

**Frühere Fragen zur Vorlesung:  
Stoffwechsel der Mikroorganismen II (F. Götz)**

**Namen, Vornamen auf jedes Blatt!! bitte Matrikelnr. angeben**

Was sind Inteine (Vorkommen, Aufbau, wie erfolgt das Spleißen, Intein-"homing")

Welche enzymatischen Reaktionen katalysieren die Aminoacyl-tRNA-Synthetasen (Angabe von Substrat u. Produkt), Rolle der Enzyme

Charakterisieren Sie kurz die 4 bei Bakterien vorkommenden Sekretionstypen und geben Sie je ein Beispiel an.

Welche Möglichkeiten haben Bakterien, um ein Protein in der Cytoplasmamembran zu verankern.

Welche Funktion haben folgende Chaperone und Foldasen:

- a) DsbA,B,C,D-System
- b) Prolyl-cis/trans-Isomerase
- c) GroEL/GroES
- d) SecB

In dieser DNA-Sequenz ist das Gen für ein kleines Peptid codiert:

Kennzeichnen Sie in dieser DNA-Sequenz:

- a) die Promoterregion mit ungefährem Start der mRNA
- b) Richtung der Transkription (Pfeil genügt)
- b) die ribosomale Bindestelle
- c) den Transkriptionsterminus
- d) Beginn und Ende des ORF (offener Leserahmen)

ACAAATTCTTAAGAGTAAGCGTTTTTTTTTAATTTTTTTAAAGTAAAGTATTTGACAAATC

AATTATTTTTTTCTATAATAGACATTGAAAGAGAAAAGCAAAATGCGGAAAGAGGAGGTT

CAATAAATGAACCAAGAACAATTTGACAAAATTA AAAATGGTAAAGGATTTATCGCAGCA

AAGCTTTAAAATAATAACGAGCCCCTTCTTTGAAGGGGCTCGCTTTTTTTGTATAATTCCA

Beschreiben Sie die Abläufe des Sec-abhängigen Protein-Exportes bei *E. coli* (mit Funktion und Lokalisation der beteiligten Sec-Proteine)

Welche Unterschiede bestehen zwischen DNA-Polymerase I und III hinsichtlich Lokalisation, Funktion und enzymatischer Aktivität

Wie wird Seleno-Cystein bei der Formiat-Dehydrogenase von *E. coli* eingebaut?  
Welche Komponenten spielen dabei eine Rolle?  
Unter welchen Kultivierungsbedingungen erfolgt der Einbau?

Genetische Organisation und Synthese (Reifung) der 16S-rRNA?

Was sind Inteine? (Vorkommen, Aufbau, wie erfolgt das Spleißen, was versteht man unter Intein-"homing")

Charakterisierung von Typ I, II III und IV Proteinsekretionssysteme (auch Zeichnung möglich); Beispiele für die jeweiligen Typen.

Charakterisierung von Typ V Sekretionssystem; Beispiel

Welche Unterschiede bestehen zwischen DNA-Polymerase I und III hinsichtlich Lokalisation, Funktion und enzymatischer Aktivität

Welche Proteine (mit Funktion) greifen in die Proteinfaltung ein?

Wie wird die Biolumineszenz von *Vibrio fischeri* reguliert

Beschreibung des Agr – Systems bei Staphylokokken

Charakterisierung von Anfang und Ende der Transkription

Charakterisierung von Anfang und Ende der Translation

Bei welchen Reaktionen findet das Klenow-Enzym in der Molekularbiologie Verwendung

Welche Enzyme sind an der DNA-Replikation beteiligt  
Wo beginnt sie wo endet sie

Durch welche Motive ist der Origin gekennzeichnet und wie gross ist er ungefähr

Wie erfolgt die Regulation durch die SOS-Antwort

Wo findet transkriptionelle Regulation statt und welcher Mechanismus liegt zugrunde

Wie erfolgt die Initiation, Elongation und Termination der Translation

Warum werden Gene aus Gram-negativen Bakterien im allgemeinen nur schwach in Gram-positiven exprimiert

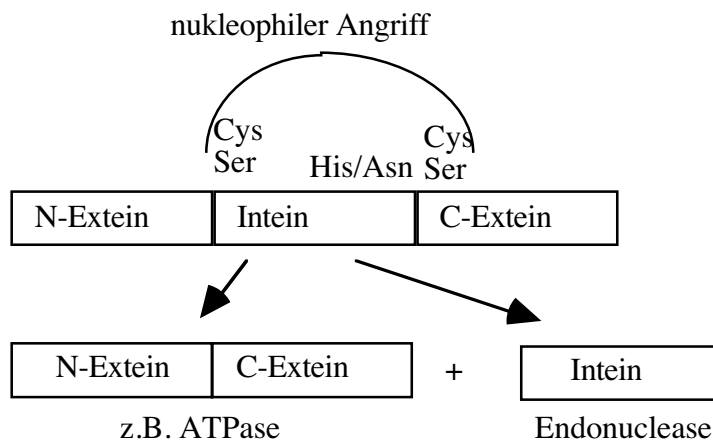
Sie möchten die Expression eines Gens optimieren. Auf welche Stellen des Gens würden Sie besonders achten

Was ist das Schicksal von formyl-Methionin

**Einige Antworten:**

## Was sind Inteine (Vorkommen, Aufbau, durch wen und wie erfolgt das Spleißen, Intein-"homing")

- Inteine kommen bei Bakterien (z.B. **DNA-Polymerase**) und Eukaryoten (z.B. V-ATPase) vor.
- Sie werden als Precursorprotein synthetisiert, das sich aus Exteinen und Inteinen zusammensetzt.
- Durch einen Spleißmechanismus wird das **Intein herausgeschnitten und die Exteine miteinander fusioniert zum aktiven Enzym**.
- Die **Aminosäuresequenz an den Enden des Inteins sind konserviert** (N-Cys od Ser- ----C-terminal His/Asn); das C-terminale Extein weist am N-terminus Cys od. Ser auf);



- Spleißmechanismus erfolgt **autokatalytisch durch das Intein**.
- Die meisten Inteine besitzen **Endonuclease-Aktivität** über die homologe Gene ohne Intein ein Intein eingefügt wird.

## Beschreiben Sie die zwei Reaktionen der Aminoacyl-tRNA-Synthetasen (Angabe der Substrate, der Produkte und Ort der t-RNA-Verknüpfung) 4 P

1. Die AS wird mittels ATP aktiviert;  
es entsteht Aminoacyl-AMP +  $P \sim P_i$
2. Aminoacyl-AMP wird auf die entsprechende 2' oder 3'OH-Gruppe des Adenins im Akzeptorstamm der entsprechenden t-RNA übertragen;  
Der Akzeptorstamm endet immer mit -CCA-3';  
Das Endprodukt ist Aminoacyl-t-RNA;

## Charakterisieren Sie kurz 4 bei Bakterien vorkommenden Sekretionstypen und geben Sie je ein Beispiel an.

### Typ1:

Beispiel ist das alpha-Hämolyisin von E. coli;  
Das Hämolyisin (besitzt kein Signalpeptid) wird über einen ABC-Transporter ausgeschleust; es setzt sich zusammen aus:  
HlyB, Cytoplasmamembran (ATPase-Aktivität)  
HlyD, verbindet HlyB mit TolC  
TolC, äussere Membran, Durchschleusung des Hämolyisins

### Typ2:

Beispiel **Pullunase bei Klebsiella**;

Das Pullunase (besitzt **Signalpeptid**) wird über **Sec-Sekretionssystem** in das Periplasma ausgeschleust; und über die CM- und ÄM-lokalisierten Pul-Proteine in das Medium freigesetzt;

PulD ist das Porenprotein in der ÄM.

#### Typ3:

Beispiel sind die Yop-Proteine von Yersinien, die über 3 Membranen in die Wirtszelle eingeschleust werden; der Kontakt mit der Wirtszelle ist Voraussetzung für die Sekretion.

Beteiligt sind folgende Komponenten:

Ysc-System (**Sec-homologes System**)

YscC, ein Porenprotein-Multimer in der ÄM;

Yop B,D, ein Porenprotein-Multimer in der Wirtsmembran;

Eingeschleust werden:

YopE, Cytotoxin

yopH, Antiphagozytose

YopJ,P, Induktion der Apoptose

#### Typ 4:

Die Sekretionssysteme vom Typ IV sind bezüglich des translozierten Substrats (große **Nukleoprotein-Konjugationsintermediate**, ein A/B Toxin und monomere Proteine), wie auch der phylogenetischen Diversität der Zielzellen (Bakterien, Pilze, Tiere und Pflanzen) eine sehr promiskuitive Sekretionsfamilie. Die Typ IV Systeme setzen sich aus den Kernkomponenten des Konjugationsapparates zusammen und bestehen aus vielen Komponenten die in der CM und/oder der ÄM verankert sind.

Beispiele: **Agrobacterium tumefaciens T-DNA Transfersystem (VirB)**, konjugatives (Tra) System des konjugativen IncN Plasmids pKM101 und **Bordetella pertussis Pertussistoxin Exporter (Ptl)** definiert. Beim VirB-System von *Agrobacterium tumefaciens* wird **eine große einzelsträngige DNA (T-DNA) über Bakterienmembran hinweg in pflanzliche Zellen transportiert. Die T-DNA integriert nach erfolgreicher Übertragung in das Pflanzengenom.** Daraufhin werden Onkogene expremiert, die auf der T-DNA codiert sind. In Folge der Infektion entstehen „crown gall“ Tumore. Das VirB-System wird von 11 Genen codiert, 10 davon sind substantiell für den T-DNA-Transfer (VirB2-virB11).

### **Wie wird Seleno-Cystein bei der Formiat-Dehydrogenase von *E. coli* eingebaut? Welche Komponenten spielen dabei eine Rolle? Unter welchen Kultivierungsbedingungen erfolgt der Einbau?**

Se-Cys wird an einem Stopcodon der fdh-mRNA in Position 140 eingebaut.

Für den Einbau sind folgende Komponenten wichtig:

- SelC: eine spezifische t-RNA(Ser);
- SelD: inkorporiert Se- an der t-RNA-Ser;
- SelB: ist ein spezifischer Translationsfaktor; bindet t-RNA(Sel); ersetzt EF-Tu; ternärer Komplex [SelB-tRNA-GTP];
- SelA: Se-Cys-Synthetase

Die Expression der FDH erfolgt unter anaeroben Bedingungen und ist von Selen im Medium abhängig.