

**Einführung in die Molekularbiologie**  
**Prof. Dr. Martin Hagemann**

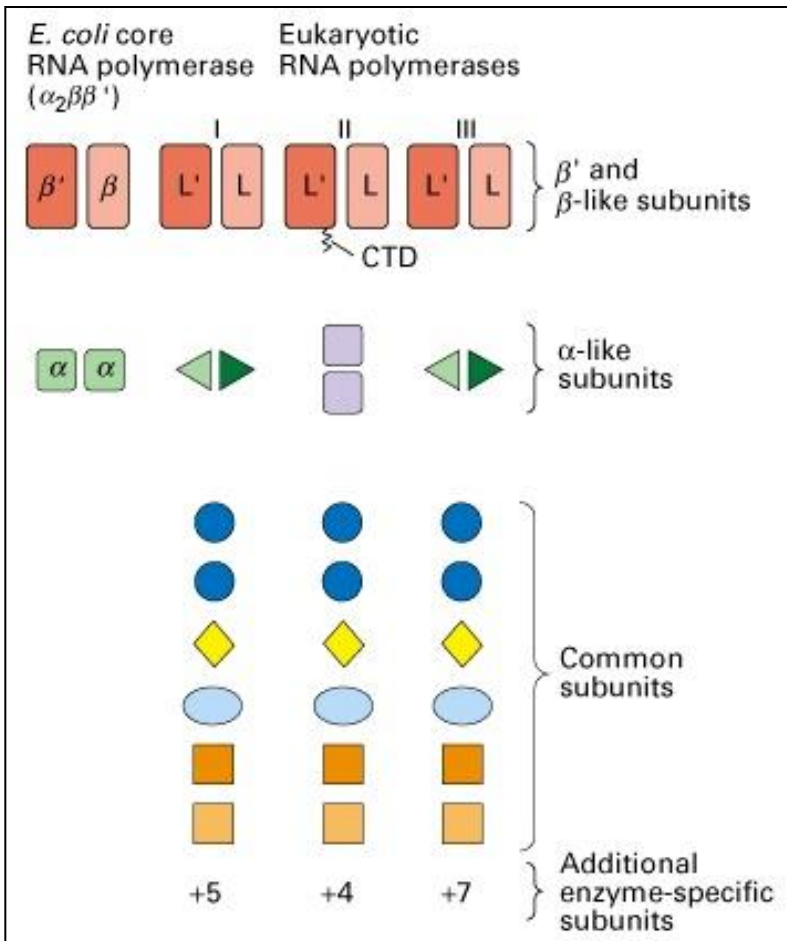
**Vorlesung 2**

**Initiation der Transkription am eukaryotischen Promotor**  
**Termination der Transkription**  
**RNA-Reifung**



# Initiation der Transkription in Eukaryoten

Im Zellkern liegen 3 RNA-Polymerasen vor.



## Funktion

**RNA-Polymerase I: rRNA-codierende Gene**

**RNA-Polymerase II: Protein-codierende Gene**

**RNA-Polymerase III: tRNA, 5s rRNA, sn-uRNA, sncRNA -codierende Gene**

**Alle euk. RNA-Polymerasen benötigen Hilfsfaktoren (Transkriptionsfaktoren) zur Initiation am Promotor!**



	Glu	Ala	Pro	Thr	Ser	Pro	Gly
1	Thr	Ala	Val	Ser	Ser	Pro	Gly
2	Thr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Thr
3	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ala
4	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
5	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
6	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
7	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
8	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
9	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
10	Tyr	Ser	Pro	Met	Ser	Pro	Ser
11	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
12	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
13	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
14	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
15	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
16	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
17	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ala
18	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
19	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
20	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
21	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
22	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Asn
23	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
24	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Gly
25	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ala
26	Tyr	Ser	Pro	Lys	Glu	Asp	Glu
	Glu	Lys	His	Asn	Glu	Asn	Glu
						Asn	Ser
							Arg

	Gly	Gly	Ala	Met	Ser	Pro	Ser
1	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ala
2	Tyr	Glu	Pro	Asp	Ser	Pro	Gly
3	Tyr	Thr	Pro	Gln	Ser	Pro	Gly
4	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
5	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
6	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Asn
7	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
8	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
9	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
10	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
11	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
12	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
13	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
14	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
15	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
16	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
17	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
18	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
19	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
20	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
21	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
22	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Asn
23	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Asn
24	Tyr	Thr	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
25	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
26	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Asn
27	Tyr	Thr	Pro	Thr	Ser	Pro	Asn
28	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
29	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
30	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
31	Tyr	Ser	Pro	Ser	Ser	Pro	Asp
32	Tyr	Thr	Pro	Gln	Ser	Pro	Thr
33	Tyr	Thr	Pro	Ser	Ser	Pro	Thr
34	Tyr	Ser	Pro	Ser	Ser	Pro	Ser
35	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Lys
36	Tyr	Thr	Pro	Thr	Ser	Pro	Ser
37	Tyr	Ser	Pro	Ser	Ser	Pro	Glu
38	Tyr	Thr	Pro	Thr	Ser	Pro	Lys
39	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Lys
40	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Lys
41	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Thr
42	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Thr
43	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Val
44	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Val
45	Tyr	Thr	Pro	Thr	Ser	Pro	Lys
46	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Thr
47	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Lys
48	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Thr
49	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Lys
50	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Lys
51	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Thr
52	Tyr	Ser	Pro	Thr	Ser	Pro	Ala
	Leu	Ser	Pro	Asp	Asp	Ser	Asp
						Glu	Glu
						Asn	

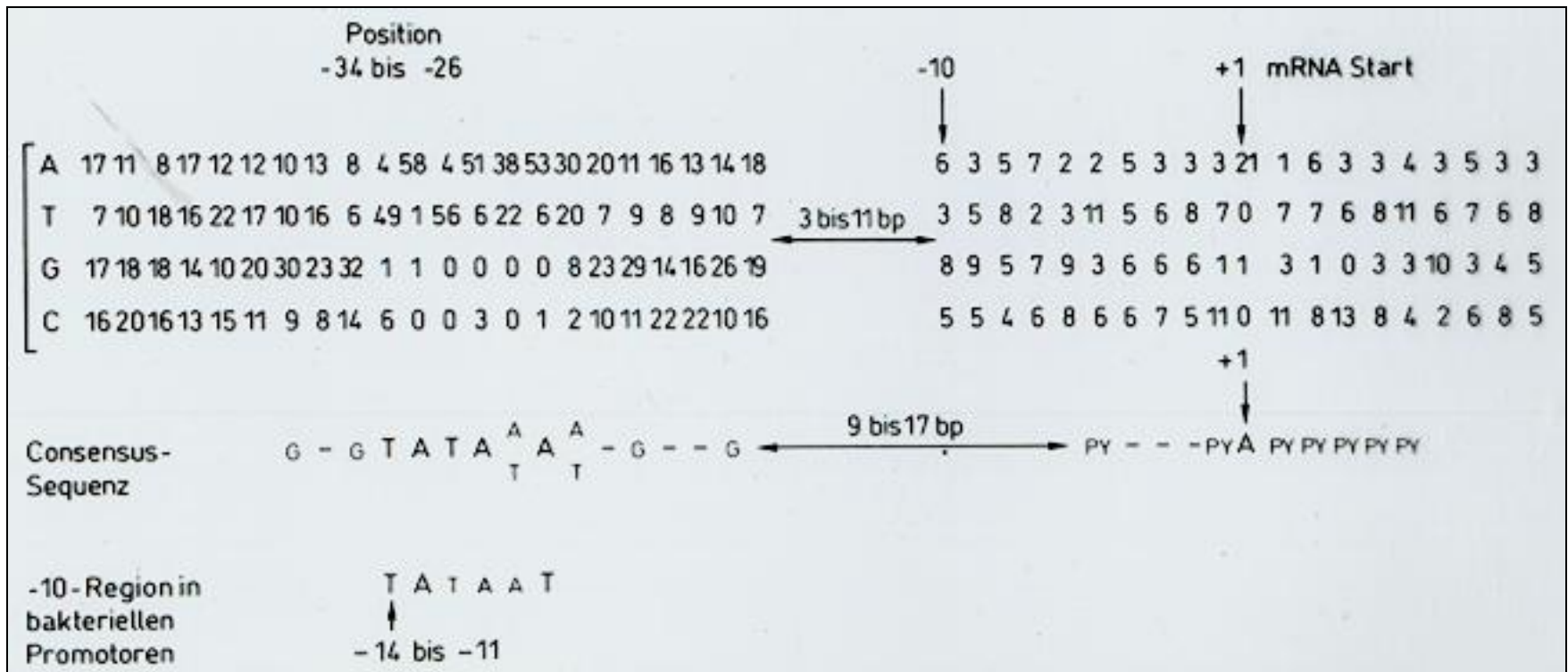
# RNA-Polymerasen in Eukaryoten

Die große Untereinheit der RNA-Polymerase II hat einen C-terminalen Fortsatz, der viele AS-Sequenzwiederholungen aufweist.



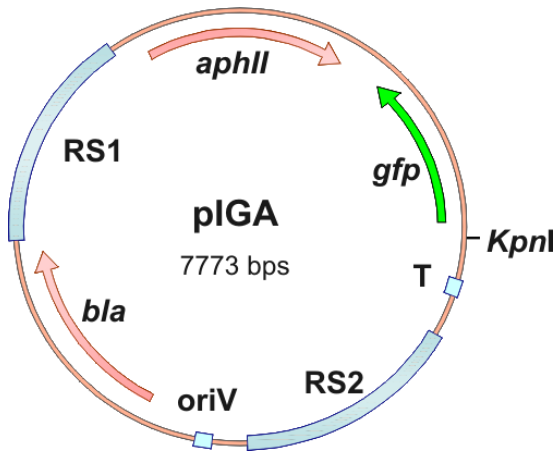
# Initiation der Transkription in Eukaryoten - RNAPII

Nur die TATA-Box und das Inr Element sind konserviert.

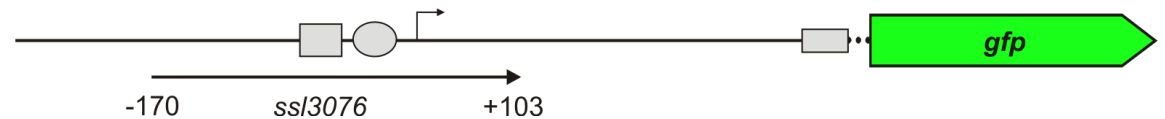


# Initiation der Transkription in Eukaryoten - RNAPII

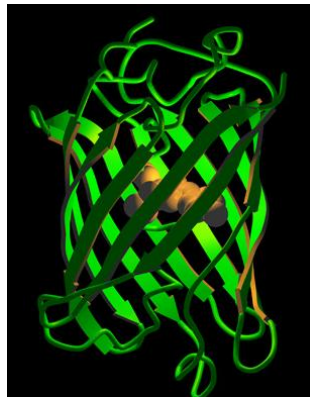
Identifizierung weiterer Promotorelemente durch Promotor-mapping  
Ausgehend vom Transkriptionsstartpunkt +1



Schrittweise Deletion/Mutation des Promotors



Green-Fluorescence-Protein



Quantitative Messung  
der Promotoraktivität mittels  
Reportergenexpression  
z.B. Gfp-Fluoreszenz an intakten Zellen



# Initiation der Transkription in Eukaryoten - RNAPII

Weitere Elemente sind genspezifisch – experimenteller Nachweis notwendig.  
GC- und CCAAT-Boxen gehören häufig zum Grundpromotor.

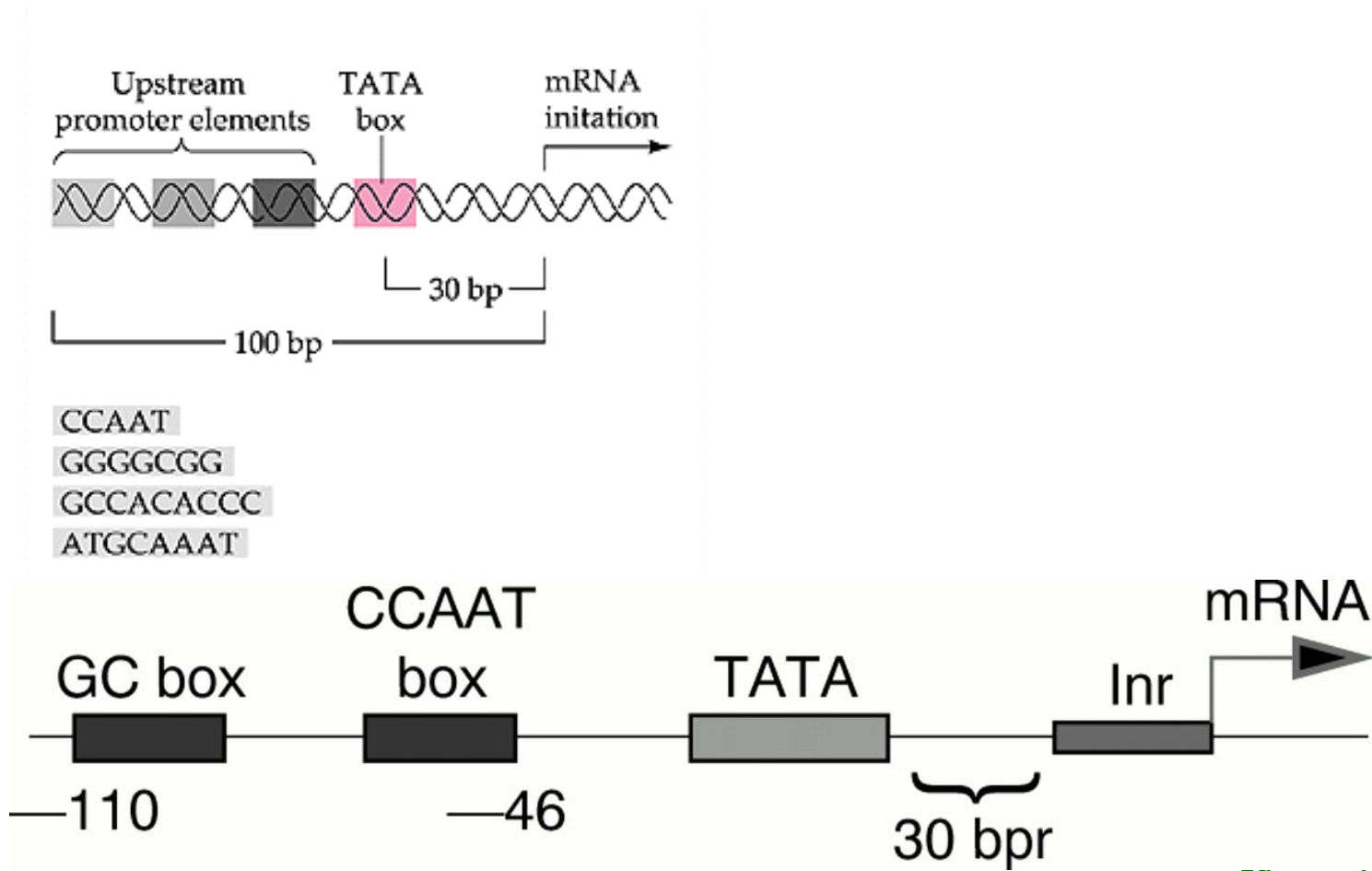
	120	110	-100	-90	-80	-70	-60	-50	-40	-30	-20	-10	+1	RT
Wildtyp Sequenz	GTCATCACCCAGACCTCACCCTGCAGAGCCACACCCTGGTGTGGCCAATCTACACACGGGGTAGGGATTACATAGTTCAGGACTTGGGCATAAAAAGGCAGAGCAGGGCAGCTGCTGCTTACACT													1
Mutanten	GACCTCACCCCTGCAGAGCCACACCCTGGTGTGGCCAATCTACACACGGGGTAGGGATTACATAGTTCAGGACTTGGGCATAAAAAGGCAGAGCAGGGCAGCTGCTGCTTACACT													1
82	GTGTTGGCCAATCTACACACGGGGTAGGGATTACATAGTTCAGGACTTGGGCATAAAAAGGCAGAGCAGGGCAGCTGCTGCTTACACT													0,09
79	TTGGCCAATCTACACACGGGGTAGGGATTACATAGTTCAGGACTTGGGCATAAAAAGGCAGAGCAGGGCAGCTGCTGCTTACACT													0,1
78	TGGCCAATCTACACACGGGGTAGGGATTACATAGTTCAGGACTTGGGCATAAAAAGGCAGAGCAGGGCAGCTGCTGCTTACACT													0,1
56	GGGATTACATAGTTCAGGACTTGGGCATAAAAAGGCAGAGCAGGGCAGCTGCTGCTTACACT													0,02
40	GGACTTGGGCATAAAAAGGCAGAGCAGGGCAGCTGCTGCTTACACT													0,02
37	CTTGGGCATAAAAAGGCAGAGCAGGGCAGCTGCTGCTTACACT													0,02
37	CTTGTCATAAAAAGGCAGAGCAGGGCAGCTGCTGCTTACACT													0,02
26	AAGGCAGAGCAGGGCAGCTGCTGCTTACACT													<0,005
20	GAGCAGGGCAGCTGCTGCTTACACT													<0,005
12	CAGCTGCTGCTTACACT													<0,005

**β-Globin**



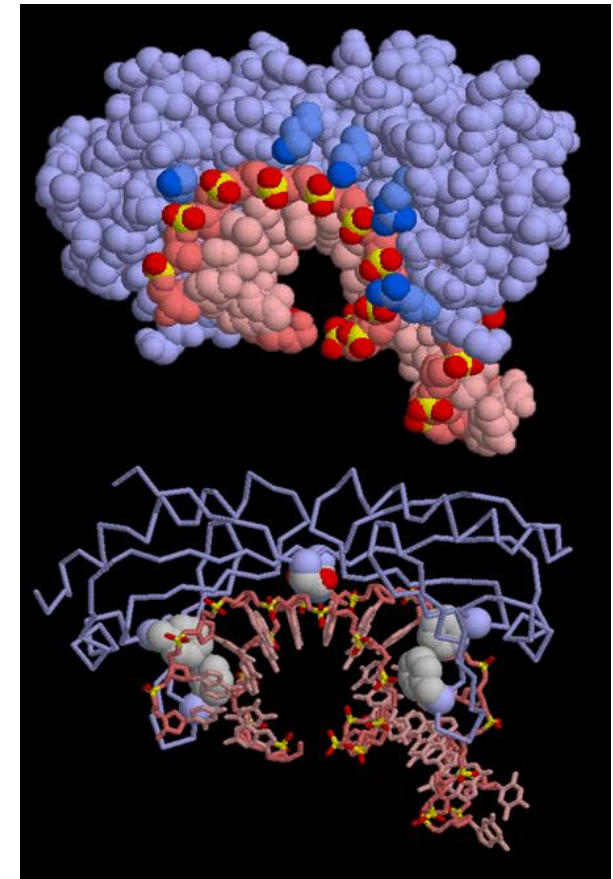
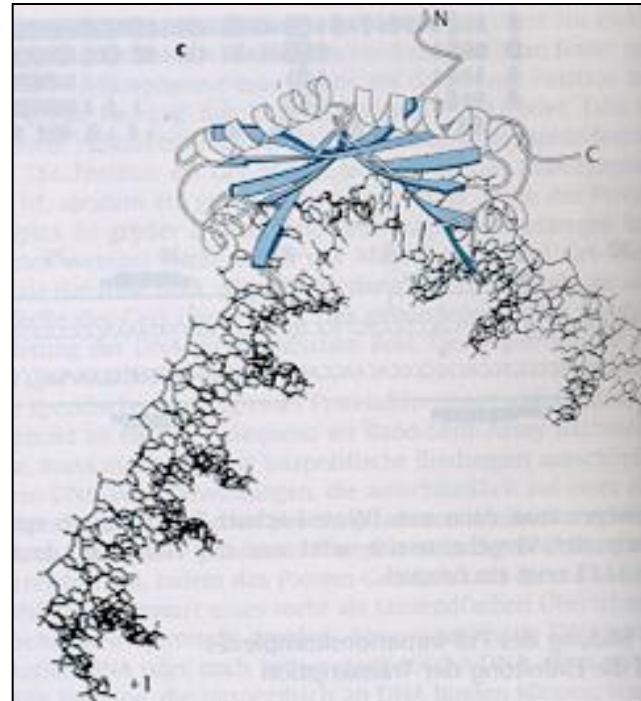
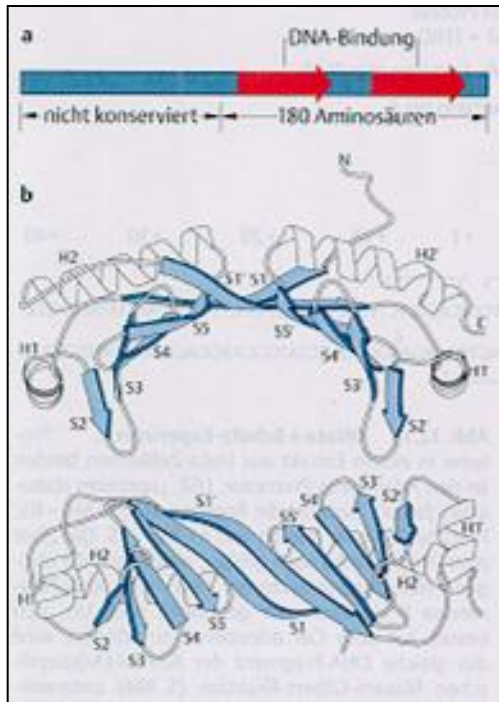
# Initiation der Transkription in Eukaryoten - RNAPII

Eukaryotische Promotoren sind **modular** aufgebaut. Zusätzlich zum Grundpromotor existieren „upstream“ Elemente.



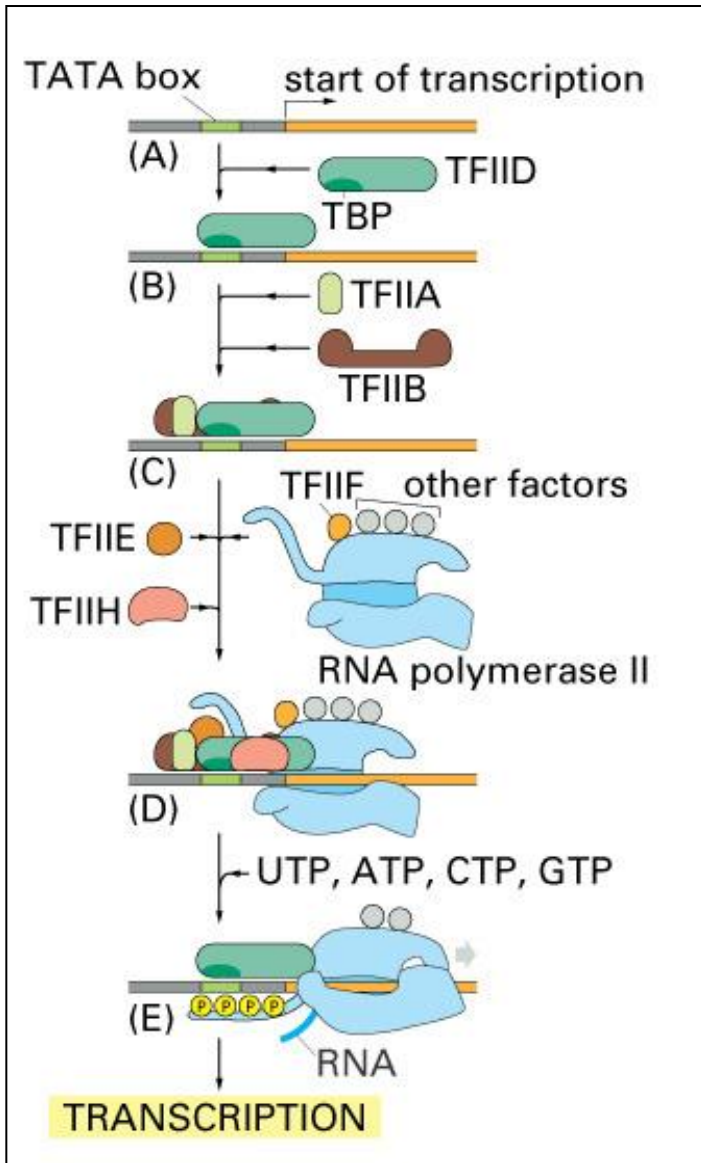
# Initiation der Transkription in Eukaryoten - RNAPII

Die TATA-Box wird von TBP erkannt und gebunden.  
TBP = TATA-Binde-Protein, Bestandteil von TFIID  
TBP induziert eine DNA-Verbiegung.



# Initiation der Transkription in Eukaryoten - RNAPII

Eine Reihe von universellen TF helfen der RNAPII gemeinsam mit TFIID an den Grundpromotor zu binden.

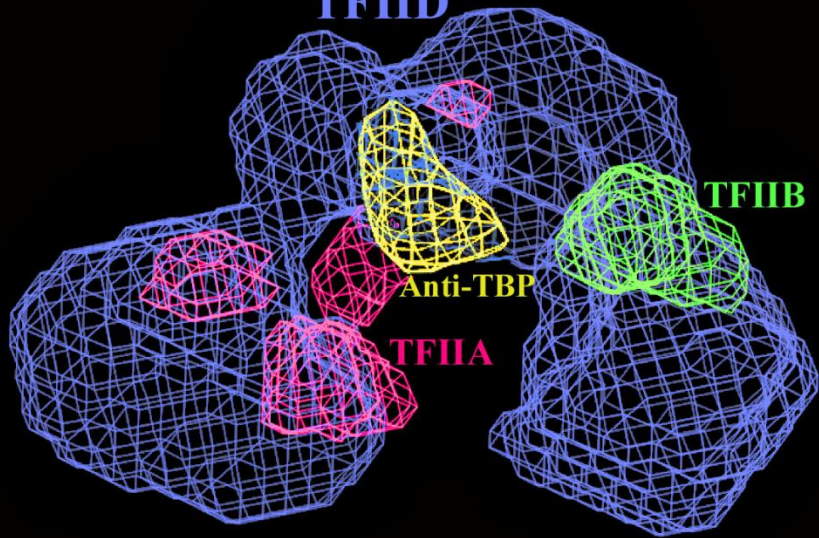


Tab. 12.3 Allgemeine Transkriptionsfaktoren

Bezeichnung	Untereinheiten	Mol.-Gew. (kDa)	Funktion	
TFIID	TBP	1	38	Erkennen der TATA-Box Bindung von TAFs
	TAFs	bis zu 12	15–250	Erkennen von TATA-freien Promotoren verschiedene regulatorische Funktionen
TFIIA	3	12, 19, 35	Stabilisierung der TFIID-Bindung Entfernen/Neutralisieren von negativen Faktoren	
TFIIB	1	35	Bindung der RNA-Polymerase II	
TFIIF	2	30, 74	Heranführen der RNA-Polymerase II an den Promotor	
TFIIE	2	34, 57	Heranführen von TFIIH, Regulation der enzymatischen Aktivitäten von TFIIH	
TFIIH	9	35–89	DNA-Helikase: Entwindung der Promotor-Sequenz	
			Protein-Kinase: Phosphorylierung der carboxyterminalen Domäne von RNA-Polymerase II	
			hierzu gehören:	
			89	3'-5'-DNA-Helikase (XPB)
			80	5'-3'-DNA-Helikase (XPD)
40	cyclinabhängige Protein-Kinase (CDK7)			
38	Cyclin H			



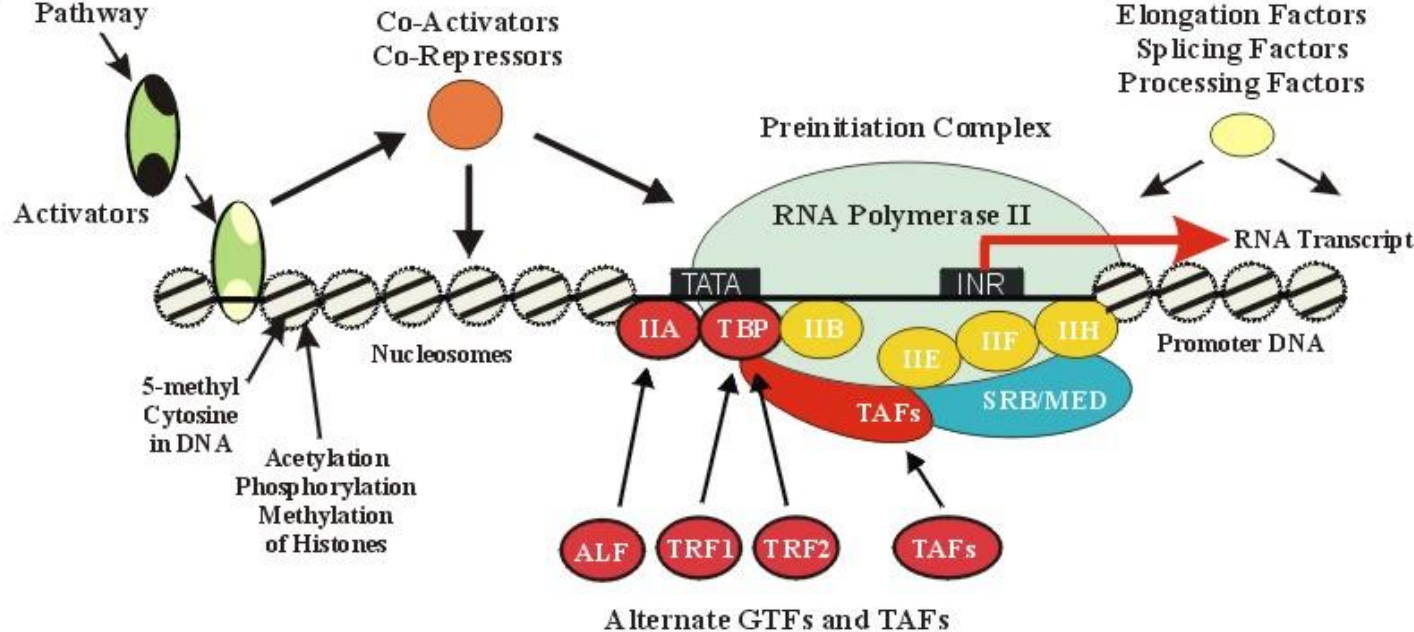
TFIID



# Initiation der Transkription in Eukaryoten - RNAPII

TBP – TATA-Binde-Protein – ist mit weiteren Proteinen assoziiert die als TAFs = TBP-Assoziierte-Faktoren bezeichnet werden (Komplex ist TFIID).

Your Favorite Signal Transduction Pathway

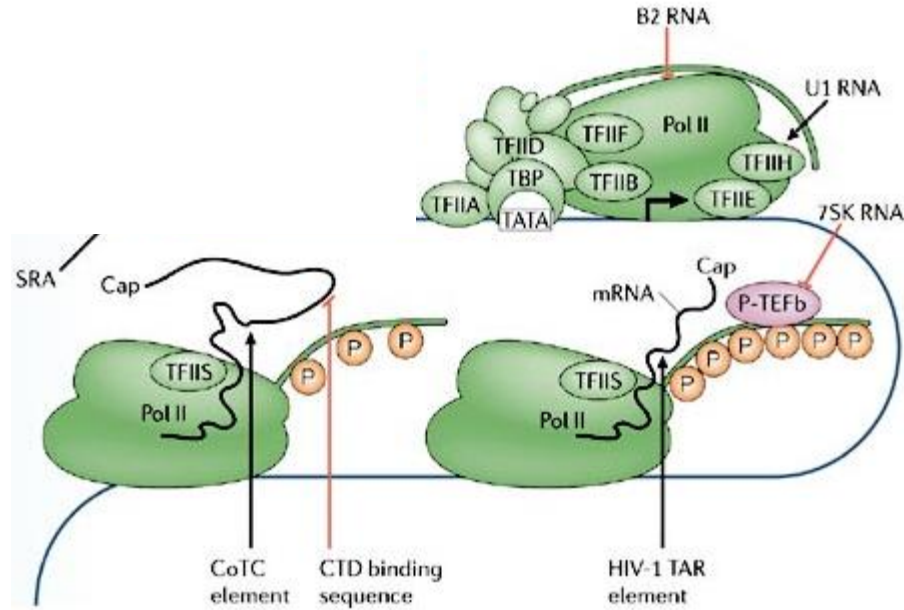


Cartoon figure depicting the assembly of certain transcription factors on the promoter of a eukaryotic gene.



# Initiation der Transkription in Eukaryoten - RNAPII

## Übergang der RNAPII von der Initiation in die Elongation

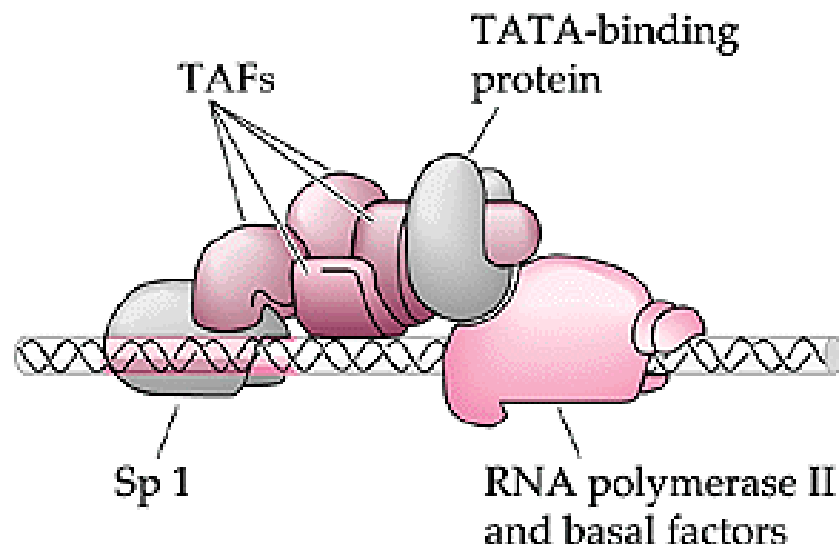


Copyright © 2006 Nature Publishing Group  
Nature Reviews | Molecular Cell Biology



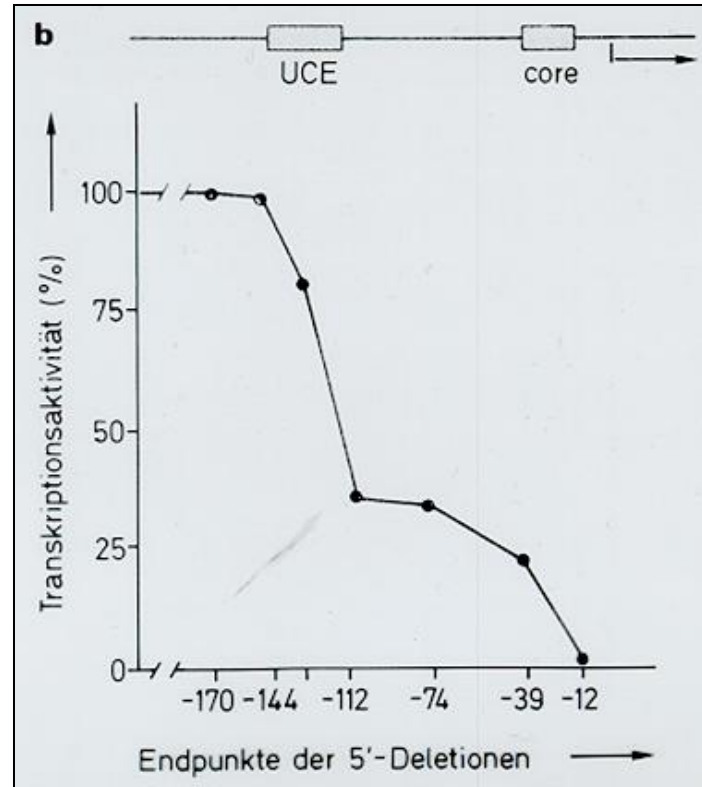
# Initiation der Transkription in Eukaryoten - RNAPII

TATA-Box-freie Promotoren werden an GC-Boxen durch den TF SP1 sequenzspezifisch erkannt und initiiert



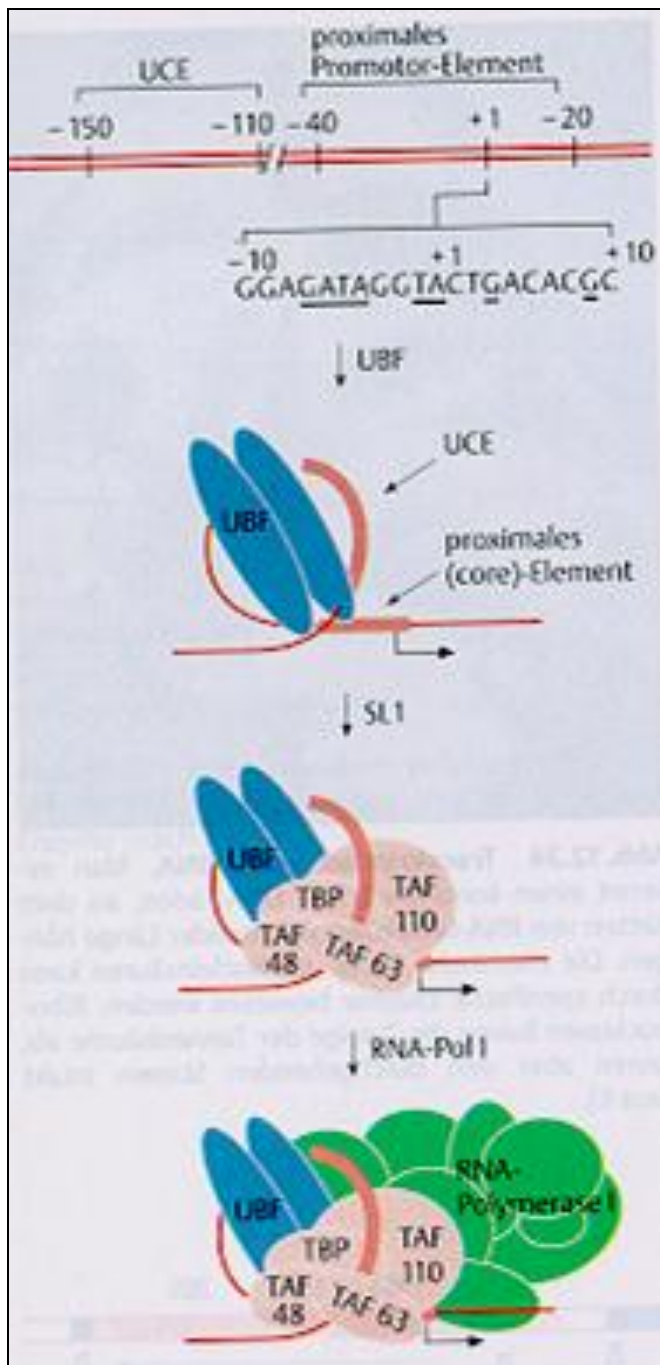
# Initiation der Transkription in Eukaryoten - RNAPI

rRNA-codierende Gene sind an bestimmten Stellen des Chromosoms geclustert.  
RNAPI-spezifische Promotoren haben zwei charakteristische DNA-Elemente.



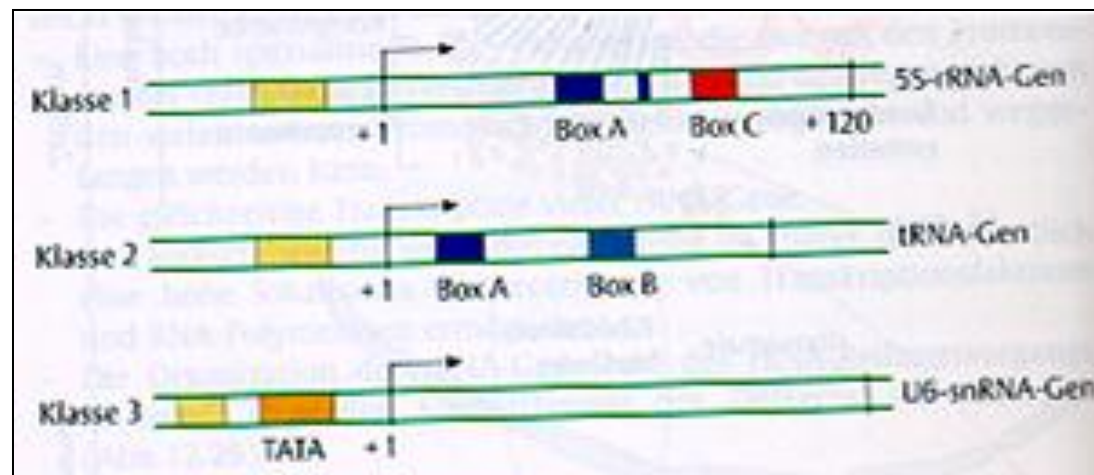
# Initiation der Transkription in Eukaryoten – RNAPI

Modell zur Initiation an RNAPI-spezifische Promotoren  
UBF und SL1 binden als TF  
SL1 enthält TBP



# Initiation der Transkription in Eukaryoten - RNAPIII

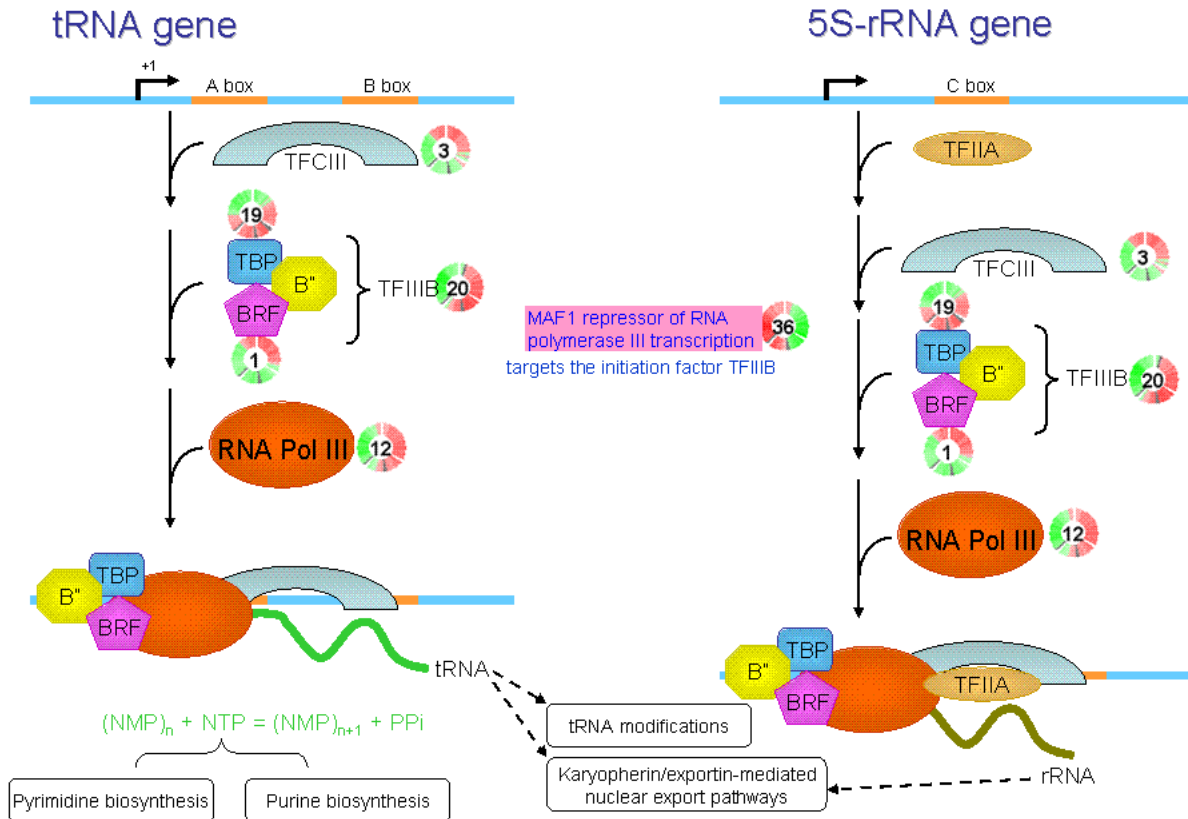
tRNA sowie 5s rRNA codierende Gene haben **geninterne** Promotorelemente



# Initiation der Transkription in Eukaryoten - RNAPIII

Modell der Initiation an RNAPIII-spezif. Promotoren  
von tRNA und 5S rRNA Genen  
TFIII-B enthält TBP!

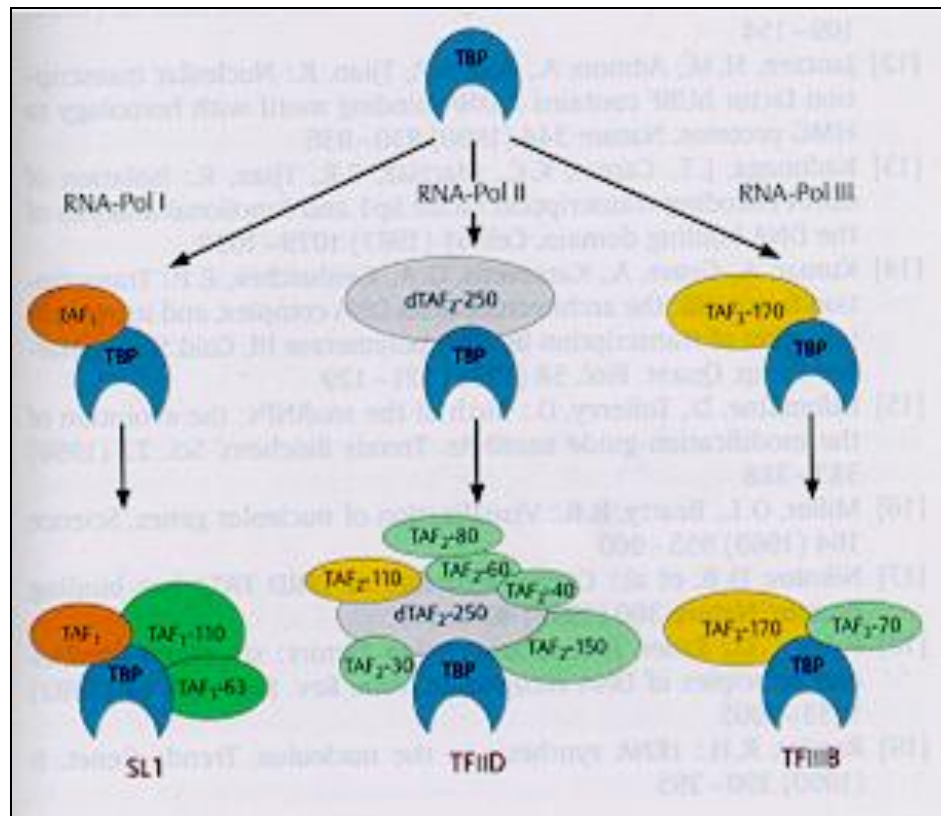
**RNA polymerase III transcribes tRNA, 5S rRNA  
and other short, stable RNAs**



# Initiation der Transkription in Eukaryoten

TBP ist bei der Initiation der Transkription an allen Promotoren beteiligt.

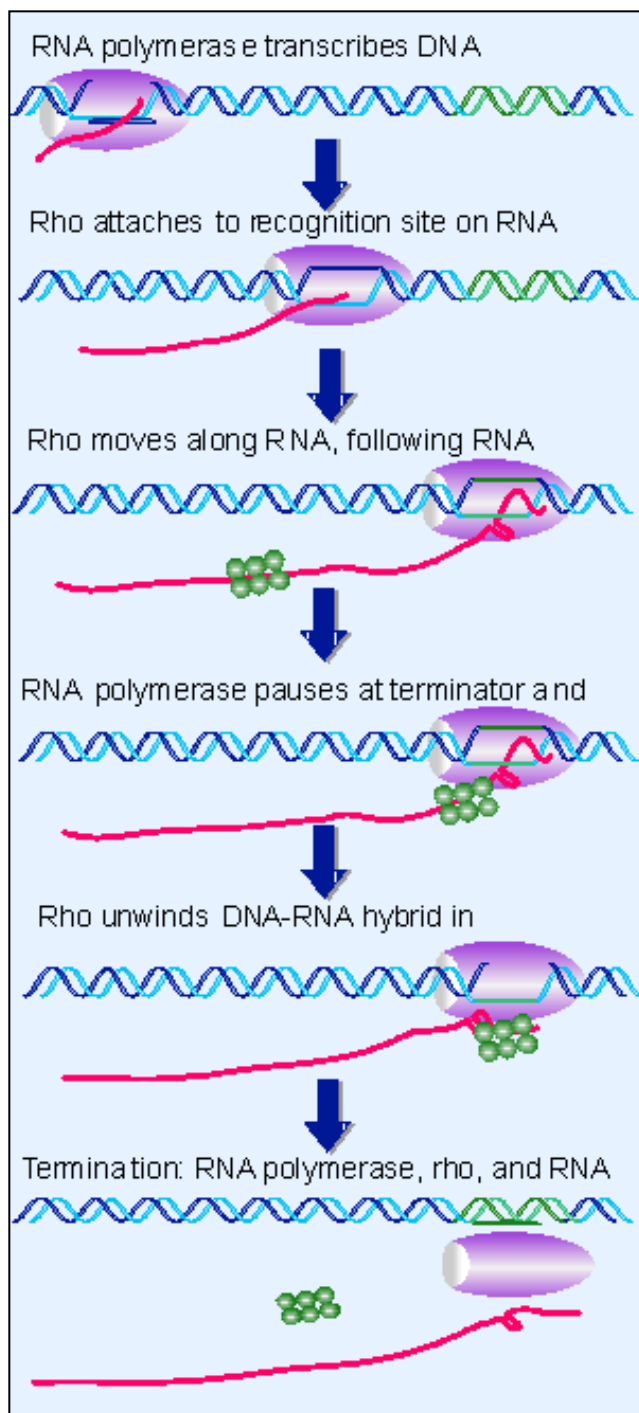
Jedoch nicht immer bei der primären Promotorerkennung!  
Die Aktivität der universellen TF ist reguliert!





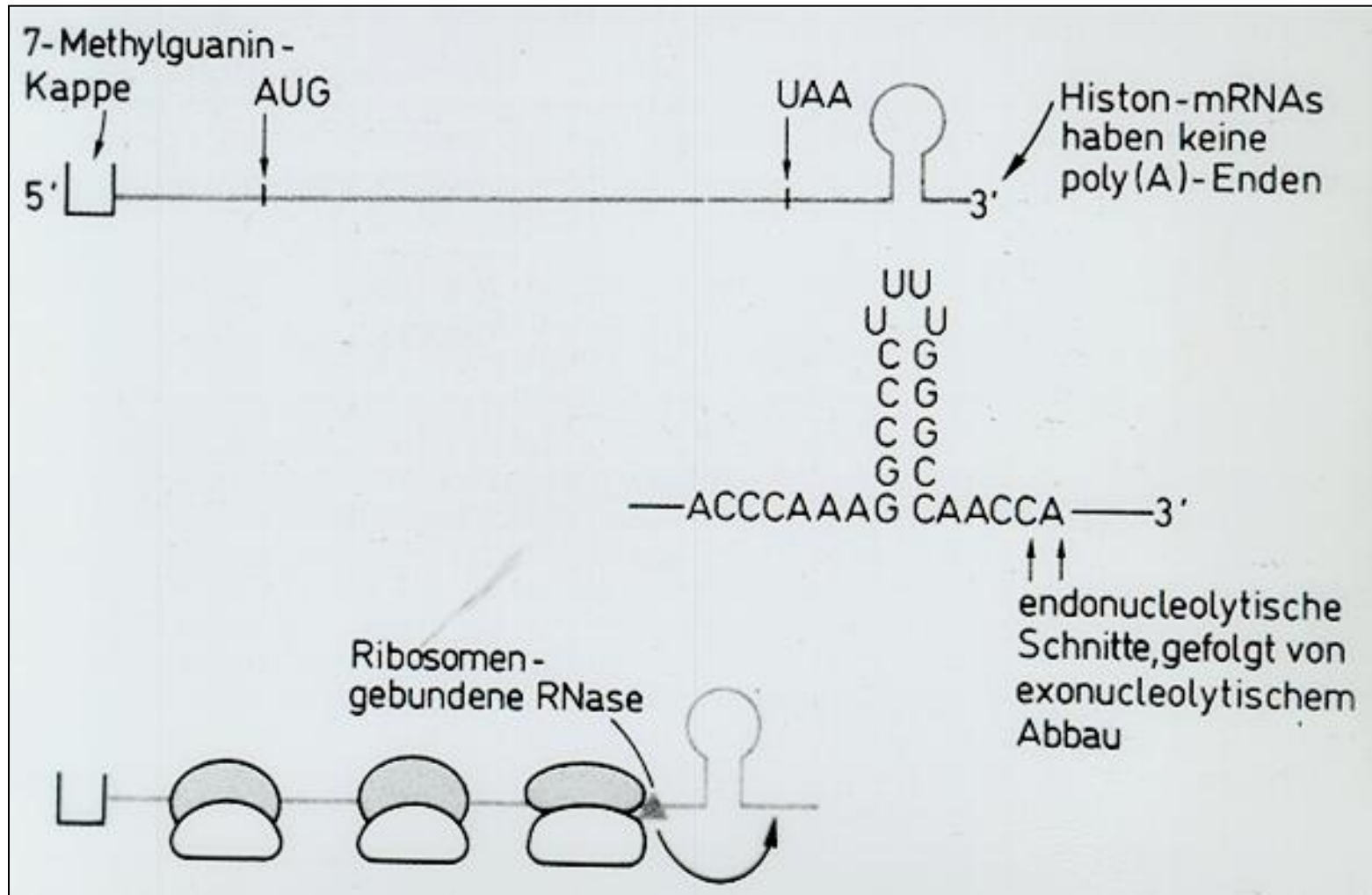
# Termination der Transkription bei Prokaryoten

Schwache Terminationssequenzen benötigen den Faktor Rho u.a.



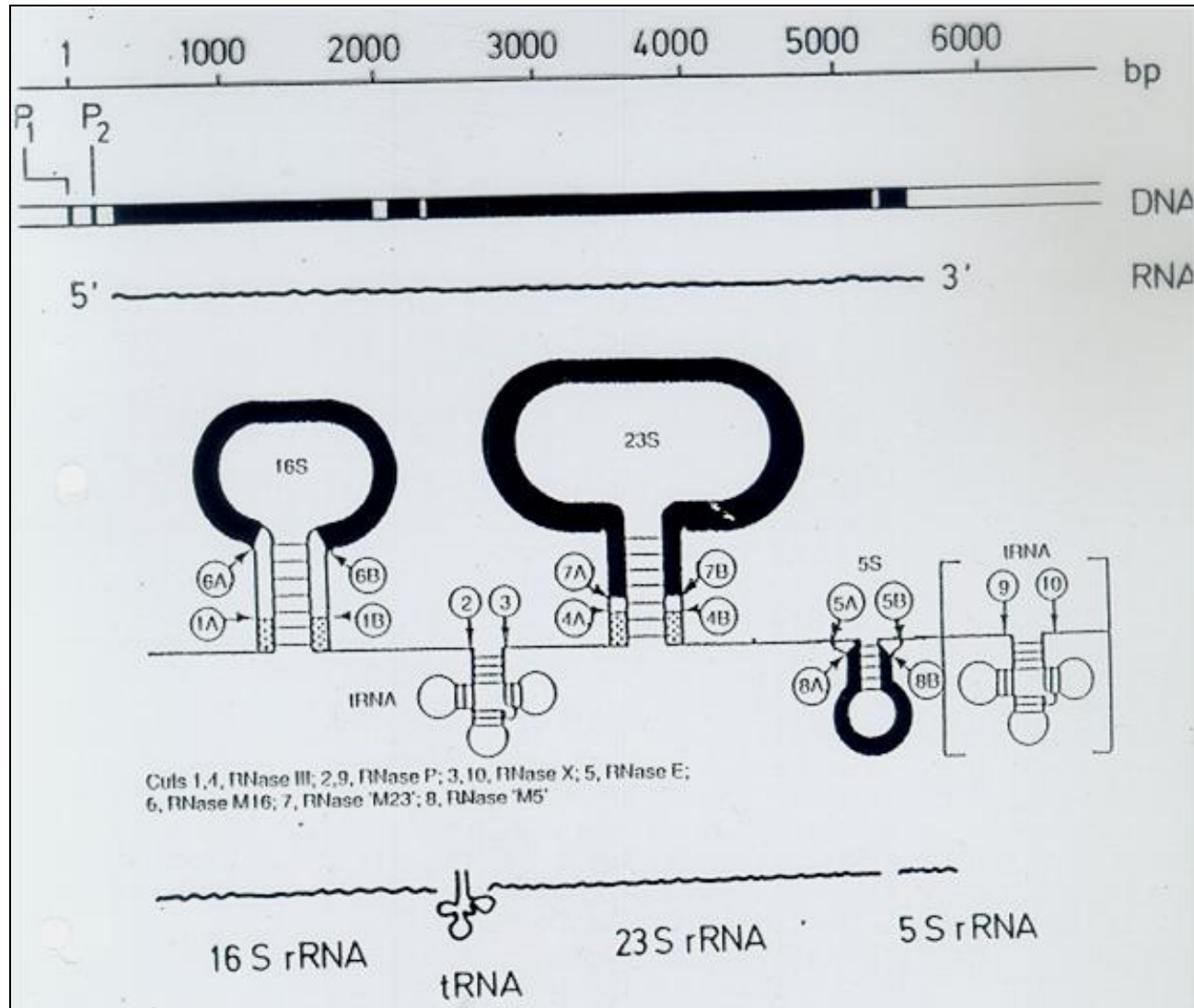
# Termination der mRNA-Synthese bei Eukaryoten

Manchmal wie in Prokaryoten, wenn mRNA keinen Poly-A-Schwanz aufweist.  
Meist nicht gut definiert. Polyadenylierung spielt eine Rolle.



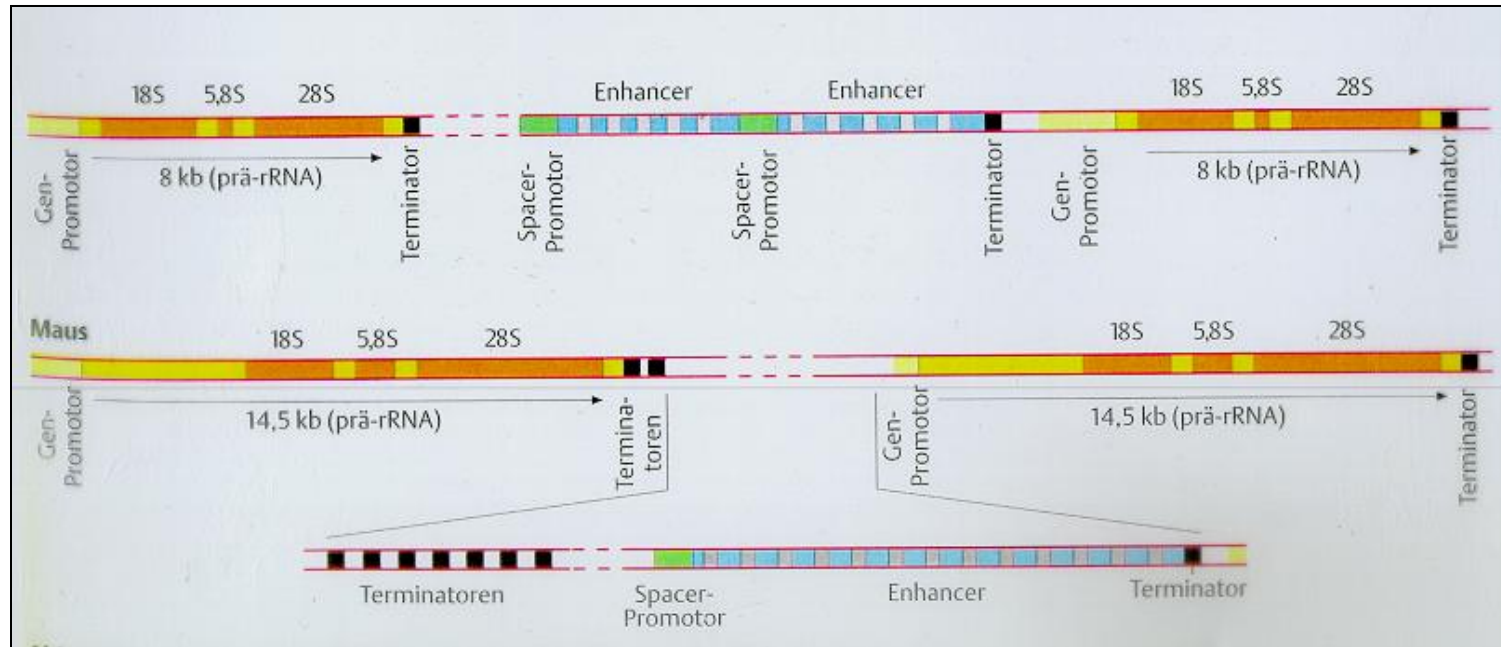
# Reifung von rRNAs bei Prokaryoten

Das Zurechtschneiden wird durch viele RNasen vorgenommen



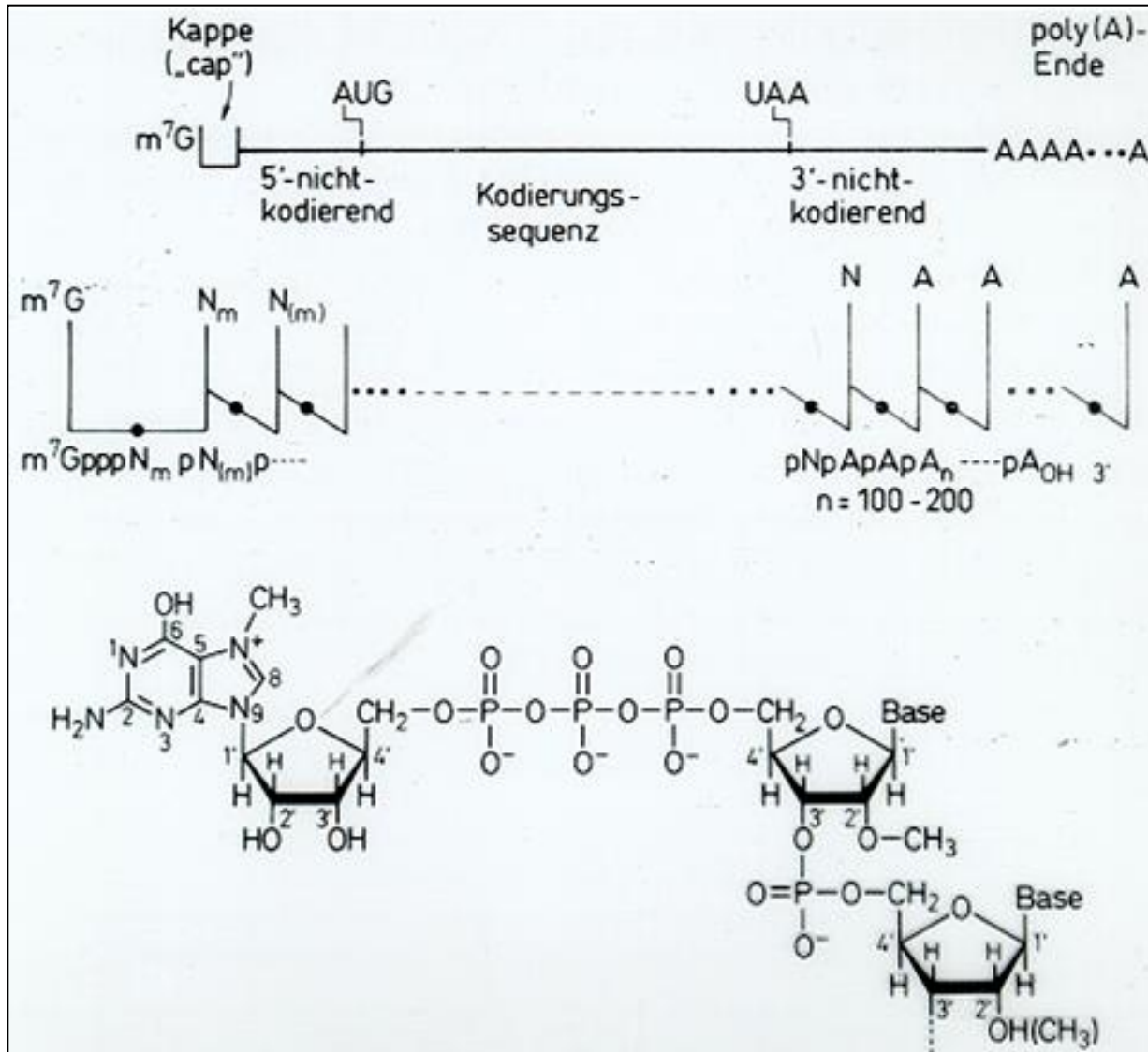
# Reifung der rRNA bei Eukaryoten

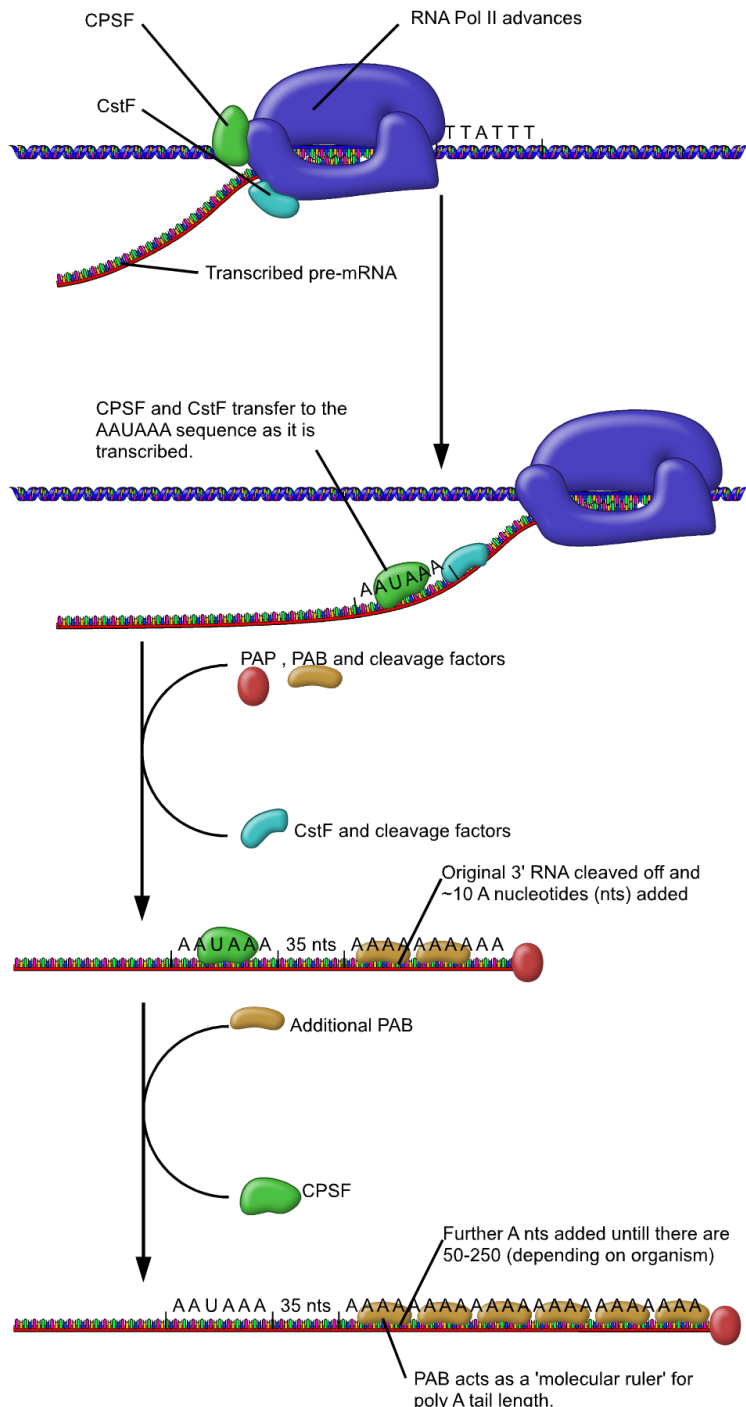
rRNA-codierende Gene wiederholen sich  
Eine lange Vorläufer-RNA wird zunächst hergestellt.



# Modifikation der mRNAs bei Eukaryoten

Am 5'-Ende wird eine Kappe angefügt





# 3'-Modifikation der mRNAs bei Eukaryoten – Poly-A-Synthese

Für die Poly-Adenylierung gibt es Erkennungssequenzen, -AAUAAA-

Die Poly-Adenylierung ist ein Mehrschrittprozess:  
Erkennen, Schneiden, Matrifreie-RNA-Synthese

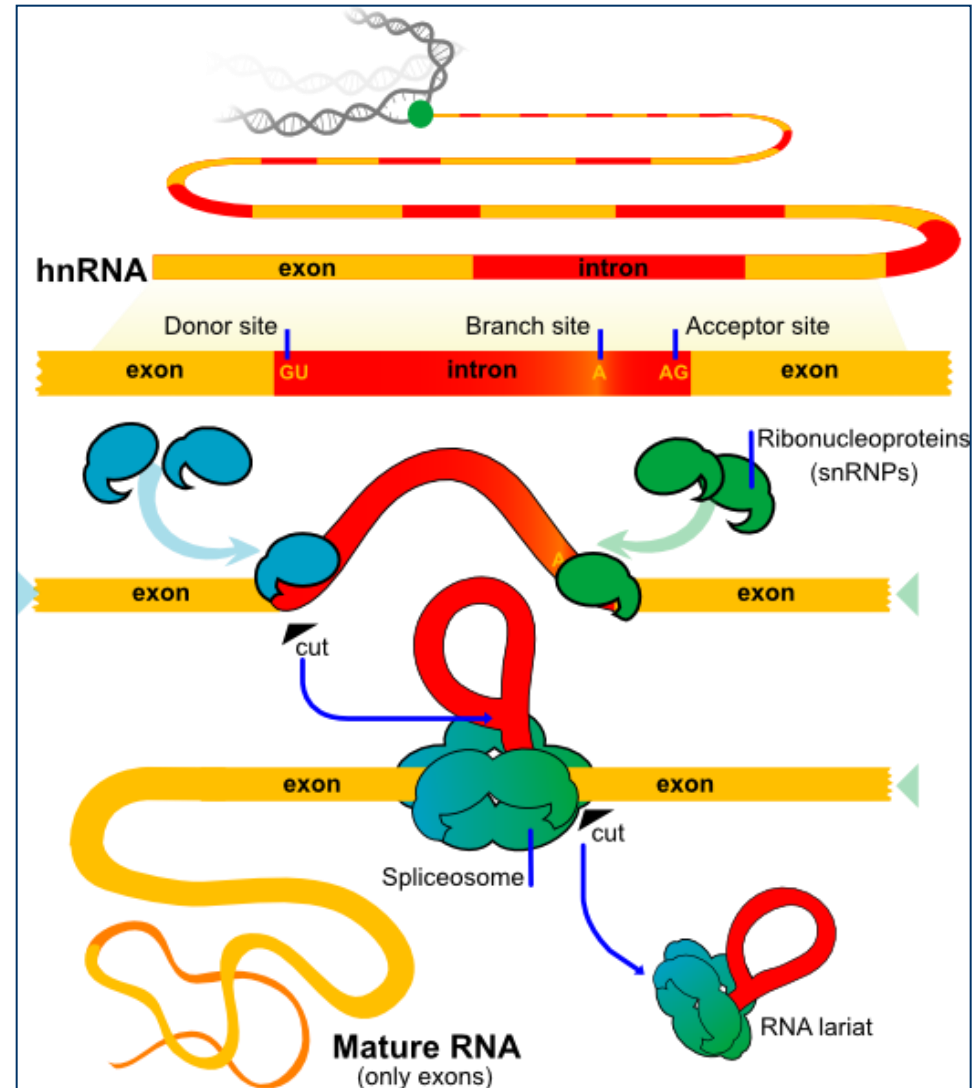
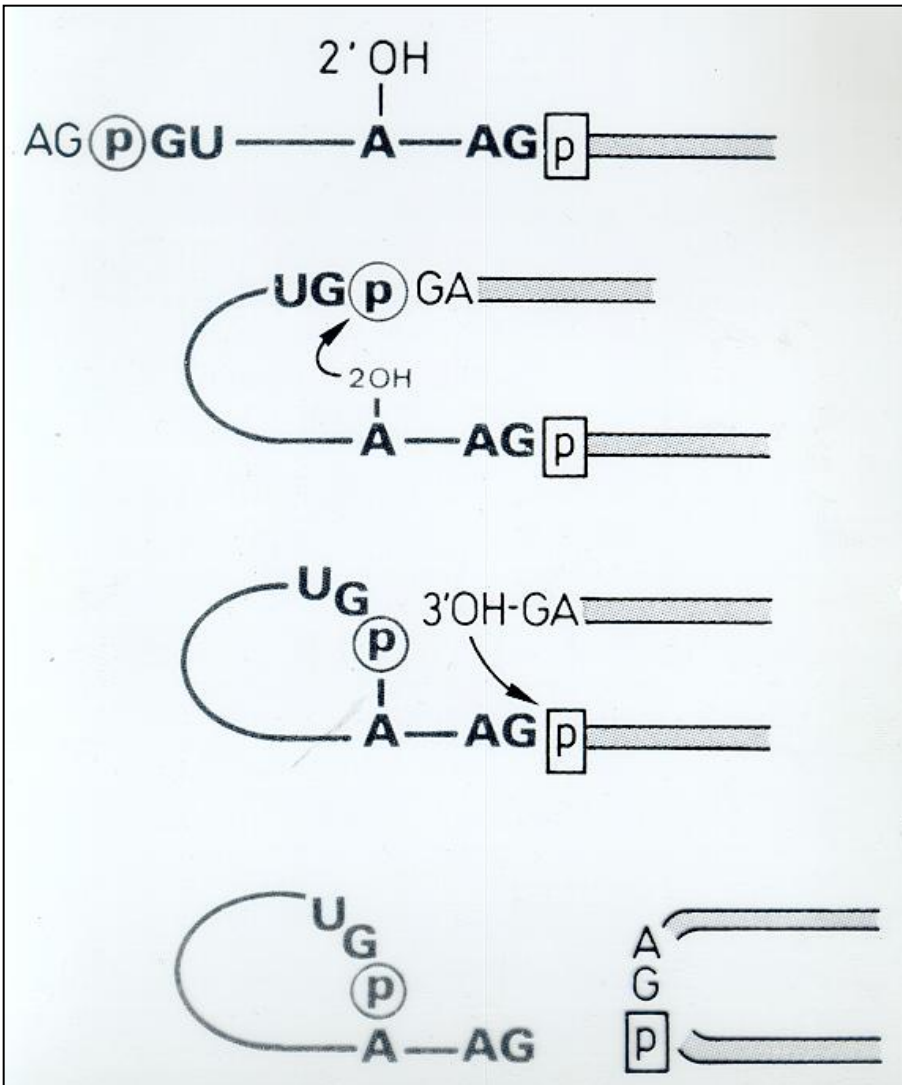
Poly-Adenylierung ist nicht universell!  
Existiert auch in Prokaryoten!





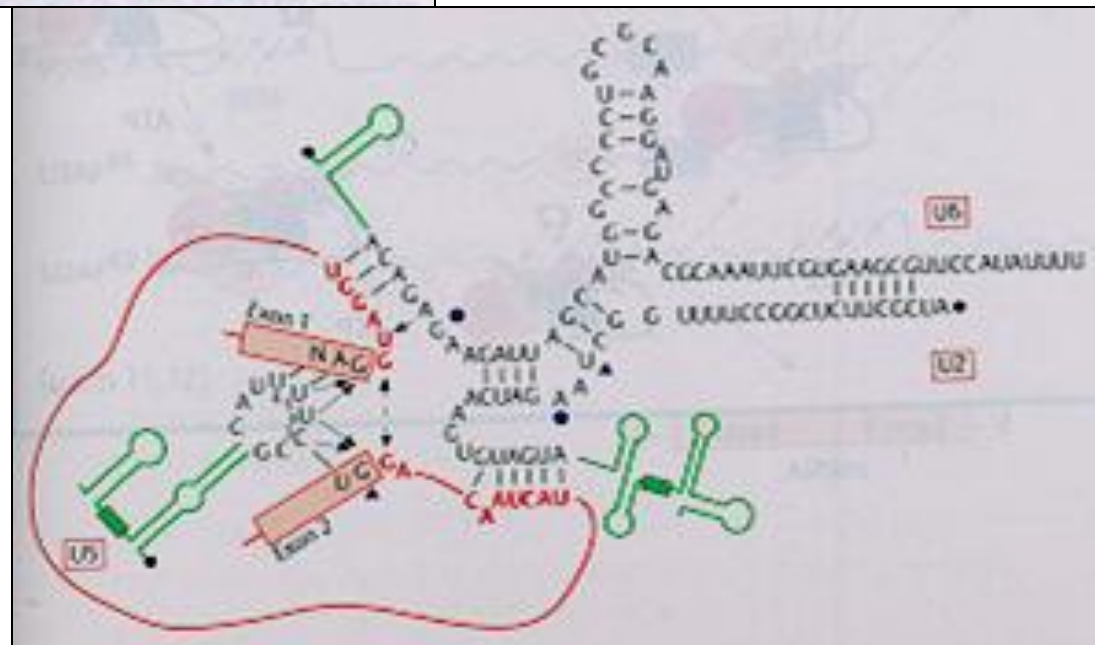
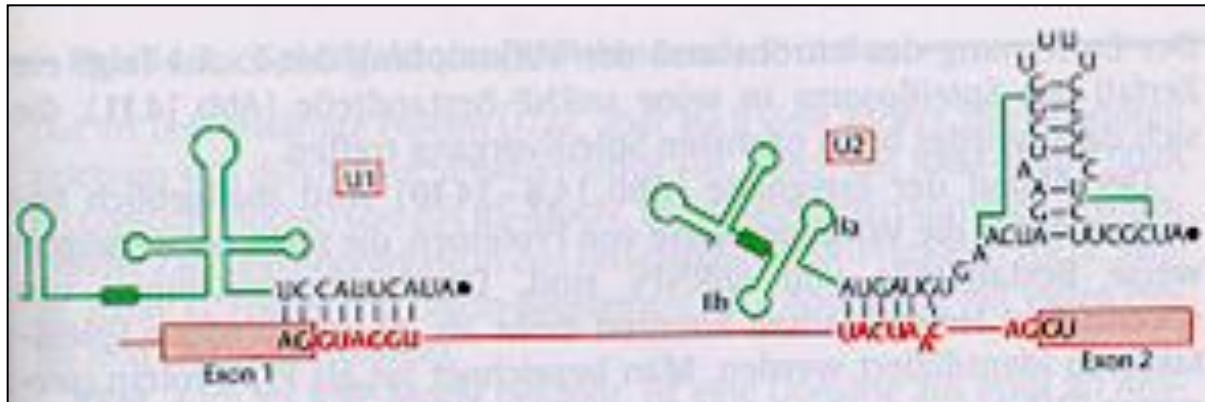
# Spleißen – Entfernen von Introns aus mRNAs bei Eukaryoten

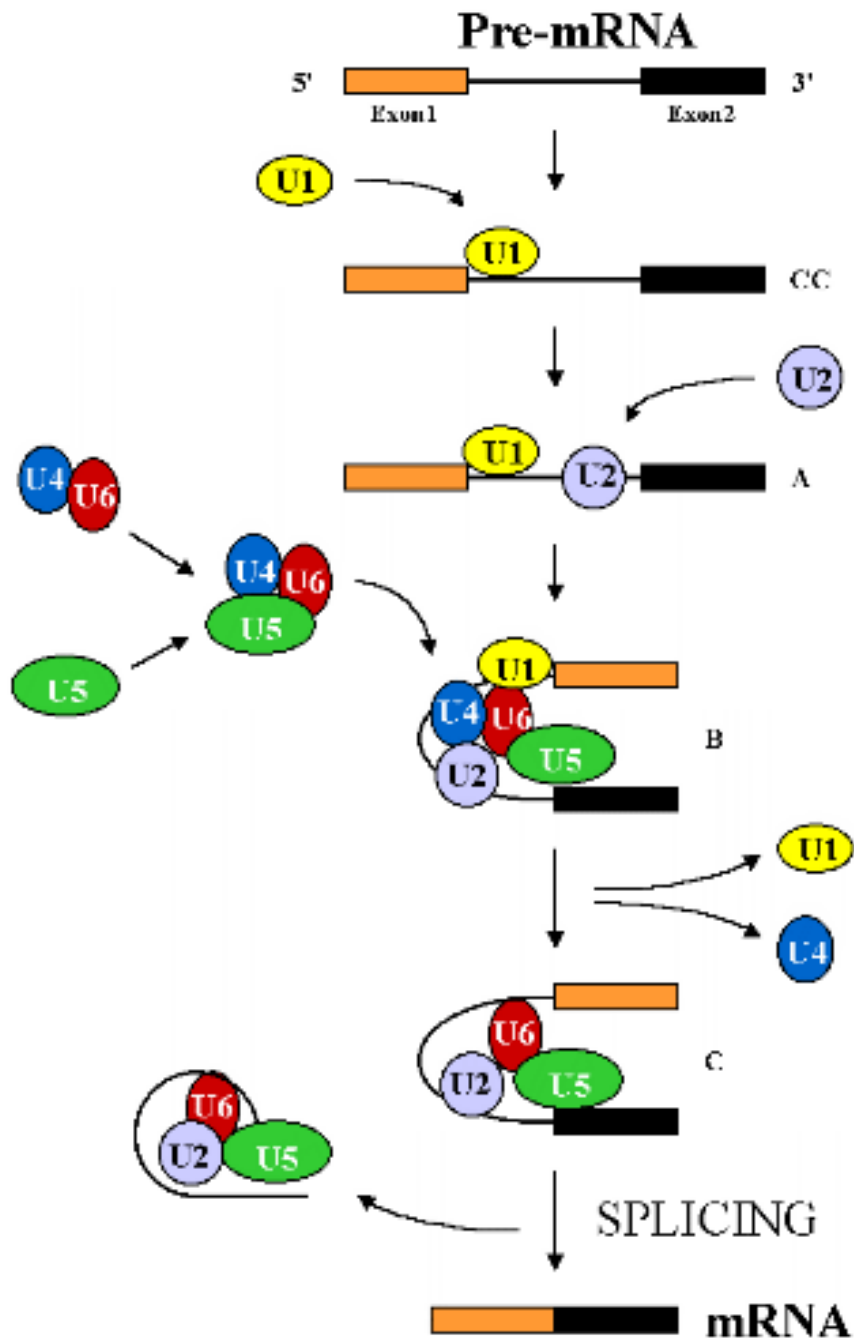
Das Spleißen ist ein 2-Schrittprozess



# Spleißen – Entfernen von Introns aus mRNAs bei Eukaryoten

Am Spleißen sind sn-U-RNAs beteiligt, snRNAs mit Bindeproteinen falten sich in eine konservierte Sekundärstruktur, z.B. sn-U1-RNA bindet 5'Intronende, sn-U2-RNA bindet Verzweigungsstelle, sn-U6-RNA bindet U1 und U2 usw.





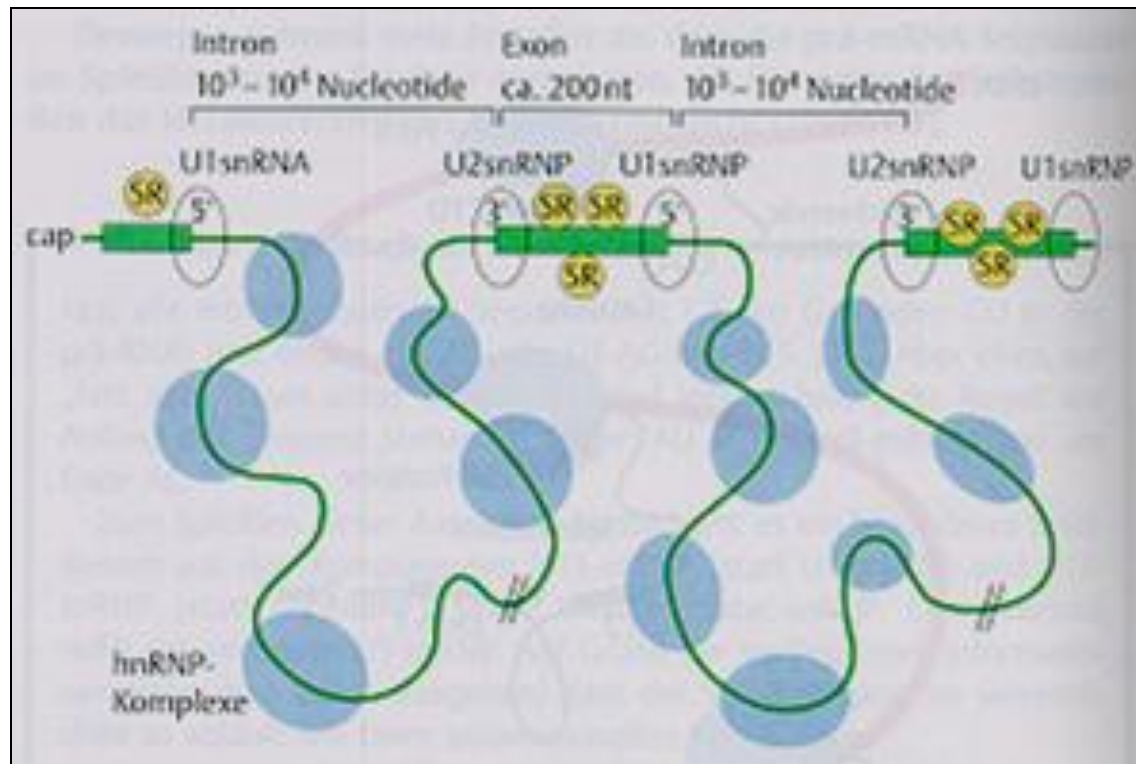
## Spleißen – Entfernen von Introns aus mRNAs bei Eukaryoten

Für das Spleißen wird  
das „Spliceosom“  
schrittweise  
zusammengebaut, um  
die mRNAs in eine  
sterisch-definierte  
Position zu biegen.



# Spleißen – Entfernen von Introns aus mRNAs bei Eukaryoten

Am Spleißen sind weitere Spleißfaktoren beteiligt, die an so genannte Exon-Spleiß-Enhancer binden können

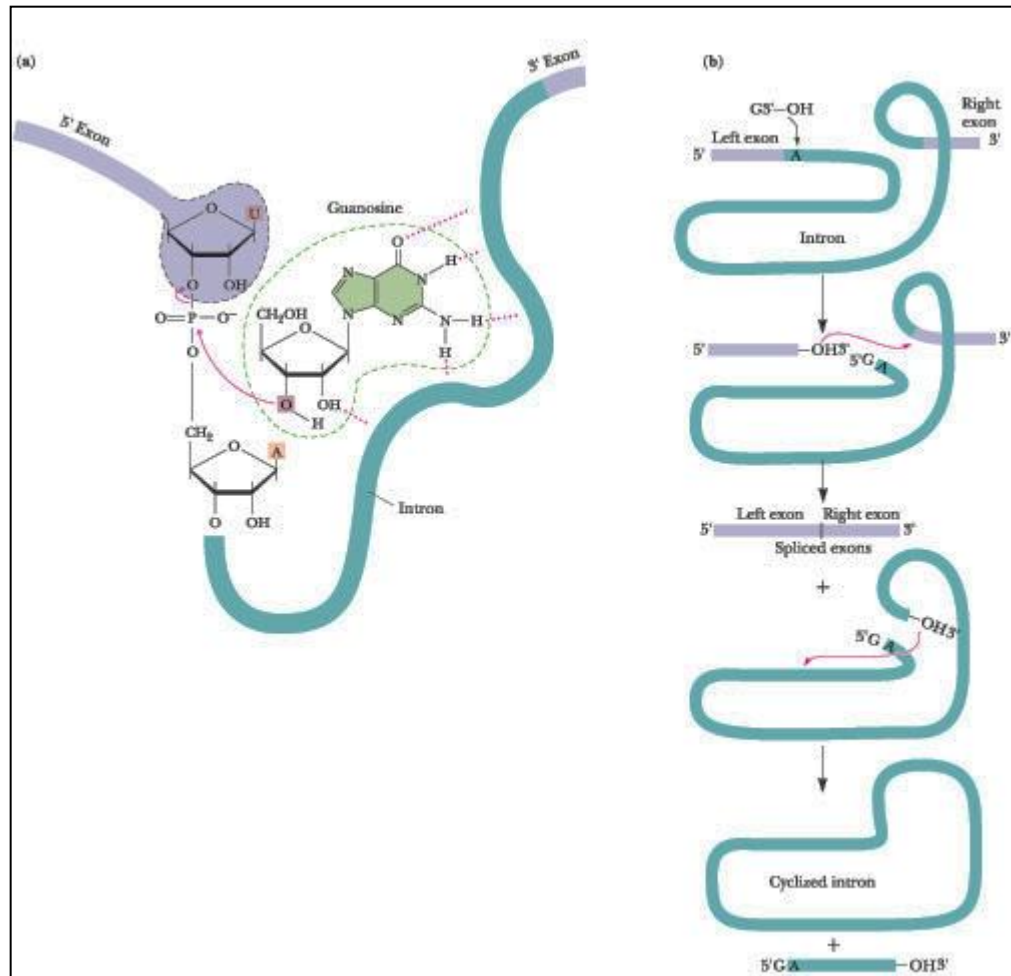


# Selbstspleißen – Entfernen von Introns aus rRNA bei Eukaryoten

Prä rRNA aus *Tetrahymena* reift durch Selbstspleißen!

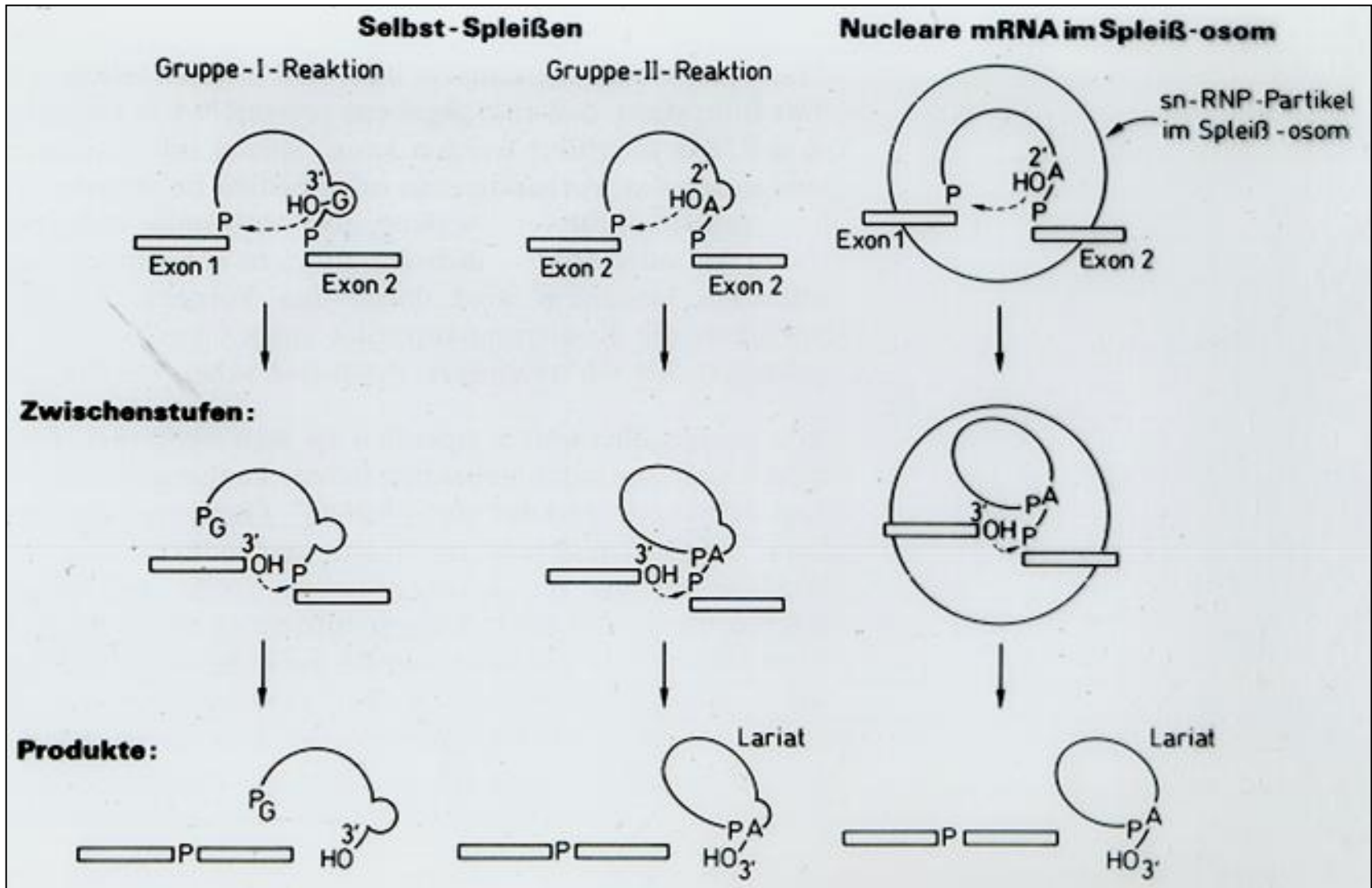
Am Selbstspleißen ist zusätzlich zur RNA nur Guanidin beteiligt.

Der Hilfsfaktor koordiniert die Sekundärstruktur und schneidet am 5'-Ende



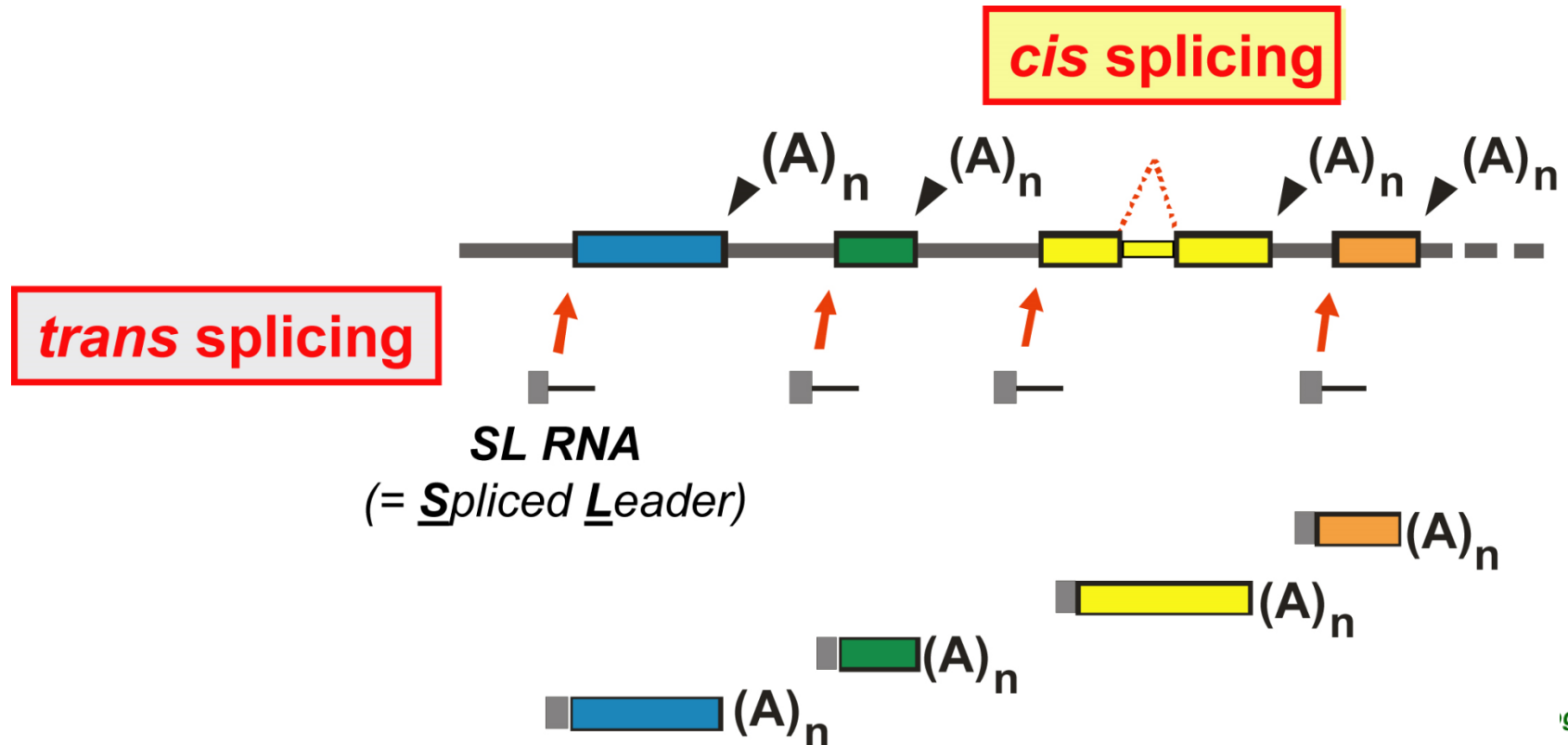
# Spleißen

Vergleich von Selbstspleißen und der Reaktion im „Spliceosom“



# Trans-Spleißen

Verbinden von RNA Molekülen seperater Gene (trans)!  
Bei Trypanosomen tragen alle mRNAs gleiche 5'-Enden,  
die posttranskriptional angefügt werden.  
Bei *Caenorhabditis elegans* werden durch trans-Spleißen  
polygene mRNAs prozessiert.



Inteine – Proteine die sich nach Spleißen aktivieren!

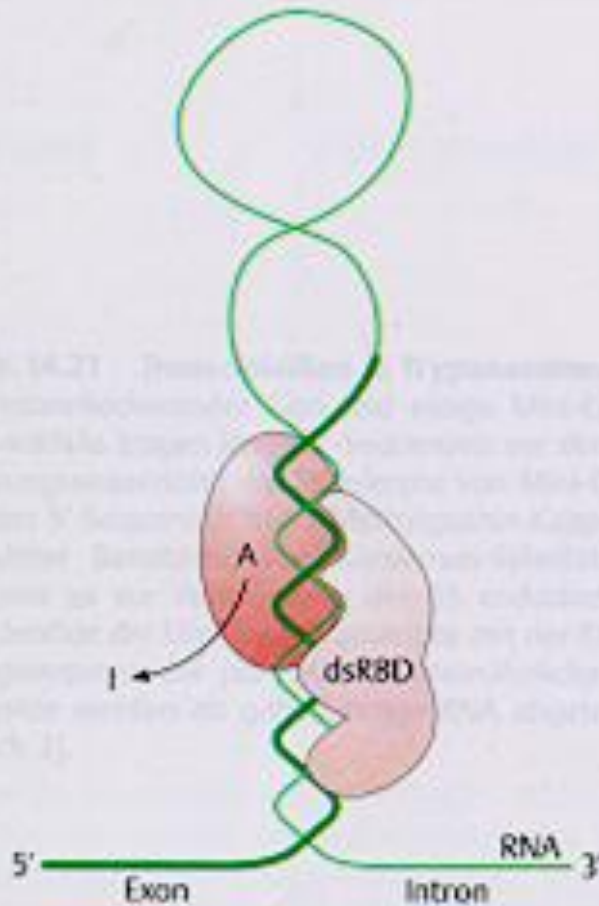
## RNA-Editieren

**Definition:** Beim RNA-Editieren wird die **kodierende** Sequenz der RNA so verändert, dass ein anderes oder ein funktionales Protein entsteht. Dabei sind reife RNA und DNA Sequenz verschieden!!!!!!

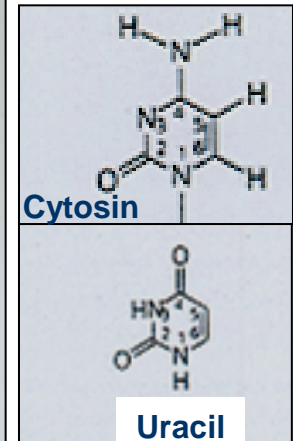
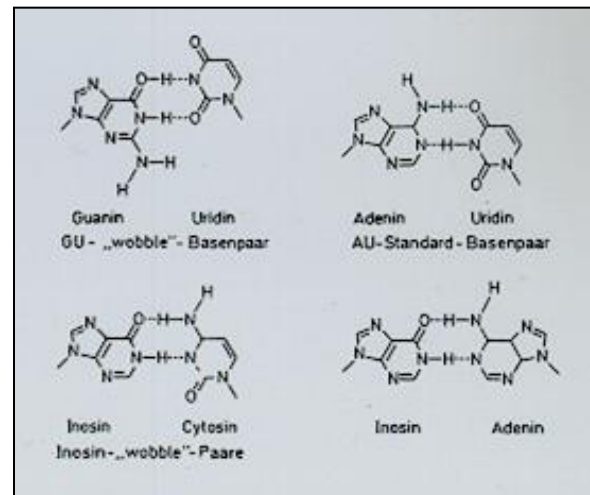


# RNA-Editieren

Meist wird U in C umgewandelt bzw. zusätzliche Basen eingefügt, es kann aber auch zur Umwandlung von A in I kommen (z.B. Gen für UE-B des Glutamat-Rezeptors)



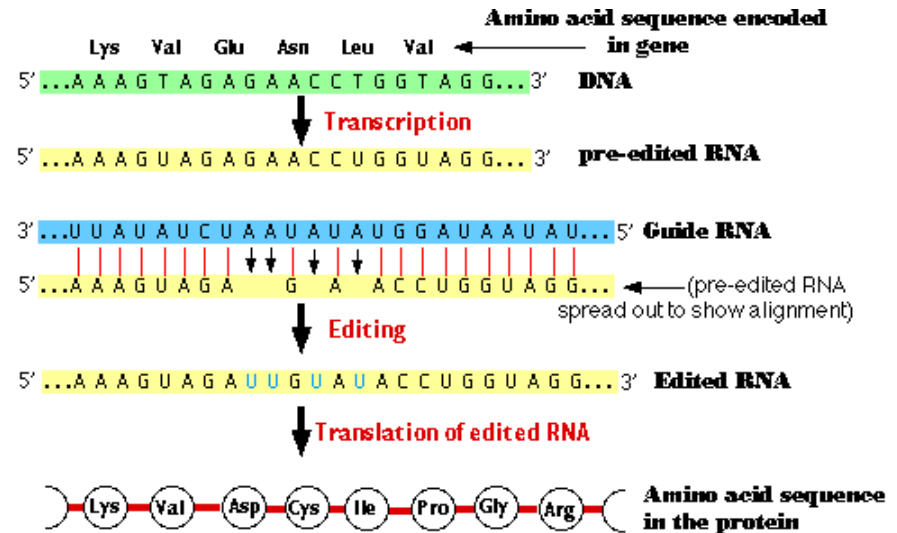
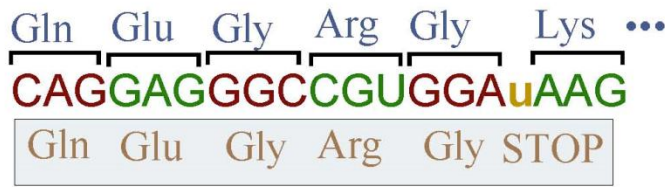
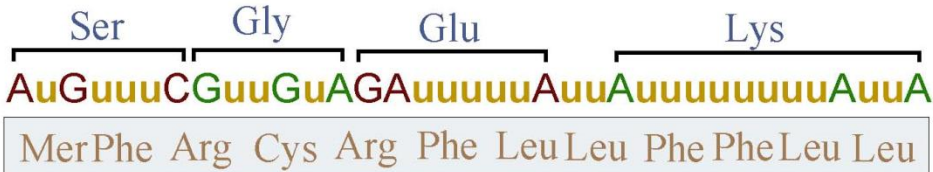
**Abb. 14.22** Edition: Überführen von Adenosin nach Inosin durch ADAR. Das Enzym ADAR hat zwei funktionelle Domänen, eine Doppelstrang-RNA-Bindedomäne (dsRBD) und eine katalytische Domäne für die Deaminierung von Adenin [nach 8, 23].



# RNA-Editieren

In Mitochondrien von Trypanosomen wird vielfach U in mRNAs (z.B. in das Cyt<sub>c</sub>-Gen) eingefügt.

Dabei helfen so genannte „guide“ (g) RNAs



## Pflanzenmitochondrien – alternativer genetischer Code?

Arg-Codon CGG = Trp?

Trp-Codon UGG

Serin-Codon UCG = Leu?

Leu-Codon UUG



