

Physiologie und Anatomie I

3.3. Zellen - Proteinbiosynthese

Prof. Dr. Werner Nahm

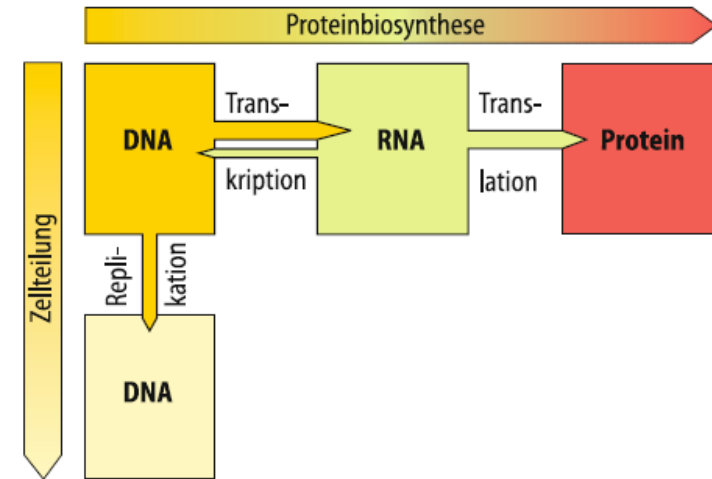


Proteinbiosynthese - Ablauf

Das „Zentrale Dogma der Molekularbiologie“

Francis Crick* (publiziert 1958 / 1970)

„Es kann keine sequenzielle Information von Protein zu Protein oder zu Nukleinsäure geben.“



*Francis Crick (1916 - 2004), britischer Physiker und Molekularbiologe, 1962 Nobelpreis für Physiologie und Medizin zusammen mit James Watson und Maurice Wilkins für die Aufklärung der Molekularstruktur der DNA.

Bildquelle: Löffler, 2008

Proteinbiosynthese - Ablauf

Allgemeine Übertragungsarten

DNA → DNA: Replikation

DNA → RNA: Transkription

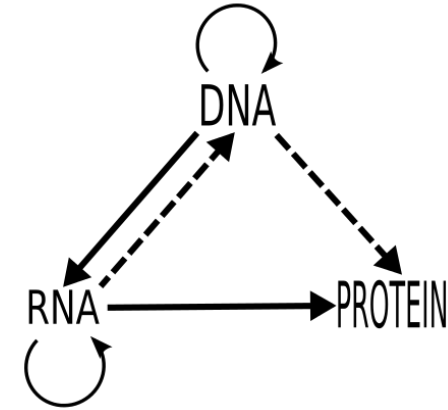
RNA → Protein: Translation

Spezielle Übertragungsarten

RNA → RNA: RNA-Replikation, z. B. bei RNA-Viren (RNA-Polymerasen)

RNA → DNA: Reverse Transkription, z. B. bei Retroviren / Retrogene (Reverse Transkriptase)

DNA → Protein: Direkte Translation von DNA zu Protein, wurde in vitro in zellfreien Umgebungen nachgewiesen.



Bildquelle: aus Wikipedia nach:
A diagram of the central dogma of molecular biology circa 1958,
as reconstructed by Francis Crick in
"Central Dogma of Molecular Biology", Nature, vol. 227, pp. 561-563 (August 8, 1970)

Unbekannte, nach dem Zentralen Dogma **verbotene** Übertragungsarten

Protein → DNA

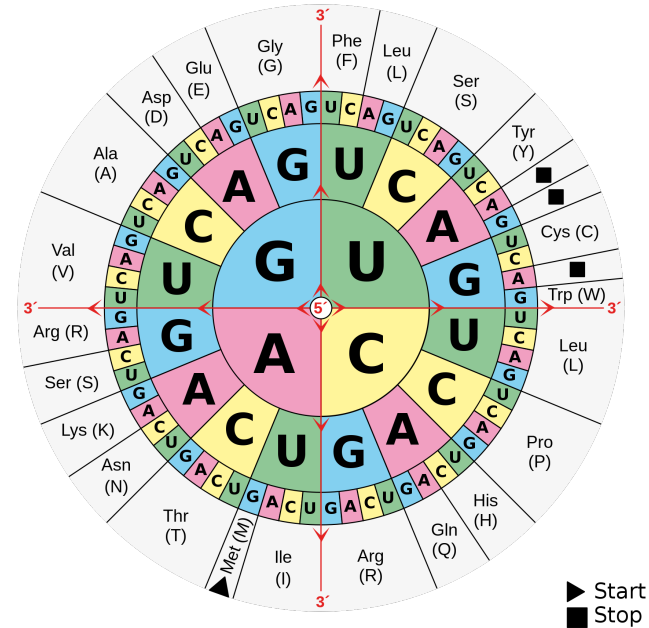
Protein → RNA

Protein → Protein

Genetischer Code

Der genetische Code ist die Codierung der Aminosäuresequenzen zur Proteinsynthese in der Abfolge von Basensequenzen auf der DNA.

- Der genetische Code ist bei allen bekannten Lebewesen grundsätzlich gleich (Universalität).
- Jede der 21 proteinogenen Aminosäure ist auf dem DNA-Strang durch ein Triplet von drei aufeinanderfolgenden Nukleobasen codiert -> **Codon**
- Auf der Doppelstrang-DNA kommen ausschließlich 4 verschiedene Basenpaarungen vor: G-C, C-G, A-T, T-A
- Bei der Transkription wird die Basensequenz des DNA-Strangs in die komplementäre Basensequenz des m-RNA-Strangs umcodiert. (U anstelle von T!)
- Rechnerisch können aus 4 möglichen Basen $4^3 = 64$ unterschiedliche Tripletts gebildet werden. Außer Metionin sind alle proteinogenen AS redundant (degeneriert) codiert. Zusätzlich werden 4 Tripletts als Start- oder Stop- Kommandos für die Translation verwendet.

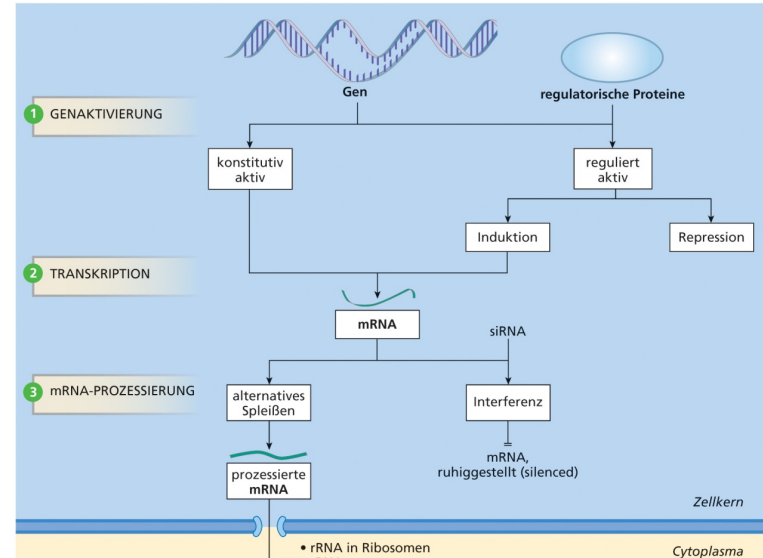


Bildquelle: aus Wikipedia, https://de.wikipedia.org/wiki/Datei:Aminoacids_table.svg

Proteinbiosynthese - intranukleäre Schritte

Schritte, die im Zellkern stattfinden:

1. **Genaktivierung** (dauerhaft aktiviert oder durch Transkriptionsfaktoren aktiviert)
2. **Transkription** (Abschreibung der genetischen Information von einem aktivierten Gen auf die einzelsträngige mRNA)
3. **mRNA Prozessierung** (Entfernung nicht benötigter Codone oder „alternatives Spleißen“)
4. **Ausschleusen** der prozessierten mRNA in das Zytoplasma



Bildquelle: Silverthorn, 2009

Codon: Phasentriplett, das eine bestimmte Aminosäure codiert.

Alternatives Spleißen: Eine mRNA kann je nach Schnittstelle unterschiedliche Proteine codieren

Proteinbiosynthese - Transkription

Genaktivierung:

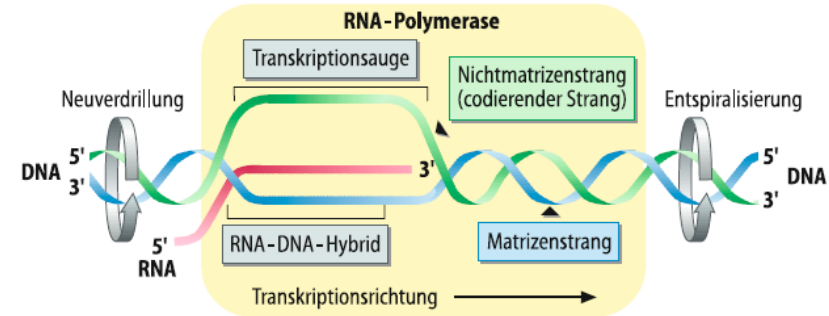
Entspiralisierung der Doppelhelix durch Helikase-Aktivität

Teilschritte der Transkription:

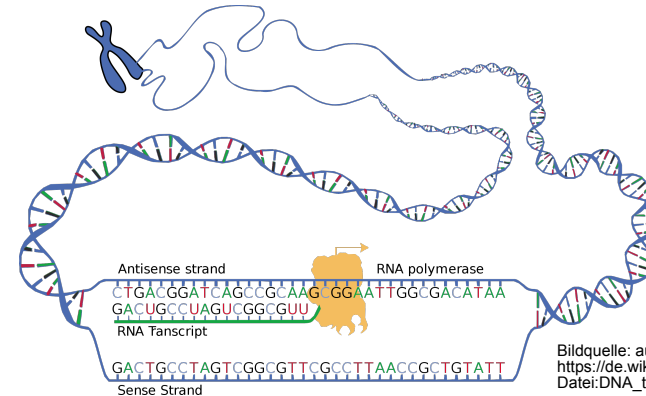
- Initiation
 - Startstelle für Transkription wird durch Promotorregionen gekennzeichnet
- Elongation
 - Benötigt werden Nucleotidtriphosphate und RNA-Polymerasen
 - Die m-RNA Synthese erfolgt am codogenen Strang (Matrizenstrang, Antisense-Strand) von 3' in 5' Richtung.
 - Es entsteht eine Kopie des Nichtmatrizenstrangs (codierender Strang, Sense-Strand) von 5' nach 3' (U anstelle T)!
- Termination
 - Unterschiedliche Signale (z.B. Proteinfaktoren)
 - In der Regel wird über die Länge des Gens hinaus abgelesen!

Prozessierung

Kürzen der m-RNA auf die benötigte Länge



Bildquelle: Löffler, 2008

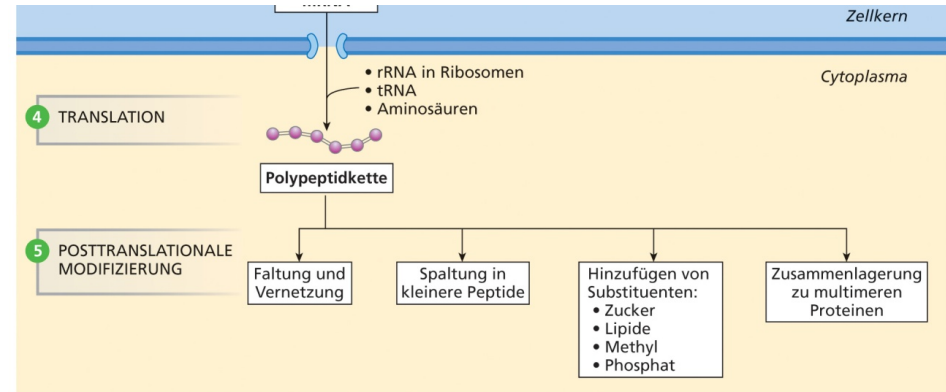


Bildquelle: aus Wikipedia,
https://de.wikipedia.org/wiki/Datei:DNA_transcription.svg

Proteinbiosynthese - extranukleäre Schritte

Schritte, die außerhalb des Zellkerns stattfinden:

- **Translation** (Übersetzung des Genetischen Codes in die Aminosäuresequenz einer Polypeptidkette, findet an Ribosomen statt)
- **Posttranslationale Modifizierung** (Faltung und Aufbau tertiärer und quartärer Strukturen, findet am ER und am Golgi-Apparat statt)

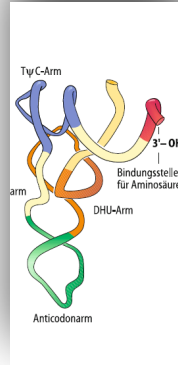


Bildquelle: Silverthorn, 2009

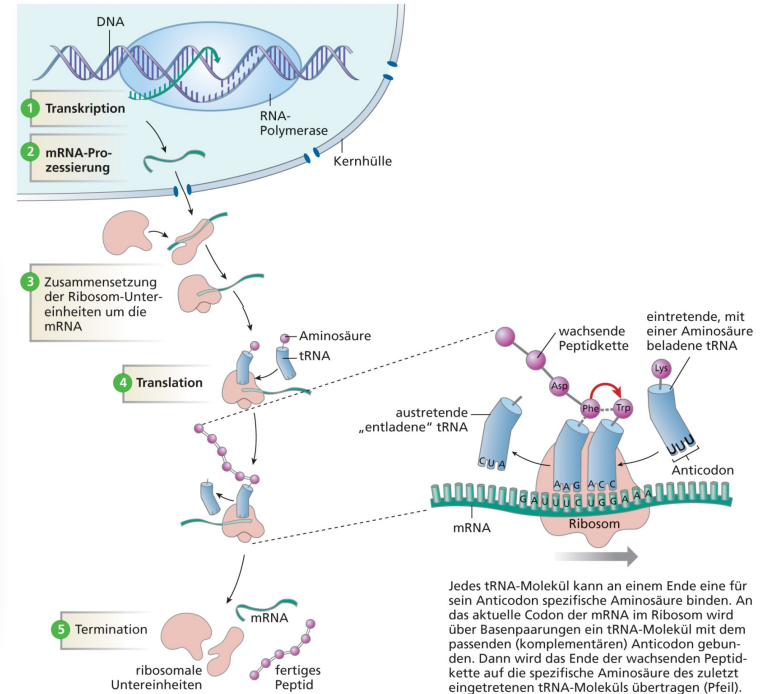
Proteinbiosynthese - Translation

Teilschritte der Translation:

- Zusammenbau des Ribosom - mRNA - Komplexes
- Translation
 - Benötigt werden mit Aminosäuren beladene tRNA, Peptidyltransferase, RNA-Polymerase, Transkriptionsfaktoren, ...)
 - Die t-RNA besteht aus ca. 100 Nukleotiden und besitzt eine Anti-Codon-Bindungsstelle (Basentriplett) und einer 3'-Bindungsstelle für die Aminosäure
 - Am Ribosom werden sukzessive je 2 t-RNA nebeneinander gebunden. Das Ribosom katalysiert die Peptidbindung der benachbarten AS.
 - Die m-RNA wird in 5'-3'-Richtung abgelesen. Die Abfolge der Anticodone ist eine Kopie des codierenden DNA-Strangs!
- Termination
 - Trennung von mRNA, Ribosom-Einheiten und Polypeptidkette.
 - Die Polypeptidkette beginnt sich bereits während der Elongation zu falten
 - Die m-RNA wird mehrfach abgelesen, bis sie von Nukleasen abgebaut wird.



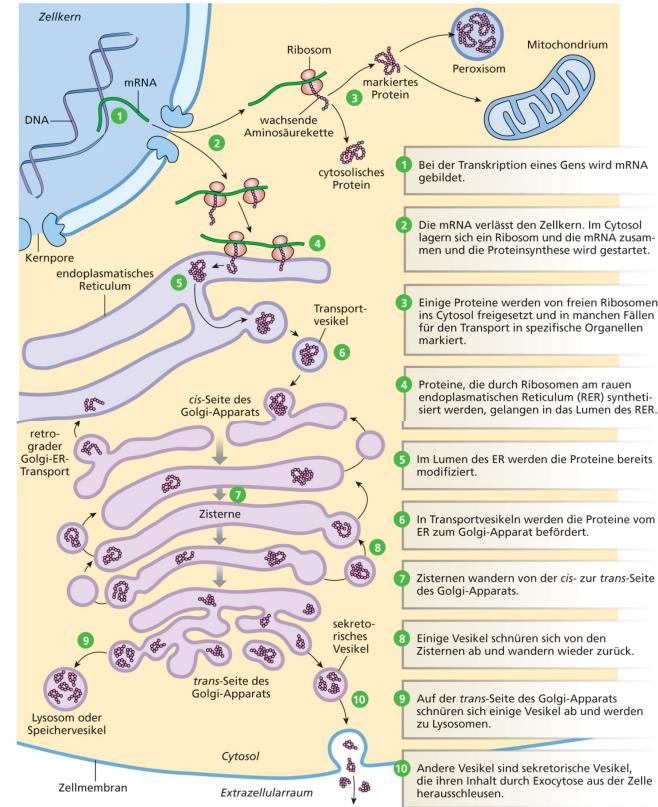
t-RNA: besitzt ein Ant-Codon und eine Kopplungsstelle für die dem Zielcodon entsprechende Aminosäure



Bildquelle: Silverthorn, 2009

Proteinbiosynthese - Posttranslation

- Posttranslationale Modifizierung
 - Modifikationen finden im endoplasmatischen Retikulum und im Golgi-Apparat statt
 - Faltung in die endgültige dreidimensionale Struktur
 - Erzeugung von (kovalenten) Quervernetzungen zwischen verschiedenen Regionen der Aminosäurekette
 - Spaltung in kleinere Peptidketten
 - Bindung anderer Moleküle, Gruppen oder Ionen (z.B. für Glykoproteine)
 - Zusammenlagerung mit anderen Aminosäureketten (→ multimerische Proteine aus mehreren Untereinheiten)
 - Verpackung in (sekretorische) Transportvesikel oder Lysosomen



Exkurs: mRNA Impfstoff

Funktionsweise m-RNA Impfstoff

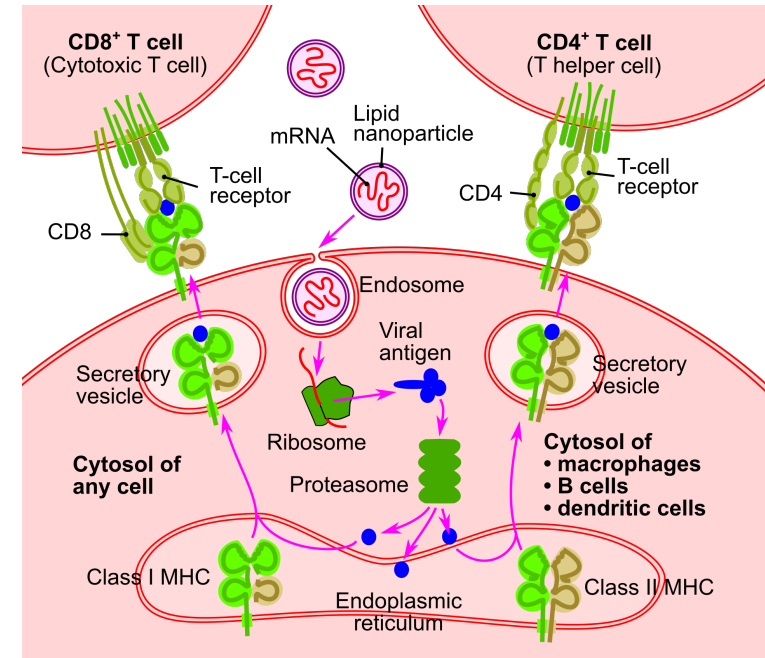
1. Im Labor wird die m-RNA-Sequenz des Coronavirus (Ribo-Virus) isoliert, welche die Information zur Synthese seines Oberflächenproteins Spike enthält.
2. Die Virus-RNA wird biotechnologisch kopiert und in Lipid-Nanopartikel verpackt
3. Die verpackte m-RNA wird durch Endozytose in die Zelle aufgenommen.
4. Am Ribosom wird durch Translation ein Protein hergestellt, welches als Antigen wirkt.
5. Das Protein wird in den MHC-Komplex eingebunden, damit das Antigen von T-Zellen erkannt wird.
6. Der MHC wird über ein Transportvesikel sezerniert.
7. Die Präsentation am MHC I erzeugt eine zelluläre Immunantwort (Bildung zytotoxischer T-Zellen)
8. Die Präsentation am MHC II erzeugt eine humorale Immunantwort.
9. Die m-RNA wird in der Zelle schnell abgebaut (RNase).

Vorteil

Im Gegensatz zu Proteinimpfstoffen werden sowohl die humorale (Antikörper), als auch die zelluläre Immunantwort („Killerzellen“) ausgelöst.

Nachteil

RNA ist in Lösung sehr instabil und temperaturempfindlich
Die „Nanopartikel-Verpackung“ und Stabilisierung ist aufwändig und teuer.



MHC: Haupthistokompatibilitätskomplex.
Gene, die Proteine codieren, welche für die Immunerkennung wichtig sind.

Bildquelle: Wikipedia, Von Jmarchn - Eigenes Werk, CC BY-SA 3.0,
<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=97537433>

Exkurs: DNA Impfstoff

Funktionsweise:

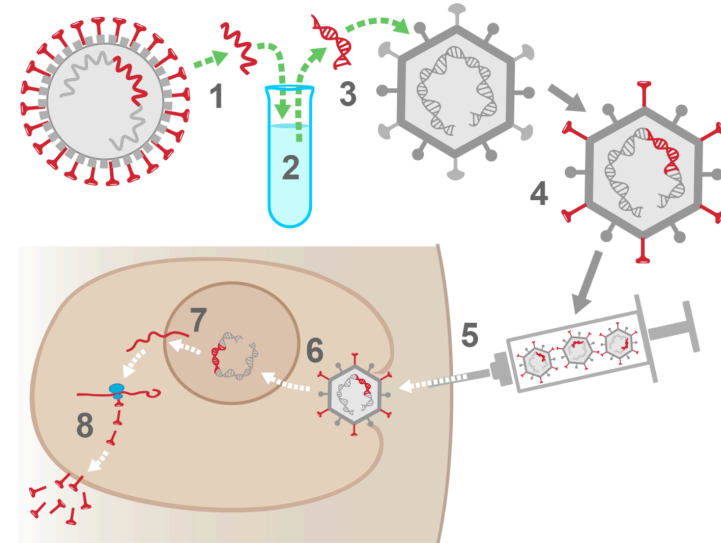
1. Im Labor wird die RNA-Sequenz des Coronavirus (RNA-Virus) isoliert, welche die Information zur Herstellung seines Oberflächenproteins Spike (in rot) enthält.
 2. Die RNA-Sequenz für Spike wird in eine DNA-Sequenz für Spike überführt.
 3. Die DNA -Sequenz für Spike wird in das Chromosom eines ungefährlichen Adenovirus (DNA-Virus) eingefügt -> **Vektor**
 4. Das modifizierte Adenovirus trägt das Oberflächenprotein Spike auf seiner Oberfläche, ist aber nicht in der Lage, sich zu vermehren
 5. Impfung: Modifizierte Adenoviren werden in den Arm einer Person injiziert
 6. Das modifizierte Adenovirus dringt in eine menschliche Zelle ein und überführt seine DNA in den Zellkern. Die Impfstoff-DNA ist modifiziert, damit sie nicht in das Genom integriert wird.
 7. Die Vektor-DNA wird dort in m-RNA transkribiert.
 8. Danach erfolgen die Expression des MHC ähnlich wie bei m-RNA Impfstoffen.
- Vollständiger Abbau der Vektor-DNA durch Nukleasen .

Vorteil gegenüber m-RNA Impfstoffen:

- Einfache und kostengünstige Herstellung der rekombinanten DNA
- Stabilität der rekombinanten DNA
 - keine Kühlkette benötigt
 - unempfindlich gegenüber RNasen

Möglicher Nachteil

- Einbau in die DNA der Wirtszelle (über Rekombination)



Bildquelle: Infovac, <https://www.infovac.ch/de/faq/entwicklung-von-impfstoffen>

Nach dem Studium dieses Kapitels

sollten Sie in der Lage sein...

- das „Zentrale Dogma der Molekularbiologie“ zu erklären und zu diskutieren.
- die wesentlichen Schritte und Abläufe der Proteinbiosynthese darzustellen und zu erklären.
- die allgemeinen Funktionsprinzipien von mRNA- und DNA-Impfstoffen zu erklären.