

Kapitel 08.14: Variabilität des Erbguts

Inhalt

Kapitel 08.14: Variabilität des Erbguts.....	1
Inhalt.....	2
Mutationen.....	3
Genmutationen:.....	3
Mutationstypen.....	4
1. Genmutation.....	4
a) Merkmale:.....	4
b) Ursachen und Auswirkungen der Punktmutation:.....	5
c) Ursachen und Auswirkungen der Insertion und der Deletion:.....	5
e) Weitere Mutationen am DNA-Strang.....	6
Basenanaloge:.....	6
Dimerisation:.....	6
f) Zusammenfassung: Folgen der Genmutationen.....	6
Ein Vergleich.....	7
Die Sichelzellanämie – eine Punktmutation.....	8
2- Chromosomenmutation.....	9
3. Genommutation.....	10
Schäden und Reparatur der DNA.....	11
DNA Reparatur.....	12
AB: Molekulare Wirkungsweise von Genen: die „Ein-Gen-Ein-Enzym-Hypothese“.....	13
Versuche von Beadle und Tatum mit UV Strahlen bei <i>Neurospora crassa</i>	13
Der Phenylalaninstoffwechsel.....	15
Enzymregulation und Regulation der Enzymaktivität.....	17
Beispiel: Allosterische Hemmung einer Synthese einer benötigten Aminosäure bei E-Coli.....	17
Generegulation: Warum werden Gene reguliert?.....	19
Regulation der Genexpression (Proteinbiosynthese).....	20
1) Hemmung der Proteinbiosynthese.....	20
2) Regulation von Genen und deren Genaktivität (Operon-Modell) bei Prokaryoten.....	21
Es ergibt sich folgende Anordnung auf dem Strang der DNS:.....	22
Die 2 Möglichkeiten der Regulierung:.....	22
F. Jacobs und J. Monods Regulationsbeispiel: Das Lactose Operon.....	23
a) Substratinduktion.....	23
Das Experiment von Jacobs und Monods.....	24
b) Endproduktrepression:.....	26
Generegulation bei Eukaryoten.....	28
Beispiel: Generegulation bei der Eukaryotentranskription.....	28

Mutationen



Wie viele (sichtbare) Merkmale sind von dieser Mutation betroffen?
 ⇒ 1 Merkmal (Farbe der Körner) (⇒ Änderung eines Gens)

Unter Mutationen versteht man die Veränderung eines Gen, eines Allels, eines Chromosoms oder auch des ganzen Chromosomensatzes.
 (**Allel** = Zustand eines Gens)

Durch Mutation wird ein Allel in ein anderes überführt. Sie entstehen vor allem durch Fehler des Replikationssystems. Mutationen sind keine (!) Änderung des Phänotyps durch Umwelteinflüsse (Modifikation), sie geschehen spontan, ungerichtet und zufällig.

Durch Mutationen an **Geschlechtszellen** können diese Mutationen durch Meiose bei geschlechtlicher Fortpflanzung weitervererbt werden. Mutationen bei **Körperzellen** spielen oft keine Rolle, da diese nur durch der Mitose vermehrt werden. Eine Ausnahme ist, wenn die mutierten Zellen unkontrollierte, nicht endende Mitosen durchführen. Man spricht dann von Geschwüren bzw., Tumoren.

Genmutationen:

Die häufigste Mutation ist die Genmutation. Sie ist eine Veränderung eines Gens z.B. durch Austausch, Verlust oder Einschub eines Nukleotids. Bei Genen, welche Vorlage für Enzyme bilden ist die Konsequenz, dass Polypeptide, aus denen das Enzym besteht falsch gebildet werden - und somit das Enzym unwirksam ist oder das aktive Zentrum dieses Enzyms ein anderes Substart bevorzugt.

Mutationsrate:

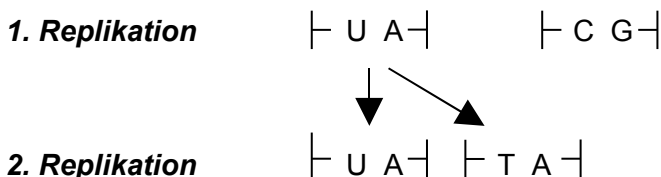
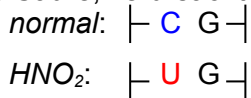
- Die normale (Spontane) Mutationsrate liegt bei Bakterien bei 10^{-8} pro Gen und Generation (d.h. auf 100 Millionen Zellteilungen kommt eine Mutation)
- Bei Eukaryonten (z.B. beim Menschen liegt sie bei 10^{-5})
- Die Mutationsrate kann durch mutagene Auslöser (Strahlung, Gifte usw.) bis zu 10^{-2} pro Gen und Generation betragen.

Mutationsauslösende Faktoren (=Mutagene):

- Mutagene sind Stoffe oder auch Umweltfaktoren, die zur Veränderung der Erbinformation führen
- **Energiereiche Strahlung** UV-Strahlung, radioaktive Strahlung)
 - **Chemikalien:** mutagene Agentien: Alkohol, Medikamente, Drogen, Benzol, HNO_2 , Acridin, Ozon uvm.
 - **Viruserkrankungen:** Röteln, Windpocken

Mutationen sind zu über 99% negativ und oft mit schwerwiegenden Fehlbildungen oder Tod des Organismus verbunden, allerdings ist Evolution ohne positive Mutation nicht möglich.

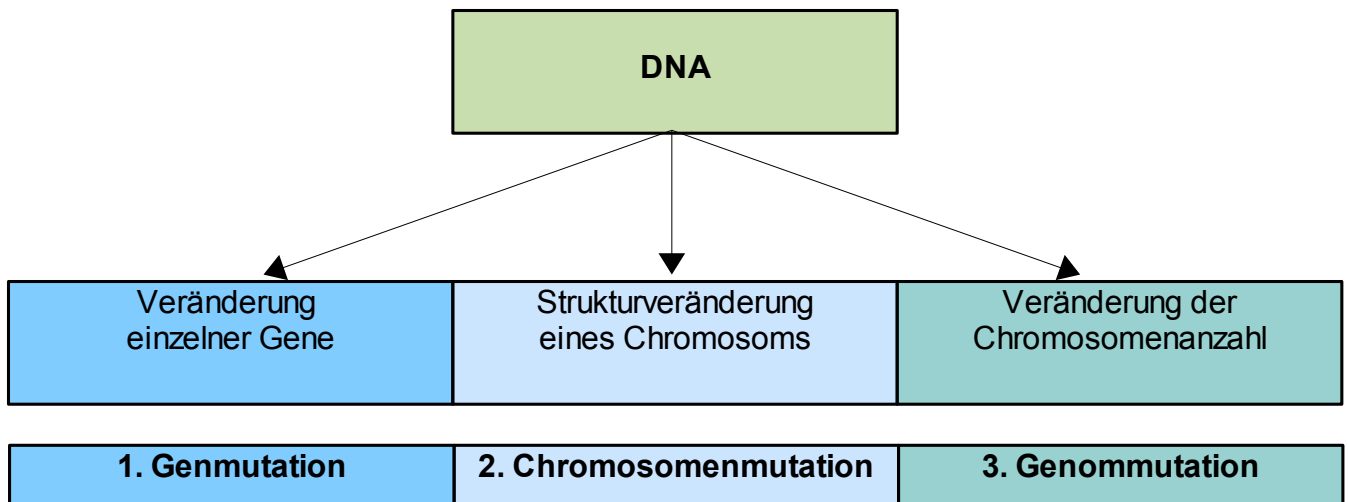
HNO_2 : Salpetrige Säure; verursacht Replikationsfehler (durch Umwandlung von Cytosin in Uracil)



Genmutationen, die auf dem Austausch eines einzigen Basenpaares beruhen, nennt man **Punktmutation**.

Mutationstypen

Mutationen können ein oder mehrere Gene, einzelne Chromosomen oder den ganzen Chromosomensatz betreffen.



1. Genmutation

Eine Genmutation ist eine erbliche Veränderung eines Gens. (Wenn mehrere Gene betroffen sind, spricht man von einer strukturellen Chromosomenabberation.)

In der Regel liegt eine Veränderung eines Gens durch Austausch, Verlust oder Zufügen eines Nukleotids vor. Die resultierenden Polypeptide werden daraufhin nicht mehr wie ursprünglich vorgesehen gebildet. Als Enzyme sind sie für ihre eigentliche Aufgabe dann wirkungslos. Wirken sich solche Genmutationen auf das aktive Zentrum eines Enzyms aus, so kann es auch passieren, dass ein anderes Substrat umgesetzt wird.

a) Merkmale:

- Veränderung der Erbinformation eines Gens
- ein Verlust oder das Hinzufügen eines Nukleotids verschiebt den Tripletrhythmus der Basensequenz.
- Genmutationen sind die häufigsten und weitreichendsten Formen aller Mutationen.
- Genmutationen sind zufällig! Es kann nicht bestimmt werden, an welcher Stelle und wann eine Mutation auftreten wird.
- In der Regel entstehen neue Gene/ Allele mit rezessiver Wirkung
- Man kennt zwei Genmutationsarten:
 - a) gametische Genmutationen (also Keimzellen betreffend)
 - b) somatische Genmutationen (also Körperzellen betreffend)
- Man unterscheidet mehrere Genmutationstypen (sich teilweise wieder unterteilen!):
 - Punktmutation
 - Stumme (Punkt-)Mutation
 - Missense (Punkt-)Mutation
 - Nonsense (Punkt-)Mutation
 - Deletion
 - Insertion
 - Dublikation
- Die Chromosomengestalt ist nach einer Genmutation gleich geblieben - nur die resultierenden Polypeptide verändern unter Umständen ihre Form.

⇒ Eine Genmutation ist an der DNA mikroskopisch nicht nachweisbar!

b) Ursachen und Auswirkungen der Punktmutation:

Punktmutationen entstehen durch Austausch eines Nukleotidpaars. Kommt dies im
 - nichtcodierten Bereich vor hat dies keine Auswirkungen
 - codierten Bereich vor kann es folglich drei verschiedene Typen geben.

1. Stumme Mutation

Der Austausch findet im codierten Triplet am 3. Nukleotid statt
 ⇒ aufgrund des degenerierten genetischen Codes wird oft (trotz Mutation und Basentausch) eine identische Aminosäure eingebaut
 ⇒ Keine Auswirkung

2. Missense-Mutation

Der Austausch eines Basenpaares findet an der ersten oder zweiten Stelle des codierten Triplets statt.
 ⇒ Eine falsche Aminosäure wird eingebaut.
 ⇒ Die Aktivität des gebildeten Enzyms kann verändert sein!
 ⇒ Der Phänotyp des Lebewesens kann verändert sein!

3. Nonsense Mutation

Der Austausch eines Basenpaares bildet ein Triplet, welches eine Aminosäure mit Stoppsignal codiert (Stoppcodon)
 ⇒ Die Translation endet
 ⇒ Das gebildete Polypeptid ist unvollständig und meist funktionslos.

c) Ursachen und Auswirkungen der Insertion und der Deletion:

Der Verlust oder das Hinzukommen von Nukleotidpaaren wird auch als Rastermutation bezeichnet, weil dadurch der Triplettleserhythmus verändert wird (sozusagen das Leseraster).
 ⇒ Leseraster des Strangs ändert sich
 ⇒ Ab der Mutationsstelle entsteht eine komplett neue Aminosäuresequenz
 ⇒ veränderte Aktivität des Enzyms

Bei Verlust oder Einschub eines Nukleotids ⇒ (Lese)rastermutation.

⇒ Der auf Triplets beruhende Ableserhythmus ist völlig gestört ⇒ Proteine mit völlig veränderter Aminosäuresequenz werden gebildet ⇒ biologisch sind diese Proteine unwirksam

e) Weitere Mutationen am DNA-Strang

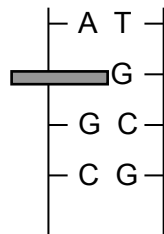
Basenanaloge:

Substanzen mit ähnlichem Aufbau wie die Basen können bei Vorhandensein im Körper spontan bei der DNA-Replikation eingebaut werden. (z.B. das Mutagen Bromuracil kann nicht von Thymin unterscheiden werden und wird in die neue DNA eingebaut). Das Problem ist, dass Bromuracil bei der Translation nicht nur Adenin sondern auch Guanin anlagern kann, was zu einem Basenaustausch führen und somit zu defekten Enzymen führen kann.

Dimerisation:

Dimere sind Verknüpfungen von organischen Säuren an ihrer Carboxylgruppe sowie von anderen Molekülen. Um diese Verknüpfungen zu bilden benötigt man Energie. Die UV-Strahlung des Sonnenlichts (v.a im Frühjahr wenn die Ozonschicht dünner ist und nur geringe Filterwirkung hat - sowie im Skiurlaub oder auch bei exzessiven Bräunen im Sommer - liefert genug Energie so dass benachbarte Thyminbasen miteinander verknüpft werden. Die DNA ist dadurch nicht mehr korrekt ablesbar ⇒ Lesefehlern ⇒ z.B. Hauttumore, Krebs,

z.B. Benzanthrazen



⇒ Einbau einer beliebigen Base bei der Replikation

f) Zusammenfassung: Folgen der Genmutationen

- Sie können ohne Auswirkung bleiben.
- Sie können zum Kettenabbruch führen (bei Mutation zu Stoppcodonen).
- Sie können Proteine leicht verändern
- Sie können Proteine strakt verändern } durch Einbau der falschen AS
- ⇒ inaktives Enzym
- ⇒ abnormes Strukturprotein

Zusatzinformationen:

<http://de.wikipedia.org/wiki/Genmutationen>

Ein Vergleich

Der Wegfall einer einzigen Base (durch eine Mutation), entstellt den Sinn der genetischen Information komplett, da sich neue Triplets ergeben:

CAU G CG GAG CUU UAC GCU	Normale Abfolge
CAU CGG AG C UUU ACG CU	Wegfall der Base Guanin
CAU CGG AGU U UA CGC U	Wegfall der Base Cytosin
CAU CGG AGU UAC GCU	Wegfall der Base Uracil

—————→ ab hier wieder sinnvoll

Ein Vergleich mit für Menschen verständliche Wörter

DIE **R**NA HAT DEN RAT DER DNA

DIE NAH AT**D** ENR ATD ERD NA

DIE NAH ATE **N**RA TDE RDN A

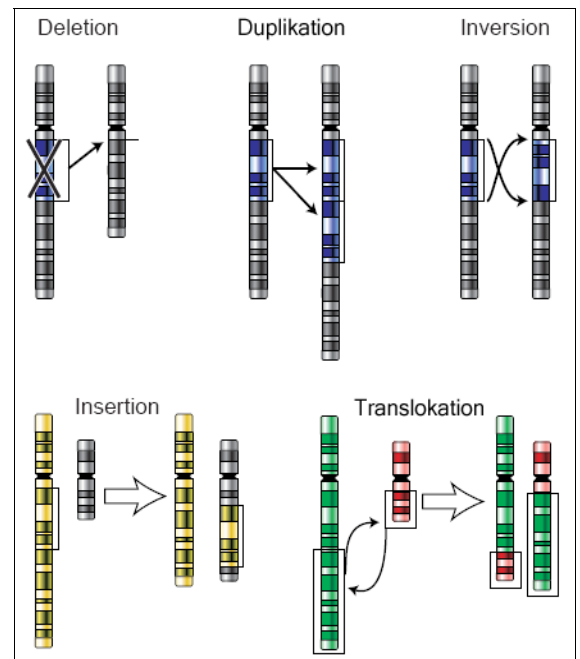
DIE NAH ATE NAT DER DNA

2- Chromosomenmutation

Durch Chromosomenmutationen werden eines oder mehrere Chromosomen verändert (und zwar strukturell!). Die Basenabfolge und somit die Gene ändern sich.

Es gibt verschiedenen Arten der Chromosomenmutation:

- **Deletion:**
Eine unbestimmte Anzahl von Nukleotiden geht verloren (von einer einzelnen Base (dann wäre es wieder eine Punktmutation) bis hin zum ganzen Chromosom).
- **Translokation:**
Chromosomen brechen auseinander und die dabei entstehenden Teilstücke lagern sich an andere Chromosomen an.
- **Duplikation**
Chromosomen brechen auseinander und die dabei entstehenden Teilstücke lagern sich an das Schwesterchromatid oder ein homologes Chromosom an.
⇒ Betroffene Abschnitte sind nun auf einem Chromosom doppelt vorhanden.



Quelle Bild: Public domain by Wikicommonsuser Dietzel65 & Talking Glossary Of Genetics- Danke;
<http://commons.wikimedia.org/wiki/Image:Chromosomenmutationen.png>

- **Inversion:**
Ein Chromosom bricht auseinander und das ausgeschnittene DNA-Stück wird um 180° gedreht und dann umgekehrt in den DNA-Strang an der gleichen Stelle eingebaut.
⇒ Das Gen wird in falscher Reihenfolge abgelesen
⇒ Ein falsches Polypeptid wird gebildet.
- **Insertion (auch Addition genannt):**
Einbau von zusätzlichen Nukleotidpaaren (ist es nur ein Paar liegt natürlich eine Punktmutation vor). Der Triplettleserhythmus wird dadurch gestört.

Beispiel für Hardcoregenetiker *g*:

ICH MAG NUR EIN EIS ⇒ Einbau eines X ⇒ ICH XMA GNU REI NEI S

Chromosomenmutationen sind z.T. Auslöser für schwere Krankheiten und Fehlbildungen. Ein möglicher Grund ist oft der „Gendosis-Effekt“. Dieser kommt zum Tragen, wenn ein Gen, nicht wie üblich zweimal, sondern in einfacher oder mehrfacher Form vorliegt (bei Deletion und Duplikation).

Translokationen und Inversionen haben nicht zwangsläufig immer eine Auswirkung. Durch diese Art der Chromosomenmutation wird schließlich die Anzahl der Gene nicht verändert (=balancierte Translokation/ balancierte Inversion), sondern nur ihre Position.

Auswirkungen sind nur dann erkennbar, wenn die Wirkungsweise des Gens von seiner Position auf dem Chromosom abhängig ist. Dies ist insbesondere bei der Genregulation der Fall.

Zusatzinformationen:

- <http://de.wikipedia.org/wiki/Chromosomenmutation>
- <http://de.wikipedia.org/wiki/Deletion>
- <http://de.wikipedia.org/wiki/Insertion>
- [http://de.wikipedia.org/wiki/Translokation_\(Genetik\)](http://de.wikipedia.org/wiki/Translokation_(Genetik))
- <http://de.wikipedia.org/wiki/genduplikation>
- [http://de.wikipedia.org/wiki/Inversion_\(Genetik\)](http://de.wikipedia.org/wiki/Inversion_(Genetik))

3. Genommutation

Eine Genommutation, auch numerische Chromosomenaberration genannt, ist eine Veränderung der Gesamtanzahl der Chromosomen. Sie kann durch Fehler bei der Reduktionsteilung (während der Meiose I) oder der Äquationsteilung (in der Meiose II) infolge Nondisjunktion entstehen.

Genommutation können bei Gonosomen und bei Autosomen auftreten. Eine autosomale Genommutation ist von den Auswirkungen meist gravierender! In sehr vielen Fällen stirbt eine befruchtete Eizelle mit einer autosomalen Genommutation schnell ab - so dass es nicht zu einer Schwangerschaft kommt. Aus diesem Grunde sind gonosomale Genommutation auch häufiger in der Bevölkerung zu finden.

Man unterscheidet zwei verschiedene Arten der Genommutationen:

a) Polyploidien

Der Chromosomensatz ist nicht diploid, sondern mehrfach (also mindestens triploid) vorhanden. Dies wird beispielsweise in der Pflanzenzucht bewusst eingesetzt, da Nutzpflanzen mit Polyploidem Chromosomensatz oft größere Zellen und somit größere Früchte haben.

Künstlich ausgelöst kann eine solche Polyploidie durch Colchicin, dem Gift der Herbstzeitlosen, Es stört die Ausbildung des Spindelapparates.

b) Aneuploidien

Bei einer Aneuploidie ist die Anzahl von einem oder wenigen Chromosomen erhöht oder vermindert. Bei Menschen führt eine Aneuploidie beispielsweise zu den Krankheiten Trisomie 13, 18, 21, Turner-Syndrom und Klinefelter-Syndrom.

Trisomie 21: Diese aneuploide Chromosomenaberration hat ein dreifaches 21. Chromosom als Ursache. Man kennt dabei verschiedene Untertypen:

- Fehltrennung der homologen Chromosomen (Nr. 21) bei der Meiose (\Rightarrow freie Trisomie 21) bei der Keimzellenbildung
- Fehltrennung bei der Mitose (\Rightarrow Mosaik-Trisomie 21)
- Eines der beiden Chromosomen 21 heftet sich an ein anderes Chromosom an. (\Rightarrow Translokations-Trisomie 21).

Als Folge hat jede Körperzelle das 21. Chromosom verdreifacht

Zusatzinformationen:

<http://de.wikipedia.org/wiki/Genommutation>

Schäden und Reparatur der DNA

Überlege mal - beim Verbrennen von Tabak einer Zigarette entstehen ca. 12000 Verbrennungsprodukte. Hier ein paar prominente Vertreter:

Name	Konzentrationen
Kohlenstoffdioxid	45-65 mg
Kohlenmonoxid (toxisch)	10-23 mg
Stickstoffoxide (toxisch)	0,1-0,6 mg
Butadien (karzinogen)	0,025-0,04 mg
Benzol (karzinogen und toxisch)	0,012-0,05 mg
Formaldehyd (toxisch)	0,02-0,1 mg
Acetaldehyd (karzinogen und toxisch)	0,4-1,4 mg
Methanol (toxisch)	0,08-0,18 mg
Blausäure (toxisch)	1,3 mg
Nikotin (toxisch)	0,8-3 mg
polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (karzinogen)	0,0001-0,00025 mg
aromatische Amine (karzinogen)	0,00025 mg
Nitrosamine (karzinogen)	0,00034-0,0027 mg

⇒ **Pro Zigarette** erfolgen ca. 30 000 DNA-Veränderungen.

Die häufigste DNA-Veränderung ist die Bildung von Thymin-Dimeren.

Viele dieser Mutationen werden von Reperaturenzymen wieder repariert. Bei E. coli werden bis zu 50 Mutationen gleichzeitig repariert. Bei Eukaryoten ist die Quote geringer. Man schätzt, dass es 150 pro Tag sind!

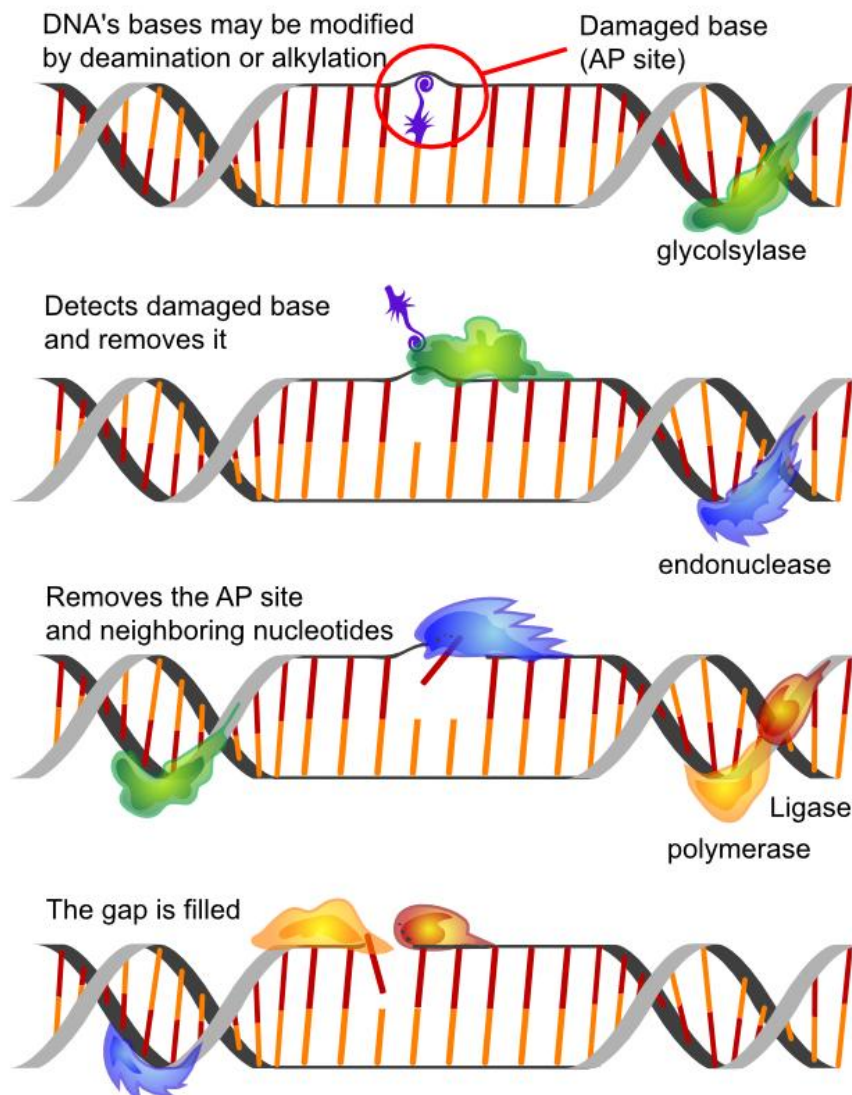
Zusatzinformationen:

<http://de.wikipedia.org/wiki/DNA-Reparatur>

Das Steueraufkommen der Tabaksteuer in Deutschland lag 2006 auf fast 14,6 Millionen Euro (entspricht 3,2% des deutschen Steueraufkommens insgesamt!)

<http://de.wikipedia.org/wiki/Zigarette>

DNA Reparatur



Quelle Bild: Public Domain by Wikicommonsuser LadyofHats (Marina Ruiz) - Muchas gracias;
http://commons.wikimedia.org/wiki/Image:Dna_repair_base_excersion_en.svg

AB: Molekulare Wirkungsweise von Genen: die „Ein-Gen-Ein-Enzym-Hypothese“

Die Wissenschaftler George Wells Beadle und Edward Lawrie Tatum machten 1940 Versuche mit dem Brotschimmel *Neurospora crassa*. Sie setzten diese schwacher Röntgenbestrahlungen (bzw. UV-Licht) aus mit dem Ziel, so Mutationen zu erzeugen.

Die Auswertung dieser Experimente zeigt eine direkte Verbindung zwischen Genen und enzymatischen Reaktionen von Lebewesen. Beadle und Tatum nannten sie daraufhin die „Ein-Gen-ein-Enzym-Hypothese“.

Durch Verbesserung der Untersuchungsmethoden stellte man später fest, dass natürlich auch andere Eiweiße (z.B. das Struktureiweiß Keratin der Haare), welche keine enzymatische Funktion haben, im Aufbau von den Genen bestimmt sind. Heute spricht man daher eher von der „**Ein-Gen-ein-Polypeptid-Hypothese**“.

Versuche von Beadle und Tatum mit UV Strahlen bei Neurospora crassa

Unveränderte Schimmelpilzsporen (=Wildtyp) wachsen auf Minimalnährboden (=Agarplatte, nur mit Nährlösung). Solche Pilzsporen wurden nun für das Experiment verwendet:

V: Bestrahlung von Pilzsporen des Brotschimmels (*Neurospora crassa*) mit UV-Licht

B: Nicht alle Sporen keimen mehr auf dem Minimalnährboden aus .

S: Verschiedene Mutanten sind entstanden (z.B. Arg-Mutante)

Arg bedeutet: Der Schimmelpilz kann die Aminosäure Arginin nicht mehr selbst herstellen, er ist also auf die Zufuhr von Arginin (z.B. als Extrastoff auf dem Minimalmedium) angewiesen.

Sporen, welche mit UV-Licht bestrahlt wurden, wachsen nur aus, wenn Arginin der Agarplatte extra hinzugefügt wird (⇒ UV-Licht ist der Mutation auslösender Faktor).

Es sind also Arginin-Mangelmутanten entstanden

Weitere Versuche:

Durch Bestrahlung sind 3 weitere Gruppen von Mangelmutanten entstanden:

	Minimalmedium	Nährboden – Zugabe von		
		Arginin	Ornithin	Citrullin
Wildtyp	+	+	+	+
Typ I	-	+	+	+
Typ II	-	+	-	+
Typ III	-	+	-	-

+ bedeutet: wächst auf diesem Boden

Aufgaben:

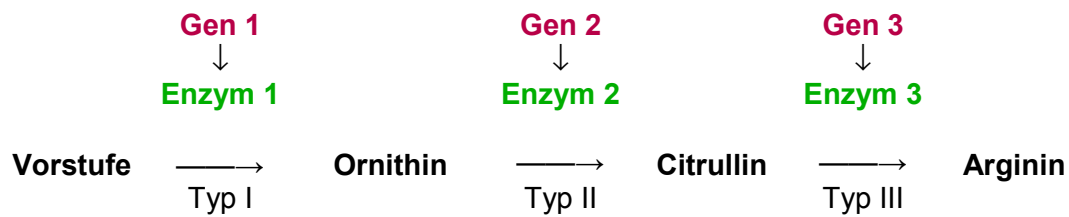
1. Interpretieren Sie die Versuchsergebnisse im Sinne der Ein-Gen-Ein-Enzym-Hypothese!
2. Welche Reihenfolge ergibt sich für die Arginin-Synthesekette?
3. Welches Enzym (bzw. Gen) ist bei einzelnen Mutanten-Typen ausgefallen?
4. Nehmen Sie eine weitere Vorstufe X an, von der die Argininsynthese ausgeht!
(X ⇒ ? ⇒ ? ⇒ Arginin)

Zusatzinformationen:

- <http://de.wikipedia.org/wiki/Ein-Gen-ein-Enzym-Hypothese>
- http://de.wikipedia.org/wiki/Edward_Lawrie_Tatum
- http://de.wikipedia.org/wiki/George_Wells_Beadle
- http://de.wikipedia.org/wiki/Neurospora_crassa

Schlussfolgerung:

Den Arg-Mutanten werden verschiedene Nährböden angeboten - diese werden bei ausreichendem Enzymangebot entsprechend der Grafik umgesetzt. Die Reihenfolge der Schritte ist unveränderbar!



Genwirkkette: Ein Gen kontrolliert über die Synthese eines bestimmten Enzyms jeweils einen konkreten Stoffwechselschritt (⇒ Stoffwechselblock).

Aufgaben

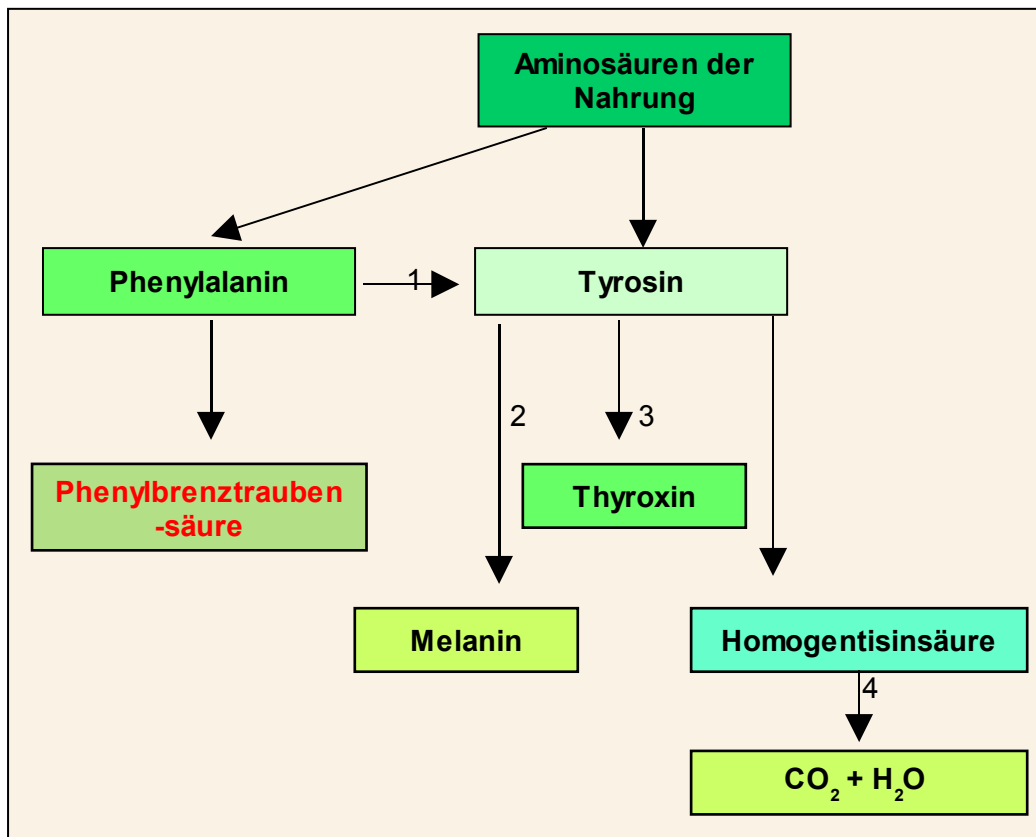
1. Welche Ursachen und Konsequenzen hat ein defektes Enzym 2?
2. Ein durch Mutation nicht funktionierendes Enzym kann ein Substrat nicht mehr umsetzen. Warum eigentlich nicht?

Der Phenylalaninstoffwechsel

Im Körper des Menschen gibt es mehrere Stoffe, welche aus der Aminosäure Phenylalanin gebildet werden. Phenylalanin wird mit der Nahrung aufgenommen und dann vom Körper durch Enzyme in Tyrosin umgewandelt (Tyrosin kann auch direkt aus der Nahrung umgewandelt werden).

Aus Tyrosin werden z.B. gebildet:

- Melanin (Hautfarbstoff)
- Thyroxin (Schilddrüsenhormon)
- Homogentisinsäure (Zwischenprodukt mit dunkler Farbe)
- und bei Abbau durch Oxidation: Kohlenstoffdioxid und Wasser



Für die Umwandlung (gekennzeichnet durch die Reaktionspfeile, ist jedes Mal ein Enzym verantwortlich. Fehlt dieses Enzym oder ist es defekt, kann der entsprechende Stoff nicht gebildet werden.

Ist zum Beispiel das **Enzym 1** defekt, dann kann Phenylalanin nicht mehr auf dem normalen Wege abgebaut werden. Es bildet sich stattdessen Phenylbrenztraubensäure (wurde früher Phenylketon genannt), welche giftig ist. Sie schädigt das beispielsweise das Gehirn. Dieser erbliche Defekt wird auch als Phenylketonurie bezeichnet.

Defekt in **Enzym 2**: Der Hautfarbstoff Melanin wird nicht mehr gebildet. Es liegt die Erbkrankheit Albinismus vor.

Bei Fehlen von **Enzym 3** liegt eine erbliche Form von Schwachsinn vor.

Fehlt **Enzym 4**, welches die Homogentisinsäure abbaut, so bleibt sie vorerst im Körper und wird dann durch die Niere ausgeschieden. Der Urin färbt sich dadurch sehr dunkel (Schwarzaharn).

Zusatzinformationen

<http://de.wikipedia.org/wiki/Phenylalanin>

<http://de.wikipedia.org/wiki/Phenylketonurie>

<http://de.wikipedia.org/wiki/Thyroxin>

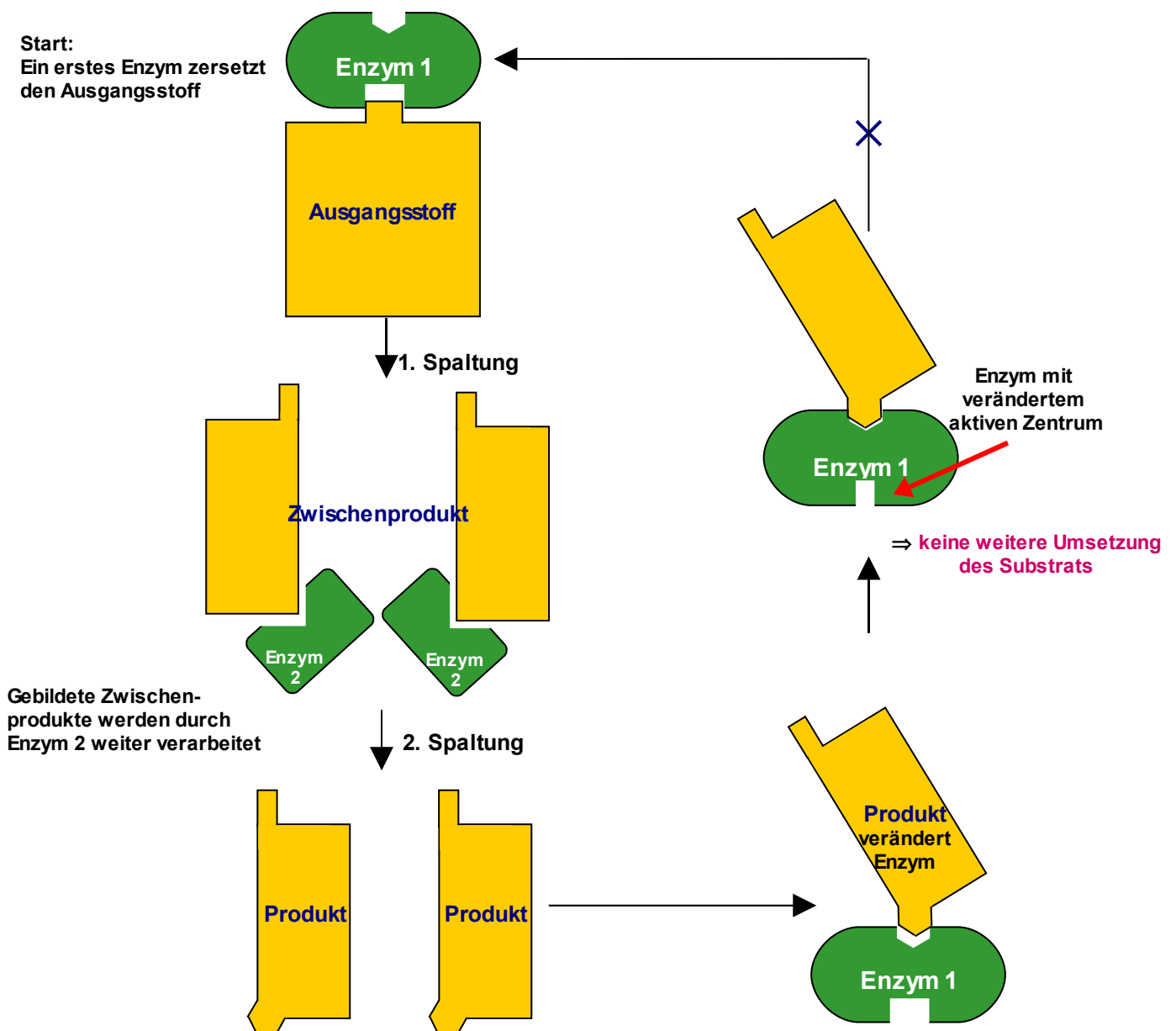
Enzymregulation und Regulation der Enzymaktivität

Innerhalb einer Zelle wird logischerweise nicht permanent die DNA in RNA übersetzt und es werden nicht kontinuierlich alle möglichen Proteine gebildet. Vielmehr muss es sehr sensible und ausgefeilte Mechanismen geben, die die Aktivität der produzierenden Enzyme regelt.

Das Darmbakterium E-Coli kann alle benötigten Bausteine der DNS sowie alle Aminosäuren selbst herstellen. Diese Synthesen Verlaufen oft über Zwischenprodukte. Die notwendigen Zwischenschritte sind natürlich ebenfalls enzymkatalysiert.

Beispiel: Allosterische Hemmung einer Synthese einer benötigten Aminosäure bei E-Coli

Zur Erinnerung: Enzyme liegen im Normalfall nach ihrer Reaktion unverändert vor und können weitere Katalysen durchführen:



Das entstandene Produkt kann nun Einfluss auf das Enzym 1 haben. Bei dieser Art der Hemmung, hat das Enzym einen **Bindungsport**, welcher an das Produkt andockt. Dadurch verändert sich aber die Form des aktiven Zentrums - man könnte sich vorstellen, das Enzym wird etwas „zusammengepresst“. Das nun veränderte aktive Zentrum, kann erstmal solange keine weiteren Katalysen durchführen, wie das Produkt nicht anderweitig vom Organismus benötigt und somit entfernt wird.

Eine solche Hemmung, wo das Endprodukt die Aktivität des ersten Enzyms einer Synthesekette hemmt, bezeichnet man als direkte **Endprodukthemmung**. Da das Enzym in seiner Form (reversibel) verändert wird, spricht man auch von allosterischer Hemmung. Enzyme, welche einen dafür notwendigen Bindungsport haben sind allosterische Enzyme (stereo =Raum, allos = anders). Solche Enzyme sind immer aus mehreren Polypeptidketten aufgebaut, welche zum Produkt passt. Da das Produkt stärker hemmt, je mehr von ihm vorhanden ist, ist die allosterische Hemmung konzentrationsabhängig. Das Produkt ist demzufolge ein **Inhibitor**.

Zusatzinformationen:

- Oft liegt an allosterischen Enzymen noch ein dritter Bindungsport vor, über den die Enzymaktivität gesteigert werden kann. Allosterische Enzyme können unter Umständen sogar gleichzeitig gehemmt und gefördert werden. so kommt im Organismus eine sehr feine Regelung zustande.
- http://de.wikipedia.org/wiki/Allosterische_Hemmung

Schöne Animationen zur Enzymwirkung und -hemmung:

<http://www.sn.schule.de/~biologie/lernen/stoffwechsel/enzym.html>

Generegulation: Warum werden Gene reguliert?

Ein frühes Klonexperiment an einer Möhre brachte erstaunliches zu Tage:

- Man entnahm den Leitbündeln eine Mohrrübe einige Zellen des Leitgewebes und begann die Zelle in einem geeigneten Nährmedium zu kultivieren. Oin dem Nährmedium waren neben allen notwendigen Mineralsalzen auch pflanzliche Wachstumshormone (z.B: Gibberellinsäure).

⇒ Aus den Leitbündelzellen sind wieder vollständigen Pflanzen geworden, die dann auch wieder Möhren produziert haben.

Welche Schlüsse können daraus gezogen werden?

⇒ Die Leitbündelzellen der Möhre enthalten das vollständige Genom der Pflanze!

⇒ Das Leitbündelzellen im Normalfall nur Leitbündelzellen bildet, folgt daraus, dass die meisten Gene inaktiv sind!

⇒ Inaktive Gene lassen sich u.U. auch wieder aktivieren!

Dieses gilt für alle Lebewesen. Jede Zelle eines Lebewesens (außer dern Keimzellen!) enthält die komplette genetischen Information. Diese wird, aber nicht permanent abgeselesn und umgesetzt, da die Genexpression viel Energie benötigt!

Zellen, die sich noch komplett zu jedem Gewebe ausbilden können nennt man totipotent. Ein Beispiel dafür sind frühe Zellstadien (nach der Befruchtung). Solche Zellen werden oft Stammzellen genannt.

Zellen, welche aus totipotenten Zellen gebildet werden sind in der regel spezialisiert auf eine Aufgabe. Sie sind differenziert.

Ein Experiment mit Krallenfröschen bestätigt, dass das „Möhrenexperiment“ übertragbar auf Tiere ist:

V: Einem Krallenfrosch werden Darmzellen entnommen und aus diesen der Zellkern entfernt. Dieser Zellkern wird in eine Eizelle ohne Zellkern eingepflanzt.

Kannst das Versuchsergebnis vorhersehen?

Zusatzinformationen:

<http://de.wikipedia.org/wiki/Pflanzenhormone>

<http://de.wikipedia.org/wiki/Gibberellinsäure>

Regulation der Genexpression (Proteinbiosynthese)

1) Hemmung der Proteinbiosynthese

Verschiedene Substanzen können Enzyme der Proteinbiosynthese stören und damit eine Eiweißproduktion verhindern. Solche Stoffe sind demzufolge ausgesprochen gefährlich.

1.1 Hemmung der Transkription

- a) Blockierung des DNA-Ablesens z.B. durch Actinomycin
- b) Hemmung der Polymerase z.B. Rifamycin

1.2 Hemmung der Translation

- a) Blockierung der Ribosomen z.B. Cloramphenicol
- b) Abbruch der Peptidkette z.B. durch Puromycin (hat Ähnlichkeit mit der t-RNA für Phe)

2) Regulation von Genen und deren Genaktivität (Operon-Modell) bei Prokaryoten

Zur Erinnerung: Zellkerne enthalten grundsätzlich immer die gesamte Erbinformation eines Organismus. So liegen in einer Bakterienzelle ca. 4000-4500 Gene vor:

Zellen sind also totipotent, d.h. dass jede Körperzelle eines mehrzelligen Organismus die gesamte genetische Information zur Ausbildung des gesamten Organismus besitzt.

Beweise für diese Tatsache:

- abgeschnittene Blätter einer Begonie keimen in Nährlösung aus und bilden eine neue Pflanze
- Pflanzenzellen von Möhren oder Tabak wachsen in Gewebekultur und bilden neue Zellen
- Klonierung des Krallenfroschs: Werden Zellkerne von beliebigen Körperzellen in entkernte Froscheizellen eingeführt, führen zum Wachstum eines kompletten Organismus)

Doch entscheidend ist nun, dass spezialisierte Zellen nur bestimmte Erbinformationen nutzen, die für sie wichtig sind. Muskelzellen beispielsweise würden andere Bereiche der DNA als Leberzellen verwenden. Man spricht auch von **differentieller Genaktivität**. Es ist auch biologisch sinnvoll, nur die Stoffe zu synthetisieren, welche gerade benötigt werden. Auch Zellen müssen sparsam mit ihren Ressourcen haushalten.

Differentielle Genaktivität: in verschiedenen Zellen des Organismus kann unterschiedliches genetisches Material realisiert werden

Diese Genaktivität kann z.B. in der Proteinbiosynthese gesteuert werden. So können in manchen Fällen Substanzen den weiteren Ablauf der Transkription fördern oder hemmen. Dabei unterscheidet man drei Möglichkeiten (Ziffern entsprechen den der Graphik):

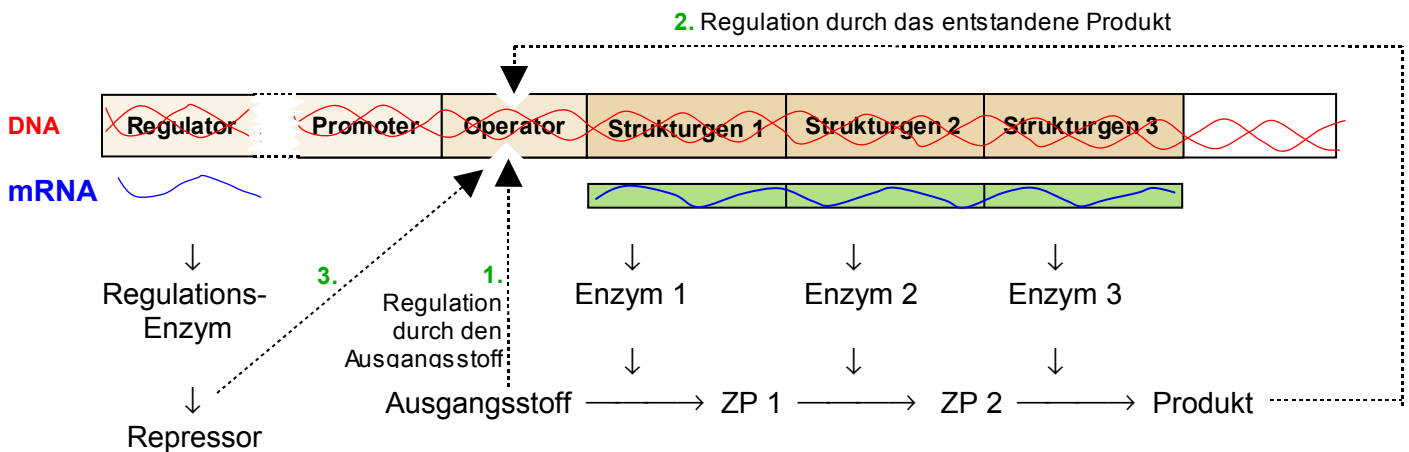
- a) Regulation der Transkription durch den Ausgangsstoff (=Substratinduktion)
- b) Regulation der Transkription durch das entstandene Produkt (Endprodukt-Repression)
- c) Regulation durch ein weiteres, nicht benachbartes Gen, das so genannte Regulatorgen

Das so genannte „**Operon-Modell der Genregulation**“ beschreibt die drei Möglichkeiten der Regulation. Es wurde 1961 von François Jacob und Jacques Monod (am Beispiel des Lactose Operons) entwickelt. Die beiden Franzosen erhielten 1965 dafür den Nobelpreis für Medizin. Hut ab! *g*

Das Operon Modell geht davon aus, dass die Gene, welche an einer Genwirkette beteiligt sind, auf der DNA räumlich lokal beieinander (oft sogar einfach hintereinander) codiert sind.

Diese Gene werden durch einen vorgeschalteten Bereich, den Operator, kontrolliert. Noch vor dem Operator liegt ein Promoter¹.

¹ Zur Erinnerung: Startsequenz für die RNA Polymerase zur RNA-Bildung

Es ergibt sich folgende Anordnung auf dem Strang der DNS:

Ein Operon ist also die Funktionseinheit der DNA, welche aus Promotor, Operator und den zur Kodierung (von einem oder mehreren Proteinen) notwendigen (Struktur-)Genen besteht.

Durch Aktivieren („eingeschalten“) oder Hemmen („ausgeschalten“) der Operone wird die Synthese der betreffenden Proteine gesteuert.

In der Gentechnik spielen sie eine wichtige Rolle, weil so durch Zugabe oder Entzug von Substanzen Gene gezielt aktiviert oder gehemmt werden können.

Die 2 Möglichkeiten der Regulierung:

Induktion: Anschalten eines Gens

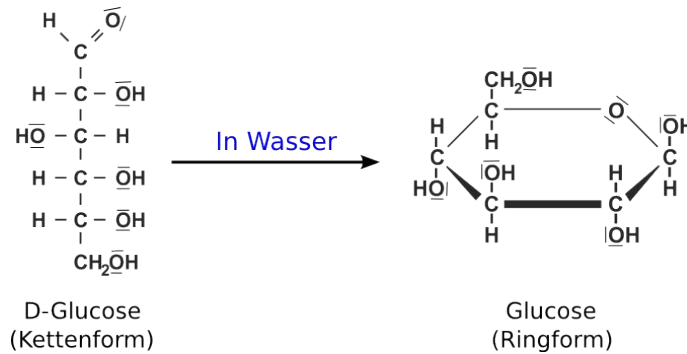
Repression: Abschalten eines Gens

F. Jacobs und J. Monods Regulationsbeispiel: Das Lactose Operon

a) Substratinduktion

Das Bakterium *Escherichia coli* (*E. coli*) ernährt sich vorzugsweise von Glucose.

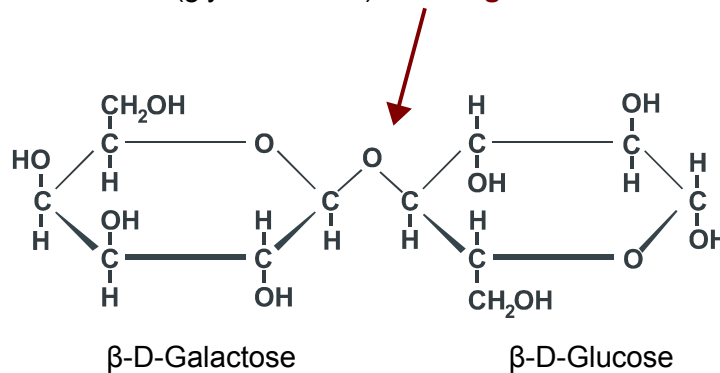
Glucose:



Die aufgenommene Glucose wird dann durch Zellatmung in Kohlenstoffdioxid und Wasser umgewandelt. Die dabei freiwerdende Energie nutzt das Bakterium zum Leben.

E. coli können sich in Abwesenheit von Glucose auch von Lactose (Milchzucker) ernähren. Dieser Zucker ist aber ein Disaccharid (=Zweifachzucker). Es besteht aus den beiden Einzelzuckern Glucose und Galactose (=Schleimzucker, der Glucose sehr ähnlich). Damit *E. coli* nun Lactose als Nahrung verwenden kann, muss zuerst die (glycosidische) **Bindung** zwischen den beiden getrennt werden.

Lactose:



Diese Bindung spaltet das Enzym β-Galactosidase (wurde früher Lactase genannt). Das Enzym β-Galactosidase ist normalerweise im Bakterium so gut wie nicht vorhanden. Es muss bei Bedarf gebildet werden.

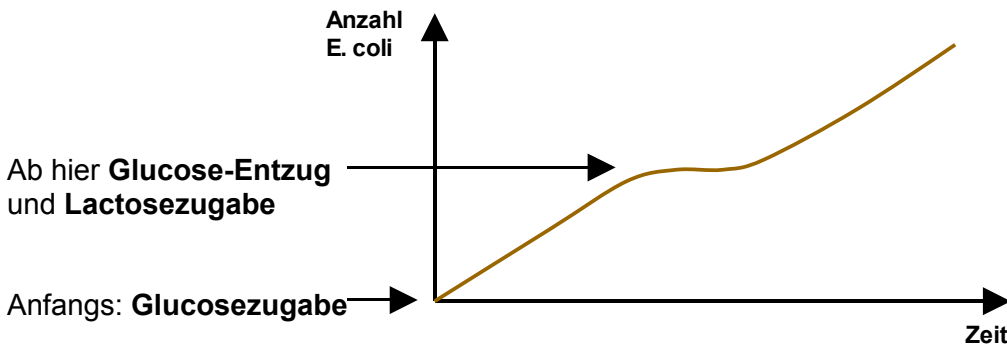
Die Franzosen Jacobs und Monods hatten nun beobachtet, dass Lactose bei Glucosemangel abgebaut wird, aber das das Bakterium nicht sofort von einem Nährstoff auf den anderen „umschalten“ kann. Da es generell schwierig ist, zu beobachten, was Bakterien fressen, haben die beiden Wissenschaftler die Anzahl an Bakterien als Maß für die Nahrungsaufnahme festgelegt. Dahinter liegt die Beobachtung, dass sich Lebewesen bei guter Ernährung vermehren.

Das Experiment von Jacobs und Monods

Die beiden Franzosen führten nun ein Experiment durch, bei dem die Anzahl an E. Coli bei Substratwechsel bestimmt wurde. Dazu gaben sie regelmäßig Glucoselösung in eine Petrischale mit Bakterien. Nach einer festgelegten Zeit wurde anstelle von Glucose Lactose hinzu gegeben. Was passiert, wenn nun Glucose gegen Lactose (Milchzucker) ausgetauscht wird?

V: E-Coli aus Glucose-Nährmedium werden in ein Lactose Nährmedium überführt

B: Wird Glucose entzogen und stattdessen Lactose (Milchzucker) gegeben, kommt es zunächst zum Wachstumsstillstand. Erst nach einiger Zeit, kommt es zum weiteren Wachstum.

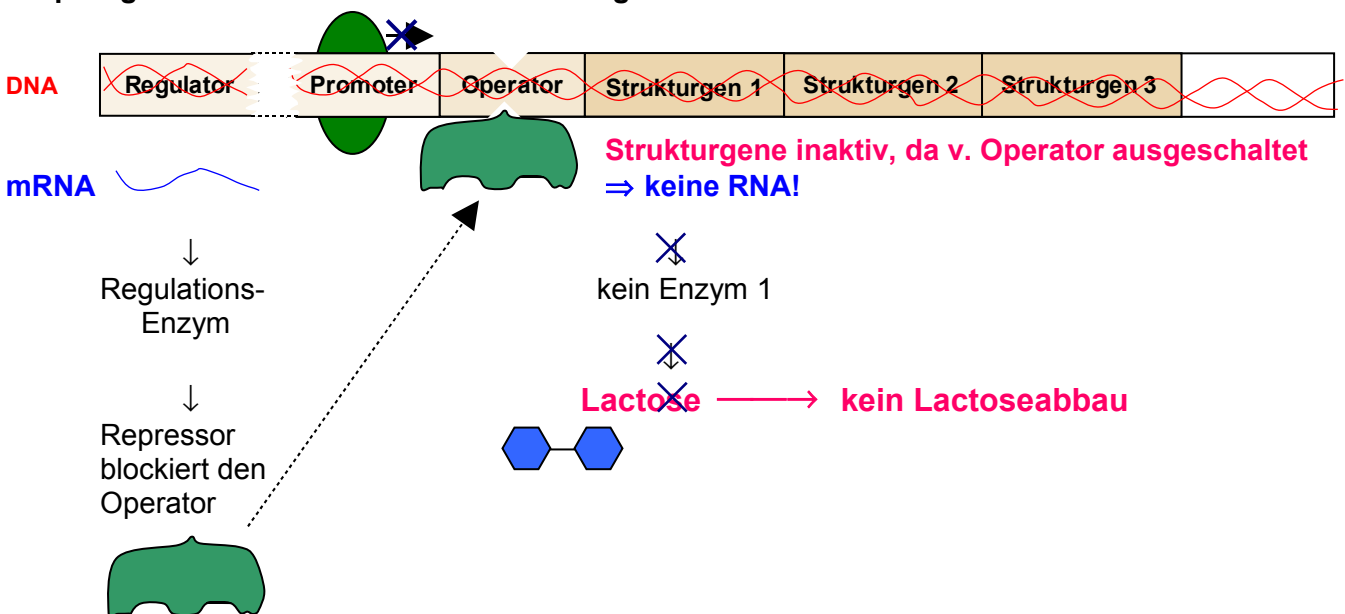


S: Die E-Coli Zellen benötigen etwas Zeit, die zum Lactoseabbau notwendigen Enzyme herzustellen. ⇒ Diese Lactose abbauenden Enzyme werden nur dann hergestellt, wenn sie auch tatsächlich benötigt werden. Solange also keine Lactose im Nährmedium vorhanden war, gab es keine Veranlassung neue Enzyme zu synthetisieren. **Lactose induziert also die Enzymbildung.**

Die Lactoseverwertung ist normalerweise durch den Repressor gehemmt, da Milchzucker im Enddarm, dem Lebensraum von E-Coli, nicht vorkommt.

Inaktives Gen → Induktion durch Lactose → Anschalten des Operons → Lactoseverwertung

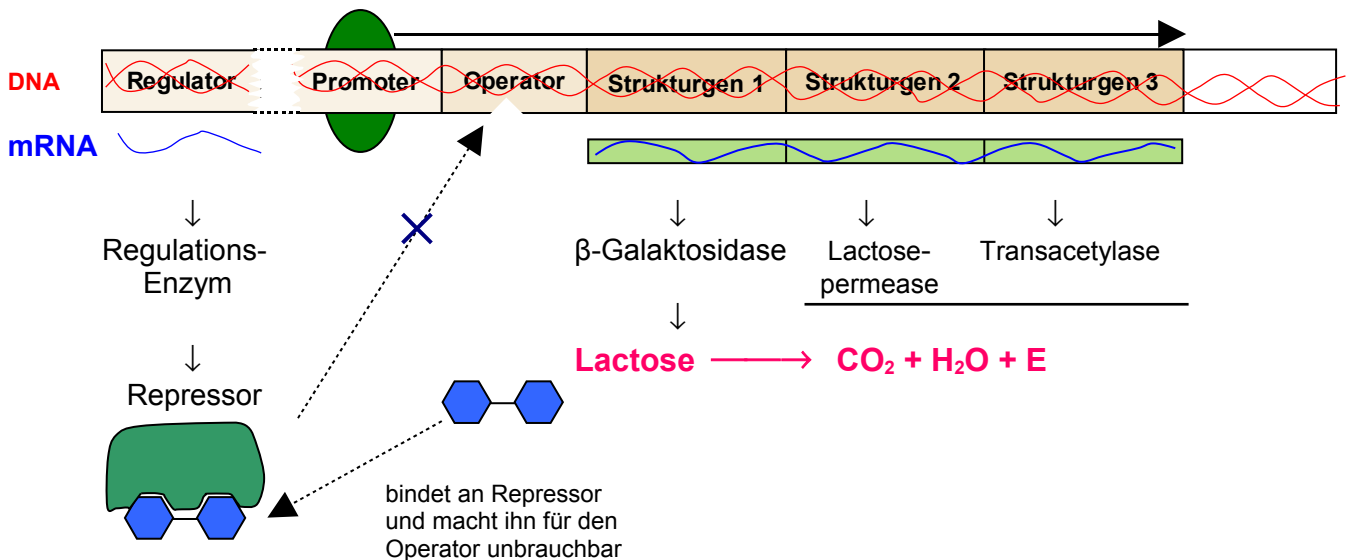
Ursprünglicher Zustand: Glucoseverwertung:



Das Regulatorgen ist die Vorlage für ein Enzym, welches einen Inhibitor produziert, welcher an den Operator bindet und ihn so „ausschaltet“.

Zustand nach Zugabe von Lactose:

Ist Lactose im Nährmedium vorhanden, bindet sie an den Repressor und deaktiviert ihn dadurch für den Operator (durch Konformationsänderung in der Tertiärstruktur des Repressormoleküls). Die Repressormoleküle hemmen so nicht mehr den Operator, welcher seinerseits dann die Strukturgene einschaltet. Die Lactose ist also ein so genannter Induktor (=Effektor, der Repressor inaktiviert)

**Das Lactose-Operon (lac-Operon) besteht also aus:**

- dem Promoter als Ansatzpunkt für die RNA-Polymerase
- dem Operator
- Strukturgen 1 codiert das Enzym **β-Galaktosidase** (verantwortlich für den ersten Abbau des Doppelzuckers Lactose in die beiden Einfachzucker Glucose und Galaktose - (Lac → Glc + Gal)
- Strukturgen 2 codiert das Enzym **Lactosepermease** (verantwortlich für Lactoseaufnahme in die Zelle)
- Strukturgen 3 codiert das Enzym **Transacetylase** (verhindert eine zu hohe Lactosekonzentration in der Zelle)

Substratinduktion findet in der Regel dann statt, wenn Stoffe abgebaut werden. Ist ein Stoff vorhanden, sorgt er selbst für die Aktivierung (also er induziert!) der Gene, welche die Information für das passende Abbauenzym codieren.

Für den Stoffaufbau findet meistens eine Regulation durch das gebildete Produkt statt. Liegt genug davon vor, kommt es zur Unterdrückung des Vorgangs. Man spricht von Endprodukt-Repression.

Ein Operon ist eine Funktionseinheit der DNA von Prokaryoten. Es besteht aus Promotor, Operator(en) und mehreren (Struktur-)Genen.

b) Endproduktrepression:

Bei der genetisch gesteuerten Bildung des Aufbaus von Produkten, wird die Genaktivität etwas anders geregelt.

Beispiel 1: Das Histidinoperon von E. coli.

Das Bakterium E. Coli kann das Eiweiß Histidin bilden. Gibt man aber Histidin zur Nährlösung hinzu, stellt das Bakerium ene eigene Produktion von Histidin ein.

⇒ Das Produkt Histidin hemmt seine eigene Synthese.

⇒ Das Repressor-Protein ist meist inaktiv, durch die Bindung von Histidin an das Repressorprotein wird es aktiv und unterbindet somit die weitere Synthese.

⇒ Eine Endproduktrepression verhindert eine Energieverschwendung durch unnötig ablaufende Synthesen.

Beispiel 2: Das Tryptophan-Operon von E. coli

Dieses Operon beinhaltet 5 Strukturgene. Diese codieren 5 Enzyme, welche aus einer Vorstufe in fünf Schritten die Aminosäure Tryptophan synthetisieren.

Ist ein Bakterium in einer Umgebung ohne die Aminosäure Tryptophan, so ist das Operon ständig aktiv, da Tryptophan zum Aufbau und letztlich zur Zellteilung benötigt wird.

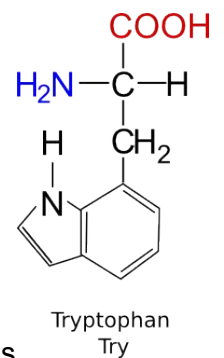
⇒ Der Repressor ist, solange die Synthese stattfindet, inaktiv.

Liegt nun nach einiger Zeit (oder durch externe Zugabe, wie in diesem Beispiel) genug Tryptophan vor, dockt dies an den Repressor und verändert so seine Konformation.

⇒ ein inaktiver Repressor **wird durch das** Endprodukt (hier Tryptophan, welches somit als **Corepressor fungiert**) aktiviert

⇒ Die Aktivierung des Repressors blockiert die weitere Transkription und somit die Synthese von weiterem Produkt.

⇒ Das Endprodukt regelt seine eigene Synthese.

**Für das Tryptophanoperon gilt:**

Wenn das gebildete Tryptophan dann irgendwann verbraucht ist, wird der Repressor wieder inaktiviert und die Synthese kann weitergehen.

Aufgaben:

1. Welche Auswirkungen hat eine Mutation des Regulatorgens des Tryptophan-Operons?
2. In der Biologie unterscheidet man zwischen Steuerung und Regelung. Kennst Du die Unterschiede?

Zusatzinformationen:

<http://de.wikipedia.org/wiki/Operon>

<http://de.wikipedia.org/wiki/Lac-Operon>

<http://de.wikipedia.org/wiki/Trp-Operon>

<http://de.wikipedia.org/wiki/Ara-Operon>

Genregulation bei Eukaryoten

Genetische Regulationsmechanismen wurden besonders gut bei Bakterien erforscht (Prokaryoten). Die Regulation bei Eukaryoten nach diesem Modell ist nicht generell 1:1 übertragbar - es gibt einige Unterschiede:

- Eukaryonten-mRNA wird zeitlich länger in den Zellen erhalten (z.T. einige Wochen). Ein Abschalten des Operons ist in solchen Fällen unnützlich, da die Synthese mit bestehender mRNA weitergehen kann.
- Eukaryoten enthalten viel größere DNA Mengen und somit mehr Gene als Prokaryoten.
- Zusätzlich ist die eukaryotische DNA in Exons und Introns unterteilt. Selbst in den Introns gibt es viele Bereiche, die keine sinnvollen Informationen codieren. Einige Nukleotidabfolgen können sich 10000fach wiederholen. Sie haben z.B. nur die Aufgabe das Centromer zu bilden und ihm einen festen Platz zu geben.

⇒ Die Konsequenz ist, dass von der Funktion zusammengehörnde Gene u.U. weit voneinander entfernt sind.

⇒ Weitere Möglichkeiten der Genregulation sind aufgrund der Komplexität notwendig - und auch in Eukaryoten tatsächlich vorhanden!

Generell kann Regulation schon beim Spleißen der DNA stattfinden, beim Transport der mRNA (vom Kern ins Cytoplasma) oder direkt bei der Translation im Ribosom.

Weiterhin ist eine Inaktivierung der RNA möglich. Auch der RNA-Abbau kann direkt beeinflusst werden.

All diese Einflussmöglichkeiten werden durch so genannte **Multiproteinkomplexe** gesteuert. Diese entstehen erst bei Bedarf und zerfallen anschließend wieder in ihre einzelnen Proteine. So können z.B. Steroid-Hormone direkt die Enzymaktivität oder die Genaktivität beeinflussen (Genaktivierung durch Steroidhormone).

Beispiel: Genregulation bei der Eukaryotentranskription

Eukaryotengene enthalten keine Operons. Die Regulationsbereiche sind meist weit von den Startstellen für die eigentlich mRNA-Synthese entfernt.

Um also die Transkription zu starten, muss zuerst die DNA entschraubt werden, damit RNA-Polymerase sowie die regulatorischen Proteine direkt an die betreffende DNA-Stelle binden können. Dieser Bindungsort wird auch Promotor genannt. Von hier wird die Transkription starten sowie ein Multiproteinkomplex aus ca. 50 Proteinen aufgebaut ist.

Man nennt diese Proteine auch Transkriptionsfaktoren. Mittlerweile kennt man über 2000 solcher Transkriptionsfaktoren beim Menschen. Diese ca. 2000 Transkriptionsfaktoren können nun in unterschiedlicher Kombination zusammenkommen und so verschiedene Gene aktivieren (statistisch sehr viele!). Ein Teil dieser Transkriptionsfaktoren ist ständig in der Zelle vorhanden - andere müssen bei Bedarf gebildet werden.

Die Transkriptionsfaktoren müssen aber ebenfalls aktiviert werden. Dazu dienen Aktivatorproteine. Bei Inaktivität des Gens sind diese an der DNA fest gebunden - die Bindungsstelle nennt man auch Verstärkerelement. Verstärkerelemente sind in der Regel weit von der eigentlich für die Transkription notwendigen DNA-Sequenz entfernt.

Löst sich nun das Aktivatorprotein vom Verstärkerelement, dann werden die Transkriptionsfaktoren aktiv und setzen sich zum Multiproteinkomplex zusammen. Dann kann die Transkription starten. Dabei sind Proteine mit Brückenfunktion beteiligt - sie werden Coaktivatoren genannt.

Der Regelung der Transkription dient natürlich auch der Abbau der Transkriptionsfaktoren durch weitere Proteine.

Bei Eukaryoten liegt ein komplexes regulatorisches System vor. Man spricht auch von einer positiven Kontrolle, da Transkriptionsfaktoren und Coaktivatoren aufgebaut werden und so die Transkription starten.

Bei Prokaryoten ist es eher umgekehrt: das Regulatorprotein ist ein inaktivierendes Protein
⇒ negative Kontrolle.