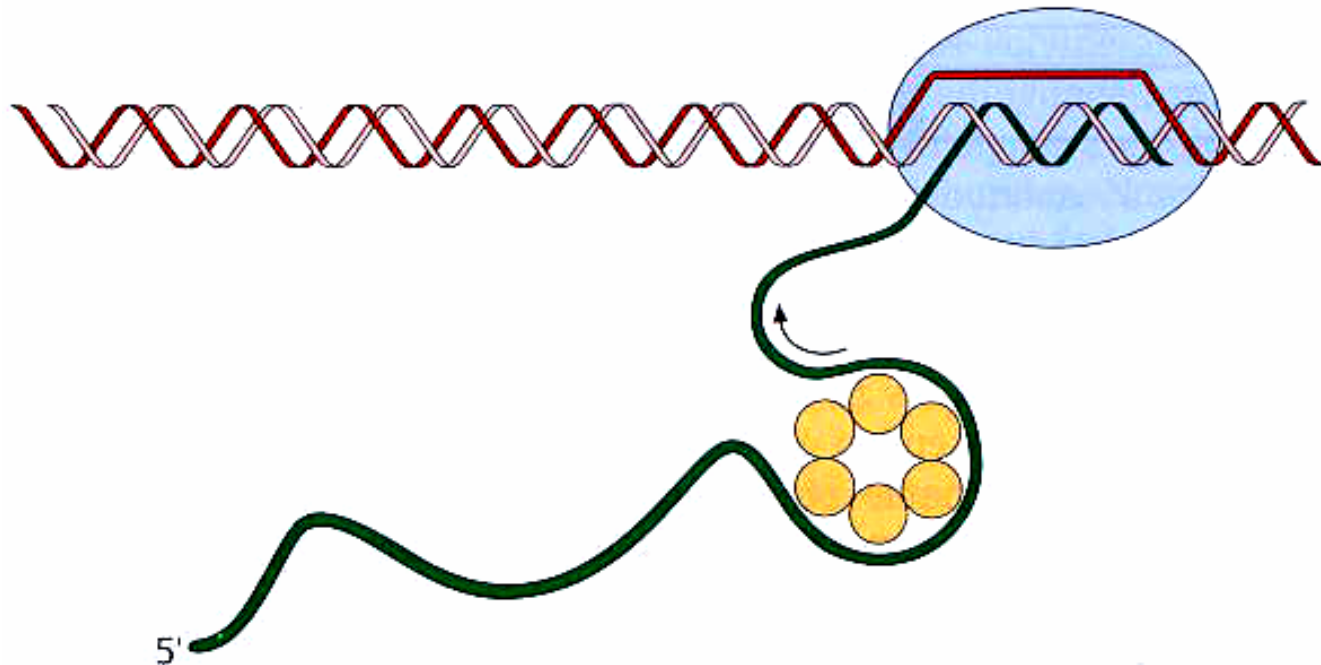
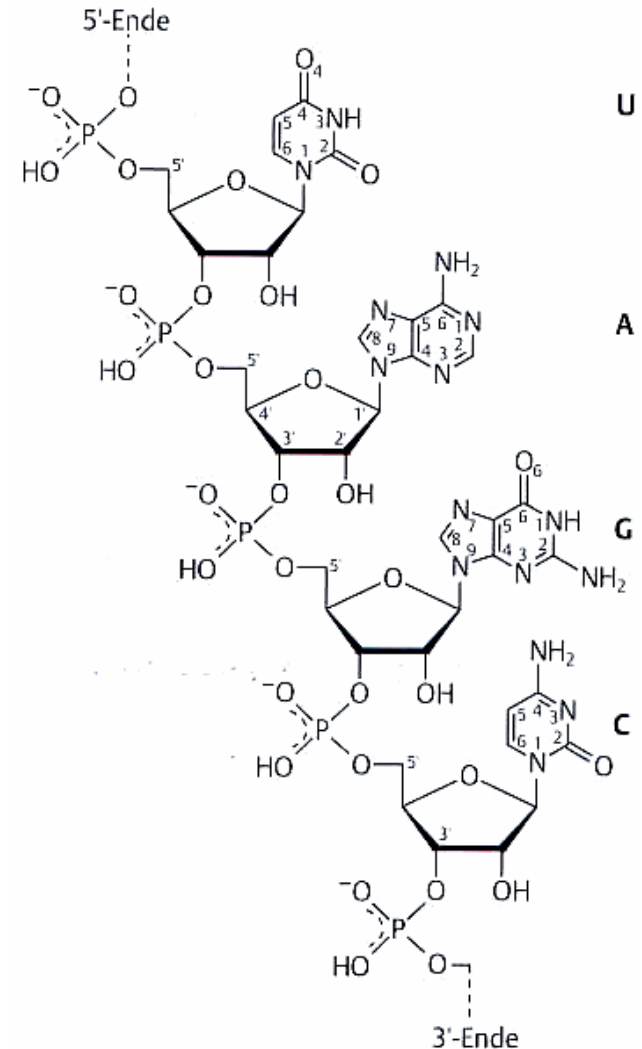


Transkription in Prokaryoten





Transkription in Prokaryoten

Transkription:

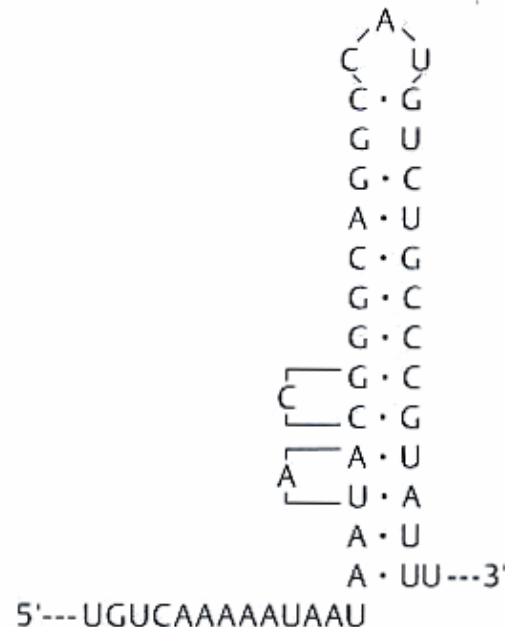
RNA besitzt die Fähigkeit zur Schleifenbildung (Sekundärstruktur):

Komplementäre Nucleotidfolgen führen zur Schleifenbildung

Die Schleife entsteht durch zusammenlagern zu einem doppelsträngigen Abschnitt

Diese Bereiche haben oft eine wesentliche strukturelle und genetische Konsequenz.

5'---UGUCAAAAUAUAUAACCGGGCAGGCCAUGUCUGCCCGUAUUU---3'



Transkription in Prokaryoten

Transkription:

RNA-Arten:

Im wesentlichen unterscheidet man drei RNA-Arten

Diese definieren sich sowohl über ihre Größe aber vor allem über ihre Funktion

Die drei RNA-Arten

	Größe (ungefähre Angaben)	Funktion
transfer-RNA (tRNA)	80–90 Nucleotide	Übertragung von Aminosäuren zum Proteinsynthese-Apparat der Zelle
ribosomale RNA (rRNA)	4 Arten (bei Eukaryoten) mit je ca. 120, 150, 1700, 3500 Nucleotiden	Struktur und Funktionselemente der Ribosomen
messenger-RNA (mRNA)	sehr verschieden (einige 100 bis über 10 000 Nucleotide)	die Boten-(messenger-)RNA überbringt dem Proteinsynthese-Apparat eine Abschrift des Gens

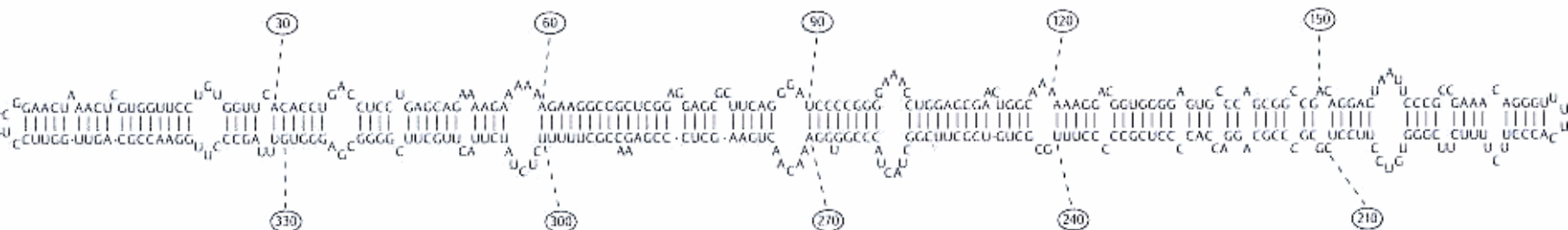
Transkription in Prokaryoten

Transkription:

Ringförmige RNA als Sonderfall:

Ringförmige RNAs sind in Form von Viroiden beobachtet.

- Deren Größe liegt bei ca. 360 Nucleotiden.
- Viroide sind Auslöser von Pflanzenkrankheiten,
- sie greifen in die mRNA-Synthese ein und beeinträchtigen die Funktionen von befallenen Zellen



Struktur des „Potato spindle tuber viroid“ (PSTV)

Transkription in Prokaryoten

Transkription:

Die Synthese von RNA, Transkription:

Voraussetzungen:

- Eine DNA-abhängige RNA-Polymerase,
- DNA als Matrize um kopiert zu werden,
- Ribonucleosid-Triphosphate (ATP, GTP, CTP, UTP)
- Temperatur (30-37°C, pH-Wert, Ionenstärke; Mg^{2+} ist essentiell)

Ablauf:

- Die RNA-Polymerase kopiert die Nucleotidfolge der DNA Matrize
- Uracil nimmt die stelle von Thymin ein
- Die Kettenverknüpfung erfolgt über das 3'-OH Ende durch Abspaltung des endständigen Pyrophosphats von Ribose-Triphosphat und der Bildung der Phosphodiester-Bindung

Transkription in Prokaryoten

Transkription:

RNA-Polymerasen in Bakterien:

Bakteriophagen besitzen zum teil einfache nur aus einer Peptidkette aufgebaute Polymerasen (T4, T7)

Bakterielle Polymerasen bestehen aus 5 Untereinheiten

Zwei α - eine β - und eine β' -**Untereinheit** bilden das **Core-Enzym**, für eine Korrekte und effiziente Transkription ist zusätzlich die σ -**Untereinheit** notwendig, Holoenzym

RNA-Polymerase von *E. coli*

Untereinheit	Zahl/Molekül	Molmasse [Da]
α	2	36512
β	1	150618
β'	1	155613
σ^*	1	70263

Transkription in Prokaryoten

Transkription:

Funktionen der RNA-Polymerase-Untereinheiten:

β -Untereinheit: Bindung der Nucleotide, Einleitung der RNA-Synthese, (Antibioticum Rifamycin bindet an β -Untereinheit und verhindert so den Start der Transkription)

β' -Untereinheit: Bindung des Enzyms an die DNA

α -Untereinheit: Formen ein Dimer und ermöglichen so das Anlagern der anderen Untereinheiten, halten Struktur des Enzyms zusammen.

σ -Untereinheit: Erkennt Startstellen der Transkription auf der DNA

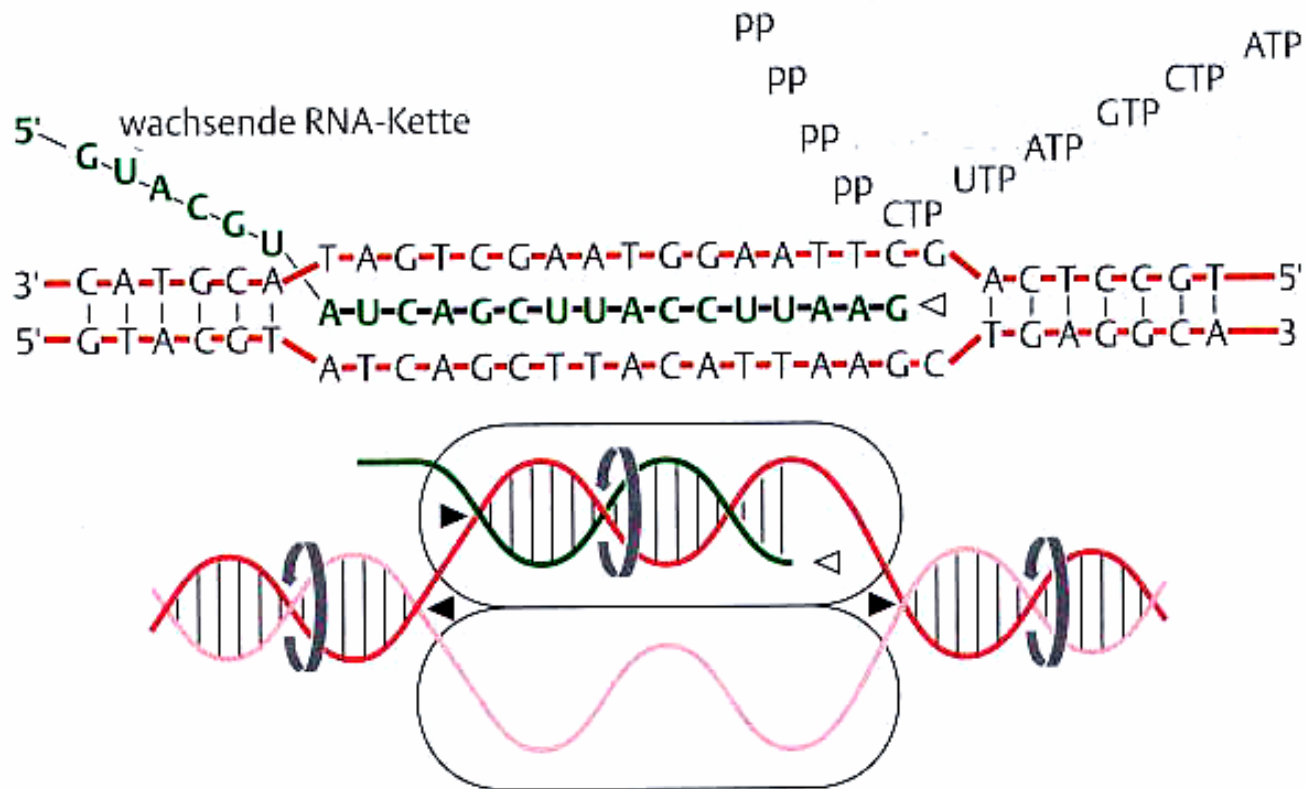
Promotoren

Transkription in Prokaryoten

Transkription:

Schematische Darstellung der RNA-Synthese:

Es sind komplexe Entwindungs- und Verwindungsvorgänge notwendig



Transkription in Prokaryoten

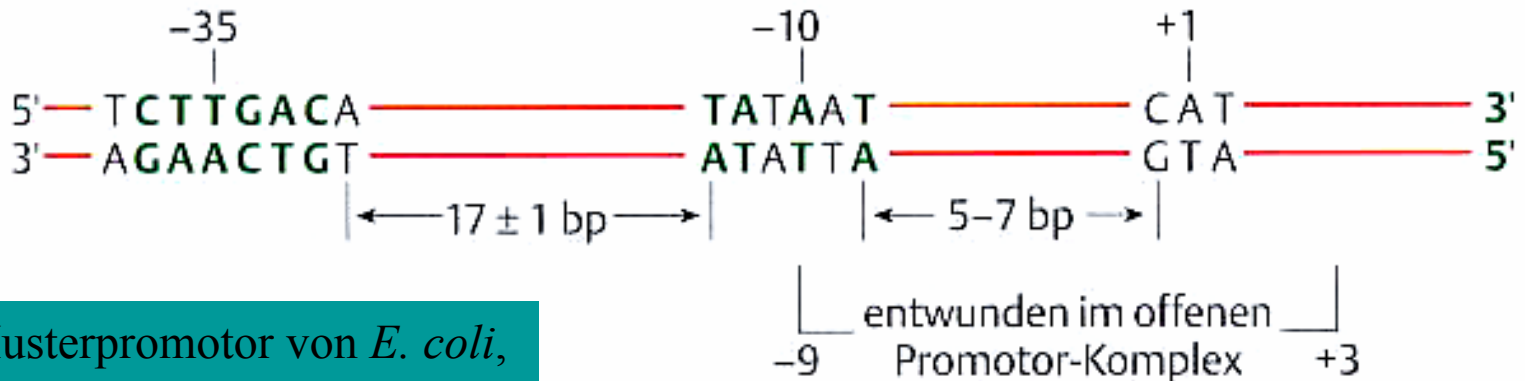
Transkription:

Der Anfang eines Gens; der Promotor:

Bestimmte Sequenzen am beginn eines Gens fungieren als Erkennungs- und Bindungsstellen für die RNA-Polymerase, diesen Bereich nennt man Promotor.

Ca. 10 Basen stromaufwärts des Synthesebeginns der RNA befindet sich die **Pribnow-** oder **TATA-Box** oder **-10-Region** (5'-TATAAT-3')

ca. 35 Basen stromaufwärts liegt die **-35-Region** innerhalb eines AT-reichen Bereichs (5'-TTGACA-3')



Musterpromotor von *E. coli*,
Konsensussequenz

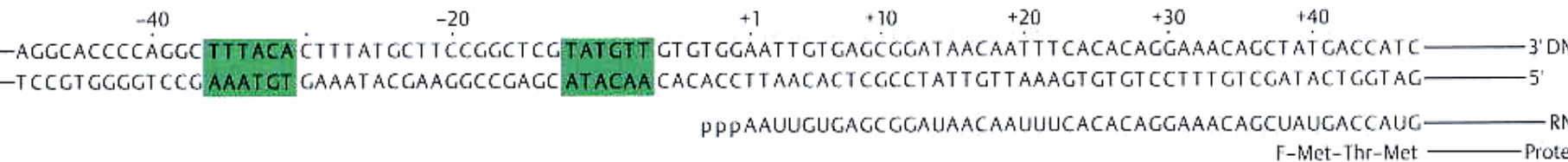
Transkription in Prokaryoten

Transkription:

Der Musterpromotor ist nur bedingt Vorgegeben:

Zusätzliche Regionen können regulatorisch wirken

z.b.: Das UP-Element eine AT reiche Region ca. 20 Basen stromaufwärts von der –35-Box



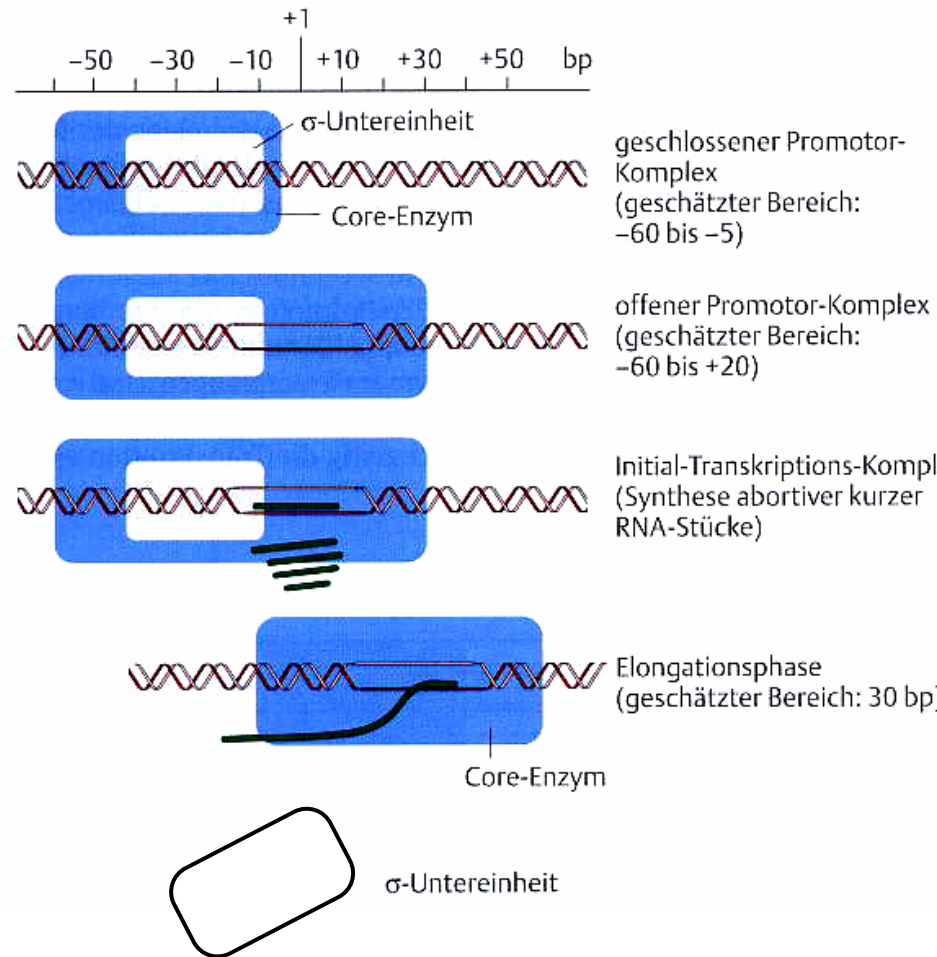
Die Nucleotid-Sequenz am Anfang der *lac*-Genfolge von *E. coli*

Transkription in Prokaryoten

Transkription:

Die Ereignisse am Promotor :

- Die RNA-Polymerase bindet an die DNA (schwache Bindung) und gleitet den Strang entlang.
- Die σ -Untereinheit erkennt im Verbund mit dem Holoenzym die -10 und -35 -Region; geschlossener Promotorkomplex
- Entwindung der Doppelhelix über 12 Basen, Konformationsänderung der Polymerase (ca. 80 Nucleotide sind bedeckt); offener Promotorkomplex
- Ribonucleosid-Triphosphate starten die Transkription, RNA-Stücke mit einer Länge bis zu 10 Nucleotiden werden synthetisiert Initial-Transkriptions-Komplex
- Wenn die RNA-Stücke über 12 Nucleotide lang werden geht der Initial-Transkriptions-Komplex in den Elongations-Komplex über, die σ -Untereinheit fällt ab und das Chor-Enzym verlässt den Promotor, Beginn der RNA-Synthese (ca. 30 Basen sind Bedeckt)

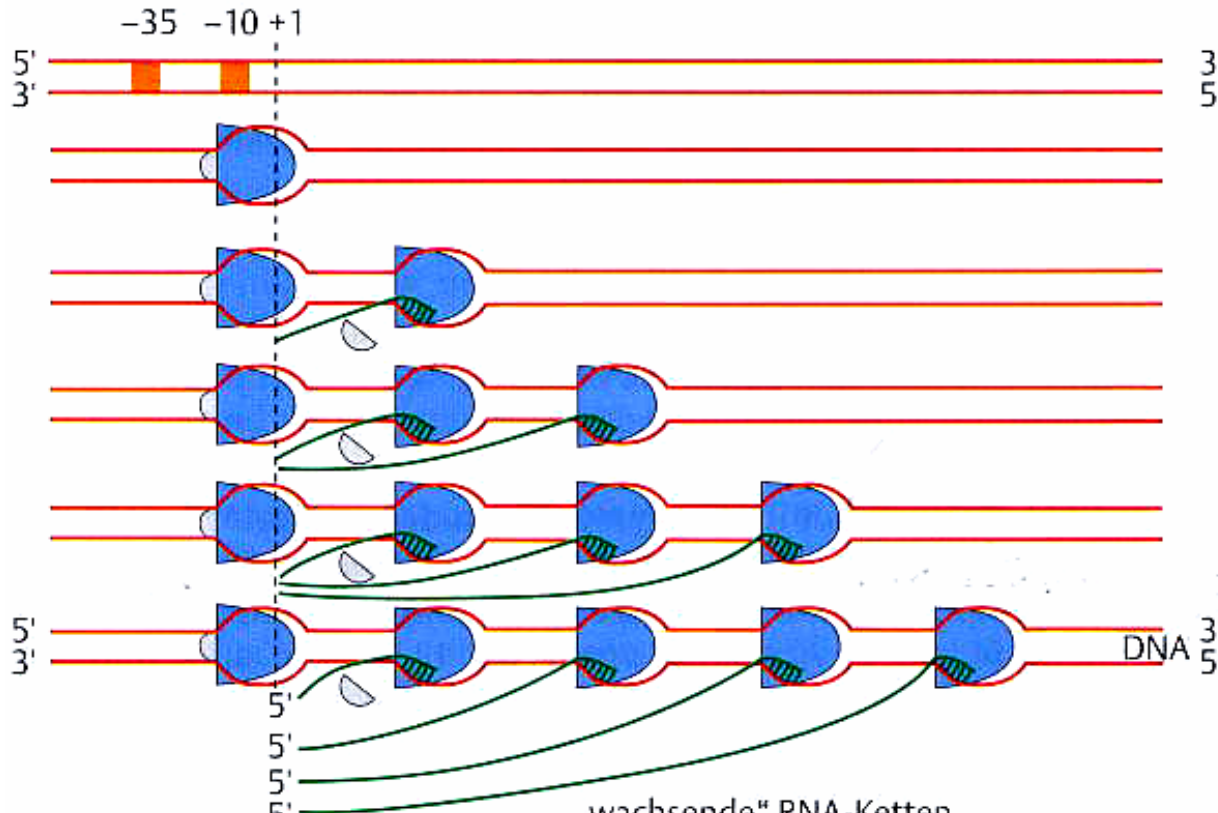


Transkription in Prokaryoten

Transkription:

Schema der Transkription:

- Initiation am Promotor (σ -Untereinheit),
- Abfallen des σ -Faktors führt zum verlassen des Promotors,
- Freigewordener Promotor wird neu besetzt



Transkription in Prokaryoten

Transkription:

Die Ereignisse am Promotor bestimmen die Häufigkeit der Transkription eines Gens:

Zwei Reaktionen spielen eine Rolle:

- **Die Bindung der RNA-Polymerase an den Promotor:**

Je mehr ein Promotor der Idealsequenz entspricht um so größer ist die Affinität der Polymerase zum Promotor, umso stärker ist der Promotor

- **Die Rate mit der die Polymerase den Promotor verlässt:**

Nur ein freier Promotor kann wieder eine Polymerase empfangen

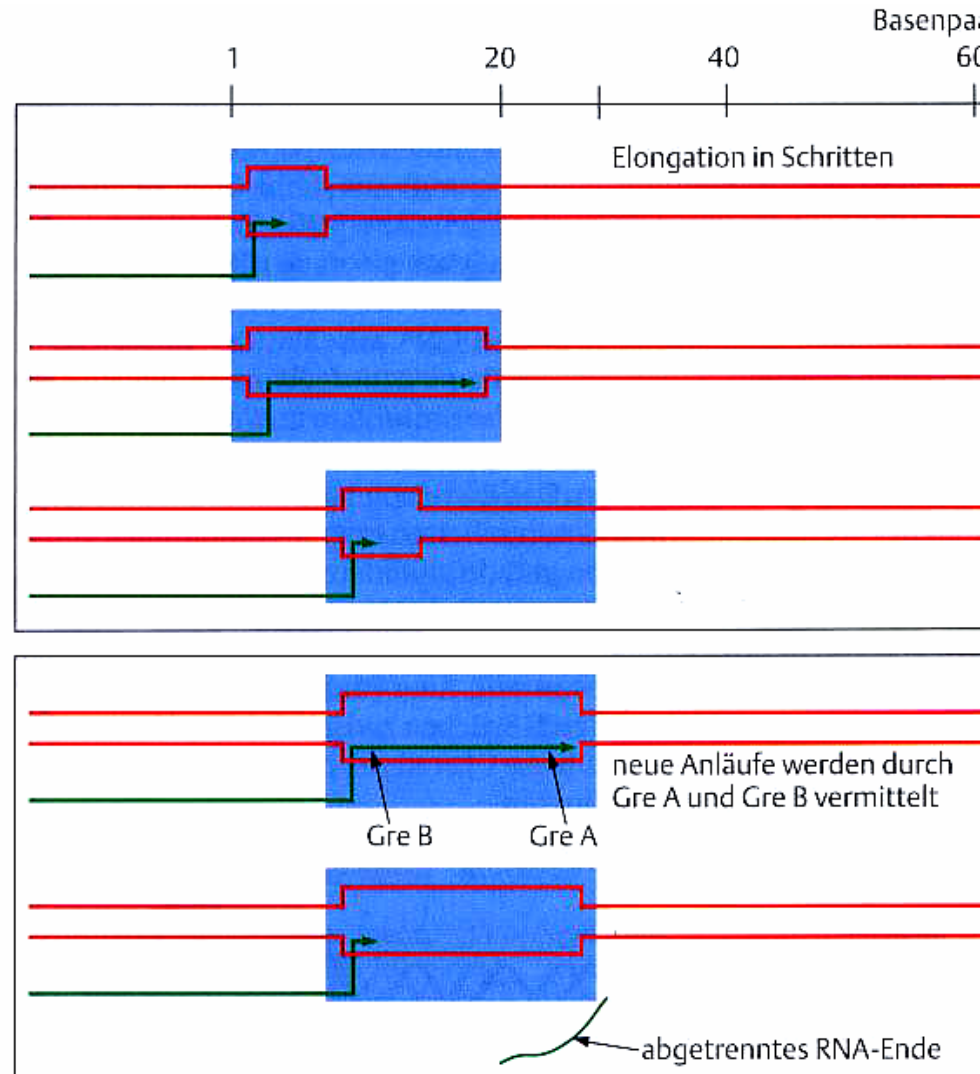
Ideal ist ein rasch freiwerdender starker Promotor

Transkription in Prokaryoten

Transkription:

Elongation, Verlängerung der RNA:

- Der Synthese-Bereich in der RNA-Polymerase enthält zu Beginn ein freies 3'-OH Ende.
- Nacheinander werden bis zu 10 Nucleotide angeheftet.
- Die RNA-Polymerase bewegt sich um ein entsprechendes Stück weiter auf der DNA (Translokation)
- Bei Stillstand binden die beiden Hilfsprotein GreA und GreB und aktivieren so eine Schneide-Aktivität.
- Bis zu 9 Nucleotide werden von der RNA abgetrennt.
- Ein Neustart der Synthese und Translokation kann erfolgen



Transkription in Prokaryoten

Transkription:

Das Ende eines Transkriptionsschrittes:

Das Ende eines Transkriptionsabschnitts bezeichnet man als **Terminator**

Die einfache Termination:

Wird durch eine spezielle Sequenz in der DNA bzw. RNA bestimmt

Nach dem Ende des Kodierungsabschnitt (UAA) folgt eine Folge von **GC-Wiederholungen** und einem anschließenden Block von Adeninresten.

Die über GC-Paarung ausgelöste **Sekundärstruktur (Schleife von 3-8 Nucleotiden)** lagert sich an den RNA-Synthesebereich und führt so zum Zerfall des DNA-RNA-Polymerasekomplexes

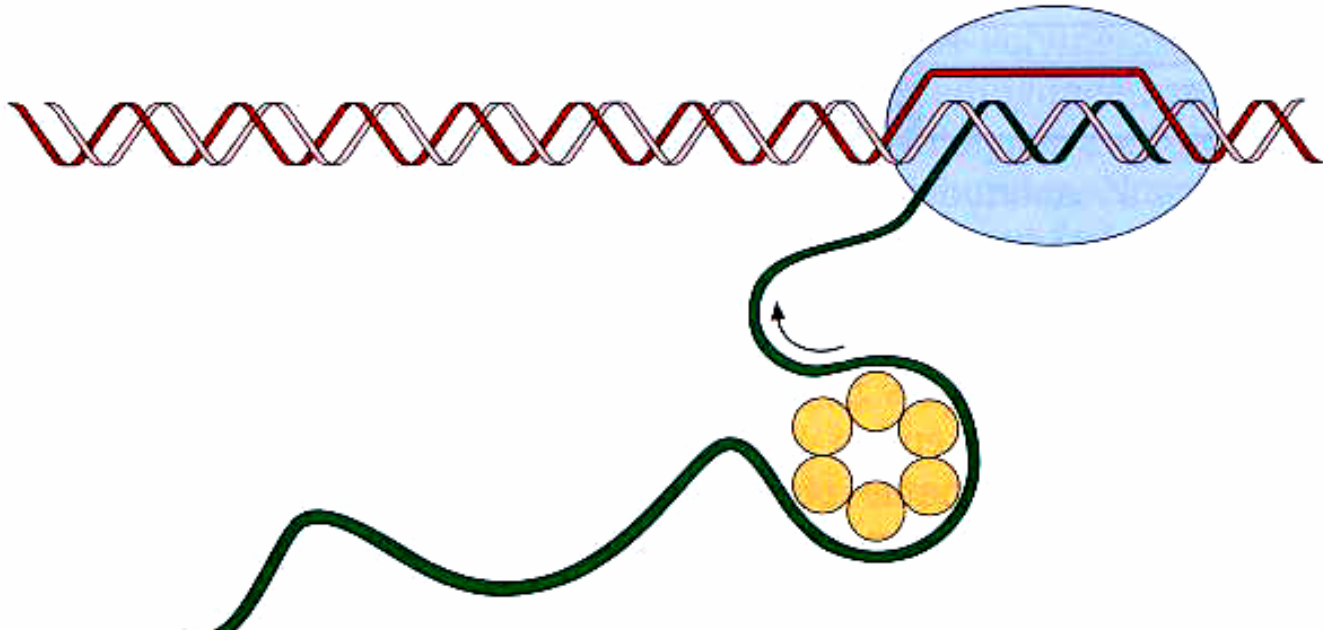


Transkription in Prokaryoten

Transkription:

Die Rho-abhängige Termination:

- Der Rho-Faktor (besteht aus 6 identischen Untereinheiten) bindet an die gebildete RNA in der Nähe des Terminators.
- Unter ATP-Verbrauch wird die Ablösung der RNA vom DNA-Enzymkomplex vermittelt.
- Die Wasserstoffbrücken zwischen dem DNA-RNA Komplex werden durch eine Helikase-Funktion des Rho-Komplexes vermittelt.

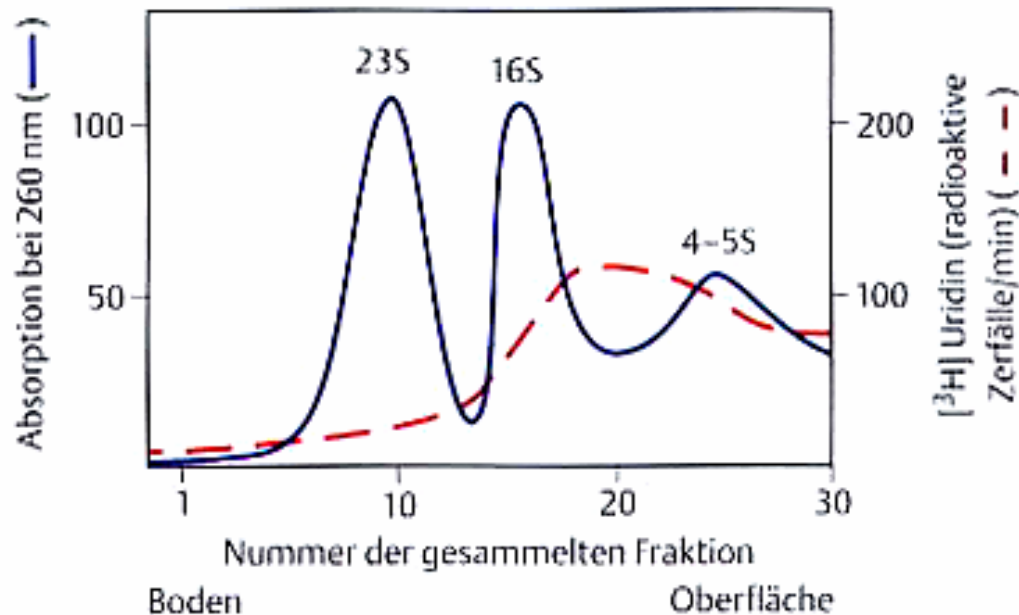


Transkription in Prokaryoten

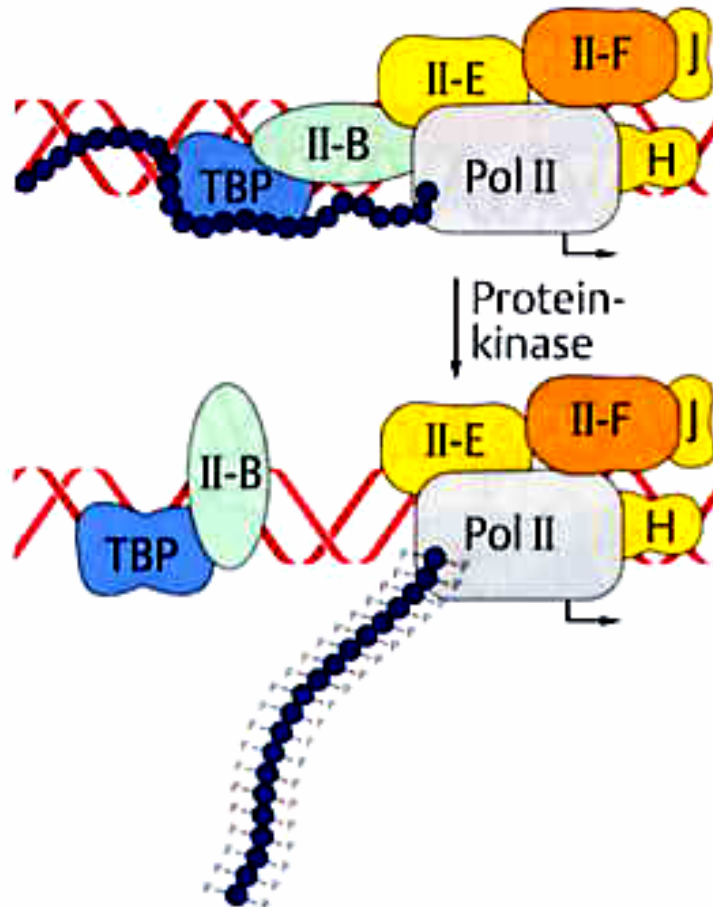
Transkription:

Stabilität und Verteilung von RNA:

- Geschwindigkeit der RNA Synthese 30-60 Nucleotide pro Sekunde
- Verteilung: 5-10% mRNA (>1000 Unterschiedliche), 75-80% rRNA (max. 7), Rest tRNA (max. 50)
- tRNA und rRNA sind stabiler, bleiben länger erhalten
- mRNA halbwertszeit von 0,2-2 Minuten (hohe Flexibilität)



Transkription in Eukaryoten



Transkription in Eukaryoten

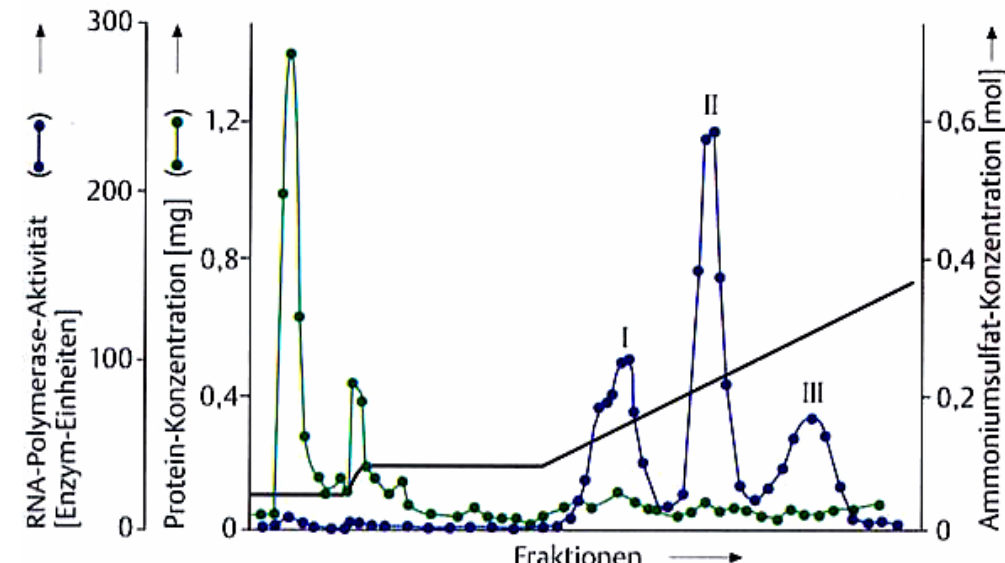
Transkription, eukaryontische RNA-Polymerasen:

Alle Eukaryonten besitzen in ihrem Zellkern drei unterschiedliche RNA-Polymerasen:

RNA-Pol I: Transkription der Gene für rRNAs (28S, 18S und 5,8S rRNA)

RNA-Pol II: Transkription der für Proteine kodierenden Gene (mRNA)

RNA-Pol III: Transkription der Gene für die 5S rRNA, für tRNAs und für andere kleine RNAs



Eukaryotische RNA-Polymerasen

RNA-Polymerase	hemmbar durch α -Amanitin?
Pol I	nein
Pol II	ja, und zwar schon bei niedrigen Konzentrationen (von 10^{-9} – 10^{-8} M)
Pol III	ja, aber erst bei hohen Konzentrationen (von 10^{-5} – 10^{-4} M)

Transkription in Eukaryoten

Transkription, eukaryontische RNA-Polymerasen:

RNA-Polymerasen von Eukaryonten sind aus vielen Untereinheiten aufgebaut:

Manche der Untereinheiten werden von allen drei Holoenzymkomplexen genutzt.

Die Funktion der **größten Untereinheit** ist die Bindung an die DNA.

Die **zweitgrößte Untereinheit** bindet die Nucleotide.

Die **drittgrößte Untereinheit** übernimmt eine Stabilitätsfunktion.

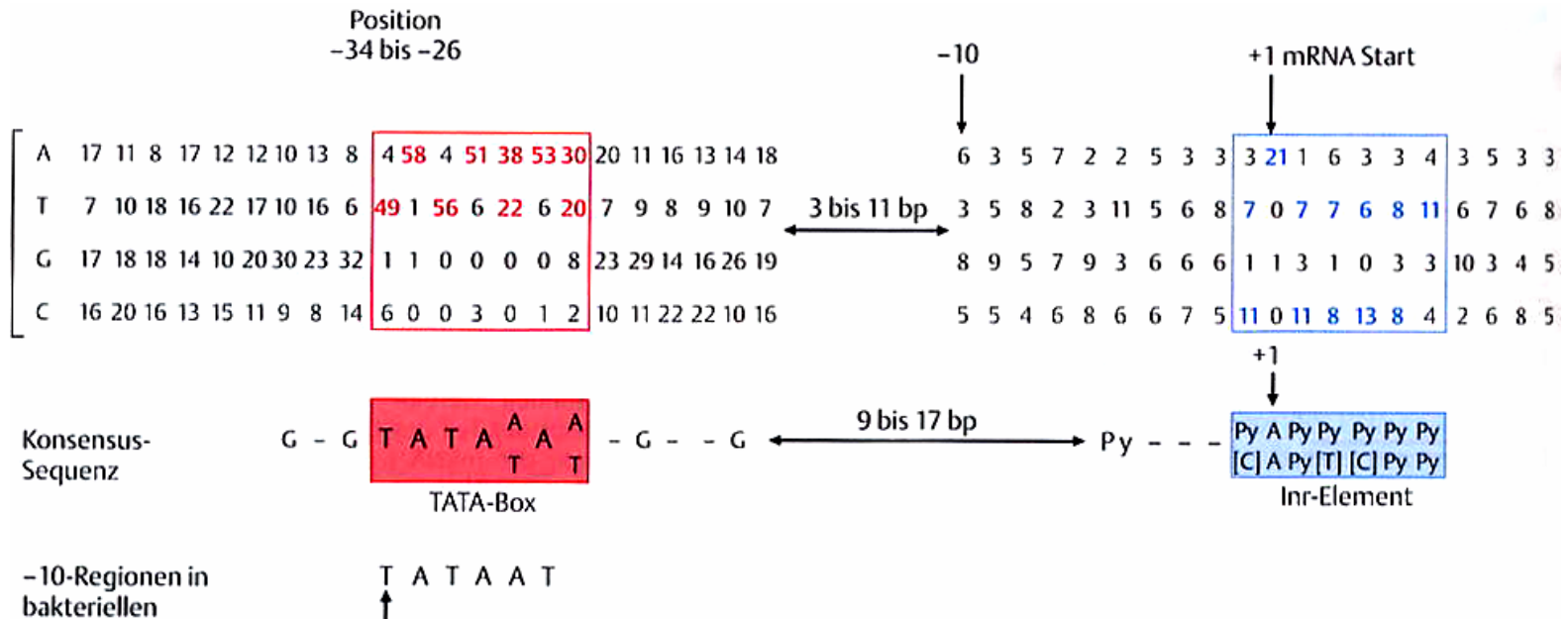
Untereinheiten der eukaryotischen RNA-Polymerasen

Pol I	Pol II	Pol III	
190	220	160	} die beiden großen Untereinheiten
135	150	128	
		82	
49			
43		53	
40	44,5	40	
		37	
34,5	32	34	
		31	
27	27	27	
23	23	23	
19	16	19	
14,5	14,5	14,5	
14			
	12,6		
12,2		11	
10	10	10	

Transkription in Eukaryoten

Pol II abhängige Transkription; Promotoren, Transkriptions-Faktoren, TATA-Box, Inr-Element

- RNA-Polymerasen Starten an definierten Stellen der DNA den s.g. **Promotoren**.
- Zur geordneten Transkription sind zusätzlich **Transkriptionsfaktoren** notwendig.
- Promotoranalysen (Untersuchungen der Sequenzen um einen Transkriptionsstartpunkt, **tsp**):
- Die meisten Transkribierten Abschnitte beginnen mit einem A, dieses Startnucleotid liegt meist in einer Pyrimidin-reichen Region (Initiator, **Inr**)
- Im Bereich -29 bis -34 vom tsp entfernt liegt die **TATA-Box**
- Wenige weitere gemeinsame Strukturen in eukaryontischen Promotoren



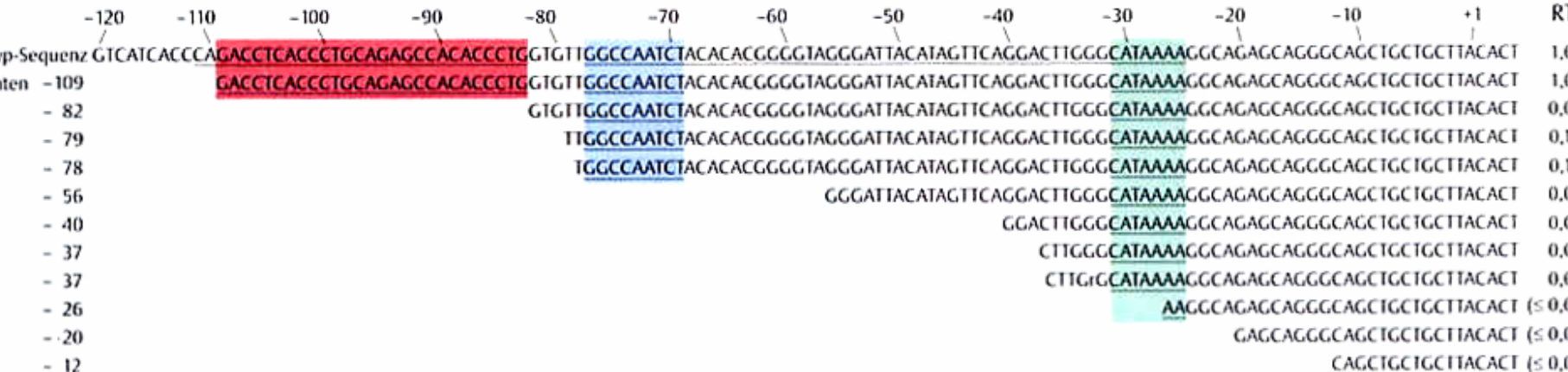
Transkription in Eukaryoten

Pol II abhängige Transkription; Promotoren, Enhancer:

Durch Verkürzung von 5'-regulatorischen Bereichen von Genen können Regulator-Elemente identifiziert werden.

Generelle Upstream-Elemente, Enhancer (verstärkend wirkende Elemente)

deletionen



Transkription in Eukaryoten

Pol II abhängige Transkription; Promotoren, Enhancer:

Punktmutationen schränken die Funktion einzelner Elemente auf die Base genau ein:

Nucleotidaustausch-Mutationen

		-70	RT
normal	5' - G G C C A A T C T - 3'		1,0
Mutanten	5' - G G C C A A T C C - 3'		1,3
	5' - G G C C G A T C T - 3'		0,12
	5' - G G C T A A T C T - 3'		0,12
	5' - G G T C A A T C T - 3'		0,24

		-30	
normal	5' - C A T A A A A - 3'		1,0
Mutanten	5' - C A T A A G A - 3'		0,5
	5' - C A T A G T A - 3'		0,2

Transkription in Eukaryoten

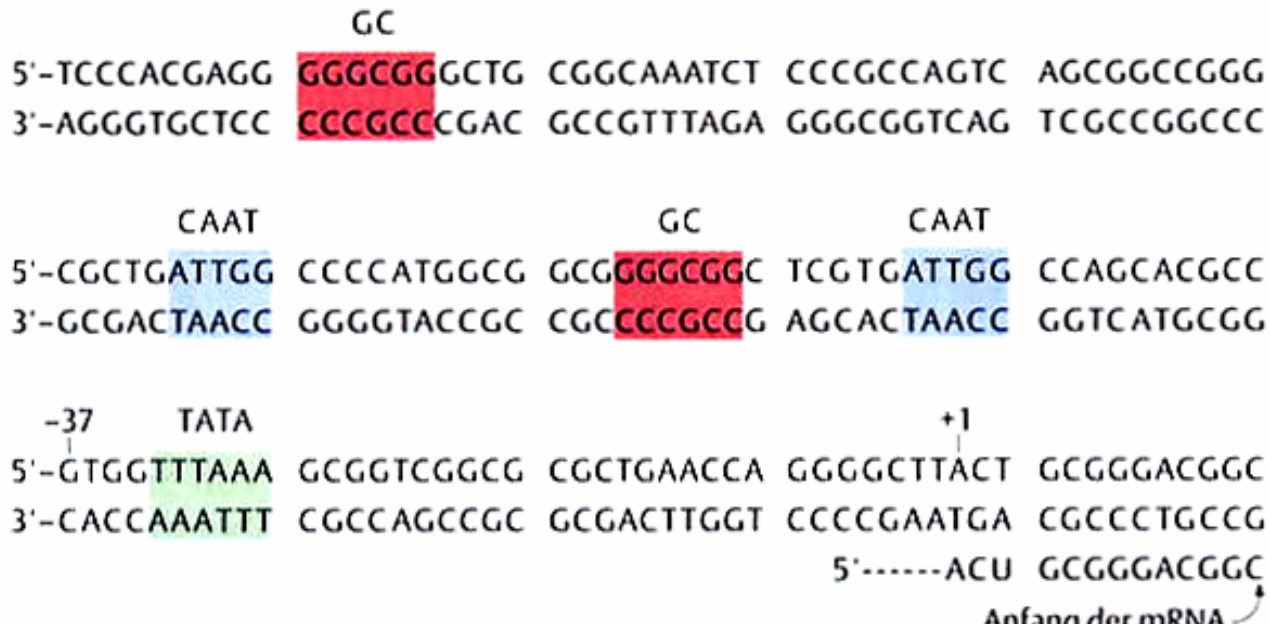
Pol II abhängige Transkription; Promotoren, Enhancer:

Wesentliche generelle Elemente eines eukaryontischen Promotors:

TATA-Box: Hat kein strikt festgelegtes Motiv sondern besteht aus unterschiedlichen Folgen von Adenin und Thymin Bausteinen.

CCAAT-Elemente: Können in doppelter bzw mehrfacher Ausführung auf beiden Strängen vorkommen.

GC-Boxen: Kommen ein oder mehrfach in beiden Orientierungen im Promotor vor.



Transkription in Eukaryoten

Transkription, Haushaltsgene:

Haushaltsgene weichen von der Promotorgrundstruktur ab:

- Besitzen ein **Inr-Element** im Bereich des Transkriptionsstarts
- **TATA-Boxen fehlen**, da diese den Transkriptionsstartpunkt festlegen weisen Haushaltsgene oft mehrere Transkriptionsstartpunkte auf.
- Ein ungewöhnlich hoher Anteil an GC-Basenpaaren ist zu beobachten, daraus resultiert das häufige vorkommen von **GC-Boxen**
- Häufig sind ebenfalls die Nucleotidfolgen **CpG** (CpG-Inseln), derartige Folgen sind oftmals methyliert (5-Methylcytosin) in der DNA dies gilt aber nicht für Haushaltsgene.
- Die Cytosin-Methylierung spielt eine Rolle bei der Expression dieser Gene.

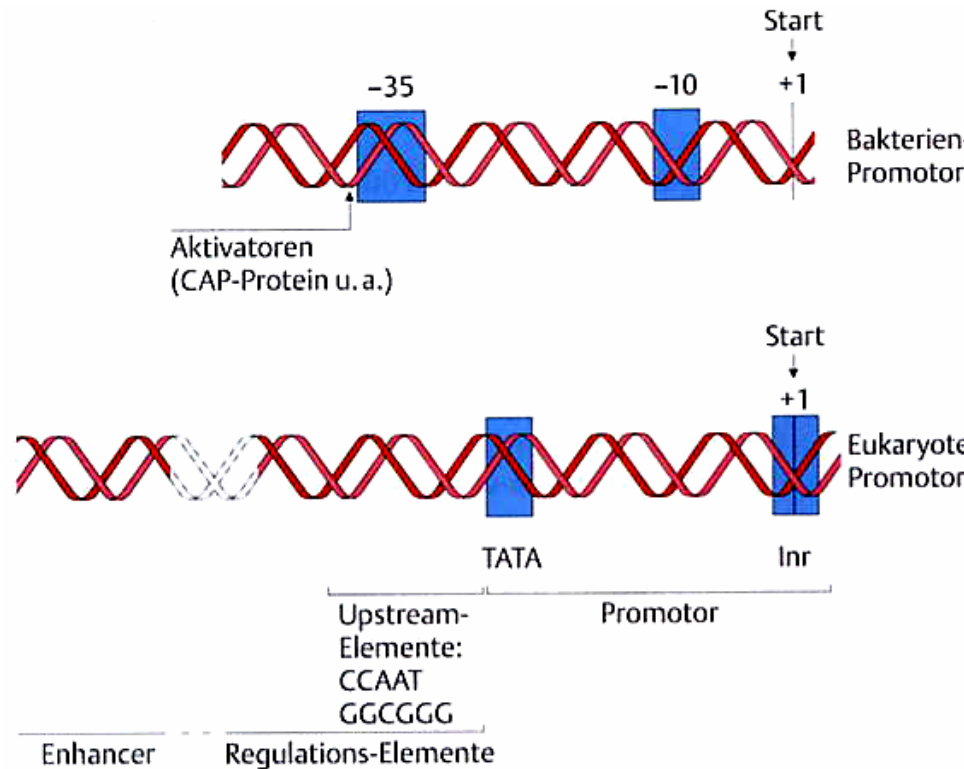
CGTCTGCGGGCGCGAGCACGCCGCGACCTGCGTGCGCCGGGGCGGGGGGGCGGGGCGCTCGCCTGCACAAATAGGGACGAGGGGGCGGGCGGCCACAA
GGGGGCTCCGGCGAGAGGGCGGGCCCCCGGAACGGCGCGGGCGGGGGCGGGAGGCGGGGCCCCGCCCCGTTAAGAAGAGCGTGGCCGGCCCGCGGCCACCG
GGGCGCGCCGAGAGCAGCGGCCGGGAAGGGGCGGTGCGGGAGGCGGGGTGTGGGCGGTAGTGTGGGCCCTGTTCTGCCCCGCGCGGTGTTCCGCATTC
GGCCGGGGGGCGGGGCGCTGCGGGGCGTGGCGGGGCGGGCAGAGGGCGGGGCGCTGCTTCTCCTCAGCTTCAGGCGGCTGCGACGAGCCCTCAGGCGAACT

Transkription in Eukaryoten

Transkription, Promotoren in Pro- und Eukaryonten:

Promotoren in Eukaryonten:

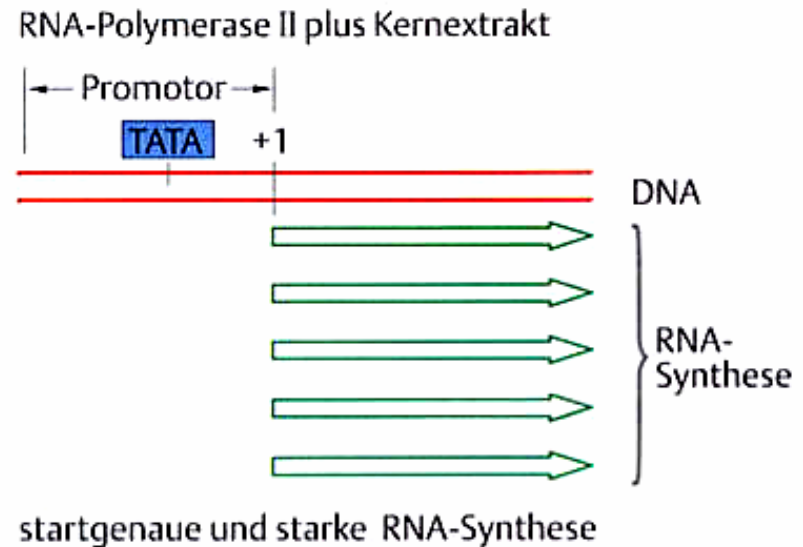
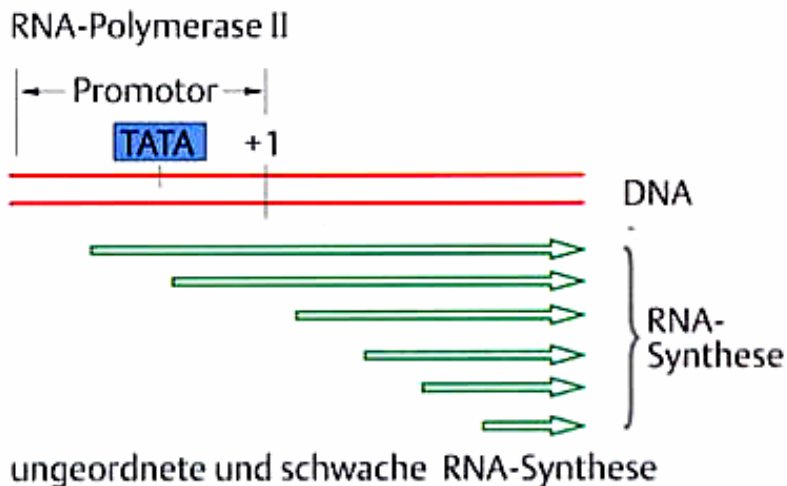
- Im Gegensatz zu bakteriellen und viralen Promotoren weisen eukaryontische Promotoren **stark variable Strukturen** auf.
- Neben den wenigen **Grundelementen** (Inr, TATA, GGCGGG, CCAAT Upstream Elementen) gibt es eine Vielzahl weiterer regulatorischer Elemente.
- Diese Elemente liegen nicht unbedingt in unmittelbarer Nähe zu den Grundelementen.
- Sowohl **reprimierende** als auch **induzierende** Elemente werden beobachtet
- **Enhancer:** Aktivierende Elemente in oft großer Entfernung zum Transkriptionsstartpunkt .



Transkription in Eukaryoten

Transkription, Transkriptionsfaktoren:

- Zusätzlich zur RNA-Polymerase II sind **weitere Faktoren** notwendig um eine **startgenaue und starke RNA-Synthese** zu gewährleisten.
- Diese Faktoren sind **Transkriptionsfaktoren** notwendig, diese binden entweder an die regulatorischen **DNA-Elemente** und/oder treten mit anderen Transkriptionsfaktoren und/oder der Pol II in **Interaktion**



Transkription in Eukaryoten

Transkription, allgemeine Transkriptionsfaktoren:

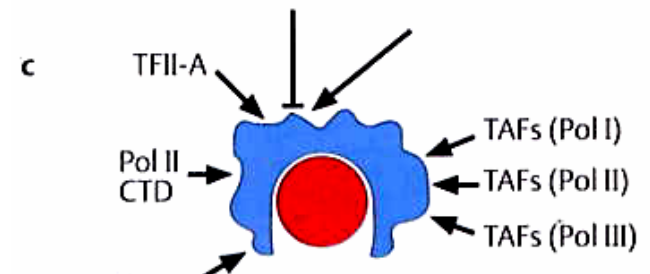
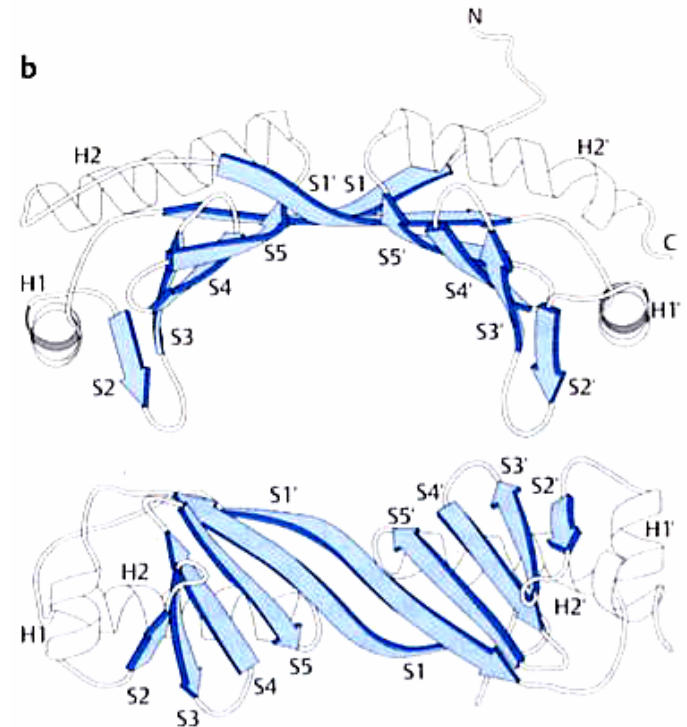
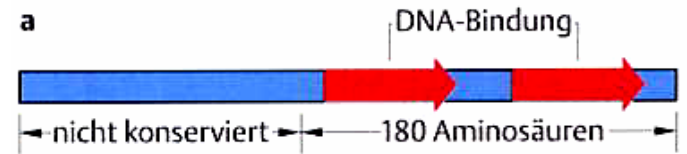
Neben der RNA-Polymerase sind eine Vielzahl von Proteinen beteiligt den Transkriptionskomplex aufzubauen und eine korrekte und starke Transkription einzuleiten:

Das **TFII-D Protein** spielt eine wesentliche Rolle beim Aufbau des Transkriptionskomplexes, ein zentraler Baustein ist das TATA-Bindende-Protein **TBP**.

TBP wird auch für die Expression von TATA-Box freien Genen sowie für die Funktion von Pol I und Pol III benötigt

TBP besteht aus 2 Domänen:

N-Terminal ein nicht konservierter Bereich,
Interaktion mit Regulatorischen Proteinen
C-Terminal ein hochkonservierter Bereich,
vermittelt die DNA-Bindung



Transkription in Eukaryoten

Transkription, allgemeine Transkriptionsfaktoren der RNA-Polymerase II:

Übersicht über die Transkriptionsfaktoren für den RNA-Polymerase Komplex und deren Funktionen.

Dieser Komplex wird auf allen Genen ausgebildet und ist damit nicht für eine spezifische Regulation der Genexpression verantwortlich.

Allgemeine Transkriptions-Faktoren.

(TFII = Transkriptions-Faktoren für RNA-Polymerase II). Angaben nach [21, 31]

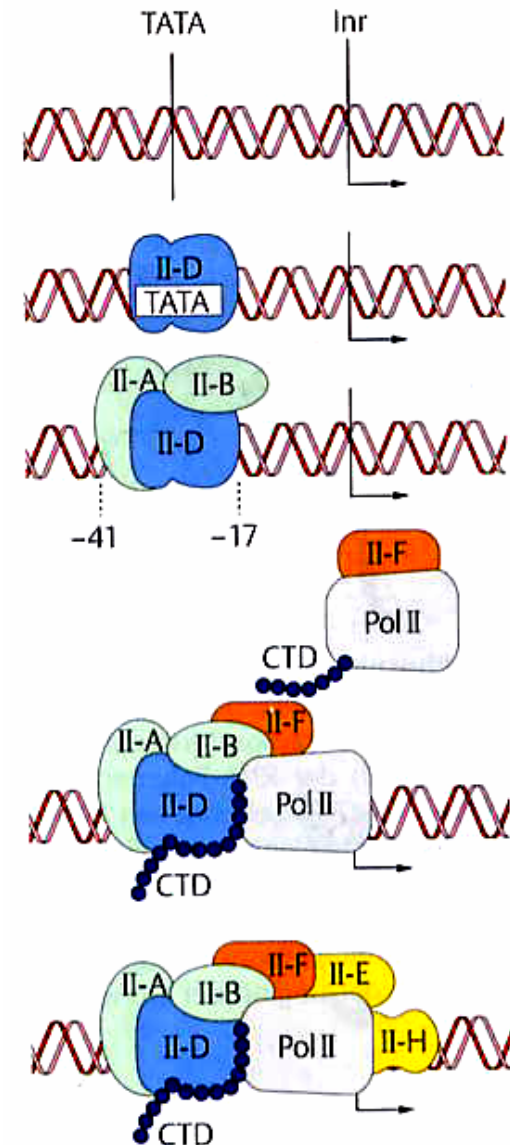
Bezeichnung	Bausteine	Funktion
TFII-D	TATA-Bindeprotein (TBP; 38 kDa) mehrere TBP-assoziierte Faktoren (TAF)	durch Bindung an das TATA-Element wird die Ausbildung des Initiations-Komplexes eingeleitet; Beugung der DNA Wechselwirkung mit aktivierenden und hemmenden Faktoren
TFII-A	drei Untereinheiten (12 kDa; 19 kDa; 35 kDa)	Stabilisierung der Bindung von TFII-D
TFII-B	eine Untereinheit (35 kDa)	fördert die Bindung der RNA-Polymerase II an den Promotor
TFII-F	zwei Untereinheiten (RAP 30; RAP 74)	RNA-Polymerase-assoziierte Proteine: leitet die RNA-Polymerase an den Promotor
TFII-E	zwei Untereinheiten (57 kDa; 34 kDa)	fördert die Bindung und die Funktion des Faktors TFII-H
TFII-H	neun Untereinheiten hierzu gehören: 89 kDa 80 kDa 40 kDa 38 kDa	entwindet die Promotor-DNA mittels DNA-Helikasen phosphoryliert den CTD-Anteil der RNA-Polymerase II 3'-5'-Helikase (XPB) 5'-3'-Helikase (XPD) Cyclin-abhängige Proteinkinase (CDK7) Cyclin H
TFII-I	eine Untereinheit (120 kDa)	fördert die Bindung von TFII-D an Inr in TATA-losten Promotoren

Transkription in Eukaryoten

Transkription, der Initiationskomplex:

Der schrittweise Zusammenbau des Initiationkomplexes:

- **TFII-D** tritt an die TATA-Box
- **TFII-A** und **B** werden gebunden. TFII-B schafft durch sein Binden die Voraussetzung für das Anlagern von Pol II
- **TFII-F** geht eine Bindung mit Pol II ein und ermöglicht so das Niederlassen auf der TFII-D und B Plattform
- Weitere Bindungsproteine stabilisieren den Komplex
- Die Sonderstellung von **TFII-H**, Startsignale:
 - Wenn eines der Untereinheiten eine **Proteinkinase** enthält dass das 3'-Ende von Pol II phosphoryliert löst sich Pol II von der TFII-B, D- Plattform.
 - Trägt TTFII-H eine **Helikase** so beginnt die Entwindung der DNA und die RNA-Syntese startet.

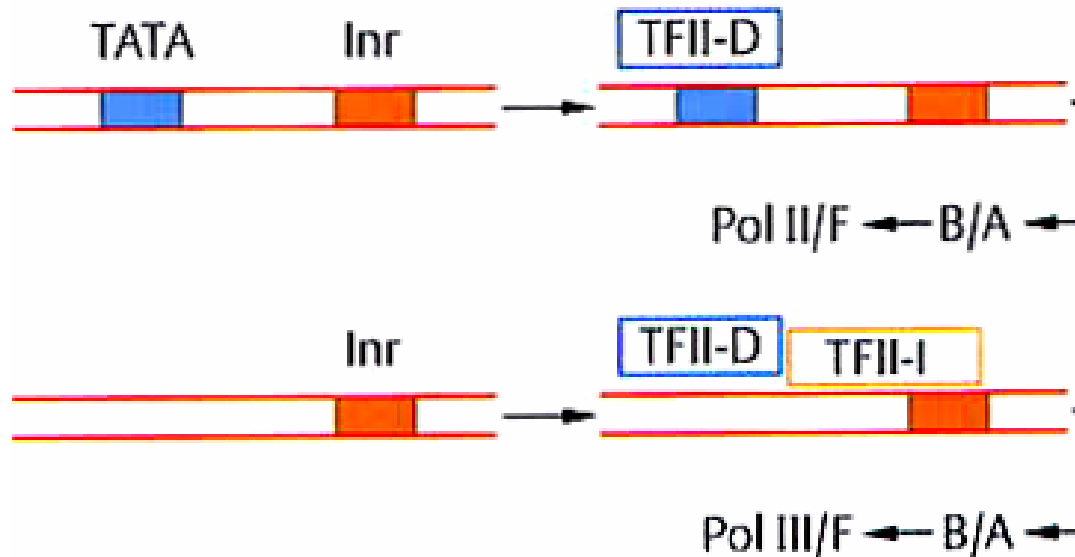


Transkription in Eukaryoten

Transkription, der Initiationskomplex:

TATA-Box freie Promotoren initiieren den Transkriptionskomplex mit durch TFII-I:

TFII-I bindet an das Inr-Element und dirigiert so TFII-D an die passende Stelle. Der aufbau des Initiationskomplexes kann beginnen.

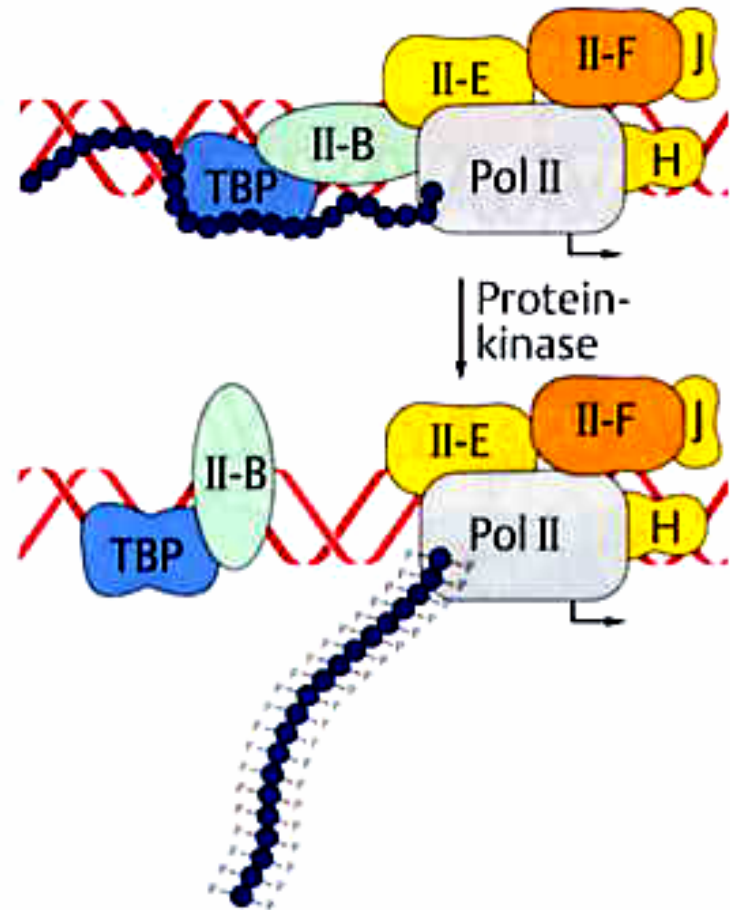


Transkription in Eukaryoten

Transkription, der Initiationskomplex:

Starten der Pol II Aktivität:

- Das C-Terminale Ende von Pol II besteht aus zahlreichen Wiederholungen von sieben Aminosäuren.
- Bei aktiven Pol II ist dieses Ende stark phosphoryliert, ruhende Polymerasen sind dephosphoryliert.
- Nur dephosphorylierte Polymerasen können mit TBP Kontakt aufnehmen.
- Nach dem Docken phosphoryliert TFII-H die Polymerase.
- Die Polymerase startet mit der Transkription und gleitet den DNA-Strang entlang.
- Der zurückbleibende Initiationskomplex (TBP, TFII-B) kann eine neue Polymerase aufnehmen.



Transkription in Eukaryoten

Transkription, weitere Promotorgrundelemente:

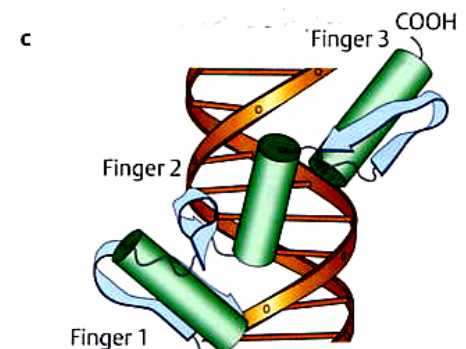
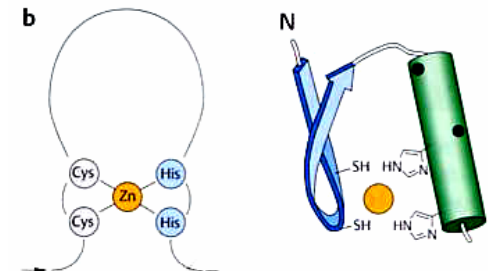
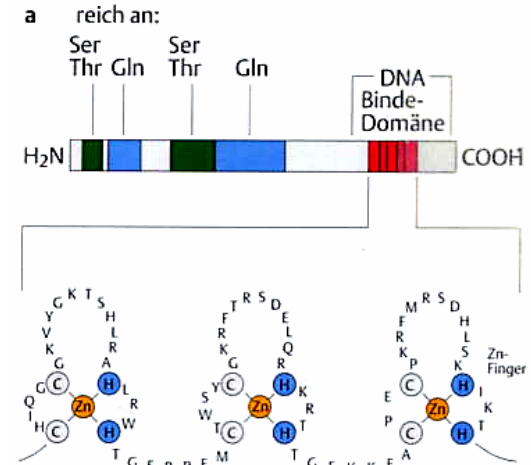
SP1, das GC-Box bindende Protein:

SP1 besteht aus zwei Domänen;

- Die **DNA-Bindungsdomäne** ist aus drei hintereinander folgenden Aminosäuresequenzen aufgebaut die am Begin zwei kurz aufeinander-folgende Cystein- und am Ende zwei Histidin-Resten aufweisen. Diese Aminosäuren können ein Zinkion binden und so eine Besondere Proteinstruktur hervorrufen (**Zinkfinger, C2H2**). Die α -Helix des Zinkfingers legt sich in die große Furche der DNA und ermöglicht die Interaktion.

- Die Aktivierungsdomäne wird durch Phosphorylierung aktiviert und fördert den Aufbau des Initiationskomplexes.

- In Haushaltsgenen hilft SP1 bei der richtigen **Positionierung von TFII-D**



Transkription in Eukaryoten

Transkription, weitere Promotorgrundelemente:

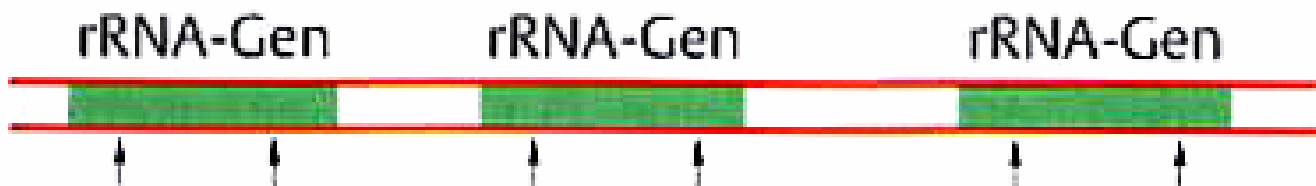
CCAAT-Box Bindungsproteine:

- CCAAT-Box Bindungsproteine sind nicht so einheitlich und konserviert wie Sp1
- Deren Funktion kann im Bereich der **Promotor-Grundfunktionen** liegen.
- Es wurden jedoch auch **spezifische regulatorische Aufgaben** beobachtet.
- Ein teil der CCAAT-Box Bindungsproteine spielt eine wesentliche Rolle bei der Organisation der **Nukleosomenstruktur am Promotor.**
- Generell kann gesagt werden dass das sehr einheitliche Bindungselement durch die Bindung unterschiedlicher Faktoren in verschiedensten Organismen bzw. Geweben unterschiedliche Funktionen ausüben kann.

Transkription in Eukaryoten

Transkription, RNA-Polymerase I:

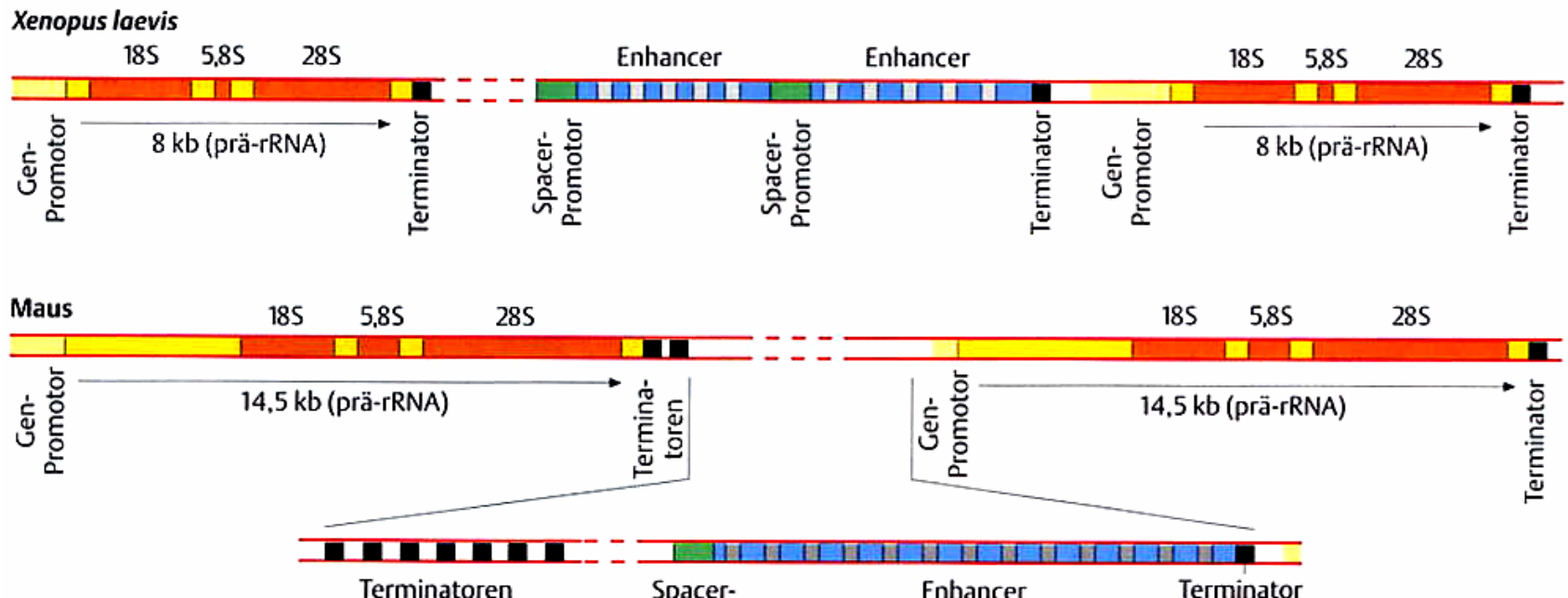
- **Pol I** synthetisiert die **großen rRNA-Arten**
- Ca. **80 % der gesamt RNA** einer Zelle ist rRNA, verteilt auf 1-2 Millionen Ribosomen in einer Zelle.
- Bis zur Zellteilung muss diese Menge verdoppelt werden, rRNA Gene sind daher hoch transkribierte Systeme und liegen in **mehreren Kopien** (z.B.: Säugetiere haben 100-200 Kopien) unterbrochen durch **Spacer-Regionen** (zwischen 1000 und 10000 bp lang) im Genom vor.
- Die Transkription beginnt an definierten Stellen im Genom (rRNA-Promotoren)
- Es entsteht ein primäres Transkriptionsprodukt (**prä-rRNA**) das alle drei großen RNAs einschließt (18S, 5,8S, 28S), wird nach der Synthese in die **reifen RNAs** zerlegt
- Die transkribierten Teile sind gleich, die Spacer sind unterschiedlich groß.



Transkription in Eukaryoten

Transkription, Struktur der rDNA-Gene:

- Die **Transkriptionseinheit** beginnt mit einem **Promotor** und endet mit einem **Terminator**
- **Spacer-Promotoren**: Die Pol I kann von ihnen mit geringer Effizienz starten Terminatoren verhindern den Übertritt in die eigentliche Transkriptionseinheit.
- Die Funktion der Spacer-Promotoren ist unbekannt.
- Die Übrigen Sequenzwiederholungen dienen als **Enhancer** (10x Verstärkung)
- Wirkungsweise entweder als Ladeflächen für Transkriptionsfaktoren oder für Pol I selbst

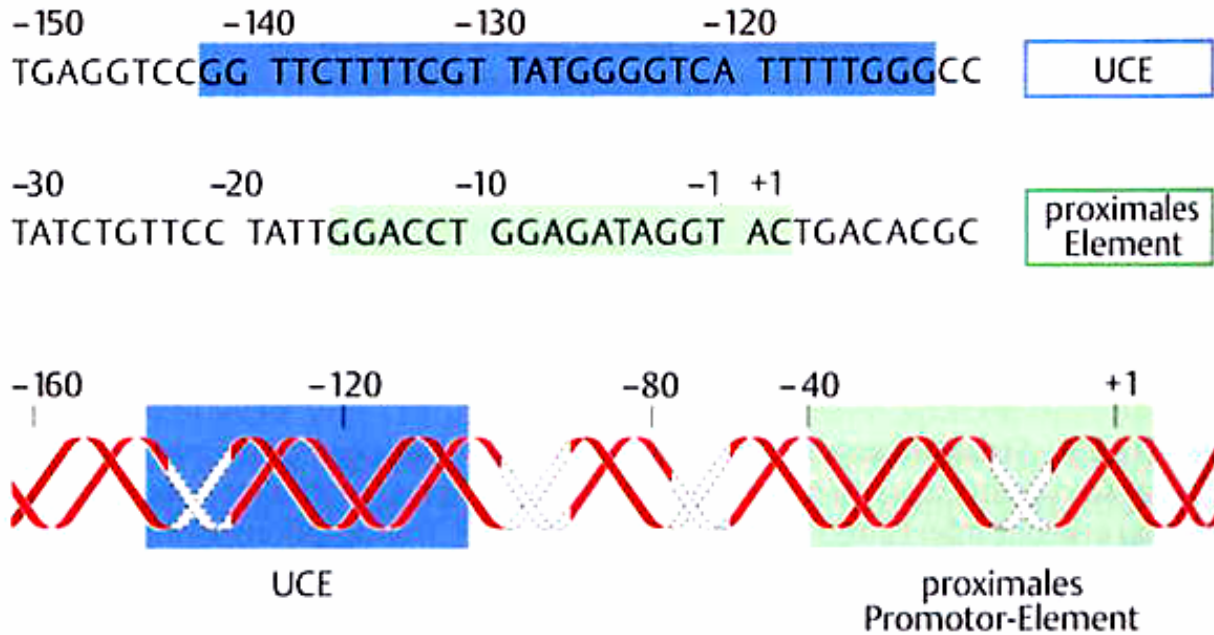


Transkription in Eukaryoten

Transkription, rRNA-Gene Promotor und Transkriptionsfaktoren:

Der Promotor von rRNA-Genen besteht im wesentlichen aus zwei Elementen:

- Dem **proximalen Promotorelement** und dem **UCE** (*upstream control element*)
- Das proximale Element ist unerlässlich, das UCE verstärkt die Aktivität
- An beide Elemente bindet der Faktor **UBF** (*upstream binding factor*)



Transkription in Eukaryoten

Transkription, rRNA-Gene Promotor und Transkriptionsfaktoren :

UBF enthält vier Blöcke von 90 Aminosäuren die dem HMG1 Chromatin-Protein ähnlich sind (HMG-Boxen). Sie sind für die **Bindung** des Proteins an die DNA verantwortlich.

Die **Saure Domäne** aktiviert die Transkription, die **Serine** in diesem Abschnitt können durch **Phosphorylierung** modifiziert werden.

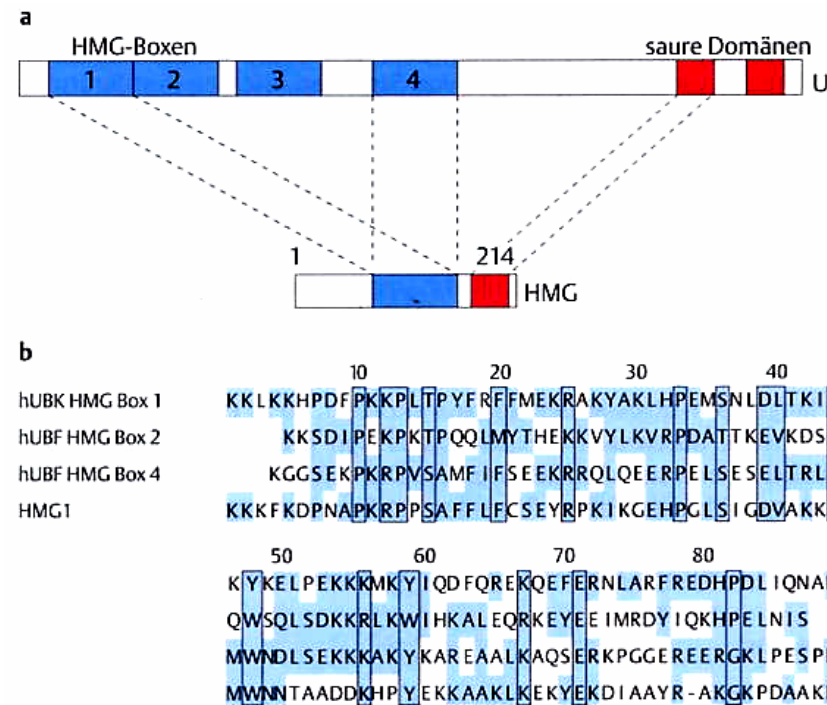
UFB wirkt mit **TIF-IIB** (Transkriptions-Initiationsfaktor der RNA-Polymerase I) auch als **SL1** bezeichnet zusammen.

SL1 ist ein Komplex aus dem TATA-Bindeprotein (**TAB**) und drei assoziierten Faktoren. **TAB** hat die Funktion einer Zentralen Komponente die die **Verbindung** zwischen **UBF** und der **Pol I** vermittelt.

UBF und **SL1** bilden die **Plattform** für **Pol I**.

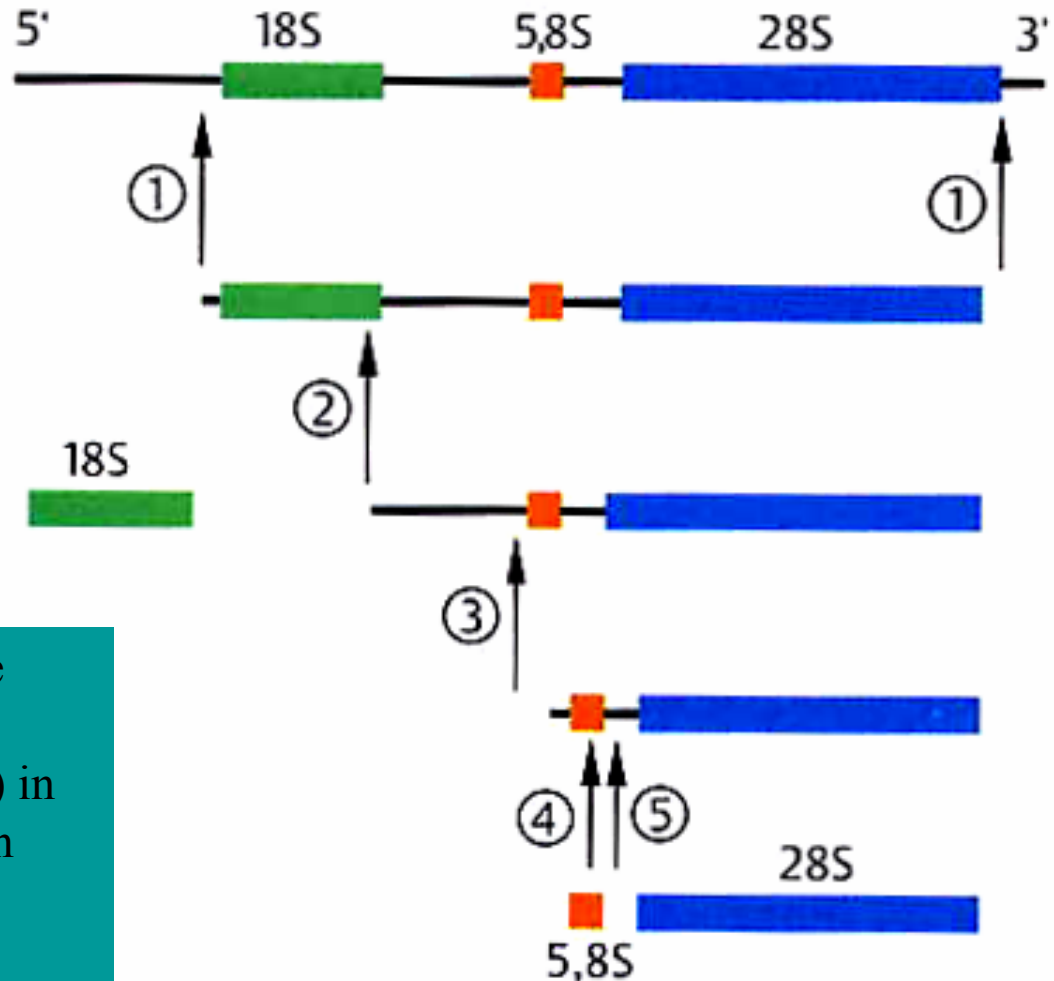
Pol I wird dafür durch die Faktoren **TIFI-A** und **I-C** vorbereitet.

Nach dem Start des **Pol I** Komplexes bleibt der **UBF**, **SL1** Komplex zurück und ermöglicht das Docken der nächsten **Pol I**.



Transkription in Eukaryoten

Transkription, Reifung der rRNA:



Die **prä-RNA** wird durch die Einschaltung spezieller Ribonucleoproteine (**snRNP**) in einer komplexen Abfolge von Schritten in die reifen Untereinheiten übergeführt.

Transkription in Eukaryoten

Transkription, rRNA-Synthese im Nucleolus:

Um rRNAs in genügender Menge synthetisieren zu können werden folgende Strategien beschrieben:

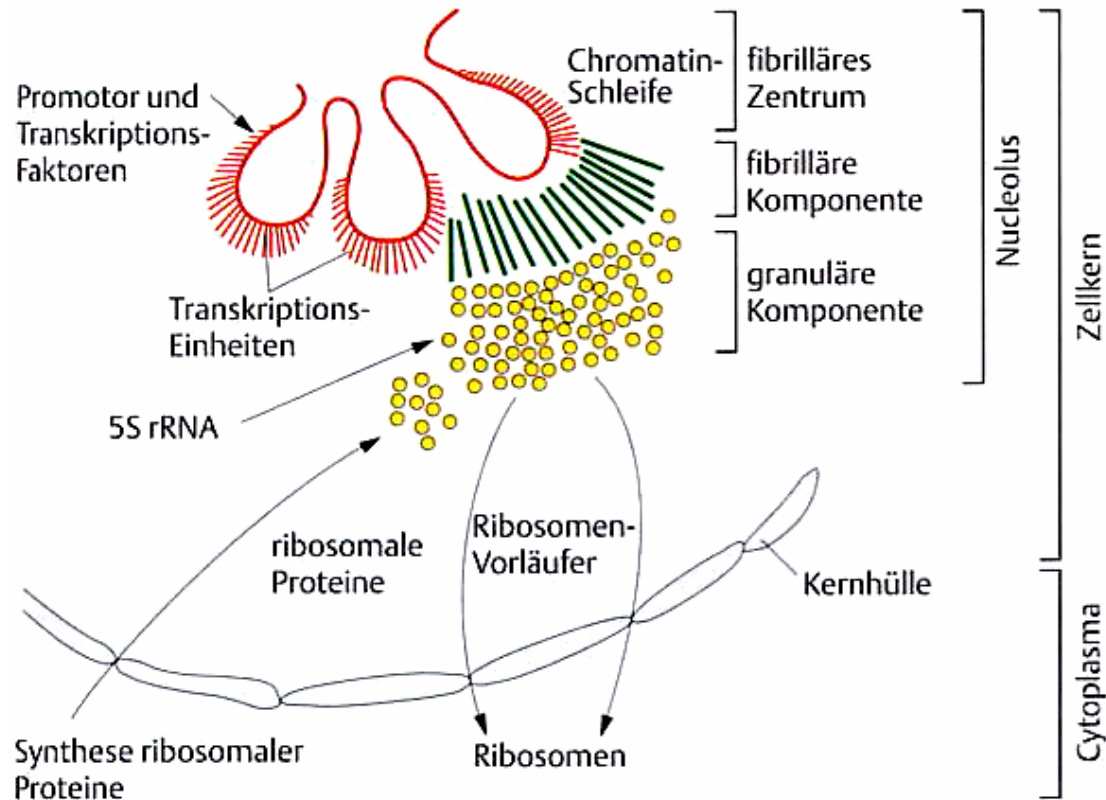
- Spezialisierte RNA-Polymerase, keine Konkurrenz zu anderen Genen.

- Gleichzeitige Transkription vieler rRNA-Gene

- Enhancer-Elemente als Verstärker

- Kompartimentierung der Synthese im Nucleolus

Übersicht über die Strukturen und Funktionen während der Ribosomenbildung:



Transkription in Eukaryoten

Transkription, Transkription der 5S rRNA und der tRNAs:

Die meisten kleinen RNA-Arten werden von der RNA-Polymerase III transkribiert:

- Gene der 5S rRNA (Bestandteil der großen ribosomalen Untereinheit)
- Gene für alle tRNA-Arten
- Das Gen für 7SL RNA (Bestandteil des Transportsystems von Proteinen durch die Zellmembran)
- Das Gen für U6 snRNP (Bestandteil des Spleißapparats)

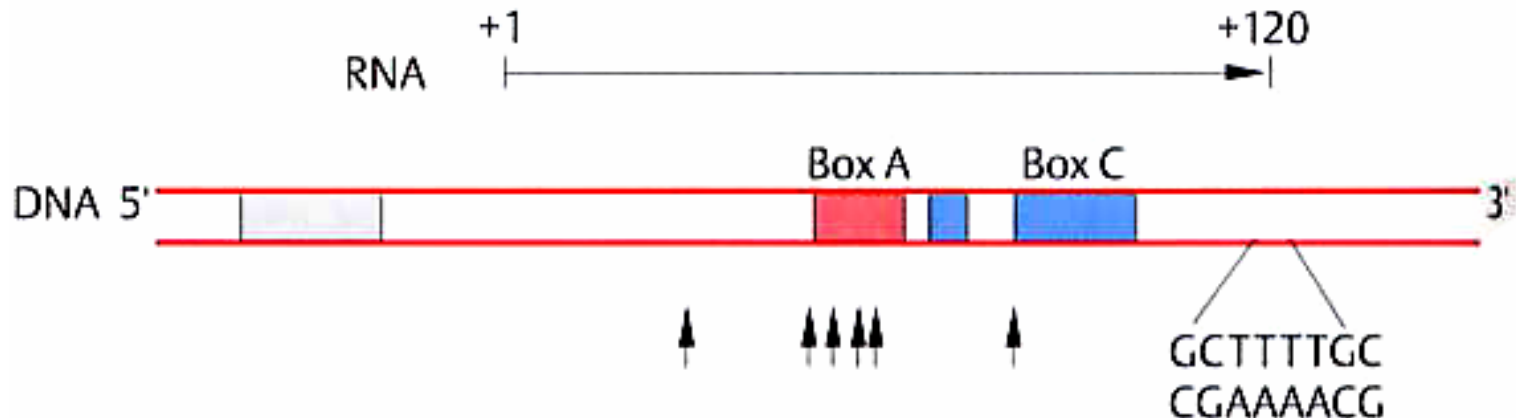
Gene haben eine jeweils unterschiedliche Struktur

Transkription in Eukaryoten

Transkription, Transkription der 5S rRNA und der tRNAs:

Die 5S rRNA Transkriptionseinheit:

Die Einleitung einer effizienten Transkription hängt von **Internen Kontrollregionen** (liegen im transkribierten Bereich des Gens), der **Box A** und **Box C** ab.

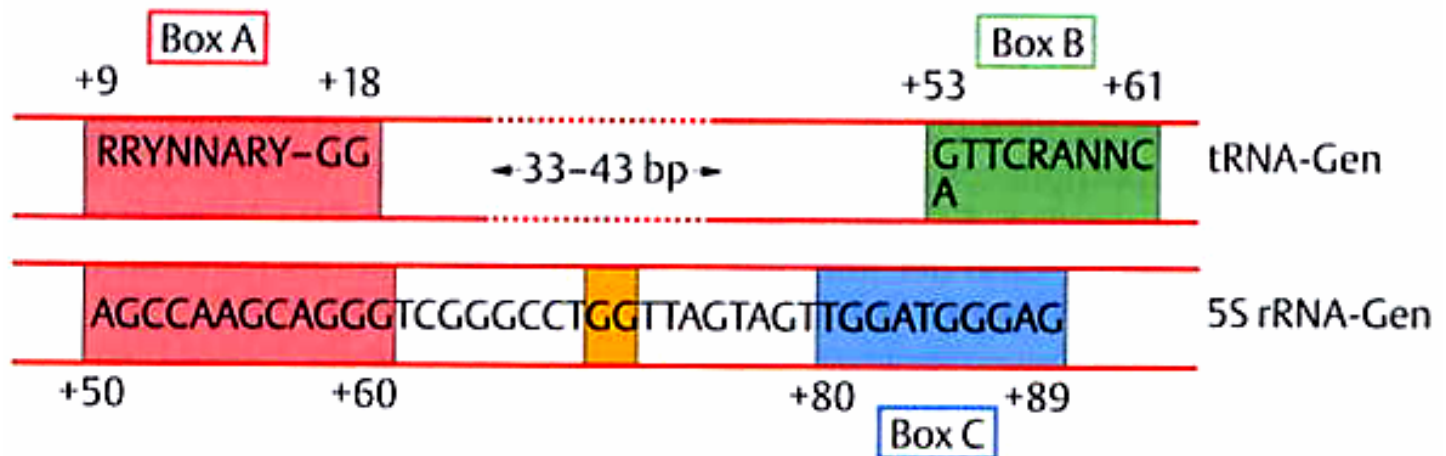


Transkription in Eukaryoten

Transkription, Transkription der 5S rRNA und der tRNAs:

Die tRNA-Transkriptionseinheiten:

Der Aufbau der **Internen Kontrollleinheit** ist ähnlich wie für die 5S rRNA Gene, sie besitzen jedoch eine **Box B** anstatt der Box C

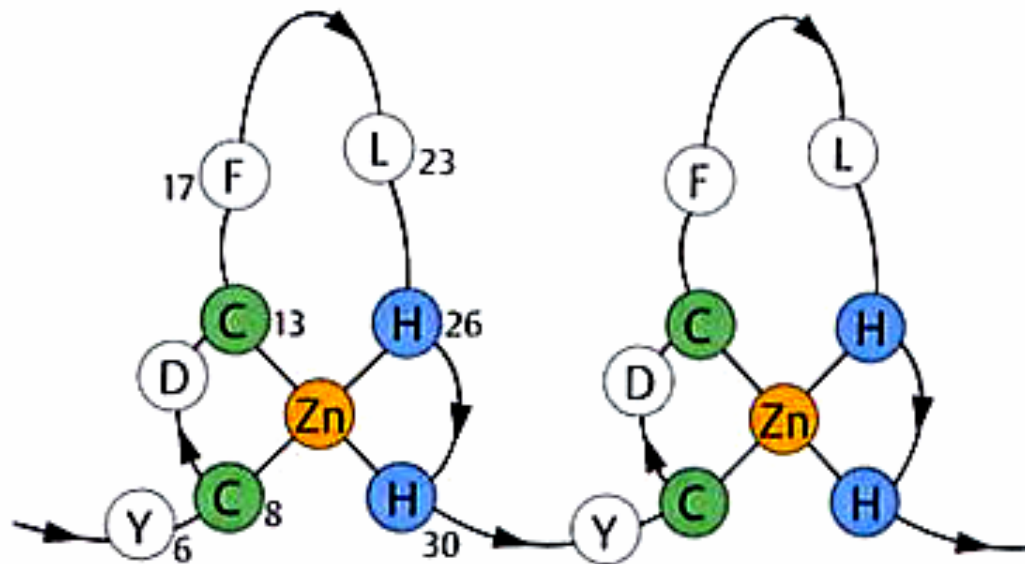


Transkription in Eukaryoten

Transkription, Transkription der 5S rRNA und der tRNAs:

Die Initialisierung des Transkriptionskomplexes der 5S rRNA Gene:

- Die Bindung von TFIII-A an die Box A wird über Zinkfinger Domänen
- Neun aufeinanderfolgende Aminosäure-Blöcke können sich jeweils zu **Zinkfingern** (C2H2 Typ) zusammenfalten und die DNA kontaktieren.



Transkription in Eukaryoten

Transkription, Transkription der 5S rRNA und der tRNAs:

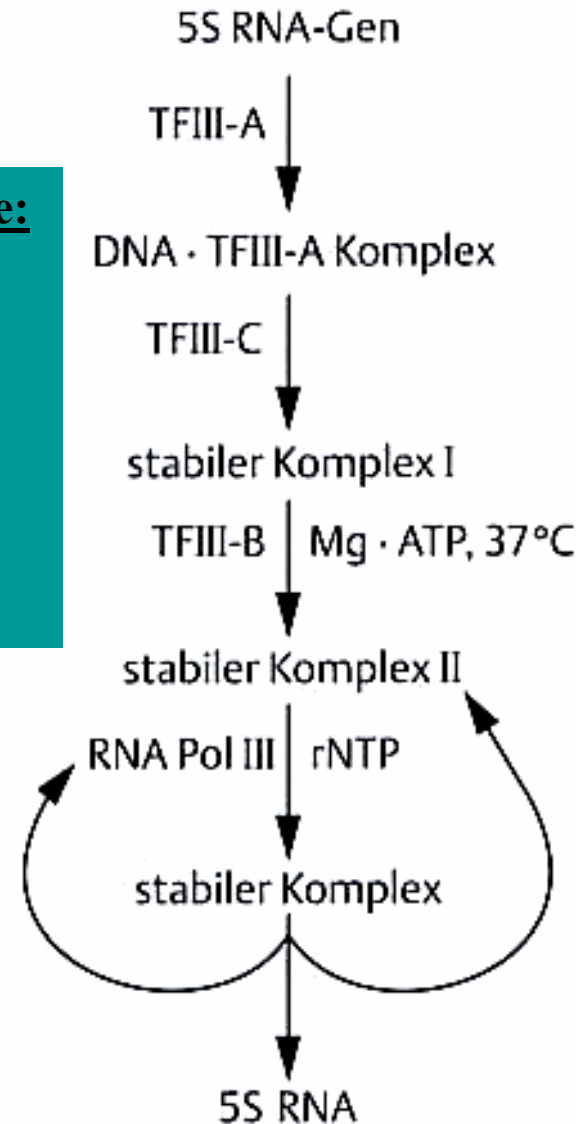
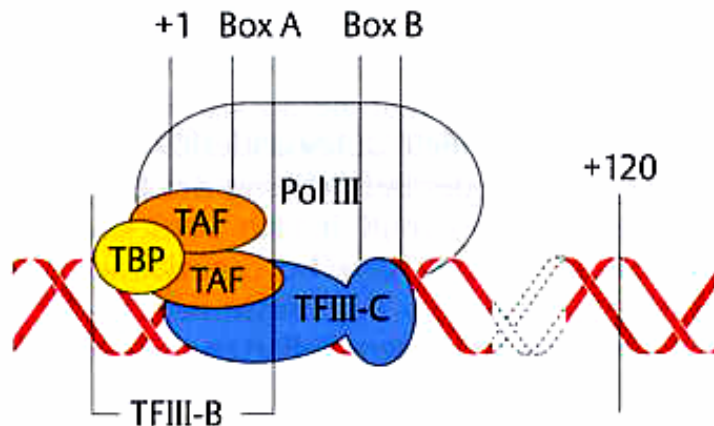
Ausbildung des Transkriptionskomplexes der 5S rRNA-Gene:

Nach TFIIIA binden TFIIIC und TFIIIB, eine stabile Pol III Plattform entsteht.

PolIII startet unter Zugabe von Ribonucleosidtriphosphaten mit der Synthese.

Nach Ende der Synthese wird Pol III freigesetzt.

Der Plattformkomplex II kann Tagelang stabil bleiben



Transkription in Eukaryoten

Transkription, Transkription der 5S rRNA und der tRNAs:

Ausbildung des Transkriptionskomplexes der tRNA-Gene:

- Verläuft grundsätzlich ähnlich wie für die 5S rRNA Gene
TFIII-A wird jedoch nicht benötigt.
- Die spezifische Interne Kontrollregion wird durch **TFIII-C** kontaktiert, der dann **TFIII-B** heranzieht.
- TFIII-B enthält **TAB** dass aber hier mit Pol III spezifischen TAFs assoziiert ist.
- TAB **vermittelt** also auch hier den **Kontakt** zwischen dem spezifischen DNA-Bindungsprotein (TFIII-C) und der entsprechenden RNA-Polymerase (ähnlich wie bei SL1 – Pol I)

Transkription in Eukaryoten

Transkription, die zentrale Funktion von TBP:

Zusammenfassung der Funktionen von TAB in der Ausbildung der drei Pol Komplexe:

