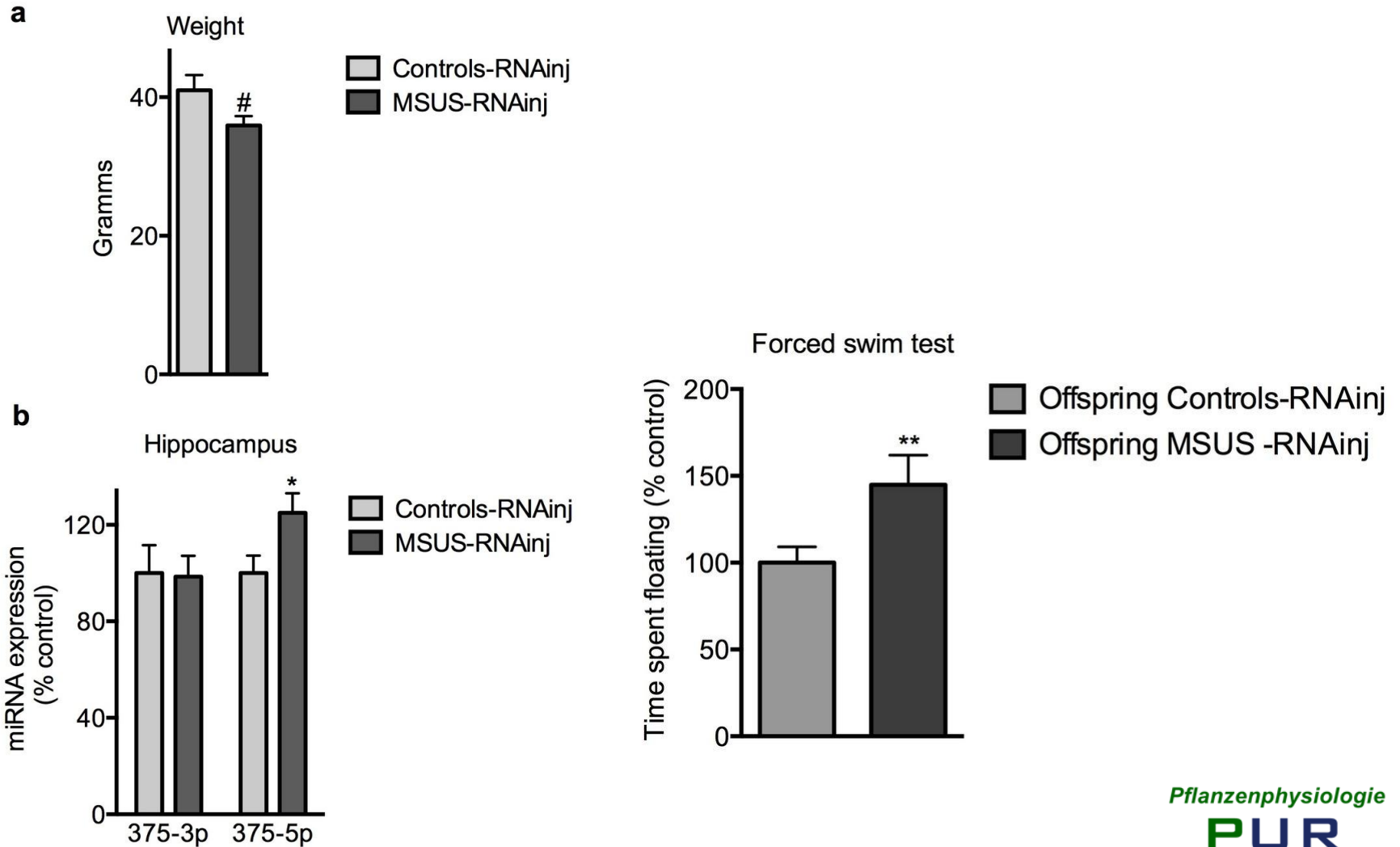
Einschub

Rolle kleiner RNAs als epigenetischer Speicher Verändertes Verhalten und miRNA Abundanz in der F2 Generation



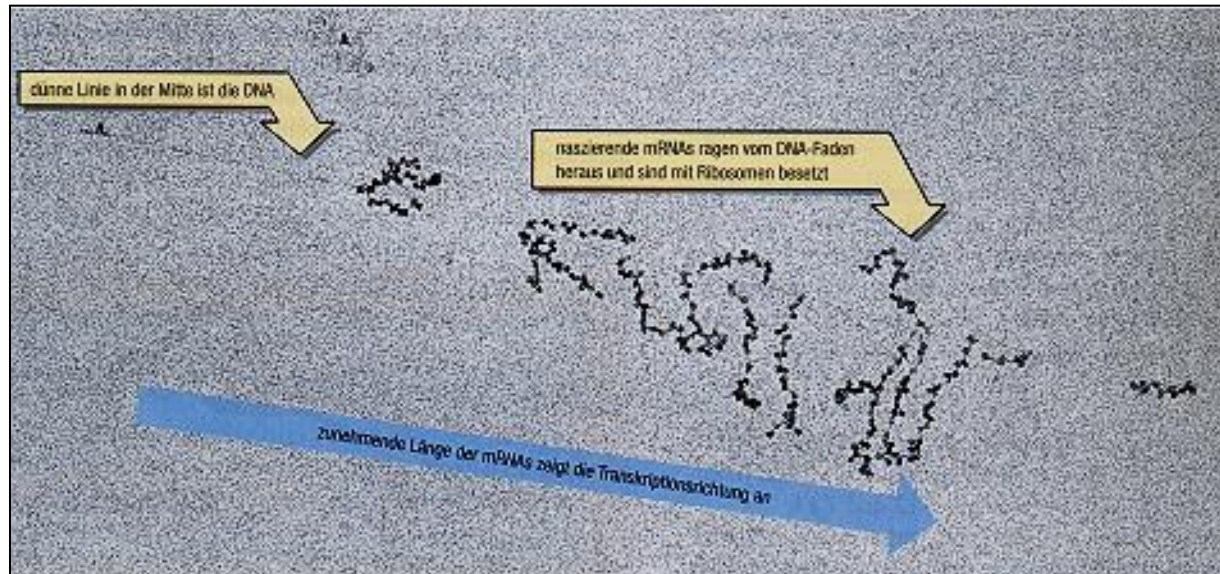
Einschub

Rolle kleiner RNAs als epigenetischer Speicher Injektion kleiner RNAs wirkte wie Stress



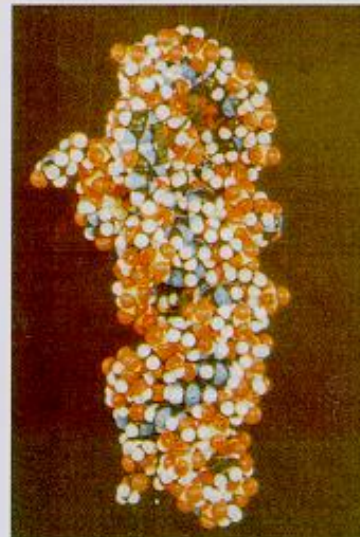
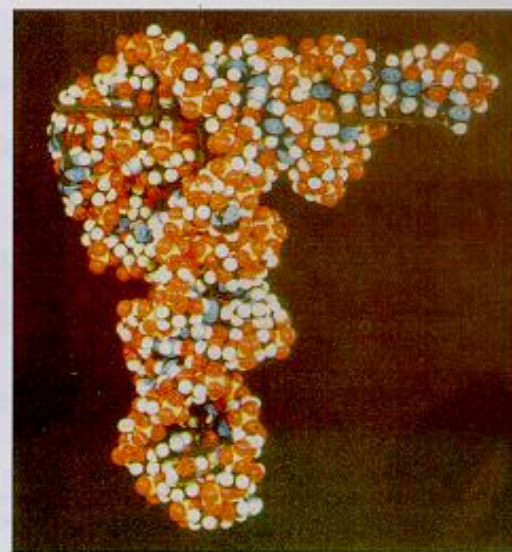
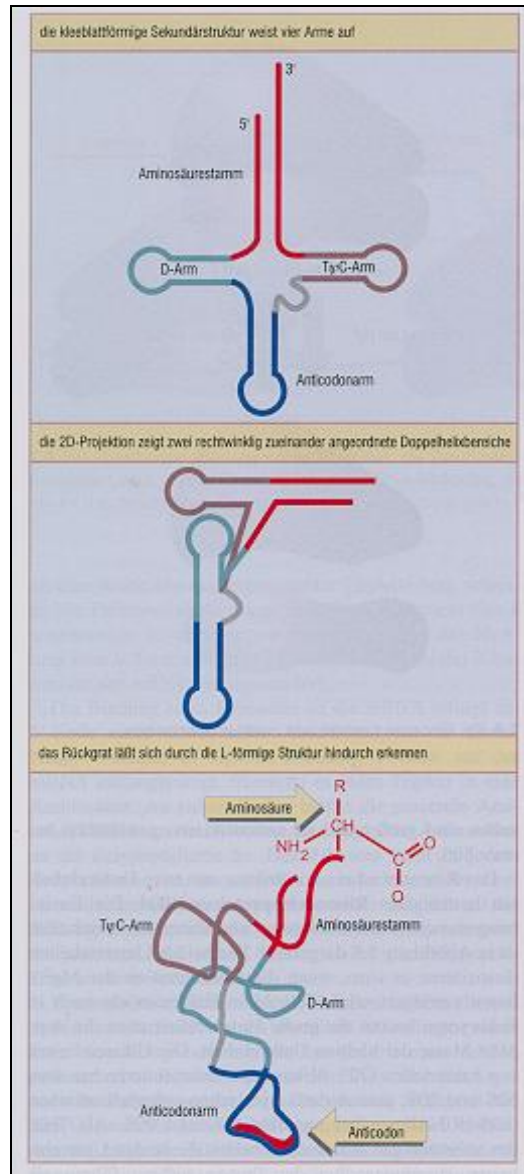
Proteinbiosynthese

Proteinbiosynthese findet an Polysomen statt
Kopplung von Transkription und Translation bei Prokaryoten



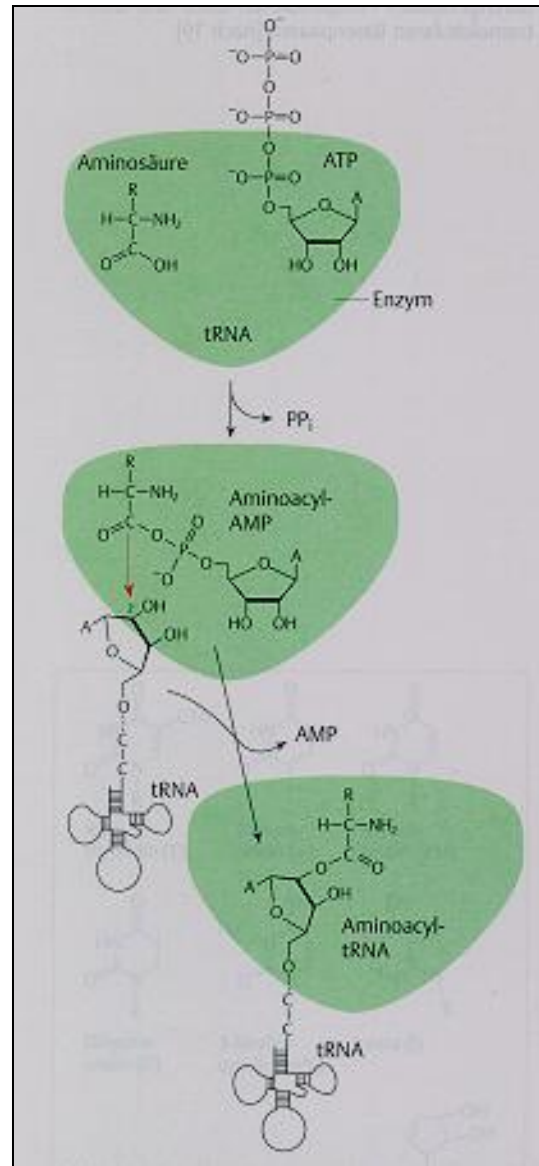
Proteinbiosynthese

Struktur der tRNA, am 3'-Ende wird die AS gebunden



Proteinbiosynthese

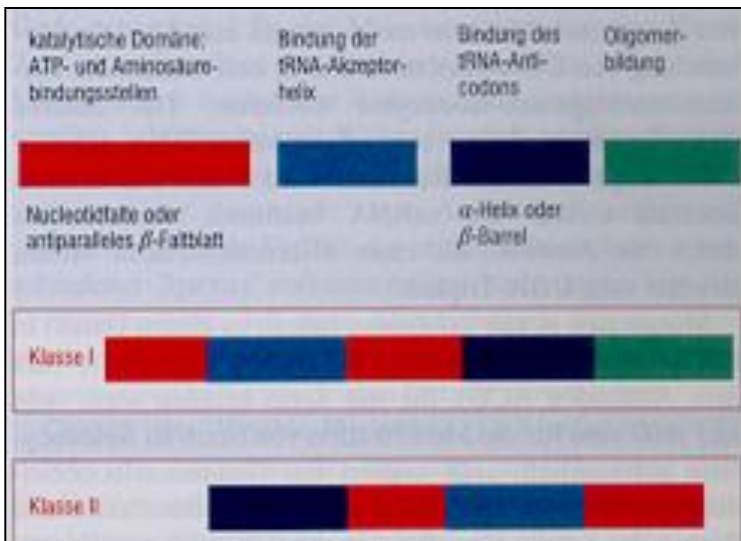
Aminoacyl-tRNA-Synthetasen beladen die tRNA in einer 2Schrittreaktion
2. Genetsicher Code



Proteinbiosynthese

Aminoacyl-tRNA-Synthetasen fallen in 2 Klassen, evolutionär unabhängig
 2. genetischer Code, 20 Enzyme spezifisch für je eine AS

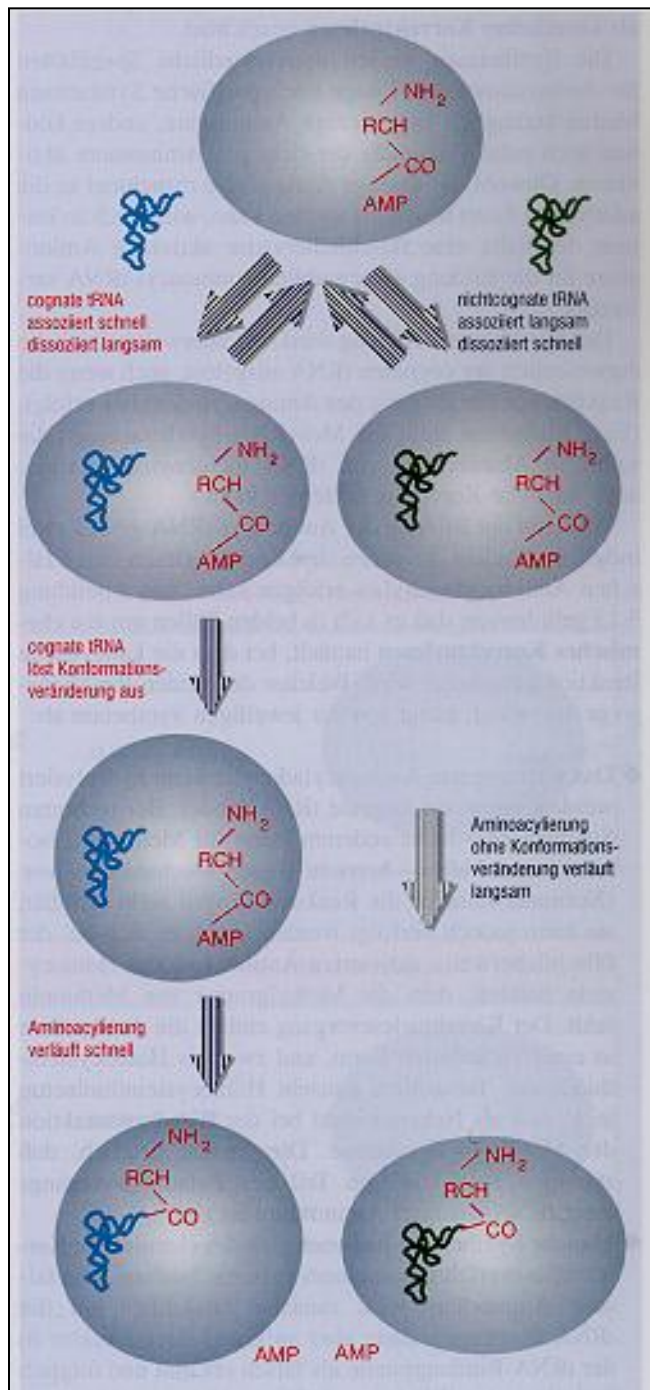
Klasse I Spezifität	Untereinheiten*	Klasse II Spezifität	Untereinheiten
Arginin	577 (M)	Alanin	875 (T)
Cystein	461 (M)	Asparagin	467 (D)
Glutaminsäure	471 (M)	Asparaginsäure	590 (D)
Glutamin	551 (M)	Glycin	303/689 (T, $\alpha_2\beta_2$)
Isoleucin	939 (M)	Histidin	424 (D)
Leucin	860 (M)	Lysin	504 (D)
Methionin	676 (D)	Phenylalanin	327/795 (T, $\alpha_2\beta_2$)
Tyrosin	424 (D)	Prolin	572 (D)
Tryptophan	334 (D)	Serin	430 (D)
Valin	951 (M)	Threonin	624 (D)



Klasse 1: N-terminale katalytische Domäne, Mit Rossman-Schleife heften AS an 2'OH-Gruppe im Adenin

Klasse 2: drei allg. Sequenzähnl. in kat. Domäne, heften AS an 3'OH-Gruppe im Adenin





Proteinbiosynthese

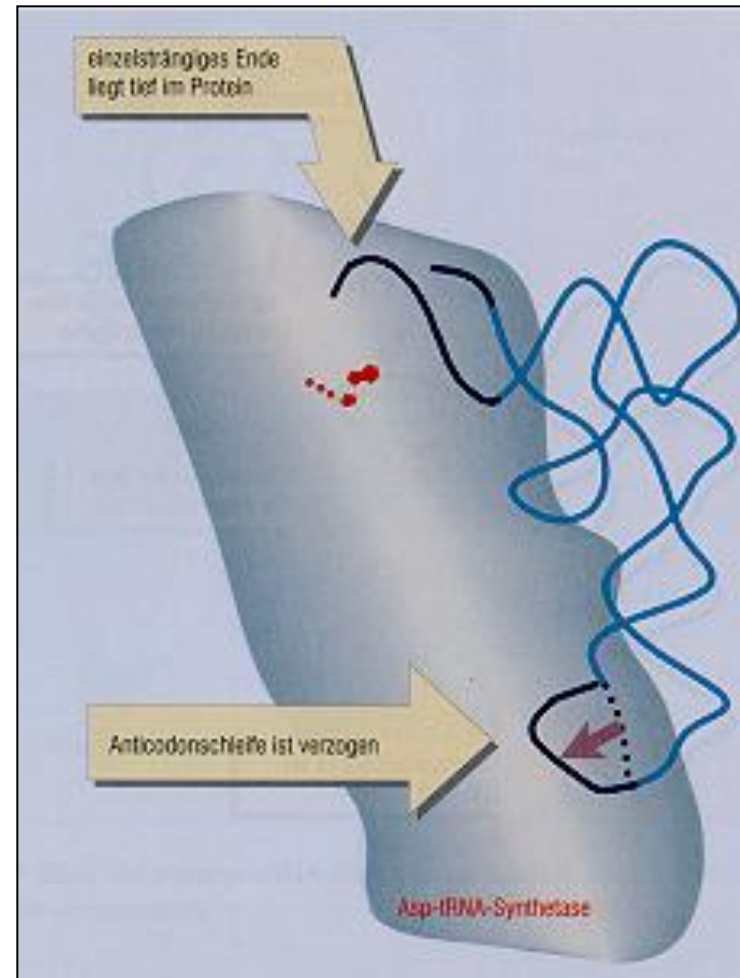
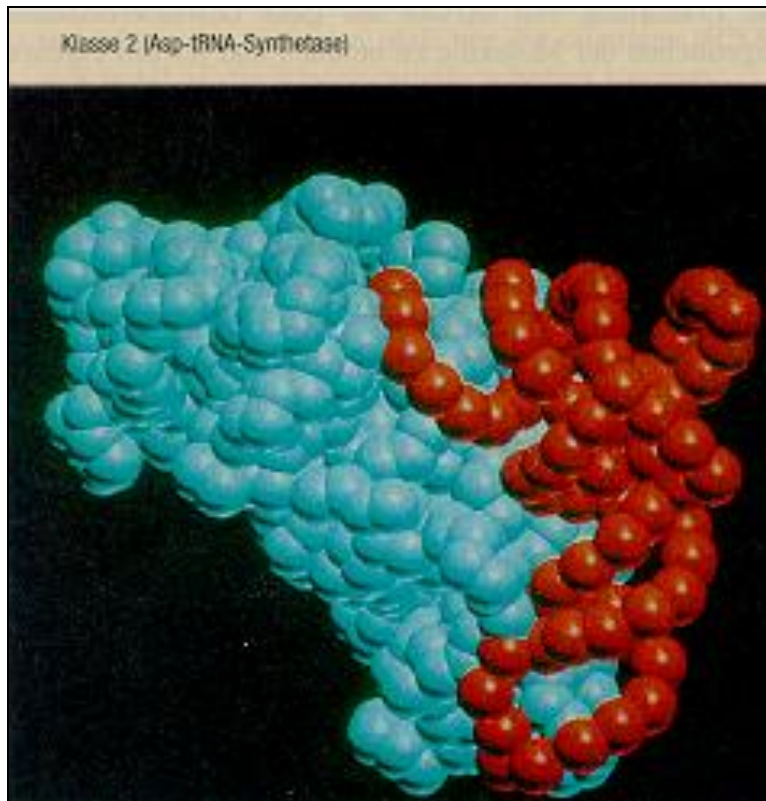
Aminoacyl-tRNA-Synthetasen machen ein zweistufiges „proof-reading“ bezüglich der tRNAs
 Fehlerrate entspricht der der Proteinbiosynthese! 1/60.000



Proteinbiosynthese

Aminoacyl-tRNA-Synthetasen der Klasse 2

Kontakt mit tRNA über variable Schleife und der großen Furche des Akzeptorstamms sowie im Anticodonbereich – räumliche Erkennung!

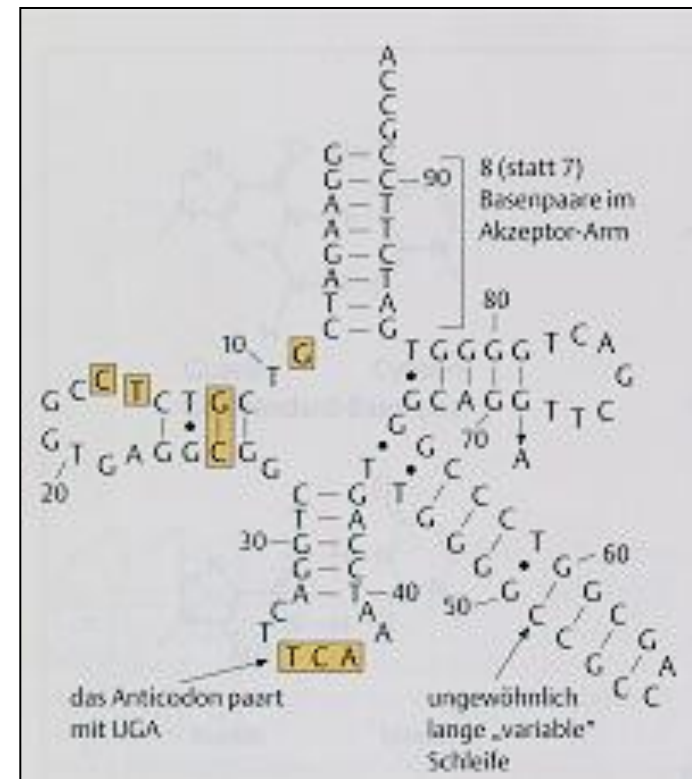
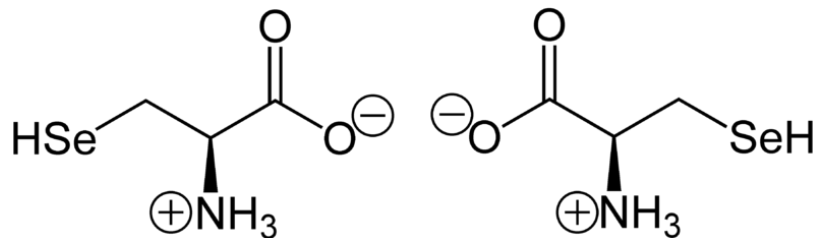
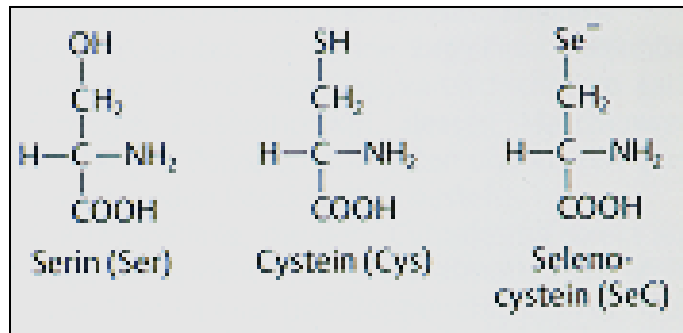


Proteinbiosynthese

Selenocystein – 21. proteinogene Aminosäure

SeH-Gruppe sehr reaktiv, z.B. Formiat-DH, Glutathion Peroxidase

Serin-spezif. Aminoacyl-tRNA-Synthetasen belädt die tRNA
spezifischer Translationsfaktor ist beteiligt

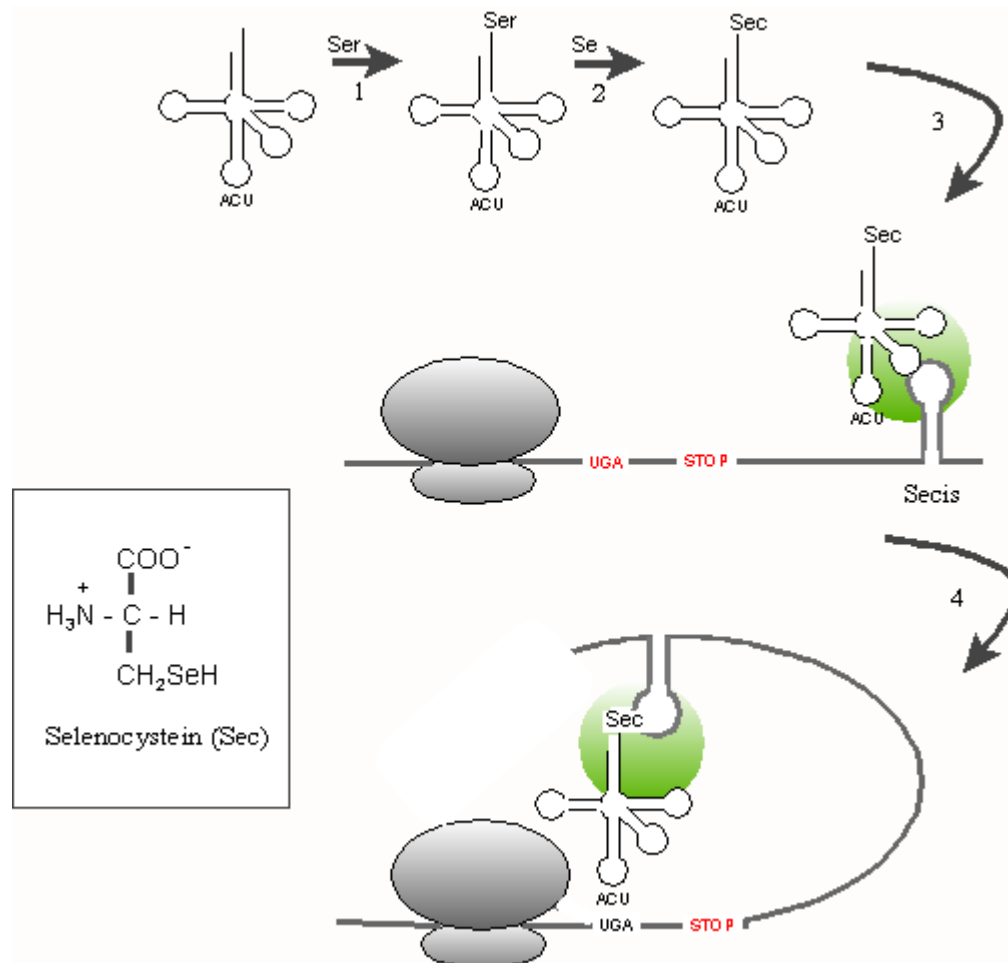


Proteinbiosynthese

Selenocystein – 21. proteinogene Aminosäure

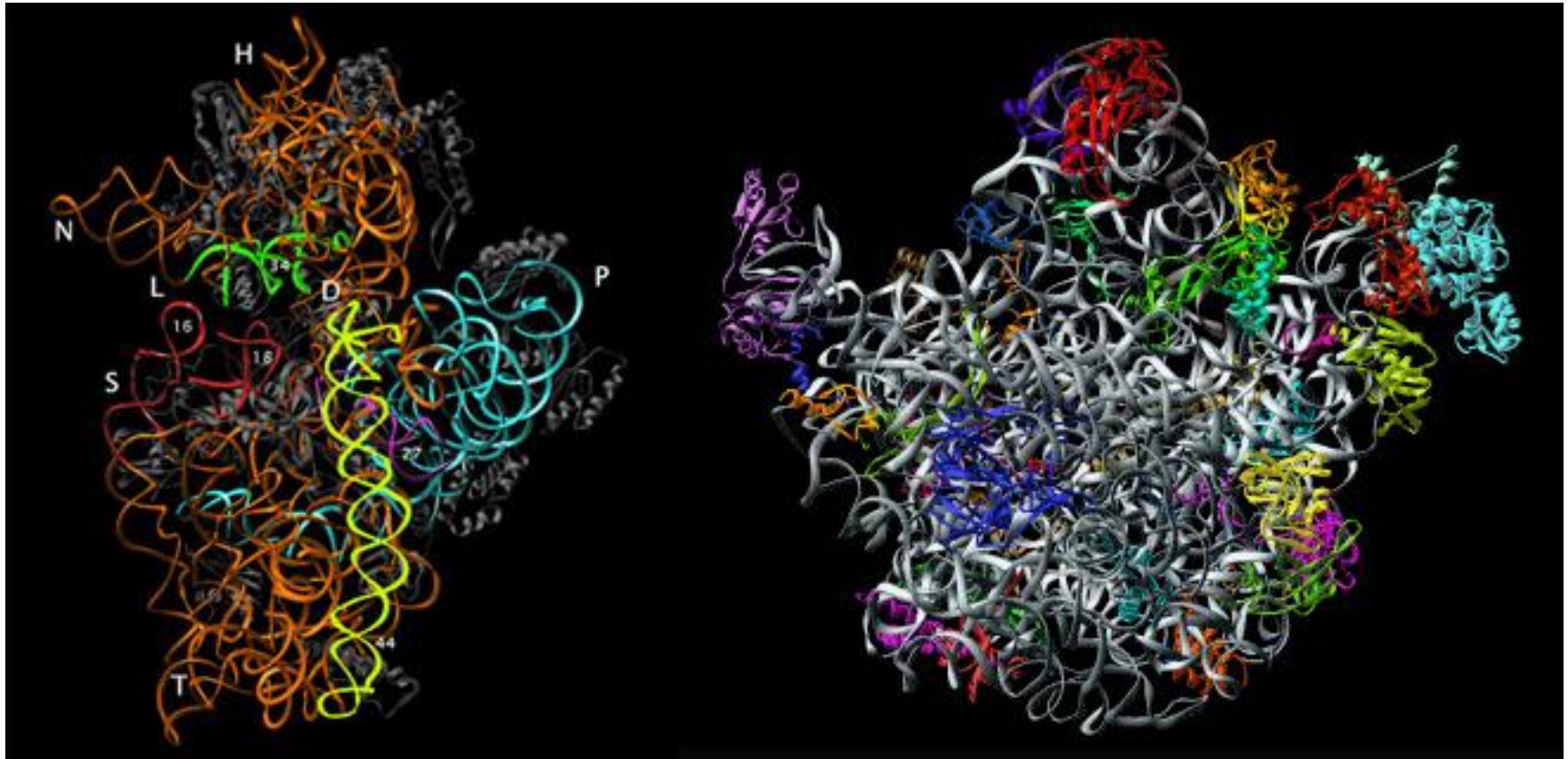
Serin-spezif. Aminoacyl-tRNA-Synthetasen belädt die tRNA
spezifischer Translationsfaktor ist beteiligt

Secis – selenocystein insertion sequence, von SelB erkannt



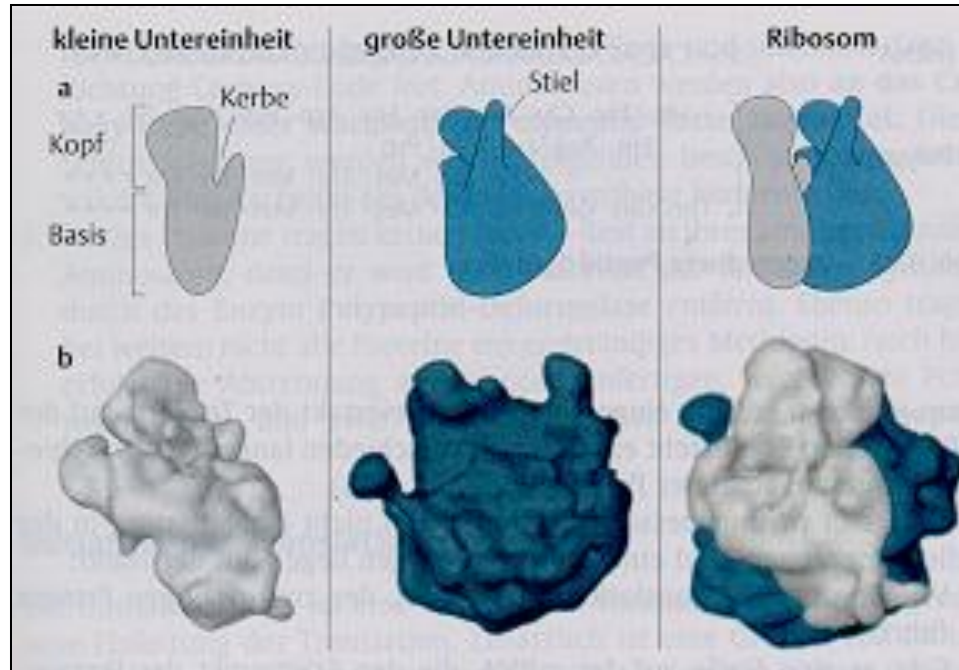
Proteinbiosynthese

Tertiärstruktur von Ribosomen aus *E. coli*
Dissoziation und Reassoziaton ist möglich!



Proteinbiosynthese

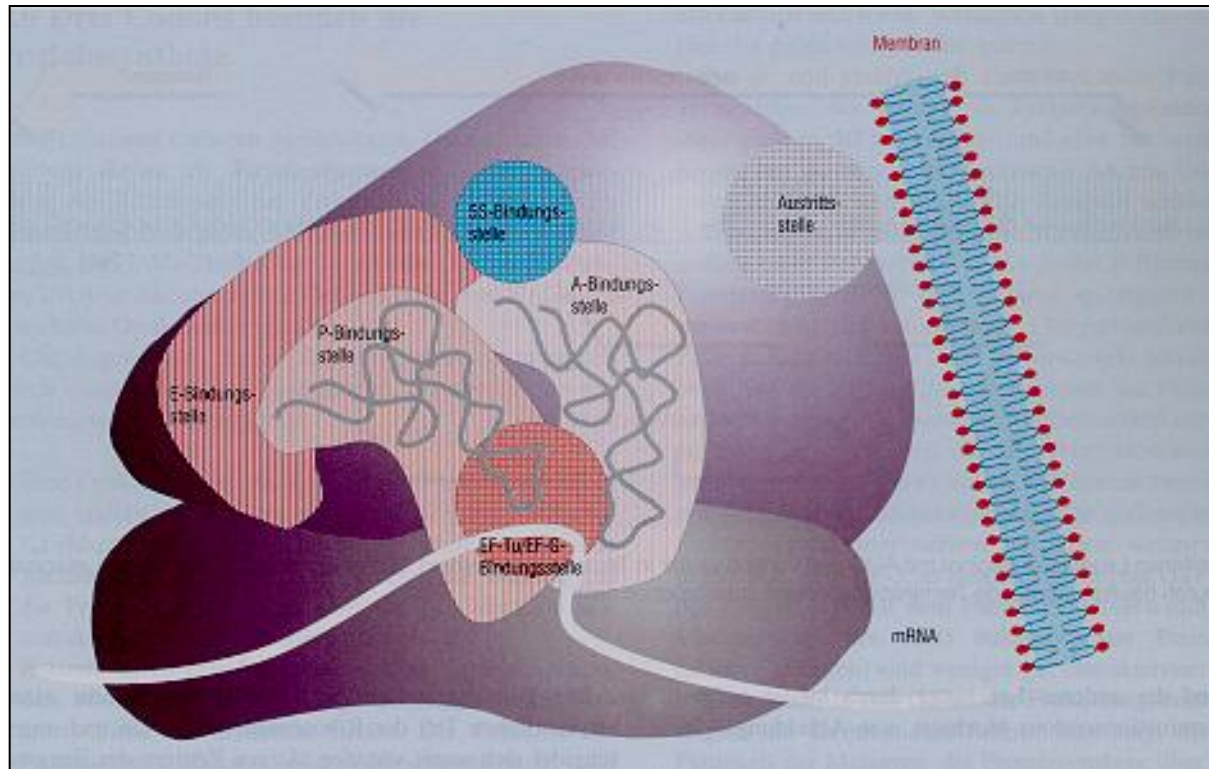
Räumliche Darstellung von Ribosomen
E. coli hat bis zu 20.000 Ribosomen, 25 % der TM



Proteinbiosynthese

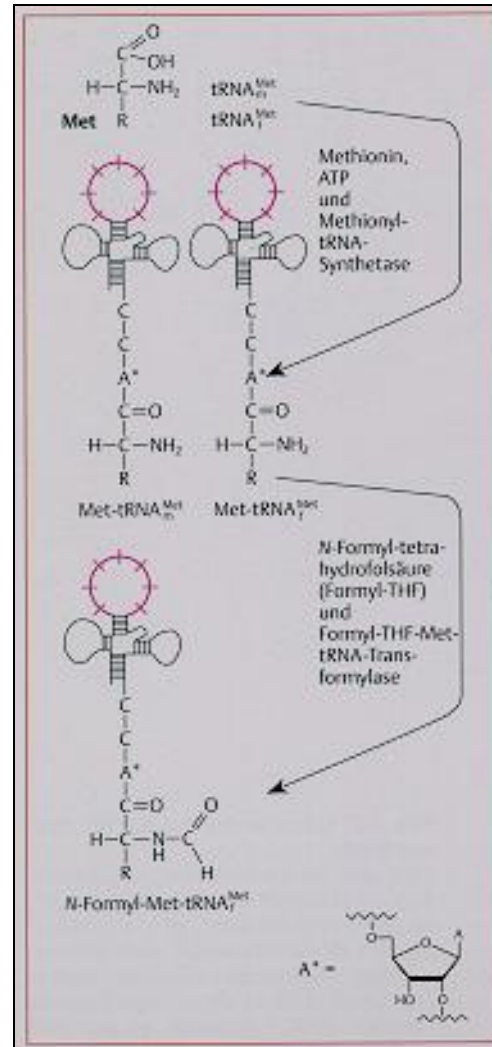
Ribosomen enthalten mehrere aktive Zentren, an deren Bildung rRNAs sowie verschiedene ribosomale Proteine beteiligt sind.

mRNA zwischen den UE, 3 Bindestellen für tRNAs, Peptidsynthesezentrum,
1 Peptidkanal,
Ist Target für viele Antibiotika!



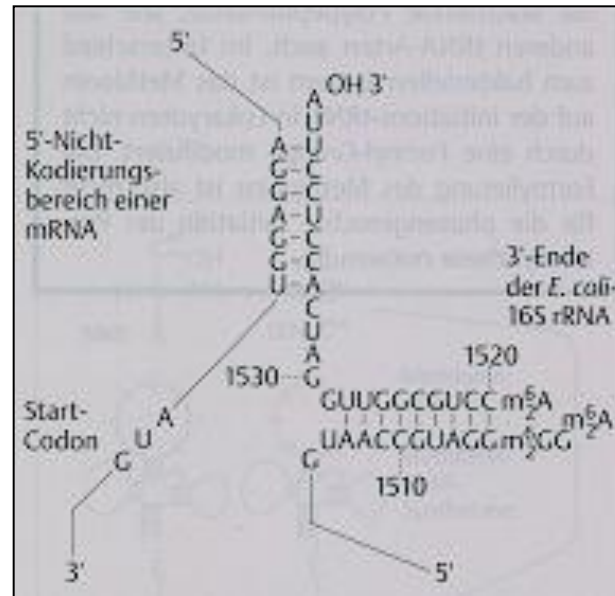
Proteinbiosynthese

Spezifische Initiator-tRNA mit Methionin bindet im P-Ort
In Prokaryoten trägt Methionin am N-Atom eine Formylgruppe
Alternative Startcodons zu AUG sind GUG und UUG



Proteinbiosynthese

Eine spezifische Ribosomenbindestelle sorgt bei Prokaryoten für die genaue Bindung der mRNA an die kleine Untereinheit des Ribosoms
(Shine Dalgarno Sequenz)
Start-Codon oder Methionin-Codon, das ist hier die Frage



Bei Eukaryoten sorgt „Kozak“-Sequenz für effiziente Translation
CCRCCAUGG (R – A oder G)



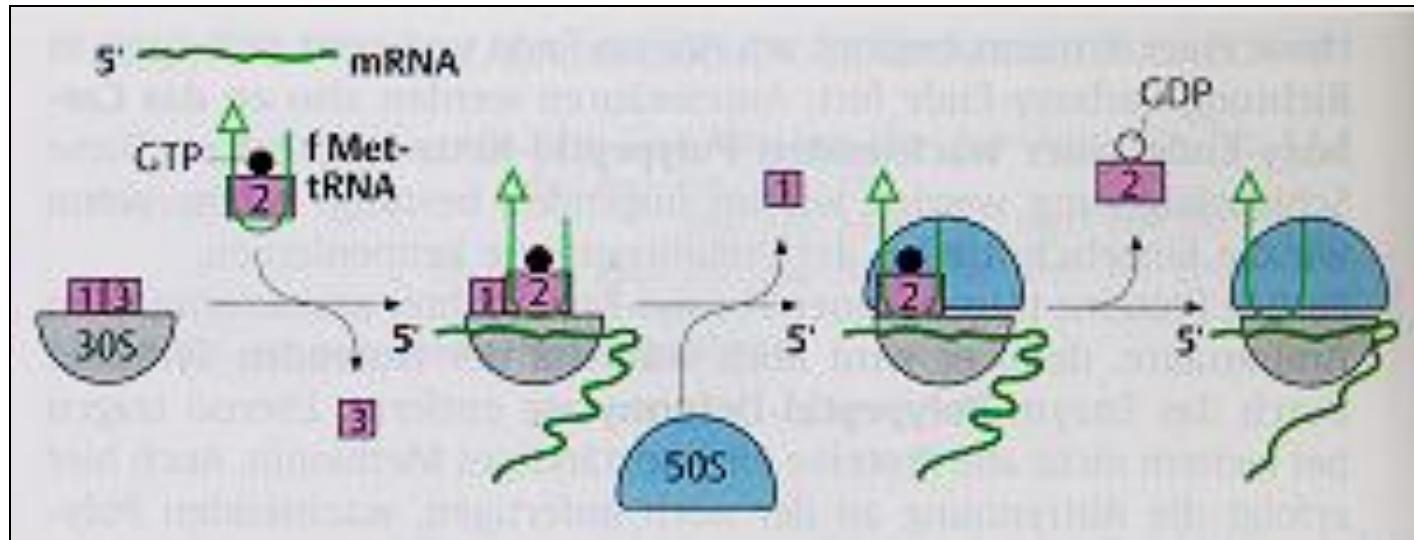
Proteinbiosynthese

Schema der Initiation bei Prokaryoten

IF1 – aktiviert IF2 und IF3 und trennt die Ribosomenuntereinheiten

IF2 – bindet im Komplex mit GTP die Initiator-tRNA

IF3 – verhindert Bindung falscher tRNAs

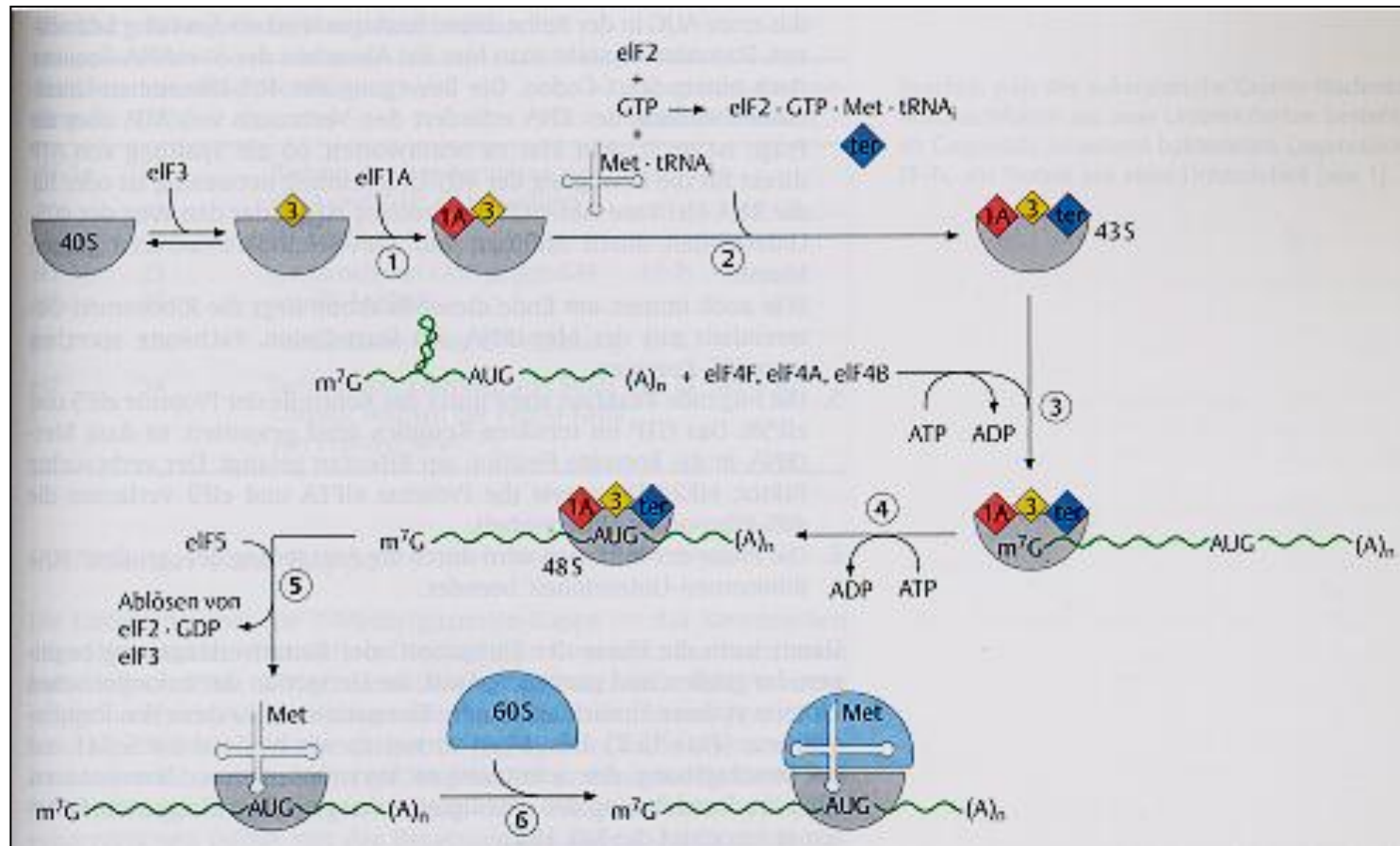


Proteinbiosynthese

Schema der Initiation bei Eukaryoten

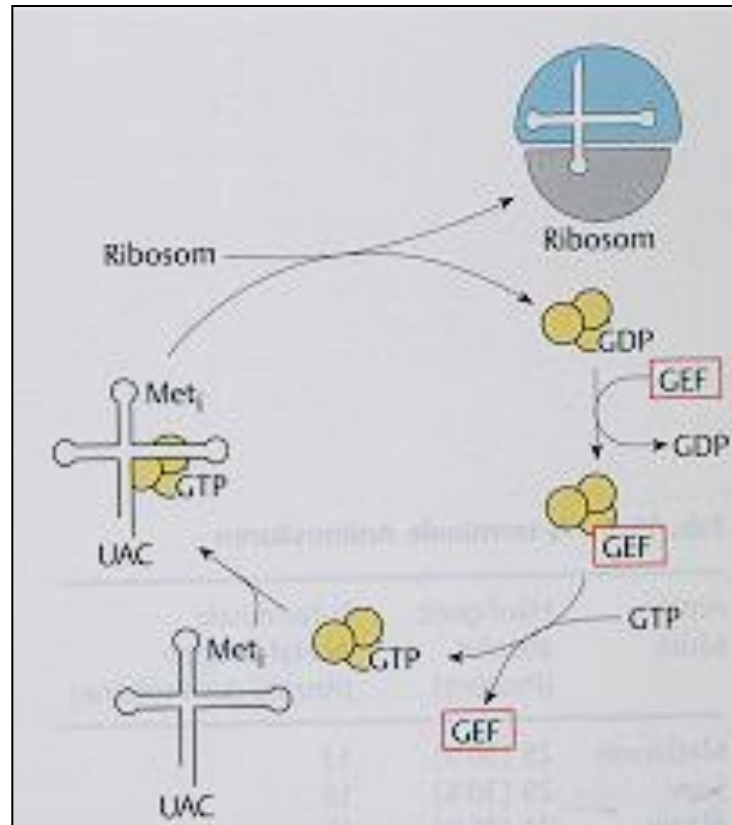
eIF4F bindet cap-Struktur, enthält Helicase (a), cap-Bindeprotein (E) und Aktivierungsproteine (B, G)

eIF5 – stimuliert GTP-Spaltung und Bindung der großen Untereinheit



Proteinbiosynthese

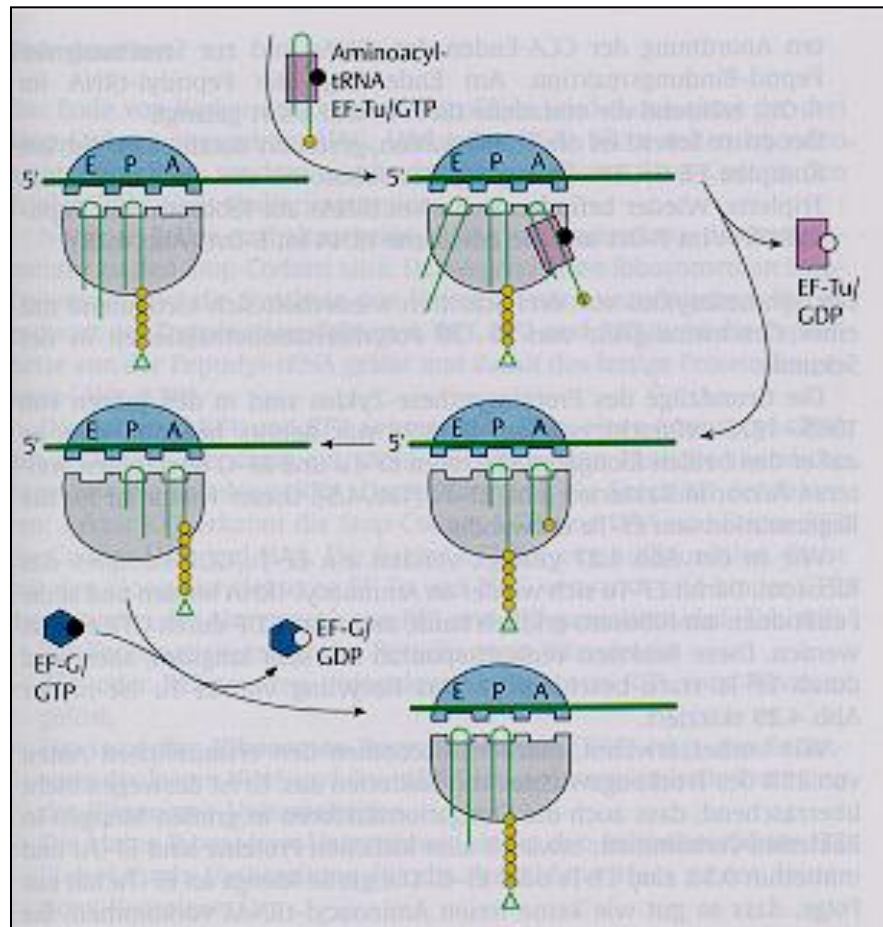
IF2 (Trimer) bzw. eIF2 brauchen zur erneuten Bindung von GTP einen Hilfsfaktor - GEF bzw. eIF2b
Gehören zur großen Gruppe der G-Proteine, Signaltransduktion



Proteinbiosynthese

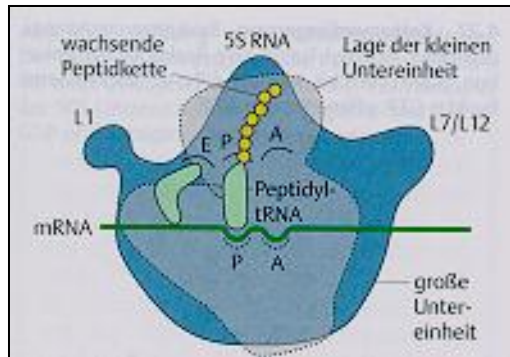
Schema der Elongation bei Prokaryoten

EF-Tu (eEF1 α)- bindet im Komplex mit GTP die nächste tRNA
EF-G (eEF2 - Diphtherie) – GTP-abhängige Translokation



Proteinbiosynthese

Schema der Elongation bei Prokaryoten
EF-Tu/tRNA-Komplex und EF-G sind strukturell ähnlich!

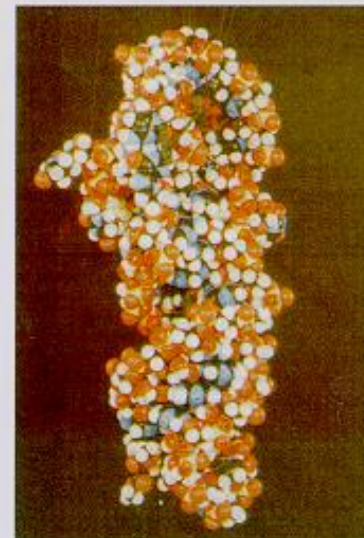
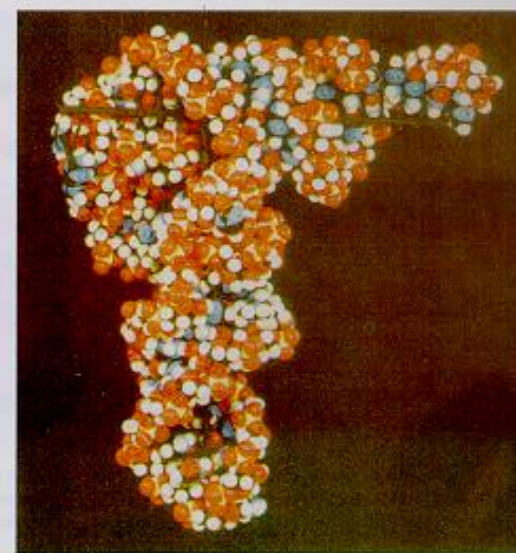
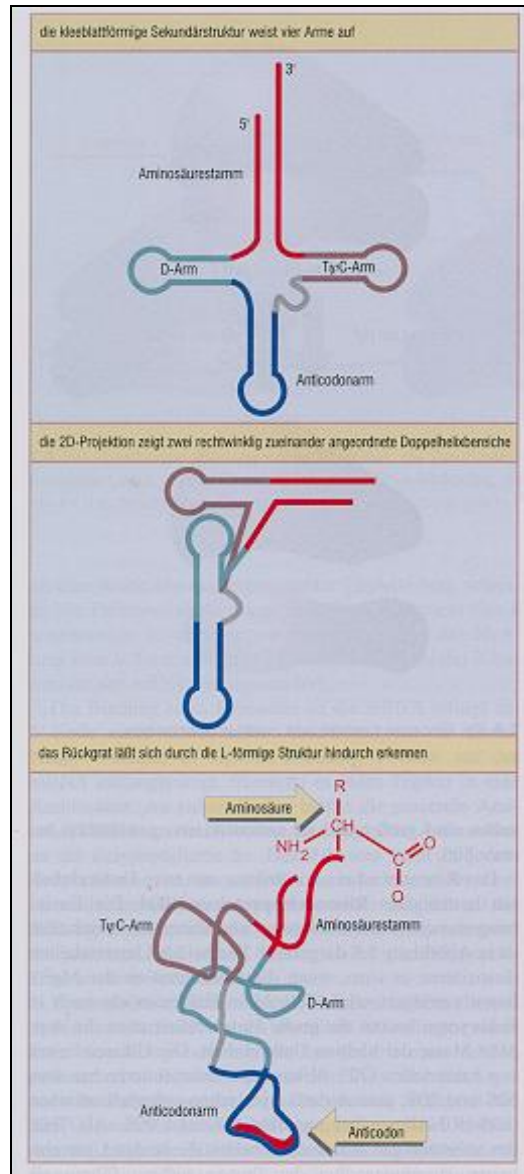


8.25 Die Struktur des ternären Komplexes Aminoacyl-tRNA•EF-Tu•GTP (links) ähnelt der Struktur von EF-G (rechte). Strukturell konservierte Domänen von EF-Tu und EF-G sind rot beziehungsweise grün hervorgehoben; die tRNA und ihr ähnlicher Bereich im Faktor EF-G sind violett dargestellt. (Aufnahme mit freundlicher Genehmigung von Poul Nissen.)



Proteinbiosynthese

Struktur der tRNA, am 3'-Ende wird die AS gebunden



Proteinbiosynthese

Durch das allosterische Dreistellen-Modell wird die Genauigkeit der Proteinbiosynthese erklärt

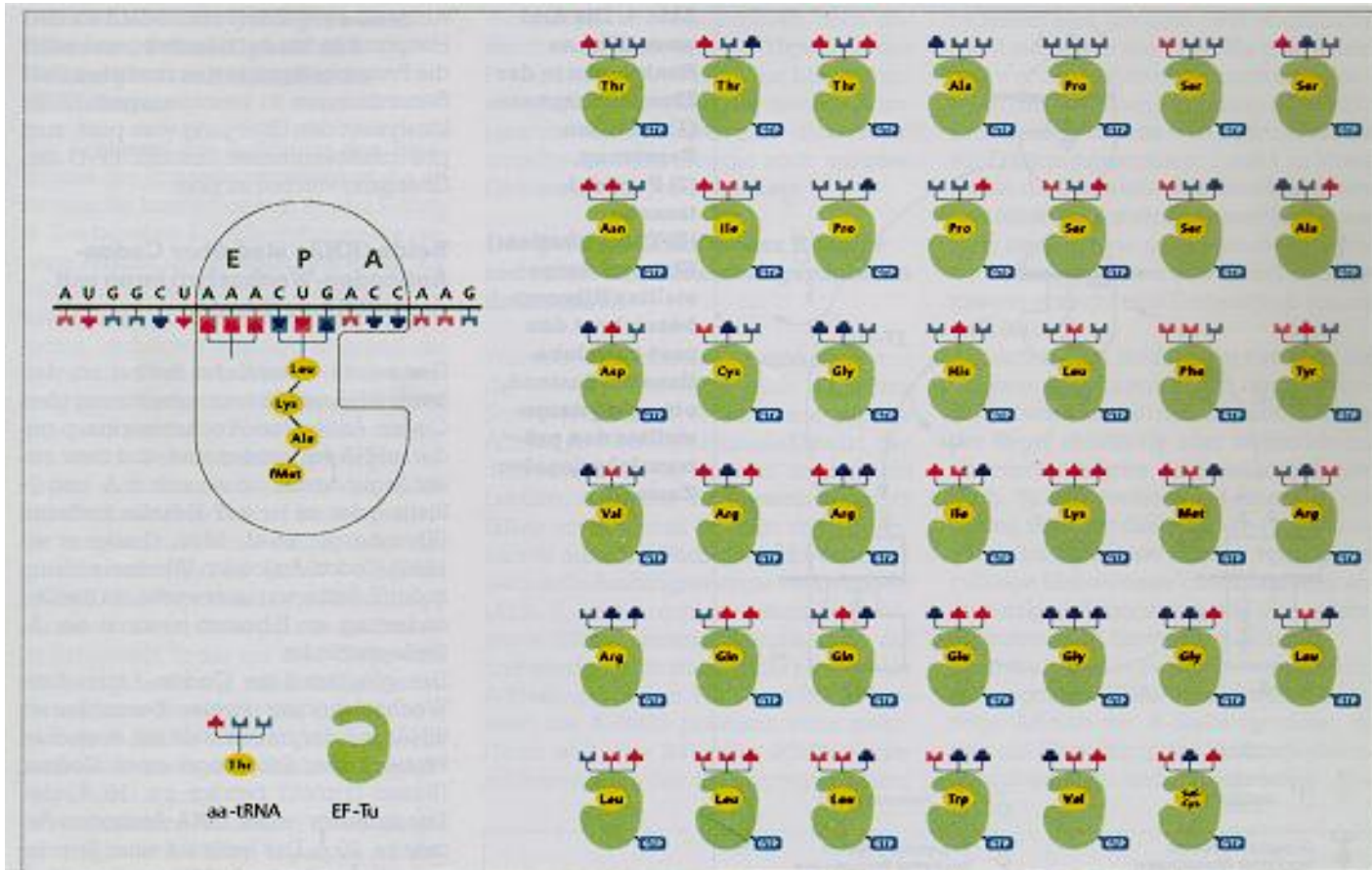


Abb. 3: Das ribosomale Erkennungsproblem. 41 verschiedene Substrate (ternäre Komplexe) konkurrieren um die ribosomale A-Stelle.

Proteinbiosynthese

Das allosterische Dreistellen-Modell nimmt 2 allost. Zustände am Ribosom an. Dadurch wird die geringe Affinität bei der tRNA-Bindung (E- und P-Stelle besetzt) erklärt, die zur Selektion der richtigen tRNA beiträgt.

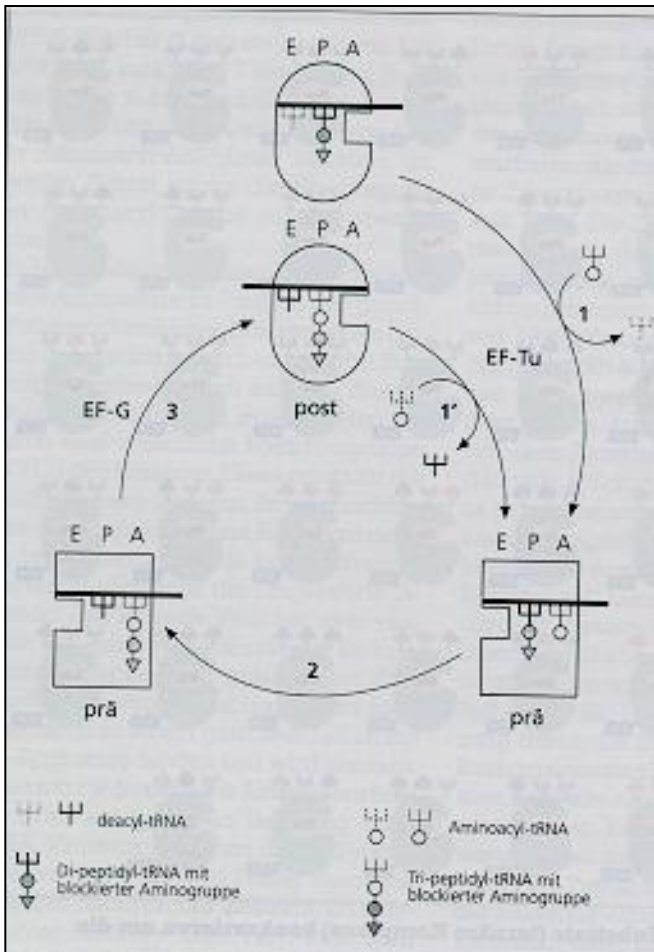


Abb. 4: Die drei wesentlichen Reaktionen in der Elongationsphase. (1) A-Stellen-Besetzung, (2) Peptidyltransfer, (3) Translokation. Ein rund dargestelltes Ribosom bezeichnet den post-translokationalen Zustand, ein eckig dargestelltes den prä-translokationalen Zustand.

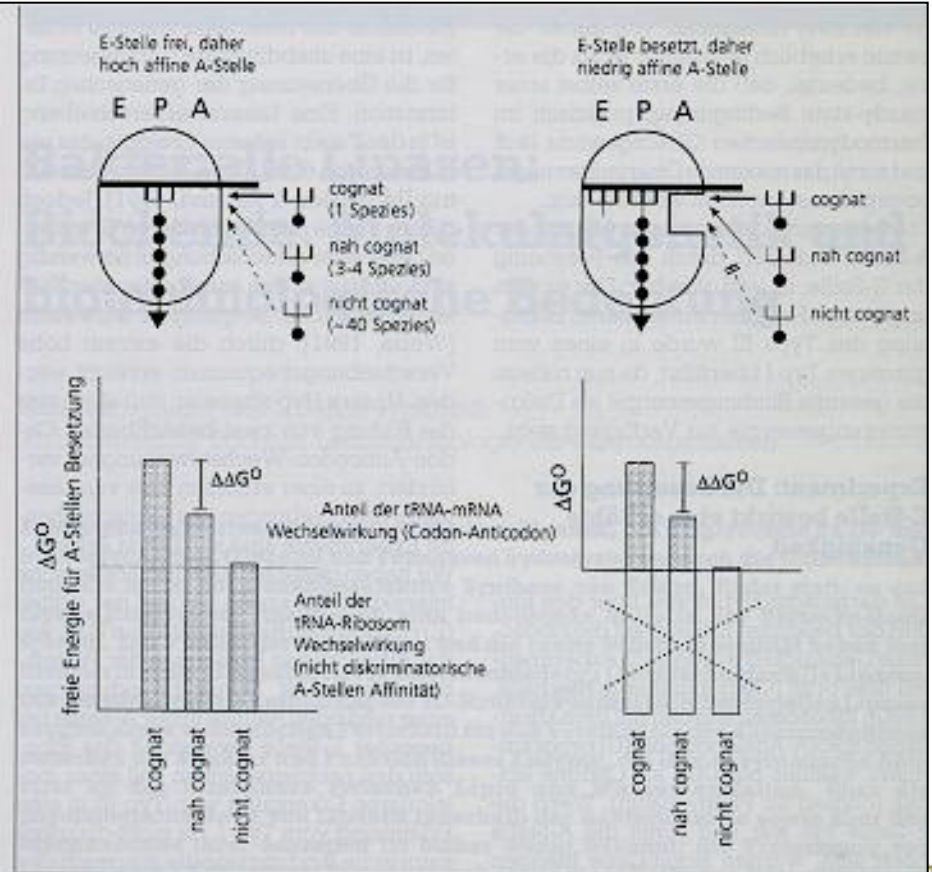


Abbildung 5: Schematische Darstellung des Effektes der Allosterie. Die allosterische Reduktion der A-Stellen-Affinität bei besetzter E-Stelle um die nicht-diskriminatorischen Anteile erklärt, wie das Ribosom Schnelligkeit und Genauigkeit vereinbart (Erläuterung siehe Text).

Proteinbiosynthese

Schema der Termination bei Prokaryoten

Verharren am Stoppcodon führt zur Bindung von „release factors“
Rf1 erkennt UAA und UAG, RF2 erkennt UAA und UGA, RF3 löst Protein ab

