

# Molekulare Genetik

Alfred Nordheim  
Rolf Knippers †

unter Mitarbeit von  
Peter Dröge  
Gunter Meister  
Elmar Schiebel  
Martin Vingron  
Jörn Walter

11., unveränderte Auflage

 Online-Version



 Thieme





# Molekulare Genetik

Herausgegeben von Alfred Nordheim und  
Rolf Knippers †

Mit Beiträgen von Alfred Nordheim, Rolf Knippers,  
Peter Dröge, Gunter Meister, Elmar Schiebel,  
Martin Vingron, Jörn Walter

11., unveränderte Auflage

620 Abbildungen

Georg Thieme Verlag  
Stuttgart • New York

# Impressum

*Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Ihre Meinung ist uns wichtig! Bitte schreiben Sie uns unter:  
[www.thieme.de/service/feedback.html](http://www.thieme.de/service/feedback.html)

- 1. Auflage 1971
- 2. Auflage 1974
- 3. Auflage 1982
- 4. Auflage 1985
- 5. Auflage 1990
- 6. Auflage 1995
- 7. Auflage 1997
- 8. Auflage 2001
- 9. Auflage 2006
- 10. Auflage 2015
- 1. japanische Auflage 1976
- 1. spanische Auflage 1976
- 1. italienische Auflage 1998

**Legende zum Titelbild:** Strukturmodell des RNA Polymerase II Elongationskomplexes während der Transkription eines Gens der Hefe *S. cerevisiae*. Die aus 12 Untereinheiten bestehende RNA Polymerase II ist grau dargestellt, der Elongationsfaktor Spt4/5 ist in gelb hervorgehoben. Das wachsende RNA Transkript (rot) wird am katalytischen Zentrum verlängert, unter Nutzung der Information des Matrizenstranges (dunkelblau) im entwundenen Bereich der DNA Doppelhelix. Das katalytische Magnesium Ion (violett) und die Brückenhelix (grün) sind hervorgehoben. Die wachsende RNA verlässt den Komplex durch den sogenannten 'Exit'-Kanal (nach: Cheung, A.C.M and P. Cramer, 2012, A movie of RNA polymerase II transcription, Cell 149, 1431-1437).

© 2018 Georg Thieme Verlag KG  
Rüdigerstr. 14  
70469 Stuttgart  
Deutschland  
[www.thieme.de](http://www.thieme.de)

Printed in Germany

Zeichnungen: Ruth Hammelehle, Kirchheim/Teck; BITmap, Mannheim  
Umschlaggestaltung: Thieme Gruppe  
Umschlagfoto: A. Cheung, S. Sainsbury und P. Cramer (Max-Planck-Institut für Biophysikalische Chemie, Göttingen)  
Satz: Druckhaus Götz GmbH, Ludwigsburg  
Druck: Aprinta Druck GmbH, Wemding

DOI 10.1055/b-006-149922

ISBN 978-3-13-242637-5

1 2 3 4 5 6

Auch erhältlich als E-Book:  
eISBN (PDF) 978-3-13-242638-2  
eISBN (epub) 978-3-13-242639-9

Das Werk, einschließlich aller seiner Teile, ist urheberrechtlich geschützt. Jede Verwendung außerhalb der engen Grenzen des Urheberrechtsgesetzes ist ohne Zustimmung des Verlages unzulässig und strafbar. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen oder die Einspeicherung und Verarbeitung in elektronischen Systemen.

# Vorwort der Herausgeber

Das Wissenschaftsgebiet **Molekulare Genetik** gewinnt weiterhin ständig an Bedeutung. Mit zunehmender Genauigkeit und immer tiefer gehendem Verständnis der mechanistischen Details erforscht die Molekulare Genetik die Grundlagen allen Lebens auf der Erde.

Neue methodische Entwicklungen, vor allem die parallelisierte Nucleinsäure-Sequenzierung (*next generation sequencing*, NGS), und die verstärkte Einbeziehung neuer Wissenschaftsdisziplinen, speziell die Bioinformatik, haben in den vergangenen 10 Jahren die Molekulare Genetik revolutioniert. Dies wird besonders deutlich an den überraschenden Einblicken in die unerwartete funktionelle Vielfalt von RNA-Molekülen oder die verblüffende Komplexität epigenetischer Regulationsprozesse.

Die vorliegende 10. Auflage des Lehrbuches Molekulare Genetik trägt diesen neueren Entwicklungen Rechnung. Während alle bisherigen Auflagen dieses Lehrbuches seit dem Jahre 1971, d.h. über den Zeitraum von mehr als 40 Jahren, meist von einem Autor verfasst wurden, so wird die neue Version jetzt von einem Sieben-Autoren-Team vertreten. Wir haben uns gemeinsam der Aufgabe gewidmet, die Molekulare Genetik – unter Einbeziehung historischer Entwicklungen – in ihrem aktuellen Kenntnisstand zu präsentieren. Obwohl die aktuelle 10. Auflage weitgehend auf der vorangegangenen 9. Auflage aufbaut, wurden doch sehr wesentliche Veränderungen vorgenommen: Neue Kapitel wurden formuliert und alle früheren Texte und Abbildungen wurden umfassend bearbeitet, aktualisiert und in neue didaktische Zuordnungen gebracht. Trotz der hohen Komplexität der Materie haben wir uns – entsprechend der Tradition dieses Lehrbuches – um eine verständliche Darstellung bemüht. Wir vermitteln die Prinzipien molekulargenetischer Prozesse hauptsächlich an mikrobiellen und tierischen Systemen, inklusive des Menschen als besonderem und vielfach interessantem „Modellorganismus“. Für genetische Systeme der

Pflanzen, aber auch für Spezialbereiche wie Neuro- und Immunogenetik von Mensch und Tier, verweisen wir auf einschlägige Lehrbücher.

Vermutlich hat sich das Spektrum interessierter Leser dieses Lehrbuches gegenüber früheren Auflagen erweitert. Denn molekulargenetisches Wissen ist unerlässlich für das Verständnis aller Lebensprozesse. Bereits in gymnasialen Leistungsfächern wird Molekulare Genetik vermittelt. Im Besonderen gewinnt die Molekulare Genetik auch weiterhin zunehmenden Einfluss in der Medizin. Zu einem großen Teil basiert das Verstehen von Krankheit bei Mensch und Tier, sowie die Entwicklung neuer molekülbezogener Therapien, auf Erkenntnissen der Molekulargenetik. Somit gilt eine fundierte Kenntnis der Molekularen Genetik als Schlüsselqualifikation zum erfolgreichen Studium der Fachrichtungen Biologie und Medizin, besonders auch spezieller Ausrichtungen wie Biochemie, Bioinformatik, Biophysik, Biotechnologie, Evolutionsbiologie, Molekularmedizin, Nano-Technologie und Pharmazie.

Im Namen des Autorenteam wünsch wir allen Lesern ein gewinnbringendes, kreatives und freudvolles Studium der molekularen Genetik. Wir erhoffen uns, dass dieser Text zu eigenständigem Nachdenken und selbständiger forscherscher Tätigkeit ermuntert.

Als Herausgeber bedanken wir uns für die überaus wertvolle Unterstützung durch den Thieme Verlag, Stuttgart, speziell durch Frau Dr. K. Hauser, Frau Dr. B. Jarosch, Frau M. Mauch und Herrn M. Lehnert.

Wir bitten die Leser um Kommentare zu dieser 10. Auflage, vor allem um Hinweise auf potenzielle Fehler, sowie Anregungen zur Verbesserung von Text und Bild.

Alfred Nordheim, Tübingen, Dezember 2014

Rolf Knippers, Konstanz, Dezember 2014

# Anschriften

## Herausgeber

Prof. em. Dr. Rolf **Knippers**  
Universität Konstanz  
Fakultät für Biologie  
Universitätsstraße 10  
78457 Konstanz  
Deutschland

Prof. Dr. Alfred **Nordheim**  
Universität Tübingen  
Fachbereich Biologie  
Auf der Morgenstelle 15  
72076 Tübingen  
Deutschland

## Autoren

Prof. Dr. Peter **Dröge**  
Nanyang Technical University  
60 Nanyang Drive, SBS-02n-49  
Singapore 637 551  
Singapore

Prof. em. Dr. Rolf **Knippers**  
Universität Konstanz  
Fakultät für Biologie  
Universitätsstraße 10  
78457 Konstanz  
Deutschland

Prof. Dr. Gunter **Meister**  
Universität Regensburg  
Fakultät für Biologie und Vorklinische Medizin  
Universitätsstraße 31  
93053 Regensburg  
Deutschland

Prof. Dr. Alfred **Nordheim**  
Universität Tübingen  
Fachbereich Biologie  
Auf der Morgenstelle 15  
72076 Tübingen  
Deutschland

Prof. Dr. Elmar **Schiebel**  
Universität Heidelberg  
DKFZ - ZMBH Alliance  
Im Neuenheimer Feld 282  
69120 Heidelberg  
Deutschland

Prof. Dr. Martin **Vingron**  
Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik  
Abteilung Bioinformatik  
Ihnestr. 63-73  
14195 Berlin  
Deutschland

Prof. Dr. Jörn **Walter**  
Universität des Saarlandes  
Fachrichtung Biowissenschaften  
Campus Saarbrücken  
66123 Saarbrücken  
Deutschland

# Autorenvorstellung

## Prof. Dr. Peter Dröge

Peter Dröge studierte Biologie an der Universität Konstanz und promovierte dort 1986 am Lehrstuhl für Molekulare Genetik (Prof. Rolf Knippers) zum Dr. rer. nat. Es folgte ein dreijähriger Forschungsaufenthalt an der University of California (Berkeley, USA) in der Arbeitsgruppe von Nicholas R. Cozzarelli. Er war anschließend als Postdoc für ein Jahr am Institut für Molekularbiologie der Medizinischen Hochschule Hannover tätig, bevor er an der Universität Konstanz eigenständig forschte und dort 1995 im Fach Molekulare Genetik habilitierte. Als Heisenberg Stipendiat der DFG wechselte er 1996 an das Institut für Genetik in Köln. Er nahm im Jahre 2002 einen Ruf auf eine Professur an der Nanyang Technological University in Singapur an, wo er als Gründungsmitglied an der Gestaltung der Fakultät für Biologie beteiligt war. In seinen Forschungsschwerpunkten realisiert Peter Dröge Studien zur Topologie und Sekundärstruktur von DNA, Untersuchungen zu DNA Transaktionen in humanen embryonalen Stammzellen, sowie Arbeiten zur Stabilität und kontrollierten Veränderung eukaryotischer Genome.

## Prof. em. Dr. Rolf Knippers

Rolf Knippers studierte Medizin, aber beschäftigte sich schon bald nach Beendigung des Studiums mit Molekularer Biologie. Er arbeitete in den Jahren 1966 bis 1969 am California Institute of Technology, Pasadena, USA, und von 1970 bis 1973 am Friedrich-Miescher-Laboratorium der Max-Planck-Gesellschaft in Tübingen. Von 1974 bis zu seiner Emeritierung im Jahre 2004 war er Professor für Molekulare Genetik an der Universität Konstanz. Rolf Knippers hat in zahlreichen nationalen und internationalen Wissenschaftsgremien und Beiräten mitgewirkt und wurde 1986 zum Mitglied der European Molecular Biology Organization (EMBO) gewählt. Er war in den Jahren 1998–2002 Präsident der Gesellschaft für Genetik (GfG) und wurde 2009 von der GfG zum Ehrenmitglied ernannt. Er erhielt 2005 die Mendel-Medaille der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina. Rolf Knippers begründete im Jahre 1971 dieses Lehrbuch für Molekulare Genetik in seiner 1. Auflage und verfasste seither alle weiteren Auflagen.

## Prof. Dr. Gunter Meister

Gunter Meister studierte Biologie an der Universität Bayreuth und promovierte im Jahre 2002 zum Dr. rer. nat. in der Arbeitsgruppe von Prof. Utz Fischer am Max-Planck-Institut für Biochemie und der Ludwig Maximilians Universität München. Er war anschließend als Postdoc an der Rockefeller University (New York, USA) in der Arbeitsgruppe von Prof. Thomas Tuschl tätig. Von 2005–2010 war er selbständiger Nachwuchsgruppenleiter am Max-Planck-Institut für Biochemie in Martinsried. Er wurde im Jahre 2009 auf den Lehrstuhl für Biochemie der Universität Regensburg berufen an der er seitdem lehrt. 2008 wurde ihm der Forschungspreis der Peter und Traudl Engelhorn Stiftung und 2011 der Young Investigator Award der Schering Stiftung verliehen.

## Prof. Dr. Alfred Nordheim

Alfred Nordheim studierte Biologie an der Freien Universität Berlin und dem University College of North Wales (Bangor, UK) und promovierte 1979 in Berlin zum Dr. rer. nat., unter Betreuung von Prof. Kenneth Timmis. Er war für vier Jahre als Postdoc am Massachusetts Institute of Technology (Cambridge, USA) tätig, in der Arbeitsgruppe von Alexander Rich. Als selbständiger Gruppenleiter forschte er dann am ZMBH der Universität Heidelberg (1984–1989) und nahm nachfolgend als Gründungsdirektor des Instituts für Molekularbiologie eine Professur an der Medizinischen Hochschule Hannover an (1989–1996). Seit 1996 leitet Alfred Nordheim den Lehrstuhl für Molekularbiologie am Interfakultären Institut für Zellbiologie der Eberhard Karls Universität Tübingen. Er ist universitärer Sprecher der Tübinger internationalen Graduiertenschule IMPRS „From Molecules to Organisms“. Er war Präsident der Gesellschaft für Genetik (GfG) (2005–2009) und der International Genetics Federation (IGF; Melbourne, Australien) (2008–2013). Alfred Nordheim erhielt 1992 den Max-Planck-Forschungspreis zusammen mit Robert A. Weinberg und ist seit 1991 Mitglied der European Molecular Biology Organization (EMBO).

## Prof. Dr. Elmar Schiebel

Elmar Schiebel studierte Biochemie in Tübingen und London und promovierte 1989 in Tübingen am Lehrstuhl für Mikrobiologie (Prof. Volkmar Braun). Anschließend erfolgte ein Postdoc-Aufenthalt an der University of California, Los Angeles im Labor von Prof. B. Wickner. Von 1991 bis 1997 war er selbständiger Nachwuchsgruppenleiter am Max-Planck-Institut für Biochemie in Martinsried. Er wechselte dann als Gruppenleiter und später „Senior“-Gruppenleiter an das Beatson Institute for Cancer Research in Glasgow, UK, und das Paterson Institute for Cancer Research in Manchester, UK. Seit 2005 ist Elmar Schiebel Professor für Molekulare Biologie am Zentrum für Molekulare Biologie der Universität Heidelberg (ZMBH). Er ist Leiter der „Hartmut Hoffmann-Berling International Graduate School of Molecular and Cellular Biology“ (HBIGS) der Universität Heidelberg.

## Prof. Dr. Martin Vingron

Martin Vingron studierte Mathematik in Wien und promovierte 1991 an der Universität Heidelberg und dem EMBL, unter der Betreuung von Prof. Willi Jäger und Dr. Patrick Argos. Es schlossen sich zwei Postdoc-Aufenthalte an, zuerst an der University of Southern California in Los Angeles (USA) und dann an der GMD – Forschungszentrum Informatik – in Bonn. Von 1995 bis 2000 war er Leiter der Abteilung Theoretische Bioinformatik am Deutschen Krebsforschungszentrum (DKFZ) in Heidelberg, bevor er einem Ruf als Direktor an das Max-Planck-Institut für molekulare Genetik in Berlin folgte. Dort leitet er seither die Abteilung Bioinformatik. Martin Vingron erhielt 2004 den Max-Planck-Forschungspreis für Bioinformatik gemeinsam mit Gene Myers. Er ist Fellow der International Society for Computational Biology und ist Mitglied der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina, sowie der Academia Europaea.

## Prof. Dr. Jörn Walter

Jörn Walter studierte Biologie an der TH Darmstadt und der Freien Universität Berlin und promovierte 1990 zum Dr. rer. nat., unter der Betreuung von Prof. Thomas Trautner (MPI Berlin). Er war zwei Jahre als Postdoctoral Fellow am BBSRC Cambridge (UK) tätig, in der Arbeitsgruppe von Wolf Reik. Er leitete danach eine selbständige Arbeitsgruppe am Max-Planck-Institut für molekulare Genetik, Berlin-Dahlem. Seit 2000 ist er Professor für Genetik an der Universität des Saarlandes. Er initiierte mehrere nationale und internationale Forschungsinitiativen im Bereich der Epigenetik. Seit 2012 koordiniert er das Deutsche Epigenom Programm DEEP und ist Mitglied der Leitungsgruppe in der Internationalen Humanen Epigenom Initiative (IHEC).

# Inhaltsverzeichnis

## Teil 1 Grundlagen

<b>1</b>	<b>Lebensformen: Zellen mit und ohne Kern</b> .....	23			
	<i>Rolf Knippers</i>				
<b>1.1</b>	<b>Einleitung</b> .....	23	<b>1.3</b>	<b>Prokaryoten</b> .....	26
<b>1.2</b>	<b>Eukaryoten</b> .....	24	<b>1.3.1</b>	<b>Literatur</b> .....	27
<b>2</b>	<b>DNA: Träger der genetischen Information</b> .....	29			
	<i>Rolf Knippers</i>				
<b>2.1</b>	<b>Einleitung</b> .....	29	<b>2.8</b>	<b>Einige wichtige Methoden zur Untersuchung von DNA</b> .....	41
<b>2.2</b>	<b>Bausteine: Nucleotide</b> .....	29	<b>2.8.1</b>	Elektrophorese .....	41
<b>2.3</b>	<b>DNA-Doppelhelix</b> .....	30	<b>2.8.2</b>	Zentrifugation .....	42
<b>2.4</b>	<b>DNA-Helices: Flexibilität</b> .....	32		Der Sedimentationskoeffizient oder S-Wert. . . .	44
<b>2.5</b>	<b>Denaturierung und Renaturierung</b> . . . .	34	<b>2.8.3</b>	Isopyknische oder Gleichgewichtszentrifugation	44
<b>2.6</b>	<b>Natürliche DNA-Moleküle</b> .....	37	<b>2.8.4</b>	Elektronenmikroskopie .....	45
<b>2.7</b>	<b>DNA-Ringe: Helix und Superhelix</b> . . . .	39		Enzyme als Hilfsmittel: Deoxyribonucleasen .....	46
				Endonucleasen, Exonucleasen .....	46
				Restriktionsendonucleasen .....	46
				Literatur .....	49
<b>3</b>	<b>RNA: Überträger und Regulator der genetischen Information</b> .....	51			
	<i>Gunter Meister</i>				
<b>3.1</b>	<b>Einleitung</b> .....	51	<b>3.4</b>	<b>Zelluläre Funktionen von RNAs</b> .....	54
<b>3.2</b>	<b>Aufbau und räumliche Faltung von RNA-Molekülen</b> .....	52	<b>3.4.1</b>	<b>Literatur</b> .....	55
<b>3.3</b>	<b>RNA-Klassen</b> .....	52			
<b>4</b>	<b>Proteine: Funktionsträger der Zelle</b> .....	57			
	<i>Rolf Knippers</i>				
<b>4.1</b>	<b>Einleitung</b> .....	57	<b>4.4</b>	<b>Tertiärstruktur: komplexere Faltung der Aminosäurekette</b> .....	62
<b>4.2</b>	<b>Primärstruktur: Sequenz der Aminosäuren</b> .....	57	<b>4.4.1</b>	Proteindomänen .....	64
<b>4.2.1</b>	Aminosäuren .....	57	<b>4.5</b>	<b>Quartärstruktur: Aufbau aus Unter-einheiten</b> .....	66
<b>4.2.2</b>	Peptidbindung .....	58	<b>4.6</b>	<b>Proteinfaltung</b> .....	66
<b>4.2.3</b>	Wechselwirkungen zwischen Aminosäureseitenketten .....	59	<b>4.6.1</b>	Literatur .....	67
<b>4.3</b>	<b>Sekundärstruktur: <math>\alpha</math>-Helix und <math>\beta</math>-Faltblatt</b> .....	60			
<b>4.3.1</b>	$\alpha$ -Helix .....	61			
<b>4.3.2</b>	$\beta$ -Faltblatt .....	61			

<b>5</b>	<b>Transkription, Translation und der genetische Code</b> .....	69		
	<i>Rolf Knippers</i>			
<b>5.1</b>	<b>Einleitung</b> .....	69	<b>5.4.1</b>	Ribosomen: eine kurze Beschreibung .... 80
<b>5.2</b>	<b>Transkription: die Synthese von RNA</b> ..	69	<b>5.4.2</b>	Proteinsynthese: Genauigkeit des Starts .. 85
5.2.1	RNA-Polymerase .....	69	<b>5.4.3</b>	Initiation der Translation .....
5.2.2	Genanfang: der Promotor .....	71	<b>5.4.4</b>	Elongation: die programmierte Verknüpfung von Aminosäuren .....
5.2.3	Ereignisse am Promotor .....	72	<b>5.4.5</b>	Termination der Translation .....
5.2.4	Elongation der RNA-Kette .....	73	<b>5.4.6</b>	Geschwindigkeit und Genauigkeit der Translation .....
5.2.5	Termination .....	74	<b>5.4.7</b>	Besonderheiten der Translation bei Bakterien .....
5.2.6	Stabile und nicht stabile RNA .....	75		
<b>5.3</b>	<b>Transfer-RNA (tRNA) und die Aktivierung von Aminosäuren</b> .....	75	<b>5.5</b>	<b>Der genetische Code</b> .....
5.3.1	Struktur der tRNA .....	76	5.5.1	Rückblicke .....
5.3.2	Beladung der tRNA .....	77	5.5.2	Codewörter .....
<b>5.4</b>	<b>Translation: Ribosomen und Proteinsynthese</b> .....	80	5.5.3	„Wobble“ bei der Erkennung von Codon und Anticodon .....
			5.5.4	Der genetische Code in der Zelle .....
			5.5.5	Selenocystein und Pyrrolysin .....
			5.5.6	Verwendung von Codewörtern .....
				Literatur .....
<b>6</b>	<b>Escherichia coli und der Bakteriophage Lambda: Gene und Genexpression</b> .....	99		
	<i>Rolf Knippers</i>			
<b>6.1</b>	<b>Einleitung</b> .....	99	<b>6.4</b>	<b>Exkurs: Bakteriophagen</b> .....
<b>6.2</b>	<b>Vermehrung von Bakterien</b> .....	100	6.4.1	Ausblick .....
6.2.1	Die DNA als Nucleoid .....	101	<b>6.5</b>	<b>Der Bakteriophage Lambda und seine Gene</b> .....
	Nucleoidassoziierte Proteine .....	101	6.5.1	Das Lambda-Genom .....
	Organisation bakterieller DNA .....	102		Proteincodierende Gene .....
6.2.2	Das Genom .....	102		Kontrollelemente .....
6.2.3	Die biologische Genkarte und das F-Plasmid .....	105		Integration und Exzision .....
6.2.4	F'-Plasmide .....	108	6.5.2	Expression der Lambda-Gene .....
6.2.5	Konjugation und Genkartierung .....	108		Frühe Transkription .....
<b>6.3</b>	<b>Grundlagen bakterieller Genregulation</b> .....	110		Entscheidung zwischen Lyse und Lysogenie .....
6.3.1	Regulons: Gengruppen unter gemeinsamer Kontrolle .....	111		Der CII-Aktivator .....
	Beispiel: Hitzeschock-Gene .....	111		Der Lambda-Repressor .....
	Alternative $\sigma$ -Faktoren .....	113		Transkription des <i>int</i> -Gens .....
	Stringente Kontrolle .....	113	6.5.3	Induktion und lytischer Infektionsweg .....
6.3.2	Negative und positive Genregulation: das <i>lac</i> -Operon als Bezugssystem .....	118	6.5.4	Wege der Lambda-Replikation .....
	Die Genprodukte .....	118	6.5.5	Das Ende des lytischen Infektionswegs .....
	Mutanten mit veränderter Genregulation .....	119		Entstehung der Phagenpartikel .....
	Das Jacob-Monod-Modell .....	120		Am Ende des lytischen Infektionswegs .....
	Der Lac-Repressor .....	121		Literatur .....
6.3.3	Positive Regulation: das CRP-Protein .....	124		

<b>7</b>	<b>DNA im Zellkern: Chromatin und Chromosomen</b> .....	141		
	<i>Elmar Schiebel</i>			
<b>7.1</b>	<b>Einleitung</b> .....	141	<b>7.3.3</b>	<b>Modifikation von Histonen</b> .....
				151
<b>7.2</b>	<b>Der Zellkern</b> .....	141		Posttranslationale Modifikation von Histonen ..
				151
7.2.1	Die Kernhülle .....	141	7.3.4	Veränderungen des Chromatins durch Histon-
7.2.2	Der Innenraum des Zellkerns .....	145		modifikationen .....
				152
<b>7.3</b>	<b>Das Chromatin</b> .....	146	<b>7.3.4</b>	<b>Einige wichtige Nicht-Histonproteine</b> ....
				152
7.3.1	Histone .....	146	<b>7.3.5</b>	<b>Chromatinfasern</b> .....
	Haupthistone .....	146		153
	Histonsubtypen .....	147	<b>7.4</b>	<b>Chromosomen</b> .....
7.3.2	Nucleosomen .....	148		154
			<b>7.4.1</b>	<b>Chromosomen des Menschen</b> .....
				155
				Chromosomensätze .....
				157
			<b>7.4.2</b>	<b>Polytäre Chromosomen</b> .....
				158
				Literatur .....
				159

**Teil 2 Molekulare Dynamik chromosomaler DNA**

<b>8</b>	<b>DNA-Replikation: Verdopplung der genetischen Information</b> .....	163		
	<i>Peter Dröge</i>			
<b>8.1</b>	<b>Einleitung</b> .....	163	<b>8.3.5</b>	<b>Topologische Probleme während der Re-</b>
				<b>plikation</b> .....
<b>8.2</b>	<b>Molekulare Grundlagen der</b>	163		181
	<b>Replikation</b> .....	163		Topoisomerasen .....
				181
8.2.1	Erste Hinweise auf semikonservative	164		Typ-I-DNA-Topoisomerasen .....
	Replikation .....	164		183
8.2.2	Allgemeine Polymerisationsreaktion von	165		Typ-II-DNA-Topoisomerasen .....
	Deoxynucleotiden .....	165		184
8.2.3	Prokaryotische DNA-Polymerasen und	166		Topologische Probleme während der Initiation
	wichtige replikative Hilfsproteine .....	166		und der Elongation .....
	DNA-Polymerase I .....	166		185
	DNA-Polymerase II .....	168		Topologische Probleme während der
	DNA-Polymerase III .....	169		Termination .....
	Primase .....	171	<b>8.3.6</b>	<b>Andere Probleme während der DNA-</b>
	DNA-Ligasen .....	172		<b>Replikation</b> .....
8.2.4	DNA-Helikasen .....	173		187
8.2.5	Eukaryotische DNA-Polymerasen .....	174	<b>8.4</b>	<b>Replikation des eukaryotischen</b>
8.2.6	Drei Phasen der DNA-Replikation .....	175		<b>Genoms</b> .....
				188
<b>8.3</b>	<b>Replikation des bakteriellen Genoms</b> ..	175	<b>8.4.1</b>	<b>Replikationsstartpunkte</b> .....
				188
8.3.1	Die Initiation bakterieller DNA-	175		Aktivität von Replikationsstartpunkten .....
	Replikation .....	175		188
8.3.2	Elongationsphase bakterieller DNA-	177		Replikation und Strukturen des Zellkerns .....
	Replikation .....	177		190
8.3.3	Beendigung (Termination) der bakteriel-	179		Nucleotidsequenzen von Replikationsstartpunk-
	len DNA-Replikation .....	179		ten .....
8.3.4	Regulation der Initiation bakterieller	180	<b>8.4.2</b>	<b>Initiation eukaryotischer Replikation</b> .....
	Replikation .....	180		190
			<b>8.4.3</b>	<b>Elongationsphase eukaryotischer Replika-</b>
				<b>tion</b> .....
				192
			<b>8.4.4</b>	<b>Termination eukaryotischer Replikation</b> ..
				193
				Telomere .....
				193
				Telomerasen .....
				194
			<b>8.4.5</b>	<b>Replikation im Chromatin</b> .....
				196
			<b>8.4.6</b>	<b>Schwer zu replizierende Genomabschnitte</b>
				197
				Literatur .....
				197

<b>9</b>	<b>Segregation der Chromosomen: Zellzyklus, Mitose und Meiose</b> .....	199		
	<i>Elmar Schiebel</i>			
<b>9.1</b>	<b>Einleitung</b> .....	199		Der Eintritt in die Mitose .....
<b>9.2</b>	<b>Zellzyklus</b> .....	199		Kontrollpunkte des Zellzyklus .....
9.2.1	Zellzyklusphasen .....	199		Zusammenbau der mitotischen Spindel .....
	Die G <sub>1</sub> -Phase .....	201		Der Übergang von Metaphase zur Anaphase .....
	Die S-Phase .....	201		Der Spindelkontrollpunkt ( <i>spindle assembly checkpoint</i> , SAC) .....
	Die G <sub>2</sub> -Phase .....	201	9.2.3	Cytokinese .....
	Die Mitose .....	202		Defekte bei Chromosomentrennung und Cytokinese .....
9.2.2	Molekulares Verständnis des Zellzyklus ..	204	<b>9.3</b>	<b>Meiose</b> .....
	Zellzyklusgene .....	204		Zellzyklusregulation der Meiose .....
	G <sub>1</sub> /S-Übergang .....	206	9.3.1	Meiose I .....
	Lizenzierung der DNA-Replikation in der Telo- phase/G <sub>1</sub> -Phase .....	207	9.3.2	Meiose II .....
	Regulation der DNA-Replikation .....	207	9.3.3	Literatur .....
	Der Cohesinkomplex .....	207		
	Der Condensinkomplex .....	208		
<b>10</b>	<b>Rekombination der DNA</b> .....	220		
	<i>Peter Dröge</i>			
<b>10.1</b>	<b>Einleitung</b> .....	220	<b>10.4</b>	<b>Illegitime Rekombination</b> .....
<b>10.2</b>	<b>Homologe Rekombination</b> .....	220	10.4.1	Bewegliche genetische Elemente bei Bak- terien .....
10.2.1	Grundlagen der homologen Rekombinati- on .....	221		Insertionssequenzen (IS-Elemente) .....
10.2.2	Homologe Rekombination in prokaryoti- schen Zellen .....	222		Transposons .....
	Das RecA-Protein und der DNA-Strangaustausch	222		Transponierbare Bakteriophagen .....
	Das RecBCD-Enzym .....	225		Ablauf der Transposition .....
	Bewegliche Holliday-Strukturen und Genkonver- sion .....	226	10.4.2	Konsequenzen der Transposition: Veränderun- gen im Genom .....
10.2.3	Homologe Rekombination in eukaryoti- schen Zellen .....	227		Bewegliche genetische Elemente bei Euka- ryoten .....
	Meiotische Rekombination .....	228		<b>Ac/Ds</b> -Transpositionen in Pflanzen .....
	Genkonversionen in Eukaryoten .....	229		<b>Tc1/mariner</b> -Transpositionen .....
<b>10.3</b>	<b>Ortsspezifische Rekombination</b> .....	230		P-Element Transpositionen im <i>Drosophila</i> -Ge- nom .....
10.3.1	Grundlagen der ortsspezifischen Rekombi- nation .....	230	10.4.3	Ortsspezifische Transpositionen in Immunzellen
10.3.2	Ortsspezifische Rekombination in pro- karyotischen Zellen .....	230		Retrotranspositionen .....
				Retroviren: ein Überblick .....
				Retroviren: Struktur und Vermehrung .....
				Retroviren: Integration .....
				Retrotransposons .....
				Literatur .....
<b>11</b>	<b>Mutationen, DNA-Schädigungen und DNA-Reparatur</b> .....	250		
	<i>Peter Dröge</i>			
<b>11.1</b>	<b>Einleitung</b> .....	250	11.2.1	Arten von Mutationen .....
<b>11.2</b>	<b>Allgemeine Grundlagen</b> .....	250		Chromosomen-Mutationen .....
				Punktmutationen .....

Insertionen und Deletionen . . . . .	253	11.4.2	Alkylierte DNA-Basen und Reparatur . . . . .	267
Reversionen und Suppressionen . . . . .	254		Alkylierung von Basen . . . . .	267
11.2.2 Mutationen in eukaryotischen Zellen . . . . .	254		Reparatur der Basenalkylierung . . . . .	267
Mutationen in Körper- und Keimzellen . . . . .	254	11.4.3	Oxidative Basenschäden und Reparatur . . . . .	269
Rezessive und dominante Mutationen . . . . .	255	11.4.4	Unförmige Anheftungen an DNA . . . . .	271
Komplementationstests . . . . .	255	11.4.5	DNA-Schäden durch ultraviolettes Licht und ihre Reparatur . . . . .	271
11.2.3 Häufigkeiten von Mutationen . . . . .	256		Photoreaktivierung . . . . .	272
11.2.4 Spontan auftretende Mutationen . . . . .	257		Nucleotid-Exzisionsreparatur bei Bakterien . . . . .	272
11.2.5 Hot Spots spontaner Mutationen . . . . .	257		Reparatur durch Rekombination bei Bakterien . . . . .	274
			Nucleotid-Exzisionsreparatur bei Eukaryoten . . . . .	274
<b>11.3 Entstehung und Vermeidung von Mutationen bei der DNA-Synthese . . . . .</b>	<b>260</b>		Überschreitungen ohne Fehler und mit Fehlern . . . . .	276
11.3.1 Falscheinbauten von Deoxyribonucleoti- den . . . . .	260	<b>11.5 Induktion und Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen . . . . .</b>	<b>277</b>	
11.3.2 Korrekturlesen . . . . .	260	11.5.1	DNA-Schäden durch Strahlen . . . . .	277
11.3.3 Falscheinbau von Ribonucleotiden in die DNA . . . . .	260	11.5.2	DNA-Schäden durch gebremste Replika- tionsgabeln . . . . .	278
11.3.4 Mismatch-Reparatur . . . . .	261	11.5.3	Reparatur von Doppelstrangbrüchen . . . . .	278
11.3.5 Entstehung von Indels . . . . .	263	<b>11.6 Zusammenfassung . . . . .</b>	<b>280</b>	
<b>11.4 Mutationen durch Schäden von DNA-Basen . . . . .</b>	<b>264</b>	11.6.1	Literatur . . . . .	282
11.4.1 AP-Stellen und Reparatur . . . . .	264			
Translasionssynthese . . . . .	265			
Basenexzisionsreparatur . . . . .	265			

### Teil 3 Gene und Genprodukte

<b>12 Struktur eukaryotischer Gene . . . . .</b>	<b>285</b>			
<i>Alfred Nordheim</i>				
<b>12.1 Einleitung . . . . .</b>	<b>285</b>	<b>12.5 Pol-III-transkribierte Gene . . . . .</b>	<b>294</b>	
<b>12.2 Definition des Genbegriffs . . . . .</b>	<b>286</b>	12.5.1	Struktur von Pol-III-Genen . . . . .	294
<b>12.3 Pol-I-transkribierte Gene . . . . .</b>	<b>288</b>	12.5.2	Promotoren für die RNA-Polymerase III . . . . .	294
12.3.1 Struktur der Pol-I-transkribierten Gene: rRNA-Gene . . . . .	288	<b>12.6 Exons und Introns . . . . .</b>	<b>295</b>	
12.3.2 Promotoren für die RNA-Polymerase I . . . . .	289	12.6.1	Exon-Intron-Struktur proteincodierender Gene am Beispiel von Globin-Genen . . . . .	295
<b>12.4 Pol-II-transkribierte Gene . . . . .</b>	<b>290</b>	12.6.2	Eigenschaften von Exons und Introns . . . . .	298
12.4.1 Struktur der proteincodierenden Pol-II- transkribierten Gene . . . . .	290	12.6.3	Vorkommen von Introns in eukaryoti- schen Genen . . . . .	298
12.4.2 Promotoren für die RNA-Polymerase II . . . . .	291	12.6.4	Bedeutung von Introns . . . . .	298
12.4.3 Regulatorische Elemente der Pol-II-Gene: Enhancer, Silencer . . . . .	292	<b>12.7 CpG-Inseln . . . . .</b>	<b>299</b>	
Proximale regulatorische Elemente . . . . .	293	<b>12.8 Pseudogene . . . . .</b>	<b>300</b>	
Distale regulatorische Elemente . . . . .	293	<b>12.9 Repetitive DNA-Elemente . . . . .</b>	<b>302</b>	
12.4.4 Nicht-proteincodierende Pol-II-transkri- bierte Gene . . . . .	294	12.9.1	Literatur . . . . .	303

<b>13</b>	<b>Eukaryotische Transkription: Funktion und Regulation der RNA-Polymerasen ..</b>	<b>305</b>	
	<i>Alfred Nordheim</i>		
<b>13.1</b>	<b>Einleitung .....</b>	<b>305</b>	
<b>13.2</b>	<b>Allgemeine Prinzipien der eukaryotischen Transkription .....</b>	<b>305</b>	
13.2.1	RNA-Polymerasen .....	305	
	Funktion der RNA-Polymerasen .....	305	
	Struktur der RNA-Polymerasen .....	306	
13.2.2	Drei Phasen der Transkription .....	309	
13.2.3	Generelle und regulatorische Transkriptionsfaktoren .....	310	
<b>13.3</b>	<b>Das Transkriptionssystem der RNA-Polymerase I .....</b>	<b>312</b>	
13.3.1	Generelle Transkriptionsfaktoren der Pol I .....	312	
13.3.2	Regulation der Pol-I-vermittelten Transkription .....	313	
<b>13.4</b>	<b>Das Transkriptionssystem der RNA-Polymerase II .....</b>	<b>315</b>	
13.4.1	Generelle Transkriptionsfaktoren der Pol II .....	315	
	TFIID .....	315	
	TFIIA und TFIIB .....	318	
	TFIIE und TFIIF .....	318	
	TFIIH .....	318	
	TFIIS .....	320	
13.4.2	Interaktion von Transkriptionsfaktoren während der unterschiedlichen Phasen der Transkription .....	320	
	Zusammenbau des Präinitiationskomplexes (PIC) .....	320	
	Initiation der Transkription .....	320	
	Elongationsphase der Transkription .....	321	
	Terminierung der Transkription .....	323	
13.4.3	Regulation der Pol-II-vermittelten Transkription .....	323	
<b>13.5</b>	<b>Das Transkriptionssystem der RNA-Polymerase III .....</b>	<b>324</b>	
13.5.1	Zusammenbau des Präinitiationskomplexes .....	325	
13.5.2	Regulation der Pol-III-vermittelten Transkription .....	326	
<b>13.6</b>	<b>Regulation eukaryotischer Transkription durch die Struktur des Chromatins</b>	<b>326</b>	
<b>13.7</b>	<b>Struktur motive von DNA-bindenden Proteinen .....</b>	<b>328</b>	
13.7.1	Homöodomäne .....	328	
13.7.2	Basische Helix-Loop-Helix-Domäne (bHLH-Domäne) .....	329	
13.7.3	Basische Leucin-Zipper-Domäne (bZip-Domäne) .....	330	
13.7.4	Zinkfingermotiv .....	331	
13.7.5	Schleifenmotiv .....	332	
<b>13.8</b>	<b>Das Transkriptom der eukaryotischen Zelle .....</b>	<b>332</b>	
13.8.1	Literatur .....	334	
<b>14</b>	<b>Signalgesteuerte Genregulation .....</b>	<b>336</b>	
	<i>Alfred Nordheim</i>		
<b>14.1</b>	<b>Einleitung .....</b>	<b>336</b>	
<b>14.2</b>	<b>Prinzipien der intrazellulären Signalübertragung .....</b>	<b>336</b>	
<b>14.3</b>	<b>MAPK-Signalkaskade: Genaktivierung innerhalb von Sekunden .....</b>	<b>337</b>	
<b>14.4</b>	<b>cAMP-Signalgebung: CREB als Effektor des sekundären Botenstoffs cAMP .....</b>	<b>339</b>	
<b>14.5</b>	<b>Aktindynamik: Kommunikation zwischen Cytoskelett und Genom durch MRTF/SRF .....</b>	<b>342</b>	
<b>14.6</b>	<b>Cytokinsignalgebung .....</b>	<b>343</b>	
14.6.1	JAK/STAT-Signalkaskade .....	343	
14.6.2	Aktivierung von NF- $\kappa$ B .....	344	
<b>14.7</b>	<b>TGF<math>\beta</math>-Signalgebung: SMADs als regulatorische Transkriptionsfaktoren .....</b>	<b>346</b>	
<b>14.8</b>	<b>Wnt-Signalkaskade: <math>\beta</math>-Catenin als Transkriptionsfaktor .....</b>	<b>347</b>	
<b>14.9</b>	<b>Sauerstoff: HIF als Sensor und Transkriptionsfaktor .....</b>	<b>349</b>	
<b>14.10</b>	<b>Steroide: nucleäre Hormonrezeptoren regulieren die Genexpression .....</b>	<b>350</b>	
<b>14.11</b>	<b>Signalgebung durch Abbau von Proteinen im Proteasom .....</b>	<b>355</b>	
14.11.1	Literatur .....	356	

<b>15</b>	<b>RNA-Prozessierung</b> .....	358		
	<i>Alfred Nordheim</i>			
<b>15.1</b>	<b>Einleitung</b> .....	358	<b>15.3.3</b>	Polyadenylierung am 3'-Ende .....
<b>15.2</b>	<b>Prozessierung von prä-rRNA</b> .....	358	<b>15.3.4</b>	mRNA-Editing .....
<b>15.3</b>	<b>Prozessierung von prä-mRNA</b> .....	359	<b>15.3.5</b>	Koordination von Transkription und mRNA-Prozessierung .....
15.3.1	Capping am 5'-Ende .....	359	<b>15.3.6</b>	mRNA-Stabilität und Abbau.....
15.3.2	Spleißen .....	360		mRNA-Abbau durch destabilisierende Sequenzen .....
	Grundlagen zum Spleißmechanismus .....	361		Qualitätskontrolle und Eliminierung geschädigter mRNA .....
	Komponenten des Spleißapparats: das Spleißosom, ein komplexer snRNP .....	363	<b>15.3.7</b>	mRNA-Export aus dem Zellkern .....
	Aufbau des Spleißosoms und Ablauf des Spleißens .....	364	<b>15.4</b>	<b>Prozessierung von prä-tRNA</b> .....
	Selbstspleißen .....	367	15.4.1	Literatur .....
	Alternatives Spleißen .....	371		
	<i>trans</i> -Spleißen .....	374		
	Regulation des Spleißens .....	375		
<b>16</b>	<b>Translation: Proteinsynthese in Eukaryoten</b> .....	390		
	<i>Gunter Meister</i>			
<b>16.1</b>	<b>Einleitung</b> .....	390	<b>16.3.1</b>	Initiation der Translation in Eukaryoten ..
<b>16.2</b>	<b>Das eukaryotische Ribosom</b> .....	390	<b>16.3.2</b>	Elongation, Termination und Ribosomenrecycling .....
16.2.1	Aufbau des eukaryotischen Ribosoms ...	390	<b>16.3.3</b>	Peptidsynthese .....
16.2.2	Biogenese des eukaryotischen Ribosoms..	391		Literatur .....
16.2.3	snoRNAs ( <i>small nucleolar RNAs</i> ).....	391		
<b>16.3</b>	<b>Ablauf der eukaryotischen Translation</b> ..	392		
<b>17</b>	<b>Regulation der eukaryotischen Translation</b> .....	398		
	<i>Gunter Meister</i>			
<b>17.1</b>	<b>Einleitung</b> .....	398	<b>17.4</b>	<b>Translation von sezernierten oder membranständigen Proteinen</b> .....
<b>17.2</b>	<b>Regulation der eukaryotischen Translationsinitiation</b> .....	398	17.4.1	Komponenten der Proteintranslokationsmaschinerie .....
17.2.1	Regulation auf der Ebene der mRNA-Sequenz .....	398	17.4.2	Proteintranslokation.....
17.2.2	Regulation von eIF4E .....	399	<b>17.5</b>	<b>Nonsense-vermittelter mRNA-Abbau (NMD)</b> .....
17.2.3	Regulation von eIF2.....	400	17.5.1	NMD-Komponenten .....
<b>17.3</b>	<b>IRES – Initiation ohne Cap-Struktur</b> ....	401	17.5.2	Identifizierung eines PTCs und der Mechanismus des NMDs .....
			17.5.3	NMD in der Hefe .....
				Literatur .....

<b>18</b>	<b>Regulatorische RNAs</b> .....	409	
	<i>Gunter Meister</i>		
<b>18.1</b>	<b>Einleitung</b> .....	409	<b>18.5</b>
<b>18.2</b>	<b>RNA-Interferenz (RNAi)</b> .....	409	<b>Das CRISPR-System: eine Verteidigungslinie von Bakterien gegen Phagen</b> .....
18.2.1	siRNAs ( <i>short interfering RNAs</i> ) .....	410	18.5.1
18.2.2	Mechanismen der RNA-Interferenz .....	410	Genomische Organisation eines CRISPR-Locus .....
<b>18.3</b>	<b>Genregulation durch mikroRNAs</b> .....	411	18.5.2
18.3.1	MikroRNA-Gene .....	411	CRISPR-Aktivität und Phagenabwehr .....
18.3.2	Biogenese von mikroRNAs .....	412	<b>18.6</b>
	Regulation der miRNA-Biogenese .....	413	<b>Lange, nicht-codierende RNAs (lncRNAs)</b> .....
18.3.3	Funktion von miRNAs .....	413	18.6.1
18.3.4	Virale miRNAs .....	416	lncRNA-Gene .....
<b>18.4</b>	<b>piRNAs</b> .....	416	18.6.2
			Dosiskompensation und lncRNAs .....
			18.6.3
			Genomische Prägung ( <i>Imprinting</i> ) und lncRNAs .....
			18.6.4
			HOTAIR und lncRNAs .....
			Literatur .....
<b>19</b>	<b>Gene in Mitochondrien und Chloroplasten</b> .....	422	
	<i>Rolf Knippers</i>		
<b>19.1</b>	<b>Einleitung</b> .....	422	Einfügen von Nucleotiden: RNA-Editing in Mitochondrien von Trypanosomen .....
<b>19.2</b>	<b>DNA in Mitochondrien</b> .....	422	19.2.10
19.2.1	Mütterliche Vererbung .....	424	Evolution von Eukaryoten und Endosymbiosen .....
19.2.2	mtDNA des Menschen .....	424	<b>19.3</b>
19.2.3	Expression mitochondrialer Gene .....	426	<b>DNA in Chloroplasten</b> .....
19.2.4	Der genetische Code in Mitochondrien .....	427	19.3.1
19.2.5	Replikation mitochondrialer DNA .....	427	Allgemeine Merkmale der Chloroplasten-DNA .....
19.2.6	Mitochondriale Krankheiten .....	428	19.3.2
19.2.7	Sequenzunterschiede mitochondrialer Genome .....	429	Anordnung und Funktion der Gene auf der ctDNA .....
19.2.8	Formen mitochondrialer DNA .....	429	19.3.3
19.2.9	RNA-Editing in Mitochondrien .....	431	Expression von Genen auf der ctDNA .....
	C→U-Austausch in mitochondrialer RNA .....	431	Literatur .....
<b>Teil 4</b>	<b>Epigenetik</b>		
<b>20</b>	<b>Epigenetische Mechanismen</b> .....	443	
	<i>Jörn Walter</i>		
<b>20.1</b>	<b>Einleitung</b> .....	443	<b>20.3.2</b>
<b>20.2</b>	<b>Molekulare Grundlagen: Modifikation chromosomaler DNA und Proteine</b> .....	443	Histonmodifikationen und Genomstruktur .....
<b>20.3</b>	<b>Histonmodifikationen und epigenetische Prozesse</b> .....	444	<b>20.3.3</b>
20.3.1	Histonmodifikationen als epigenetisches Gedächtnis .....	446	Modelle der Vererbbarkeit von Histonmodifikationen .....
			<b>20.3.4</b>
			Epigenetische Steuerung der Entwicklung durch PRC-Komplexe .....
			<b>20.3.5</b>
			Etablierung von ortsspezifischem Heterochromatin durch histonmodifizierende Enzyme .....

<b>20.4</b>	<b>Regulatorische RNAs und epigenetische Prozesse</b> .....	450	20.5.5	Einfluss der DNA-Methylierung auf die genetische Information .....	456
<b>20.5</b>	<b>DNA-Methylierung</b> .....	451	20.5.6	Methylierung der „richtigen“ DNA-Sequenzen .....	457
20.5.1	Vorkommen und allgemeine Prinzipien ..	451	20.5.7	RNA-abhängige DNA-Methylierung .....	458
20.5.2	Oxidierete Modifikationsformen von 5-Methylcytosin .....	453	<b>20.6</b>	<b>Epigenomforschung: ein Ausblick</b> .....	458
20.5.3	Auswirkung der DNA-Methylierung im Genom .....	453	20.6.1	Literatur .....	458
20.5.4	Welche Enzyme kontrollieren die DNA-Methylierung? .....	455			
<b>21</b>	<b>Epigenetische Kontrolle biologischer Prozesse</b> .....	460			
	<i>Jörn Walter</i>				
<b>21.1</b>	<b>Einleitung</b> .....	460	<b>21.3</b>	<b>Epigenetische Kontrolle der X-chromosomalen Gendosis</b> .....	464
<b>21.2</b>	<b>Genomweite epigenetische Reprogrammierung und Entwicklungsprozesse in Säugetieren</b> .....	460	<b>21.4</b>	<b>Genomische Prägung</b> .....	467
21.2.1	Epigenetische Reprogrammierung im frühen Embryo .....	460	21.4.1	Genomische Prägung in der medizinischen Genetik .....	470
21.2.2	Reprogrammierung in der Keimbahn .....	463		Literatur .....	471
<b>Teil 5</b>	<b>Genomik</b>				
<b>22</b>	<b>Von der Genkarte zur Genomsequenz</b> .....	475			
	<i>Martin Vingron/Rolf Knippers</i>				
<b>22.1</b>	<b>Einleitung</b> .....	475	<b>22.3</b>	<b>Sequenzierung von Genomen</b> .....	484
<b>22.2</b>	<b>Organisation von Genomen</b> .....	475	22.3.1	Schrotschuss-Sequenzierung .....	484
22.2.1	Biologische Genkarten .....	475	22.3.2	Hochdurchsatz-Sequenzierung .....	486
22.2.2	Biologische Genkarte des Menschen .....	477	<b>22.4</b>	<b>Annotierung sequenzierter Genome</b> .....	487
22.2.3	Von der biologischen zur physikalischen Genkarte .....	480	22.4.1	Beispiele für Genomannotierungen .....	487
			22.4.2	Evolution von Genomen .....	490
			22.4.3	Ausblick .....	491
				Literatur .....	492
<b>23</b>	<b>Funktionelle Genomik</b> .....	494			
	<i>Martin Vingron</i>				
<b>23.1</b>	<b>Einleitung</b> .....	494	23.2.2	Proteomik .....	499
<b>23.2</b>	<b>Expressionsanalytik</b> .....	494		Massenspektrometrie .....	499
23.2.1	Transkriptomik .....	494	<b>23.3</b>	<b>Funktionelle Analytik</b> .....	499
	Chip-Technologie .....	495	23.3.1	<b>Yeast two hybrid</b> -System .....	499
	Tiling-Arrays .....	497	23.3.2	Bestimmung der Bindungsstellen von Proteinen im Chromatin .....	501
	Analyse der Genexpression durch RNA-Sequenzierung .....	498	23.3.3	Systematischer Knock-down von Genen ..	502
	RNA-Analytik über quantitative RT-PCR .....	498		Literatur .....	504
	Computergestützte Analyse von Genexpressionsdaten .....	498			

<b>24</b>	<b>Variabilität des Genoms</b> .....	506		
	<i>Rolf Knippers</i>			
<b>24.1</b>	<b>Einleitung</b> .....	506	<b>24.4</b>	<b>Mikrosatelliten-Polymorphismen</b> .....
<b>24.2</b>	<b>Einzelnucleotid-Polymorphismen (SNPs)</b> .....	506	24.4.1	Mikrosatelliten-DNA zur Identifizierung von Personen .....
24.2.1	SNPs als DNA-Marker .....	508	24.4.2	Mikrosatelliten in Genen: Trinucleotidfolgen .....
24.2.2	Haplotypen .....	510	<b>24.5</b>	<b>Retrotransposon-Insertionspolymorphismen (RIPs)</b> .....
24.2.3	DNA-Chips .....	510	24.5.1	Literatur .....
24.2.4	Genotypisierung .....	511		
<b>24.3</b>	<b>Kopienzahl-Varianten (CNVs)</b> .....	513		
<b>Teil 6</b>	<b>Schlüsseltechnologien</b>			
<b>25</b>	<b>Bioinformatik</b> .....	523		
	<i>Martin Vingron</i>			
<b>25.1</b>	<b>Einleitung</b> .....	523	<b>25.6</b>	<b>Sequenzierung und Genom-Assemblierung</b> .....
<b>25.2</b>	<b>Sequenzvergleich</b> .....	523	<b>25.7</b>	<b>Genvorhersage</b> .....
25.2.1	Dotplot und Alignment .....	523	<b>25.8</b>	<b>Proteinstrukturvorhersage und Homologiemodellierung</b> .....
25.2.2	Datenbank-Recherche .....	525	<b>25.9</b>	<b>Molekulare Evolution und phylogenetische Stammbäume</b> .....
<b>25.3</b>	<b>Hochdurchsatz-Sequenzierung und die Kartierung der Teilsequenzen</b> .....	525	25.9.1	Literatur .....
<b>25.4</b>	<b>Information in Genfamilien</b> .....	526		
<b>25.5</b>	<b>Regulatorische DNA-Elemente</b> .....	526		
<b>26</b>	<b>DNA-Analysen</b> .....	531		
	<i>Rolf Knippers</i>			
<b>26.1</b>	<b>Einleitung</b> .....	531	<b>26.4</b>	<b>DNA-Sequenzierung</b> .....
<b>26.2</b>	<b>Polymerasekettenreaktion (PCR)</b> .....	531	26.4.1	DNA-Sequenzierung nach der Kettenabbruch- oder Dideoxymethode .....
<b>26.3</b>	<b>Gentechnik oder das Klonieren von DNA-Fragmenten</b> .....	531	26.4.2	Sequenziermethoden der nächsten Generation .....
26.3.1	Traditionelles Klonieren und Herstellung von Genombibliotheken .....	532	<b>26.5</b>	<b>Expressionsanalytik durch RNA-Seq</b> ...
26.3.2	cDNA-Klonieren .....	535	26.5.1	Literatur .....
26.3.3	PCR-Klonieren .....	536		

<b>27</b>	<b>Funktionelle Genomanalysen</b> .....	543		
<b>27.1</b>	<b>Einleitung</b> .....	543	<b>27.4</b>	<b>Induzierte pluripotente Stammzellen (iPS-Zellen)</b> .....
				<i>Jörn Walter</i>
<b>27.2</b>	<b>RNA-Interferenz: siRNA/shRNA-Screens</b> .....	543		
	<i>Gunter Meister</i>		<b>27.5</b>	<b>Proteomanalyse</b> .....
				<i>Alfred Nordheim</i>
<b>27.3</b>	<b>Knock-out-Technologie: homologe Rekombination im Genom der Maus</b> ..	545	<b>27.5.1</b>	<b>Literatur</b> .....
	<i>Alfred Nordheim</i>			550
	<b>Glossar einiger Begriffe aus der klassischen Genetik</b> .....	552		
	<b>Sachverzeichnis</b> .....	554		





© AM Design – Fotolia.com

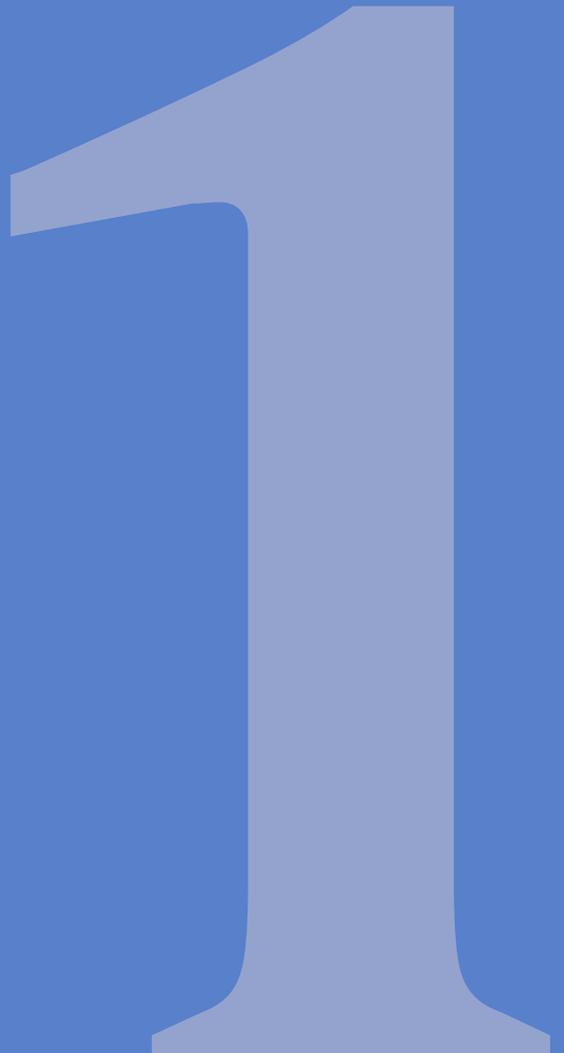
## Teil 1 Grundlagen

1	Lebensformen: Zellen mit und ohne Kern	23
2	DNA: Träger der genetischen Information	29
3	RNA: Überträger und Regulator der genetischen Information	51
4	Proteine: Funktionsträger der Zelle	57
5	Transkription, Translation und der genetische Code	69
6	<i>Escherichia coli</i> und der Bakteriophage Lambda: Gene und Genexpression	99
7	DNA im Zellkern: Chromatin und Chromosomen	141

# Kapitel 1

## Lebensformen: Zellen mit und ohne Kern

1.1	Einleitung	23
1.2	Eukaryoten	24
1.3	Prokaryoten	26



# 1 Lebensformen: Zellen mit und ohne Kern

Rolf Knippers

## 1.1 Einleitung

Seit einigen Jahrzehnten wird die Genetik geprägt durch Informationen über die molekulare Struktur des Erbguts (des Genoms) von immer mehr und immer komplexeren Organismen. Genauer gesagt, geht es um die Reihenfolgen („Sequenzen“) der Bausteine („Basen oder Nucleotide“) in den fadenförmigen DNA-Molekülen, die die Träger der Gene sind. Die DNA ist der universelle Träger der genetischen Information aller Organismen auf der Erde. Jeder Organismus besitzt ein Genom. Als **Genom** bezeichnet man die Gesamtheit der genetischen Information eines Organismus.

Wir werden später lernen, wie die Informationen in den Sequenzen der Nucleinsäurebasen aussehen, wie sie gedeutet werden und welche Methoden man dabei einsetzt.

An dieser Stelle ist das folgende Ergebnis wichtig: Ein Vergleich von DNA-Sequenzen zeigt, dass sich die Lebewesen auf der Erde in **drei große Reiche oder Domänen** ordnen lassen:

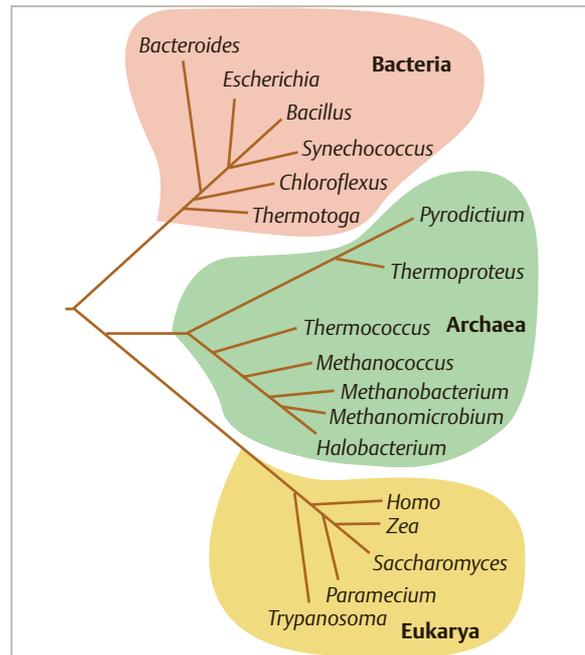
- Bakterien (Bacteria)
- Archaeen (Archaea)
- Eukaryoten (Eukarya)

Zu den Eukaryoten gehören alle Pflanzen und Tiere, dazu Hefen, Protozoen und andere einzellige Protisten.

Mithilfe computergestützter Analysen können die Vergleiche von Genomsequenzen unterschiedlicher Organismen in der Form eines Baumes dargestellt werden (► Abb. 1.1). Das Bild deutet die **Verwandtschaftsverhältnisse** an: Je ähnlicher die DNA-Sequenzen sind, desto enger müssen die untersuchten Organismen verwandt sein, und umgekehrt.

Die Darstellung der ► Abb. 1.1 ist eine Vereinfachung, die wir uns hier gestatten, um eine erste Ordnung in die Welt des Lebendigen zu bringen. In der Wirklichkeit der Evolution hat es einen Austausch von Genen zwischen den verschiedenen Zweigen des Stammbaums gegeben, vor allem zwischen den verschiedenen Zweigen des Bakterienastes, zudem zwischen Bakterienästen und Archaeenästen.

Die Erkenntnis, dass die lebende Welt aus drei Reichen oder Domänen besteht, hat sich erst seit den späten 1970er-Jahren in der Wissenschaft durchgesetzt. Vorher verließ man sich weitgehend auf eine einfache Betrachtung mit dem Mikroskop. Dies zeigt, dass Eukaryotenzellen größer sind als Bakterien und Archaeen (► Abb. 1.2) und vor allem dass sie ein vielgestaltetes Inneres haben mit einem auffälligen, meist kugelförmigen Gebilde, dem (Zell-)Kern.



**Abb. 1.1 Lebensformen.** Die ursprünglichen Daten, die dieser Konstruktion der Verwandtschaftsverhältnisse zugrunde liegen, stammen aus den Vergleichen eines bestimmten und allgemein verbreiteten DNA-Abschnitts, nämlich eines Gens für ribosomale RNA [1]. Ribosomale RNA ist ein Bestandteil von Ribosomen (S. 80), den kompliziert zusammengesetzten molekularen Maschinen, die den Bau von Proteinen durchführen. Die Berücksichtigung nur eines einzigen Gens ist eine starke Einschränkung, doch Vergleiche der Sequenzen vieler Gene bei vielen Organismen, oder gar Vergleiche kompletter Genomsequenzen verschiedener Organismen, kommen zu ähnlichen Ergebnissen [2]. (nach Olsen GJ, Woese CR (1997) Archaeal genomics: an overview. Cell 89: 991–994)

Daher stammt ihre Bezeichnung. **Eukaryot** heißt: mit einem echten oder richtigen Kern ausgestattet (von *eu*, griech. echt; und *karyos*, griech. Kern). Bakterien und Archaeen besitzen keinen Kern. Deswegen fasst man sie unter der Bezeichnung **Prokaryoten** zusammen.

Betrachtungen mit dem Elektronenmikroskop oder Analysen mit den Methoden der Zell- und Molekularbiologie ergeben eine Vielzahl von Unterschieden zwischen Eukaryoten und Prokaryoten – und bei den Prokaryoten dann wieder zwischen Bakterien und Archaeen. Für die Zwecke dieses Buches ist von Interesse, dass sich die drei großen Reiche des irdischen Lebens in grundlegenden genetischen Strukturen und Funktionen unterscheiden.

**Definition**

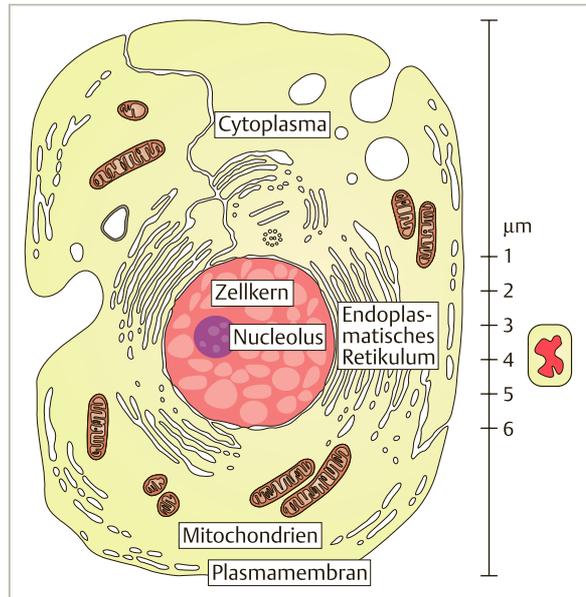
Als **Genom** bezeichnet man die Gesamtheit der genetischen Information eines Organismus.

**1.2 Eukaryoten**

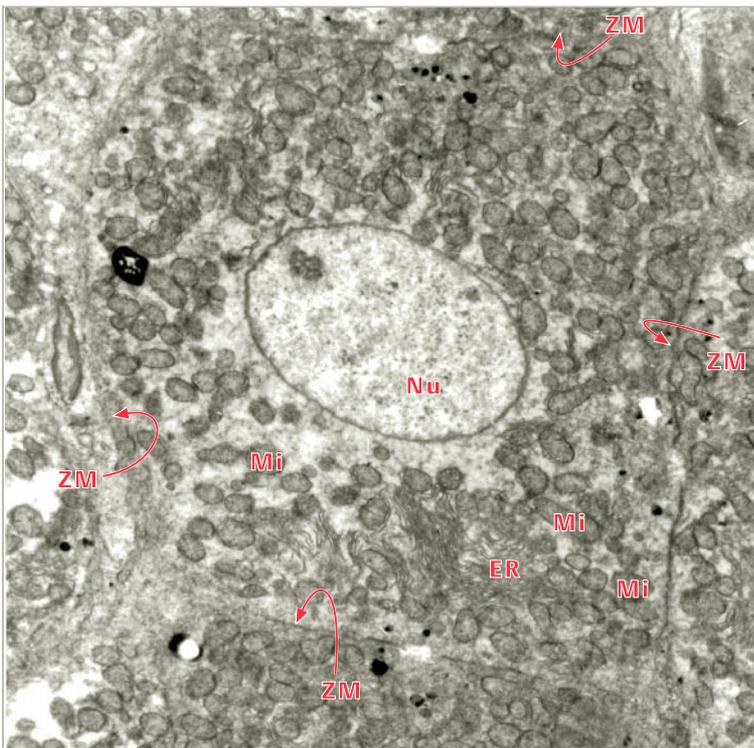
Wir betrachten die einfache Skizze (► Abb. 1.2) und daneben die elektronenmikroskopische Aufnahme einer Säugtierzelle (► Abb. 1.3). Wie gesagt, ist das auffälligste Gebilde im Innern der Zelle der **Kern**. In der englischen Wissenschaftssprache wird das lateinische Wort für Kern, *Nucleus*, verwendet. Daraus leitet sich das Adjektiv ab, das auch in diesem Buch oft benutzt wird: nucleäre DNA, nucleäre RNA, oder nucleäre Proteine.

Die Funktion des Zellkerns ist die **Aufbewahrung der DNA**. Mit diesem Satz bringen wir etwas zum Ausdruck, was alles andere als trivial ist, wie einem leicht klar wird, wenn man sich die Dimensionen vor Augen führt.

Kerne in den meisten menschlichen Zellen haben einen Durchmesser zwischen 5 und 20 Mikrometer ( $10^{-6}$  m;  $\mu\text{m}$ ) (► Tab. 1.1). Sie umschließen DNA-Fäden mit einem Durchmesser von etwa 2 Nanometern ( $10^{-9}$  m; nm) und einer Gesamtlänge von 2 Metern. Um sich die Verhältnisse vorstellen zu können, multiplizieren wir die wirklichen Dimensionen mit dem Faktor von einer Million. Die DNA würde dann einer kräftigen Angelschnur mit einer Länge von 2000 km entsprechen. Die Schnur reichte also von



**Abb. 1.2 Größenvergleiche.** Das Schema einer tierischen Zelle mit dem Kern als dem prominenten Bestandteil und mit zahlreichen anderen Strukturen. Daneben ein Bakterium, etwa von der Art *Escherichia coli*, die in der molekularen Genetik eine wichtige Rolle spielt.



**Abb. 1.3 Querschnitt durch eine tierische Zelle.** Leberzelle der Ratte. Vergrößerung ca. 5 000  $\times$ . Beachte die dichte Packung der mehr als 1000 Mitochondrien einer Leberzelle. Eine weitere Besonderheit von Leberzellen sind die schwarzen Partikel, von Fachleuten als *peribiliary dense bodies* bezeichnet. Sie befinden sich in der Nähe von Gallenkapillaren und stellen Lysosomen dar, gefüllt mit Abbauprodukten von Lipiden. Nu = Zellkern (Nucleus), ER = endoplasmatisches Retikulum, Mi = Mitochondrien; ZM = Zellmembran. (Aufnahme: H. Plattner, Konstanz)

Tab. 1.1 Größenordnungen/Zehnerpotenzen.

Bezeichnung	Umrechnung	Beispiele für eine Verwendung in genetischen Zusammenhängen
G = giga	$10^9$	Größe der menschlichen DNA: 3 Milliarden Basenpaare oder 3 Gb (Gigabasen)
M = mega	$10^6$	Größe der DNA mancher Bakterien: 4 Millionen Basenpaare oder 4 Mb (Megabasen)
k = kilo	$10^3$	Viele menschliche Gene sind größer als 100 000 Basenpaare oder 100 kb (Kilobasen)
m = milli	$10^{-3}$	Eine menschliche Eizelle hat einen Durchmesser von 0,15 mm (Millimeter)
$\mu$ = mikro	$10^{-6}$	Die Bakterienart <i>Escherichia coli</i> hat die Form eines stumpfen Stäbchens mit einer Länge von etwa 2 $\mu$ m (Mikrometer)
n = nano	$10^{-9}$	Der Durchmesser einer DNA beträgt 2 nm (Nanometer). Viele Biologen, insbesondere Strukturforscher, benutzen die Maßeinheit Å (Ångström): 1 Å entspricht 0,1 nm. Sie sagen deswegen: Der Durchmesser einer DNA beträgt 20 Å.

Konstanz nach Rostock und zurück und müsste zu einer Kugel mit dem Durchmesser von 5 m geknäuelt, gefaltet oder gestaucht werden.

Ein großer Teil des Kap. 7 wird darstellen, wie die strukturelle Organisation der DNA-Fäden in der Zelle realisiert ist. Dort werden wir auch lesen, dass der Zellkern von einer doppelten Lipidhülle umgeben ist, von denen die äußere in das komplexe cytoplasmatische Membransystem des endoplasmatischen Retikulums (ER) außerhalb des Kerns übergeht.

Der Raum der Zelle außerhalb des Kerns ist das **Cytoplasma**. Das Cytoplasma ist von einem komplexen, vernetzten Membransystem durchsetzt, dem **Endomembransystem**, zu dem u. a. das ER gehört. Weiterhin ist das Cytoplasma von netzwerkähnlichen Gerüststrukturen langkettiger Proteinmoleküle durchzogen, dem **Cytoskelett**. Eine Gruppe dieser Proteinmoleküle bestimmt als **Aktinmikrofilament** Form und Beweglichkeit der Zelle, andere Proteinmoleküle bilden das **Intermediärfilament** und verleihen der Zelle Stabilität.

Das Cytoplasma enthält mehrere Arten von kompliziert aufgebauten, membranumschlossenen Körperchen, den Organellen. Dazu gehören z. B. die Lysosomen und Peroxisomen. Das auffälligste der Organellen ist das **Mitochondrium**. Die meisten Eukaryotenzellen haben mehrere, bis über 1000 Mitochondrien, die zum Teil schlauchförmig verbunden sind. Ihre Aufgabe ist die Verwendung von Sauerstoff für die Produktion des universellen biologischen Energieträgers, **Adenosintriphosphat**, kurz **ATP**, aus Nährstoffen, die von außen in die Zelle transportiert werden. Für die Genetik ist wichtig: **Mitochondrien enthalten DNA** als Träger von Genen mit der Information zur Herstellung einiger mitochondrialer Proteine. Mitochondriale DNA macht meist weniger als 0,1% der Gesamtmenge der DNA einer Zelle aus. Aber die mitochondriale DNA ist notwendig für das Leben der Zelle. Im Kap. 19 werden die Struktur und die Aufgaben der DNA in Mitochondrien ausführlich beschrieben.

**Pflanzenzellen** besitzen außer den Mitochondrien noch eine zweite Gruppe DNA-tragender Organellen, **Chloroplasten** (► Abb. 1.4). Das sind die Orte der Photosynthese, in denen das  $\text{CO}_2$  der Luft fixiert wird und die Synthese von Kohlenhydraten erfolgt. Auch über die DNA

von pflanzlichen Chloroplasten werden wir im Kap. 19 Genauer erfahren.

Pflanzenzellen unterscheiden sich von Tierzellen noch durch mindestens zwei andere typische Merkmale (► Abb. 1.4):

- Anders als Tierzellen, die von einer Cytoplasmamembran in Form einer Lipiddoppelschicht mit vielen eingelagerten Proteinen umgeben sind, besitzen Pflanzenzellen zusätzlich eine starre **Zellwand** mit Cellulose als Grundgerüst, das der Cytoplasmamembran von außen aufliegt.
- Pflanzenzellen enthalten oft große, flüssigkeitsgefüllte **Vakuolen**, die den Zellkern gegen die starre Zellwand drängen und dabei dessen Form verändern können.

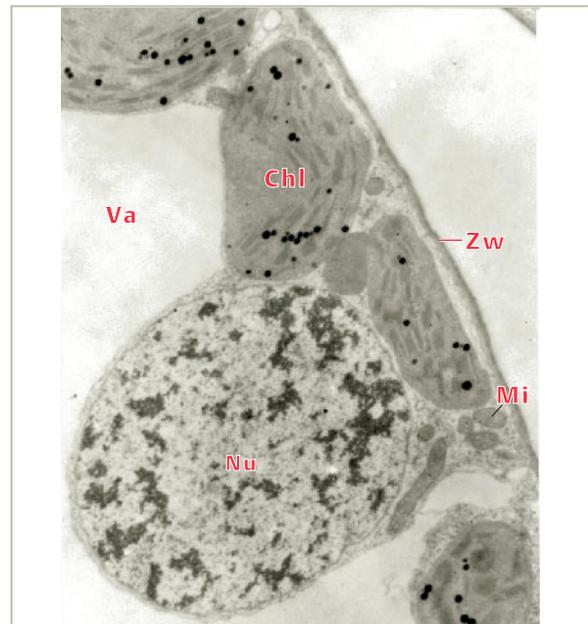


Abb. 1.4 Querschnitt durch eine Pflanzenzelle (Ausschnitt). Vergleiche die schematische Zeichnung einer Pflanzenzelle in der ► Abb. 19.12. Nu = Zellkern (Nucleus), Mi = Mitochondrien, Chl = Chloroplasten, Zw = Zellwand, Va = Vakuole. (Aufnahme: K. Mendgen, Konstanz)

**Merke**

**Tierzellen** haben zwei genetische Systeme, eines im Zellkern und ein weiteres in Mitochondrien.

**Pflanzenzellen** haben dazu noch ein drittes genetisches System in Chloroplasten.

## 1.3 Prokaryoten

Im Gegensatz zu den Eukaryoten besitzen Prokaryoten, also **Bakterien** und **Archaeen**, keine Organellen. Ihre DNA ist nicht von Membranen umgeben, sondern liegt als freies Knäuel im Zellinnern (► Abb. 1.5). Das Cytoplasma ist nicht durch ein Membransystem oder ein Cytoskelett organisiert. Es ist nach außen von einer Cytoplasmamembran begrenzt, in der u. a. auch energieliefernde Prozesse ablaufen, vergleichbar den Prozessen, die sich bei Eukaryoten in den Mitochondrien abspielen. Bei den meisten Bakterien liegt zusätzlich eine feste Zellwand außen auf der bakteriellen Cytoplasmamembran.

Im Laufe der Evolution hat sich eine bis heute noch nicht überschaubare Zahl an Bakterienarten entwickelt, die sich an viele, oft extreme ökologische Bedingungen angeglichen haben und deswegen ungewöhnliche Stoffwechselleistungen bringen müssen. Das zeigt sich nicht zuletzt daran, dass viele Bakterienarten mit oder ohne Sauerstoff und unter extrem heißen oder sauren Bedingungen leben und sich vermehren können.

In den Labors der Molekulargenetiker werden meist nur wenige Bakterienarten untersucht. Besonders popu-

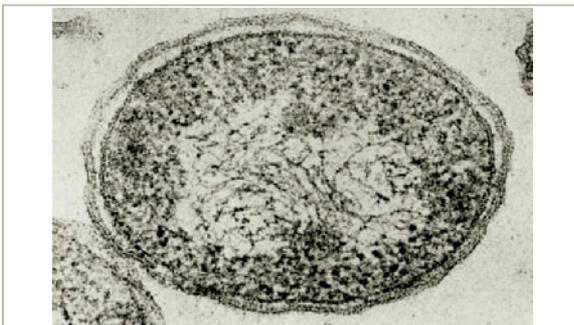


Abb. 1.5 Schnitt durch eine Bakterienzelle. Endvergrößerung ca. 200 000 ×. Beachte das zentral gelegene hantelförmige DNA-Knäuel (hell) und die drei Schichten der Zellhülle: erstens die als Doppellinie sichtbare äußere Membran, zusammengesetzt aus Lipopolysacchariden, Phospholipiden und porenbildenden Proteinen, die die Passage kleiner Moleküle wie Zucker und Aminosäuren erlauben, aber große Moleküle wie Proteine zurückhalten, zweitens die dicht darunter als Einzellinie erkennbare starre Peptidoglykanschicht und drittens die Cytoplasmamembran, eine Lipiddoppelschicht, in der viele verschiedene Proteinarten eingelagert sind, darunter solche, die den Transport von Nährstoffen und Salzen steuern. (Aufnahme: H. Frank, Tübingen, 1975)

lär ist die Bakterienart **Escherichia coli** (*E. coli*). Arbeiten über *E. coli* haben das Fundament der heutigen Molekulargenetik gelegt. Deswegen wird dessen Genetik im Kap. 6 gesondert zur Sprache kommen.

In eng abgegrenzten biologischen Räumen (Biotopen) finden sich charakteristische Mischungen (Populationen) verschiedener Bakterienarten. Solche biotopspezifischen Populationen unterschiedlicher mikrobieller Organismen werden als **Mikrobiome** bezeichnet. Beispielhaft genannt seien die Mikrobiome des Erdbodens in der Umgebung pflanzlicher Wurzeln, das Mikrobiom des menschlichen Dickdarms oder das Mikrobiom eines Korallenriffs. Da die einzelnen Bakterienarten eines Mikrobioms oft nicht unter experimentellen Kulturbedingungen gezüchtet werden können, ermöglicht die effiziente Sequenzierung der DNA-Nucleotide der vollständigen Genome von Mikrobiomen eine molekulargenetische Beschreibung der Vielfalt mikrobieller Populationen.

### Definition

Unter dem **Mikrobiom** versteht man die Mischpopulation vieler mikrobieller Arten, die gemeinsam ein spezifisches Biotop bevölkern.

**Archaeen** (oder Archaea, Einzahl: Archaeon, griech. der/das Alte) vereinigen Eigenschaften von Bakterien, insbesondere, was ihre Stoffwechselleistungen angeht, mit Eigenschaften von Eukaryoten, vor allem in der Art, wie ihre Gene aufgebaut sind, wie die Information der Gene genutzt wird und wie Gene von Generation zu Generation weitergegeben werden.

Eine Existenz in extremen Umwelten ist das besondere Merkmal der Archaeen. Dazu gehören

- die Methanobacteria, die CO<sub>2</sub> zu Methan reduzieren können,
- die Halobacteria, die sich in gesättigten Salzlösungen vermehren, und
- die Thermokokken mit Temperaturoptima von bis zu 100 °C oder darüber sowie Organismen mit Vorlieben für extrem alkalische oder extrem saure Umgebungen.

Mikrobiologen untersuchen diese Lebensformen mit viel Aufmerksamkeit. Ein Grund dafür ist ihre Bedeutung für die Biotechnologie. Zum Beispiel liefern thermophile Organismen nützliche temperaturresistente Enzyme und acidophile Organismen können bei der Extraktion wertvoller Metalle aus komplexen Mineralien hilfreich sein.

Ein zweiter Grund ist ihre Bedeutung für alle Überlegungen zur Entstehung des Lebens. Denn die „extremophilen“ Prokaryoten vermehren sich unter Bedingungen, die vermutlich vor drei oder vier Milliarden Jahren auf der Erde geherrscht haben, also zu der Zeit, als sich erstes zelluläres Leben zu entwickeln begann.

Forscher haben mögliche und plausible Szenarien zur Entstehung und frühen Evolution des Lebens auf der Erde entworfen. Davon wird einiges an anderen Stellen des Buches anklingen, aber eine angemessene Beschreibung würde viele Seiten in Anspruch nehmen und den Rahmen dieses Buches überschreiten.

### Merke



Alle Organismen auf der Erde enthalten DNA als universellen Träger der genetischen Information. Das ist ein starkes Argument dafür, dass die Evolution der belebten Natur von einer Urzelle mit DNA als genetischem Material ausging.

## 1.3.1 Literatur

### ► Zitierte Literatur

- [1] Olsen GJ, Woese CR (1997) Archaeal genomics: an overview. *Cell* 89: 991–994
- [2] Blair Hedges S (2002) The origin and evolution of model organisms. *Nat Rev Genet* 3: 838–849

### ► Weiterführende Literatur

- [3] Kutschera U (2008) *Evolutionsbiologie*. 3. Aufl. Uni-Taschenbuch, Stuttgart
- [4] Storch V, Welsch U, Wink M (2013) *Evolutionsbiologie*. 3. Aufl. Springer-Spektrum, Heidelberg

# Kapitel 2

## DNA: Träger der genetischen Information

2.1	Einleitung	29
2.2	Bausteine: Nucleotide	29
2.3	DNA-Doppelhelix	30
2.4	DNA-Helices: Flexibilität	32
2.5	Denaturierung und Renaturierung	34
2.6	Natürliche DNA-Moleküle	37
2.7	DNA-Ringe: Helix und Superhelix	39
2.8	Einige wichtige Methoden zur Untersuchung von DNA	41

## 2 DNA: Träger der genetischen Information

Rolf Knippers

### 2.1 Einleitung

Der Schweizer Forscher **Friedrich Miescher** (1844–1895) hat während seiner Tätigkeit am Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Tübingen als Erster die Substanz „Nuclein“ aus menschlichen Zellen isoliert und später in wissenschaftlichen Aufsätzen beschrieben (1871). Heute weiß man, dass „Nuclein“ ein Gemisch der Nucleinsäuren DNA und RNA war. Miescher legte die Grundlage für die Arbeiten der Chemiker nach ihm, die im Laufe mehrerer Jahrzehnte schließlich die Struktur der DNA- und RNA-Bausteine aufklärten. Hier geht es erst einmal um DNA.

**Oswald T. Avery** (1877–1955) und seine Mitarbeiter an der Rockefeller-Universität (damals: Rockefeller Institute) in New York haben erstmals und eindeutig nachgewiesen, dass DNA der Träger von genetischer Information ist (1944). Ihr Nachweis bestand, vereinfacht zusammengefasst, in der Übertragung vererbbarer Eigenschaften, nämlich Zellwandformationen und Virulenz, von einem Pneumokokken-Stamm auf einen anderen. Die Forscher fanden, dass die Übertragung durch eine „transformierende Substanz“ vermittelt wird und dass diese „Substanz“ nichts anderes als DNA ist.

Anders als man heute im Rückblick vielleicht erwarten würde, hatte die wichtige Entdeckung von Avery zunächst kein besonders großes Echo in der wissenschaftlichen Welt gefunden und Lehrbücher behaupteten noch im Jahr 1950, dass „mit großer Sicherheit gesagt werden kann: Die Erbfaktoren sind große Eiweißmoleküle“, so die Genetikerin Anna-Elise Stubbe in ihrem Buch „Das Rätsel der Vererbung“. Wobei wir zur Erläuterung hinzufügen, dass „Erbfaktor“ das alte Wort für Gen und „Eiweiß“ eine auch heute noch gelegentlich verwendete, aber veraltete deutschsprachige Bezeichnung für Protein ist.

Die Situation änderte sich schnell, als **James D. Watson** und **Francis H. C. Crick** im Jahr 1953 – basierend auf Röntgenbeugungsanalysen von Rosalind Franklin – die Aufklärung der dreidimensionalen Doppelhelixstruktur der DNA veröffentlichten. Denn die Struktur zeigte unmittelbar auf, wie genetische Information gespeichert ist, wie sie von Generation zu Generation weitergegeben und auf welche Weise sie gelegentlich durch Mutationen verändert werden kann.

### 2.2 Bausteine: Nucleotide

Der Träger der Geninformation ist ein Makromolekül mit der Bezeichnung **Deoxyribonucleinsäure**, kurz: DNS oder – gebräuchlicher – DNA (nach der englischen Bezeichnung *deoxyribonucleic acid*).

Als Makromolekül ist die DNA aus Einzelbausteinen zusammengesetzt, den **Nucleotiden**. Das gilt auch für die zweite Art von Nucleinsäuren, nämlich für Ribonucleinsäure oder **RNA** (*ribonucleic acid*), über die ausführlicher im Kap. 3 berichtet wird. Auch RNA ist aus Nucleotiden aufgebaut, die allerdings in einigen Merkmalen von den Nucleotiden in der DNA abweichen.

Jedes Nucleotid hat drei Komponenten (► Abb. 2.1):

- eine Purin- oder eine Pyrimidinbase, die über eine N-glykosidische Bindung an das C1'-Atom einer Zuckerkomponente gebunden ist; die DNA enthält zwei **Purinbasen**, Adenin und Guanin, und zwei **Pyrimidinbasen**, Cytosin und Thymin; in RNA kommt anstelle von Thymin die Pyrimidinbase Uracil vor;
- einen C<sub>5</sub>-Zucker: Deoxyribose in der DNA, Ribose in der RNA;
- einen Phosphatrest, der mit dem C5'-Atom des Zuckers über eine Esterbindung verknüpft ist.

#### Merke

##### Komponenten der DNA:

- Pyrimidinbasen: Cytosin, Thymin; Purinbasen: Adenin, Guanin
- Zucker: Deoxyribose
- Phosphatrest

##### Komponenten der RNA:

- Pyrimidinbasen: Cytosin, Uracil; Purinbasen: Adenin, Guanin
- Zucker: Ribose
- Phosphatrest

Die DNA enthält zwei **Purinbasen**, Adenin und Guanin, und zwei **Pyrimidinbasen**, Cytosin und Thymin. In RNA kommt die Pyrimidinbase Uracil (S.52) anstelle von Thymin vor. Einige Prozent der Cytosinbausteine in der DNA von Tieren und Pflanzen tragen eine Methylgruppe: 5-Methylcytosin. Ein Teil davon trägt eine Hydroxygruppe: 5-Hydroxymethylcytosin. Wir werden später sehen, dass die Methylierung und die Hydroxymethylierung der Cytosine wichtige genetische Konsequenzen haben (Kap. 12 und 20). Die „modifizierte“ Base 5-Methylcytosin findet man auch in der DNA von Bakterien. Überdies kann in der Bakterien-DNA auch ein kleiner Anteil der Adeninreste methyliert sein: 6-Methylaminopurin.

Die Verbindungen von den Purin- oder Pyrimidinbasen mit dem Zucker nennt man **Deoxynucleoside** (in DNA) oder einfach **Nucleoside** (in RNA), die Verbindungen von Nucleosiden und Phosphatresten heißen **Deoxynucleotide** (in DNA) oder einfach **Nucleotide** (in RNA) (s. ► Abb. 2.1).

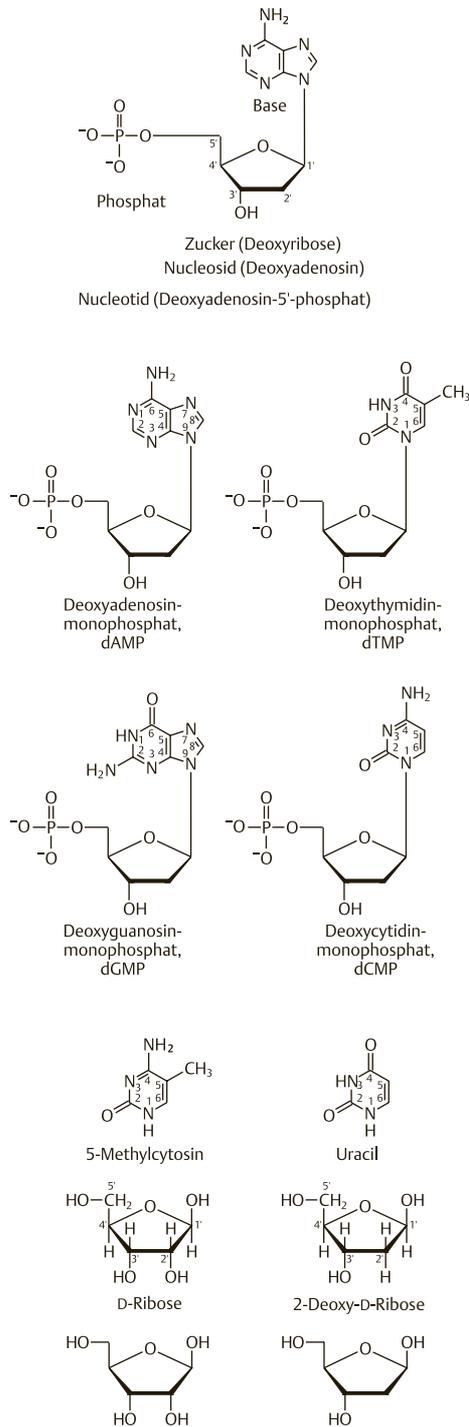


Abb. 2.1 Bausteine von Nucleinsäuren.

**Merke**

**Deoxynucleosid/Nucleosid:** Verbindung von Base und Zucker

**Deoxynucleotid/Nucleotid:** Verbindung von Nucleosid und Phosphatrest

In den natürlichen DNA- oder RNA-Molekülen sind viele Tausend Nucleotide miteinander zu langen unverzweigten Fäden verknüpft, und zwar durch Phosphatbrücken (oder Phosphodiesterbindungen) zwischen dem C5'-Atom des einen und dem C3'-Atom des benachbarten Nucleotids. So kommt es, dass die polymeren Nucleinsäuren eine Richtung mit einem freien (nicht mit einem Nachbarnucleotid verknüpften) 5'-Ende und einem freien 3'-Ende haben, wie aus der einfachen Skizze in ► Abb. 2.2 unmittelbar hervorgeht.

## 2.3 DNA-Doppelhelix

Die Arbeit von James Watson und Francis Crick (1953) über die DNA-Struktur ging hauptsächlich von zwei Befunden aus:

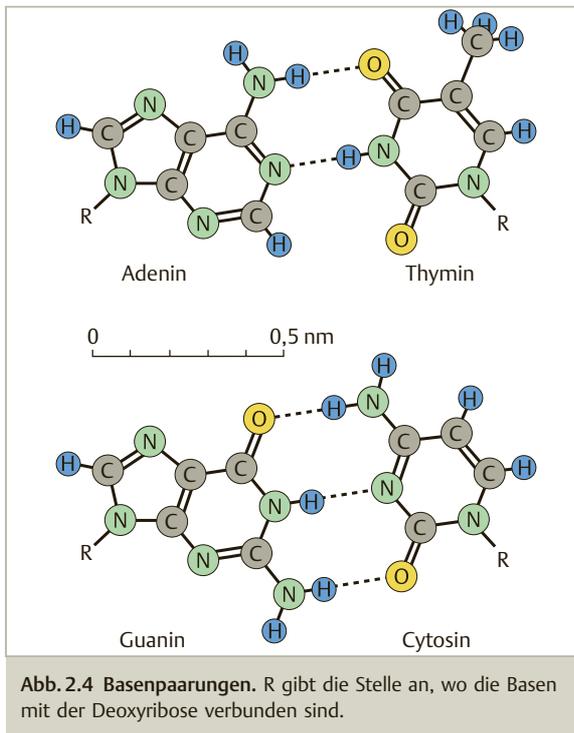
- Strukturanalysen hatten ergeben, dass DNA-Fasern Röntgenstrahlen in Form einer regelmäßigen Periodik beugen, was u. a. den Aufbau der DNA aus zwei Strängen vermuten ließ (Rosalind Franklin und Maurice Wilkins, 1953).
- Nucleotide in DNA-Präparaten aus verschiedenen Tier-, Pflanzen- und Bakterienarten kommen immer in gleichen Verhältnissen vor: Der Prozentanteil von Adenin entspricht dem von Thymin und der Anteil von Guanin entspricht dem von Cytosin, also vereinfacht:  $[A] = [T]$  und  $[G] = [C]$  (wobei sich die Mengen von A plus T einerseits und von G plus C andererseits je nach Art unterscheiden können; nach Erwin Chargaff, um 1950).

Diese Informationen und das geistige Rüstzeug, das der herausragende Chemiker Linus Pauling zuvor für die Aufklärung der  $\alpha$ -Helixstruktur in Proteinen (S.61) geschaffen hatte (1951), ermöglichten Watson und Crick den Bau von Modellen, aus denen schließlich die Struktur der DNA-Doppelhelix hervorging.

Einen einfachen Überblick über den Bau der Doppelhelix gibt ► Abb. 2.3b, der die Doppelhelix als eine **rechtsläufige Spirale** aus zwei Bändern zeigt. Die beiden Bänder sind ähnlich wie die Wangen einer Wendeltreppe durch Stufen miteinander verbunden. Die Bänder stellen das Rückgrat der DNA-Ketten dar und entsprechen dem Zucker-Phosphat-Teil der Nucleotide. Die „Stufen“ zeigen die Lage der basischen Purin- und Pyrimidinringe an. Sie sind nach innen gerichtet, und zwar so, dass **je ein Purinring mit je einem Pyrimidinring ein Basenpaar** bildet.

Über spezifische Wasserstoffbrücken kommen stets ein Adenin mit einem Thymin und ein Guanin mit einem Cy-





### Merke



Die beiden Stränge der DNA sind komplementär, was bedeutet, dass Adenin in dem einen Strang mit Thymin im anderen Strang in Wechselwirkung steht, ebenso wie Guanin mit Cytosin.

Die komplementären Einzelstränge der DNA-Doppelhelix haben eine gegenläufige, d. h. antiparallele 5'-3'-Orientierung.

Die Wasserstoffbrücken zwischen komplementären Basen tragen erheblich zur Stabilität der Doppelhelix bei. Einen weiteren Beitrag liefern die hydrophoben Bindungen zwischen den benachbarten, aufeinandergestapelten Basenpaaren (*base stacking*). Wie aus dem Kalottenmodell in ► Abb. 2.3c hervorgeht, liegen die Basen wie Bücher in einem Bücherstapel dicht aufeinander.

Die Abbildung der Doppelhelix zeigt weiter, dass die Zucker-Phosphat-Bänder wie Schläuche erscheinen, die zwei Furchen unterschiedlicher Weite begrenzen: eine **große Furche** und eine **kleine Furche**. Der Grund dafür ist, dass die glykosidischen Bindungen, also die Anheftungsstellen der Basen an die Deoxyribose, nicht rechtwinklig ( $90^\circ$ ) an dem Zuckermolekül ansetzen (► Abb. 2.4).

## 2.4 DNA-Helices: Flexibilität

Die Doppelhelix in ► Abb. 2.3c ist das Standardbild oder so etwas wie eine Idealform. Tatsächlich haben viele Untersuchungen gezeigt, dass der allergrößte Teil der DNA in den lebenden Zellen eine Form einnimmt, die dem Standardbild mehr oder weniger genau entspricht. Die Röntgenstrukturforscher der 1950er-Jahre sprachen von der **B-Form der DNA**, und diese Bezeichnung hat sich bis heute gehalten. Die B-Form ist durch einige Merkmale charakterisiert, nämlich durch die Zahl der Basenpaare pro Helixwindung, durch die Abstände zwischen den Basenpaaren und durch den Winkel zwischen Helixachse und den Basenpaaren, wie in ► Abb. 2.3 angedeutet und in ► Tab. 2.1 zusammengefasst.

Freilich zeigen kristallografische Untersuchungen an DNA-Segmenten mit genau bekannten Folgen von Basenpaaren, dass sich innerhalb der Grenzen der B-Form-Geometrie verschiedene Strukturen ausbilden können, abhängig von der Art und der Reihenfolge der beteiligten Basenpaare. Eines der Kriterien für die genaue räumliche Lage benachbarter Basenpaare ist die Ausbildung optimaler hydrophober Bindungen, etwa durch Vermeidung des Zusammentreffens funktioneller Nucleotidseitengruppen. Eine Ursache für diese Flexibilität der Doppelhelix ist, dass die chemischen Bindungen im Fünfering der Deoxyribose und die Bindungen zwischen der Deoxyribose und den Phosphatresten beweglich sind (► Abb. 2.5), ebenso wie die glykosidischen Bindungen, um die sich die Purin- oder Pyrimidinringe wie starre Scheiben drehen können (► Abb. 2.6).

Schon in den frühen Zeiten der DNA-Forschung kannte man eine besonders drastische Änderung der DNA-Struktur: Übergang von der B-Form in die A-Form der DNA. Dies erfolgt bei Abnahme des Wassergehalts, wenn sich viele Strukturmerkmale der DNA ändern (► Tab. 2.1): In der **A-Form der DNA** stehen die Basenpaare nicht senkrecht zur Zentralachse, sondern sind in einem Winkel von etwas mehr als  $70^\circ$  gekippt und zur großen Furche hin verschoben. Dadurch kommt es zu einem offenen Raum im Innern des Moleküls und zur Ausbildung einer tiefen, aber engen großen Furche (► Abb. 2.7).

Tab. 2.1 Strukturmerkmale von rechtsläufigen DNA-Formen.

	A-Form	B-Form
Basenpaare/Helixwindung	ca. 11	10,4–10,5
Abstand der Basenpaare	0,26 ( $\pm 0,04$ ) nm	0,34 ( $\pm 0,04$ ) nm
Winkel zwischen zwei Basen	33,1°( $\pm 5,9$ )	35,9°( $\pm 4,3$ )
Winkel zwischen Helixachse und Basenpaaren	71–77°	ca. 90°
Konformation des Zuckers	C3'-endo	C2'-endo

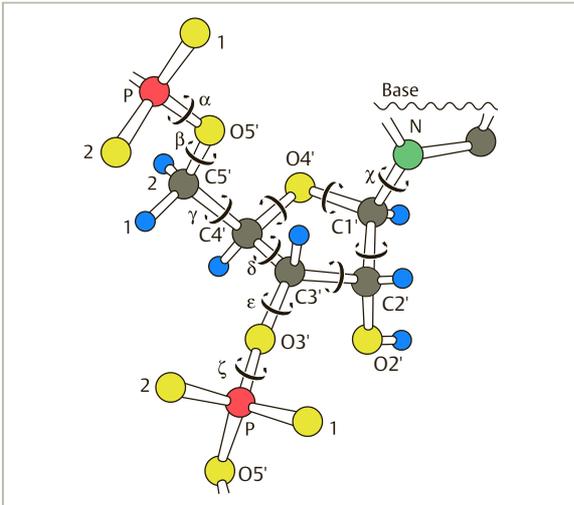


Abb. 2.5 Flexibilität der Bindungen in einem Ribonucleotid (Pfeile). Die Winkel zwischen benachbarten Atomen werden durch griechische Buchstaben gekennzeichnet. (nach Saenger W (1984) Principles of nucleic acid structure. Springer, Heidelberg)

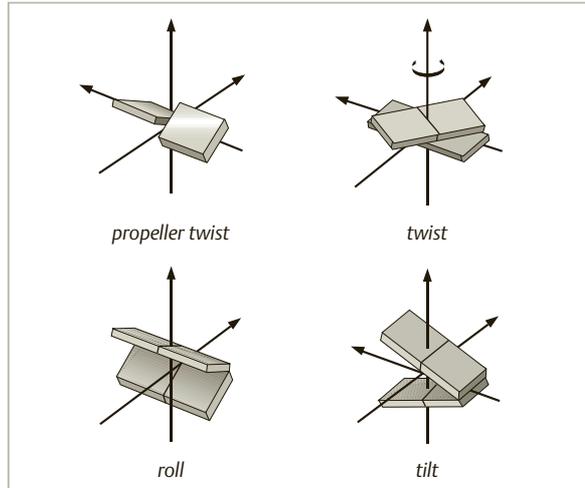


Abb. 2.6 Lage von Nucleotiden und Nucleotidpaaren relativ zur Helixachse (senkrechter Pfeil). (nach Wells R, Collier DA, Hanvey JC et al (1988) The chemistry and biology of unusual DNA structures adopted by oligopurine-oligopyrimidine sequences. FASEB J 2: 2939–2949)

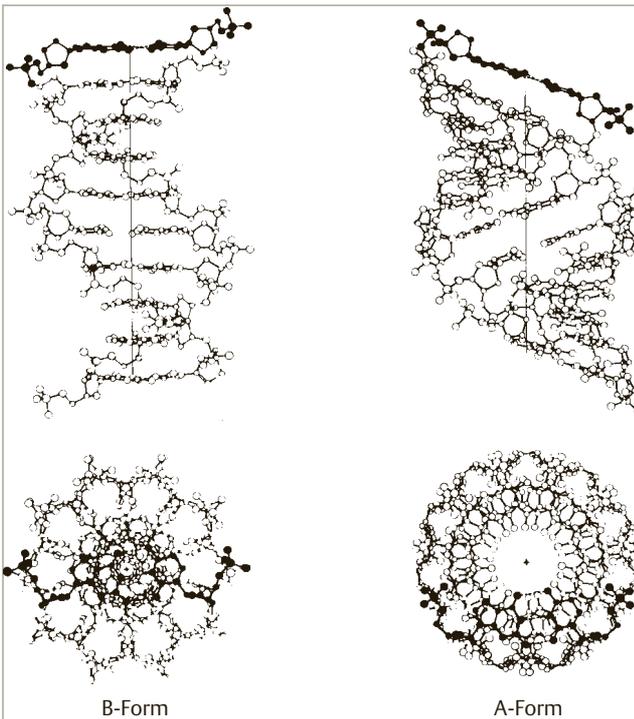


Abb. 2.7 DNA-Formen. B-Form (links) und A-Form (rechts) in Seitenansicht (oben) und Aufsicht (unten). (nach Saenger W (1984) Principles of nucleic acid structure. Springer, Heidelberg)

Entscheidend für den Übergang von der B-Form in die A-Form ist der Verlust einer Schicht von Wassermolekülen. Dadurch ändert sich die Konfiguration der Deoxyribose: In der A-Form liegt das C3'-Atom oberhalb der Ringebene, in der B-Form dagegen das C2'-Atom. Das hat Auswirkungen auf die Lage und Anordnung der Phosphatreste und der Nucleotidbasen, wie es die ► Abb. 2.8 zeigt.

**Merke**  RNA-Doppelstränge liegen immer in einer Art A-Form vor, weil die 2'-OH-Gruppe der Ribose die Ausbildung einer B-Form aus sterischen Gründen nicht zulässt.

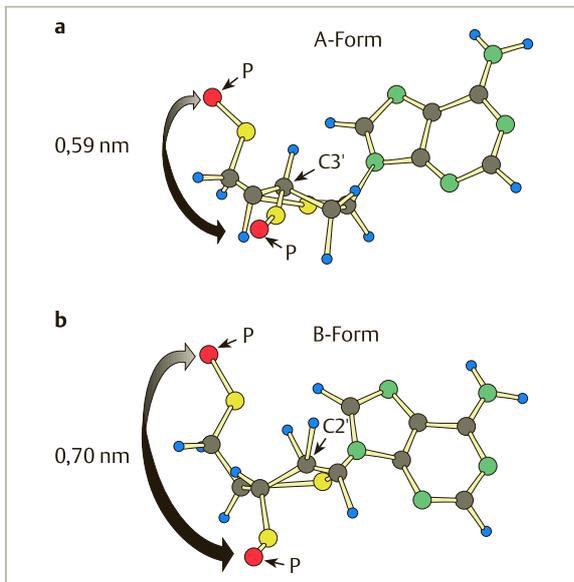


Abb. 2.8 Konformationen der Deoxyribose in A-Form und B-Form DNA Doppelhelices. (nach Rich A, Nordheim A, Wang AHJ (1984) The chemistry and biology of left-handed Z-DNA. Annu Rev Biochem 53: 791–846)

- a Zucker in der C3'-endo-Form.  
b Zucker in der C2'-endo-Form.

Eine Doppelhelix in der A-Form oder in der B-Form läuft rechtsherum. Aber man kennt auch linksläufige DNA-Helices. Dabei nimmt das Zucker-Phosphat-Rückgrat eine Zick-Zack-Form ein. Deshalb spricht man von der **Z-Form der DNA**. Zuerst wurde die Z-Form bei biochemischen Untersuchungen von DNA-Stücken mit der Nucleotidfolge ..G C G C G C G C G C..

..C G C G C G C G C G.. (kurz: [CG]<sub>n</sub>) in Lösungen mit hohem Salzgehalt gefunden. Stabilisierung von Z-DNA erfolgt auch bei negativ superhelikaler Verdrillung (S. 41).

Ursache ist die Umorientierung der glykosidischen Bindung zwischen Guanin und der Deoxyribose unter den gewählten experimentellen Bedingungen. Zucker und Base liegen normalerweise in sogenannter *anti*-Konformation vor, aber in der Z-Form-DNA ändert sich das (► Abb. 2.9). Die glykosidische Bindung zwischen Cytosin und Deoxyribose bleibt in *anti*-Konformation, aber Guanin und Deoxyribose sind im *syn*. Deswegen wechselt *syn*- mit *anti*-Konformation in benachbarten Basenpaaren und das Zucker-Phosphat-Rückgrat nimmt einen Zick-Zack-Kurs in der Z-DNA (► Abb. 2.9).

Ob A-Formen und Z-Formen der DNA nur Produkte von Versuchen im Reagenzglas sind oder ob sie auch gele-

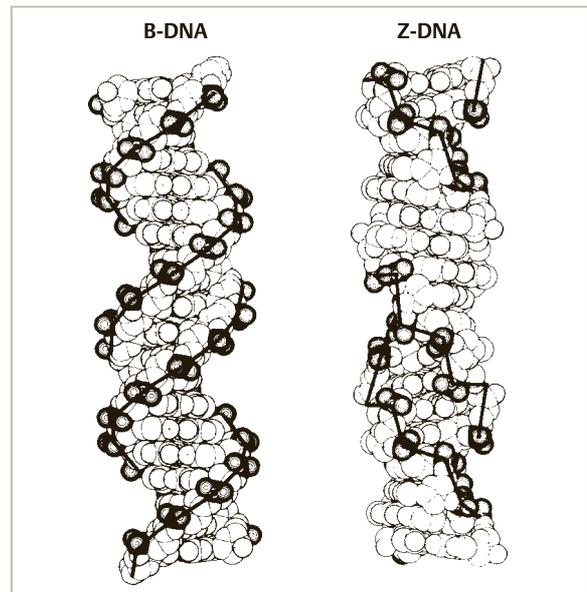


Abb. 2.9 B- und Z-DNA im Vergleich. Neben der Z-DNA ist noch einmal die klassische B-Form der DNA abgebildet (► Abb. 2.3). Deoxyribose und Guanin liegen in der *syn*-Konformation vor, Deoxyribose und Cytosin aber in der normalen *anti*-Konformation. Das Zucker-Phosphat-Rückgrat der Z-DNA verläuft linksherum als Zick-Zack-Linie (daher der Name Z-DNA). (nach Rich A, Nordheim A, Wang AHJ (1984) The chemistry and biology of left-handed Z-DNA. Annu Rev Biochem 53: 791–846)

gentlich an manchen Stellen in der DNA von Zellen, z. B. im aktiven Chromatin, vorkommen, ist bis heute unter Fachleuten umstritten. Aber für uns ist die Beschreibung der Formen nützlich, weil sie ganz allgemein die Flexibilität von DNA-Strukturen deutlich macht. Später werden wir bei den Besprechungen von Genstrukturen und Genregulationen sehen, dass Abweichungen von der klassischen B-Form der DNA nicht selten vorkommen.

## 2.5 Denaturierung und Renaturierung

Das Erhitzen von DNA-Doppelsträngen oder eine Behandlung unter mild alkalischen Bedingungen löst die Wasserstoffbrücken zwischen den komplementären Basen, während die kovalenten Phosphodiesterbindungen intakt bleiben. Als Konsequenz trennen sich die beiden Stränge der Doppelhelix. Man spricht von Denaturierung oder Schmelzen (Methode 2.1 (S. 35)).



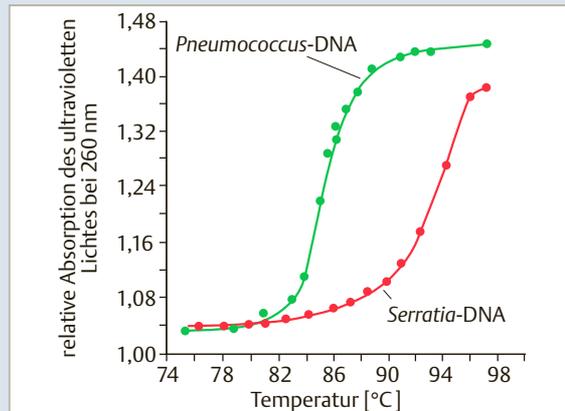
## Methode 2.1

### Denaturierung der DNA

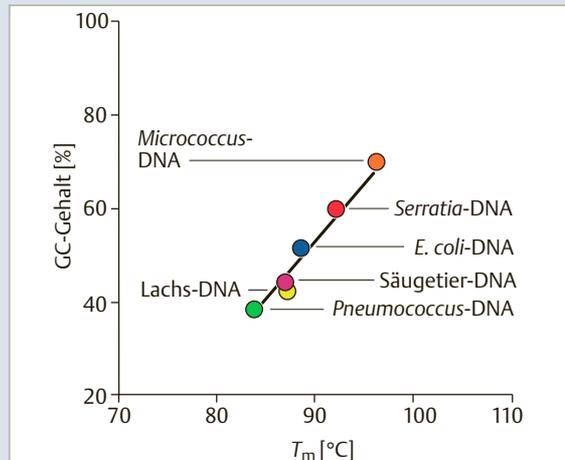
Am einfachsten denaturiert man die DNA-Doppelhelix durch Erhitzen oder durch Zugabe von Alkali. ► Abb. 2.10 vergleicht die Hitzedenaturierung der DNA aus den Bakterienstämmen *Pneumococcus* und *Serratia*. Bei schrittweiser Temperaturerhöhung wird der Anteil an einzelsträngiger DNA in den Lösungen gemessen. Es entstehen charakteristische Schmelzkurven, deren Verlauf man u. a. durch Messung der **Absorption** von UV-Licht bei einer Wellenlänge von 260 nm verfolgen kann. Einzelsträngige DNA absorbiert das Licht bei 260 nm etwa 1,4-mal stärker als doppelsträngige DNA (Hyperchromizität). Die Zunahme der Absorption ist daher ein Maß für den Anteil an einzelsträngiger DNA.

Die Lage der Schmelzkurven hängt vom Lösungsmittel ab. Bei niedrigen Salzkonzentrationen, erhöhtem pH-Wert und in Anwesenheit einiger organischer Lösungsmittel wie Formamid, verschieben sich die Kurven nach links, d. h. die DNA „schmilzt“ bei einer niedrigeren Temperatur.

Das Schmelzverhalten der DNA ist eine direkte Folge des prozentualen Anteils von GC-Nucleotidpaaren, die über drei Wasserstoffbrücken miteinander verbunden sind. Je größer der molare Anteil an GC-Paaren in der DNA, desto höher liegt der Schmelzpunkt  $T_m$  (► Abb. 2.11). Der Wert  $T_m$  bezeichnet die Temperatur, bei der die Hälfte der DNA-Moleküle einzelsträngig vorliegt. In unserem Beispiel liegt der  $T_m$  für *Pneumococcus*-DNA bei ca. 85 °C und für *Serratia*-DNA bei ca. 94 °C, weil die *Serratia*-DNA einen höheren GC-Anteil hat.



**Abb. 2.10** Absorptionszunahme bei Temperaturerhöhung. (nach Schildkraut CL, Mamur J, Doty P (1962) Determination of the base composition of deoxyribonucleic acid from its buoyant density in CsCl. J Mol Biol 4: 430–443)



**Abb. 2.11** Abhängigkeit des mittleren Schmelzpunktes vom GC-Gehalt einer DNA. Übrigens, das menschliche Genom hat einen durchschnittlichen GC-Gehalt von 38%. (nach Schildkraut CL, Mamur J, Doty P (1962) Determination of the base composition of deoxyribonucleic acid from its buoyant density in CsCl. J Mol Biol 4: 430–443)

Unter geeigneten Bedingungen finden komplementäre DNA-Stränge wieder zueinander und bilden doppelsträngige DNA-Moleküle, ein Vorgang, den man als **Renaturierung**

oder **Reassoziati** bezeichnet. Der Ablauf einer Reassoziati von komplementären DNA-Strängen ist in Plus 2.1 beschrieben und in ► Abb. 2.12 dargestellt.



## Plus 2.1

### Kinetik der Reassoziaton

Um aussagekräftige Reassoziationsversuche durchführen zu können, werden die langen DNA-Fäden zunächst mithilfe von Scherkräften in einheitliche Stücke mit Längen von etwa 200–300 Basenpaaren (bp) zerlegt. Dann erfolgt das Erhitzen und später die Abkühlung und Reassoziaton.

Die **Geschwindigkeit** der Reassoziaton hängt von verschiedenen Parametern ab:

- von der Konzentration an Kationen, die die negativen Ladungen der Phosphatgruppen in der DNA neutralisieren,
- von der Temperatur (die günstigste Temperatur liegt etwa bei 25 °C unter dem  $T_m$ -Wert) und
- von der Länge und der Konzentration der DNA-Fragmente.

Die **Kinetik** der Reassoziaton komplementärer DNA-Stränge ist ein Zwei-Schritt-Prozess:

1. Zusammentreffen komplementärer Nucleotidfolgen und Ausbildung der ersten passenden Basenpaarungen (Nucleation) und
2. schnelle Ausbildung von Basenpaarungen in den anschließenden übrigen Teilen der DNA-Stränge.

Das erste Zusammentreffen der komplementären Nucleotidfolgen ist der zeitbestimmende Schritt bei der Reassoziaton. Somit lässt sich die Reassoziaton als eine Reaktion 2. Ordnung beschreiben, wobei die Geschwindigkeitskonstante  $k$  umgekehrt proportional der Konzentration an komplementären DNA-Strängen ist. Eine Reaktion 2. Ordnung folgt der Gleichung:

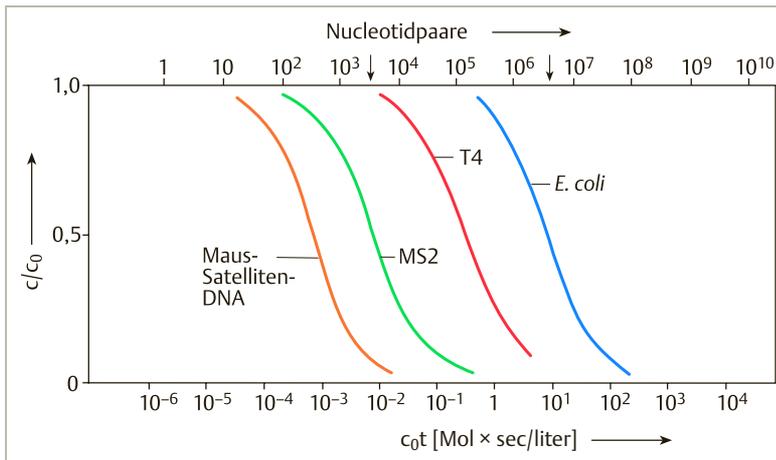
$$\frac{c}{c_0} = \frac{1}{1 + k \cdot c_0 t}$$

$c$  = Konzentration an einzelsträngiger DNA

$c_0$  = Konzentration an Einzelstrang-DNA zum Zeitpunkt 0 (vor Beginn der Reassoziaton)

$c_0 t$  = Ausgangskonzentration an einzelsträngiger DNA  $\times$  Zeit

Zur quantitativen Auswertung von Reassoziationsverläufen trägt man das Verhältnis  $c/c_0$  als Funktion von  $c_0 t$  auf (► Abb. 2.12). Bei  $c/c_0 = 0,5$  hat sich die Hälfte der ursprünglich vorhandenen Einzelstrang-DNA zum Doppelstrang gefunden. Dann gilt  $c_0 t = 1/k$ . Der entsprechende Wert heißt  $c_0 t_{1/2}$  und ist proportional dem Anteil komplementärer Sequenzen (ausgedrückt in Mol Nucleotide pro Liter) in der untersuchten DNA, wie man der ► Abb. 2.12 entnehmen kann.



**Abb. 2.12** Reassoziationsabläufe. Der  $c_0 t_{1/2}$ -Wert ist der Wert, bei dem sich die Hälfte der vorhandenen Komplementärstränge zum Doppelstrang gefunden hat. Er nimmt mit der Größe der DNA zu. Die hier untersuchte Satelliten-DNA besteht aus einigen Hundert Basenpaaren. Die Doppelstrang-RNA des Phagen MS 2 besteht aus ca. 3500, die DNA des Phagen T 4 aus ca. 160 000 und die *E. coli*-DNA aus ungefähr 4 Millionen Basenpaaren. (nach Britten RJ, Kohne DE (1968) Repeated sequences in DNA. Science 161: 529–533)

Bei ihren systematischen Untersuchungen über die Reassoziatonen von DNA-Proben aus verschiedenen Organismen stellten Forscher in den Jahren zwischen 1960 und 1970 überraschende Unterschiede fest:

Wie ► Abb. 2.12 zeigt, reassoziieren die DNA-Stränge von Bakterien und Viren mit einer einfachen Kinetik. Anders die DNA-Stränge der meisten eukaryotischen Organismen. Ihre Reassoziaton folgt einem komplexen Kurvenverlauf (► Abb. 2.13). Der Grund dafür ist, dass ein erheblicher Teil der DNA von Tieren und Pflanzen aus sich oft wiederholenden DNA-Abschnitten besteht. Diese repetitiven Sequenzen finden im Zuge der Reassoziaton relativ schnell einen Partnerstrang, und zwar in Abhängigkeit von der Häufigkeit, mit der gleiche oder ähnliche

Abschnitte in der DNA vorkommen. Dagegen werden Abschnitte, die in wenigen Kopien oder gar nur einmal in der DNA vorkommen (Einzelkopiesequenzen), mit entsprechend niedrigerer Wahrscheinlichkeit auf ihre komplementären Partner treffen. Entsprechend erfolgt die Reassoziaton solcher Stränge verzögert.

Analysen der Abläufe von Reassoziatonen haben die ersten Hinweise auf das Vorkommen von hoch- und mittelrepetitiven Abschnitten in Eukaryotengenomen gebracht. Dies ist inzwischen längst durch die Bestimmung der Basenpaarfolgen von natürlichen DNA-Molekülen bestätigt worden (s. Plus 2.2). Wir werden im Laufe des Buches noch oft auf diese merkwürdige Besonderheit der DNA in Eukaryoten zu sprechen kommen.

## Plus 2.2

**Repetitive DNA-Abschnitte: ein erster Überblick**

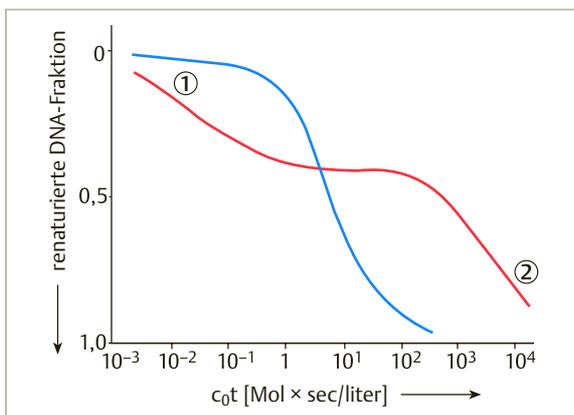
**Satelliten-DNA** in den Centromer- und Telomerbereichen von Chromosomen. Die Centromer-DNA hat eine wichtige Funktion beim Aufbau des Spindelapparats während der Mitose (S. 212). Die Telomer-DNA trägt zum Schutz der Chromosomenenden bei. In beiden Fällen handelt es sich um Wiederholungen von Hunderten oder Tausenden hintereinandergeschalteter kurzer DNA-Abschnitte. Satelliten-DNA renaturiert bei sehr niedrigen  $c_0t$ -Werten und kann bis zu 5 % der Gesamt-DNA eines Säugetiers ausmachen.

**SINE** (*short interspersed repetitive elements*): Wie aus der Bezeichnung hervorgeht, sind diese repetitiven Elemente über das Genom verteilt (*interspersed*). Es gibt mehrere Arten oder, wie man sagt, Familien von SINE-Sequenzen. Ein

Beispiel ist die sogenannte Alu-Familie im Humangenom. Alu-Elemente bestehen aus etwa 300 bp mit ähnlichen Sequenzen. Das Genom enthält mehr als eine Million Alu-Elemente. Das entspricht 10–15 % des Gesamtgenoms.

**LINE** (*long interspersed repetitive elements*): der Prototyp besteht aus 6 000–7 000 bp, aber viele Mitglieder von LINE-Familien sind verkürzte Versionen. Insgesamt addieren sich die DNA-Abschnitte von LINE-Familien bis zu etwa 20 % des Gesamtgenoms.

Jede Tier- oder Pflanzenart hat ihr eigenes Repertoire von SINE- und LINE-Familien. Man hat eine ungefähre Vorstellung von der Entstehung und Ausbreitung dieser repetitiven DNA, aber ihre genetische Bedeutung ist nicht bekannt.



**Abb. 2.13 Vergleich der Renaturierungskinetiken von Bakterien- und Säugetier-DNA.** Blaue Kurve: Die Reassoziierung der Bakterien-DNA folgt einer einfachen sigmoidalen Kinetik, weil jeder Abschnitt der DNA nur einmal vorkommt. ① Erster steiler Abfall der roten Kurve: Ein Teil der Säugetier-DNA reassoziert schon bei einem sehr niedrigen  $c_0t$ -Wert. Dies spricht für das Vorkommen sehr vieler sich wiederholender Nucleotidsequenzen. ② Zweiter steiler Abfall der roten Kurve: Ein anderer Teil der Säugetier-DNA reassoziert in einem Bereich höherer  $c_0t$ -Werte, wie man es aufgrund der Genomgröße erwarten würde. (nach Britten RJ, Kohne DE (1968) Repeated Sequences in DNA. Science 161: 529–533)

Wir haben die Reassoziierung komplementärer Nucleinsäurestränge auch deswegen ziemlich ausführlich beschrieben, weil sie die Grundlage für **wichtige Methoden der molekularen Genetik** ist. Wir werden in späteren Kapiteln immer wieder darauf zurückkommen. Hier nur als Beispiel eine der ersten Anwendungen in den frühen 1970er-Jahren. Molekularbiologen wollten überprüfen, ob ein gegebener DNA-Abschnitt aus einem Organismus mit einem entsprechenden DNA-Abschnitt aus einem anderen Organismus verwandt ist. Sie denaturierten die DNA-Abschnitte und ermöglichten dann die gemeinsame Reassoziierung in einem Reaktionsgefäß. Die Frage war, ob sich ein Strang der einen mit einem komplementären Strang der anderen DNA zum Doppelstrang zusammenfindet. Wenn das zutraf, konnte man auf eine Ähnlichkeit der Sequenzen schließen.

Auch RNA-Stränge können mit komplementären DNA-Strängen einen Doppelstrang bilden. Man spricht dann von einem RNA-DNA-Hybrid. Überhaupt wird ein solches Verfahren oft als **Nucleinsäure-Hybridisierung** bezeichnet, abgeleitet von dem griechischen Wort *hybrid*, das in der Genetik so viel heißt wie „von zwei verschiedenen Eltern“ oder „von unterschiedlicher Herkunft“.

## 2.6 Natürliche DNA-Moleküle

Die kleinsten natürlich vorkommenden DNA-Moleküle bestehen aus einigen Tausend Basenpaaren und bilden das genetische Material von Viren (► Tab. 2.2). Die größten DNA-Moleküle kommen in Chromosomen von Tieren und Pflanzen vor und können aus bis zu mehreren Milliarden Basenpaaren aufgebaut sein.

Die Größen sind in erster Näherung ein Maß für die Menge an genetischer Information einer DNA. Viren kommen mit wenig genetischer Information aus, weil sie die infizierten Wirtszellen für ihre Zwecke ausnutzen. Außerdem ist der Zweck eines Virus eine möglichst schnelle und möglichst häufige Vermehrung, wofür die Wirtszelle die Bausteine und die Enzyme liefert. Dagegen brauchen zelluläre Organismen umfangreiche genetische Programme für die komplizierten Stoffwechselprozesse, für die Synthese von Aminosäuren und Nucleotiden, für den Aufbau von Proteinen und Nucleinsäuren, von Zellorganellen und Zellwänden usw. Wozu auch immer die genetische Information letztendlich verwendet wird, ihre unmittelbare Funktion ist es, den Bauplan für Proteine bereitzustellen. In trockenen Worten: Die lineare Folge von Nucleotiden in der DNA bestimmt die lineare Folge der Aminosäuren, also der Bausteine von Proteinen.

Hier gibt es ein Problem, das die Molekularbiologen in den Jahren nach der Beschreibung der Doppelhelix sehr beschäftigt hat. Proteine bestehen aus 20 Aminosäuren, die in wechselnder Zahl, Zusammensetzung und Reihenfolge zu langen Ketten verknüpft sind, aber die DNA ent-

Tab. 2.2 Virus- und Bakteriengenome.

	Basenpaare (bp)	Zahl der Gene
Simian Virus 40 (SV40, ein tierisches Virus)	5 243	6
Bakteriophage M13 (doppelsträngige replikative DNA-Form) (S. 537)	6 407	10
Bakteriophage Lambda (S. 129)	48 502	ca. 50
Genom von <i>Helicobacter pylori</i> (verantwortlich für Gastritis und Magengeschwüre beim Menschen)	1 667 867	1590
Genom <i>Archaeoglobus fulgidus</i> (ein sulfatreduzierendes Archaeon)	2 178 400	2463
Genom <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (Erreger der Tuberkulosekrankheit)	4 411 529	3924
Genom <i>Escherichia coli</i> ( <i>E. coli</i> ) (S. 101) („das“ Bakterium der Molekularbiologen)	4 639 211	4 288

Aus der Zahl der Basenpaare kann man nach den Angaben der ► Tab. 2.1 die Länge der DNA berechnen: Länge [µm] = Zahl der bp  $\times 0,34 \times 10^{-3}$ . Demnach hat das Genom von *E. coli* eine Länge von etwa 1,58 mm. Die Angaben über die Genzahlen beziehen sich auf proteincodierende Gene.

hält nur vier verschiedene Nucleotide. Demnach kann ein Nucleotid in der DNA nicht die Position einer Aminosäure in der Aminosäurekette bestimmen.

Tatsächlich war es eine der ersten wichtigen Erkenntnisse in der Geschichte der molekularen Genetik, als um 1960 deutlich wurde, dass eine Aminosäure von einem Triplet, einer Dreierfolge von Nucleotiden, „codiert“ wird. Aus vier unterschiedlichen Nucleotiden lassen sich  $4^3 = 64$  Dreierkombinationen bilden. Somit stehen den 20 Aminosäuren 64 Triplets gegenüber. Daraus muss man folgern, dass mehrere Triplets für ein und dieselbe Aminosäure stehen und/oder dass ein Teil der Triplets keine genetische Information trägt. Im Kap. 5 werden wir diese Fragen genauer untersuchen. Hier genügt der Hinweis, dass beides zutrifft: 61 der möglichen 64 Triplets haben eine Funktion bei der „Codierung“ von Aminosäuren, während drei Triplets keine Aminosäuren codieren, sondern eine andere Aufgabe bei der Umsetzung der genetischen Information haben.

Diese vorläufigen Betrachtungen helfen uns bei der Abschätzung des Informationsgehalts von DNA. Da die meisten Proteine aus 200–500 Aminosäuren zusammengesetzt sind und da genetische Information aus Triplets zusammengesetzt ist, können wir schließen, dass der Abschnitt auf der DNA, der die Information zur Herstellung eines Proteins trägt, aus 600–1500 Nucleotid- oder Basenpaaren aufgebaut sein sollte. Wir bezeichnen einen solchen Abschnitt als proteincodierendes Gen.

Wir wiederholen die Definition, aber fügen gleich hinzu, dass sie nur vorläufig gelten soll, bis sie später im Buch (s. Kap. 12) ergänzt, erweitert und ersetzt wird:

### Definition

Ein **proteincodierendes Gen** ist ein Abschnitt der DNA, der die Information zur Herstellung eines Proteins trägt.

Diese Definition werden wir später präzisieren, denn es gibt Gene, die keine Proteine codieren, sondern RNAs, die nicht in Proteine übersetzt werden.

Um einen Eindruck von der Größe natürlicher DNA-Moleküle (oder Genome) zu erhalten, betrachten wir die ► Tab. 2.2, die die Zahl der Basenpaare und die Zahl der Gene in der DNA einiger Viren und Prokaryoten enthält. Man kennt diese Zahlen so genau, weil die Nucleotidfolgen – oder wie man sagt: **Sequenzen** – der Genome bestimmt worden sind. Die Methoden, die dabei zur Anwendung kommen, werden wir an einer anderen Stelle besprechen (Kap. 26.4), ebenso wie die Konsequenzen dieser wichtigen Forschungsarbeiten. An dieser Stelle wollen wir nur anmerken, dass Quotienten aus der Zahl der Basenpaare und der Zahl der Gene Werte liefern, die ungefähr der theoretischen Überlegung entsprechen. Demnach besteht ein proteincodierendes Gen im Durchschnitt aus 600–1200 bp. Daraus folgt weiterhin: Zwischen den einzelnen Genen in prokaryotischen Genomen können, wenn überhaupt, nur sehr kurze Abstände liegen.

Anders die Genome von Eukaryoten: Zwischen den einzelnen Genen liegen oft lange Abschnitte von DNA, die keine Information zur Herstellung von Proteinen enthalten. Deswegen sind die DNA-Moleküle in den Zellkernen von Eukaryoten sehr viel länger, als man aufgrund von Schätzungen über die Zahl der Gene erwarten würde.

Diese Aussage wird durch die Angaben in der ► Tab. 2.3 belegt. Allerdings sind zum Verständnis der Tabelle einige Anmerkungen notwendig:

- In den Kernen der meisten Zellen von Tieren und höheren Pflanzen kommt die DNA/das Genom in zweifacher Ausführung vor. Man sagt: Die Zellen oder Organismen sind **diploid** (*di-ploid*, griech. zwei-fach). Die Angaben in der Tabelle betreffen das einfache oder haploide Genom.
- Die DNA in Zellkernen ist kein durchgehender DNA-Faden, sondern kommt in Einzelabschnitten vor. Das wird zur Zeit der Mitose (S. 202) sichtbar, wenn die Einzelabschnitte als Chromosomen verpackt werden. So kann man den Werten der ► Tab. 2.3 entnehmen, dass die DNA (haploid) in den Kernen von Säugetierzellen etwa 1 m lang ist. Diese Strecke ist in Zellen der Maus in 20 und in Zellen des Menschen in 23 Abschnitte (Chromosomen) aufgeteilt.

Tab. 2.3 DNA im Zellkern einiger Eukaryoten.

Art	Größe des Genoms [in Basenpaaren; ungefähre Werte]	Zahl der Chromosomen	Zahl der proteincodierenden Gene [ungefähre Werte]
Hefe ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )	12 Millionen	16	6 240
Fadenwurm/Nematode ( <i>Caenorhabditis elegans</i> )	97 Millionen	6	18 240
Fliege ( <i>Drosophila melanogaster</i> )	180 Millionen	4	13 600
<b>Säugetiere</b>			
Maus ( <i>Mus musculus</i> )	3 000 Millionen	20	22 000
Mensch ( <i>Homo sapiens</i> )	3 000 Millionen	23	21 000
<b>Pflanzen</b>			
Ackerschmalwand ( <i>Arabidopsis thaliana</i> )	120 Millionen	5	30 000
Mais ( <i>Zea mays</i> )	2300 Millionen	10	32 000
Reis ( <i>Oryza sativa</i> )	380 Millionen	12	30 000

\* Die Angaben in dieser Tabelle gelten für haploide Genome und haploide Chromosomensätze. Beachte, dass das Maisgenom um ein Mehrfaches größer ist als das Reisgenom, obwohl es gleich viele Gene enthält. Der Unterschied beruht auf einem viel umfangreicheren Anteil an repetitiven DNA-Abschnitten. Die angegebene Zahl der Gene bezieht sich auf proteincodierende Gene. Weitere Erläuterungen s. Text.

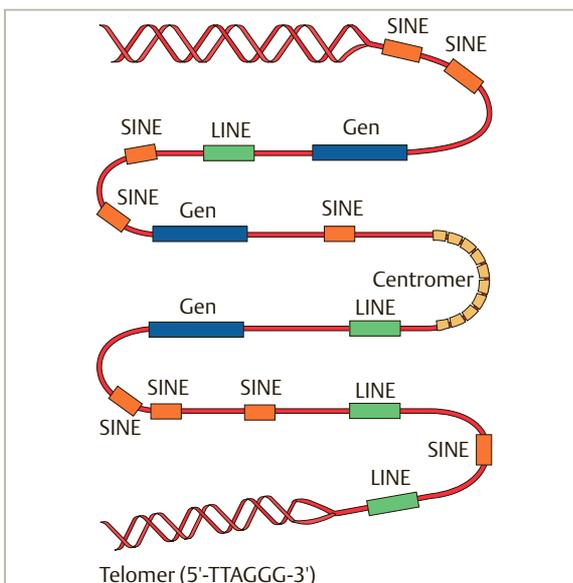


Abb. 2.14 Organisation der Genome von Tieren und Pflanzen. Einzelkopie-DNA (Gen) und repetitive DNA (LINE, SINE usw.) im Wechsel. Stark vereinfachte Skizze.

Die einfachen Schlussfolgerungen aus den Zahlen der ► Tab. 2.3 werden durch die gesamtgenomischen Sequenzierprojekte unterstützt: Täglich gelangen neue Basenpaarsequenzen von Genen und intergenischen (Zwischen-Gen-)Bereichen der verschiedensten Eukaryotenarten in die Datenbanken und immer wieder zeigt sich, dass zwischen und selbst innerhalb von Genen oft lange Abschnitte nicht codierender DNA vorkommen. Tatsächlich ist bekannt, dass meist nur ein oder wenige Prozent der DNA von Tieren und Pflanzen für die Codierung von

Proteinen reserviert ist. Die DNA zwischen den Genen besteht oft aus vielfach vorkommenden, „repetitiven“ Abschnitten (Plus 2.2) (S. 37) mit meist unbekannter genetischer Funktion (► Abb. 2.14) (Kap. 12.9).

## 2.7 DNA-Ringe: Helix und Superhelix

Die DNA in den eukaryotischen Chromosomen ist linear – wie ein Faden mit zwei Enden. Aber die Genome der weitaus meisten bekannten Bakterien sind zu Ringen geschlossen. Auch die DNA in Mitochondrien und Chloroplasten ist ringförmig, ebenso wie die DNA mancher Viren, etwa die DNA des Simian-Virus 40 (SV40; ► Tab. 2.2, ► Abb. 2.15).

Die Ringstruktur der DNA hat Konsequenzen. Bei einer Denaturierung werden die Wasserstoffbrücken zwischen komplementären Basenpaaren geöffnet, aber die beiden Stränge der DNA-Doppelhelix können sich so ohne Weiteres nicht voneinander trennen, wie man sich anhand der ► Abb. 2.16 deutlich machen kann. Überdies ist ringförmig geschlossene DNA oft verdrillt, wie eines der beiden SV40-DNA-Moleküle in der elektronenmikroskopischen Aufnahme der ► Abb. 2.15. Man bezeichnet dies oft als **Superhelix**, denn die Verdrillungen sind den Windungen in der Doppelhelix überlagert.

Die Zahl der Verdrillungen (*supercoils*) kann von DNA-Molekül zu DNA-Molekül verschieden sein. Man sagt: Ringförmig geschlossene DNA-Moleküle kommen in verschiedenen topologischen Formen vor. Die in Plus 2.3 enthaltene Information gibt zusammen mit der ► Abb. 2.17 eine formale Beschreibung der DNA-Topologie.

**Plus 2.3**

**Topologie der DNA**

Eine genauere Beschreibung der Topologie beginnt mit der Definition des Begriffs Verknüpfungszahl *Lk* (*linking number*). Bei entspannter DNA (► Abb. 2.16) entspricht die Verknüpfungszahl der Anzahl der Helixwindungen *Tw* (*twists*), also der Häufigkeit, mit der die beiden Stränge der Doppelhelix gewunden sind. Aus den Kennzahlen der B-Form der DNA (► Tab. 2.1) lässt sich der Wert leicht angeben:

$$Lk = \frac{N}{10,5}$$

N = Gesamtzahl der Basenpaare einer gegebenen DNA

10,5 = Zahl der Basenpaare pro Helixwindung

In natürlichen DNA-Ringen ist die Zahl der helikalen Windungen fast immer niedriger als in entspannten DNA-Molekülen. Theoretisch kann sich das so auswirken wie im rechten Teil der ► Abb. 2.17 gezeigt: Der entwundene Bereich liegt als einzelsträngige Blase an einer Stelle im Molekül. Tatsächlich ist aber die Ganghöhe der Doppelhelix im DNA-

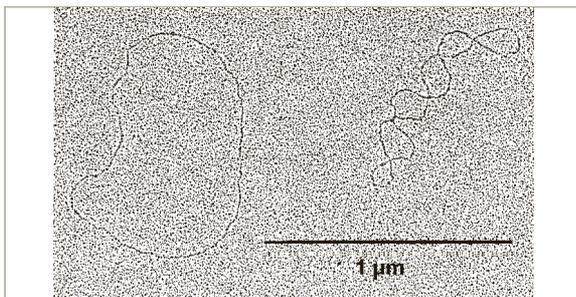
Ring wenig verändert. Stattdessen wirken sich die Unterwindungen in Form von Überdrehungen (*supercoils*) der Helixachse aus (► Abb. 2.17 links). Eine Abnahme in der Zahl der Helixwindungen *Tw* wird also durch Überdrehungen der Helixachse *Wr* (*writhe*) ausgeglichen.

Die Beziehungen zwischen den Windungen der Stränge in der Doppelhelix und den Überdrehungen der Helixachse kann man quantitativ in einer einfachen Weise formulieren:

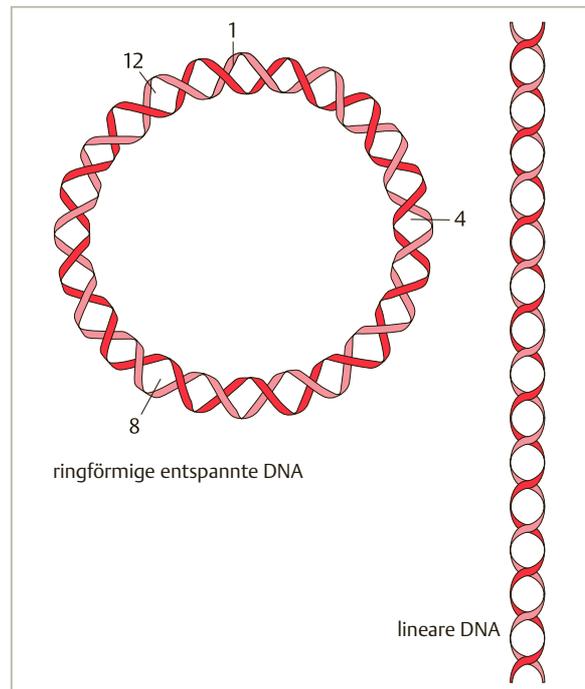
$$Lk = Tw + Wr$$

Die Verknüpfungszahl *Lk* in dieser erweiterten Form gibt also die Häufigkeit an, mit der sich die Stränge der DNA überkreuzen.

*Lk* ist eine topologische Eigenart geschlossener DNA-Moleküle: Die Werte für *Tw* und *Wr* können sich ändern, aber der Wert für *Lk* bleibt erhalten. Mit anderen Worten, geschlossene DNA-Moleküle mit einer gegebenen Verknüpfungszahl können verschiedene dreidimensionale Formen annehmen.



**Abb. 2.15** Elektronenmikroskopische Aufnahme von SV40-DNA (► Tab. 2.2). Eines der beiden abgebildeten DNA-Moleküle liegt als offener Ring vor, das zweite als „Superhelix“ – ein in sich gedrehter, verdrillter DNA-Ring. Die offene, entspannte, „relaxierte“ DNA entsteht aus der superhelikalen DNA nach Einführen eines Bruches in einem der beiden Stränge, beispielsweise nach Öffnung einer Phosphodiesterbindung durch das Enzym Deoxyribonuclease. (Aufnahme: R. Wessel, Konstanz)



**Abb. 2.16** Ringförmige und lineare DNA. Die komplementären Stränge der linearen DNA können durch Schmelzen getrennt werden, nicht aber die Stränge der ringförmigen DNA. Sie bleiben durch Überkreuzungen oder Verknüpfungen aneinander hängen. Die Zahl solcher Verknüpfungen entspricht in entspannten Ring-DNA-Molekülen der Zahl der Helixwindungen. In der Terminologie von Plus 2.3 (S. 40) kann man notieren:  $Lk = Tw = 12$ .

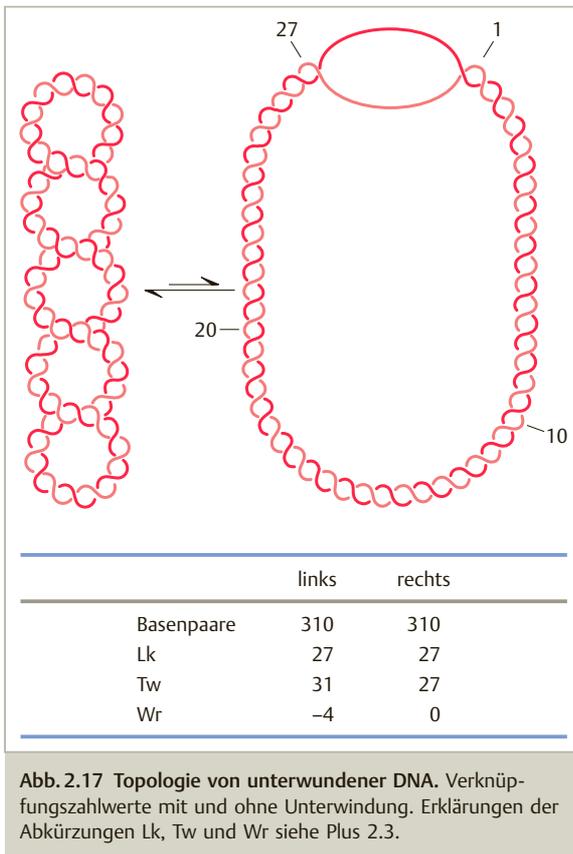


Abb. 2.17 Topologie von unterwundener DNA. Verknüpfungszahlwerte mit und ohne Unterwindung. Erklärungen der Abkürzungen Lk, Tw und Wr siehe Plus 2.3.

Die Verhältnisse lassen sich mit einem einfachen Experiment verdeutlichen: Ein Bindfaden wird an einem Ende festgehalten und am anderen mehrmals um die Längsachse gedreht; dann werden die Enden – ohne Aufgabe der Drehungsspannung – aneinandergefügt. Als Ergebnis treten Verdrillungen, Supercoils, auf.

Wenn wir dieses Experiment auf die DNA übertragen, müssen wir die Richtung der Drehung berücksichtigen: Da die doppelsträngige DNA rechtsläufig ist, wird durch eine Drehung nach rechts die Tendenz in Richtung zunehmender Helixwindungen gehen, während durch Drehung nach links die Tendenz in Richtung abnehmender Helixwindungen geht.

Auf diese Weise entstehen Supercoils unterschiedlicher Richtung. Wenn die Doppelhelix entwunden wird, entstehen negative Supercoils und die Superhelix ist rechtsläufig (► Abb. 2.17). Eine Überwindung der Helix (nach einer Rechtsdrehung) führt zu positiven Supercoils und linksläufiger Superhelix. Die meisten natürlich vorkommenden DNA-Moleküle haben **negative Supercoils**.

In Bakterien werden negative Supercoils durch spezielle Enzyme eingeführt, durch Topoisomerasen (S.181). Diese Enzyme verändern die Topologie der DNA durch eine konzertierte Aktion von Schneiden und Wiederverknüpfen. Sie haben wichtige Funktionen bei allen genetischen Reaktionen, die mit einer Entwindung des DNA-

Doppelstrangs einhergehen, wie etwa bei der Transkription von Genen oder bei der Replikation.

Auch die DNA in Pflanzen- oder Tierzellen ist negativ verdreht. Der Grund ist hier die besondere Organisation der DNA im Zellkern. Die DNA ist eng um Proteinkomplexe (Nucleosomen) (S. 148) gewunden. Negative Supercoils entstehen bei der Abtrennung der Proteinkomplexe.

In natürlicher DNA können auch **positive Supercoils** vorkommen. Allerdings treten positive Supercoils meist nur vorübergehend auf, etwa vor einer Replikationsgabel. Die entstehenden Drehspannungen müssen durch Topoisomerasen aufgelöst werden, sonst käme es zum Stillstand der Replikation.

## 2.8 Einige wichtige Methoden zur Untersuchung von DNA

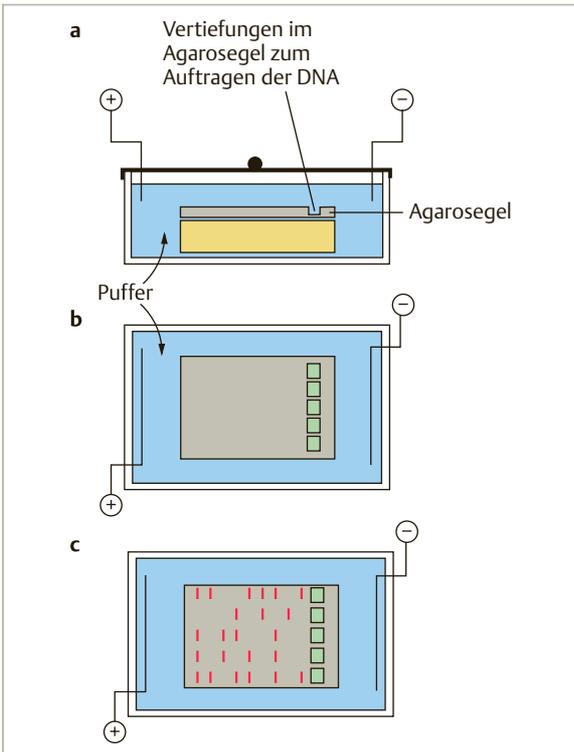
Unser erster methodischer Überblick betrifft drei Verfahren, nämlich die Elektrophorese, die Zentrifugation und die Darstellung von DNA mithilfe des Elektronenmikroskops. Dann folgt ein Abschnitt über die Verwendung von Nucleasen als Werkzeuge in der Molekularbiologie.

### 2.8.1 Elektrophorese

Die vermutlich wichtigste Methode zur Untersuchung von DNA-Molekülen ist die Elektrophorese in Agarose- oder Polyacrylamidgelen. Die notwendigen Geräte sind preisgünstig und problemlos in der Anwendung, dabei schnell und genau. Von den verschiedenen Varianten der Gelelektrophorese zeigt die ► Abb. 2.18 im Schema das Standardverfahren der Elektrophorese in einem Agarosegel.

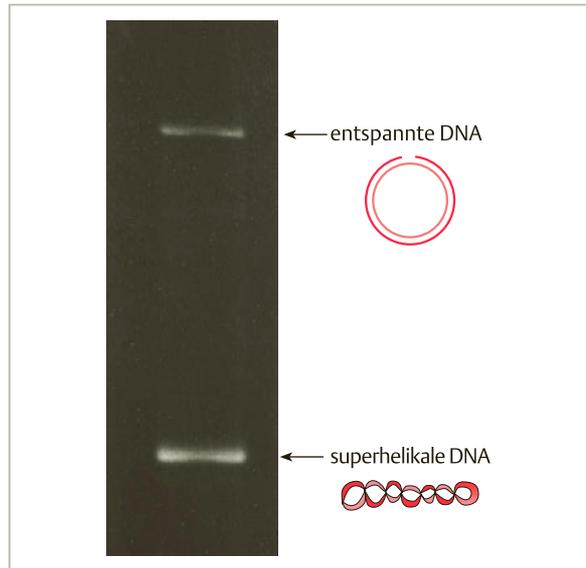
Die **Geschwindigkeit**, mit der sich DNA-Stücke im elektrischen Feld auf den positiven Pol zubewegen, hängt von verschiedenen Bedingungen ab. Am wichtigsten ist die Größe der DNA: Lineare doppelsträngige DNA-Moleküle wandern mit Geschwindigkeiten durch die Agarosematrix, die umgekehrt proportional zum Logarithmus ihrer Größe sind (► Abb. 2.19). Weiter hängt die Wanderung der DNA-Stücke von der Stromstärke, der Pufferzusammensetzung und der Agarosekonzentration ab. Gerade die letzte Bedingung wird zur Trennung von DNA-Fragmenten verschiedener Größenklassen ausgenutzt. Beispielsweise lassen sich DNA-Fragmente von 1000 bis etwa 15 000 bp in Gelen mit 0,5% Agarose gut auftrennen, während DNA-Fragmente aus 100–2000 bp besser in Gelen mit 1–2% Agarose aufgetrennt werden (► Abb. 2.19). Für die gelelektrophoretische Trennung von DNA-Stücken mit einer Größe über 15 000 bp setzt man die Pulsfeld-Gelelektrophorese ein, während DNA-Stücke, die kleiner als 100–200 bp sind, in der Polyacrylamidgelelektrophorese untersucht werden.

Die elektrophoretische Wanderung in Gelen hängt auch von der Struktur der DNA ab: Ringförmig superheli-



**Abb. 2.18 Durchführung der Agarosegelelektrophorese.**

- a** Seitenansicht. Ein Plastikgefäß, gefüllt mit geeignetem Puffer, enthält ein Gel in Abmessungen von beispielsweise 10 cm × 18 cm und 0,5 cm Dicke. Das Agarosegel ist vollständig in den Puffer eingetaucht.
- b** Aufsicht. Am „Start“ besitzt das Agarosegel einzelne Vertiefungen oder Kerben zum Auftragen des zu trennenden Gemischs von DNA-Fragmenten.
- c** Aufsicht. Nach Anlegen eines elektrischen Feldes wandert die negativ geladene DNA auf den positiven Pol zu. Nach Beendigung der Elektrophorese werden die DNA-Banden mit Ethidiumbromid angefärbt. Die DNA leuchtet im ultravioletten Licht hell auf.

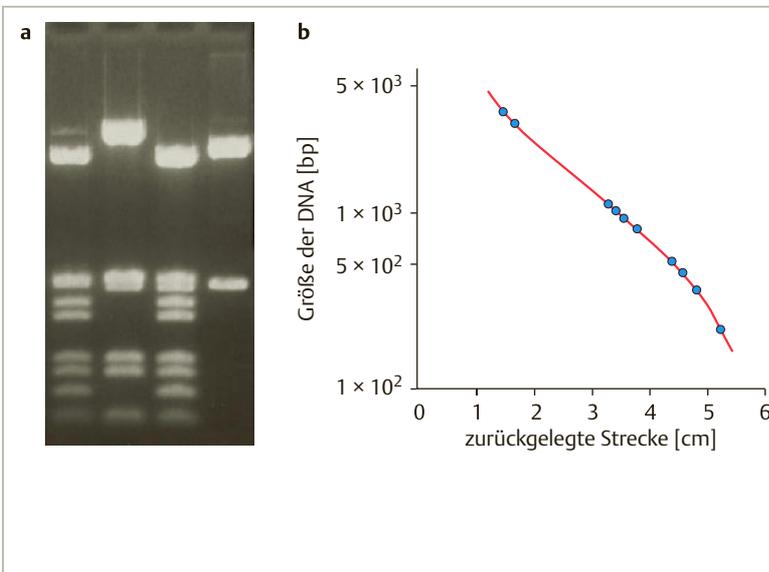


**Abb. 2.20 DNA-Form und Wanderung im Gel.**

kale DNA wandert schneller als ringförmig offene (relaxierte) DNA (► Abb. 2.20). Einer der Gründe dafür ist, dass sich die dichter gepackte superhelikale DNA besser durch das Maschenwerk eines Gels bewegen kann.

### 2.8.2 Zentrifugation

Der Grundvorgang bei der Zentrifugation ist die Bewegung von Partikeln – also von Zellen, Organellen oder Einzelmolekülen – durch ein flüssiges Medium unter dem Einfluss eines Zentrifugalfeldes. Die **Sedimentationsgeschwindigkeit** nimmt mit der Masse eines Partikels und der angewendeten Zentrifugalbeschleunigung zu und wird negativ durch die Viskosität des Mediums beeinflusst. Auch Durchmesser und Form des Partikels bestimmen das Sedimentationsverhalten. So sedimentieren



**Abb. 2.19 Agarosegelelektrophorese.** Experimentelle Bedingungen: 1,2% Agarose in TBE-Puffer (90 mM Tris-Borat, pH 8,3; 5 mM EDTA [Ethylendiamintetraessigsäure]), Spannung 50 mV, Stromstärke 30 mA, Dauer der Elektrophorese: 10 Stunden bei Raumtemperatur.

- a** Polaroidfoto des mit Ethidiumbromid gefärbten Gels. Am oberen Rand sind die Auftragsstellen für die DNA als dunkle, rechteckige Löcher zu erkennen. Die aufgetrennten DNA-Fragmente sind als helle Banden sichtbar. Die oberen, langsam wandernden Banden enthalten DNA-Fragmente von 3 000–3 600 bp Länge. Die Gruppe der schneller wandernden Banden besteht aus Fragmenten zwischen 215 und 1100 bp.
- b** Die Beziehung zwischen der Größe der DNA und der Wandergeschwindigkeit im elektrischen Feld.

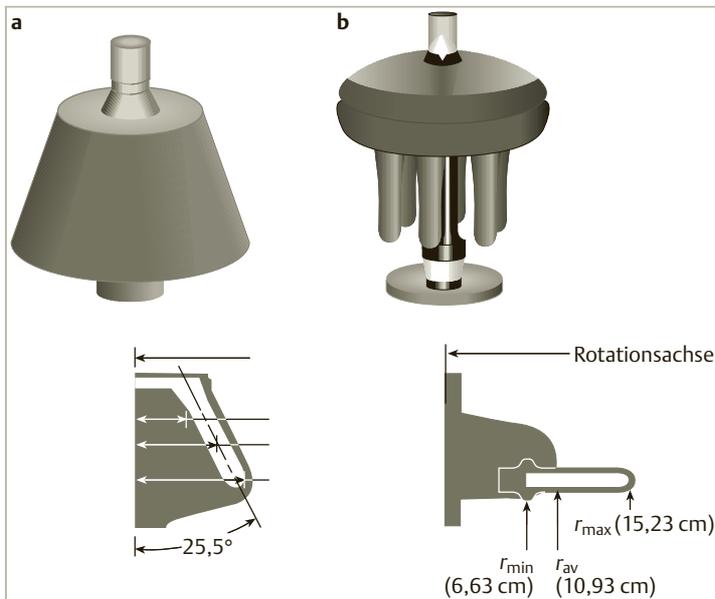


Abb. 2.21 Die wichtigsten Rotortypen.

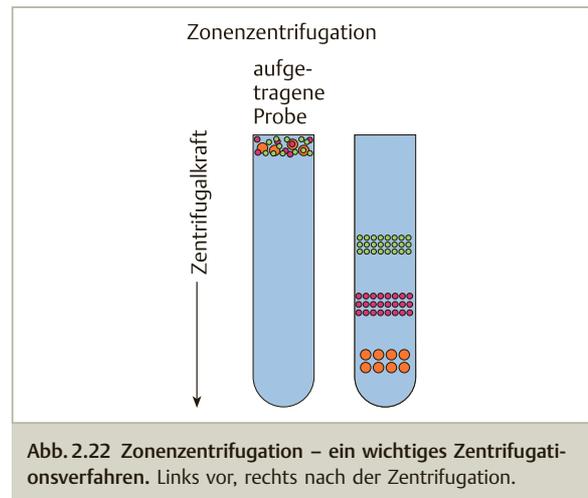
- a Festwinkelrotor. Die Grafik zeigt eine von mehreren Ausführungen, die sich durch die Bohrung, den Radius und den Neigungswinkel voneinander unterscheiden.
- b Schwenkbecherrotor. Die Grafik zeigt einen Rotor außerhalb der Zentrifuge. Die Planskizze gibt die Situation während der Zentrifugation wieder. Auch hier gibt es zahlreiche Variationen bezüglich des Radius und des Volumens der Schwenkbecher.  $r_{\max}$  = maximaler Radius;  $r_{\text{av}}$  = durchschnittlicher Radius;  $r_{\min}$  = minimaler Radius.

langgestreckte Partikel langsamer als kugelförmige Partikel gleicher Masse.

In der Laborpraxis kommen Schwenkbecherrotoren (SW-Rotor) oder Festwinkelrotoren zum Einsatz (► Abb. 2.21). Der SW-Rotor hat beweglich am Rotorkörper angebrachte Zentrifugenbecher, die während des Laufes ausschlagen, sodass die Achse des Zentrifugenröhrchens senkrecht zur Drehachse steht. Beim Festwinkelrotor sind die Röhrchen starr in einem Winkel von 20–25° zur Rotorachse im Rotorkörper untergebracht. Dieser Rotortyp wird vor allem zum Abzentrifugieren von Partikeln oder bei der isopyknischen Zentrifugation verwendet. SW-Rotoren finden vor allem in der Zonensedimentation Verwendung.

Eine einfache Zentrifugation im Festwinkelrotor reicht meist aus, um ein Gemisch von Organellen und anderen zellulären Komponenten aufzutrennen. Am größten und schwersten sind die Zellkerne, dazwischen liegen Mitochondrien, Lysosomen und Ribosomen und am anderen Ende stehen die einzelnen RNA- oder Proteinmoleküle. So erhält man bei niedrigtouriger Zentrifugation einen Niederschlag (**Pellet**) aus Kernen. Im Überstand bleiben u. a. die Mitochondrien, die man durch höhertouriges Zentrifugieren pelletieren kann.

Im Überstand dieses zweiten Zentrifugationsschritts befinden sich unter anderem Ribosomen und die vielen löslichen Bestandteile der Zelle. Bei der Untersuchung dieser Komponenten kommen Schwenkbecherrotoren und **Zonensedimentation** zum Einsatz. Dabei lagert man das Probengemisch auf die Oberfläche einer wässrigen Lösung aus Rohrzucker oder Glycerin, deren Konzentration von oben nach unten zunimmt. So entsteht ein Dichtegradient, in den die Komponenten des Gemisches hineinzentrifugiert werden (► Abb. 2.22). Im Zentrifugal-



feld bewegen sich die Komponenten mit Sedimentationsraten, die ihrer Masse und ihrem Radius entsprechen.

Für alle höhertourigen Zentrifugationen benötigt man **Ultrazentrifugen**, die 100 000 und mehr Umdrehungen pro Minute erreichen und dabei Kräfte von bis zum Millionenfachen der Erdbeschleunigung erzeugen. Ultrazentrifugen müssen im Vakuum betrieben werden, um ein Erhitzen durch Luftreibung zu verhindern. Wenn es um die Präparation von Kernen, Mitochondrien und dergleichen geht, spricht man von **präparativer Ultrazentrifugation**. Wenn man die Eigenschaften von Partikeln oder Molekülen bestimmen will, dann ist es **analytische Ultrazentrifugation**.

## Der Sedimentationskoeffizient oder S-Wert

Die Sedimentationseigenschaften werden oft als Kennwert eines Partikels oder eines Moleküls angegeben. Die Maßeinheit ist der S-Wert. Weil wir es später gelegentlich mit diesem Wert zu tun haben, ist eine Definition nützlich.

Die **Sedimentationsgeschwindigkeit** eines Teilchens lässt sich durch folgende Beziehung beschreiben:

$$\frac{dr}{dt} = s \cdot a = s \cdot \omega^2 r$$

Umformung und Integration ergeben:

$$s = \frac{d(\ln r)}{\omega^2 dt} = \frac{\ln \frac{r_2}{r_1}}{\omega^2 (t_2 - t_1)}$$

$r$  = Abstand des Teilchens von der Rotorachse

$t$  = Laufzeit

$a$  = Zentrifugalbeschleunigung oder die „Feldstärke“

$s$  = Sedimentationskoeffizient; er entspricht der Sedimentationsgeschwindigkeit pro Einheit der Feldstärke (Einheit des Sedimentationskoeffizienten ist das **Svedberg**:  $1 \text{ S} = 10^{-13} \text{ s}$ )

$r_1$  und  $r_2$  = die jeweiligen Positionen des Teilchens zu den Messzeiten  $t_1$  und  $t_2$ . Für  $t_1 = 0$  wird  $r_1 = r_M$ , das ist der Abstand von der Rotorachse zur Oberfläche des Röhrchens

### Merke

Die Einheit des Sedimentationskoeffizienten ist das **Svedberg**:  $1 \text{ S} = 10^{-13} \text{ s}$ .



## Isopyknische oder Gleichgewichtszentrifugation

Die Gleichgewichtszentrifugation oder isopyknische Zentrifugation ist eine in der Praxis wichtige Methode, bei der man sich zunutze macht, dass ein Teilchen in einer Lösung schwebt, wenn seine Dichte der Dichte der umgebenden Lösung entspricht. Man mischt die DNA-Probe mit einem geeigneten Medium. Während des Laufes bildet sich durch Sedimentation der Moleküle des Mediums ein Konzentrations- und dadurch ein Dichtegradient im Röhrchen aus. Die Moleküle der Probe werden dabei im oberen Teil des Gradienten sedimentieren und aus dem unteren Teil so lange aufsteigen, bis sie sich an einer Stelle des Gradienten treffen, die ihrer eigenen Schwebedichte (*buoyant density*) entspricht. Nach einer bestimmten Zeit, die vom Medium und von den Bedingungen des Zentrifugallaufs (Rotor, Umdrehung, Temperatur) abhängt, wird ein stabiler Gleichgewichtszustand erreicht (► Abb. 2.23). Das Medium muss dabei eine Substanz genügend hoher Mol- oder Ionenmasse enthalten, damit sich im Schwerfeld der Zentrifuge innerhalb eines vernünftigen Zeit-

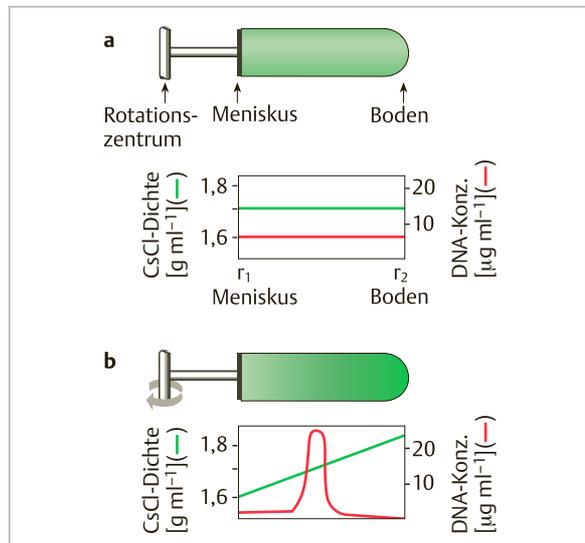


Abb. 2.23 Technik der Cäsiumchlorid-(CsCl)-Gleichgewichtszentrifugation.

a Vor der Zentrifugation. Zentrifugenröhrchen mit hochkonzentrierter CsCl-Salzlösung und DNA.

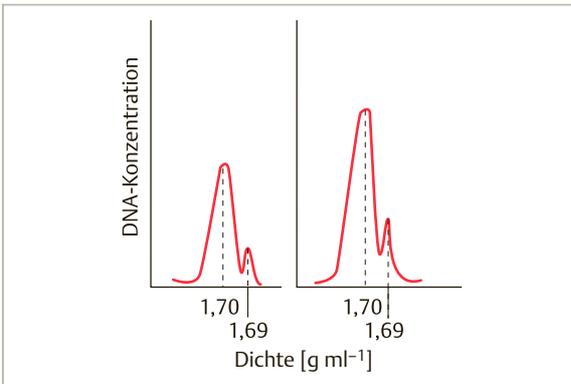
b Nach der Zentrifugation.

raums ein Dichtegradient ausbildet. Diese Substanz darf nicht mit den zu trennenden Molekülen der Partikel reagieren.

Die Standardsubstanz für isopyknische Zentrifugationen ist das Cäsiumchlorid (CsCl). Cäsium-Ionen bilden in den benutzten Schwerfeldern aufgrund ihrer Ionenmasse von 133 innerhalb von ca. 40 Stunden im Gleichgewicht stehende Gradienten aus. Je nach Ausgangsdichte des CsCl entstehen Gradienten im Bereich von 1,0–1,9  $\text{g ml}^{-1}$ . Bis auf RNA mit einer Schwebedichte von mehr als 1,9  $\text{g ml}^{-1}$  (in CsCl) bilden damit alle anderen Molekülararten Banden innerhalb des Gradienten aus. Neben CsCl sind auch andere Salze des Cäsiums verwendet worden. Insbesondere wird Cäsiumsulfat ( $\text{Cs}_2\text{SO}_4$ ) zur Dichtebestimmung bei RNA benutzt.

Um die Wirkungsweise der Gleichgewichtszentrifugation zu illustrieren, beschreiben wir ein klassisches Experiment. Werden die DNAs zweier Organismen wie Mensch und *E. coli* gemischt und in einem CsCl-Gradienten ( $25^\circ\text{C}$ ,  $133\,000 \text{ g}$ ) gefahren, so erhält man am Ende zwei knapp getrennte Banden bei der Dichte  $\sigma = 1,7035 \text{ g ml}^{-1}$ , die sich den beiden ursprünglichen DNAs zuordnen lassen. Für diesen Dichteunterschied ist die Basenzusammensetzung der DNA verantwortlich. Dabei ist die Dichte zum GC-Gehalt proportional. Es gilt  $\sigma = 1,66 \pm 0,098 (\%GC)$  für die Dichte  $\sigma$  in  $\text{g ml}^{-1}$  bei  $25^\circ\text{C}$  in CsCl.

Bei genügendem Unterschied können so die DNA-Moleküle von Viren und Bakterien getrennt werden. Bei Eukaryoten werden wegen der Aufteilung der DNA auf Chromosomen und der praktisch nicht intakt zu isolie-



**Abb. 2.24 Satelliten-DNA der Maus.** Maus-DNA wurde aus ganzen Leberzellen (links) und aus Zellkernen (rechts) isoliert. Die Untersuchung erfolgte mit der CsCl-Zentrifugation. Die Auftriebsdichte der betreffenden DNA-Fraktion ist auf der Abszisse angegeben. Die Satelliten-DNA hat eine geringere Auftriebsdichte als die Haupt-DNA:  $1,69 \text{ ml}^{-1}$  bzw.  $1,70 \text{ ml}^{-1}$ . (nach Bond HE, Flamm WG, Burr HE et al (1967) Mouse satellite DNA: further studies on its biological and physical characteristics and its intracellular localization. J Mol Biol 27: 289–302)

renden langen DNA-Fäden immer Genomfragmente anfallen, die sich oft deutlich in ihrem GC-Gehalt unterscheiden. Dadurch tauchen neben der Hauptbande der DNA eine oder mehrere Nebenbanden auf, die sogenannte Satelliten-DNA (► Abb. 2.24), die aus hochrepetitiven Sequenzen besteht.

Die Satelliten-DNA der Maus ist geradezu der Prototyp einer hoch repetitiven Sequenz: DNA-Abschnitte von etwa 240 Nucleotidpaaren Länge kommen annähernd eine Million Mal im Genom vor, d. h. insgesamt 5–10% der Gesamt-DNA dieses Organismus bestehen aus solchen hoch repetitiven Sequenzen. Die Bestimmung der Nucleotidsequenzen bestätigt das Zentrifugationsergebnis. Satelliten-DNA ist reich an AT-Paaren (65% aller Nucleotidpaare).

Neben der Basenzusammensetzung können für manche Zwecke auch Strukturunterschiede ausgenutzt werden, um DNA in isopyknischen Gradienten aufzutrennen. Das Auftreten superhelikaler DNA bei geschlossenen doppelsträngigen Ringen wurde schon weiter oben (S. 39) erwähnt. In der Natur treten solche Superhelices bei vielen Viren, sowohl von Prokaryoten wie von Eukaryoten, bei bakteriellen Plasmiden und der mitochondrialen DNA auf. Nun unterscheiden sich offene, entspannte Ringe mit einem Einzelstrangbruch in ihrer Schwebedichte nicht von doppelsträngigen, superhelikalen Ringen. Für die Trennung beider Formen wird daher eine charakteristische Eigenschaft dieser Molekülformen ausgenutzt: Die Bindung von Ethidiumbromid, eine farbige Verbindung, die sich zwischen die Basenpaare der DNA zwängt, interkaliert. Da bei hohen Ethidiumbromidkonzentrationen die offene DNA-Form mehr Ethidiumbromid bindet als die superhelikale DNA, erhält Erstere eine niedrigere

Dichte und kann so in der Gleichgewichtszentrifugation von superhelikaler DNA abgetrennt werden.

### 2.8.3 Elektronenmikroskopie

DNA in ihrer natürlichen Umgebung liegt nie als ausgestrecktes Molekül vor, sondern ist immer in der einen oder anderen Art gefaltet oder geknäuel. Um DNA im Elektronenmikroskop (EM) sichtbar zu machen, müssen zwei Probleme gelöst werden. Die dreidimensionale Anordnung muss ohne Bruch der DNA-Stränge in eine zweidimensionale Anordnung überführt werden. Dabei muss so schonend vorgegangen werden, dass die entstehende Struktur nicht dem heillosen und nicht interpretierbaren Durcheinander eines falsch abgewickelten Garnknäuels gleicht. Dazu ist eine Methode der Spreitung langer DNA-Ketten auf einer Oberfläche erforderlich.

Das zweite Problem besteht in der eigentlichen Sichtbarmachung der DNA-Ketten. Selbst bei genügend hohen Vergrößerungen bis hinunter in den molekularen Bereich macht der mangelnde Kontrast gegen den Untergrund klare Bilder unmöglich. Die Lösung liegt in einer Erhöhung des Kontrastes durch Metallatome.

Die Spreitung geschieht dadurch, dass ein Tröpfchen der Nucleinsäurelösung mit nur wenigen Mikrogramm pro Milliliter an einer schrägen Glasoberfläche entlangrinnt und auf eine Wasseroberfläche trifft. Die Wasseroberfläche ist mit einem dünnen Film eines basischen Proteins, z. B. Cytochrom c, oder auch anderer Verbindungen bedeckt. Die auftreffende Nucleinsäure wird von dem basischen Protein innerhalb des Oberflächenfilms gebunden und dabei gespreitet (► Abb. 2.25).

Ein guter Kontrast wird erzielt, wenn das Präparat in eine Lösung von Uranylacetat eingetaucht wird. Die Uranyl-Ionen ( $\text{UO}_2$ )<sup>2+</sup> adsorbieren dabei an die Nucleinsäure und umgeben sie gleichsam mit einem Mantel aus Metall-Ionen, die den gewünschten Kontrast erzeugen (*positive staining*). Phosphorwolframsäure  $\{\text{H}_3[\text{P}(\text{W}_3\text{O}_{10})_4] \times n\text{H}_2\text{O}\}$  hat einen ähnlichen Effekt.

Die zweite oft benutzte Methode beruht in einer Verdampfung des Präparats mit Metallatomen im Hochvakuum. Die Probe wird dazu auf einen Drehtisch montiert und einem Strom von Metallatomen wie Platin, Palladium oder Uran ausgesetzt. Die Metallatome treffen in einem bestimmten Winkel auf die Probe und erzeugen einen „Schatten“, etwa der Bildung einer Schneewehe hinter einem Zaunpfahl im Winter vergleichbar. Diese Metallablagerungen ergeben dann das eigentliche Bild.

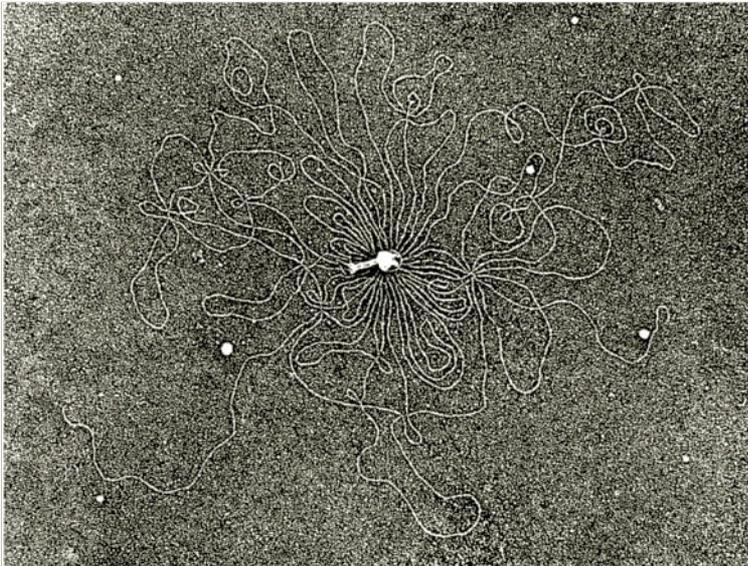


Abb. 2.25 Die klassische elektronenmikroskopische Aufnahme einer Phagen-DNA. Mit der hier abgebildeten Aufnahme begann der Einzug der Elektronenmikroskopie in die molekulare Genetik. Eine Präparation des Bakteriophagen T2 wurde rasch in Wasser verdünnt, sodass im „osmotischen Schock“ die Proteinhülle des Phagenkopfes aufbrechen und die DNA austreten konnte. Inmitten des DNA-Knäuels ist die leere Phagenhülle noch sichtbar. Vergrößerung 42 000 ×. (aus Kleinschmidt AK, Lang D, Jacherts D et al (1962) Darstellung und Längenmessung des gesamten Desoxyribonucleinsäure-Inhaltes von T2 Bakteriophagen. Biochem Biophys Acta 61: 857–864)

### 2.8.4 Enzyme als Hilfsmittel: Deoxyribonucleasen

#### Endonucleasen, Exonucleasen

##### Definition

Deoxyribonucleasen (kurz DNasen) sind DNA-abbauende Enzyme.

DNA-abbauende Enzyme kommen oft in relativ großen Mengen in allen Zellen vor, in Bakterien genauso wie in Säugetierzellen oder in einfachen Eukaryoten wie Hefezellen oder Pilzen (► Abb. 2.26 und ► Abb. 2.27).

Um in der Fülle der DNasen eine erste Ordnung zu bringen, unterscheidet der Biochemiker zwischen Endonuclease und Exonuclease.

##### Definition

Endonucleasen bauen die DNA durch Spaltung interner Phosphodiesterbindungen ab.

Exonucleasen dagegen bauen die DNA von den Enden her ab.

Endo- und Exonucleasen sind wichtige Hilfsmittel in der molekularen Biologie, wie wir später an vielen Beispielen sehen werden. Eine Zusammenstellung gebräuchlicher DNasen findet man in den ► Tab. 2.4 und ► Tab. 2.5.

#### Restriktionsendonucleasen

Restriktionsendonucleasen sind sehr wichtige Werkzeuge der Genetik. Sie ermöglichen die Spaltung langer DNA-Moleküle in definierte kürzere Fragmente. Und das ist die

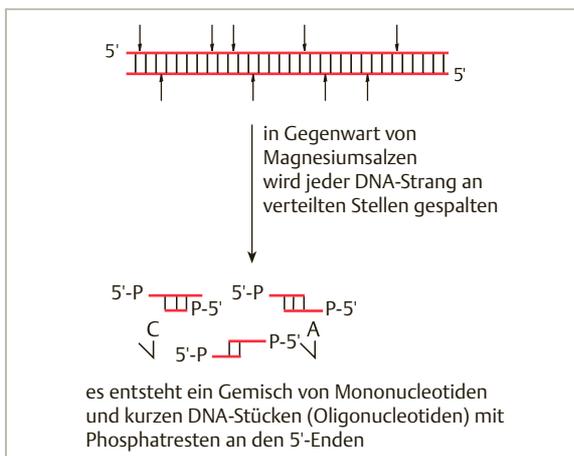


Abb. 2.26 Wirkungsweise der DNase I.

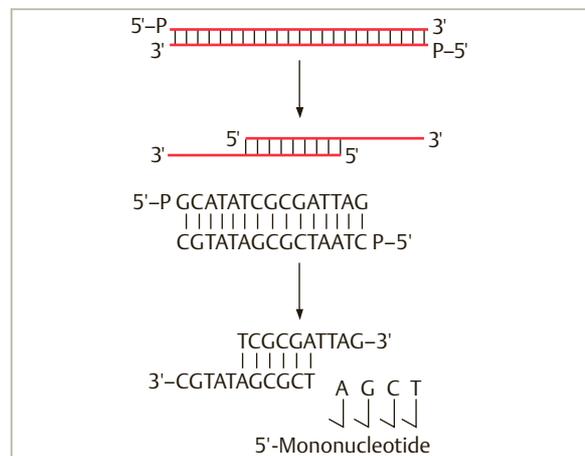


Abb. 2.27 Wirkungsweise der Lambda-Exonuclease.

Tab. 2.4 Endonucleasen.

Bezeichnung	Herkunft	DNA-Substrat	Besonderheiten*
DNase I	Pankreas	einzelsträngig doppelsträngig	bevorzugtes Abbauprodukt: Tetranucleotide
DNase II	Thymus	einzelsträngig doppelsträngig	Mg <sup>2+</sup> -unabhängig; produziert 3'-Phosphatenden
Mikrokokken-Nuclease	<i>Staphylococcus</i>	einzelsträngig doppelsträngig	benötigt Ca <sup>2+</sup> , produziert 3'-Phosphatenden; wirkt auch auf RNA
Endonuclease I	<i>E. coli</i>	einzelsträngig doppelsträngig	bevorzugtes Abbauprodukt: Oligomere mit 7 Bausteinen
Endonuclease II	<i>E. coli</i>	AP-Endonuclease	Basenexzisionsreparatur (S. 265), ► Abb. 11.13
Endonuclease	<i>Neurospora crassa</i>	einzelsträngig	wirkt auch auf RNA
S 1-Endonuclease	<i>Aspergillus oryzae</i>	einzelsträngig	wirkt auch auf RNA

\* Wenn nicht anders vermerkt, benötigen die Enzyme Magnesiumsalze und produzieren 5'-Phosphatenden.

Tab. 2.5 Exonucleasen.

Bezeichnung	Herkunft	Abbaurichtung	Besonderheiten
Exonuclease I	<i>E. coli</i>	3' → 5'	einzelstrangspezifisch
Exonuclease II (3'-5'-Exonuclease der DNA-Polymerase I)	<i>E. coli</i>	3' → 5'	Korrekturfunktion (S. 167)
Exonuclease III	<i>E. coli</i>	3' → 5'	doppelstrangspezifisch; dazu noch weitere Funktionen: 1. Phosphomonoesterase an 3'-Phosphatgruppen 2. Endonuclease an apurinischen und apyrimidinischen Stellen AP-Endonuclease
Exonuclease IV	<i>E. coli</i>	3' → 5'	einzelstrangspezifisch
Exonuclease V	<i>E. coli</i>	3' → 5' 5' → 3'	RecBC-Nuclease (S. 225)
Exonuclease VI	<i>E. coli</i>	3' → 5' 5' → 3'	nicht abhängig von Magnesium-Salzen; produziert Oligonucleotide
Schlangengift-Phosphodiesterase	<i>Crotalus adamanteus</i>	3' → 5'	wirkt auch auf RNA
Milz-Phosphodiesterase	Milz	5' → 3'	produziert 3'-Mononucleotide; wirkt auch auf RNA
Lambda-Exonuclease	Lambda-Phage	5' → 3'	bevorzugt doppelsträngige DNA; ein Lambda-Rekombinationsenzym
T 7-Exonuclease	Phage T 7	5' → 3'	doppelstrangspezifisch

erste und notwendige Voraussetzung für viele weitere Untersuchungen und die Grundlage der Gentechnik (S. 531).

In der Natur kommen Restriktionsendonucleasen bei Bakterien vor. Bakterienzellen nehmen verhältnismäßig bereitwillig DNA auf. Die aufgenommene DNA bleibt intakt und kann ihre genetische Funktion ausüben, wenn sie von der gleichen Bakterienart stammt. Dagegen wird artfremde DNA bald nach dem Eindringen abgebaut und

zerstört. Diesen Vorgang nennt man **Restriktion**. Verantwortlich dafür sind besondere Endonucleasen, nämlich die **Restriktionsendonucleasen**.

Diese Enzyme erkennen kurze Folgen von Nucleotiden. Eine Klasse von Restriktionsendonucleasen schneidet die Polynucleotidkette direkt an solchen Erkennungssequenzen, andere bewegen sich noch ein Stück an der DNA entlang, bevor sie die DNA-Stränge schneiden (Plus 2.4).



Plus 2.4

Restriktionsendonucleasen: ein Überblick

Molekularbiologen unterscheiden drei Typen von Restriktionsendonucleasen. Nur die Typ-II-Enzyme haben die größte Bedeutung für die experimentelle Praxis der Genetik. Deswegen enthält ▶ Tab. 2.6 nur Beispiele von Typ-II-Restriktionsendonucleasen.

Typ-I-Restriktionsendonucleasen erkennen definierte Sequenzen und binden daran, aber sie schneiden die DNA an entfernt gelegenen zufälligen Stellen. Enzyme vom Typ I bestehen aus drei Untereinheiten, nämlich eine für die spezifische Bindung an die Erkennungssequenz, eine zweite

für die Methylierung von Adeninresten und eine dritte für die DNA-Spaltung. Typ-I-Enzyme benötigen ATP, Magnesiumsalze und S-Adenosylmethionin für ihre Funktion.

Typ-II-Restriktionsendonucleasen benötigen nur Magnesiumsalze als Cofaktoren. Sie spalten an der Erkennungs- und Bindungsstelle oder in der engen Nachbarschaft.

Typ-III-Restriktionsendonucleasen bestehen aus mehreren Untereinheiten und spalten die DNA in einem Abstand von 20–25 bp von der Erkennungsstelle. Sie brauchen ATP als Cofaktor.

Allein schon aus statistischen Gründen enthalten arteigene und artfremde DNA die gleichen Erkennungssequenzen. Aber die arteigene DNA ist gegen den Abbau durch eine biochemische Markierung geschützt. Diese Markierung nennt man **Modifikation**. Sie besteht aus einem methylierten Adenin- oder einem methylierten Cytosinbaustein (S. 29), also N<sup>6</sup>-Methyladenin oder 5-Methylcytosin, in der Erkennungssequenz.

Sehen wir uns ein Beispiel an: Manche Arten von Bakterien besitzen eine Restriktionsendonuclease, die jede DNA an der Nucleotidfolge GAATTC schneidet. In der eigenen DNA ist das zweite Adenin in der Reihe GAATTC methyliert. Diese Modifikation schützt die Erkennungssequenz gegenüber der eigenen, artspezifischen Restriktionsendonuclease. Eine artfremde DNA trägt diesen Schutz nicht. Wenn sie in die Zelle gelangt, greift die Restriktionsendonuclease an und leitet damit den Abbau der fremden DNA ein (▶ Abb. 2.28).

Modifikation und Restriktion stellen ein zusammengehörendes System dar: Modifikationsenzyme und Restriktionsendonucleasen erkennen die gleiche DNA-Sequenz. Modifikationsenzyme schützen die eigene DNA durch Methylierung von Nucleotiden in der Erkennungssequenz, Restriktionsendonucleasen schneiden jede DNA

mit nicht geschützter Erkennungssequenz. Der biologische Sinn des Restriktions-Modifikations-Systems ist der Erhalt der genetischen Eigenart eines Bakterienstammes. Entsprechend haben die verschiedenen Bakterienstämme und Bakterienarten jeweils eigene Modifikationsenzyme und Restriktionsendonucleasen.

Man kennt inzwischen einige Tausend verschiedene Restriktionsendonucleasen, oft mit unterschiedlichen Erkennungssequenzen. Die ▶ Tab. 2.6 gibt nur einen kleinen Ausschnitt. Die Tabelle zeigt:

- Die Bezeichnungen der einzelnen Restriktionsendonucleasen leiten sich von der Herkunft ab: Beispielsweise wird die Restriktionsendonuclease der ▶ Abb. 2.28 als *EcoRI* bezeichnet, weil sie im Bakterienstamm *Escherichia coli* RY13 vorkommt, so wie eine Restriktionsendonuclease der Bakterienart *Haemophilus influenzae* (Stamm d) als *HindIII* bezeichnet wird.

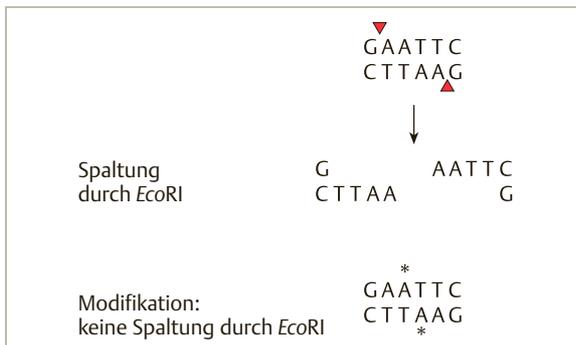


Abb. 2.28 Restriktionsendonucleasen. DNA mit methylierten Adeninresten wird nicht geschnitten. Deswegen kann die eigene Restriktionsendonuclease diese Sequenz nicht spalten. rote Dreiecke = Schnittstelle.

Tab. 2.6 Einige Restriktionsendonucleasen.

Bezeichnung	Herkunft	Erkennungssequenz
<i>AluI</i>	<i>Arthrobacter luteus</i>	A G C T T C G A
<i>BalI</i>	<i>Brevibacterium albidum</i>	T G G C C A A C C G G T
<i>BamHI</i>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	G G A T C C C C T A G G
<i>BclI</i>	<i>Bacillus caldolyticus</i>	T G A T C A A C T A G T
<i>DpnI</i>	<i>Diplococcus pneumoniae</i>	G A T C C T A G
<i>EcoRI</i>	<i>Escherichia coli</i> , Stamm RY13	G A A T T C C T T A A G
<i>EcoRV</i>	<i>Escherichia coli</i> , Stamm J62	G A T A T C C T A T A G

Tab. 2.6 Fortsetzung

Bezeichnung	Herkunft	Erkennungssequenz
HaellI	<i>Haemophilus aegyptius</i>	G G C C C C G G ▼ ▲
HindIII	<i>Haemophilus influenzae</i> , Stamm Rd	A A G C T T T T C G A A ▼ ▲
HpaI	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	G T T A A C C A A T T G ▼ ▲
KpnI	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	G G T A C C C C A T G G ▼ ▲
NcoI	<i>Nocardia corallina</i>	C C A T G G G G T A C C ▼ ▲
PvuI	<i>Proteus vulgaris</i>	C G A T C G G C T A G C ▼ ▲
PvuII	<i>Proteus vulgaris</i>	C A G C T G G T C G A C ▼ ▲
SalI	<i>Streptomyces albus</i>	G T C G A C C A G C T G ▼ ▲
Sau3A	<i>Staphylococcus aureus</i> , Stamm 3A	G A T C C T A G ▼ ▲
Sau96	<i>Staphylococcus aureus</i> , Stamm PD96	G G N C C C C N G G ▼ ▲
TaqI	<i>Thermus aquaticus</i>	T C G A A G C T ▼ ▲
XhoI	<i>Xanthomonas holcicola</i>	Pu G A T C Py Py C T A G Pu ▼ ▲
XmaI	<i>Xanthomonas malvaceum</i>	C C C G G G G G G C C C ▼ ▲
BglI	<i>Bacillus globigii</i>	G C C N N N N G G C C G G N N N N C C G ▼ ▲

rotes Dreieck = Schnittstelle, N = ein beliebiges Nucleotid (A, C, G oder T), Pu = ein Purin (A oder G), Py = ein Pyrimidin (C oder T).

- Die meisten der abgebildeten Erkennungssequenzen bestehen aus vier oder sechs spezifischen Basenpaaren, und die meisten sind gegenläufig gleich: Der obere Strang liest sich von links nach rechts, wie der untere von rechts nach links. Man bezeichnet solche gegenläufig gleichen DNA-Sequenzen als **Palindrome**.
- Manche Restriktionsendonucleasen schneiden DNA-Stränge glatt durch, andere aber an versetzten Stellen, sodass die geschnittenen Enden aus kurzen Einzelsträngen bestehen. Die Einzelstrangüberhänge können ein 5'- oder ein 3'-Ende tragen. In jedem Fall spalten Restriktionsendonucleasen die DNA so, dass ein 5'-Phosphat- und ein 3'-OH-Ende entstehen. Für weitere Informationen über DNA-Methoden s. Kap. 26.

## Literatur

### ► Weiterführende Literatur

- [1] Cozzarelli N, Wang JJ (1992) DNA topology and its biological molecular biology. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY
- [2] Judson HF (1996) The Eighth Day of Creation. Makers of the Revolution in Biology. Expanded Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY
- [3] Knippers R (2012) Eine kurze Geschichte der Genetik. Springer Verlag, Heidelberg, Berlin
- [4] Neidle S (2008) Principles of Nucleic Acid Structure. Academic Press, London
- [5] Portugal FH, Cohen JS (1977) A century of DNA. A history of the discovery of the structure and function of the genetic substance. MIT Press, Cambridge

# **Kapitel 3**

## **RNA: Überträger und Regulator der genetischen Information**

3.1	Einleitung	51
3.2	Aufbau und räumliche Faltung von RNA-Molekülen	52
3.3	RNA-Klassen	52
3.4	Zelluläre Funktionen von RNAs	54



# 3 RNA: Überträger und Regulator der genetischen Information

Gunter Meister

## 3.1 Einleitung

Schon kurz nach der Entdeckung von DNA als Träger der Erbinformation wurde herausgefunden, dass Proteine nicht direkt an der DNA produziert werden. Es werden vielmehr alle Gene, die Proteine codieren – man spricht von proteincodierenden Genen (*protein coding genes*) –, zunächst in eine Ribonucleinsäure (RNA, *ribonucleic acid*)

umgeschrieben. Die RNA dient schließlich als Matrize für die Proteinsynthese (zur Evolution dieser Vorgänge s. Plus 3.1). Man bezeichnet diese RNA als Messenger-RNA oder kurz mRNA. Gelegentlich findet man in deutschsprachigen Texten auch die direkte Übersetzung für diese Bezeichnung, nämlich Boten-RNA. Den Prozess der zellulären Synthese jeglicher Art von RNA, auch mRNA, nennt man Transkription (s. Kap. 5).

3

### Plus 3.1

#### Die RNA-Welt-Hypothese

Die genetische Information ist in Form von DNA im Genom gespeichert. Die proteincodierende Information wird in mRNA umgeschrieben und schließlich von der mRNA in Protein übersetzt. Die Pflege der DNA, die mRNA-Synthese sowie die Proteinproduktion brauchen aber die Aktivität von Proteinen. In evolutionärer Hinsicht stellt sich nun die Frage: Was war zuerst da? Die DNA, die RNA oder gar Proteine?

Ein Konzept, das versucht diese Frage zu erklären, wurde 1986 von Walter Gilbert als die „RNA-Welt-Hypothese“ vorgeschlagen. Diese Hypothese beschreibt eine „präbiotische“ Welt, in der es keine Proteine und auch keine DNA gibt. Die Basis des Lebens ist hier ausschließlich RNA. Aus dieser RNA-Welt heraus entwickelte sich DNA nur zum Zwecke der Speicherung der genetischen Information. Schließlich haben sich auch Proteine entwickelt, da ihre unerreichte katalytische Aktivität einen Vorteil gegenüber RNA-Molekülen lieferte. Folgende, noch heute zu beobachtende Tatsachen stützen die Hypothese einer Lebenswelt aus RNA:

- RNA-Moleküle können katalytische Eigenschaften besitzen und chemische Reaktionen beschleunigen. Solche RNAs werden Ribozyme genannt und funktionieren ähnlich den proteinbasierten Enzymen.
- Die Basenabfolge der RNA kann ähnlich wie bei der DNA genetische Information beinhalten. RNA als Genom wird z. B. von Retroviren (S. 243) genutzt.
- RNAs können sich ohne Hilfe von Proteinfaktoren replizieren, d. h. vervielfältigen. Ribozyme können z. B. das Wachsen einer RNA-Kette katalysieren oder aber zwei RNA-Stränge aneinanderfügen (Ligation).
- Auch heute sind noch an so grundlegenden zellulären Prozessen wie der Proteinsynthese (S. 392) und dem Spleißen (S. 360) u. a. RNAs beteiligt, was auf Relikte aus der RNA-Welt hindeuten könnte.

DNA ist aufgrund der fehlenden 2'-OH-Gruppe an der Ribose wesentlich stabiler und könnte somit die RNA als Informationsspeicher abgelöst haben. Enzyme weisen oft eine wesentlich höhere Aktivität als Ribozyme auf. Dies könnte ein evolutionärer Vorteil für die Entwicklung von Proteinen gewesen sein.

Die mRNA dient dazu, die genetische Information von der DNA hin zu den Produktionsstätten für Proteine zu transportieren. In Eukaryoten, wo die DNA im Zellkern geschützt vorliegt, sind beide Bereiche weit voneinander getrennt. Wie wir später sehen werden, verwendet die Zelle eine enorme Menge an biochemischer Energie, um diesen Informationstransport zu bewerkstelligen (Kap. 5 und Kap. 13).

Der Fluss der genetischen Information von der DNA über die mRNA zum Protein wurde lange Zeit als das **zentrale Dogma der Molekularbiologie** bezeichnet. Man fand allerdings schnell heraus, dass viele Genome auch Gene enthalten, die nicht als Baupläne für Proteine dienen. Diese Gene werden aktiv transkribiert und produzieren nicht-proteincodierende RNAs, die als nicht-codierende

RNAs (*ncRNAs*, *non-coding RNAs*) bezeichnet werden. Die anfänglich gefundenen ncRNAs haben sehr spezifische Funktionen in der Zelle. Unter diesen RNAs sind zum Beispiel **ribosomale RNAs** (rRNAs), die Bestandteile von Ribosomen sind, oder **Transfer-RNAs** (tRNAs), die für die Entschlüsselung des genetischen Codes bei der Proteinproduktion wichtig sind. Darüber wird ausführlich im Kap. 5 berichtet.

Aufgrund von hoch auflösenden Genomsequenzierungen wissen wir heute, dass nur sehr kleine Teile der eukaryotischen Genome Proteine codieren. Der größte Teil eines Eukaryoten-Genoms ist also nicht-proteincodierend. Unterstützt von einer Vielzahl von neuen Technologien fand man heraus, dass ein großer Teil des Genoms permanent transkribiert, d. h. in RNA umgeschrieben

wird. Man kann also davon ausgehen, dass diese RNAs wichtige zelluläre Funktionen wahrnehmen, auch wenn sie nicht direkt an der Codierung von Proteinen beteiligt sind. Neben den rRNAs und tRNAs ist heute eine Vielzahl von verschiedenen ncRNA-Klassen bekannt.

Im folgenden Kapitel werden der Aufbau von RNA, die verschiedenen ncRNA-Klassen sowie die diversen Funktionen von RNAs beschrieben.

## 3.2 Aufbau und räumliche Faltung von RNA-Molekülen

RNA-Moleküle sind Ketten von Nucleotiden, die durch Phosphodiesterbindungen miteinander verknüpft sind, entsprechend den Bindungen zwischen den Deoxynucleotiden in DNA-Strängen (S.30). Es gibt allerdings zwei wichtige Unterschiede zwischen Ribonucleotiden und Deoxyribonucleotiden:

- RNA enthält Ribose als Zuckerbaustein statt der Deoxyribose bei der DNA. Ribose ist am 2'-Kohlenstoffatom durch eine Hydroxygruppe gekennzeichnet, was, wie wir später sehen werden, für die chemische Natur sowie für die Stabilität der RNA sehr wichtig ist (► Abb. 3.1).

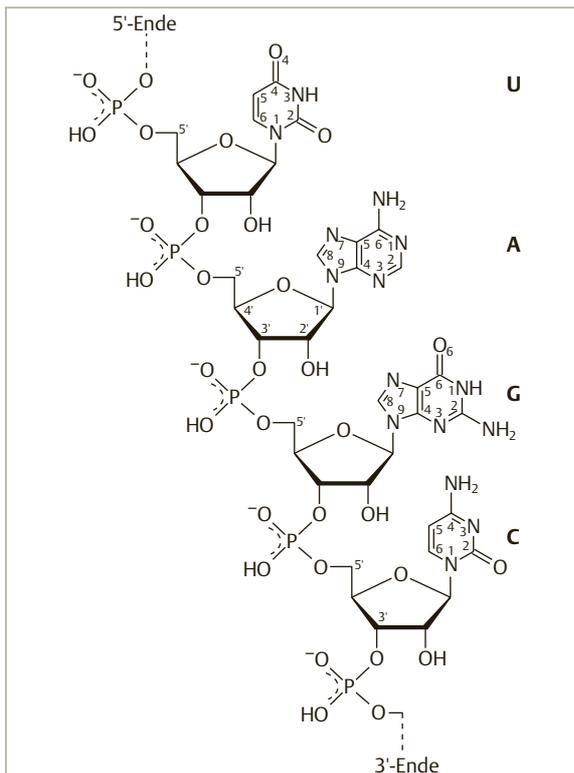


Abb. 3.1 Nucleotide in der RNA. Ein Nucleotid ist zusammengesetzt aus dem C5-Zucker Ribose, einer Phosphatgruppe und einer von vier heterozyklischen Basen, nämlich Adenin (A), Guanin (G), Cytosin (C) und Uracil (U).

- RNA-Moleküle enthalten die Base Uracil anstelle von Thymin (► Abb. 3.1).

Durch die Art der Verknüpfung über Phosphatbrücken zwischen der 5'-OH-Gruppe der Ribose eines Nucleotids und der 3'-OH-Gruppe der Ribose des benachbarten Nucleotids erhält ein RNA-Molekül eine definierte Richtung mit einem freien 5'-Ende und einem freien 3'-Ende (► Abb. 3.1).

Man kann die natürlich vorkommenden RNA-Arten der Zelle (► Tab. 3.1) als unterschiedlich lange, unverzweigte und einzelsträngige Ketten von Ribonucleotiden ansehen. Die Beschreibung ist jedoch nicht umfassend, denn RNAs neigen zur **Ausbildung von Doppelsträngen**. Diese Doppelstränge werden allerdings nicht wie bei DNA von zwei DNA-Molekülen (intermolekular) gebildet, sondern treten vor allem innerhalb eines einzigen RNA-Stranges (intramolekular) auf. Als Voraussetzung dafür kommen partiell komplementäre Bereiche innerhalb eines RNA-Stranges vor. Doppelsträngige RNAs bilden eine **DNA-ähnliche Doppelhelix**. Aufgrund der chemischen Unterschiede zwischen DNA und RNA sind die Helices allerdings unterschiedlich. Die RNA-Doppelhelix ist der ungewöhnlichen A-Form der DNA (S.32) sehr ähnlich und man spricht daher auch von doppelsträngigen A-RNA-Strukturen.

Die Faltung – also die Anordnung der Nucleotidkette im dreidimensionalen Raum – ist für die Funktion vieler RNAs von entscheidender Bedeutung. Hier lassen sich, ähnlich wie bei Proteinen, verschiedene Organisations-ebenen unterscheiden. Die Abfolge der einzelnen Nucleotide (Sequenz) ist die primäre RNA-Struktur. Innerhalb eines RNA-Moleküls können sich lokale Rückfaltungs- oder Haarnadelstrukturen (*stem-loop structures* oder *hairpins*) bilden (► Abb. 3.2a), die als sekundäre RNA-Strukturen angesehen werden können. Weiterhin können RNA-Bereiche mit weiter entfernten Abschnitten wechselwirken und so eine tertiäre RNA-Struktur ausbilden (► Abb. 3.2b). Schließlich können auch verschiedene RNA-Moleküle miteinander in Wechselwirkung treten und eine quartäre RNA-Struktur ausbilden. Ein Beispiel ist die komplexe Struktur der rRNAs im Ribosom (S.82).

Es gibt daneben aber auch RNA-Moleküle ohne freie Enden: Sie sind ringförmig geschlossen wie die sogenannten **Viroide**, die zu den Erregern von wichtigen Pflanzenkrankheiten gehören (► Abb. 3.3). Auch aus der menschlichen Pathologie kennt man ringförmige RNA, nämlich als Genom des Hepatitis-D-Virus, das zusammen mit dem Hepatitis-B-Virus schwere Entzündungen der Leber verursacht.

## 3.3 RNA-Klassen

Wie anfänglich angedeutet, kann man RNA, je nachdem ob sie den genetischen Code für ein Protein trägt oder nicht, grob in proteincodierend und nicht-proteincodierend einteilen. Natürlich trägt eine nicht-codierende RNA

Tab. 3.1 Beispiele wichtiger RNA-Arten in der Zelle.

RNA-Typus	Eigenschaft	Größe	Aufgabe und Funktion	an der Synthese beteiligtes Enzym (aus Eukaryoten)	Beschreibung	s. Kap.
prä-rRNA	nicht-proteincodierend, strukturgebend	> 1000 rN	Vorläufer-RNA ribosomaler RNAs (5S, 18S, 28S); strukturelle Bausteine des Ribosoms	Pol I	ein langes Primärtranskript aller rRNAs außer 5S-rRNA	Kap. 15.2
mRNA	proteincodierend	heterogen, mehrere kb	codierende Information für Proteine	Pol II	am 3'-Ende polyadenyliert, 5'-Cap-Struktur	Kap. 15.3
lncRNA (lincRNA)	nicht-proteincodierend, regulatorisch	> 200 rN	diverse Funktionen bei der Regulation der Genexpression	Pol II (und Pol III)	kann am 3'-Ende polyadenyliert sein und eine 5'-Cap-Struktur tragen	Kap. 18.6
mikroRNA (miRNA)	nicht-proteincodierend, regulatorisch	Vorläufer: > 200 rN; gereift: 21–23 rN	Regulation der Stabilität bzw. Translatierbarkeit von mRNA	Pol II	als Vorläufer-RNA transkribiert	Kap. 18.3
snRNA (U1, U2, U4, U5)	nicht-proteincodierend, strukturgebend	110–300 rN	Spleißen von prä-mRNA	Pol II	zur Ausbildung des Spleißosoms	► Tab. 15.1
snoRNA	nicht-proteincodierend, regulatorisch	50–300 rN	Modifikation von Ziel-RNAs: Methylierung der 2'-O-Ribose und Pseudouridinylierung	Pol II	am 3'-Ende nicht polyadenyliert	Kap. 16.2.3
5S-rRNA	nicht-proteincodierend, strukturgebend	100–150 rN	Baustein der großen Untereinheit des Ribosoms	Pol III	am 3'-Ende nicht polyadenyliert	Kap. 16.2.1
tRNA	nicht-proteincodierend	70–95 rN	Proteinbiosynthese (Translation)	Pol III	spezifische Beladung mit Aminosäuren und Decodierung des genetischen Codes	Kap. 5.3
7SL-RNA	nicht-proteincodierend	300 rN	Proteintranslokation durch ER-Membran	Pol III	am 3'-Ende nicht polyadenyliert	–
snRNA (U6)	nicht-proteincodierend	100 rN	Spleißen von prä-mRNA	Pol III	zur Ausbildung des Spleißosoms	Kap. 15.3
endo-siRNA	nicht-proteincodierend	21–23 rN	Repression von mobilen genetischen Elementen	Pol II	aus längeren Vorläufern gebildet; oft in weiblichen Keimzellen exprimiert	Kap. 18.2.1
piRNA	nicht-proteincodierend	21–27 rN	Chromatinorganisation und Repression von mobilen genetischen Elementen	Pol II	exprimiert in männlichen Keimzellen	Kap. 18.4

rN = Ribonucleotide; kb = Kilobasen

auch Information, aber nicht für ein Protein, sondern für eine andere genetische Funktion. Dennoch hat sich die proteinbezogene Nomenklatur „codierende RNA“ (cRNA) bzw. „nicht-codierende RNA“ (ncRNA) durchgesetzt.

Während proteincodierende RNAs ausschließlich einer einzigen RNA-Art, nämlich den mRNAs, angehören, können nicht-codierende RNAs in viele verschiedene Klassen

eingeteilt werden, von denen wir einige im Laufe dieses Buches kennenlernen werden.

Alle RNA-Klassen werden durch spezielle Enzyme, die **RNA-Polymerasen**, synthetisiert. Wie wir später sehen werden, gibt es in Bakterien eine, aber in Eukaryoten mehrere RNA-Polymerasen, die verschiedene Klassen von RNAs herstellen (Kap. 13). So synthetisiert die eukaryoti-

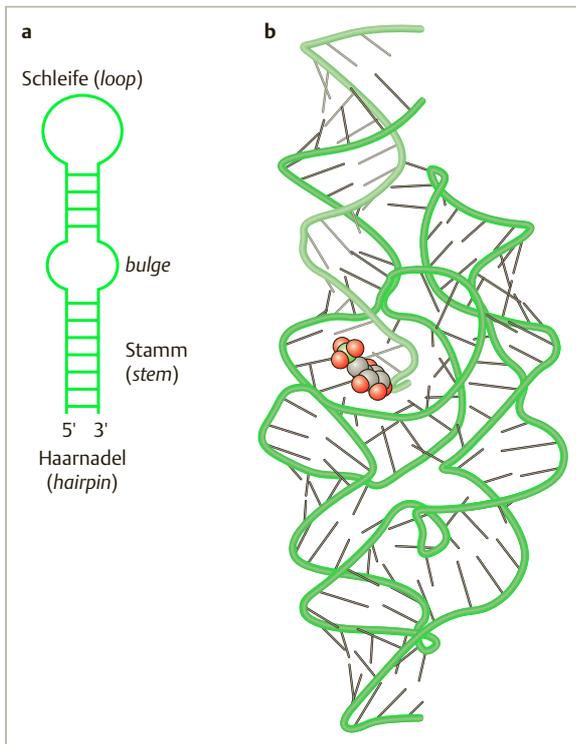


Abb. 3.2 Strukturelle Organisation von einzelsträngigen RNA-Molekülen.

**a** Am häufigsten lagern sich RNA-Bereiche zu Haarnadelstrukturen (*hairpins* oder *stem-loop structures*) zusammen. Solche Strukturen sind durch einen doppelsträngigen Stamm (*stem*) und eine einzelsträngige Schleife (*loop*) gekennzeichnet. Bei ausgedehnten Haarnadelschleifen können im Stamm auch ungepaarte Bereiche auftreten (*bulge*).

**b** Beispiel für Tertiärstruktur eines RNA-Moleküls. Distale Bereiche einer RNA können miteinander in Wechselwirkung treten und eine komplexe tertiäre RNA-Struktur ausbilden. (Scott WG (2007) *Ribozymes Curr Opin Struct Biol* 17: 280–286)

sche RNA-Polymerase I z.B. ausschließlich rRNA, die RNA-Polymerase II mRNAs und einige Klassen von nicht-codierenden RNAs und die RNA-Polymerase III die übrigen Klassen nicht codierender RNAs (► Tab. 3.1).

Nicht-codierende RNAs werden entsprechend ihrer Länge weiter unterteilt in **lange nicht-codierende RNAs (lncRNAs, long non-coding RNAs)** und **kurze nicht-codierende RNAs (sncRNAs, short non-coding RNAs)**, wobei letztere häufiger als *short* oder *small RNAs* (sRNAs) bezeichnet werden. lncRNAs sind in der Regel mehrere Tausend Nucleotide lang, während sRNAs nur aus ca. 18–40 Nucleotiden bestehen.

Klassische nicht-codierende RNAs wie rRNAs, tRNAs, kleine nucleäre RNAs (*small nuclear RNAs, snRNAs*) usw. stehen zwischen lncRNAs und sRNAs. Sie werden mit dieser Nomenklatur oft nicht erfasst und daher auch nicht als lncRNAs bezeichnet. Wichtige RNA-Arten sind in ► Tab. 3.1 aufgelistet.

### 3.4 Zelluläre Funktionen von RNAs

Aufgrund der Vielzahl von nicht-codierenden RNAs in der Zelle ist es nicht verwunderlich, dass vor allem nicht-codierende RNAs an sehr vielen zellulären Prozessen beteiligt sind. Generell können RNAs folgende Funktionen ausüben:

- **Transport der genetischen Information zu Orten der Proteinsynthese:** RNA-Moleküle können die genetische Information von der DNA zu den Proteinproduktionsstätten transportieren. Dies wird durch protein-codierende mRNAs bewerkstelligt.
- **Wechselwirkung mit anderen RNAs (*guide-Funktion*):** RNAs sind in der Regel aus einem RNA-Strang aufgebaut, sie sind also zumindest partiell einzelsträngig. Sie können daher ihre Basensequenz nutzen, um komplementäre Bereiche auf anderen RNAs zu finden und damit mittels Basenpaarung zu interagieren. Sie können dadurch Proteine spezifisch auf RNA-Molekülen platzieren.
- **Speicher für genetische Information:** Retroviren zum Beispiel besitzen ein RNA-Genom, das in DNA umgeschrieben wird bevor es in das Wirtsgenom integriert werden kann (*coding-Funktion*).
- **Gerüst zur Anlagerung von Proteinfaktoren (*scaffold-Funktion*):** Auf diese Weise können z. B. große RNA-Protein-Komplexe (RNPs) entstehen, die dann entsprechende zelluläre Funktionen ausüben.

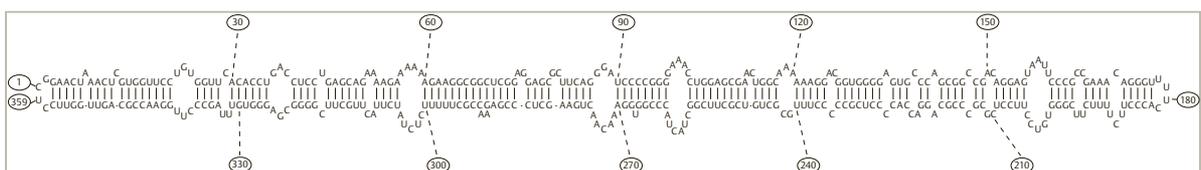


Abb. 3.3 Ringförmige RNA. Struktur des Potato Spindle Tuber Viroid (PSTV). Beachte, dass das Molekül aufgrund zahlreicher Basenpaarungen die Form eines Stäbchens annimmt. Viroide infizieren Kartoffeln, Zitruspflanzen, Kokospalmen u. a. Sie verursachen oft Wachstumshemmung mit Verkrümmung und Vergilbung der Blätter. (nach Gross HJ, Riessner D (1980) Eine Klasse subviraler Krankheitserreger. *Angew Chemie* 92: 233–245)

- **Messung physikalischer Parameter (Sensorfunktion):** Manche RNA-Sequenzen in Prokaryoten können auch als Sensoren zur Messung von physikalischen Parametern wie Temperatur oder Metabolitkonzentration dienen.

### 3.4.1 Literatur

#### ► Weiterführende Literatur

- [1] Altman S (2007) An overview of the RNA world: for now. *Biol Chem* 388: 663–664
- [2] Gilbert W (1986) Origin of Life: the RNA world. *Nature* 319: 618
- [3] Holbrook SR (2008) Structural principles from large RNAs. *Annu Rev Biophys* 37: 445–464
- [4] Li PT, Viereggs J, Tinoco I Jr (2008) How RNA unfolds and refolds. *Annu Rev Biochem* 77: 77–100
- [5] Meister G (2011) *RNA Biology – An Introduction*. Wiley-VCH, Weinheim
- [6] Spirin AS (2002) Omnipotent RNA. *FEBS Lett* 530: 4–8
- [7] Svoboda P, Di Cara A (2006) Hairpin RNA: a secondary structure of primary importance. *Cell Mol Life Sci* 63: 901–908