

Zusammenfassung Grundlagen der Biologie IA HS16

Remo Jost

September 23, 2017

Contents

1. Einführung	5
1.1. Eigenschaften des Lebens	5
1.2. Verschiedene Prinzipien in der Biologie	5
1.3. Genetik	6
1.4. Feedback-Mechanismen	6
1.5. Energie- und Materialumwandlung	6
1.6. Evolution	6
1.7. Wissenschaftliches Arbeiten	7
I. Chemie des Lebens	9
2. Wasser und Leben	10
2.1. Vier Eigenschaften von Wasser, die zum Leben beitragen	10
2.2. Der Einfluss von Säuren und Basen	11
3. Kohlenstoff und die molekulare Vielfalt des Lebens	13
3.1. Wichtigste funktionelle Gruppen in der Biologie	13
4. Biomoleküle	15
4.1. Makromoleküle sind aus Monomeren aufgebaute Polymere	15
4.2. Kohlenhydrate	15
4.3. Lipide	18
4.4. Proteine	19
4.5. Nucleinsäuren	22
II. Die Zelle	25
5. Einführung in den Stoffwechsel	26
5.1. Thermodynamik	26
5.2. ATP	27
5.3. Enzyme	29
6. Zellstruktur	32
6.1. Zellfraktionierung	32
6.2. Vergleich zwischen eukaryontischer und prokaryontischer Zellen	32
6.3. Eukaryontische Zelle	32
6.4. Das Endomembransystem	33
6.5. Energiewandler Mitochondrien und Chloroplasten	35
6.6. Peroxisomen	36
6.7. Das Cytoskelett	36
6.8. Extrazelluläre Komponenten und Zell-Zell-Verbindungen	39
7. Biomembranen	42
7.1. Die Fluidität von Membranen	42
7.2. Funktionen von Membranproteinen	42
7.3. Funktionen von Membrankohlenhydraten	42
7.4. Passiver Transport	42
7.5. Aktiver Transport	44

7.6. Endocytose und Exocytose	44
8. Zelluläre Kommunikation	45
8.1. Signaltransduktion im Überblick	45
8.2. Externe Signale werden in intrazelluläre Antworten umgewandelt	45
8.3. Signalwahrnehmung	46
8.4. Signalübertragung	48
8.5. Die zelluläre Antwort	50
8.6. Apoptose	51
9. Zellatmung	53
9.1. Die schrittweise Freisetzung der Energie aus der Oxidation	53
9.2. Die Stadien der Zellatmung	54
9.3. Gärung und anaerobe Atmung	60
9.4. Die Glykolyse und der Citratzyklus als Schnittstellen	62
10. Photosynthese	64
10.1. Einführung	64
10.2. Die Lichtreaktion	65
10.3. Der Calvin-Zyklus	69
11. Der Zellzyklus	72
11.1. Begriffserklärungen	72
11.2. Die Phasen des Zellzyklus	72
11.3. Das molekulare Kontrollsystem des eukaryontischen Zellzyklus	76
III. Genetik	79
12. Die Meiose	80
12.1. Begriffserklärungen	80
12.2. Die verschiedenen Lebenszyklen bei der geschlechtlichen Fortpflanzung	80
12.3. Der Ablauf der Meiose und die Unterschiede zur Mitose	81
12.4. Erhöhung der genetischen Variabilität durch geschlechtliche Fortpflanzung	84
13. Mendel und das Genkonzept	85
13.1. Begriffserklärungen	85
13.2. Die Mendelschen Regeln	85
13.3. Die Methoden der Statistik für die Genetik	86
13.4. Die Erweiterung der Mendelschen Regeln bei einzelnen Genen	86
13.5. Die Erweiterung der Mendelschen Regeln auf die Wechselwirkungen von Genen	87
13.6. Menschliche Erbkrankheiten	89
14. Chromosomen als Grundlage der Vererbung	91
14.1. Die Eigenschaften der Geschlechtschromosomen	91
14.2. Die Vererbung gekoppelter Gene auf einem Chromosom (Linkage)	92
14.3. Abweichungen in der Zahl oder Struktur von Chromosomen	92
14.4. Genomische Prägung	93
14.5. Genome von Organellen und ihre Vererbung	94
15. Die molekularen Grundlagen der Vererbung	95
15.1. Viren können Bakterien beeinflussen	95
15.2. DNA-Replikation	95
15.3. Der Aufbau von Chromosomen	99
15.4. Viren und virale Genome	99

16. Vom Gen zum Protein	102
16.1. Der genetische Code	102
16.2. Die Transkription	102
16.3. RNA-Prozessierung in eukaryontischen Zellen	104
16.4. Die Translation	105
16.5. Vom Polypeptid zum funktionsfähigen Protein	107
16.6. Punktmutationen	109
17. Regulation der Genexpression	111
17.1. Regulation der Transkription bei Bakterien	111
17.2. Regulation der Genexpression bei Eukaryonten	113
17.3. Die Regulation der Genexpression durch nicht-codierende RNA	118
17.4. Entstehung von verschiedenen Zelltypen	118
17.5. Entstehung von Krebs	120
18. Gentechnik in der Biotechnologie	123
18.1. DNA-Sequenzierung und Klonierung	123
18.2. Die Verwendung der Gentechnik zur Untersuchung der Expression und Funktion von Genen	129
18.3. Die Klonierung von Organismen zur Bereitstellung von Stammzellen	132
18.4. Anwendungen der Gentechnik	133
19. Genome und ihre Evolution	138
19.1. Genomanalyse mithilfe der Bioinformatik	138
19.2. Charakteristische Grössen von Genomen	139
19.3. Nichtcodierende DNA und Multigenfamilien	140
19.4. Genomevolution durch Duplikation, Umlagerung und Mutation der DNA	142
19.5. Vergleich von Genomsequenzen	144
19.6. Übersicht Mutationen	145

1. Einführung

1.1. Eigenschaften des Lebens

Lebewesen sind insbesondere durch die folgenden Eigenschaften charakterisiert:

1. Sie sind fähig zur **Evolution**.
2. Sie **interagieren mit der Umwelt**. Diese Interaktion ist die Voraussetzung für die Evolution.
3. Sie können sich **reproduzieren**.
4. Sie **wachsen** und **entwickeln** sich **planmässig**.
5. Sie können **Energie**, die sie für all diese Eigenschaften brauchen, **verarbeiten**.
6. Sie können wichtige Variablen, wie z.B. den Blutfluss, die Körpertemperatur etc. **regulieren**.
7. Die Strukturen des Lebens sind **geordnet**. Das Leben bedeutet eine Reduktion der Entropie.

1.2. Verschiedene Prinzipien in der Biologie

1.2.1. Reduktionismus

Reduktionismus bedeutet die Reduktion von komplexen Systemen zu weniger komplexen Systemen, die einfacher zu beschreiben sind.

Wenn bei der Biologie immer weiter in eine Biosphäre, Population, in einen Organismus gezoomt wird, wird das als Reduktionismus bezeichnet. Bezüglich Reduktionismus sind folgende Begriffe von Bedeutung:

Biosphäre Die Biosphäre bezeichnet den Raum mit Leben eines Himmelskörpers. Es ist derjenige Raum, in dem Leben vorkommt. Die Biosphäre wird als Hülle (Sphäre) gedacht, die ungefähr von 60 km über bis 5 km unter der Erdoberfläche reicht.

Ökosystem Ein Ökosystem besteht aus allem Leben und nicht-lebenden Dingen, mit denen das Leben interagiert, in einem begrenzten Gebiet (z.B. ein Baum, ein Wald, eine Wüste, ein Teich etc.).

Lebensgemeinschaft (Biocönose, Community) Die Gesamtheit aller Organismen in einem bestimmten Ökosystem wird als eine biologische Lebensgemeinschaft bezeichnet.

Population Eine Population besteht aus allen Individuen einer Spezies in einem begrenzten Gebiet.

Organismus Individuelle lebende Dinge werden als Organismen bezeichnet.

Organ Ein Körperteil, das eine bestimmte Funktion ausübt, ist ein Organ (z.B. ein Blatt). Bei komplexen Organismen bilden mehrere Organe ein Organsystem und führen zusammen eine Funktion aus.

Gewebe Ein Gewebe besteht aus mehreren Zellen, die zusammen eine bestimmte Funktion ausüben.

Zelle Es ist die einfachste, sich selbst replizierende Einheit, welche als unabhängige Einheit des Lebens existieren kann. Sie kann alle Aufgaben vom Leben ausführen. Zellen haben eine Grösse von um die 40 Mikrometer. Die Zelle ist von einer Membran umhüllt. Membranen dienen dazu, verschiedene Reaktionsräume abzugrenzen.

Organell Sie haben eine bestimmte Aufgabe in der Zelle.

1.2.2. Systembiologie

Beim reduktionistischen Ansatz werden einzelne Bestandteile eines Organismus isoliert betrachtet. Zusammenhänge zwischen diesen einzelnen Dingen werden nicht betrachtet. Die Systembiologie stellt einen Zusammenhang zwischen den verschiedenen Teilen dar. Ein System ist dabei eine Kombination aus verschiedenen Komponenten, die zusammen funktionieren, z.B. ein Blatt, ein Frosch oder eine Wüste.

Es gibt stets eine Korrelation zwischen Struktur und Funktionalität. Zum Beispiel ist ein Blatt gross und flach, damit es möglichst viel Sonnenlicht auffangen kann. Dieser Zusammenhang wird durch natürliche Selektion sichergestellt. Das gilt auch z.B. bei Proteinen.

→ **Struktur korreliert mit Funktion, auf allen Ebenen der biologischen Organisation.**

1.3. Genetik

Die Information der DNA ist nicht nur in der Abfolge der Nukleotide enthalten, sondern auch in der Polarität des Rückgrats. Sie gibt die Richtung vor.

Die Basen sind planar, weil sie konjugierte Doppelbindungen enthalten. Diese Doppelbindungen absorbieren ultraviolettes Licht, das die Basen verändern kann und somit cancerogen ist.

Genom Die Gesamtheit aller genetischen Informationen, die ein Organismus erbt.

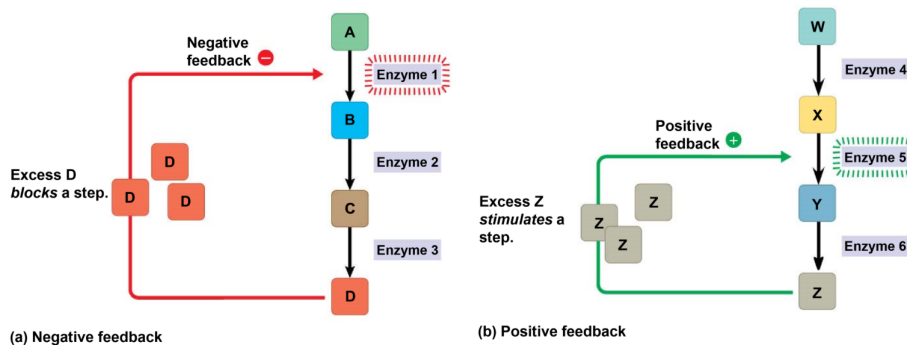
Proteom Die Gesamtheit aller Proteine in einem Lebewesen.

1.4. Feedback-Mechanismen

Biologische Prozesse können sich durch Rückkopplung selbst regulieren.

Negatives Feedback Wenn es von einem Produkt zu viel hat, wird die Produktion gehemmt.

Positives Feedback (=Amplifikation) Wenn es von einem Produkt schon viel hat, wird die Produktion noch weiter gesteigert. Positives Feedback kann zur Signalverstärkung z.B. in Nervenzellen dienen.



1.5. Energie- und Materialumwandlung

Chemische Bausteine unterliegen in einem Ökosystem einem Kreislauf. Im Gegensatz dazu fließt Energie durch das Ökosystem hindurch. Sie tritt in Form von Licht in das System hinein und verlässt es in Form von Wärme wieder (→ Abb. 1.1).

1.6. Evolution

Heutige Lebensformen können nur aufgrund ihrer Entstehungsgeschichte verstanden werden.

Evolution erklärt die Gemeinsamkeiten und Verschiedenheiten aller Lebewesen. So gehört zu den Gemeinsamkeiten, dass bei allen Lebewesen das Erbgut in Form von DNA gespeichert ist. Der genetische Code

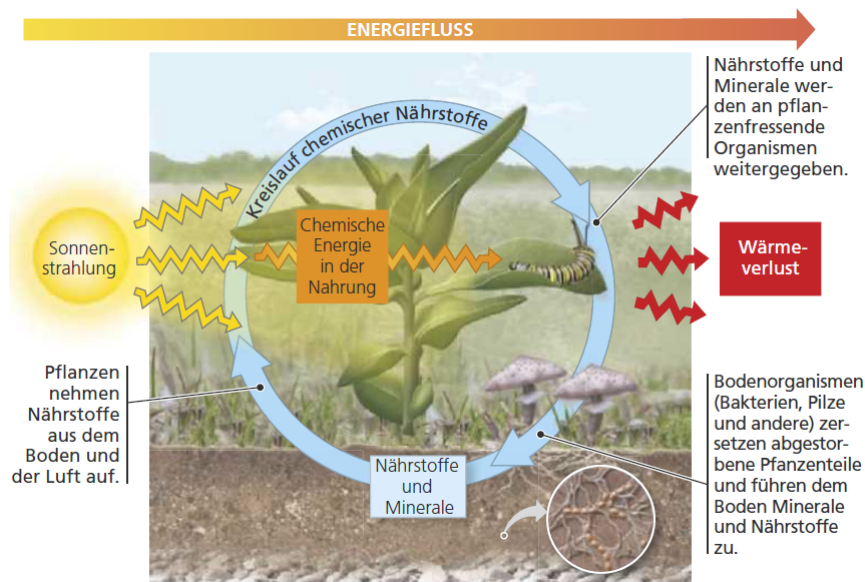
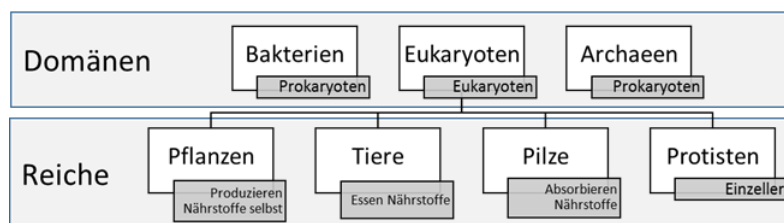


Figure 1.1.: Energie- und Stoffumwandlung in einem Ökosystem.

(die Triplets, die die Aminosäuren codieren) ist bei fast allen Lebewesen gleich. Biologen können nur über Veränderungen des Lebens Aussagen machen, nicht aber über dessen Entstehung.

Wichtiger Begriff in Zusammenhang mit der Evolution ist der, der **homologen Strukturen** - Selektion führt zu Strukturen, die den gleichen Aufbau, aber unterschiedliche Funktionen haben. Umgekehrt können gleiche Umweltbedingungen zu gleichen Merkmalen mit unterschiedlichem Ursprung führen - **Konvergente Evolution**.

Taxonomiert werden die Lebewesen aufgrund einer mehr oder weniger gemeinsamen Entwicklungsgeschichte (siehe Abbildung 1.2). Grobe Ordnung der Lebewesen:



Bakterien und Archaeen unterscheiden sich u.A im Aufbau der Translationsmaschinerie und der Membran. Beide aber sind i.d.R. Einzeller und mikroskopisch. Auch Chloroplasten und Mitochondrien waren ursprünglich Prokaryoten (Symbiontentheorie).

Pilze leben auf ihrem Substrat und bauen es ab (also ausserhalb des Organismus), während Tiere die Nahrung durch Essen aufnehmen (innerhalb des Organismus) und Pflanzen die Nährstoffe selbst produzieren.

1.7. Wissenschaftliches Arbeiten

Wichtig: Hypothesen lassen sich nie verifizieren, sondern nur falsifizieren!

Wenn eine Hypothese aber auch bei einer Vielzahl von Experimenten nicht falsifiziert werden kann und die Experimente konsistente Ergebnisse liefern, wird die Hypothese zu einer Theorie.

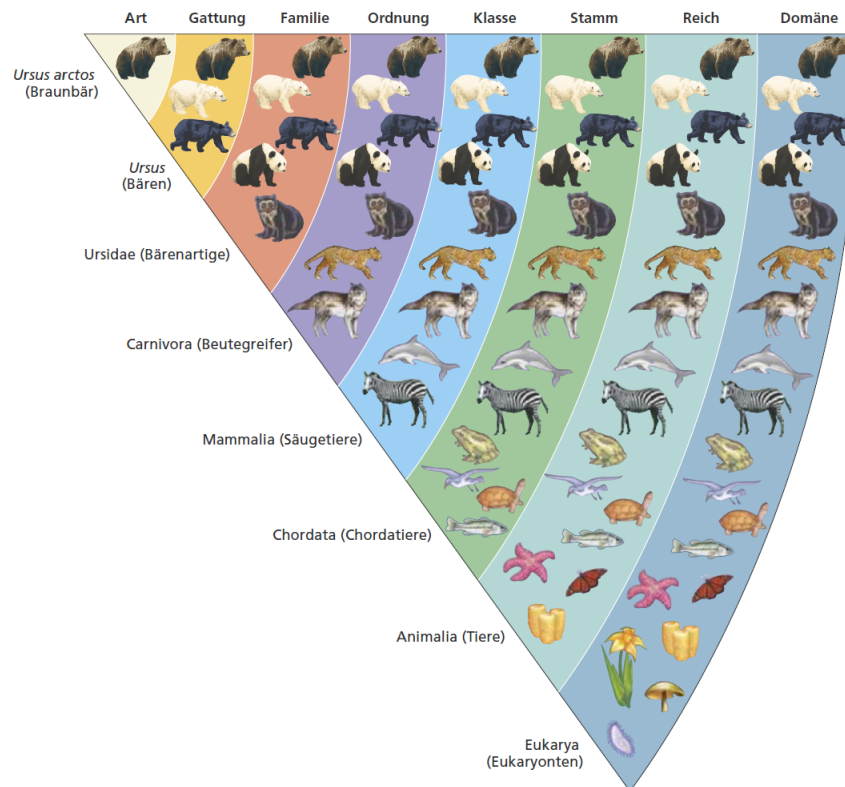


Figure 1.2.: Taxonomierung von Lebewesen

Part I.

Chemie des Lebens

2. Wasser und Leben

Wasser ist die wichtigste Voraussetzung für Leben. Die meisten Zellen sind in wässriger Umgebung und bestehen selbst zu 70 – 95% aus Wasser.

2.1. Vier Eigenschaften von Wasser, die zum Leben beitragen

Die hohe Elektronegativität des Sauerstoffs sorgt dafür, dass das Molekül polar ist und Wasserstoffbrücken eingehen kann. Diese Wasserstoffbrücken wiederum (mit der Polarität selbst) sind verantwortlich für viele Eigenschaften, die für das Leben unabdingbar sind.

2.1.1. Kohäsion (Bindekraft) von Wassermolekülen

Wasserstoffbrücken halten die Substanz relativ stark zusammen. Diese Kohäsion hilft beim Wassertransport mit gelösten Nährstoffen, z.B. beim Steigen von der Wurzel zu den Blättern; das Wasser wird in den Tracheen (Gefässelement des Xylems zum Transport von Wasser) quasi nach oben gezogen. Bäume können übrigens maximal bis 130 m hoch werden, und das nur an Küsten mit grossem Druck, damit die Kohäsion länger anhält. Dabei spielt auch die Adhäsion (Ausbreitung und "kleben" an Oberflächen) eine Rolle.

Zusammengefasst ist die Kohäsion eine Interaktion zwischen gleichen Molekülen und Adhäsion eine Interaktion zwischen verschiedenen Molekültypen.

In Verbindung mit der Kohäsion steht die hohe Oberflächenspannung von Wasser.

2.1.2. Temperaturregelung von Wasser

Atome und Moleküle sind in ständiger Bewegung und haben somit kinetische Energie, auch thermische Energie genannt. Thermische Energie hängt im Gegensatz zur Temperatur, die ein Mass für die mittlere kinetische Energie der Moleküle einer Substanz und unabhängig vom Volumen ist, vom Volumen der Substanz ab. So hat ein Schwimmbecken eine grössere thermische Energie aber eine tiefere Temperatur als eine heisse Tasse Tee.

Wärme kann in Kalorien angegeben werden. Eine Kalorie (cal) entspricht der Wärme, die nötig ist, um ein Gramm Wasser um 1°C zu erwärmen. Eine Kilokalorie (kcal) bezeichnet dann die Wärme, die nötig ist, um ein Kg einer Substanz um 1°C zu erwärmen.

Wasser hat mit 1 cal/g·K eine hohe spezifische Wärmekapazität und kann damit die Umgebung (z.B. die Lufttemperatur an der Küste) regulieren, ohne dass dabei die eigene Temperatur stark verändert wird. Auch bleibt die Temperatur des Körpers, der hauptsächlich aus Wasser besteht, mit einer hohen spezifischen Wärmekapazität stabiler. Der Grund für die hohe spezifische Wärmekapazität liegt auch wieder in den Wasserstoffbrücken. Bevor sich die Moleküle schneller bewegen können, müssen zuerst die Wasserstoffbrücken aufgehoben werden, was viel Energie benötigt.

Aus dem gleichen Grund hat Wasser eine hohe Verdampfungswärme, was z.B. das Schwitzen effektiv macht.

Formel zur Berechnung der umgesetzten Wärme in demselben Aggregatzustand:

$$Q = c \cdot m \cdot \Delta T$$

$$Q = C \cdot n \cdot \Delta T$$

Mit Q =Wärme, c =Spezifische Wärmekapazität, C =Molare Wärmekapazität, m =Masse, n =Stoffmenge in mol.

Formeln zur Berechnung der umgesetzten Wärme beim Schmelzen (Latente Schmelzwärme Q_S) und Verdampfen (Latente Verdampfungswärme Q_D):

$$Q_S = m \cdot \lambda_S$$

$$Q_D = m \cdot \lambda_D$$

Mit λ_S =Spezifische Schmelzwärme und λ_D =Spezifische Verdampfungswärme.

2.1.3. Eis ist leichter als Wasser

Wasser über 4°C verhält sich wie andere Flüssigkeiten und dehnt sich beim Erwärmen aus. Geht Wasser gegen 0°C bewegen sich die Moleküle zu langsam, als dass sie noch Wasserstoffbrücken aufbrechen und somit fließen könnten. Beim Gefrieren ordnen sich die Moleküle mit jeweils vier Nachbarmolekülen so an, dass sich die Dichte um rund 10% gegenüber 4°C verringert. Dies, weil die "Packung" im flüssigen Zustand dichter ist, als im festen Zustand (da gehen sie auf eine gewisse Distanz zueinander). Wasser hat somit bei 4°C die grösste Dichte.

Diese Tatsache ist vor allem in Gewässern sehr wichtig.

2.1.4. Wasser als Lösungsmittel

Die Lösungsfähigkeit von Wasser ist bekanntlich auf die Polarität der Wassermoleküle zurückzuführen (Wasser bildet eine **Hydrathülle** um z.B. die Ionen). Es können aber nicht nur Salze (also Ione) gelöst werden, sondern auch polare Stoffe wie Zucker oder ganze Proteine. Die Wassermoleküle bilden dann Wasserstoffbrücken mit den polaren Molekülen aus.

Stoffe, die eine Affinität zu Wasser haben, werden als **hydrophil** bezeichnet. Sie müssen nicht zwingend wasserlöslich sein. Manche Moleküle sind zu gross um sich in Wasser aufzulösen - sie bilden eine koloidale¹ Suspension. Auch z.B. Baumwolle (sehr lange Cellulose-Moleküle) ist hydrophil weil polar. Die Cellulose-Moleküle gehen Wasserstoffbindungen mit dem Wasser ein (Adhäsion), lösen sich aber nicht auf.

Auch Proteine sind meistens wasserlöslich. Das ist auf ihre Oberfläche zurückzuführen, die abschnittsweise partiell geladen sein kann.

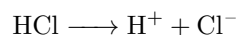
Hydrophobe Substanzen (z.B. Kohlenwasserstoffe wie Fette) sind unpolar und keine Ione. Sie bilden in Wasser Kolloide.

2.2. Der Einfluss von Säuren und Basen

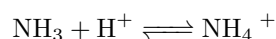
Bei Säure-Base-Reaktionen werden bekanntlich Wasserstoff-Ionen (H^+) mit einer Ladung von 1+ übertragen, also Protone. Bei der **Auto-Protolyse** (der Prozess des Überspringens eines H^+ -Ions von einem Wassermolekül aufs andere heisst **Disproportionierung**) entsteht ein Hydronium-Ion (H_3O^+) und ein Hydroxid-Ion (OH^-). Es ist gängige Praxis, das Hydronium-Ion H_3O^+ mit H^+ darzustellen.

H^+ und OH^- sind sehr reaktiv und beeinflussen die Proteine und andere komplexe Moleküle in einer Zelle. Die veränderten Proteine wären möglicherweise nicht mehr funktionsfähig, darum ist der pH-Wert für Lebewesen wichtig.

- Säuren sind Protonendonoren. Sie geben bei der Lösung in Wasser ein H^+ ab, was zu einer Erhöhung der Hydronium-Konzentration (H_3O^+) führt. Die Lösung wird saurer. Ein Beispiel ist die Lösung von Salzsäure in Wasser:

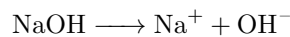


- Basen sind Protonenakzeptoren. Entweder nehmen sie H^+ auf:



oder sie dissoziieren zu OH^- -Ionen:

¹Als Kolloide werden Teilchen oder Tröpfchen bezeichnet, die im Dispersionsmedium (Feststoff, Gas oder Flüssigkeit) fein verteilt sind. Die Grösse der Teilchen liegt im Nano- und Mikrometerbereich.



Lösungen mit einer höheren Hydronium-Konzentration werden als sauer bezeichnet, während basische Lösungen eine höhere Hydroxid-Konzentration haben.

Die pH-Skala

Bei 25°C ist das Produkt der H^+ und der OH^- -Konzentration konstant bei 10^{14} . Die pH-Skala ist eine logarithmische Skala und wie folgt definiert:

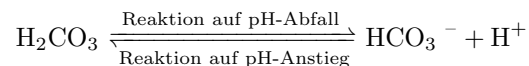
$$\text{pH} = -\log_{10}[\text{H}^+]$$

wobei mit [·] die Konzentration des jeweiligen Stoffs gemeint ist. Eine Lösung mit pH-Wert tiefer als 7 ist also eine saure Lösung. Die meisten biologischen Fluide haben einen pH-Werte von 6-8 (i.d.R. 7.68).

Übrigens ist der pH-Wert in verschiedensten Zellen ziemlich genau gleich wie im Meer - ein Indiz dafür, dass Leben im Meer entstanden ist.

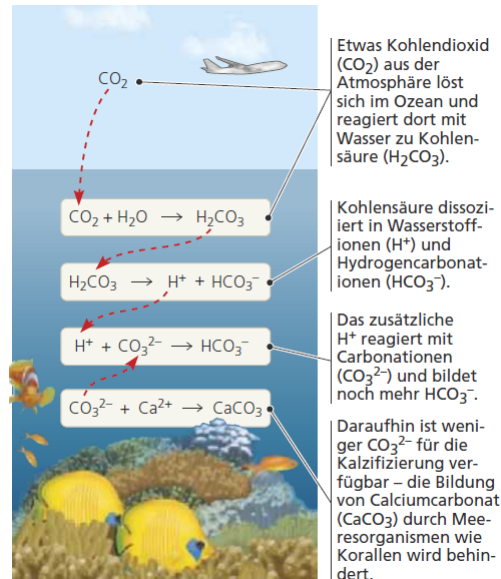
Puffer

Puffer-Substanzen enthalten eine schwache Säure und die korrespondierende Base. Sie können so überschüssige Protonen aufnehmen resp. bei einem Mangel abgeben und halten so den pH-Wert konstant. Ein solcher Puffer ist Kohlensäure H_2CO_3 . Sie entsteht, wenn CO_2 im Blutplasma mit Wasser reagiert und anschließend dissoziiert:



Bei Zugabe von 0.1 Mol einer starken Säure reduziert sich der pH-Wert von Wasser von 7.0 auf 2.0, bei Blut nur von 7.4 auf 7.3.

Folgende Abbildung ist interessant (und evt. wichtiges Beispiel). Sie zeigt u.A. wie sich der CO_2 -Gehalt auf das Ökosystem des Meeres auswirkt.



3. Kohlenstoff und die molekulare Vielfalt des Lebens

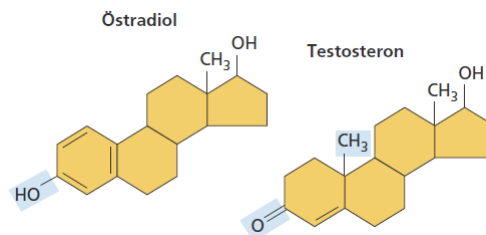
Kohlenstoff ist unschlagbar darin, grosse und komplexe Moleküle zu bilden. Nicht nur wegen der Vierwertigkeit, sondern auch wegen der tetraedrischen Gestalt seiner Bindungspartner. So sind die meisten Moleküle, die "belebte" Materie von "unbelebter" Materie unterscheiden, Kohlenstoffverbindungen. Die Anteile der Elemente C, H, O, N, S und P sind in allen Lebewesen ungefähr gleich.

Sehr wichtig in der Biologie sind Isomere, insbesondere auch Enantiomere. Geometrische Isomere (cis/trans-Isomere) unterscheiden sich in der Anordnung der Substituenten an eine C=C Doppelbindung. Bei Enantiomeren trägt ein zentrales C-Atom vier unterschiedliche Substituenten, die unterschiedlich angeordnet sind. Man spricht von einem "chiral-substituierten" oder "asymmetrischen" C-Atom oder einem "Chiralitätszentrum". Die unterschiedlichen Versionen der Enantiomere haben unterschiedliche Effekte.

3.1. Wichtigste funktionelle Gruppen in der Biologie

3.1.1. Steroide

Steroide bilden eine Stoffklasse der Lipide. Ihre biochemischen Aufgaben reichen von Vitaminen und Sexualhormonen über Gallensäure bis zu Krötengiften und den herzaktiven Giften von Digitalis und Oleander (beides Pflanzen). Interessant sind die sexualhormone Estradiol (bei der Frau) und Testosteron (beim Mann). Ihre Moleküle unterscheiden sich in zwei chemischen Gruppen:



Ihre unterschiedlichen Aktivitäten an verschiedenen Orten im Körper ist die Ursache der Geschlechter und ihren Ausprägungen.

Die wichtigsten funktionellen Gruppen sind in Abbildung 3.1 zusammengefasst. Alle, ausser der Methylgruppe, sind hydrophil.

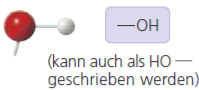
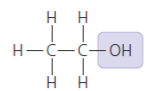
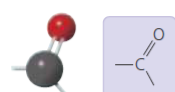
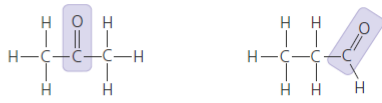
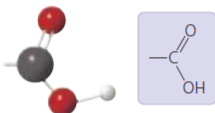

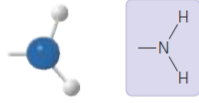
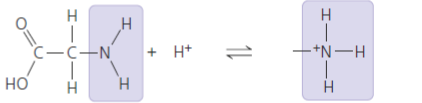
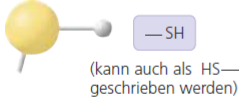
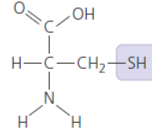
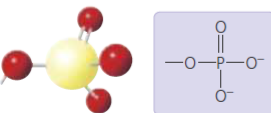
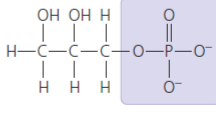
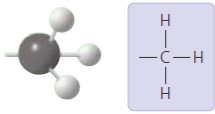
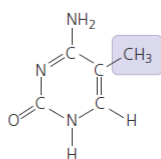
Funktionelle Gruppe	Bezeichnung und Eigenschaften	Beispiele
Hydroxylgruppe ($-\text{OH}$)  (kann auch als $\text{HO}-$ geschrieben werden)	Bezeichnung: Alkohol (Endung -ol) Polar infolge des elektronegativen Sauerstoffs. Bildet Wasserstoffbrückenbindungen mit Wasser aus, unterstützt die Auflösung von Verbindungen wie Zucker.	 Ethanol , der Alkohol in entsprechenden Getränken
Carbonylgruppe ($>\text{C}=\text{O}$) 	Bezeichnung: Keton (innerhalb eines Kohlenstoffgerüsts) oder Aldehyd (am Ende eines Kohlenstoffgerüsts), dann mit Wasserstoff abgesättigt, $-\text{CHO}$ = Aldehydgruppe) Zucker enthalten eine Carbonylgruppe. Je nach ihrer Position im Molekül heißen die Zucker dann entweder Ketosen oder Aldosen.	 Aceton , das einfachste Keton Propanal , ein Aldehyd
Carboxylgruppe ($-\text{COOH}$) 	Bezeichnung: Karbonsäure (oder auch organische Säure) Wirkt als Säure (=Protonendonator), da die kovalente Bindung zwischen dem Wasserstoff und Sauerstoff sehr polar ist	 Essigsäure (verleiht dem Essig seinen sauren Geschmack) ionisierte Form, wie sie in Zellen vorkommt (Carboxylatanion, $-\text{COO}^-$)
Aminogruppe ($-\text{NH}_2$) 	Bezeichnung: Amin Wirkt als Base (=Protonenakzeptor), kann H^+ aus der umgebenden Lösung (in Lebewesen Wasser) aufnehmen	 Glycin , eine Aminosäure (man beachte die Carboxylgruppe!) ionisierte Form des $-\text{NH}_2$, die in Zellen vorkommt
Thiolgruppe ($-\text{SH}$)  (kann auch als $\text{HS}-$ geschrieben werden)	Bezeichnung: Thiol (oder auch Sulfhydryl) Zwei $-\text{SH}$ -Gruppen können miteinander reagieren und eine Disulfidbrücke ausbilden, eine Quervernetzung, die Proteinstrukturen stabilisieren kann. Das Haar-Protein Keratin enthält Disulfidbrücken, die für die Glätte oder Kräuselung des Haars verantwortlich sind. Durch Lösen und Neuknüpfen der Quervernetzungen läßt sich das Haar in die gewünschte Form bringen.	 Cystein , eine schwefelhaltige Aminosäure
Phosphatgruppe ($-\text{OPO}_3^{2-}$) 	Bezeichnung: Phosphat Fügt eine einfach negative Ladung hinzu, wenn innerhalb einer Kette von Phosphatgruppen befindlich, eine zweifach negative, wenn am Ende. Verleiht einem Molekül die Eigenschaft, mit Wasser unter Energiefreisetzung zu reagieren.	 Glycerolphosphat , Bestandteil einiger wichtiger biochemischer Reaktionen
Methylgruppe ($-\text{CH}_3$) 	Bezeichnung: Methyl- (oder auch methyliert) Beeinflußt die Genexpression durch Bindung an DNA oder an DNA-bindende Proteine. Beeinflußt die Gestalt und Funktion der Geschlechtshormone.	 5-Methyl-Cytosin , Bestandteil einer DNA, die durch die Addition einer Methylgruppe modifiziert wurde.

Figure 3.1.: Die in der Biologie wichtigsten funktionellen Gruppen

4. Biomoleküle

Biomoleküle können fünf Stoffklassen zugeordnet werden: Kohlenhydraten, Lipiden, Proteinen, Nucleinsäuren und einer überschaubaren Anzahl an Cofaktoren, die sich unter anderem von den Vitaminen ableiten.

4.1. Makromoleküle sind aus Monomeren aufgebaute Polymere

Polysaccharide, Proteine und Nucleinsäuren sind Polymere. Die Verknüpfung von Monomeren zu Polymeren bzw. dessen Trennung erfolgt bei allen Stoffklassen gleich. Dabei werden die Reaktionen immer durch Enzyme katalysiert.

Kondensation Unter Freisetzung eines kleinen Moleküls werden zwei Monomere verknüpft. Bei diesen drei Stoffklassen werden Wasser-Moleküle freigesetzt, man spricht darum von dehydratisierender Kondensation. Bei einer Verknüpfung zweier Monomere spaltet das eine Molekül eine OH-Gruppe ab, das andere ein H-Atom.

Hydrolyse Sie ist die Umkehrung der Kondensation - also die Bindungsspaltung durch eine Reaktion mit Wasser.

4.2. Kohlenhydrate

4.2.1. Zucker

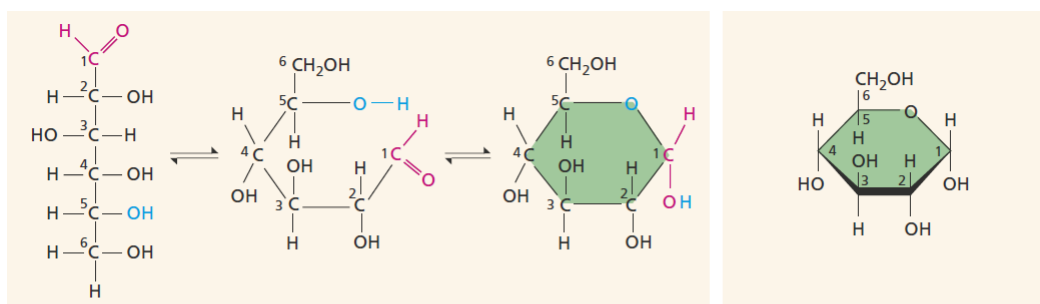
Monosaccharide

Monosaccharide haben in der Regel die Summenformel $(\text{CH}_2\text{O})_n$ und enthalten eine Carbonyl- sowie eine oder mehrere Hydroxylgruppen. Je nach Stellung der Carbonylfunktion ist der Zucker entweder eine Aldose (ein Aldehyd) oder eine Ketose (ein Keton). Die die Kohlenhydrate kennzeichnende Endung in der chemischen Fachsprache ist "-ose".

Die biogenen Einfachzucker enthalten drei bis sieben C-Atome (siehe Abbildung 4.1).

Auch hier ist die Chiralität (ein Chiralitätszentrum ist ein C-Atom mit vier verschiedenen Substituenten) mitentscheidend für die Molekülvielfalt.

Die meisten Zucker liegen in wässriger Lösung fast nur in Form geschlossener Ringe vor:



(a) Offenkettige lineare Form und Ringform. Das chemische Gleichgewicht zwischen der offenkettigen linearen Form und der Ringform liegt stark auf Seiten der Ringform. Die Kohlenstoffatome des hier abgebildeten Zuckermoleküls sind von 1 bis 6 durchnummeriert. Bei der Bildung des Glucoserings reagiert C-1 mit dem Sauerstoff am C-5.

(b) Vereinfachte Ringstrukturformel. Jede Ecke symbolisiert ein Kohlenstoffatom. Die stärker gezeichneten Linien stellen Bindungen dar, die, wie bei einer Seitenansicht, zum Betrachter hin orientiert sind. Die nach oben oder unten weisenden Substituenten liegen oberhalb beziehungsweise unterhalb der Ringebene.

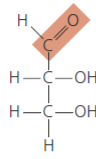
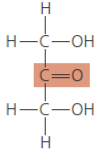
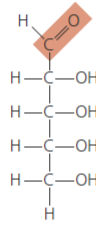
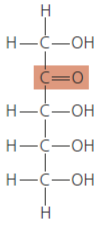
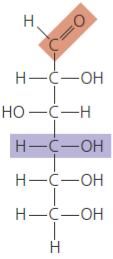
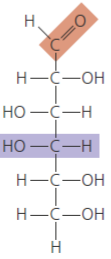
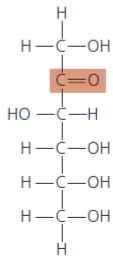
Aldosen (Aldehydzucker) Carbonylgruppe am Ende des Kohlenstoffgerüsts		Ketosen (Ketozyucker) Carbonylgruppe innerhalb des Kohlenstoffgerüsts
Triosen: 3C-Zucker (C₃H₆O₃)		
 <p>Glycerolaldehyd Glucose-Abbauprodukt</p>	 <p>Dihydroxyaceton Glucose-Abbauprodukt</p>	
Pentosen: 5C-Zucker (C₅H₁₀O₅)		
 <p>Ribose RNA-Bestandteil</p>	 <p>Ribulose Photosynthese-Zwischenprodukt</p>	
Hexosen: 6C-Zucker (C₆H₁₂O₆)		
 <p>Glucose Energiequellen für Organismen</p>	 <p>Galactose Energiequellen für Organismen</p>	 <p>Fructose Energiequelle für Organismen</p>

Figure 4.1.: Struktur und Klassifizierung einer Auswahl von Monosacchariden

Disaccharide

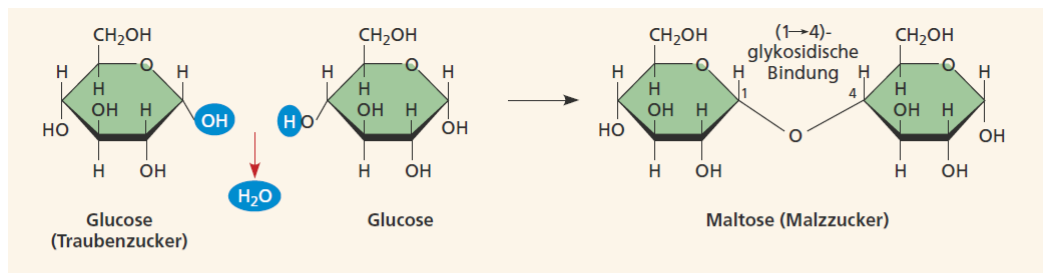
Ein Disaccharid besteht aus zwei durch eine glykosidische Bindung miteinander verbundenen Monosacchariden. Die glykosidische Bindung ist kovalent; sie bildet sich bei der Kondensationsreaktion der Monosaccharide (siehe Abbildung 4.2).

4.2.2. Polysaccharide

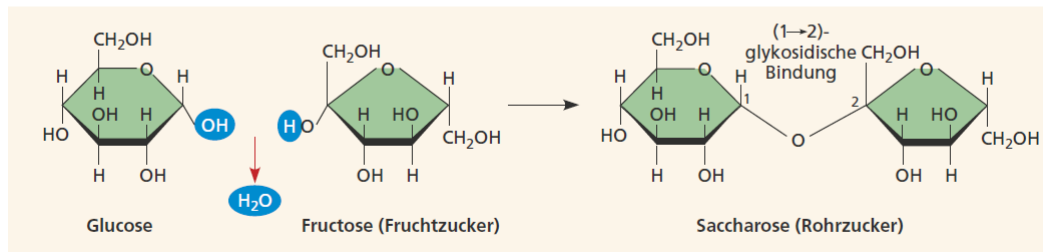
Polysaccharide können als Speicherstoffe und Baumaterial dienen. Der Aufbau und die Funktion eines Polysaccharids werden von seinen Monosaccharideinheiten und dem Ort ihrer glykosidischen Bindungen bestimmt.

Speicherpolysaccharide

Pflanzen lagern **Stärke**, ein Glucosepolymer, in Form von Körnchen (Granula) in die Plastiden ihrer Zellen ein. So kann überschüssige Glucose osmotisch-neutral gespeichert werden. Die meisten Glucosereste in Stärkemolekülen sind durch eine 1,4-glykosidische Bindung miteinander verbunden. Auch Maltase



(a) Die Dehydratisierungsreaktion bei der Synthese der Maltose. Die Verknüpfung von zwei Glucosemolekülen führt zur Bildung von Malzzucker (Maltose). Bei dieser Glykosidbildung wird das C-1 des einen Glucoserestes mit dem C-4 des zweiten kovalent verknüpft. Bei dieser Kondensation wird Wasser abgespalten. Werden die Glucosemonomere auf andere Art miteinander verknüpft, entstehen andere Zweifachzucker (Disaccharide).



(b) Die Dehydratisierungsreaktion bei der Synthese der Saccharose. Saccharose (Rohrzucker) ist ein Disaccharid, das sich aus Glucose und Fructose bildet. Man beachte, dass die Fructose, obgleich es sich bei ihr wie bei der Glucose um eine Hexose handelt, einen fünfgliedrigen Kohlenstoffring ausbildet.

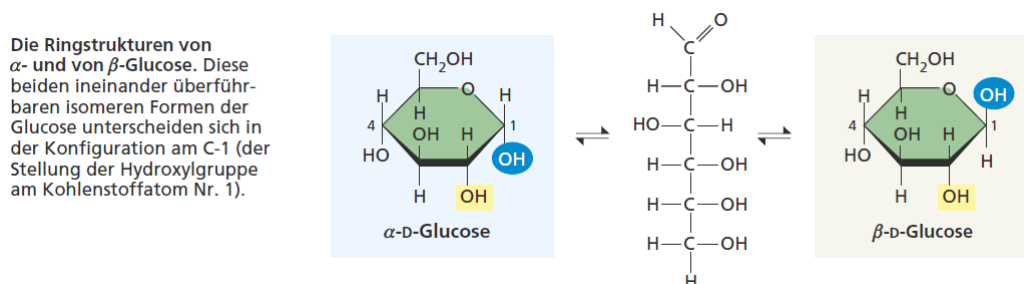
Figure 4.2.: Glykosidische Bindung in Disacchariden

hat diesen Bindungstyp. Folglich kann es auch als Baustein für das Stärke-Molekül angesehen werden. Man unterscheidet zwischen der unverzweigten **Amylose** und dem verzweigten **Amylopectin**, bei dem in gewissen Abständen Glucosylketten in 1,6-Bindungen abzweigen.

Tiere speichern Glucose in Form des Polysaccharids **Glykogen**, ebenfalls eine Polyglucose, aber im Vergleich zu Amylopectin stärker verzweigt.

Strukturpolysaccharide

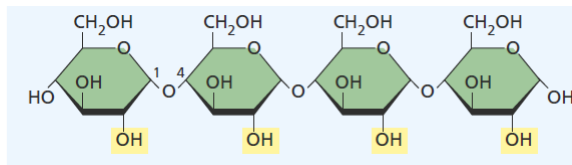
Cellulose Cellulose ist genau wie Stärke ein Glucosepolymer, aber die beiden Moleküle unterscheiden sich durch ihre glykosidischen Bindungen. Glucose kann in zwei stereochemisch verschiedenen Ringformen vorliegen. Wenn sich der Glucose-Ring bildet, kann die Hydroxylgruppe am C-1 ober- oder unterhalb der Ringebene zu liegen kommen. Man spricht von Diastereomeren (Stereoisomere, die sich nicht wie Bild und Spiegelbild zueinander verhalten).



Stärke enthält nur α -D-Glucose, Cellulose nur β -konfigurierte Glucosereste.

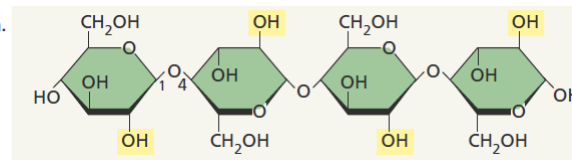
α -Glucosereste weisen nach der Verknüpfung alle die gleiche Orientierung auf. Das Molekül nimmt danach eine helikale Konformation ein.

Stärke: α 1 \rightarrow 4-Verknüpfung von α -Glucoseresten.
Alle Monosaccharidreste weisen dieselbe Orientierung auf. Vergleichen Sie die Stellung der gelb hervorgehobenen OH-Gruppen mit denen im Cellulosemolekül (c).



β -Glucosereste im Cellulose-Moleküle stehen abwechselungsweise auf dem Kopf. Das Molekül nimmt darum eine gerade Struktur ein. Auch sind sie niemals verzweigt und können untereinander Wasserstoffbrückenbindungen eingehen. So bilden sich aus parallel angeordneten Moleküle supramolekulare Einheiten, die Mikrofibrillen.

Cellulose: β 1 \rightarrow 4-Verknüpfung von β -Glucoseresten.
Im Cellulosemolekül steht jeder zweite Glucose-rest auf dem Kopf (relativ zu den benachbarten Resten).



Cellulose kann vom Menschen nicht verdaut werden, stimuliert beim Durchgang durch den Verdauungstrakt aber die Darmschleimhaut und regt sie zur Absonderung von Schleim an, was für den Verdauungsprozess förderlich ist. Manche Prokaryonten und Pilze können Cellulose verdauen und gehen so Symbiosen z.B. mit Kühen ein, leben im ersten ihrer Mägen.

Chitin Chitin ist ein weiteres wichtiges Strukturkohlenhydrat. Arthropoden (Gliederfüßer wie Spinnen und Insekten) bauen aus ihm ihr Exoskelett auf, also eine harte Hülle, die ihre Weichteile umschließt.

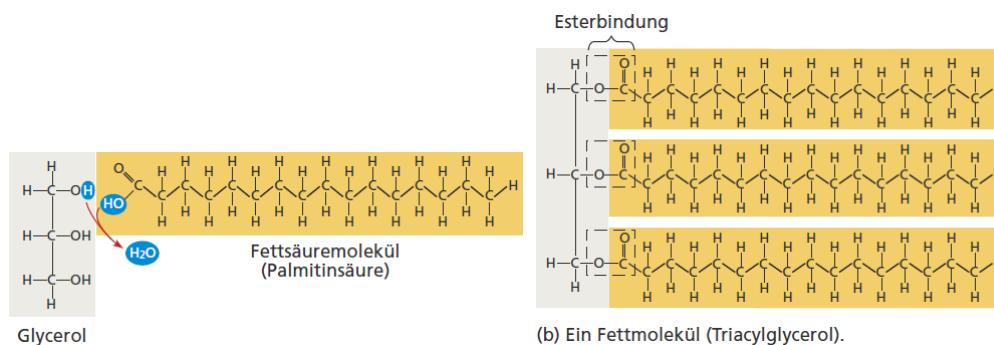
4.3. Lipide

Lipide sind eine Klasse hydrophober Moleküle, die keine kovalent gebundenen Polymere ausbilden, sich aber leicht zu grossen Aggregaten zusammenlagern. Lipide bestehen zum grössten Teil aus apolaren aliphatischen¹ Kohlenwasserstoffketten, die an kleinere polare Bereiche gebunden sind, die sogenannten hydrophilen Kopfgruppen. Wegen den KW-Ketten sind die Lipide hydrophob.

Hier werden nur die drei biologisch wichtigsten Lipidtypen (Fette, Phospholipide, Steroide) besprochen.

4.3.1. Fette

Fette bestehen aus Glycerol (umgangssprachlich Glycerin, ein dreiwertiger Alkohol) und Fettsäuren (ein KW mit 16-18 C-Atomen mit einer endständigen Carboxylgruppe). Das Fett-Molekül wird dann durch Kondensation gebildet und somit von einer Esterbindung (-COOR') zusammengehalten (Ester entstehen aus Säuren und alkoholischen Hydroxylgruppen unter Abspaltung von Wasser):



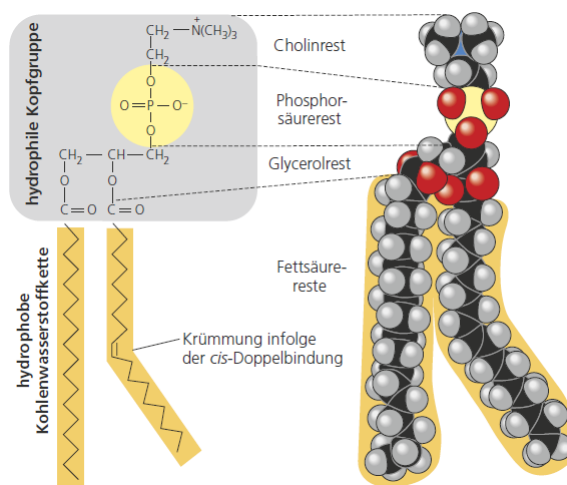
¹Der Begriff aliphatisch kennzeichnet Moleküle mit einem oder mehreren offenen, kettenförmigen Kohlenwasserstoffresten. Aliphatische Kohlenwasserstoffe sind lipophil und hydrophob.

Das resultierende Lipidmolekül wird auch als **Triacylglycerol** oder **Triglycerid** bezeichnet. Die einzelnen Fettsäuren können sich unterscheiden und sind entweder gesättigt oder ungesättigt. Letztere können bei einer cis-Konfiguration einen Knick enthalten. Die meisten tierischen Fette sind gesättigt, lassen sich somit dicht zusammenpacken und sind bei Raumtemperatur fest. Pflanzen- und Fischfette sind meistens ungesättigt.

Einige ungesättigte Fettsäuren kann der menschliche Körper nicht selbst herstellen. Der Zweck von Fetten ist einerseits die Speicherung von Energie (doppelt soviel Energie wie gleichviel Protein) und der Schutz und Isolation der Organe resp. des Körpers.

4.3.2. Phospholipide

Bei Phospholipiden ist die dritte Hydroxylgruppe des Glycerols mit einer Phosphorylgruppe verestert, die unter physiologischen Bedingungen negativ geladen ist. Zusätzliche polare oder geladene kleine Gruppen sind mit den Phosphorylrest verknüpft. Das Cholin in der Abbildung ist nur ein Beispiel, es gibt viele weitere.

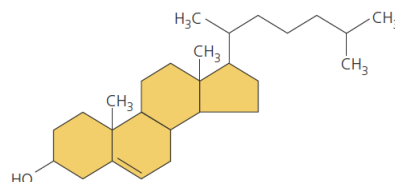


Die Doppelschicht bei einer Membran entsteht, weil die wässrige Lösung die Phospholipide dazu zwingt. Bei einem hydrophoben Lösungsmittel zerfällt die Membran sofort.

4.3.3. Steroide

Steroide sind eine Gruppe von Lipiden mit einem Kohlenstoffgerüst aus vier kondensierten Ringen, die sich vom Kohlenwasserstoff Steran (das ist die Gruppe der verschiedenen vier-ringigen KW) ableiten. Steroide unterscheiden sich dann in den funktionellen Gruppen, die an den unterschiedlichen Stellen angebracht sein können, sowie gegebenenfalls in der Ringkonformation.

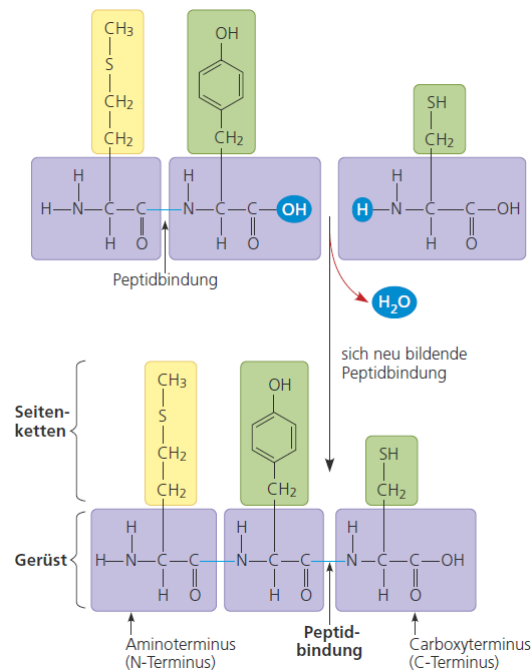
Cholesterol (umgangssprachlich Cholesterin) ist ein verbreiteter Bestandteil tierischer Zellmembranen und stellt die gemeinsame Vorstufe dar, aus der die anderen Steroide hergestellt werden. Eine zu hohe Konzentration kann aber zu Arterienverkalkungen führen.



4.4. Proteine

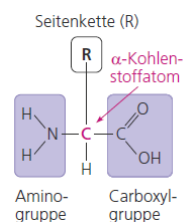
Proteine bestehen aus einem Satz von 20 Aminosäuren, die zu unverzweigten Ketten polymerisiert werden. Zwischen zwei Aminosäuren entsteht bei der Kondensation unter Abspaltung von Wasser eine

Peptidbindung (CONH-Gruppe wird als Peptidgruppe bezeichnet), daher heissen Aminosäurepolymere auch Polypeptide. Bei der Kondensation wird also ein Molekül Wasser freigesetzt, somit sind in einem Polypeptid keine Aminosäuren mehr, sondern Aminosäurereste. Ein Protein ist ein Molekül aus einer oder mehreren Polypeptidketten *mit einer biologischen Funktion* (als Unterschied zu einer einfachen Polypeptidkette). Die wichtigsten Funktionen sowie entsprechende Beispiele sind in Abbildung 4.3 ersichtlich. Ein Protein hat jeweils ein Carboxyl-Ende (C-Terminus) und ein Amino-Ende (N-Terminus) und somit einen Richtungssinn. Die sich wiederholende Sequenz ohne Seitenketten wird als **Polypeptidrückgrat** bezeichnet.



4.4.1. Aminosäure-Monomere

Die Grundstruktur ist bei allen Aminosäuren gleich, sie unterscheiden sich nur in ihrem Rest:



Im Zentrum des Moleküls steht ein chiral substituiertes Kohlenstoffatom, das α -Kohlenstoffatom. Aminosäuren, bei denen die beiden funktionellen Gruppen an demselben C-Atom hängen, heissen α -Aminosäuren.

In Abbildung 4.4 sieht man die proteinogenen Aminosäuren (also die 20 Aminosäuren, aus denen die Proteine lebender Zellen bestehen). Sie sind unter physiologischen Bedingungen gezeigt, d.h. Aminosäuren mit Säurefunktion in der Seitenkette sind normalerweise negativ geladen, da das Säureproton abdissoziiert, sie also deprotoniert sind. Aminosäuren mit basisch reagierender Seitenkette sind entsprechend protoniert. Diese 20 Aminosäuren muss man kennen.

4.4.2. Vier Proteinstrukturebenen

Die Faltungsanweisungen sind grundsätzlich in der Primärstruktur codiert. Die Faltung geschieht dann infolge des Wasserstoffbrückenbindungspotenzials der Peptidgruppen und des Bestrebens hydrophober

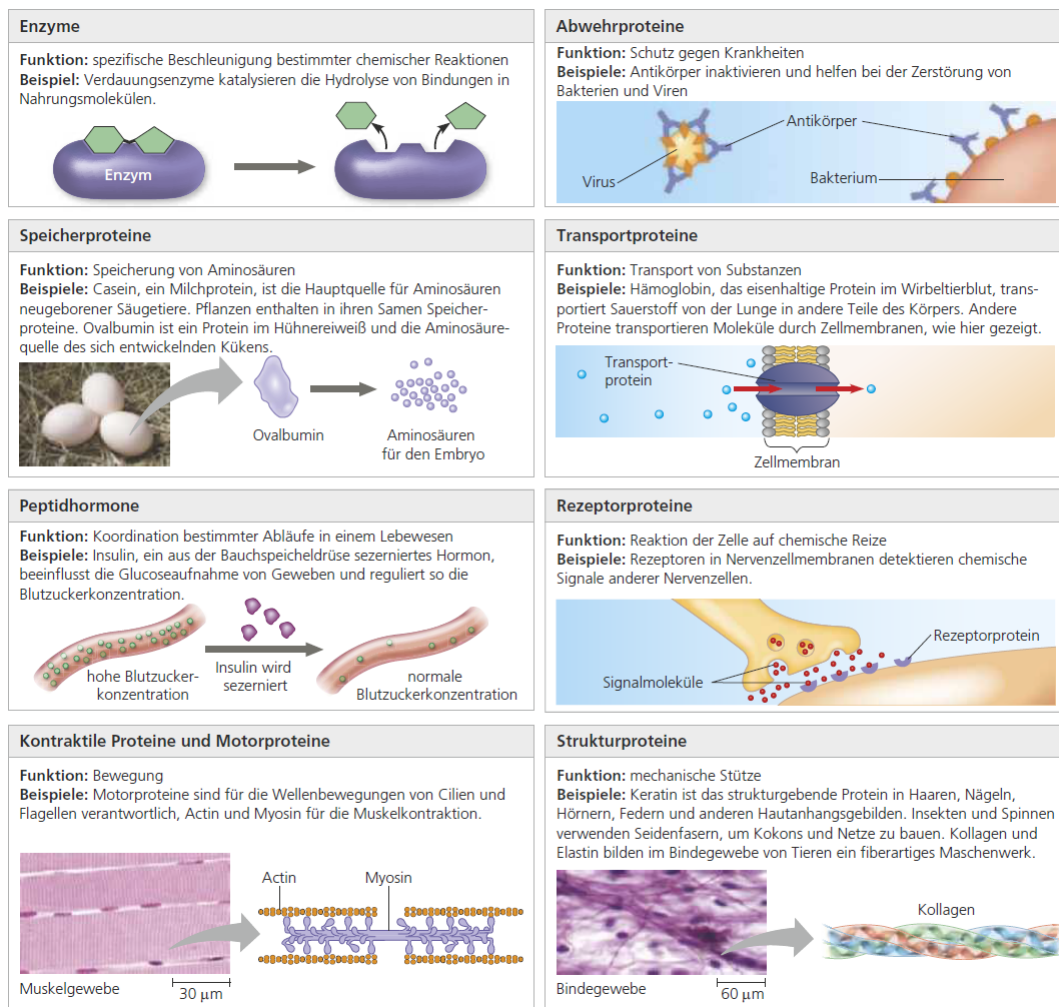
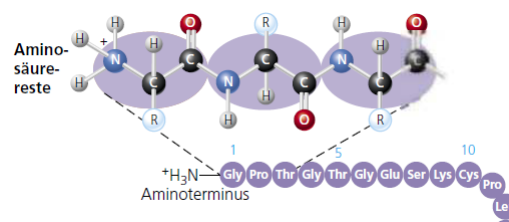


Figure 4.3.: Proteinfunktionen im Überblick.

Seitenketten, der wässrigen Umgebung auszuweichen. Zudem helfen bei einigen Proteinen Helferproteine, sogenannte **Chaperone**, beim Faltungsprozess. Fertig gefaltete Proteine können näherungsweise kugelförmig (globulär) oder langgestreckt und faserförmig (fibrös) sein.

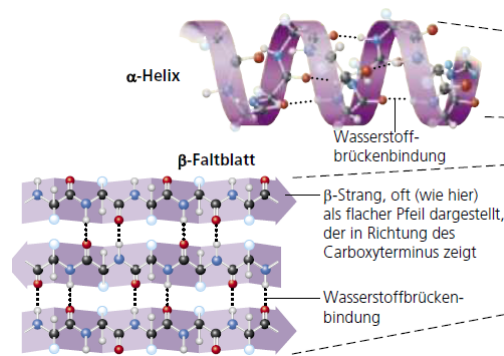
Primärstruktur Die Primärstruktur ist gleich seiner Aminosäuresequenz.



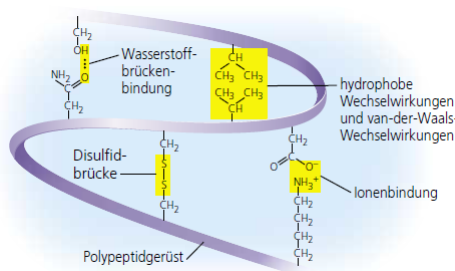
Sekundärstruktur Die Sekundärstruktur entspricht den Abschnitten, die durch Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Atomen des Polypeptidgerüsts stabilisiert wurden. Folgende zwei Typen sind häufig:

α -Helix Eine schraubenartig verdrehte Kette, die durch Wasserstoffbrückenbindungen zwischen jedem vierten Aminosäurerest zusammengehalten wird.

β -Faltblatt Bei diesem Strukturelement sind zwei oder mehr Bereiche der Polypeptidkette Seite an Seite zueinander ausgerichtet und untereinander durch Wasserstoffbrücken verbunden.



Tertiärstruktur Die Tertiärstruktur entspricht der dreidimensionalen Gestalt des gesamten Proteins zur Stabilisierung der Wechselwirkungen zwischen den Seitenketten. Dabei spielen sowohl nicht kovalente (hydrophobe Wechselwirkungen, Wasserstoffbrückenbindungen, ionische und van-der-Waals-Wechselwirkungen) als auch kovalente Wechselwirkungen eine Rolle. Hydrophobe Wechselwirkung beschreibt das Phänomen, dass es energetisch günstiger ist, wenn sich unpolare Gruppen zusammenlagern und damit die Gesamtkontaktfläche zum polaren Lösungsmittel verringern. Hydrophobe Seitenketten sind also natürlicherweise nach der Faltung vorwiegend im Innern des Proteins, weg von der umgebenden wässrigen Lösung. Auch wenn nicht-kovalente Bindungen an sich schwach sind, führt ihre kumulative Wirkung zu einer charakteristischen Faltung. Kovalente Bindungen werden in Form von Disulfid-Brücken realisiert (Cystein besitzt eine Sulfhydrylgruppe) wobei das Protein oxidiert wird ("Verlust" zweier H-Atome). Die wichtigsten Wechselwirkungen, die die Tertiärstruktur ausbilden, sind zusammengefasst in folgender Abbildung ersichtlich:



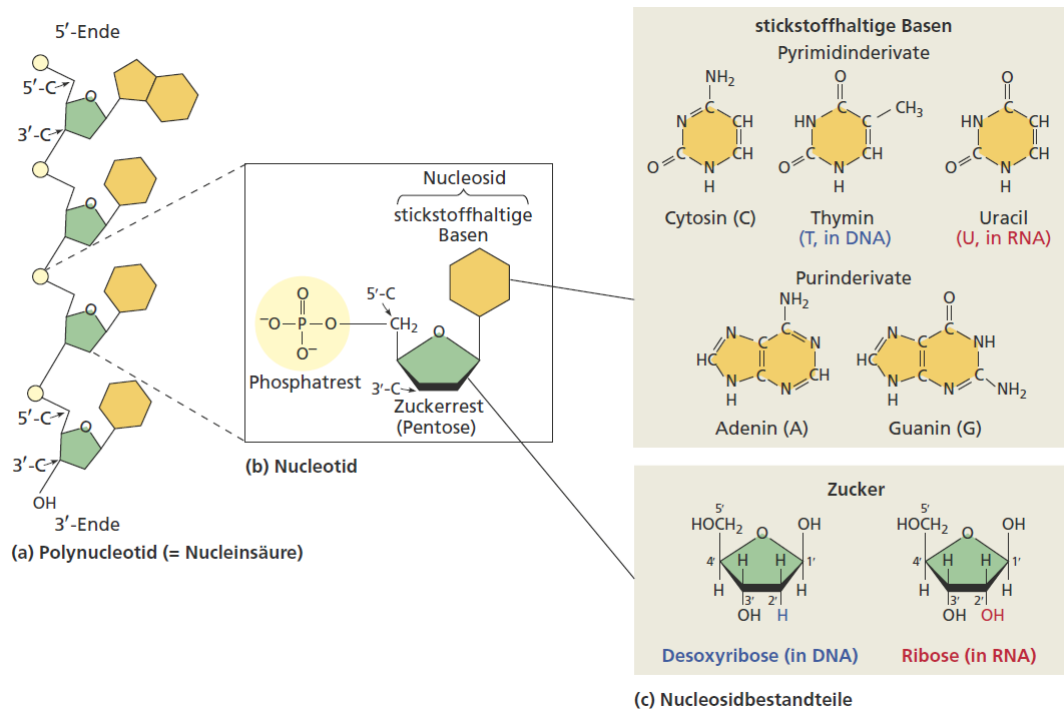
Quartärstruktur Manche Proteine werden erst funktionell, wenn sich mehrere Polypeptidketten zu einem einzigen Makromolekül zusammenlagern (z.B. Hämoglobin oder Kollagen).

4.4.3. Faktoren, die die Proteinstruktur beeinflussen

Die Proteinstruktur wird nicht ausschliesslich durch die Aminosäuresequenz bestimmt, sondern auch durch die physikalischen und chemischen Umgebungsfaktoren wie den pH-Wert, die Ionenstärke (Salzkonzentration), die Temperatur etc. Proteine können denaturieren z.B. wenn sie in ein hydrophobes Lösungsmittel überführt werden (es faltet sich dann um), wenn Reagenzien zugeführt werden, die Wasserstoffbrückenbindungen oder ionische Wechselwirkungen aufheben oder durch Hitze (Wechselwirkungen werden überwunden). Denaturierte Proteine sind biologisch inaktiv, können aber unter Umständen wieder renaturiert werden.

4.5. Nucleinsäuren

Nucleinsäuren sind Polymere aus Nucleotiden. Der Aufbau der Nucleotide ist in der nachfolgenden Abbildung ersichtlich. Die Nucleinbasen sind kovalent mit Zuckerresten verknüpft. Im Fall der RNA sind dies Ribosylreste und bei der DNA Desoxyribosylreste. Der einzige Unterschied ist die OH-Gruppe am C-2. Der Zucker wiederum wird mit der Phosphorsäure verestert. Das Resultat ist ein **Nucleosidmonophosphat**. Der Begriff Nucleotid kann auch allgemein für Mono-, Di- und Triphosphate verwendet werden.



4.5.1. Polynucleotide

Nucleotide werden durch Phosphodiesterbindungen zu Polynucleotiden verbunden. Dabei verknüpft ein einziger Phosphorylrest jeweils zwei Zuckerreste von zwei Nucleosiden über Esterbindungen. Aus der Wiederholung entsteht ein Nucleinsäurestrang mit einem Richtungssinn: Wie bei seiner Biosynthese wird er konventionsgemäss in 5' → 3'-Richtung abgelesen.

Bei der DNA verlaufen die beiden Stämme gegenläufig und sind komplementär. RNA kommt hingegen fast ausschliesslich einsträngig vor. Es können sich aber abschnittsweise Basenpaare binden und so zu einer besonderen Struktur mit Funktion führen. Komplementäre Basenpaare bei der DNA sind Adenin-Thymin und Guanin-Cytosin, bei der RNA Adenin-Uracil und Guanin-Cytosin.

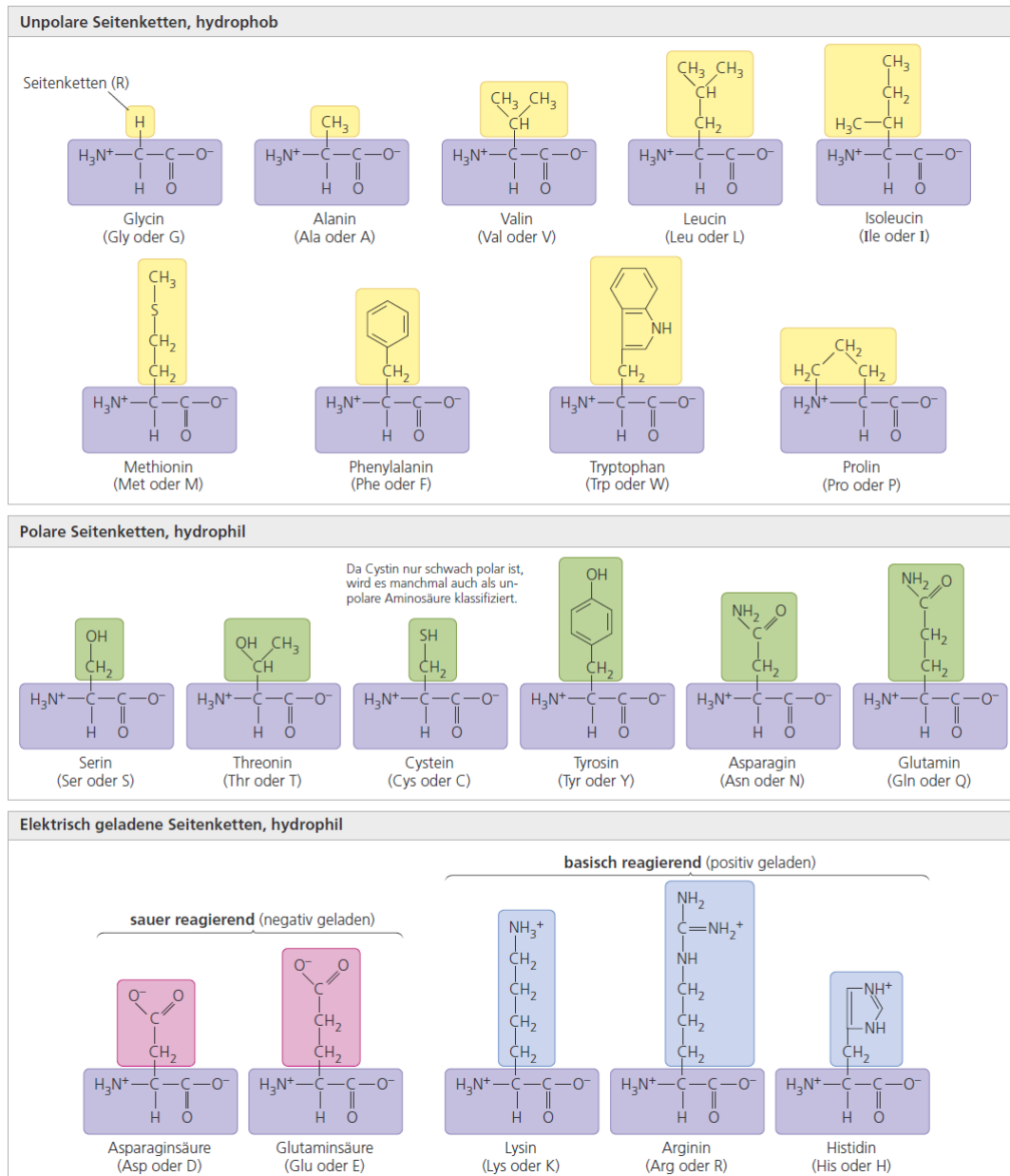


Figure 4.4.: Die 20 proteinogenen Aminosäuren

Part II.

Die Zelle

5. Einführung in den Stoffwechsel

Der **Stoffwechsel** oder **Metabolismus** ist die Gesamtheit der in einem Organismus ablaufenden (bio)chemischen Prozesse, die seinem Auf- und Umbau und dem Erhalt seiner Substanz, Funktion und Energieversorgung dienen.

Katabolismus Katabole Stoffwechselwege setzen Energie durch den Abbau komplexer Moleküle zu einfacheren Verbindungen frei. Die Gesamtheit dieser Stoffwechselwege wird als Katabolismus bezeichnet.

Anabolismus Anabole Stoffwechselwege verbrauchen Energie für den Aufbau komplexerer Verbindungen aus einfachen Vorstufen, man spricht auch von biosynthetischen Stoffwechselwegen.

Es ist also jeweils von einem Weg die Rede, genauer von Stoffwechselfaden. Das sind Pläne, die eine Serie definierter Schritte von einem Ausgangsmolekül über mehrere katalysierte Reaktionen zu einem Endprodukt darstellen.

Die **Bioenergetik** ist das Studium der Energieumsätze in lebenden Organismen.

Neben den bestens bekannten Energieformen wie kinetische und potentielle Energie, thermische Energie (kinetische Energie der Atome und Moleküle), Wärme (thermische Energie, die übertragen wird) und Licht, interessiert in der Biologie vor allem **chemische Energie**. Sie bezeichnet die potentielle Energie, die durch chemische Reaktionen verfügbar wird. Im biologischen Zusammenhang werden komplexe Moleküle wie Glucose als reich an chemischer Energie bezeichnet.

5.1. Thermodynamik

Erster Hauptsatz der Thermodynamik *Energie kann zwar übertragen und umgewandelt, nicht aber erzeugt oder vernichtet werden.*

Zweiter Hauptsatz der Thermodynamik *In einem geschlossenen System kann die Entropie nicht abnehmen. Sie nimmt in der Regel zu. Jede irreversible Energieübertragung oder Energieumwandlung erhöht die Entropie des Universums.* Beispielsweise bedeutet auch der Abbau grosser, komplexer Moleküle zu vielen kleinen, einfachen Molekülen eine Erhöhung der Entropie.

Damit ein Prozess von selbst ohne Energiezufuhr in einem System ablaufen kann, muss dieses System in einen energieärmeren Zustand übergehen. Die Energiedifferenz wird in die Umgebung des Systems abgegeben, deren Entropie folglich zunimmt (Wärmeübertragung ist ein irreversibler Prozess). Solche Prozesse werden als *spontan* oder *energetisch begünstigt* bezeichnet. Damit ein Prozess also spontan abläuft, muss er die Entropie der Umgebung vergrössern.

5.1.1. Biologische Ordnung und Unordnung

Lebende Systeme verursachen eine Zunahme der Entropie in ihrer Umgebung. Aufgrund der Evolution haben sich immer komplexere Organismen entwickelt. Diese Organismen sind aber nur Inseln der Ordnung in einer zunehmend ungeordneten Umgebung, somit ist das kein Widerspruch zum zweiten Hauptsatz.

5.1.2. Die Änderung der freien Enthalpie

Für diesen Abschnitt sind zunächst einige Begriffe notwendig:

Enthalpie Die Enthalpie ΔH beschreibt in der Chemie den Energieumsatz chemischer Reaktionen. Sie ist die Energie, die ein System bei konstantem Druck als Wärme an die Umgebung abgibt oder entzieht. Ist ΔH negativ, wird Energie abgegeben (exotherme Reaktion)

Freie Enthalpie (Gibb'sche Energie) Sie ist der Teil der Gesamtenergie eines Systems, der bei gleichbleibender Temperatur und bei gleichbleibendem Druck, also unter normalen Lebensbedingungen einer Zelle, Arbeit leisten kann. Sie ist ein Maß für die Triebkraft eines Prozesses. Für die Änderung der freien Enthalpie ΔG durch eine chemische Reaktion gilt:

$$\Delta G_{\text{Gesamt}} = \Delta H_{\text{System}} - T\Delta S_{\text{System}}$$

wobei ΔH die Änderung der Systementhalpie und ΔS die Änderung der Systementropie ist. T ist die absolute Temperatur in Kelvin.

Nur Prozesse mit negativem ΔG -Wert können spontan ablaufen und für die Verrichtung von Arbeit genutzt werden. $\Delta G = 0$ bedeutet, dass sich der Prozess im Gleichgewicht befindet. Bezogen auf chemische Reaktionen bedeutet es, dass Hin- und Rückreaktionen gleich schnell verlaufen.

Betrachtet man die freie Enthalpie als $\Delta G = G_{\text{Endzustand}} - G_{\text{Anfangszustand}}$, kann ΔG nur negativ sein, wenn die freie Enthalpie am Ende kleiner ist, das System also weniger Arbeit verrichten kann. Die Wahrscheinlichkeit für eine Zustandsänderung ist nun kleiner und das System stabiler. Systeme tendieren also auch so betrachtet zum Übergang in einen stabileren Zustand. Ein Zustand maximaler Stabilität befindet sich im Gleichgewicht.

Freie Enthalpie und der Stoffwechsel

Wenn eine Reaktion Energie einfordert, also ΔG positiv ist, spricht man von einem **endergonen Prozess**. Im Gegensatz dazu steht der **exergone Prozess**, bei dem Energie abgegeben wird, und der auch spontan ablaufen kann. Ein exergoner Prozess muss aber nicht von sich aus ablaufen. Generell gibt ΔG keine Auskunft darüber, wie schnell ein Prozess abläuft.

In einem isolierten System erreichen Reaktionen unweigerlich den Gleichgewichtszustand, in dem sie keine Arbeit mehr leisten. Chemische Reaktionen sind reversibel und auch sie würden ihr Gleichgewicht erreichen, wenn sie isoliert ablaufen. Da ein System im Gleichgewicht den minimalen Wert der freien Enthalpie G aufweist und infolge $\Delta G = 0$ keine Arbeit mehr leisten kann, ist eine Zelle, die sich im chemischen Gleichgewicht befindet, schlicht tot. Die Tatsache, dass sich der Stoffwechsel insgesamt niemals im Gleichgewicht befindet, ist *das* herausragende Merkmal des Lebens. Die lebende Zelle ist also ein offenes System, welches niemals den Gleichgewichtszustand erreicht: Der andauernde Ein- und Ausstrom von Stoffen verhindert, dass die chemischen Reaktionen des Stoffwechsels ihr Gleichgewicht erreichen und die Zelle damit immer Arbeit verrichtet. Solange eine Zelle also mit Glucose, anderen Brennstoffen und Sauerstoff versorgt wird, die Zwischenprodukte als Ausgangsprodukte von Folgereaktionen dienen und die Abfallprodukte weggeschafft werden, bleiben die Lebensprozesse fortwährend in Gang. Es ist also wichtig, die Lebewesen als offene Systeme zu betrachten.

5.2. ATP

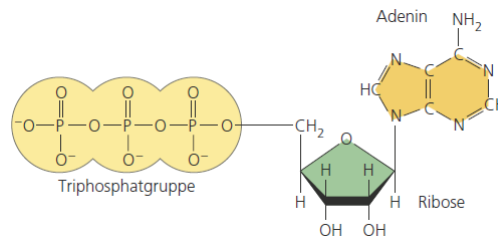
Eine Zelle verrichtet im wesentlichen drei Formen von Arbeit:

- **Chemische Arbeit**, wie das Antreiben von endergonen Reaktionen.
- **Transportarbeit**, wie das Pumpen von Stoffen durch eine Membran entgegen der spontanen Transportrichtung.
- **Mechanische Arbeit**, wie das Schlagen von Cilien und die Kontraktion von Muskeln.

Wichtiges Merkmal des Umgangs einer Zelle mit den Energieressourcen ist die **energetische Kopplung**. Sie ist definiert als *die Verwendung eines exergonen Prozesses zum Antreiben eines endergonen Prozesses*. ATP übernimmt diese Kopplung und liefert die nötige Energie.

5.2.1. Struktur und Hydrolyse von ATP

Adenosintriphosphat besteht aus der Base Adenin, dem Zucker Ribose und drei Phosphorsäureresten. Der organische Molekülteil (Adenin und Ribose zusammen) wird als Adenosin bezeichnet.

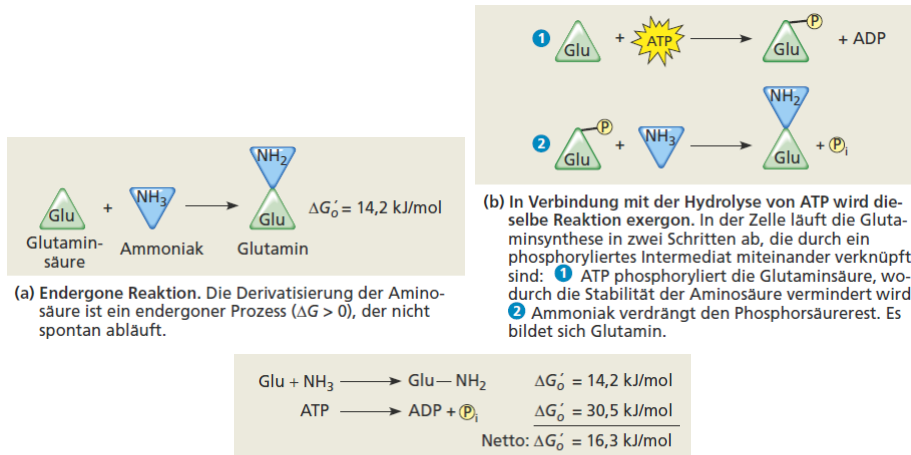


Die Bindungen zwischen den drei Phosphorylresten im ATP-Molekül können hydrolytisch gespalten werden. Die Hydrolyse der terminalen Phosphoanhydridbindung liefert ein anorganisches Phosphat, das mit dem Index i symbolisiert wird. Die Trennung dieser Bindung (also die Abtrennung des endständigen Phosphatrestes) setzt Energie frei. Diese Energie kommt aber nicht aus der Bindung (die Trennung benötigt Energie), sondern aus den energieärmeren Endprodukten. Schliesslich stossen sich die negativ geladenen Phosphatgruppen ab, und beim Phosphatanion kann die negative Ladung über das ganze Molekül verteilt werden. Übrigens kann ADP nochmals ein Phosphatrest abspalten.

Die freie Enthalpie der ATP-Hydrolyse beträgt $\Delta G = -30.5 \text{ kJ/mol}$.

Wie durch die Hydrolyse von ATP Arbeit geleistet wird

Meistens verlaufen gekoppelte Reaktionen unter Übertragung eines Phosphorylrestes von ATP auf ein anderes Molekül, das heisst, das Substrat der Reaktion wird phosphoryliert. Das ist der Schlüssel der Kopplung, denn diese Zwischenstufe ist reaktiver.



(c) Gesamtenergiebilanz. Die Addition der $\Delta G'_0$ -Werte für die Derivatisierung der Aminosäure und für die Hydrolyse des ATP (Teilreaktionen) liefert das ΔG der Gesamtreaktion. Da der Prozess insgesamt exergon ist ($\Delta G < 0$), läuft er spontan ab. Achtung: In Abhängigkeit von den tatsächlichen (zellulären) Konzentrationen der beteiligten Stoffe kann der numerische Wert der freien Enthalpiedifferenz gegenüber Standardbedingungen (alle Konzentrationen = 1 molar, pH=7) erheblich abweichen.

Bei Transportvorgängen und mechanischer Arbeit führt die ATP-Hydrolyse zu einer Veränderung der Konformation eines Proteins, was oft dessen Fähigkeit, andere Moleküle zu binden, beeinflusst. Auch das verläuft manchmal über eine phosphorylierte Zwischenstufe.

Regeneration von ATP

ATP ist eine erneuerbare Energiequelle. Die zur Phosphorylierung des ADP erforderliche freie Enthalpie wird durch exergone Reaktionen des Katabolismus bereitgestellt. Der Pendelverkehr von Phosphat und Energie wird als **ATP-Zyklus** bezeichnet.

5.3. Enzyme

Ein Enzym ist ein Makromolekül, das als Katalysator wirkt, also eine chemische Reaktion zwar beschleunigen kann, jedoch selbst unverändert daraus hervorgeht. Enzyme katalysieren sowohl die Hin- wie auch die Rückreaktion. Es gibt neben Proteinen auch katalytisch aktive RNA-Moleküle, die sogenannten **Ribozyme**.

Die Umwandlung eines Moleküls in ein anderes erfordert im Allgemeinen die Verzerrung des Startmoleküls in einen hochgradig instabilen Zustand, bevor die eigentliche Reaktion voranschreitet. Dabei werden z.B. Bindungen gebrochen, was eine Energieaufnahme erfordert - die Aktivierungsenergie. Sie wird häufig in Form von thermischer Energie zugeführt, es kann aber auch Energie in Form von Licht sein. Wurde die Aktivierungsenergie zugeführt, sind die Moleküle im sogenannten Übergangszustand der Reaktion.

5.3.1. Ablauf einer Reaktion mit Enzymen

Das Edukt/der Reaktand einer enzymatisch katalysierten Reaktion wird **Substrat** genannt. Es bindet sich an die aktive Stelle des Enzyms und bildet mit diesem einen Enzym-Substrat-Komplex. Das Enzym erkennt sein Substrat auch aus verschiedenen Isomeren, es hat eine weitgehend komplementäre Tertiärstruktur. Die aktive Stelle bewegt sich ständig in verschiedenen Konformationen mit unterschiedlichen Enthalpiegehalten. Die passende Form ist nicht zwingend die energieärmste. Hat sich das Substrat in die aktive Stelle gebunden (mittels H-Brücken, VdW-Kräften oder ionischen Bindungen), kann sich das Protein meist noch etwas anpassen (**induced fit**) und so die funktionellen Gruppen richtig platzieren und die Reaktion abschirmen.

Folgenden Mechanismen bedienen sich Enzyme zur Herabsetzung der Aktivierungsenergie:

- Das Enzym kann mehrere Moleküle in der passenden Orientierung nahe zueinander bringen.
- Das aktive Zentrum kann Bindungen dehnen und biegen, was dessen Bruch erleichtert.
- Das Enzym kann eine für die Reaktion passende Mikroumgebung bereitstellen resp. störende Moleküle ausschliessen.
- Das aktive Zentrum kann direkt an der Reaktion beteiligt sein, z.B. indem es vorübergehend kovalente Bindungen mit dem Substrat ausbildet. Weiterhin können im aktiven Zentrum eines Enzyms die geladenen Seitenketten von Aminosäuren (z.B. von Histidin) als Säure oder Base wirken, indem sie während einer Reaktion H^+ -Ionen aufnehmen oder abgeben. Die Säure-Base-Katalyse ist einer der häufigsten Mechanismen in der Biochemie.

5.3.2. Einflussfaktoren auf die Enzymaktivität

Einerseits kann die Aktivität eines Enzyms bis zu einem gewissen Grad durch Erhöhung der Temperatur verbessert werden. Die Substrate treffen früher auf die aktive Stelle. Ist die Temperatur aber zu hoch, stört dies die nicht-kovalenten Wechselwirkungen, verändert somit die Struktur des Enzyms und schliesslich denaturiert es. Andererseits hat ein Enzym auch ein pH-Optimum, z.B. wenn die sauren/basischen Seitenketten für eine Reaktion in protonierter oder deprotonierter Form vorliegen müssen.

Cofaktoren

Cofaktoren bieten zusätzlich zu den Seitenketten der Aminosäuren weitere funktionelle Gruppen, die eine Reaktion unterstützen können. Es sind anorganische Moleküle oder Ione, wobei es auch organische gibt, die dann aber Coenzyme genannt werden. Vitamine sind ein Beispiel für ein Coenzym oder Vorgängerstufen davon.

Enzyminhibitoren

Enzyminhibitoren hemmen selektiv die Wirkung bestimmter Enzyme. Dabei unterscheidet man die **irreversible Hemmung**, die eine kovalente Bindung des Inhibitors an das Enzym erfordert, und der **reversiblen Hemmung**, bei der sich die Inhibitoren nicht kovalent binden und letztere sich wie folgt weiter unterteilen:

Kompetitive Inhibitoren Sie konkurrieren mit dem Substrat um die aktive Stelle. Mit der Konzentration der Inhibitoren resp. des Substrats lässt sich der Umsatz regulieren.

Nichtkompetitive Inhibitoren Sie heften sich nicht an die aktive Stelle, sondern an einen anderen Bereich. Sie zwingt das Enzym damit zu einer Änderung seiner Konformation und senkt so deren Effizienz, weil sich die Substrate z.B. nicht mehr an die aktive Stelle binden können.

Manche Antibiotika sind Inhibitoren bestimmter bakterieller Enzyme, z.B. jener zur Zellwandsynthese.

5.3.3. Regulation der Enzymaktivität

Die Enzymaktivität muss reguliert werden können. Das kann man einerseits über das Ein- und Abschalten der Gene bewerkstelligen, die die Enzyme codieren. Andererseits kann die Aktivität von Enzymen auch nach ihrer Synthese noch gesteuert werden, z.B. durch die reversible, nicht-kovalente Bindung von Effektormolekülen oder kovalent durch eine reversible chemische Veränderung von Aminosäureseitenketten.

Allosterische Regelung über Effektormoleküle

Allosterische Regulation bezeichnet all die Fälle, in denen die Funktion eines aktiven Zentrums durch die Bindung eines regulatorischen Moleküls an einem zweiten Ort beeinflusst wird. Dies kann sowohl zur Hemmung als auch zur Stimulation der Enzymaktivität führen.

Alle bekannten allosterisch regulierten Enzyme bestehen aus mindestens zwei Untereinheiten. Das sind einzelne Polypeptidketten mit eigenem aktiven Zentrum, die sich zu dem dann funktionsfähigen Enzym zusammenlagern (Quartärstruktur). Das Protein schaltet dann zwischen einem katalytisch aktiven und einem katalytisch inaktiven Zustand hin- und her. Nun kann sich ein Aktivator oder ein Inhibitor so an eine Untereinheit des Enzyms heften, dass es entweder im aktiven oder inaktiven Zustand verharrt. Die Anlagerung eines solchen allosterischen Effektors beeinflusst dann gleich alle Untereinheiten des Moleküls. Schwankende Effektorkonzentrationen regulieren dann die Stoffproduktion. Ein interessantes Beispiel ist ATP. ATP bindet allosterisch an mehrere katabole Enzyme, senkt ihre Substrataffinität und hemmt so ihre Aktivität. ADP dagegen wirkt auf dieselben Moleküle aktivierend.

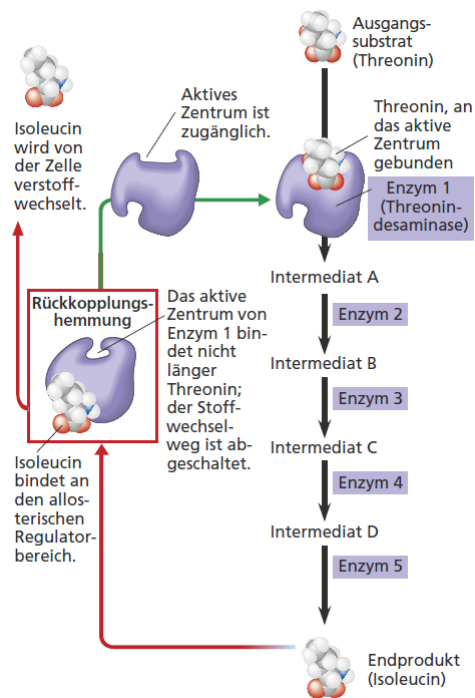
Eine weitere sehr interessante Variante der allosterischen Regulation beinhaltet die Aktivierung aller aktiven Zentren eines Enzyms durch die Bindung eines einzigen Substratmoleküls - **Kooperativität**. Dies verstärkt die Reaktion eines Enzyms auf sein Substrat. Interessantes Beispiel hierfür (auch wenn kein Enzym) ist der Sauerstofftransport der Wirbeltiere mit dem Hämoglobin-Molekül. Die Bindung eines Sauerstoffmoleküls an eine der vier Bindungsstellen erhöht die Tendenz zur Sauerstoffbindung (Affinität) der drei anderen. In Gegenwart höherer Sauerstoffkonzentrationen, wie sie in der Lunge oder in Kiemen vorliegen, wird Hämoglobin also eine immer größere Sauerstoffaffinität entwickeln, je mehr Bindestellen besetzt sind. In sauerstoffarmen Geweben wird dagegen die Freisetzung eines jeden Sauerstoffmoleküls die Affinität der verbleibenden besetzten Zentren für Sauerstoff erniedrigen, mithin seine Freisetzung dort begünstigen, wo er am meisten benötigt wird.

Kovalente Modifikationen

Als sehr effektive Methode der Regulation werden einige wichtige Stoffwechsellzyme nach ihrer Synthese noch chemisch verändert. Hierbei wird bei einem Teil der Enzymmoleküle ein bestimmter Aminosäurerest verändert, was zur Folge hat, dass zwei unterschiedlich aktive Populationen entstehen. Das Mengenverhältnis der beiden Formen bestimmt danach die tatsächliche Enzymaktivität.

5.3.4. Rückkopplungshemmung

Bei der Rückkopplungshemmung wird ein Stoffwechselweg dadurch abgeschaltet, dass ein am Anfang des Weges befindliches Enzym durch ein Endprodukt des betreffenden Pfades gehemmt wird.



5.3.5. Lokalisation der Enzyme innerhalb der Zelle

Die Zelle ist nicht einfach ein Sack voller Enzyme, sondern sinnvoll kompartimentiert. Ihre Struktur bringt Ordnung in die Stoffwechselwege. Enzyme, die aufeinanderfolgende Schritte desselben Stoffwechselweges katalysieren, werden manchmal zu Multienzymkomplexen zusammengefasst.

6.3.1. Der Zellkern (Nucleus)

- Eine geringe Anzahl von Genen findet sich in einigen Genomen der Mitochondrien und Plastiden (Chloroplasten, Chromoplasten, Leukoplasten).
- In tierischen Zellen hat der Zellkern einen typischen Durchmesser von etwa 5 μm .
- Er wird von einer doppelten Membranhülle umschlossen (also zwei Lipid-Doppelschichten), wobei eine Lipidmembran einen Durchmesser von ca. 7 nm hat. Die Zellkernhülle ist von zahlreichen Kernporen durchsetzt, deren Durchmesser ca. 100 nm beträgt.
- Ein kompliziert gebautes Gebilde aus zahlreichen Proteinen namens **Kernporenkomplex** kleidet jede Kernpore aus und gibt ihr ihre Form. Zudem kann er den Ein- und Ausstrom von Makromolekülen wie RNA und Proteinen beeinflussen.
- Die Innenseite der Kernhülle ist von der Kernlamina ausgekleidet. Sie ist ein netzartiges Maschenwerk und stellt ein molekulares Skelett des Zellkerns dar.
- Innerhalb des Zellkerns sind die Chromosomen und der Nucleolus:
 - Jedes Chromosom besteht aus einem als Chromatin bezeichneten Verbundmaterial aus Proteinen und DNA. Menschliche Zellen enthalten 46 Chromosomen (ausser Geschlechts- oder Fortpflanzungszellen, sie enthalten 23 Chromosome).
 - Der Nucleolus ist ein nicht scharf umgrenzter Bereich, der die ribosomale RNA (rRNA) herstellt. Auch im Nucleolusbereich werden diese RNA-Moleküle mit aus dem Cytoplasma importierten Proteinen zu Untereinheiten eines Ribosoms zusammengefügt. Die beiden Untereinheiten (grosse und kleine Untereinheit) verlassen separat den Zellkern und treten in das Cytoplasma über, wo sie zusammen mit einem mRNA-Molekül einen Translationskomplex bilden. Manchmal befinden sich zwei oder mehr Nucleoli in einem Zellkern.

6.3.2. Ribosome

Ribosome liegen entweder frei, d.h. im Cytosol suspendiert, vor, oder sie sind an die Aussenseite des ER resp. an die äussere Zellkernhülle gebunden. Die Ribosome sind aber strukturell identisch und die Proteinsynthese beginnt immer an einem freien Ribosom im Cytosol. Handelt es sich bei dem zu synthetisierenden Protein um ein sekretiertes Protein oder eines, das in das Endomembransystem eingebettet werden soll, so wird das Ribosom zum ER gebracht und dort die Proteinsynthese vervollständigt. Weiter gibt es Ribosome auch als freie Ribosomen in den Mitochondrien und Chloroplasten.

6.4. Das Endomembransystem

Zum Endomembransystem einer eukaryontischen Zelle gehören die Zellkernhülle, das endoplasmatische Reticulum, der Golgi-Apparat, die Lysosome, Vakuolen und Endosome sowie gegebenenfalls noch andere, zellspezifische Organellen. Die Membranen der Mitochondrien und Plastiden gehören definitionsgemäss nicht zum Endomembransystem.

Zu den Aufgaben des Endomembransystems gehören die Synthese von Proteinen, ihre Modifikation, der Einbau in die Membranen und der Transport zum Bestimmungsort in Organellen oder aus der Zelle heraus, weiter der Stoffwechsel und Transport von Lipiden sowie die Entgiftung toxisch wirkender Stoffe. Die Membrane dieses Systems sind entweder direkt, oder über Vesikel miteinander verbunden.

6.4.1. Das endoplasmatische Reticulum

Es macht vielfach mehr als die Hälfte der Gesamtmembranfläche aus und ist bei Zellen mit einer hohen Produktivität besonders ausgeprägt. Das Membrannetzwerk des ER besteht aus Membrantubuli und Zisternen (abgeflachte Membranbereiche) und umschliesst das **Lumen** (Innenraum des Organells).

Die wichtigsten **Funktionen des glatten ER** sind:

- Lipide, wie Geschlechtshormone und die verschiedenen, von der Nebenniere sezernierten Steroidhormone werden hier gebildet.
- Das glatte ER ist relevant für den Kohlenhydratstoffwechsel.
- Detoxifizierung von Medikamentenwirkstoffen und Giften: Gewöhnlich werden toxischen Substanzen Hydroxylgruppen angehängt, um sie löslicher und damit leichter aus dem Körper entfernbar zu machen. Das nennt man **Hydroxylierung**.
- Das ER speichert Calcium-Ionen.

Die **Funktionen des rauhen ER** umfassen:

- Hier findet die Synthese von Proteinen statt. Die Polypeptidketten werden cotranslational durch die Membran ins Lumen geschleust und beginnen dort mit der Faltung.
- Von sogenannten Glykosylasen werden noch Kohlenhydratketten kovalent angebunden (sind dann Glykoproteine). Die Glykosylasen des ER sind membranständig.
- Das raue ER ist auch Syntheseort für neue Membranen. Sowohl Membranproteine wie auch Phospholipide aus Vorstufen, die im Cytosol vorliegen, können hier synthetisiert werden.

6.4.2. Der Golgi-Apparat

Hier werden die Produkte des ER chemisch modifiziert und an andere Zielorte weiterverschifft.

Der Golgi-Apparat besteht aus Golgi-Zisternen, dessen Membran das Golgi-Lumen umschliesst. Der Membranstapel besitzt eine Polarität. Die auf gegenüberliegenden Seiten eines Membranstapels liegenden Membrane unterscheiden sich bezüglich ihrer Dicke und ihrer chemischen Zusammensetzung. Die beiden Seiten werden als ihre *cis*- und ihre *trans*-Seite bezeichnet. Die *cis*-Seite ist dem ER zugewandt und ist die Empfängerseite. An der *trans*-Seite verlassen die Transportvesikel das Organell und wandern zu ihren Zielorten (Endosome, Plasmamembran, Vakuolen, Lysosome). Bei der Durchwanderung werden die Produkte aus dem ER weiter modifiziert. Einige Makromoleküle wie Polysaccharide synthetisiert der Golgi-Apparat selbst. Jeder Zisterne des Membranstapels kommen durch ihre Enzymausstattung definierte Aufgaben zu. Aber auch die Zisternen selbst wandern von der *cis*- zur *trans*-Seite, bis sie zu Transportvesikeln zerfallen.

6.4.3. Lysosome

Ein Lysosom ist ein Organell, das viele hydrolytische Enzyme enthält, mit deren Hilfe Makromoleküle und andere Moleküle zerlegt werden können. Es kommt *nur in tierischen Zellen* vor. Lysosomale Enzyme arbeiten bei niedrigen pH-Werten. So liegt der pH-Wert im Innern eines Lysosoms im sauren Bereich. Falls ein Lysosom platzt verlieren die Enzyme im neutralen Cytosol ihre Wirkung. Erst viele geplatzte Lysosome können eine Zelle zerstören.

Lysosome entstehen aus Vesikeln, die an der *Trans*-Seite des Golgi-Apparates abgeschnürt werden und zunächst mit einem sogenannten **Endosom** verschmelzen. Zusätzlich verschmelzen auch von der Plasmamembran kommende Vesikel mit dem Endosom, das schliesslich zum Lysosom reift. Membranproteine und die Membran der Lysosomen selbst, sind durch ihre Tertiärstruktur vom Abbau durch die Enzyme geschützt. Die Enzyme werden erst durch den tiefen pH-Wert der Lysosome aktiviert.

Manche Zellen der Menschen sind zur Phagocytose fähig, z.B. Makrophagen. Von **Autophagie** spricht man, wenn zelleigene organische Bestandteile verdaut werden. So werden auch funktionsunfähige Organellen recycelt.

6.4.4. Vakuolen

Vakuolen sind grosse Vesikel, die sich aus dem ER und dem Golgi-Apparat bilden. Die genaue Funktion der Vakuolen hängt vom Zelltyp ab. Nahrungsvakuolen bilden sich bei der Phagocytose, Protisten des Süsswassers besitzen kontraktile Vakuolen etc. Bei Pflanzen und Pilzen, die keine Lysosome haben,

erfüllen die Vakuolen ähnliche Aufgaben. Sie sind für den enzymatisch katalysierten hydrolytischen Abbau zuständig. Bei Pflanzen stellen die Vakuolen ausserdem den Hauptspeicherort für Ionen wie Kalium oder Chlorid dar und sie werden als Deponie für Stoffwechselabfälle genutzt. Vakuolen können Pflanzen zur Abwehr von Fressfeinden verhelfen, indem dort für Tiere giftige Stoffe gelagert werden.

6.4.5. Übersicht über die verschiedenen Aufgaben

Organelle	Aufgabe
Glattes ER	Lipidsynthese, Detoxifizierung, Calciumspeicher
Raues ER	Proteinbiosynthese und -glycosylierung sowie Verpackung in Transportvesikel
Golgi-Apparat	Proteinmodifikation und -prozessierung sowie Versand an Zielort
Lysosome	Verschmelzung mit Endosomen, Enzymatische Zersetzung von Makromolekülen
Vakuolen	Nährstoffspeicher, Ersatz für Lysosome, Regulation des osmotischen Drucks

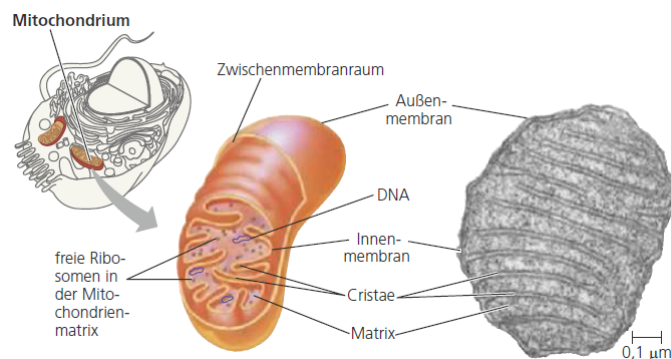
6.5. Energiewandler Mitochondrien und Chloroplasten

Die Endosymbiontentheorie (gilt für Mitochondrien und Plastiden) wird durch die Tatsachen gestützt, dass Mitochondrien und Chloroplasten eine Doppelmembran besitzen und Gemeinsamkeiten mit Bakterien aufweisen (z.B. eigene DNA, die für die Synthese einiger Organellproteine codiert und die Ribosome, die jenen der Prokaryonten ähneln).

6.5.1. Mitochondrien

Mitochondrien kommen in allen eukaryontischen Zellen vor, fast in jedem Zelltyp. Dabei unterscheidet sich aber die Zahl und Grösse, die von der metabolischen Funktion der Zelle abhängen.

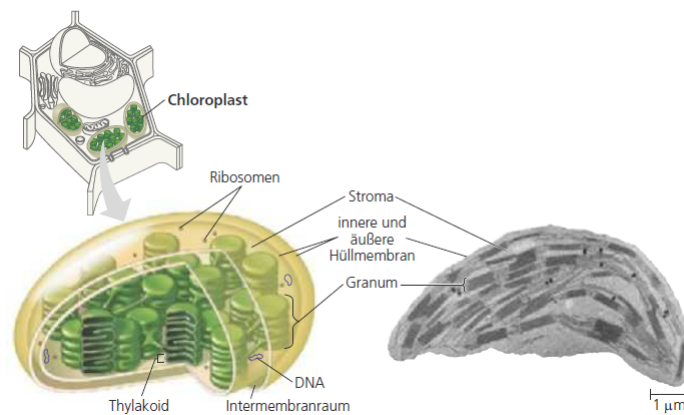
Die äussere Membran ist glatt, die innere gefaltet, um die Oberfläche und damit die Zahl der an ihr anliegenden Enzyme (die z.B. ATP synthetisieren) zu erhöhen. Die eingestülpten Membranteile heissen **Cristae** (Einzahl *Crista*). Die innere Membran trennt zwei Kompartimente, jenes zwischen äusserer und innerer Membran, und den Bereich, den sie umhüllt, die **mitochondrielle Matrix**. In ihr sind verschiedene Enzyme und die mitochondrielle DNA (mtDNA). Mitochondrien sind 1 – 10 µm lang und sehr dynamisch, sie verändern wie Chloroplasten dauernd ihre Form bewegen sich in der Zelle dem Cytoskelett entlang umher.



6.5.2. Chloroplasten

Chloroplasten haben eine glatte Doppelmembran, die ein inneres, miteinander verbundenes, stapelförmiges Membransystem umhüllen (**Thylakoide**, ganze Stapel heissen **Grana** (Einzahl *Granum*)). Die Flüssigkeit, in der sich die Thylakoide befinden, heisst **Stroma** und enthält zahlreiche Enzyme, die DNA und Ribosome.

Chloroplasten gehören zu den Plastiden, wie auch Amyloplasten und Chromoplasten.



6.6. Peroxisomen

Das Peroxisom ist ein spezialisiertes Stoffwechselkompartiment, das von einer einzigen Membran umgeben ist. Sie enthalten Enzyme, die Wasserstoffatome von unterschiedlichen Substraten abziehen, auf elementaren Sauerstoff übertragen und dabei Wasserstoffperoxid (H_2O_2) bilden. Einige Peroxisomen benutzen den Sauerstoff, um Fettsäuren oxidativ in kleinere Moleküle zu zerlegen, die in Mitochondrien importiert werden. In Leberzellen bauen sie Alkohol und andere schädliche Verbindungen ab, indem sie diese dehydrogenieren und den abgespalteten Wasserstoff auf Sauerstoff übertragen.

Wasserstoffperoxid ist als kräftiges Oxidationsmittel selbst ein starkes Zellgift. Das Peroxisom enthält daher das Enzym Katalase, welches das Wasserstoffperoxid sofort in Wasser und Sauerstoff umwandelt.

Eine spezielle Variante (Glyoxysome) kommen in fettspeichernden Geweben von Pflanzensamen vor. Sie enthalten Enzyme, die Fettsäuren in Kohlenhydrate umwandeln können, die wiederum als Energiequelle dienen.

6.7. Das Cytoskelett

Hier wird das Cytoskelett der Eukaryonten besprochen, jenes der Bakterien ist verwandt, aber anders.

Das Cytoskelett ist ein Maschenwerk aus Proteinfasern im gesamten Cytoplasma. Es besteht aus den Mikrotubuli (die dicksten der Filamentformen, 25 nm davon 15 nm Hohlraum), den Mikrofilamenten (den dünnsten, 7 nm) und den Intermediärfilamenten (mittlere Dicke, 8 – 12 nm). In Abbildung 6.1 sind die verschiedenen Komponenten zusammengefasst abgebildet, werden aber unten noch genauer beschrieben.

Das Cytoskelett ist dynamisch, kann an einem Ort ab- und an einem anderen Ort wieder aufgebaut werden. Es ist für einige Arten der **Motilität** erforderlich, zusammen mit Motorproteinen. Der Begriff Motilität bezeichnet sowohl Ortsveränderung der gesamten Zelle als auch Bewegungen einzelner Teile. Neben Organellen nutzen z.B. auch Transportvesikel mit Neurotransmittermolekülen das Cytoskelett als "Schiene" und Motorproteine als "Füße" um an die Spitzen der Axone zu wandern.

6.7.1. Mikrotubuli

Alle eukaryontischen Zellen enthalten Mikrotubuli, hohle Stäbchen aus dem globulären Protein Tubulin. Jedes Tubulinmolekül besteht seinerseits aus zwei nicht kovalent verbundenen Untereinheiten namens α - und β -Tubulin (\rightarrow Abb. 6.1), es ist ein Heterodimer. Mikrotubuli können durch Anlagerung von Tubulin-Dimeren wachsen und durch Dissoziation schrumpfen. Infolge der räumlichen Orientierung der Tubulin-Dimere unterscheiden sich die beiden Enden von Mikrotubuli. Am sogenannten Plusende können sich Tubulindimere sehr viel schneller anlagern und wieder abdissoziieren als am Minus-Ende. Das gibt ihnen eine Polarität, die den Motorproteinen zur Orientierung verhilft, denn Mikrotubuli dienen neben der Formung und Stützung der Zelle auch als Leitschienen.

Merkmal	Mikrotubuli (Tubulinpolymere)	Mikrofilamente (Actinpolymere)	Intermediärfilamente
Aufbau	Hohle Röhren	Zwei miteinander verflochtene Actinstränge	Zu Strängen gewickelte Faserproteine
Durchmesser	25 nm, davon 15 nm Hohlraum	7 nm	8–12 nm
Proteinuntereinheiten	Tubulin (Dimer aus α - und β -Tubulin)	Actin	Eins von mehreren unterschiedlichen Proteinen (z.B. Keratine)
Hauptfunktion(en)	<ul style="list-style-type: none"> – Erhalt der Zellgestalt (kompressionsresistente „Stützbalken“) – Zellmotilität (wie in Cilien und Flagellen) – Chromosomentransport bei der Zellteilung – Organellentranslokation 	<ul style="list-style-type: none"> – Erhalt der Zellgestalt (Zugspannung aufnehmende Elemente) – Änderungen der Zellgestalt – Muskelkontraktion – Cytoplasmaströmung (in Pflanzenzellen) – Zellmotilität (wie bei amöboiden Bewegungen) – Zellteilung tierischer Zellen 	<ul style="list-style-type: none"> – Erhalt der Zellgestalt (Zugspannung aufnehmende Elemente) – Verankerung des Zellkerns und bestimmter anderer Organellen – Bildung der Zellkernlamina
Fluoreszenzmikroskopbilder von Fibroblasten, einem zellbiologisch gut untersuchten Zelltyp. Die jeweiligen Strukturen sind fluoreszenzmarkiert. Die DNA im Zellkern ist in der Mikrografie links blau und rechts orange markiert.			

Figure 6.1.: Struktur und Funktion des Cytoskeletts.

Centrosomen und Centriolen

In Tierzellen wachsen die Mikrotubuli aus einem **Centrosom** heraus, einem Bereich der Zelle meist in der Nähe des Zellkerns. Innerhalb des Centrosoms liegt ein **Centriolenpaar** aus jeweils neun Mikrotubulus-Triplets, die jeweils einen Ring bilden (→ Abb. 6.2). In vielen eukaryontischen Zellen gibt es keine Centrosomen und Centriolen.

Cilien und Flagellen

Flagellen und Cilien sind Mikrotubuli-enthaltende Ausstülpungen bestimmter Zelltypen. Flagellen (oder Geißeln) sind fadenförmige Gebilde auf der Oberfläche von Zellen, die zur Fortbewegung dienen. Cilien (oder Wimpern) sind bei gleichem Durchmesser mit 2 – 20 μm anstatt 10 – 200 μm wesentlich kürzer und wimpernförmig. Sie unterscheiden sich in ihrem Schlagverhalten (→ Abb.6.3).

Viele einzellige Eukaryonten werden durch Cilien und Flagellen im Wasser fortbewegt, auch Spermien von **Metazoa** (vielzellige Tiere). Bei kleinen Tieren (z.B. Plattwürmer) dienen sie zur Fortbewegung des ganzen Organismus.

Ein Cilium kann auch wie eine Signal-empfangende "Antenne" der Zelle wirken und eine Änderung der Aktivitäten in der Zelle bewirken. Ursprünglich gibt es pro Zelle nur genau ein derart spezialisiertes *primäres* Cilium und fast alle Zellen besitzen es.

Beide haben dieselbe Struktur: Neun Doppeltubuli mit jeweils einer gemeinsamen Wand sind ringförmig um zwei einzelne Mikrotubuli in der Mitte angeordnet. Die nicht-beweglichen sensorischen Cilien haben oft eine 9+0-Anordnung ohne das zentrale Pärchen. Der Mikrotubuli-Komplex ist in der Zelle über einen **Basalkörper** verankert. Er entspricht strukturell den Centriolen mit neun Mikrotubulus-Triplets. Für

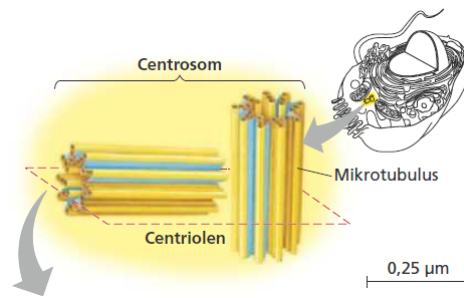
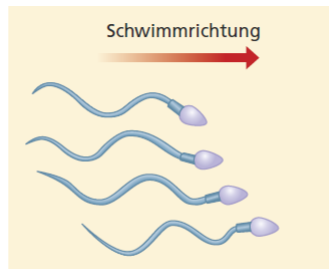


Figure 6.2.: Centrosom und Centriolen

(a) **Flagellenbewegung.** Ein Flagellum (Zellgeißel) führt normalerweise eine wellenförmige Bewegung aus. Diese treibt die Zelle in Richtung der gedachten Mittelachse der Zellgeißel. Die Vorwärtsbewegung eines menschlichen Spermiums liefert ein Beispiel für eine Fortbewegung mithilfe eines Flagellums.



(b) **Cilienbewegung.** Cilien (Zellwimpern) führen eine Vor-und-zurück-Bewegung aus. Der schnelle Kraftschlag treibt die Zelle in einer senkrecht zur Cilienachse liegenden Richtung voran. Während der langsameren Rückholbewegung verbiegt sich das Cilium und schwenkt seitwärts, in größerer Nähe zur Zelloberfläche. Ein dichter Besatz aus Cilien, die mit einer Rate von 40–60 Schlägen pro Sekunde arbeiten, überzieht die Zellen des Süßwasserprotisten *Colpidium* sp. (kolorierte raster-elektronenmikroskopische Aufnahme mit Cilien in verschiedenen Bewegungsphasen).



Figure 6.3.: Die Bewegung von Cilien und Flagellen.

die Biegungen der Cilien und Flagellen sind grosse Motorproteine (**Dyneine**, rot in Abb. 6.4) zuständig.

6.7.2. Mikrofilamente (Actinfilamente)

Mikrofilamente sind dünne massive Stäbe mit einem Durchmesser von etwa 7 nm und bestehen aus Actin, einem globulären Protein. Ein Mikrofilament ist eine verdrehte Doppelkette aus Actinmonomeren (→ Abb. 6.1). Mikrofilamente können auch Maschenwerke ausbilden. Es verleiht dem äusseren Cytoplasmabereich der Zelle (ihrem **Cortex**) die halbfeste Konsistenz eines Gels (im Gegensatz zum eher flüssigen inneren Cytoplasma). Es scheint Mikrofilamente in allen eukaryontischen Zellen zu geben. Im Gegensatz zu druckfesten Mikrotubuli werden Mikrofilamente auf Zug belastet.

Mikrofilamente sind insbesondere als Teil des kontraktiven Apparates von Muskelzellen von Bedeutung. Tausende von Actinfilamenten liegen parallel nebeneinander mit dazwischen eingelagerten dickeren Filamenten aus dem Protein Myosin (Myosinfilamente). Die Kontraktion einer Muskelzelle beruht auf einem die Zelle verkürzenden Aneinandervorbeigleiten von Actin- und Myosinfilamenten.

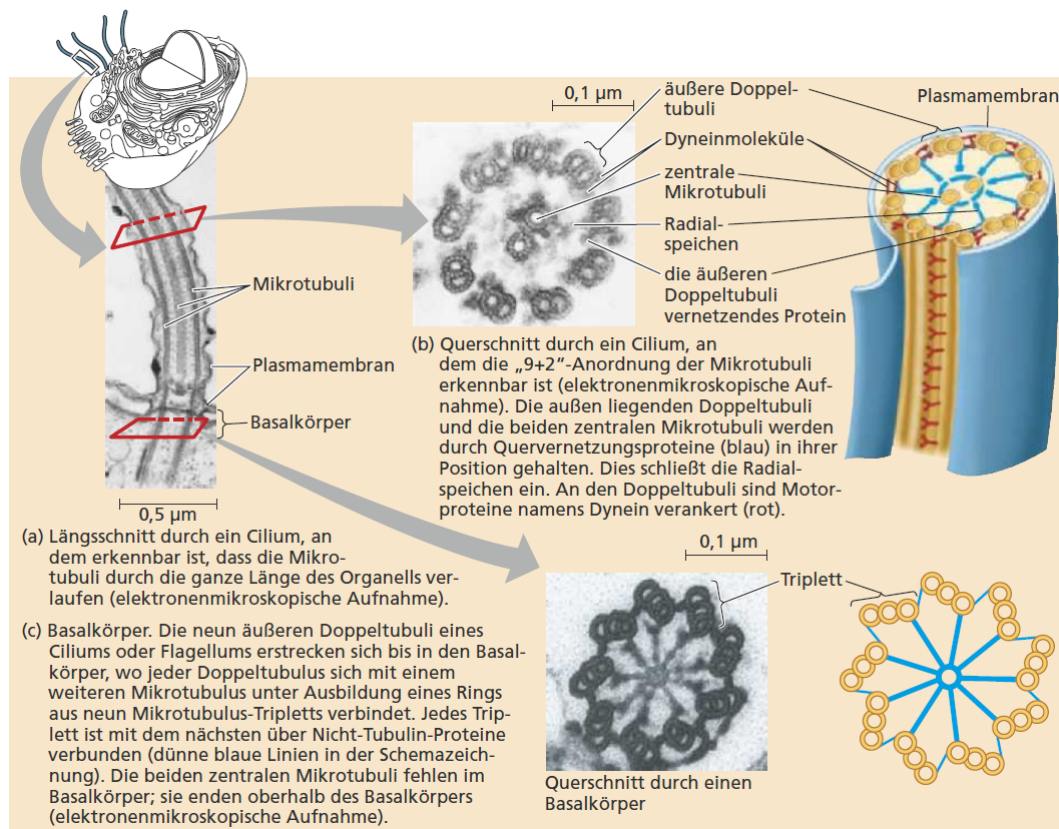


Figure 6.4.: Der Aufbau eines Ciliums bzw. einem Flagellum.

6.7.3. Intermediärfilamente

Intermediärfilamente bilden eine umfangreiche und vielgestaltige Familie von Cytoskelettproteinen. Jeder Intermediärfilamenttyp ist aus anderen Untereinheiten aufgebaut, die häufig zur grossen Gruppe der **Keratine** gehören. So sind verschiedene Zelltypen mit verschiedenen Intermediärfilamenttypen ausgestattet. Im Gegensatz dazu haben Mikrotubuli und Mikrofilamente in allen eukaryontischen Zellen eine einheitliche Zusammensetzung und einen einheitlichen Durchmesser. Als weiterer Unterschied sind Intermediärfilamente von dauerhafter Gestalt, selbst nach dem Absterben einer Zelle besteht das Maschenwerk der Intermediärfilamente vielfach weiter.

6.8. Extrazelluläre Komponenten und Zell-Zell-Verbindungen

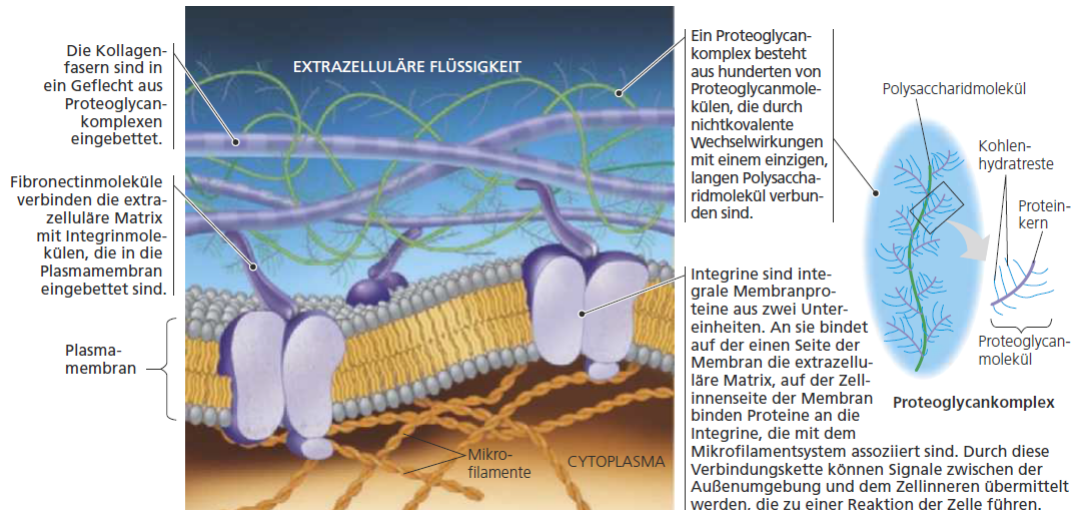
6.8.1. Pflanzenzellwände

Die Zellwand ist ein extrazellulärer Bestandteil pflanzlicher Zellen. Sie schützt und stützt die Pflanzenzelle und verhindert eine exzessive Wasseraufnahme. Sie ist wesentlich dicker als eine Plasmamembran (0.12 µm bis mehrere Mikrometer). Ihr Aufbau unterscheidet sich von Pflanze zu Pflanze und auch innerhalb der verschiedenen Zelltypen. Der grundsätzliche Bau ist aber immer gleich: **Mikrofibrillen** (ein Bündel aus etwa 80 Cellulosemolekülen) werden in eine Matrix aus Polysacchariden und Proteinen eingebettet - Verbundbauweise (Kombination von Baustoffen, starke Fasern in einer Matrix).

Eine Jungpflanze bildet zunächst nur eine dünne Zellwand, die **Primärzellwand**. Zwischen den Primärzellwänden benachbarter Zellen befindet sich die **Mittellamelle**, eine dünne Schicht mit einem hohen Anteil klebriger Polysaccharide namens **Pectin**. Viele Zellen fügen eine **Sekundärzellwand** zwischen Plasmamembran und Primärzellwand hinzu. Holz besteht beispielsweise hauptsächlich aus Sekundärzellwänden. Auch Prokaryonten, Pilze und einige Protisten besitzen eine Zellwand.

6.8.2. Extrazelluläre Matrix tierischer Zellen (ECM)

Tiere haben anstatt einer Zellwand eine komplexe extrazelluläre Matrix, die hauptsächlich aus Glykoproteinen besteht. **Kollagen** ist das häufigste Glykoprotein. Die Kollagenfasern sind in ein Netzwerk aus **Proteoglycan-Molekülen** eingebettet. Letztere bestehen aus einem einfachen Protein, an das zahlreiche Kohlenhydratketten kovalent gebunden sind. Grosse Proteoglycankomplexe bestehen aus hunderten von Proteoglycanmolekülen, die sich nichtkovalent mit einem einzigen sehr langen Polysaccharidmolekül verbinden:



Manche Zellen sind an die ECM über ECM-Glykoproteine wie **Fibronectin** gebunden. Sie bilden die Verbindung zwischen ECM und **Integrine**. Das sind Transmembranproteine, die auch zur Übermittlung von Signalen dienen. Somit kann die ECM das Verhalten der Zelle und sogar deren Genexpression beeinflussen.

Die ECM ist relativ locker und bestimmt die Form der Zelle nicht wesentlich.

6.8.3. Zell-Zell-Verbindungen

Die Plasmodesmen pflanzlicher Zellen

Die Verbindungen zwischen verschiedenen Pflanzenzellen werden Plasmodesmen genannt. Durch sie können Wasser und niedermolekulare Stoffe frei von Zelle zu Zelle diffundieren. Unter gewissen Umständen können sogar bestimmte Proteine und RNA-Moleküle durch die Plasmodesmen transportiert werden.

Junctions tierischer Zellen

Bei vielzelligen Tieren gibt es drei Typen von Zell-Zell-Verbindungen → Abb. 6.5):

Gap Junctions Sie entsprechen den Plasmodesmen am ehesten.

Adhering Junctions Sie sorgen für den mechanischen Zusammenhalt von Zellen.

Tight Junctions Durch die Abdichtung des interzellulären Raumes verhindern sie bei Wirbeltieren eine unkontrollierte Diffusion von Stoffen zwischen den Zellen eines Epithels hindurch. Bei Wirbellosen übernehmen **septate junctions** die Funktion.

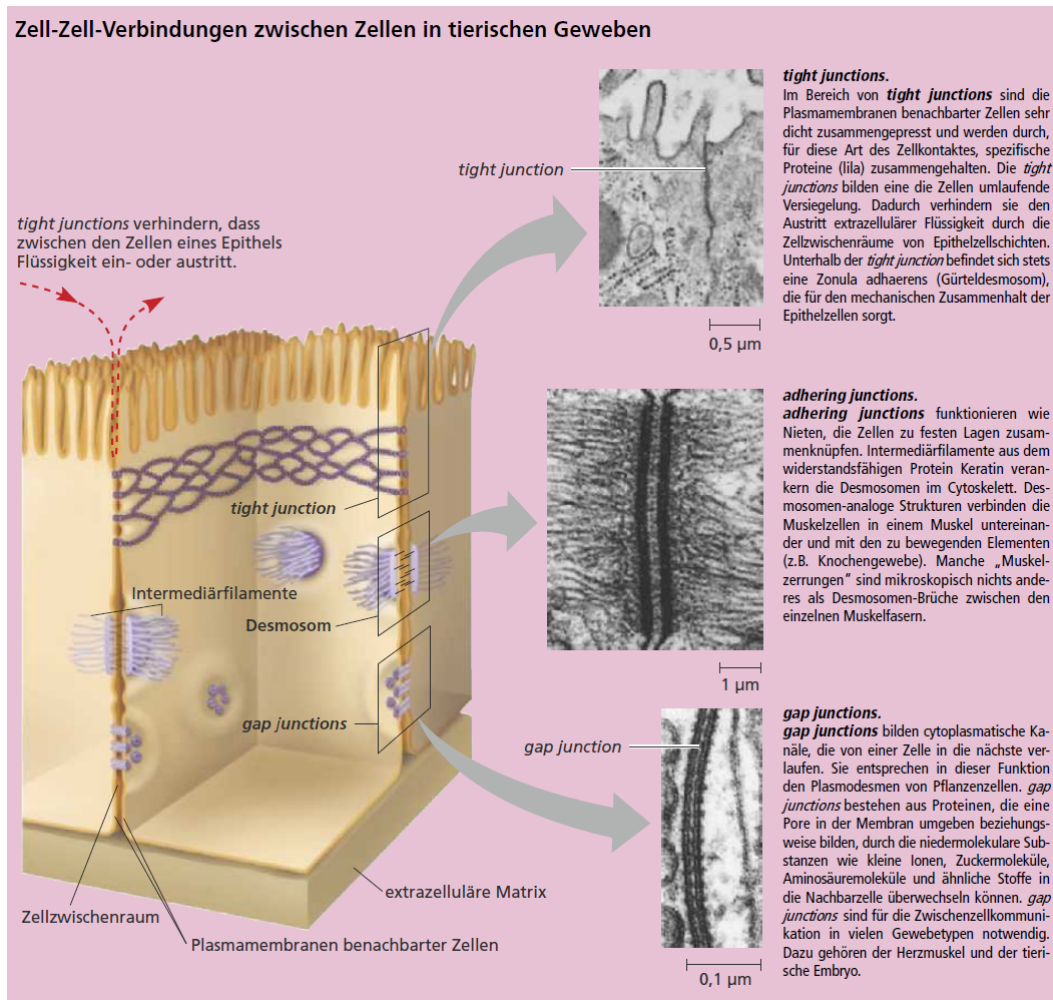


Figure 6.5.: Zell-Zell-Verbindungen zwischen Zellen in tierischem Gewebe.

7. Biomembranen

Im Wesentlichen besteht eine biologische Membran aus Phospholipiden; das sind **amphipatische** Moleküle, besitzen also hydrophobe und hydrophile Bereiche. Neben Phospholipiden enthält sie auch Membranproteine, sonst würde man nicht von einer *biologischen* Membran sprechen.

7.1. Die Fluidität von Membranen

Das Fluid-Mosaik-Modell beschreibt die Membran als zweidimensionale Flüssigkeit. Eine Membran wird durch hydrophobe Wechselwirkungen zusammengehalten. Die Membran ist also flüssig, wie etwa Salatöl. Diese Fluidität ist erforderlich, damit Membrane ihre Funktion erfüllen können. Sie hat einen Einfluss auf die Permeabilität und die Beweglichkeit von Proteinen. Sowohl zu flüssige, wie auch zu feste Membranen können ihre Aufgaben nicht mehr vollumfänglich erfüllen. Die Fluidität einer Membran bleibt länger erhalten, wenn sie einen höheren Anteil an ungesättigten Fettsäuren hat. Zudem hat das Cholesterol-Molekül, das bei tierischen Zellen in den Membranen eingelagert ist, einen Einfluss. Bei höheren Temperaturen behindert es die Lipide in ihrer Beweglichkeit, bei tieferen Temperaturen stört es die Wechselwirkungen und verhindert zu frühes Verfestigen, wirkt also wie ein Puffer.

7.2. Funktionen von Membranproteinen

Membranproteine können sowohl mit der extrazellulären Matrix, wie auch mit dem Cytoskelett verbunden sein, um die Zelle zu stabilisieren. Sie werden in sogenannt integrale Membranproteine und periphere Proteine unterteilt.

Integrale Membranproteine sind in die Membran eingebettet und durchspannen sie teilweise ganz (es sind dann Transmembranproteine). Im Kernbereich enthalten diese Proteine hydrophobe Seitenketten. Sie können einen hydrophilen Kanal für die Diffusion von z.B. Wassermolekülen haben.

Periphere Membranproteine liegen relativ lose auf der Membranoberfläche. Sie sind manchmal mit den freiliegenden Teilen von integralen Membranproteinen assoziiert oder haben kovalente Modifikationen wie Fettsäuren, mit dem sie das Protein in der Membran verankern können.

Abbildung 7.1 zeigt die Funktionen, die Membranproteine haben können. Auch können einzelne Proteine mehrere Funktionen erfüllen. Die Orientierung der Proteine in der Membran ist häufig entscheidend, und wird bereits bei der Synthese der Proteine im ER festgelegt. Die Membran selbst ist dadurch asymmetrisch.

7.3. Funktionen von Membrankohlenhydraten

Kohlenhydratreste können kovalent an Membranlipide gebunden sein. Man spricht dann von Glykolipiden. Häufiger sind sie jedoch an Proteine gebunden. Sie ermöglichen es, Zellen identifizieren zu können, zum Beispiel für die Zell-Zell-Erkennung oder zur Immunabwehr. Die Kohlenhydratreste selbst unterscheiden sich von Art zu Art, von Individuum zu Individuum und von Zelltyp zu Zelltyp.

7.4. Passiver Transport

Die Lipiddoppelschicht selbst ist bereits permeabel für kleine apolare Moleküle wie hydrophobe Kohlenwasserstoffe sowie Gase wie CO_2 und O_2 . Die Membran ist nicht wirklich wasserundurchlässig, denn grundsätzlich können auch Moleküle wie Zucker oder Wasser die Lipiddoppelschicht passieren, aber nur

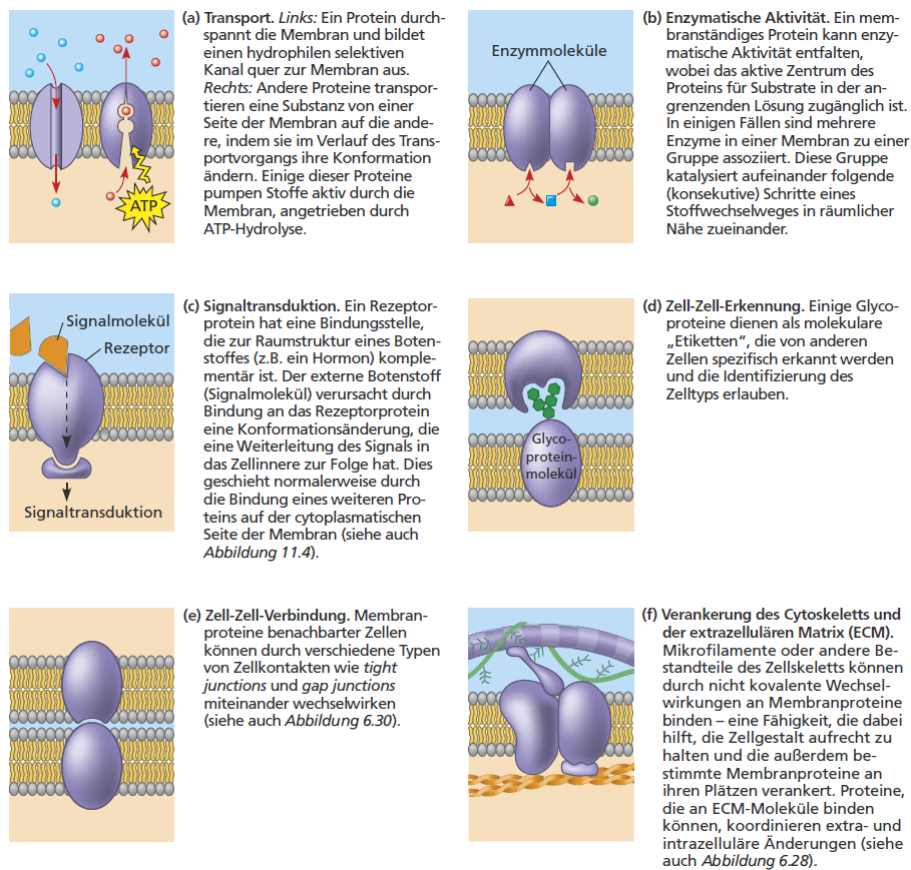


Figure 7.1.: Funktionen von Membranproteinen

sehr langsam. Solche und insbesondere auch grössere polare Moleküle sind für den Transport auf Membranproteine angewiesen.

Kanalproteine Sie haben einen hydrophilen Kanal, der so bemessen ist, dass ihn nur kleine Moleküle und Ionen nutzen können. Zum Beispiel sind **Aquaporine** Tunnelproteine für Wassermoleküle. Zu den Kanalproteinen gehören auch die **Ionenkanäle**, von denen viele gesteuerte Kanäle sind. Sie öffnen und schliessen sich aufgrund von chemischen und physikalischen Reizen wie chemischen Liganden, elektrischer Spannung oder mechanischer Verformung.

Carrier Sie binden ihre Fracht an der einen Seite und transportieren sie durch eine Konformationsänderung an die andere Seite der Membran. Diese Konformationsänderung kann durch die Anlagerung einer Freisetzung eines Substrats verursacht werden. Ein Transportprotein ist spezifisch für das zu transportierende Molekül.

Passiver Transport ist dadurch charakterisiert, dass keine Energie aufgewendet werden muss. Die dem passiven Transport zugrunde liegende Diffusion ist eine Folge der **Brown'schen Molekularbewegung**, also der ungerichteten thermischen Bewegung der Teilchen. Ein Stoff diffundiert entlang seines Konzentrationsgefälles. Dieser Vorgang erfordert keine Arbeit, da sich das System durch das Erreichen des thermodynamischen Gleichgewichts in einem energieärmeren Zustand befindet. Jeder Stoff folgt seinem eigenen Konzentrationsgefälle, das von anderen Substanzen weitgehend unbeeinflusst ist.

Ein Beispiel für passiven Transport ist die **Osmose**, also die durch eine semipermeable Membran erfolgende gerichtete Diffusion von Wasser aufgrund eines Konzentrationsgefälles. **Tonizität** beschreibt die Fähigkeit einer Lösung, einer Zelle Wasser zu entziehen oder hinzuzufügen, also dessen Volumen zu verändern. Die Tonizität einer Lösung hängt von deren Konzentration und dessen Membranpermeabilität ab:

- Falls im umgebenden Medium eine höhere Konzentration membranimpermeabler gelöster Stoffe vorliegt, wird Wasser aus der Zelle austreten. Die Lösung wird als **hyperton** bezeichnet. Bei einer Pflanzenzelle löst sich die Plasmamembran von der Zellwand ab - **Plasmolyse**.
- In einer **hypotonen** Lösung liegen weniger membranimpermeabel gelöste Stoffe als in der Zelle vor. Wasser fließt in die Zelle hinein. Eine Pflanzenzelle ist prall gefüllt - **turgescenz**.
- In einer **isotonen** Lösung findet kein *Nettotransport* von Wasser-Molekülen statt.

7.5. Aktiver Transport

Carrierproteine sind auch für den aktiven Transport zuständig. Allerdings ist hier eine Energiezufuhr durch ATP notwendig. Eine Möglichkeit ist die direkte Phosphorylierung des Transportproteins, die zu einer Konformationsänderung des Proteins führt. Zum Beispiel die Natrium/Kaliumpumpe funktioniert nach diesem Prinzip. Sie pumpt drei Na^+ -Ionen aus der Zelle heraus und zwei K^+ -Ionen in die Zelle hinein sodass die Zelle immer eine hohe Konzentration an Kalium-, und eine niedrige Konzentration an Natrium-Ionen hat.

Neben dem Konzentrationsgradienten spielt in Zusammenhang mit Ionen auch das Membranpotential eine Rolle. Die Kombination der beiden Kräfte wird als **ionenmotorische Kraft** oder **elektrochemische Kraft** bezeichnet. Wenn die beiden Kräfte nicht in dieselbe Richtung zeigen, in die der Transport stattfinden soll, ist ein aktiver Transport notwendig.

Beim aktiven Transport von Ionen wird ein elektrostatisches Feld erzeugt und somit Energie in Form der Spannung gespeichert. Ein solcher Transporter, der durch seine Tätigkeit zum Aufbau einer elektrischen Spannung über die Membran beiträgt, wird als **elektrogene Pumpe** bezeichnet.

Die wichtigste elektrogene Pumpe bei Pflanzen ist die Protonenpumpe, die aktiv H^+ -Ionen aus der Zelle herauspumpt. Ausserhalb der Zelle können die Protonen dann an Moleküle wie Aminosäuren und Zucker gebunden werden und mit dem elektrischen Feld in die Zelle hinein strömen. So ein Protein wird **Cotransporter** genannt.

7.6. Endocytose und Exocytose

Die Exocytose wird vor allem bei sekretorischen Zellen angewandt. Bauchspeicheldrüsenzellen stellen Insulin her und schütten es durch Exocytose aus. Auch Neurotransmitter von Nervenzellen werden durch Exocytose ausgeschüttet. Die Vesikel wandern dabei von der *trans*-Seite des Golgy-Apparats entlang den Mikrotubuli zur Plasmamembran und werden durch spezielle Proteine in die Membran eingebunden.

Bei der Endocytose unterscheidet man zwischen der **Phagocytose** (feste Teilchen werden einverleibt), der **Pinocytose** (extrazelluläre Flüssigkeit mit allen darin enthaltenen Stoffen werden einverleibt) und der **rezeptorvermittelten Endocytose** (es werden gezielt Rezeptormoleküle mit den daran gebundenen Liganden internalisiert).

8. Zelluläre Kommunikation

8.1. Signaltransduktion im Überblick

Der Prozess der Signaltransduktion kann in die drei Schritte Erkennung, Übertragung (Transduktion) und Antwort unterteilt werden:

Erkennung Ein extrazelluläres Signalmolekül (wird auch als **Ligand** bezeichnet) wird erkannt, wenn es an ein Rezeptorprotein an der Zelloberfläche (oder auch im Zellinneren) bindet.

Übertragung Die Bindung des Signalmoleküls führt zur Konformationsänderung des Rezeptorproteins und leitet dadurch die Signalübertragung ein. Die Übertragung umfasst manchmal nur einen Schritt, beinhaltet in der Regel aber eine Folge von Veränderungen in einer ganzen Kette verschiedener Moleküle, die zusammen den **Signaltransduktionsweg** (auch **Signalübertragungskaskade**) bilden. Die verschiedenen Glieder der Signalkette werden oft als Vermittler (im Fall der RTKs sind dies Übertragungsproteine) bezeichnet.

Antwort Im dritten Stadium wird eine spezifische zelluläre Antwort ausgelöst. Der zelluläre Signalverarbeitungsprozess hilft dabei sicherzustellen, dass wichtige zelluläre Aktivitäten nur in den richtigen Zellen und zur richtigen Zeit ablaufen und dass diese korrekt mit den anderen Zellen des Körpers koordiniert werden.

8.2. Externe Signale werden in intrazelluläre Antworten umgewandelt

Ein wichtiges Thema bei der zellulären Kommunikation mithilfe chemischer Signale ist Sex. Beispielsweise gibt es zwei Paarungstypen (a und α) der Bäckerhefe, die den Geschlechtern von Organismen höherer Ordnung entsprechen. Sie sezernieren beide Signalmoleküle, die nach ihrem Typ benannt sind. Erkennen die Zellen Signalmoleküle des anderen Typs ändern sie ihre Form, wachsen aufeinander zu und verschmelzen zu einer diploiden a/α -Zelle.

Dieser über eine Reihe von Zwischenschritten vermittelte Vorgang wird allgemein als **Signaltransduktion** bezeichnet und ist bei multizellulären Organismen ähnlich wie bei Einzellern. Sie müssen sich also bereits vor mehr als einer Milliarde Jahre bei Prokaryonten und einzelligen Eukaryonten entwickelt, und bei ihren vielzelligen Nachkommen durch Mutation weiterentwickelt haben.

Ein weiteres Beispiel ist **Quorum sensing**. Viele Bakterienarten senden niedermolekulare Substanzen aus, mit deren Hilfe (also durch Erfassen der Konzentration) die Bakterienzellen die Populationsdichte bestimmen und entsprechend die Genexpression regulieren können.

8.2.1. Signalwirkung über kurze und lange Distanzen

Kurze Distanzen

Folgende Arten der Kommunikation über kurze Distanzen existieren:

- Eukaryontische Zellen können - bei tierischen Zellen über Gap Junctions, bei pflanzlichen Zellen über Plasmodesmen - **direkt miteinander verbunden** sein. So können Moleküle ausgetauscht werden, ohne dass sie Membranen überwinden müssen.
- Tierische Zellen können über den direkten Kontakt von membrangebundenen Oberflächenmolekülen miteinander kommunizieren - **Zellerkennung**.

- Manche Zellen sezernieren Signalmoleküle, die nur kurze Wege zurücklegen, um ihre Nachbarzellen zu beeinflussen. Beispielsweise Wachstumsfaktoren tierischer Zellen, die benachbarte Zellen zum Wachsen und Teilen anregen. Eine Zelle kann also viele Nachbarzellen beeinflussen. Diese Art der lokalen Kommunikation wird als **parakrine Signalübertragung** bezeichnet.
- Eine weitere Art der lokalen Kommunikation ist die **synaptische Signalübertragung** des tierischen Nervensystems.

Bei pflanzlichen Zellen ist, ausser der Kommunikation über Plasmodesmen, wenig über die lokale Signalübertragung bekannt.

Lange Distanzen

Für die Signalübertragung über weite Distanzen nutzen Pflanzen und Tiere chemische Botenstoffe (**Hormone**). Diese Art der Kommunikation wird bei Tieren als **endokrine Signalübertragung** bezeichnet. Hormone treten in allen möglichen Formen und Grössen auf. Sie werden von hochspezialisierten Zellen freigesetzt und gelangen über den Blutkreislauf zu den Zielzellen, die dann entsprechend reagieren. Ob eine Zelle auf ein Signalmolekül reagiert, hängt davon ab, ob sie einen spezifischen Rezeptor an der Zelloberfläche besitzt, der das Molekül binden kann. Pflanzliche Hormone werden über das Gefässsystem der Pflanze, direkt durch die Zellen oder durch die Luft transportiert.

8.3. Signalwahrnehmung

Wie bereits erwähnt, können Rezeptorproteine als Transmembranproteine oder als intrazelluläre Proteine vorliegen.

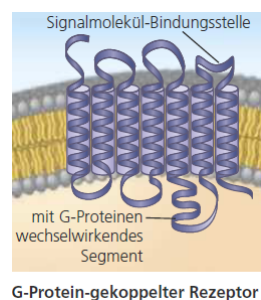
8.3.1. Rezeptorproteine in der Plasmamembran

Es werden drei wesentliche Typen von integralen Membranrezeptoren betrachtet, wobei die G-Protein-gekoppelten Rezeptoren die grösste Gruppe bildet.

G-Protein-gekoppelter Rezeptor (GPCR)

Ein GPCR arbeitet im Verbund mit einem G-Protein, das wiederum die Guaninnucleotide GTP und GDP binden kann. Die verschiedenen GPCRs unterscheiden sich in den Bindungsstellen für das Signalmolekül und den im Zellinneren angesteuerten G-Proteinen.

Alle GPCRs sind ähnlich aufgebaut. Sie enthalten sieben, die Membran durchspannende α -Helices und unterscheiden sich im Wesentlichen durch die Schleifen, die als Bindungsstellen für die Liganden und G-Proteine dienen.



Der Transduktionsweg ist in Abbildung 8.1 zusammengefasst.

Rezeptor-Tyrosinkinasen (RTK)

RTKs gehören zu einer grossen Klasse von *enzymatisch aktiven* Plasmamembranrezeptoren. Eine Kinase ist ein Enzym, das die Übertragung einer Phosphatgruppe katalysiert. Der in das Cytoplasma ragende

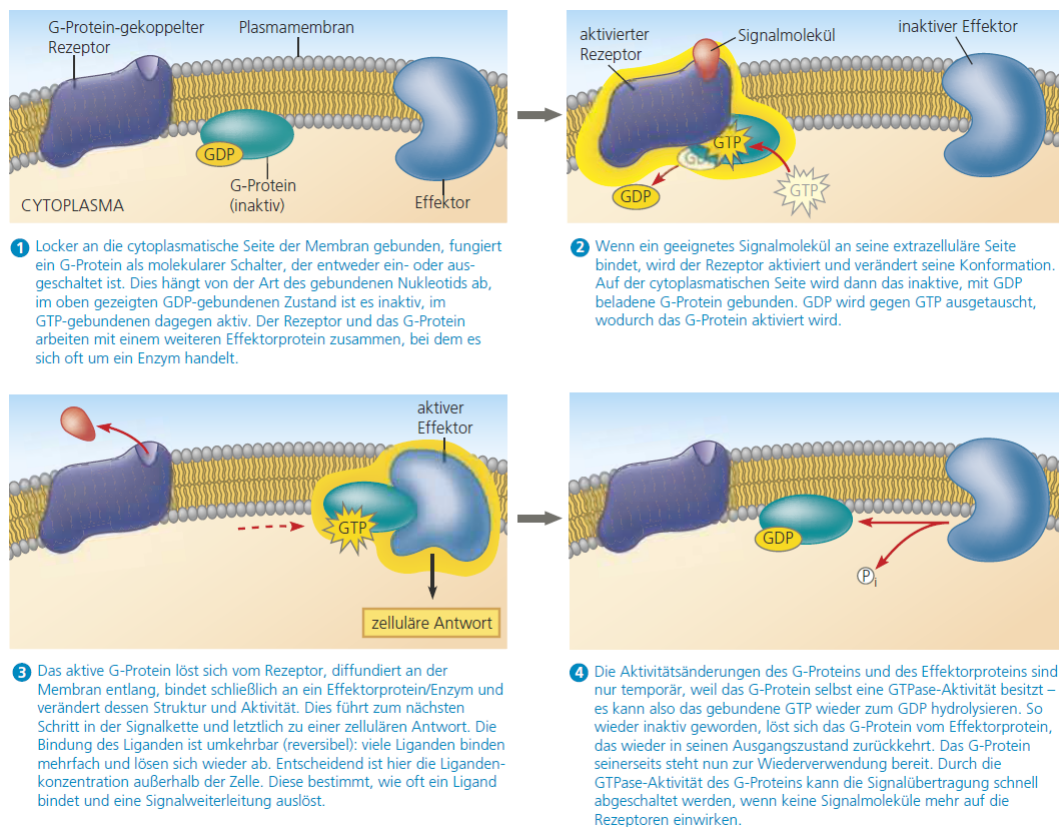


Figure 8.1.: Transduktionsweg mit GPCR

Teil des Rezeptors fungiert als Tyrosinkinase, katalysiert also die Übertragung eines von einem ATP stammenden Phosphats auf die Aminosäure Tyrosin.

Eine bestimmte RTK kann mehr als zehn verschiedene Signalwege aktivieren und entsprechend viele zelluläre Antworten auslösen. Somit kann ein Signalmolekül oft mehrere Signaltransduktionswege beeinflussen. Diese Fähigkeit unterscheidet RTKs ganz wesentlich von GPCRs. Mutierte RTKs, die auch ohne Signalmoleküle dauerhaft aktiviert sind, sind an der Entstehung mancher Krebsarten beteiligt. Der Transduktionsweg mit RTKs ist in Abbildung 8.2 zusammengefasst.

Liganden-gesteuerte Ionenkanäle

Ein Liganden-gesteuerter Ionenkanal ist ein Membranrezeptortyp, der einen als Ionenkanal fungierenden Transmembranbereich enthält. Der Ionenkanal öffnet sich beim Anlagern des Liganden und schliesst sich wieder, sobald der Ligand entfernt wird. Liganden-gesteuerte Ionenkanäle spielen im Nervensystem eine zentrale Rolle.

8.3.2. Intrazelluläre Rezeptorproteine

Intrazelluläre Rezeptorproteine befinden sich entweder im Cytoplasma oder im Zellkern der Zielzellen. Die Signalmoleküle müssen also zuerst die Plasmamembran überwinden, um den Rezeptor zu erreichen. Viele Botenstoffe können dies, weil sie hydrophob (z.B. Steroidhormone oder Schilddrüsenhormone der Tiere) oder klein und wenig polar (z.B. NO) sind. Bei der Bindung an den Rezeptor im Zellinneren bildet sich ein **Hormon-Rezeptor-Komplex** (auch aktivierter Rezeptor genannt), der dann in der Lage ist, eine Zellantwort auszulösen. Meistens geht es um die Aktivierung oder Repression der Genexpression bestimmter Gene.

Die Genexpression kann durch spezielle Proteine, den Transkriptionsfaktoren, reguliert werden. Sie legen

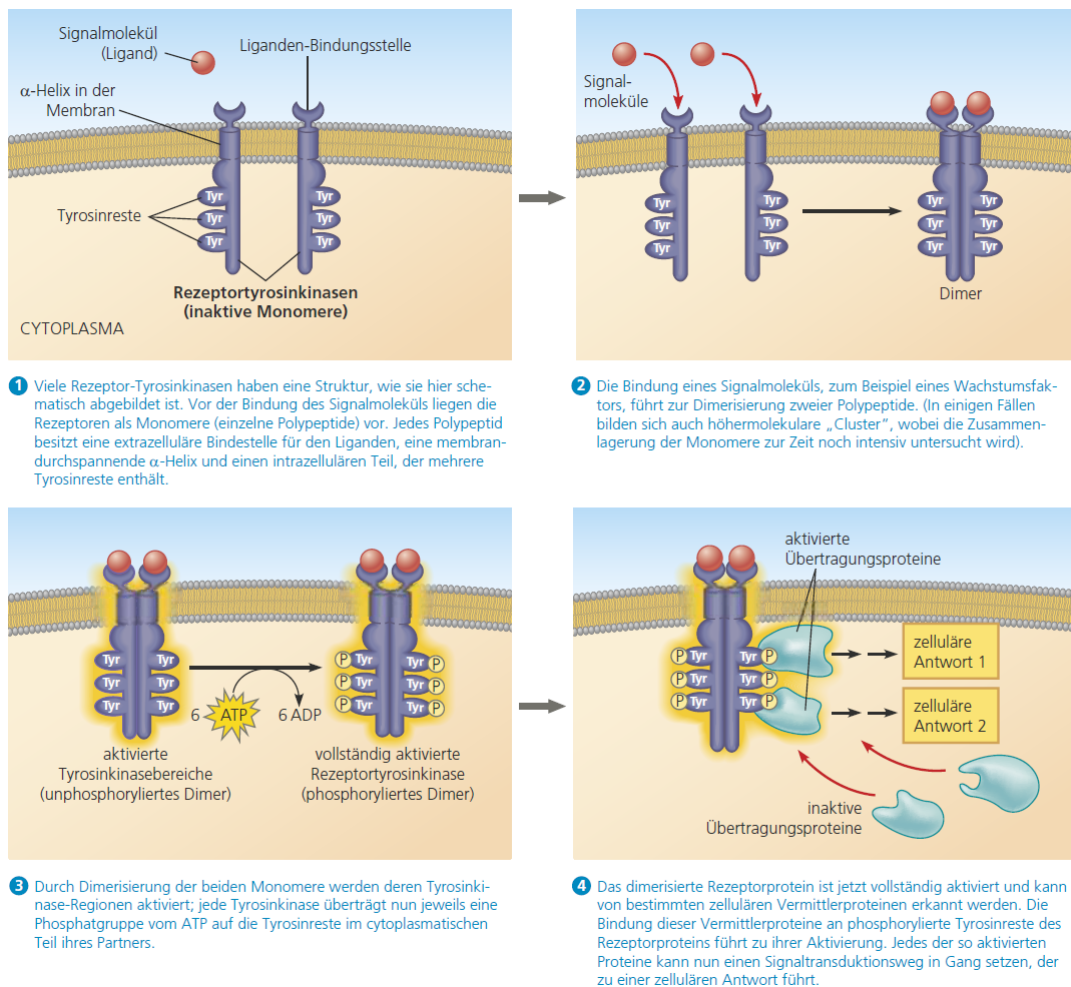


Figure 8.2.: Transduktionsweg mit RTKs

fest, welche Gene zu welchem Zeitpunkt in welchem Zelltyp aktiv sind. Die Hormon-Rezeptor-Komplexe aller Steroidrezeptoren wirken direkt als Transkriptionsfaktoren, die an spezifische DNA-Sequenzen der Zielgene binden und deren Transkription regulieren. Andere intrazelluläre Rezeptortypen funktionieren ähnlich, viele befinden sich aber bereits in Zellkern, bevor das Signalmolekül sie erreicht.

8.4. Signalübertragung

In Zusammenhang mit der Signalübertragung bedarf es der Definition einiger Begriffe:

Signaltransduktionsweg Er entspricht der Gesamtheit aller molekularen Wechselwirkungen, die durch die Bindung eines Signalmoleküls an einen Rezeptor in der Plasmamembran ausgelöst wurden. In erster Näherung gilt, dass das Signal auf jeder Stufe der Übertragung eine neue Form annimmt. Häufig handelt es sich dabei um Konformationsänderungen, die durch Wechselwirkungen der Phosphatgruppen mit geladenen oder polaren Aminosäureresten des phosphorylierten Proteins bedingt sind.

Kinase Eine Kinase ist ein Enzym, das die Übertragung einer Phosphatgruppe katalysiert. Eine Proteinkinase ist demnach ein Enzym, das eine Phosphatgruppe von ATP auf ein Protein katalysiert. Die meisten cytoplasmatischen Proteinkinasen phosphorylieren andere Proteine als die des eigenen Typs. Die Rezeptor-Tyrosinkinase bildet diesbezüglich eine Ausnahme.

Phosphatase Eine Phosphatase katalysiert die Abspaltung einer Phosphatgruppe von einem Molekül (Dephosphorylierung). Eine Proteinphosphatase katalysiert also die Abspaltung einer Phosphatgruppe von einem phosphorylierten Protein. Durch Dephosphorylierung wird ein zuvor aktiviertes Protein wieder inaktiviert (oder umgekehrt), so können Signaltransduktionswege wieder abgeschaltet, und das Protein wiederverwendet werden.

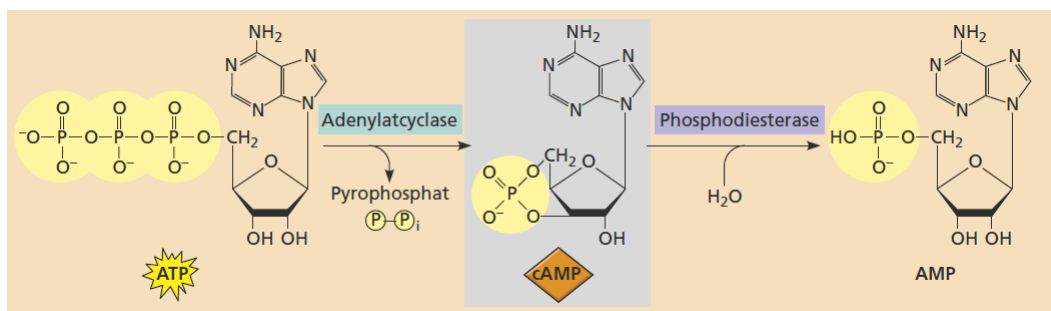
Die Signalübertragung besteht in der Regel aus mehreren Schritten. Zu den intrazellulären Schritten gehört oft eine Aktivierung von Proteinen durch Phosphorylierung oder Dephosphorylierung oder die Freisetzung von sekundären Botenstoffen. Während solchen Kaskaden können Signale amplifiziert werden, sodass am Ende des Signaltransduktionswegs eine grosse Anzahl aktivierter Moleküle vorliegt. Zudem bieten mehrstufige Wege mehr Möglichkeiten zur Regulation und Koordination.

8.4.1. Sekundäre Botenstoffe

Sekundäre Botenstoffe sind niedermolekulare Verbindungen, in der Regel wasserlösliche Moleküle oder Ionen. Sie können sich also leicht in der Zelle ausbreiten. Sie sind sowohl an Signaltransduktionswegen beteiligt, die mit GPCRs beginnen, als auch bei solchen mit RTKs. Die beiden am weitesten verbreiteten sekundären Botenstoffe sind cAMP und Ca^{2+} -Ionen (auch sie kommen bei beiden Signaltransduktionswegen vor). Eine grosse Vielfalt von Signalübertragungsproteinen spricht auf cytosolische Konzentrationsänderungen eines dieser beiden sekundären Botenstoffe an.

Zyklisches AMP

Zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP) wird durch die an der Plasmamembran lokalisierte **Adenylatcyclase** aus ATP hergestellt. Die **Phosphodiesterase** kann das cAMP zu AMP hydrolysieren:



Die Produktion von cAMP kann als Antwort auf ein durch den Rezeptor und ein G-Protein vermitteltes extrazelluläres Signal angestossen werden. cAMP aktiviert dann normalerweise eine Serin/Threoninkinase, die Proteinkinase A, die wiederum verschiedene Zielproteine phosphorylieren kann (siehe Abbildung 8.3).

Calciumionen und Inositoltriphosphat (IP_3)

Ca^{2+} und IP_3 treten häufig im Verbund auf (siehe Abbildung 8.4).

- Ca^{2+} ist als sekundärer Botenstoff noch weiter verbreitet als cAMP. In tierischen Zellen kann er z.B. folgende Reaktionen hervorrufen: Muskelkontraktion, Sekretion bestimmter Substanzen, die Zellteilung. Es hat immer Ca^{2+} -Ionen in den Zellen, mit 10^{-7} mol/l ist die Konzentration aber sehr gering. Zellen transportieren Calciumionen einerseits aktiv aus der Zelle heraus, andererseits zur Bildung einer Reserve aktiv in das Lumen des ER hinein. Unter gewissen Bedingungen auch in Mitochondrien und Chloroplasten.
- Der Transport der Ca^{2+} -Ionen erfolgt über verschiedene Ionentransportproteine. Jene zur Freisetzung der Ionen aus dem ER werden durch IP_3 und Diacylglycerin (DAG) gesteuert. Diese beiden Botenstoffe entstehen durch die enzymatische Spaltung eines bestimmten Phospholipids in der Plasmamembran der Zelle.

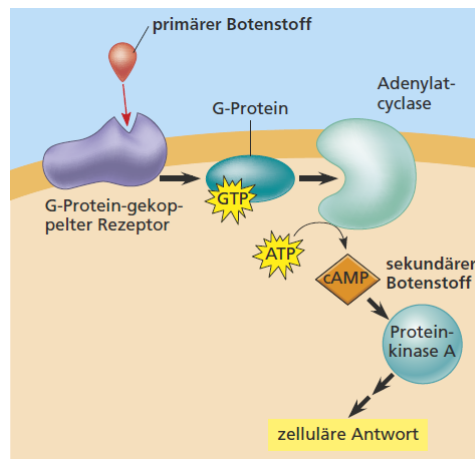


Figure 8.3.: Transduktionsweg mit cAMP als sekundärer Botenstoff

8.5. Die zelluläre Antwort

Viele Signaltransduktionswege steuern letztendlich die Proteinbiosynthese, indem bestimmte Gene an- oder abgeschaltet werden. Das heisst, bei den Zielproteinen am Ende vieler Signaltransduktionswegen handelt es sich um Transkriptionsfaktoren, die die Genexpression aktivieren oder hemmen. Häufig wirkt sich ein Transkriptionsfaktor auf die Expression von mehreren Genen aus.

Manchmal reguliert ein Signaltransduktionsweg auch nur die Aktivität von Proteinen und nicht ihre Neusynthese.

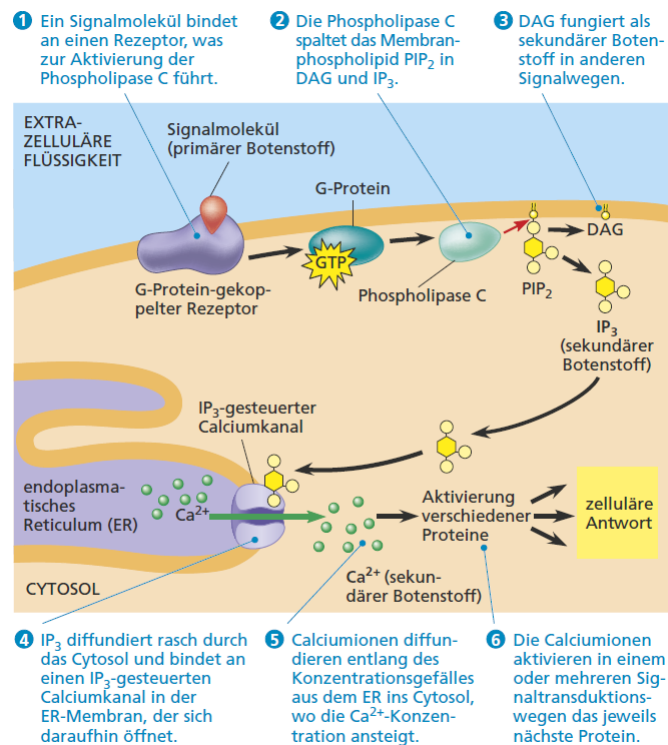
8.5.1. Feinabstimmung der Antwort auf Signale

Signaltransduktionswege mit mehreren Schritten zwischen dem Signaleingang und der Zellantwort haben insbesondere folgende vier Vorteile:

- Ein Signal kann verstärkt werden. Die Verstärkung erfolgt aber nur dann, wenn die Proteine lange genug aktiv bleiben, um eine grosse Zahl von Substratmolekülen umzusetzen. Beispielsweise reichen wenige Adrenalin-Moleküle um viele hundert Millionen Glucosemoleküle aus Glykogen freizusetzen.
- Zellen können auf dieselben Signalmoleküle (wenn überhaupt) unterschiedlich reagieren. Diese Unterschiede sind bedingt durch verschiedene Proteinausstattungen der verschiedenen Zelltypen. Das hat unterschiedliche Signaltransduktionswege zur Folge.
 - Signalübertragungswege können sich verzweigen und mehrere Antworten auslösen. Derartige Wege gehen oft von RTKs aus, die unterschiedliche Übertragungsproteine aktivieren können, oder mehrere sekundäre Botenstoffe bilden, die zahlreiche Proteine regulieren können.
 - Es kann auch bereits der Rezeptor verschieden sein und eine andere Antwort auslösen.
 - Zudem kann abhängig von der Anwesenheit eines weiteren Signalmoleküls und entsprechendem Rezeptor ein Signaltransduktionsweg reguliert werden.

Die Verwendung gleicher Proteine in verschiedenen Transduktionswegen erlaubt es der Zelle, sparsam mit der Zahl der Proteine umzugehen, die dafür hergestellt werden müssen.

- Der Gesamtwirkungsgrad der Antwort kann durch sogenannte Gerüstproteine, die am Signalweg beteiligten Proteine in räumlicher Nähe zusammenhalten, zusätzlich erhöht werden. Es können sich also mehrere verschiedene Übertragungsproteine dem Gerüstprotein anlagern, das sich wiederum dem Rezeptor-Protein anlagern kann. Die Bildung von kurz- und/oder langlebiger Protein-Komplexe gewinnt zusätzlich an Bedeutung, weil Proteine bekanntlich in verschiedenen Signalwegen eingebunden sein können und das entweder in verschiedenen Zelltypen oder in derselben Zelle zu unterschiedlichen Zeiten oder unter verschiedenen Bedingungen.

Figure 8.4.: IP₃ und Ca²⁺ als sekundäre Botenstoffe

- Eine zelluläre Antwort wird in der Regel nur dann ausgelöst, wenn die Anzahl aktivierter Rezeptoren einen bestimmten Schwellenwert überschreitet. Zum Abschalten der Signale müssen die beteiligten Moleküle wieder in ihren inaktiven Zustand gebracht werden. Dafür gibt es für jedes Molekül einen spezifischen Vorgang. Beispielsweise hydrolysiert das G-Protein mit der ihr eigenen GTPase-Aktivität das gebundene GTP zu GDP nach der Bindung an das Effektor-Protein.

8.6. Apoptose

Der Begriff Apoptose bezeichnet den kontrollierten Zelltod. Die Apoptose wird durch ein komplexes Netzwerk aus verschiedenen Signaltransduktionswegen ausgelöst. Bei der Apoptose fragmentieren die Organellen einer Zelle (sie werden zerstückelt) einschliesslich des Zellkerns und den cytoplasmatischen Strukturen. Die Zelle schrumpft und bildet als **blebs** bezeichnete Vesikel, die schliesslich als sogenannte Apoptose-Körper von spezialisierten Makrophagen aufgenommen und vollständig entsorgt werden.

Signale zur Auslösung der Apoptose können sowohl von ausserhalb der Zelle, als auch aus dem Inneren der Zelle selbst kommen. Bei äusseren Signalen werden entsprechende Moleküle von einer anderen Zelle freigesetzt, die in der Zielzelle einen Signaltransduktionsweg in Gang setzen. Kommt das Signal von Innen wird es über eine Reihe von Protein-Protein-Wechselwirkungen weitergegeben, bis es schliesslich die Apoptose auslöst.

Die Apoptose ist bei Tieren essenziell für die Entwicklung und die Aufrechterhaltung physiologischer Funktionen, auch bei der Ausbildung der Finger ist die Apoptose von Bedeutung.

8.6.1. Die verschiedenen Wege der Apoptose

Beim Menschen und anderen Säugetieren gibt es mehrere unterschiedliche Apoptose-Signalwege, an denen insgesamt etwa 15 verschiedene Caspasen¹ beteiligt sind. Bestimmte Apoptose-Proteine bilden Poren in

¹Caspasen (cysteiny-l-aspartate specific protease) die Zielproteine an einer Peptidbindung von Aspartat (eine Aminosäure) schneiden.

die äussere Membran der Mitochondrien und ermöglichen es vielen Proteinen das Mitochondrium zu verlassen und im Cytoplasma die Apoptose voranzutreiben. Ein solches Protein ist das Cytochrom *c*, das in gesunden Zellen ein Teil der mitochondrialen Elektronentransportkette zur ATP-Synthese ist. Wenn es im Cytoplasma vorliegt aktiviert es über einen Zwischenschritt eine Caspase. Die Caspasen können aber auch durch externe Signale über einen Rezeptor aktiviert werden, ohne den Weg über die Mitochondrien.

Zwei andere Signale der Apoptose kommen aus dem Zellinneren, nämlich aus dem Zellkern (wenn die DNA irreparabel beschädigt ist) und dem ER (ausgelöst durch einen massiven Anstieg an fehlgefalteten Proteinen).

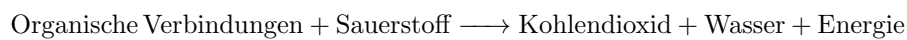
9. Zellatmung

Ganz grundsätzlich wird zwischen folgenden Arten der Zellatmung unterschieden, wobei der Begriff "Zellatmung" häufig mit der aeroben Atmung gleichgesetzt wird:

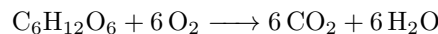
Aerobe Atmung Bei der aeroben Atmung liegt neben dem Brennstoff molekularer Sauerstoff als Reaktand vor. Sie ist viel leistungsfähiger als die anaerobe Atmung. Die Zellen der meisten Eukaryonten und vieler Prokaryonten atmen aerob.

Anaerobe Atmung Bei der anaeroben Atmung wird chemische Energie gewonnen, ohne dass beim (hier nur teilweisen) Abbau Sauerstoff beteiligt ist. Als terminalen Elektronenakzeptor können z.B. Nitrationen (NO_3^-) oder Sulfationen (SO_4^{2-}) dienen.

Allgemein gilt als Reaktionsgleichung für die Zellatmung:



Beim aeroben Abbau von Glucose ergibt sich:



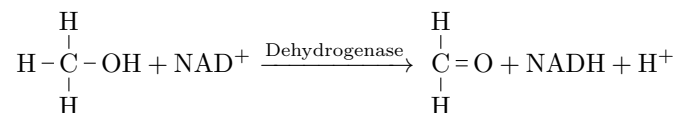
Die Reaktionen in Zusammenhang mit der Zellatmung sind Redox-Reaktionen. Polare Bindungen sind stabiler, also energieärmer. Kohlenwasserstoffe enthalten am meisten Energie, weil die C-H-Bindungen relativ unpolar sind (beide haben ähnliche EN-Werte). Geht ein Elektron von einem weniger elektronegativen auf ein stärker elektronegativen Reaktionspartner über, nimmt die potentielle Energie des Systems ab.

9.1. Die schrittweise Freisetzung der Energie aus der Oxidation

Falls die gesamte Energie eines Brennstoffs auf einmal freigesetzt würde, wäre es sehr schwierig, sie effizient für die Verrichtung von Arbeit zu nutzen. Glucose wird also nicht in einem Schritt oxidiert, sondern in einer Abfolge von vielen Schritten. Jeder Schritt ist eine chemische Reaktion, die in der Regel von einem spezifischen Enzym katalysiert wird.

Die Übertragung eines Elektrons kann zusammen mit einem Proton erfolgen, was der Übertragung eines H-Atoms entspricht. Die Wasserstoff-Atome werden nicht direkt auf molekularen Sauerstoff übertragen, sondern über einen zwischengeschalteten Elektronenüberträger wie das Coenzym **Nicotinsäureamid-Adenin-Dinucleotid** (NAD^+ , → Abb. 9.1). Im Verlauf der Zellatmung fungiert das NAD^+ einerseits als Elektronenakzeptor, andererseits kann das reduzierte NAD^+ , also NADH , als Reduktionsmittel wirken. Dafür müssen die Reaktionspartner ein höheres Reduktionspotential als NAD^+/NADH haben.

Das Entfernen von zwei Wasserstoffatomen von einem Substrat wird von der **Dehydrogenase** katalysiert. Dabei werden zwei Elektronen und ein Atom auf ein NAD^+ übertragen, ein H^+ geht in Lösung:



Neben NAD^+ tritt auch das **Flavin-Adenin-Dinucleotid (FAD)** als Elektronenakzeptor auf. Dieses nimmt aber zwei Elektronen und zwei Protonen auf, wird also zu FADH_2 . Bei diesen Reaktionen wird noch kaum Energie freigesetzt, das Elektron behält etwa die gleiche potentielle Energie. Die gebildeten NADH und FADH_2 stellen also Energiequellen dar, die angezapft werden können, um ATP zu synthetisieren.

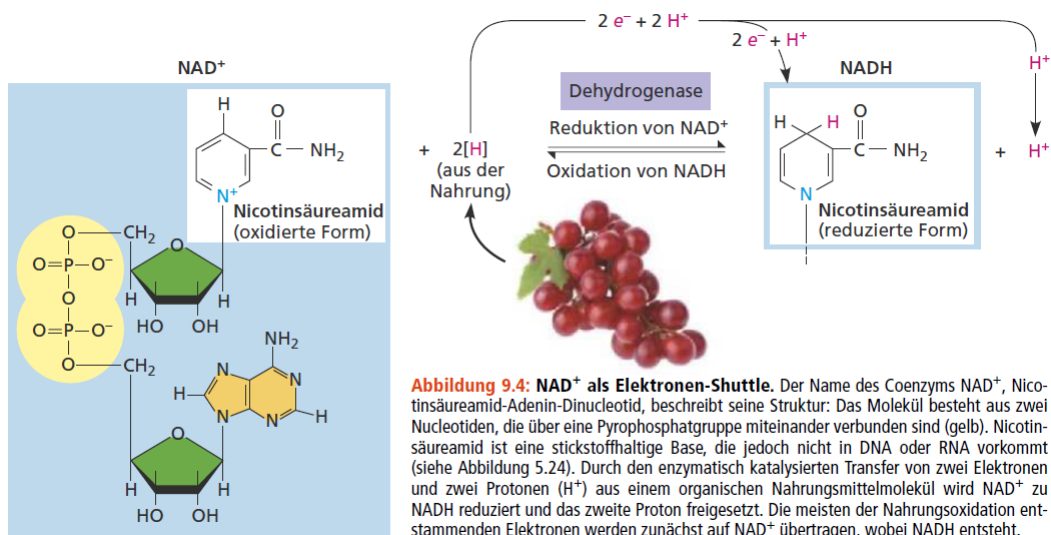


Abbildung 9.4: NAD⁺ als Elektronen-Shuttle. Der Name des Coenzym NAD⁺, Nicotinsäureamid-Adenin-Dinucleotid, beschreibt seine Struktur: Das Molekül besteht aus zwei Nucleotiden, die über eine Pyrophosphatgruppe miteinander verbunden sind (gelb). Nicotinsäureamid ist eine stickstoffhaltige Base, die jedoch nicht in DNA oder RNA vorkommt (siehe Abbildung 5.24). Durch den enzymatisch katalysierten Transfer von zwei Elektronen und zwei Protonen (H⁺) aus einem organischen Nahrungsmittelmolekül wird NAD⁺ zu NADH reduziert und das zweite Proton freigesetzt. Die meisten der Nahrungsoxidation entstammenden Elektronen werden zunächst auf NAD⁺ übertragen, wobei NADH entsteht.

Figure 9.1.: NAD⁺ als Elektronen-Shuttle

9.1.1. Die Elektronentransportkette

Eine Elektronentransportkette besteht aus einer Reihe von Molekülen (meist Proteinen) in der inneren Membran der Mitochondrien einer eukaryontischen Zelle. Bei aerob atmenden Prokaryonten befinden sich die entsprechenden Molekülkomplexe in der Plasmamembran.

Die Elektronen werden durch NADH und FADH₂ in die Elektronentransportkette eingespeist und in mehreren Schritten auf Sauerstoff übertragen, dabei entsteht Wasser. Anaerob atmende Prokaryonten verwenden statt Sauerstoff einen anderen terminalen Elektronenakzeptor. Dazwischen werden die Elektronen entlang der Elektronentransportkette in einer Serie von Redoxreaktionen von einem Zwischenträger zum nächsten weitergereicht. Die Redox-Potentiale der Zwischenträger nimmt dabei stetig zu. Dabei wird jeweils eine kleine Energiemenge abgegeben.

Zusammengefasst nehmen die Elektronen folgenden Weg "bergab":



9.2. Die Stadien der Zellatmung

Es folgt eine erste Übersicht über die drei Phasen der Zellatmung:

1. Glykolyse Sie erfolgt im Cytosol der Zelle und zerlegt Glucose in zwei Moleküle Pyruvat. Dabei findet folgender Umsatz statt:

- Zwei ATP werden verbraucht, vier ATP werden gebildet.
- Zwei NADH + H⁺ werden gebildet.

2. Pyruvatoxidation und Citratzyklus In Eukaryonten gelangt das Pyruvat über aktiven Transport in die Mitochondrien und wird dort zu Acetyl-Coenzym A oxidiert, das in den Citratzyklus eingeht. Dieser läuft in eukaryontischen Zellen in der Matrix der Mitochondrien ab, bei Prokaryonten im Cytosol. Während einem Durchlauf wird das Pyruvat zu drei Molekülen CO₂ und damit in seine energieärmste Form umgewandelt. Dabei findet pro Durchgang folgender Umsatz statt, für die Angabe pro Molekül Glucose müssen die jeweiligen Wert verdoppelt werden:

- Vier NADH (eins davon bei der Pyruvatoxidation) werden durch Reduktion von NAD⁺ gebildet.
- Ein FADH₂ wird durch Reduktion von FAD gebildet.

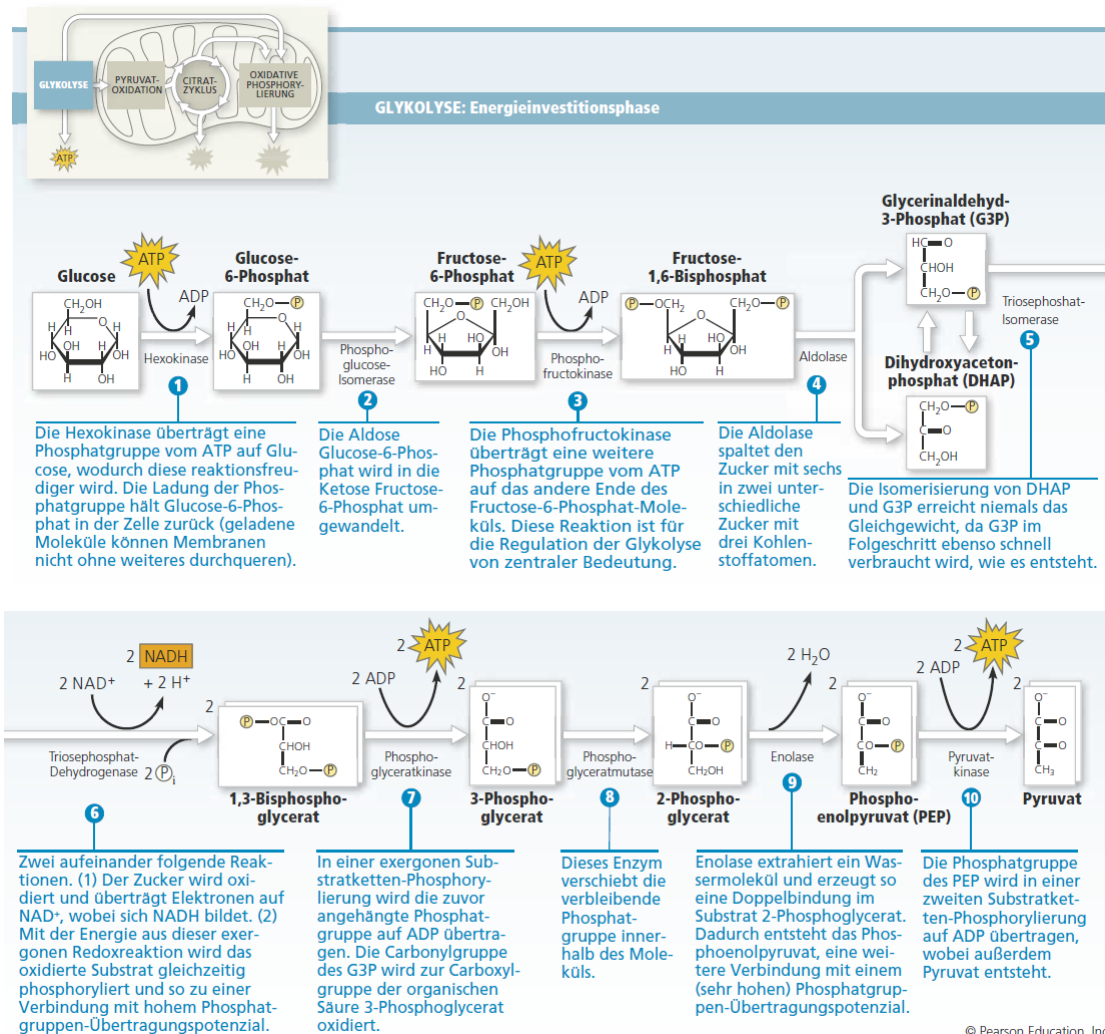
- Ein ATP (oder GTP) wird gebildet.
- Drei Moleküle CO₂ werden freigesetzt.

3. Oxidative Phosphorylierung Die Elektronentransportkette übernimmt die Elektronen aus den Abbauprodukten und gibt sie von einem Molekül der Kette zum nächsten weiter. Zuletzt werden die Elektronen auf molekularen Sauerstoff übertragen und zusammen mit Protonen bildet sich Wasser. Die bei jedem Schritt freigesetzte Energie wird in einer Form zwischengespeichert, die dem Mitochondrium (oder in der prokaryontischen Zelle) die ATP-Synthese ermöglicht. Dies ist die oxidative Phosphorylierung, weil die Phosphorylierung von ADP zu ATP durch die Redoxreaktionen der Elektronentransportkette angetrieben wird.

Insgesamt werden pro Molekül Glucose 32 Moleküle ATP generiert. Die Bildung des ATP während der Glykolyse und des Citratzyklus wird als **Substratketten-Phosphorylierung** bezeichnet. Dabei wird ein Phosphorylrest katalytisch von einem phosphorylierten Substratmolekül auf ADP übertragen. Substrate sind dabei Intermediate mit einem noch höheren Phosphatgruppen-Übertragungspotential als ATP.

9.2.1. Glykolyse

Die Glykolyse ist vom Sauerstoff unabhängig und läuft auch in seiner Abwesenheit ab. Ist jedoch Sauerstoff (oder ein anderer terminaler Elektronenakzeptor) vorhanden, kann die im Pyruvat und im NADH steckende chemische Energie weiter verfügbar gemacht werden. Der Ablauf der Glykolyse ist in folgender Abbildung detailliert dargestellt.



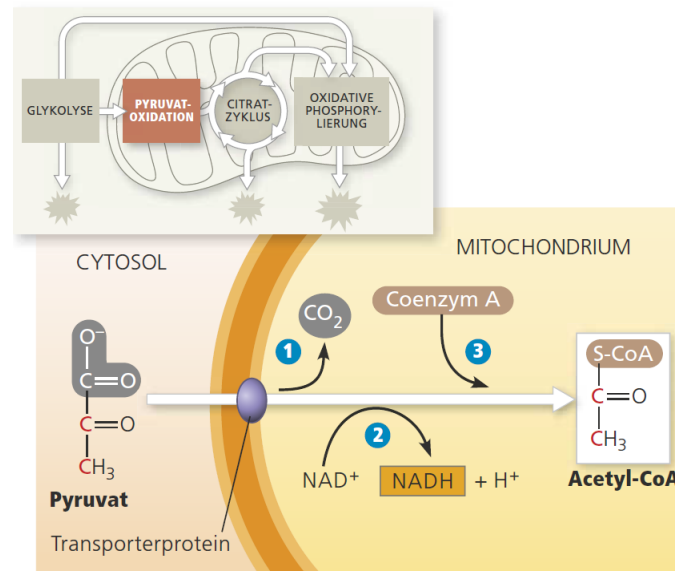


Figure 9.2.: Die drei Teilreaktionen der Pyruvatoxidation

9.2.2. Pyruvatoxidation

In Abbildung 9.2 sind die drei Teilreaktionen der Oxidation von Pyruvat zu Acetyl-Coenzym A (Acetyl-CoA) abgebildet:

1. Die Carboxylatgruppe ($-\text{COO}^-$) mit bereits vollständig oxidiertem Kohlenstoff-Atom wird als CO_2 abgespalten.
2. Das verbleibende Fragment wird zu Acetat (CH_3COO^-) oxidiert. Die frei werdenden Elektronen werden auf NAD^+ übertragen ($\text{NAD}^+ + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \longrightarrow \text{NADH} + \text{H}^+$).
3. Der Acetylrest wird mit einem Molekül Coenzym A (CoA) über eine relativ leicht lösbar Bindung über das Schwefelatom verknüpft. Es ist jetzt ein reaktionsfreudiger Thioester.

9.2.3. Der Citratzyklus (Citronensäurezyklus, Tricarbonsäurezyklus oder Krebs-Zyklus)

Der Zyklus oxidiert die Acetyl-Gruppe des Acetyl-CoA. Die Acetylgruppe kann verschiedenen organischen Nährstoffen entstammen, neben Kohlenhydraten wie Glucose auch Fetten und Aminosäuren.

Der genaue Ablauf ist in Abbildung 9.3 ersichtlich.

9.2.4. Oxidative Phosphorylierung

Während der Glykolyse und dem Citratzyklus wurde ATP durch Substratketten-Phosphorylierung generiert.

Die Atmungskette (Elektronentransportkette ist allgemeiner) besteht aus einer Anordnung von Molekülen, die in die innere Mitochondrienmembran (bei Prokaryonten in die Plasmamembran) eingebettet ist. Die meisten Komponenten sind Proteine, die in Multiproteinkomplexen vorliegen. An die Proteinkomplexe können **Prosthetische Gruppen** gebunden sein. Das sind Nicht-Protein-Komplexe und sind für die katalytische Wirkung bestimmter Enzyme unerlässlich.

Das Prinzip der Elektronentransportkette ist in Kapitel 9.1.1 bereits ausgeführt. Die einzelnen Elektronenüberträger wechseln zwischen ihren reduzierten und oxidierten Zuständen hin und her. Die ganze Atmungskette wird hier nicht erklärt, nur einige wichtige Punkte (\rightarrow Abb. 9.4):

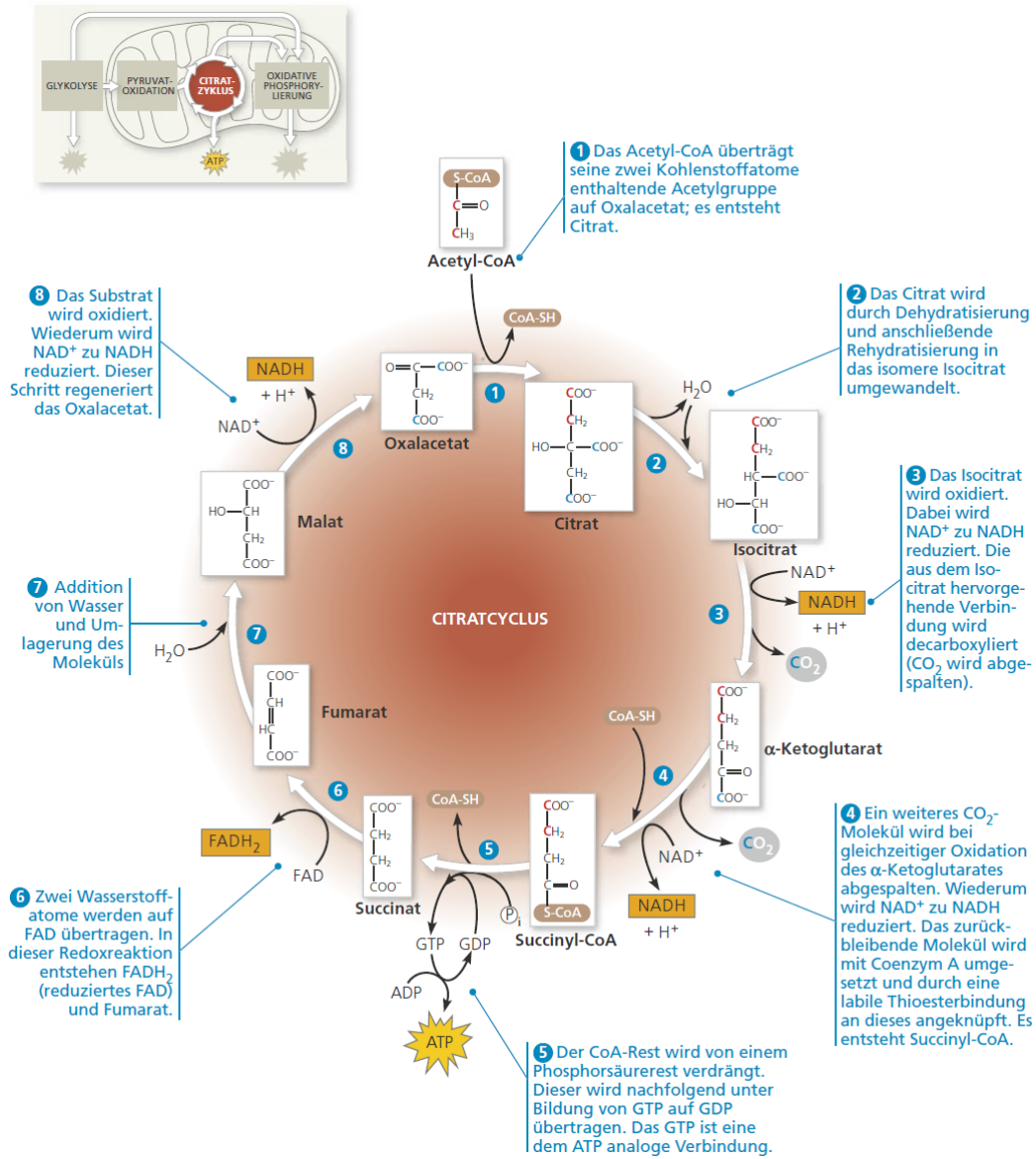


Figure 9.3.: Der Citratzyklus

- Nach der Übergabe eines Elektrons von **NADH** auf ein Flavaprotein, das seinen Namen von seiner prosthetischen Gruppe **Flavinmononucleotid (FMN)** erhielt, wird dieses Protein wieder oxidiert, indem es das Elektron an einen **Eisen-Schwefel-Komplex** ($\text{Fe} \cdot \text{S}$) überträgt.
- Als nächstes wird das Elektron an **Ubichinon** (auch Coenzym Q bezeichnet) weitergegeben. Es ist ein kleines hydrophobes Molekül, das sich innerhalb der Membran frei bewegen kann.
- Die meisten weiteren Redoxproteine zwischen Ubichinon und Sauerstoff sind Proteine aus der Gruppe der **Cytochrome** mit Häm als prosthetische Gruppe. Die Hämgruppe enthält ein Eisen-Ione als Elektronenakzeptor und -donor. Es unterscheidet sich von Hämoglobin vor allem darin, dass es Elektronen und nicht Sauerstoff-Atome bindet. Die verschiedenen Cytochrome in der Atmungskette unterscheiden sich vor allem in der Elektronenaffinität.
- Das letzte **Cytochrom Cyt α_3** übergibt seine Elektronen dem Sauerstoff, dem elektronegativsten Glied in der Kette. Jedes Sauerstoff-Atom nimmt zwei Elektronen und zwei Protonen aus der umgebenden Lösung auf, wird also reduziert und bildet so Wasser.

FADH_2 gibt seine Elektronen erst später in die Kette hinein weil das Redox-Potential von FAD/FADH_2 tiefer liegt als jenes von NAD^+/NADH .

Die chemiosmotische Kopplung

In die innere Membran eines Mitochondriums, die Thylakoidmembran eines Chloroplasten oder die Plasmamembran einer Prokaryontenzelle sind zahlreiche Proteinkomplexe der **ATP-Synthase** eingebaut.

Dieses Enzym synthetisiert ATP direkt aus ADP und freiem Hydrogenphosphat $\left(\begin{array}{c} \text{O} \\ || \\ \text{HO} - \text{P} - \text{O}^- \\ | \\ \text{O}^- \end{array} \right)$.

Die ATP-Synthase ist eine molekulare Maschine, die von einer Ionenmotorischen Kraft über der Membran angetrieben wird. Sie ist also auf die Kopplungsmembran angewiesen und kann in freier Lösung kein ATP synthetisieren.

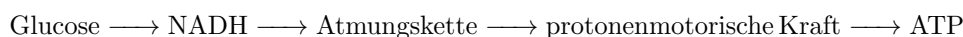
In Mitochondrien pumpen drei der vier Proteinkomplexe Protonen von einer Seite der Membran auf die andere. Dadurch erzeugen sie ein elektrochemisches Membranpotential, das sich aus dem Konzentrationsunterschied und dem elektrischen Potential zusammensetzt. Die Bereitstellung freier Enthalpie durch den Aufbau eines elektrochemischen Membranpotentials und ihre Nutzung für die ATP-Synthese wird als **chemiosmotische Kopplung** bezeichnet. Chemiosmotische Kopplung ist nicht auf Mitochondrien beschränkt sondern weit verbreitet, z.B. auch in Chloroplasten..

Die Funktionsweise der ATP-Synthase ist in Abbildung 9.5 und die chemiosmotische Kopplung in Abbildung 9.6 dargestellt und beschrieben.

In Mitochondrien wird die pH-Differenz zwischen Matrix und Intermembranraum weitgehend durch andere Mechanismen ausgeglichen, das Membranpotential aber nicht.

9.2.5. Bilanzierung der ATP-Produktion während der Zellatmung

Im Verlauf der Atmung fließt der grösste Teil der Energie in der folgenden Reihenfolge:



Aus folgenden drei Gründen können keine genauen Angaben über die Anzahl synthetisierter ATP-Moleküle gemacht werden:

- Die energieliefernden Redox-Reaktionen und die ADP-Phosphorylierung sind nicht unmittelbar aneinander gekoppelt. Die Verhältniszahlen müssen daher nicht unbedingt ganzzahlig sein:
 - Die ATP-Synthase benötigt etwa vier Protonen für die Synthese von einem Molekül ATP.
 - Ein NADH -Molekül bewirkt das Pumpen von zehn Protonen durch die innere Mitochondrienmembran. Es liefert also eine protonenmotorische Kraft für die Synthese von 2.5 Molekülen ATP.

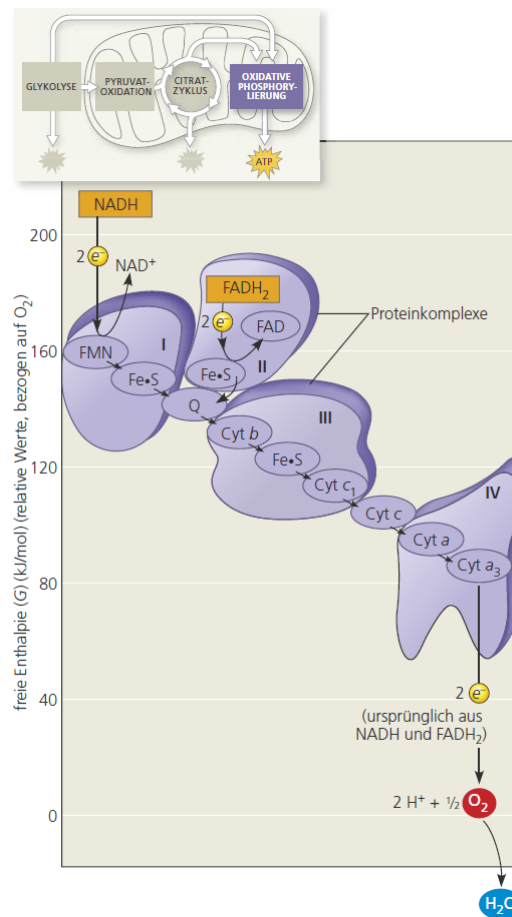


Figure 9.4.: Ablauf der oxidativen Phosphorylierung

- Ein FADH_2 -Molekül liefert eine Energie für die Synthese von 1.5 Molekülen ATP. Dementsprechend werden sechs Protonen durch die Membran gepumpt. Diese Zahlen berücksichtigen auch die Kosten des ATP-Transports aus der mitochondriellen Matrix ins Cytosol.
- Das während der Glykolyse im Cytosol gebildete NADH muss in das Mitochondrium importiert werden. Die innere Mitochondrienmembran ist für NADH undurchlässig. Die beiden Elektronen, die im Verlauf der Glykolyse auf NAD^+ übertragen wurden, werden je nach Zelltyp von unterschiedlichen Transportsystemen in das Mitochondrium überführt und fallen dort entweder in Form von NADH oder FADH_2 an. Falls die Elektronen dann als FADH_2 in die Atmungskette gelangen, werden letztlich auch von NADH nur 1.5 Moleküle ATP synthetisiert. Wenn das cytosolische NADH in der Matrix auch wieder als NADH auftaucht, sind es wie gewohnt 2.5.
- Die ATP-Ausbeute sinkt schon deswegen, weil die protonenmotorische Kraft noch für andere Arbeiten als nur die ATP-Synthese herangezogen wird.

Falls die ganze protonenmotorische Kraft für die ATP-Synthese verwendet werden kann, ist eine Maximalausbeute von 28 Molekülen ATP während der oxidativen Phosphorylierung möglich. Insgesamt sind also 32 Moleküle ATP möglich, die bei der Nutzung weniger effizienter Transportsysteme auf 30 reduziert werden.

	ATP	NADH	FADH_2	Total ATP
Glykolyse:	2	2	-	
Pyruvatoxidation und Citratzyklus:	2	8	2	
Total:	4	10	2	
Produzierte ATP in ox. Phosphorylierung:	(4)	25	3	32

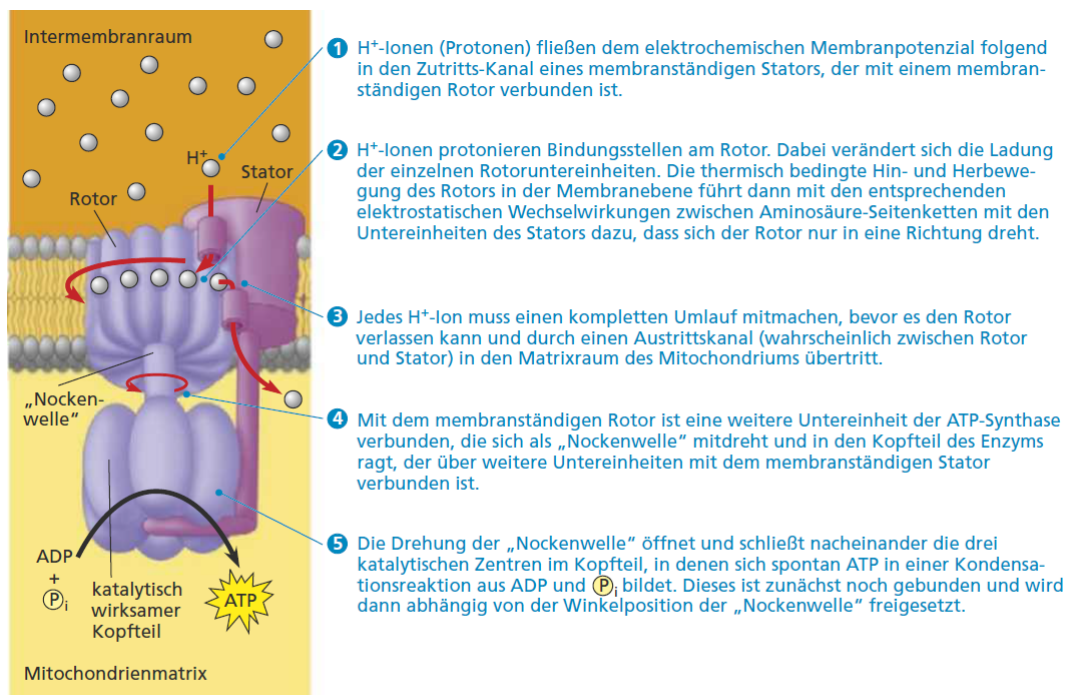


Abbildung 9.14: Die ATP-Synthase ist eine molekulare Maschine. Der Proteinkomplex der ATP-Synthase arbeitet wie ein Generator, der durch einen Ionenfluss angetrieben wird. ATP-Synthasen finden sich in prokaryontischen Zellen in der Plasmamembran, in eukaryontischen Zellen in der inneren Membran der Mitochondrien und in der Thylakoidmembran von Chloroplasten. ATP-Synthasen bestehen aus einer Reihe von Untereinheiten. Diese lassen sich räumlich in einen membranständigen Teil untergliedern und in einen, der daraus hervorragt. Mechanisch kann man eine Unterteilung in Rotor und Stator vornehmen und funktionell in einen Teil zum Elektronentransport und einen mit katalytischen Bindungsstellen. Die diesen verschiedenen Einteilungen zugeordneten Untereinheiten sind nicht unbedingt immer die gleichen.

Figure 9.5.: Die Funktionsweise der ATP-Synthase.

Die Zellatmung hat (ohne Herleitung) einen bemerkenswerten Wirkungsgrad von $>34\%$. Der Rest der Energie dissipiert als Wärme.

9.3. Gärung und anaerobe Atmung

Ohne den elektronegativen Sauerstoff am Ende der Elektronentransportkette würde die oxidative Phosphorylierung zum Erliegen kommen. Als Konsequenz könnte NADH nicht mehr oxidiert werden, worauf auch die Pyruvat-Oxidation zum Erliegen kommt. Organische Nährstoffe können aber durch die anaerobe Atmung und die Gärung (Fermentation) oxidiert werden, damit ATP synthetisiert werden kann.

Organismen, die **anaerobe Atmung** betreiben, haben eine Elektronentransportkette, einfach ohne Sauerstoff als terminalen Elektronenakzeptor. Sie können dafür z.B. das Sulfat-Anion (SO_4^{2-}) verwenden. Diese auf Sulfat basierende Kette baut ebenfalls eine protonenmotorische Kraft auf, die zur ATP-Produktion genutzt wird, jedoch anstelle von Wasser Schwefelwasserstoff (H_2S) erzeugt.

Bei der **Gärung** wird chemische Energie ohne Elektronentransportkette ausschliesslich durch die Glykolyse gewonnen. Dabei muss sichergestellt werden, dass NADH schnell regeneriert wird. Andere Elektronenakzeptoren kommen nicht infrage, weil die Schritte der Glykolyse ausnahmslos enzymatisch katalysiert, und die Enzyme auf NAD^+ als Coenzym angewiesen sind. Die Regeneration geschieht häufig durch Elektronenübertragung von NAD^+ auf Pyruvat oder Abkömmlinge davon. So werden bei der anaeroben Zellatmung zwei Moleküle ATP synthetisiert. Diese ATPs werden zudem etwa 100 Mal schneller geliefert als über die Atmungskette.

9.3.1. Verschiedene Gärungsformen

Die verschiedenen Gärungen unterscheiden sich hinsichtlich des aus dem Pyruvat gebildeten Endprodukt.

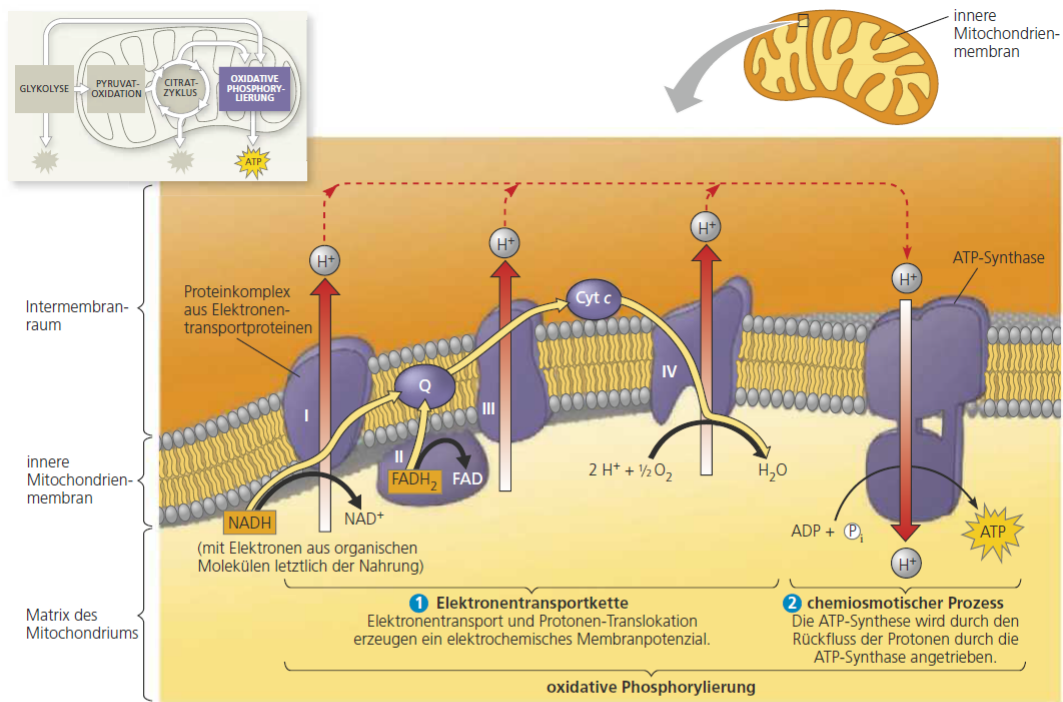


Abbildung 9.15: Atmungskette und ATP-Synthase sind durch chemiosmotische Kopplung miteinander verknüpft. ① NADH und FADH₂ übertragen die im Verlauf der Glykolyse und des Citratzyklus übernommenen Elektronen auf die in die innere Mitochondrienmembran eingebettete Elektronentransportkette. Die goldfarbenen Pfeile bezeichnen den Weg der Elektronen, die schließlich am Ende der Kette unter Bildung von Wasser auf molekularen Sauerstoff übertragen werden. Laut *Abbildung 9.13* lagern sich die meisten Bestandteile der Atmungskette zu vier Multiproteinkomplexen zusammen. Zwei Redoxüberträger, das Ubichinon (Coenzym Q) und das Cytochrom *c* (Cyt *c*), sind sehr mobil und vermitteln den Elektronentransport zwischen den Multiproteinkomplexen. Im Verlauf ihrer Redozyklen pumpen die Komplexe I, III und IV Protonen aus dem mitochondrialen Matrixraum in den Intermembranraum zwischen der inneren und äußeren Mitochondrienmembran. In Prokaryonten werden die Protonen durch die Plasmamembran nach außen gepumpt. FADH₂ speist seine Elektronen in Komplex II ein, daher werden durch die FADH₂-Oxidation weniger Protonen in den Intermembranraum gepumpt als durch die NADH-Oxidation. Die ursprünglich aus der Nahrung stammende Energie wird in eine protonenmotorische Kraft umgewandelt. ② Im Verlauf der chemiosmotischen Kopplung fließen die zuvor in Gegenrichtung gepumpten Protonen über den in die innere Mitochondrienmembran eingebetteten membranständigen Teil der ATP-Synthase zurück. Dieser Protonenfluss wird durch die ATP-Synthase zur Phosphorylierung von ADP durch Phosphat genutzt. Atmungskette und chemiosmotische Kopplung werden zusammen als oxidative Phosphorylierung bezeichnet.

Figure 9.6.: Die chemiosmotische Kopplung

Bei der **alkoholischen Gärung** (→ Abb. 9.7a) wird Pyruvat in zwei Schritten zu Ethanol umgesetzt:

1. CO₂ wird aus Pyruvat freigesetzt. Eine Decarboxylierung, bei der ausserdem Acetaldehyd $\left(\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_3\text{C}-\text{C}-\text{H} \end{array} \right)$ entsteht.
2. Acetaldehyd wird durch NADH zu Ethanol (CH₃CH₂OH) reduziert (NADH + CH₃C(O)H + H⁺ → NAD⁺ + CH₃CH₂OH). Das NAD⁺ wird dadurch regeneriert.

Im Verlauf der **Milchsäuregärung** (→ Abb. 9.7b) wird das Pyruvat ohne vorherige Decarboxylierung durch NADH zu Lactat reduziert, dem Endprodukt dieser Gärung. Menschliche Muskelzellen erzeugen ATP durch Milchsäuregärung, wenn Sauerstoff knapp ist. Das kommt z.B. vor, wenn am Anfang körperlicher Anstrengung der Zuckerkatabolismus schneller vonstatten geht, als das Blut Sauerstoff nachliefern kann.

Bei der Gärung werden also nur zwei Moleküle ATP generiert, 16 Mal weniger als bei der aeroben Atmung. Dafür ist die Glykolyse 100 Mal schneller, sodass in kurzer Zeit über die Gärung doch mehr ATP produziert werden kann als über die aerobe Atmung.

Obligate Anaerobier Sie führen nur eine Form der Gärung oder anaeroben Atmung durch und können in Gegenwart von Sauerstoff nicht überleben, da er für diese Lebewesen giftig ist.

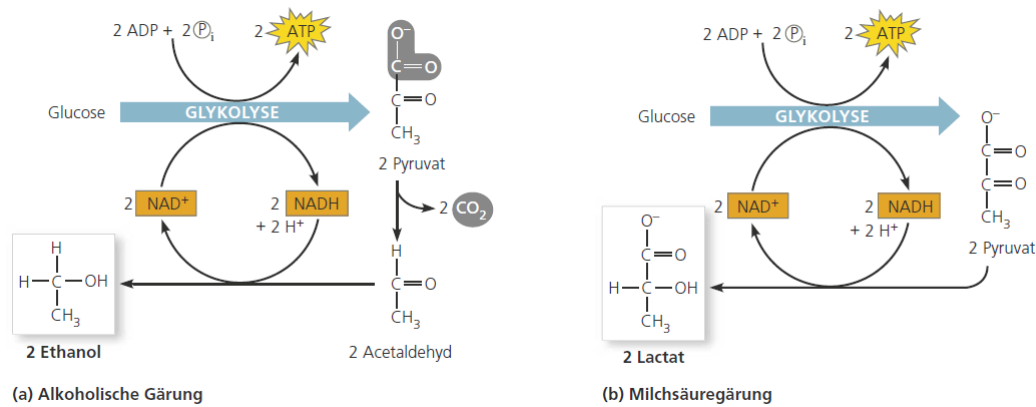


Figure 9.7.: Alkoholische Gärung und Milchsäuregärung

fakultative Anaerobier Sie nutzen je nach Verfügbarkeit von Sauerstoff entweder die Atmung oder die Gärung für ihre ATP-Synthese aus.

9.4. Die Glykolyse und der Citratzyklus als Schnittstellen

Im Rahmen der Zellatmung wird nicht nur Glucose, sondern auch Fette (lassen sich wegen stark reduzierten, wasserstoffreichen Verbindungen unter besonders hohem Energiegewinn oxidieren), Proteine, Rohrzucker und andere Polysaccharide verwertet. Meistens werden solche Verbindungen in Intermediate der Zellatmung umgewandelt und an der entsprechenden Stelle eingeführt. Bei Proteinen zum Beispiel werden die einzelnen Aminosäuren zuerst Desaminiert (also die Aminogruppe entfernt) und die Reste dann zu verschiedenen Intermediaten abgebaut und an der passenden Stelle in die Zellatmung gegeben (→ Abb. 9.8).

Stoffe können die Zellatmung aber auch wieder verlassen, um als Ausgangsstoffe für anabole Stoffwechselwege Verwendung zu finden.

9.4.1. Die Regulation der Zellatmung durch Rückkopplungsmechanismen

Die Zelle verschwendet in der Regel keine Energie, indem sie mehr von einer bestimmten Substanz herstellt, als sie benötigt. Falls es zum Beispiel ein akutes Überangebot einer bestimmten Aminosäure gibt, wird genau der Stoffwechselweg, der die betreffende Aminosäure aus einer Zwischenstufe des Citratzyklus synthetisiert, abgeschaltet. Der am häufigsten anzutreffende Mechanismus bei solchen Regulationsvorgängen ist die **Rückkopplungshemmung**: Das Endprodukt eines anabolen Stoffwechselweges hemmt ein Enzym, das einen frühen Schritt des Biosynthesewegs katalysiert.

Die Zelle steuert auch ihren Katabolismus. Als Beispiel sei hier die Phosphofruktokinase erwähnt, die die erste Reaktion katalysiert, die ein Substrat irreversibel in die Glykolyse einspeist. Dieses Enzym wird allosterisch reguliert, dabei durch ATP gehemmt und durch AMP stimuliert (→ Abb. 9.9):

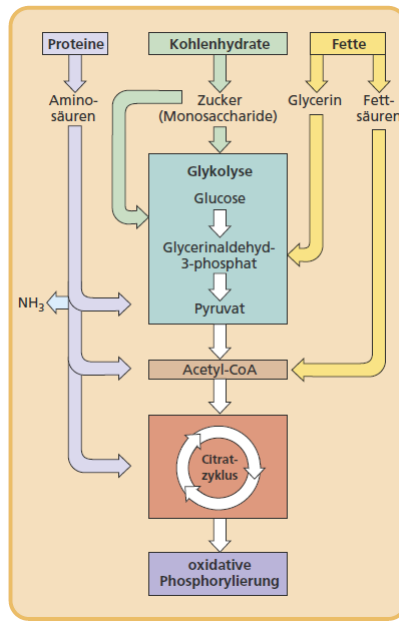


Figure 9.8.: Der Katabolismus verschiedener Nahrungsbestandteile.

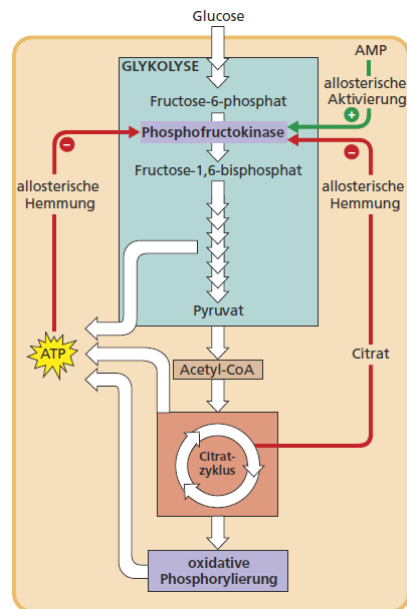


Figure 9.9.: Die Regulation der Zellatmung

10. Photosynthese

10.1. Einführung

Autotrophe Organismen Sie sind nicht auf andere Lebewesen angewiesen, weil sie ihre organischen Verbindungen selbst aus Kohlendioxid, Wasser und anderen anorganischen Stoffen (Mineralien) ihrer Umgebung herstellen können. Sie werden als Produzenten bezeichnet. Die meisten Pflanzen sind autotroph, genau genommen photoautotroph.

Heterotrophe Organismen Sie sind auf die Verbindungen angewiesen, die andere Lebewesen synthetisiert haben. Entweder konsumieren sie andere Lebewesen oder Überbleibsel abgestorbener Organismen. Fast alle heterotrophen Lebewesen sind des Weiteren vom Sauerstoff abhängig, der neben der eigentlichen Nahrung aus der Photosynthese hervorgeht.

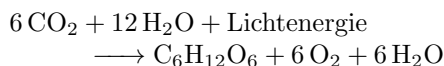
10.1.1. Chloroplasten

Die Enzyme der Photosynthese und andere funktionelle Moleküle sind in oder an Membranen lokalisiert, die es erlauben, die notwendigen chemischen Reaktionen in richtiger Reihenfolge und Topologie effizient ablaufen zu lassen.

Alle grünen Teile einer Pflanze (inkl. unreifer Früchte) enthalten Chloroplasten, hauptsächlich findet die Photosynthese aber in den Blättern statt. Chloroplasten befinden sich hauptsächlich in **Mesophyllzellen** der Blätter.

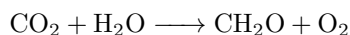
10.1.2. Der Weg einzelner Atome im Verlauf der Photosynthese

Die Bruttogleichung der Photosynthese lautet:



Um die Wechselbeziehung zwischen Photosynthese und Atmung zu vereinfachen wird hier Glucose angegeben, obwohl das eigentliche Produkt der Photosynthese ein Zucker mit drei C-Atomen ist, aus dem die Pflanze Glucose aufbauen kann. Zudem könnte noch das Wasser herausgekürzt werden. So wird gezeigt, dass zwölf Moleküle Wasser verbraucht werden, und sechs neue entstehen.

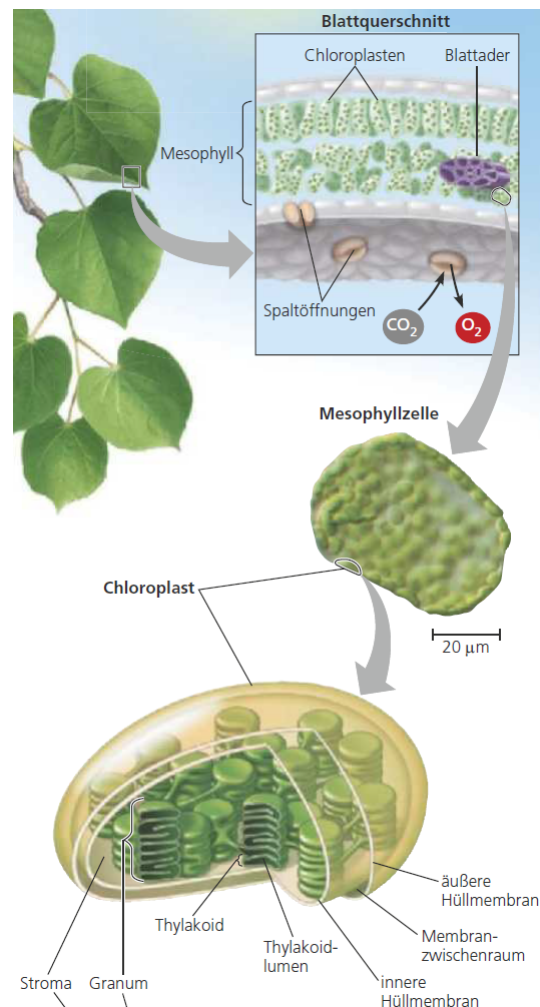
Gekürzt und durch den Faktor 6 geteilt erhält man



und bezeichnet CH_2O allgemein als Kohlenstoff.

Die Wasseroxidation

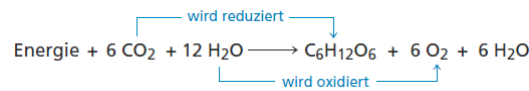
Die Chloroplasten zerlegen Wasser in Wasserstoff und Sauerstoff, um daraus Elektronen zu gewinnen. Alle photosynthetisch aktiven Organismen benötigen eine Quelle für Wasserstoff (der dann in den Zucker



eingebaut wird), die jedoch unterschiedlicher Natur sein kann. Zum Beispiel kann anstatt Wasser Schwefelwasserstoff (H_2S) verwendet werden. Als Nebenprodukt entsteht dann nicht Sauerstoff, sondern gelbe Schwefelkörnchen.

10.1.3. Photosynthese als Redox-Prozess

Bei der Zellatmung verlieren Elektronen potentielle Energie, indem sie auf das elektronegative Sauerstoff übertragen werden. In der Photosynthese wird Wasser oxidiert und gibt dabei Elektronen und Protonen ab (die zur Reduktion von CO_2 zu Zuckern verwendet werden), der Prozess von der Zellatmung wird also insofern umgekehrt:



Die Elektronen gewinnen dabei an potentieller Energie. Die Reaktion ist also endergon und die Energie wird vom Licht geliefert.

10.1.4. Übersicht über die Photosynthese

Die Photosynthese läuft in zwei Teilschritten ab:

- 1. Lichtreaktion** Es ist der Photo-Teil der Photosynthese. Die Lichtreaktion umfasst die Schritte der Photosynthese, die Lichtenergie in chemische Energie umwandeln. Wasser wird gespalten und dient als Quelle für zwei Elektronen und ein Proton, wobei beides auf **NADP⁺ (Nicotinsäureamidadenindinucleotidphosphat)** übertragen wird (wird also zu NADPH reduziert. NADP⁺

unterscheidet sich von NAD⁺ nur durch eine Phosphorylgruppe $\left(\begin{array}{c} \text{O} \\ || \\ -\text{P}-\text{O}^- \\ | \\ \text{O}^- \end{array} \right)$. Treibende Kraft

ist das vom Chlorophyll absorbierte Licht. Zudem liefert das Licht Energie zur Synthese von ATP aus ADP und Phosphat. Die Synthese folgt einem chemiosmotischen Mechanismus und wird **Photophosphorylierung** genannt. Zusammenfassend wird die Lichtenergie zunächst in NADPH und ATP umgewandelt. Die Lichtreaktion läuft in den Thylakoiden ab.

- 2. Calvin-Zyklus** Der Zyklus beginnt mit dem Einbau von Kohlendioxid aus der Luft in organische Moleküle, die sich bereits in den Chloroplasten befinden. Dieser Vorgang wird als **Kohlenstoff-fixierung** bezeichnet und benötigt als Energie das in der Lichtreaktion erzeugte ATP. Im Calvin-Zyklus werden dann Elektronen zugeführt, und damit den fixierten Kohlenstoff zu Kohlenhydrat reduziert. Das Reduktionsmittel ist NADPH. Der Calvin-Zyklus läuft im Stroma ab.

Der Calvin-Zyklus wird als Dunkelreaktion bezeichnet, weil kein Schritt direkt auf Lichtenergie angewiesen ist. Trotzdem läuft auch dieser Vorgang nur tagsüber ab, weil sonst der Nachschub der Substrate ausfallen würde und einige Enzyme im Licht reaktiv aktiviert werden. Die beiden Teilschritte laufen also koordiniert ab.

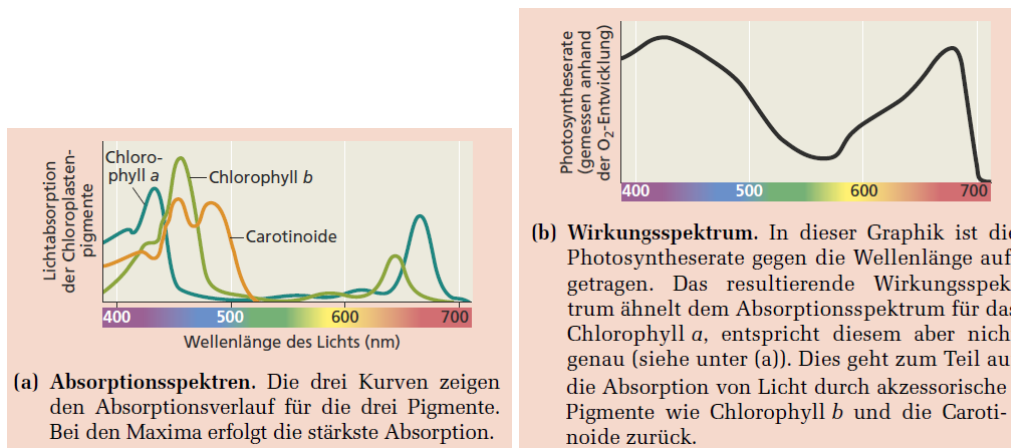
10.2. Die Lichtreaktion

10.2.1. Photosynthesepigmente / Die Lichtrezeptoren

Stoffe, die sichtbares Licht absorbieren, heißen Farbstoffe. Wenn sie fest, also unlöslich sind, werden sie auch als **Pigmente** bezeichnet. In Chloroplasten gibt es verschiedene Pigmente, wobei **Chlorophyll a**, sowie die akzessorischen Farbstoffe¹ **Chlorophyll b** und die **Carotinoide** die wichtigsten sind. In der folgenden Abbildung links sind die Absorptionsspektren der drei Chloroplasten-Pigmente abgebildet, rechts das Wirkungsspektrum².

¹Auch Hilfspigmente der Photoynthese bezeichnet. Sie unterstützen die Photosynthese durch die Absorption von Licht mit Wellenlängen, welches vom Chlorophyll a selbst nicht absorbiert werden kann.

²Das Wirkungsspektrum wird aufgenommen, indem isolierte Chloroplasten mit Licht verschiedener Farben beschienen werden, und dann die Photosyntheserate der Chloroplasten anhand einer Kenngröße wie die O_2 -Abgabe gemessen wird. Die Auftragung der Geschwindigkeit als Funktion der Wellenlänge wird als Wirkungsspektrum bezeichnet.



Chlorophyll *a* und Chlorophyll *b* sind eher grosse, komplexe Moleküle und unterscheiden sich nur in einer einzigen Gruppe (CH_3 beim Chlorophyll *a*, CHO beim Chlorophyll *b*).

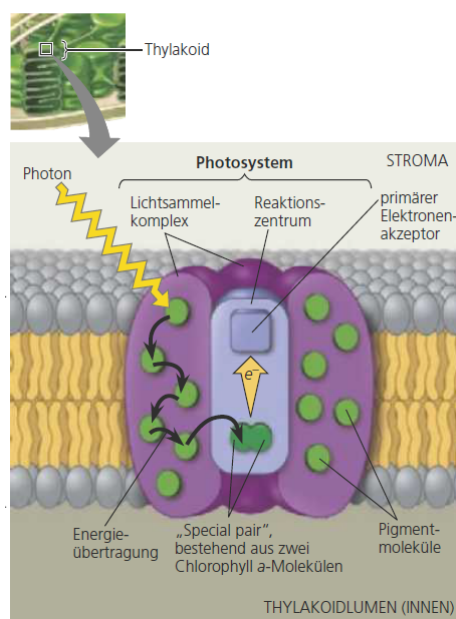
Carotinoide verfügen neben ihrer typischen Funktion als akzessorischen Farbstoff über eine als **Photoprotektion** bezeichnete Schutzwirkung: Diese Verbindungen absorbieren überschüssiges Licht und verteilen es als Wärme, da zu viel Licht Chlorophyll in einen stark angeregten, sehr reaktionsfähigen Zustand versetzt. Solche Moleküle gibt es anscheinend auch im menschlichen Auge.

10.2.2. Anregung von Chlorophyll durch Licht

Wenn ein Molekül ein Lichtquant (ein Photon) absorbiert, wird eines seiner Elektronen in ein anderes, energetisch höherwertiges Orbital überführt. Man sagt, das Molekül befindet sich im angeregten Zustand. Bei einer Absorption werden von dem Molekül nur die Photonen absorbiert, deren Energiegehalt genau der Energiedifferenz zwischen dem Grund- und dem angeregten Zustand entspricht. Moleküle besitzen mehrere angeregte Zustände. Deshalb absorbieren unterschiedliche Moleküle Licht mit verschiedenen Wellenlängen. Das Molekül verbleibt jeweils nur kurz im angeregten Zustand (weil dieser wie alle energiereiche Zustände instabil ist), fällt dann in den Grundzustand zurück und gibt dabei Wärme und ein energieärmeres (also langwelligeres) Photon ab. Dieses Phänomen wird als Fluoreszenz bezeichnet.

10.2.3. Photosysteme

Ein Photosystem besteht aus einem als Reaktionszentrum bezeichneten Proteinkomplex, der von mehreren Lichtsammelkomplexen umgeben ist:



Das Reaktionszentrum beinhaltet ein "spezielles" Paar aus zwei Chlorophyll a-Molekülen (speziell sind sie nur wegen ihrer anderen molekularen Umgebung) und ein Molekül, das Elektronen aufnehmen kann und dadurch reduziert wird - es ist der **primäre Elektronenakzeptor**. Jeder Lichtsammelkomplex setzt sich aus verschiedenen Farbstoffmolekülen zusammen, die an Proteine gebunden sind, wobei die Proteine das Absorptionsspektrum des jeweiligen Farbstoffs auch nochmals beeinflussen.

Wenn ein Farbstoffmolekül ein Photon absorbiert, wird die Energie innerhalb des Lichtsammelkomplexes von einem Farbstoffmolekül zum nächsten weitergeleitet, bis ein Reaktionszentrum erreicht ist. Die bevorzugte Stellung der speziellen Chlorophyll a-Molekülen erlaubt es ihnen, die Energie des absorbierten Lichts nicht nur zur Anregung, sondern zur Übertragung der Elektronen auf den Elektronenakzeptor zu nutzen. Hier findet die durch Licht bewirkte Ladungstrennung statt.

Die Thylakoidmembranen enthalten zwei Typen von Photosystemen, die bei den Lichtreaktionen der Photosynthese zusammenarbeiten und als Photosystem I (PS I) und Photosystem II (PS II) bezeichnet werden. Das PS II liegt in der Reaktionsfolge vor dem PS I, wurde aber später entdeckt. Die Reaktionszentren der Photosysteme werden nach der Wellenlänge des Absorptionsmaximums bezeichnet. Demnach heisst jenes des PS II P680, und jenes des PS I P700. Die Chlorophyll a-Moleküle sind übrigens identisch. Der Unterschied kommt durch die unterschiedlichen Proteinumgebungen zustande.

10.2.4. Der lineare Elektronenfluss

Der Mechanismus der Energieumwandlung von Lichtenergie zu chemischer Energie in Form von ATP und NADPH beruht auf dem Fluss von Elektronen durch die Photosysteme und wird als **linearer Elektronenfluss** bezeichnet. Die folgende Nummerierung bezieht sich auf Abbildung 10.1:

1. Dieser Teil wurde bereits beschrieben. Die Farbstoff-Moleküle absorbieren Lichtenergie wodurch ein Elektron angeregt wird. Sobald es in den Grundzustand zurückfällt, gibt es seine Energie einem Nachbarmolekül ab. Dieser Vorgang setzt sich fort, bis die beiden speziellen Chlorophyll a-Moleküle im Reaktionszentrum P680 erreicht sind. Auch diese Moleküle werden angeregt.
2. Das angeregte Elektron wird vom Reaktionszentrum P680* (um den angeregten Zustand anzuzeigen) auf den primären Elektronenakzeptor übertragen. Das Reaktionszentrum ist nun oxidiert (beide Moleküle) und wird mit P680⁺ bezeichnet.
3. Ein Enzym katalysiert die Spaltung eines Wassermoleküls in zwei Elektronen, zwei Protonen und ein Sauerstoffatom (die einzelnen Atome verbinden sich sofort zu elementarem Sauerstoff O₂). Die Elektronen werden nacheinander auf das oxidierte Paar P680⁺ übertragen. P680⁺ ist das stärkste bekannte biologische Oxidationsmittel. Dieses hohe Reduktionspotential ist die Triebkraft für die oxidative Spaltung von Wasser.
4. Jedes Elektron wird über eine Elektronentransportkette vom PS II zum PS I transportiert. Die Komponenten sind der Atmungskette ähnlich und besteht aus **Plastochinon** (PQ, homolog zu Ubichinon), einem **Cytochromkomplex** (Cytochrom b₆f) und **Plastocyanin** (PC, ein kupferhaltiges Protein).
5. Beim Durchgang der Elektronen durch den Cytochromkomplex werden Protonen über die Membran hinweg gepumpt und es entsteht eine protonenmotorische Kraft, die genau wie in Mitochondrien durch eine ATP-Synthase zur Synthese von ATP verwendet wird.
6. Beim PS I wird wie beim PS II Lichtenergie aufgefangen, wodurch schlussendlich das Reaktionszentrum P700 oxidiert wird. Das P700⁺ ist ein wirkungsvoller Elektronenakzeptor für die Elektronen, die vom PS I angeliefert werden.
7. Die vom primären Elektronenakzeptor des PS I aufgenommenen angeregten Elektronen werden über eine Elektronentransportkette auf **Ferredoxin (Fd)** übertragen. Dabei wird keine protonenmotorische Kraft aufgebaut.
8. Das Enzym **Ferredoxin-NADP⁺-Oxidoreduktase** katalysiert die Reoxidation des reduzierten Ferredoxins durch NADP⁺ und zu NADPH. zwei Elektronen werden aus der Elektronentransportkette übernommen und ein Proton aus dem Stroma. Das Redoxpotential von NADPH ist

höher als jenes von Wasser und wird dadurch im Calvin-Zyklus ein besserer Reaktionspartner sein als das reaktionsträge Wasser.

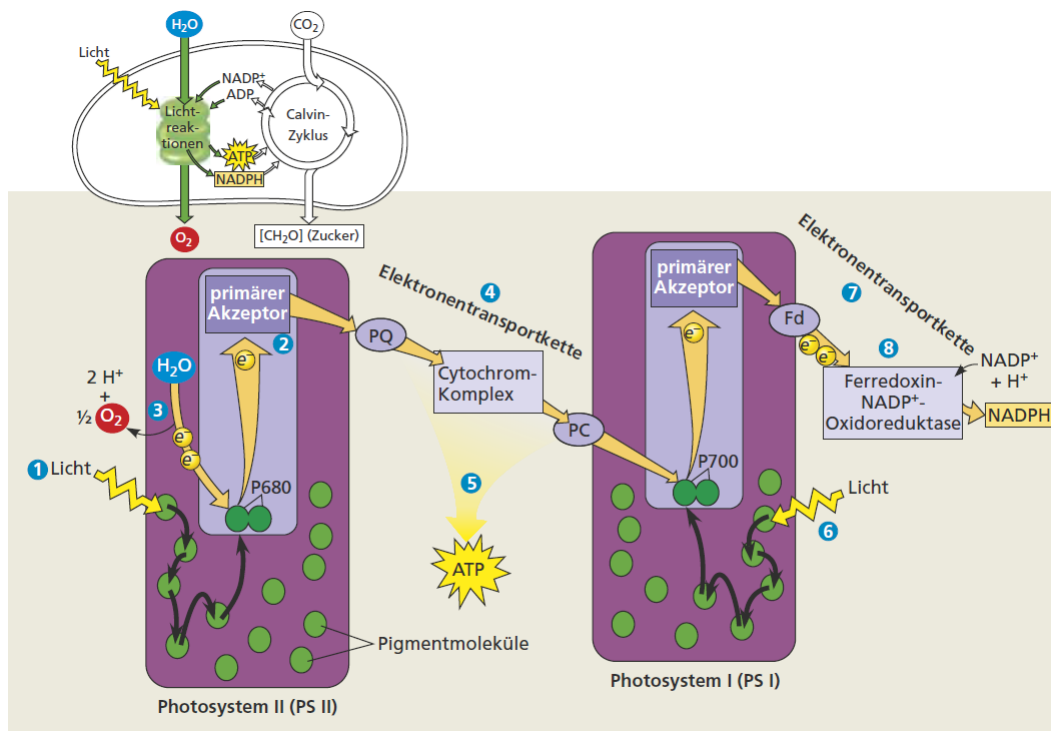
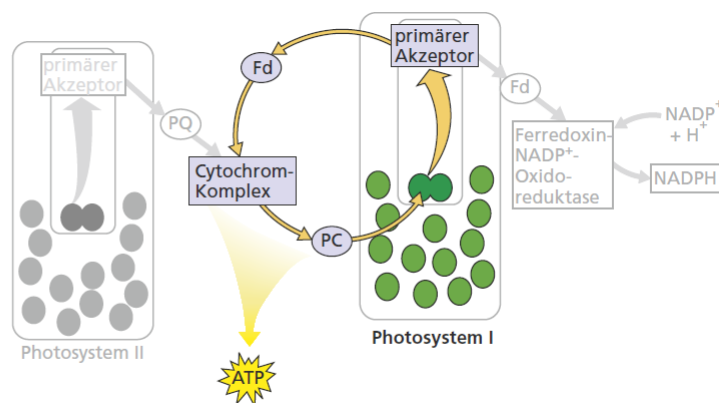


Figure 10.1.: Linearer Elektronenfluss

10.2.5. Der zyklische Elektronenfluss

Unter bestimmten Umständen können die durch Lichtabsorption angeregten Elektronen auch einen alternativen Weg einschlagen, den **zyklischen Elektronenfluss**. Dabei ist nur PS I aktiv, PS II nicht, und es wird weder NADPH synthetisiert, noch Sauerstoff freigesetzt, dafür ATP produziert. Es gibt photosynthetisch aktive Bakterien, die nur über ein PS I verfügen. Der zyklische Elektronenfluss kann aber auch bei Organismen auftreten, die über beide Photosysteme verfügen. Der zyklische Elektronenfluss hat auch eine photoprotektive Wirkung.

Abbildung 10.15: Der zyklische Elektronenfluss. Durch Licht angeregte Elektronen von Photosystem I (PS I) können auch vom Ferredoxin (Fd) über den Cytochrom-Komplex und das Plastocyanin (PC) zu den Chlorophyllen des Reaktionszentrums zurückbefördert werden. Diese Variante erhöht die Photophosphorylierungsrate, jedoch ohne NADPH zu erzeugen. Zu Vergleichszwecken ist der lineare Elektronenfluss als Halbtton im Schema abgebildet. Die zwei dargestellten Ferredoxin-Moleküle sind in Wirklichkeit identisch mit dem terminalen Elektronenzwischenträger in der Elektronentransportkette von Photosystem I.



10.2.6. Der chemiosmotische Prozess in Chloroplasten und Mitochondrien im Vergleich

Chloroplasten und Mitochondrien produzieren ATP auf grundsätzlich gleiche Art und Weise - durch chemiosmotische Kopplung. Dabei sind einige Redoxkomponenten und die ATP-Synthasen sehr ähnlich. Unterschiedlich ist hauptsächlich die Herkunft der Elektronen.

Es folgt noch ein Abbildung als Übersicht über die Lichtreaktion. Alle gezeigten Moleküle sind in vielfachen Kopien vorhanden. Speziell erwähnenswert ist zudem, dass sowohl NADPH als auch ATP auf der dem Stroma zugewandten Seite der Membran gebildet werden, also dort, wo der Calvin-Zyklus abläuft und sie benötigt werden.

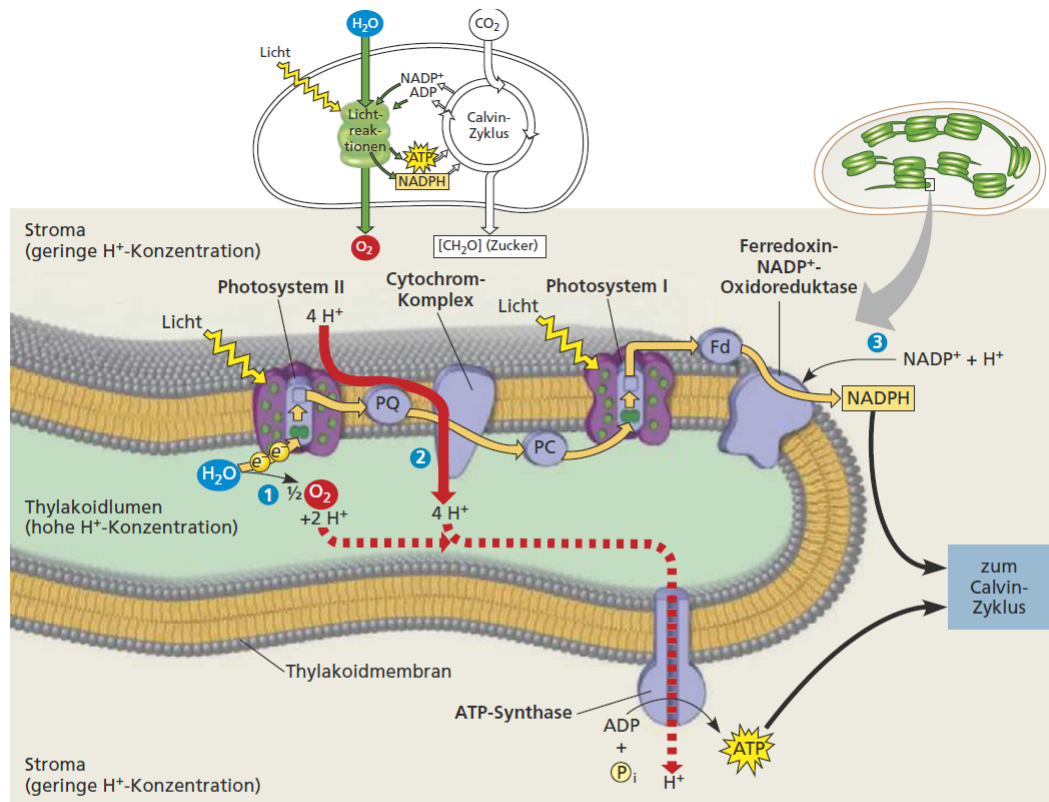


Abbildung 10.17: Lichtreaktionen und chemiosmotischer Prozess: die strukturelle Organisation der Thylakoidmembran. Das Schema zeigt ein aktuelles Modell der Thylakoidmembran. Die goldfarbenen Pfeile zeichnen den linearen Elektronenfluss nach, der schon kurz in *Abbildung 10.13* gezeigt wurde. Der Wechsel der Elektronen von einem Redoxpartner zum nächsten ist an das Pumpen von Protonen aus dem Stroma in das Thylakoidlumen gekoppelt. Dabei wird Energie in Form einer protonenmotorischen Kraft gespeichert. Wenigstens drei Schritte im Verlauf der Lichtreaktionen tragen zum Aufbau dieser Kraft bei: **1** Wasser wird auf der dem Thylakoidlumen zugewandten Seite der Membran vom Photosystem II gespalten. **2** Bei der Übertragung von Elektronen durch den mobilen Zwischenträger Plastochinon (PQ) werden Protonen aus dem Stroma aufgenommen, die bei der Weitergabe der Elektronen von PQ auf den Cytochrom-Komplex in das Thylakoidlumen wieder abgegeben werden. **3** Bei der Reduktion von NADP^+ wird zusammen mit den beiden Elektronen ein Proton aus dem Stroma aufgenommen. Wie in *Abbildung 10.16* gezeigt wird, werden also insgesamt Protonen aus dem Stroma in das Thylakoidlumen gepumpt. Der Protonenfluss aus dem Thylakoidlumen zurück in das Stroma treibt die ATP-Synthase an. Diese lichtgetriebenen Reaktionen führen zur Speicherung von chemischer Energie in Form von NADPH und ATP, die in den Calvin-Zyklus eingespeist werden.

10.3. Der Calvin-Zyklus

Im Verlauf des Calvin-Zyklus wird **Glycerinaldehyd-3-Phosphat (G3P)** aus CO_2 aufgebaut, wobei ATP als Energiequelle und NADPH als Reduktionsmittel verwendet werden. Für die Synthese eines Moleküls G3P muss der Zyklus dreimal durchlaufen werden, jedes Mal unter Fixierung eines weiteren CO_2 -Moleküls. Der Calvin-Zyklus kann in drei Phasen unterteilt werden, die auch in *Abbildung 10.3* ersichtlich sind.

Phase 1: Kohlenstofffixierung Jedes CO_2 -Molekül wird durch Addition einzeln an die Pentose **Ribulose-1,5-Bisphosphat (RuBP)** angelagert. Das Enzym, das diesen Schritt katalysiert, ist **Ribulose-**

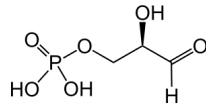


Figure 10.2.: Glycerinaldehyd-3-Phosphat (G3P)

1,5-Bisphosphat-Carboxylase/Oxygenase (RubisCO). Dieses Enzym besitzt neben der Carboxylase-Aktivität die Aktivität der Oxygenase, kann also neben CO_2 auch O_2 an RuBP anlagern. RubisCO ist für die effektive Arbeit auf die Aktivierung des aktiven Zentrums durch Licht angewiesen. Das Intermediat der Addition ist so instabil, dass es sofort zu zwei Molekülen 3-Phosphoglycerat zerfällt.

Phase 2: Reduktion Jedes einzelne 3-Phosphoglyceratmolekül wird durch ATP zum 1,3-Bisphosphoglycerat phosphoryliert. Dieses wird durch NADPH unter gleichzeitiger teilweiser Dephosphorylierung zu G3P umgesetzt.

Bei der Fixierung von drei Molekülen CO_2 entstehen sechs Moleküle G3P. Eines davon stellt der Netto-Gewinn dar und verlässt den Zyklus. Die anderen fünf Moleküle müssen eingesetzt werden, um drei RuBP-Moleküle zu regenerieren, die wieder als CO_2 -Akzeptor benötigt werden.

Phase 3: Regeneration von RuBP Dieser Prozess wird nicht mehr so genau beschrieben, jedenfalls werden dabei weitere drei ATP verbraucht.

Für die Nettosynthese eines G3P-Moleküls verbraucht der Calvin-Zyklus insgesamt neun Moleküle ATP und sechs Moleküle NADPH, die beide von der Lichtreaktion regeneriert werden. Das vom Calvin-Zyklus abgezweigte G3P ist Baustein für viele Stoffwechselwege, in denen Stärke, Saccharose und andere organische Verbindungen synthetisiert werden, einschliesslich Glucose und anderer Kohlenhydrate.

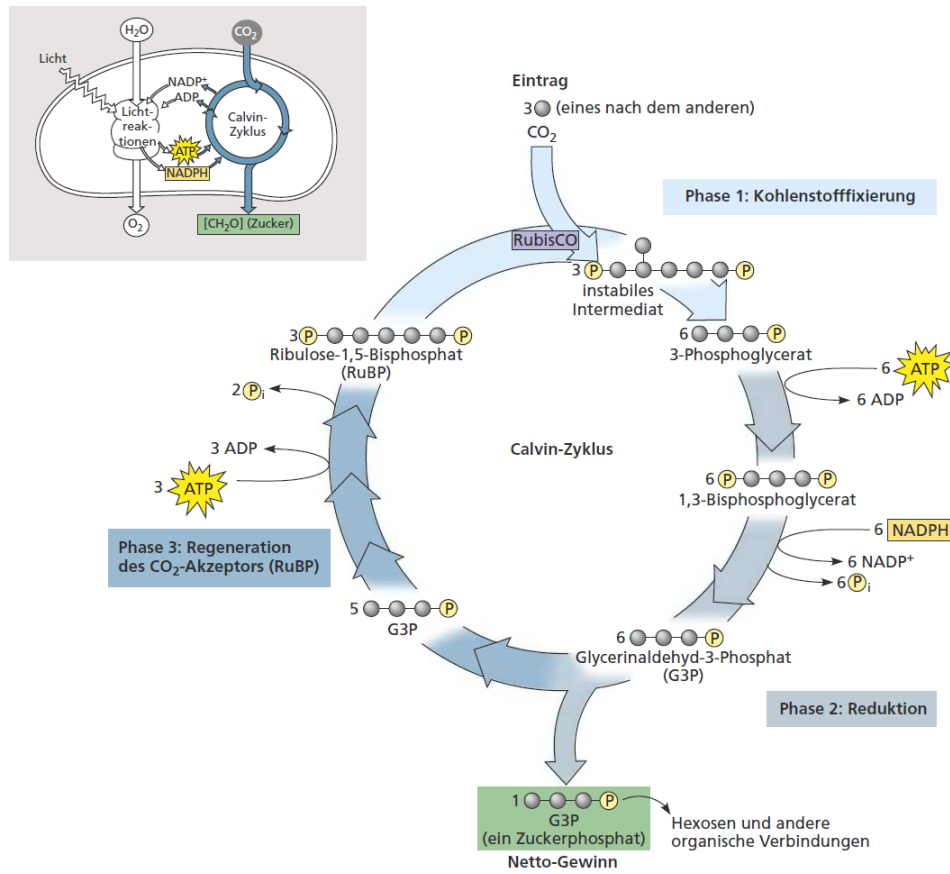


Figure 10.3.: Calvin-Zyklus

11. Der Zellzyklus

11.1. Begriffserklärungen

Genom Die Gesamtheit der DNA einer Zelle, die die genetische Information trägt. Die Genome von Prokaryonten bestehen oft aus einem einzelnen langen DNA-Molekül, das häufig ringförmig ist. Eukaryontische Genome bestehen in der Regel aus mehreren linearen DNA-Molekülen.

Chromatin Komplex aus DNA und Proteinen.

Somatische Zellen Alle Körperzellen mit Ausnahme der Fortpflanzungszellen. Jene des Menschen enthalten 46 Chromosomen. Jede Art ist durch eine bestimmte Anzahl von Chromosomen charakterisiert.

Gameten Fortpflanzungszellen.

Zygote Sie entsteht aus der Verschmelzung zweier Gameten.

Schwesterchromatiden Jedes verdoppelte Chromosom besteht aus zwei Schwesterchromatiden. Sie enthalten identische DNA-Moleküle und sind zunächst über ihre gesamte Länge durch spezielle Proteinkomplexe (**Kohäsine**) miteinander verbunden. In der kondensierten Form weist das replizierte Chromosom eine Einschnürung am Centromer auf.

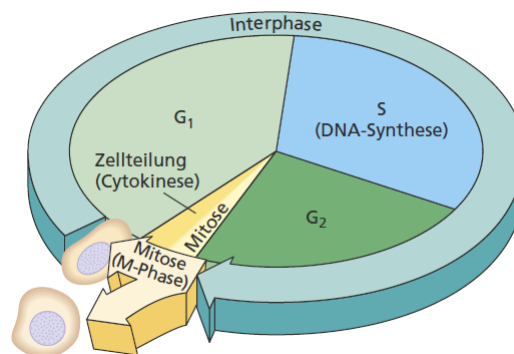
Mitose Kernteilung (Karyokinese).

Meiose Reifeteilung, Reduktionsteilung. Sie findet nur in den Keimdrüsen statt (Beim Mann in den Hoden, bei der Frau in den Eierstöcken).

Cytokinese Teilung des Cytoplasmas.

11.2. Die Phasen des Zellzyklus

In der folgenden Abbildung sind die Phasen des Zellzyklus dargestellt:



Die Zellen verbringen oft bis zu 90% ihres Lebens in der Interphase, während der die Zelle wächst, indem sie neue Proteine und neue cytoplasmatische Organellen wie Mitochondrien erzeugt und das ER erweitert. Der Interphase steht die M-Phase gegenüber, die sowohl die Mitose wie auch die anschließende Cytokinese beinhaltet. Es gibt folgende Phasen:

G1-Phase Die Zelle wächst.

S-Phase Die DNA wird verdoppelt, während die Zelle weiter wächst.

G2-Phase Die Zelle trifft Vorbereitungen für die anschließende Teilung.

M-Phase Die Zelle teilt sich.

Die mitotische Teilung wird in den Abbildungen 11.1 und 11.2 genauer betrachtet.

11.2.1. Der Spindelapparat

Der Spindelapparat besteht aus Mikrotubulifasern (inkl. Asteren), weiteren damit assoziierten Proteinen und den Centrosomen. Beim Zusammenbau der Mitosespindel werden andere Mikrotubuli aus Teilen des Cytoskeletts teilweise abgebaut.

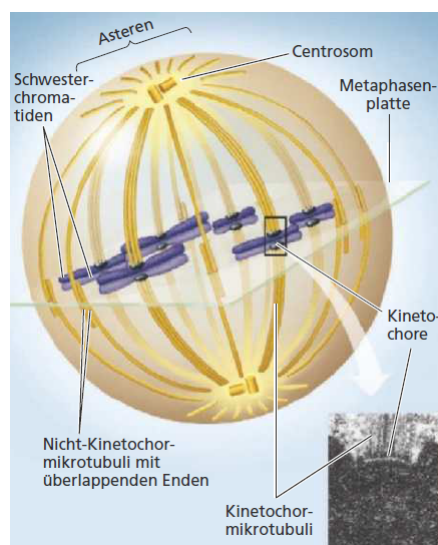
In tierischen Zellen beginnt der Zusammenbau der Mikrotubuli am Centrosom (siehe Kapitel 6.7.1). Das Centriolenpaar im Inneren des Centrosoms wird für die Zellteilung nicht gebraucht. Wenn es zerstört wird, bildet sich der Spindelapparat trotzdem, auch besitzen Pflanzenzellen gar keine Centriolen, wohl aber einen Spindelapparat. Das Centrosom wird während der Interphase repliziert und beide bleiben in der Nähe des Zellkerns zusammen. In der Prophase und Prometaphase trennen sie sich voneinander und die Mikrotubuli wachsen aus ihnen heraus. Kurze Mikrotubuli (sogenannte **Astralmikrotubuli** oder **Asteren**) weisen sternförmig nach aussen.

Jedes der beiden Schwesterchromatiden verfügt über ein eigenes, aus verschiedenen Proteinen gebildetes **Kinetochor**; Es ist die Anhaftungsstelle der Spindelfasern. Sie enthalten sowohl DNA-bindende wie auch Mikrotubuli-bindende Proteine. Nach der Bindung der Spindel am Kinetochor beginnt ein Tauziehen, das die Chromosomen in eine Ebene zwischen den Polen, die sogenannte **Metaphasenplatte**, bringt. Damit befindet sich die Zelle in der Metaphase. Die Astralmikrotubuli haben sich zwischenzeitlich auch verlängert und treten mit der Plasmamembran in Kontakt. Der Spindelapparat ist vollständig ausgebildet.

Die Anaphase setzt ein, wenn die Kohäsine durch das Enzym Separase abgebaut werden und sich die Schwesterchromatide trennen. Für die Bewegung der Schwesterchromatiden gibt es zwei Mechanismen, die beide genutzt werden, aber je nach Zelltyp in unterschiedlichem Ausmass.

- Motorproteine am Kinetochor transportieren die Chromosomen entlang der Mikrotubuli zu den Spindelpolen.
- Motorproteine an den Spindelpolen ziehen an den Mikrotubuli und holen damit die Chromosomen zu den Spindelpolen.

Die Mikrotubuli, die nicht an den Kinetochoren verankert sind, überlappen sich in der Mitte und schieben sich mithilfe von Motorproteinen auseinander, sodass sich die gesamte Zelle streckt. Dabei wird ATP verbraucht.



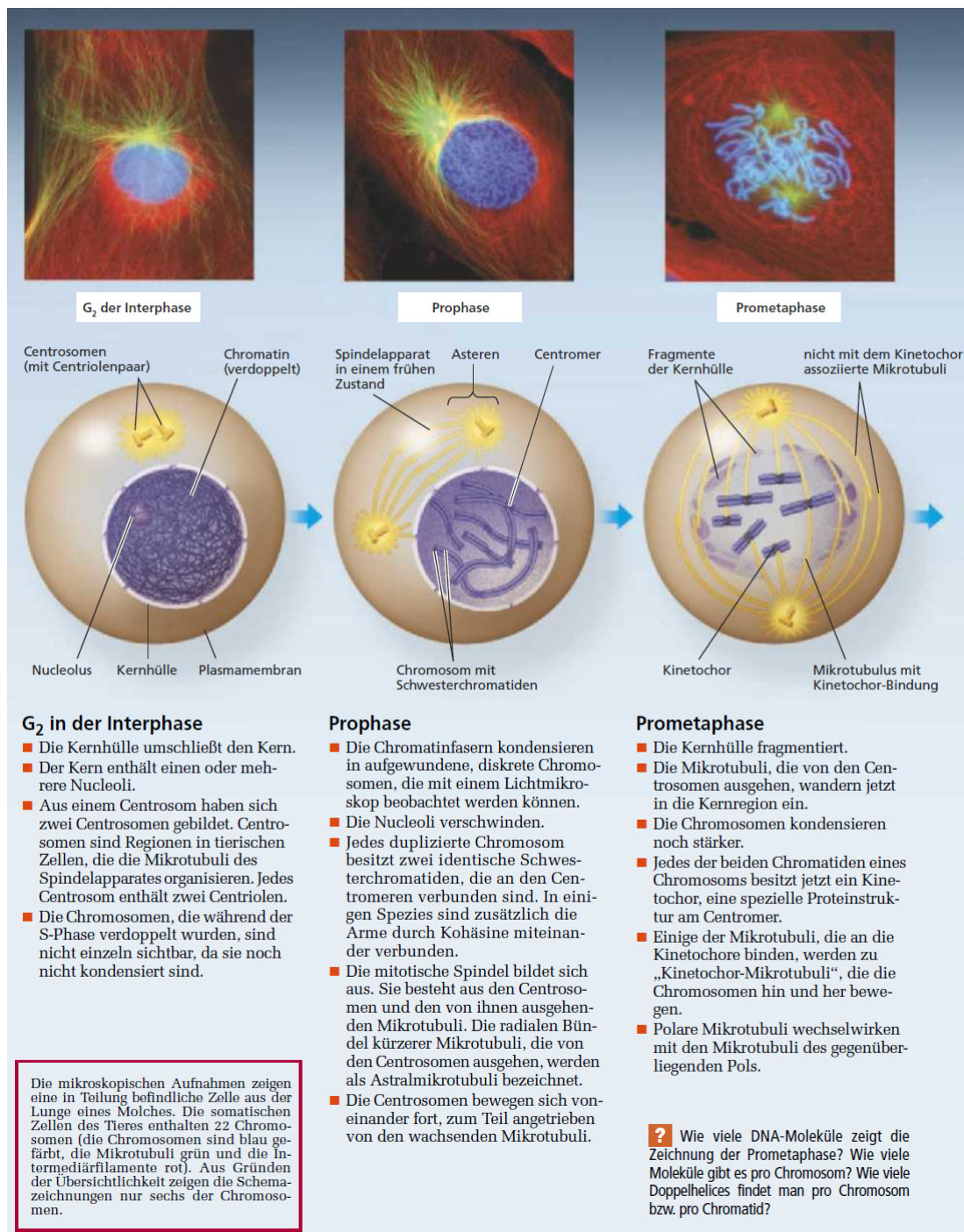


Figure 11.1.: Mitotische Teilung

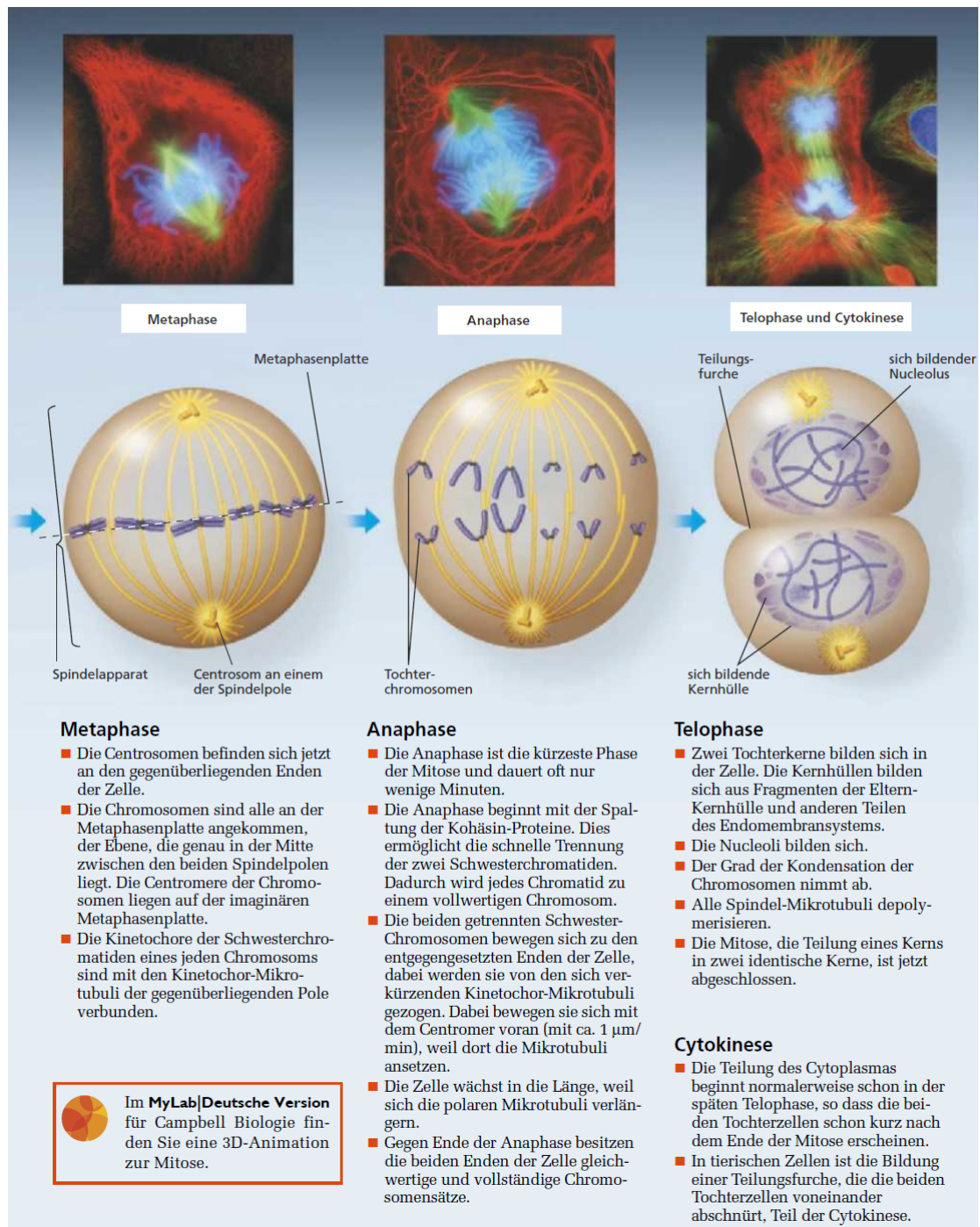


Figure 11.2.: Fortsetzung der mitotischen Teilung

11.2.2. Die Cytokinese

Bei tierischen Zellen erfolgt die Teilung durch eine Furchung. Als erstes Anzeichen erscheint dabei eine Teilungsfurche in der Ebene der vorherigen Metaphasenplatte. Die Teilungsfurche besitzt auf der cytoplasmatischen Seite einen kontraktiven Ring, der aus Actinfilamenten und damit assoziierten Myosinmolekülen besteht. Die Myosinmoleküle sind die eigentlichen Motorproteine, die die Kontraktion bewirken.

Bei Pflanzenzellen werden vom Golgi-Apparat Vesikel mit Zellwandmaterial in die Zellmitte transportiert. Dort verschmelzen sie miteinander zu einer sogenannten Zellplatte, die sich schliesslich mit der Plasmamembran verbindet.

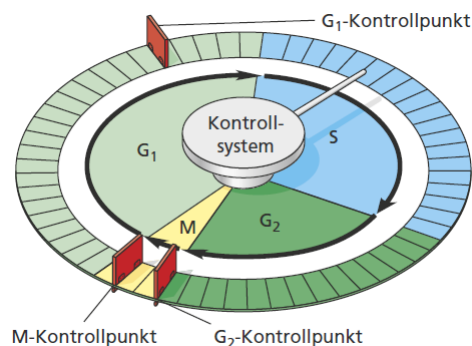
11.2.3. Zweiteilung bei Bakterien

Wenn sich einzellige Eukaryonten wie Amöben oder Hefezellen teilen, spricht man von einer **Zweiteilung**, die aber auch durch Mitose vonstatten geht. Bei Bakterien hingegen gibt es keine Mitose.

Die Zellteilung bei Bakterien beginnt mit der DNA-Replikation an einer bestimmten Stelle des Chromosoms (dem Replikationsursprung (Origin of Replication, ORI). Mit der Verdopplung der DNA entstehen zwei Replikationsursprünge, die beide in gegenüberliegende Enden wandern. Dabei verlängert sich auch die Zelle, sodass sie nach Abschluss der Replikation ungefähr ihre doppelte Grösse erreicht. Dann stülpt sich die Plasmamembran ein und neues Zellwandmaterial wird angelagert. Bakterien haben keinen Spindelapparat und nicht einmal Mikrotubuli. Es ist noch nicht ganz klar, wie sich Bakterienchromosomen bewegen und wie sie festgehalten werden.

11.3. Das molekulare Kontrollsystem des eukaryontischen Zellzyklus

Die Zellzyklussteuerung läuft grundsätzlich selbstständig ab und folgt ihrem eigenen Takt. Es gibt aber bestimmte Kontrollpunkte (Checkpoints), an denen der Zyklus durch interne und externe Signale reguliert wird. Es sind Momente, an denen Signale darüber entscheiden können, ob der Zyklus weiter abläuft oder angehalten wird. Die Hauptkontrollpunkte liegen in der G₁-, der G₂- und der M-Phase:



11.3.1. Die Zellzyklus-Uhr: Cycline und Cyclinabhängige Kinasen (Cdk)

Die Regulatoren, die den Zellzyklus steuern, sind hauptsächlich Proteine, die man in zwei Gruppen einteilen kann:

- **Proteinkinasen**, die bekanntlich andere Proteine phosphorylieren und damit deren Aktivität entweder fördern oder hemmen. Sie sind in konstanter Konzentration vorhanden, aber für sich selbst inaktiv. Man spricht auch von **Cyclinabhängigen Kinasen (Cdk)**.
- **Cycline** verbinden sich mit Proteinkinasen und führen damit zu deren Aktivierung. Ihre Konzentration unterliegt zyklischen Schwankungen (deshalb der Name).

In Abbildung 11.3 wird als Beispiel die Aktivität von MPF (mitosis-promoting factor) dargestellt. Die Cyclinmoleküle häufen sich während der G₂-Phase immer weiter an und verbinden sich mit den CdkS.

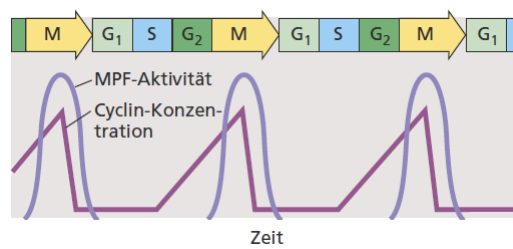


Figure 11.3.: Veränderungen in MPF-Aktivität und Cyclinkonzentration im Verlauf des Zellzyklus.

Die so entstandenen MPF-Komplexe phosphorylieren Zielproteine, die letztlich die Mitose einleiten. Der MPF kann auch der Mitose nachgeschaltete, andere Kinasen aktivieren. Solche Aktivierungen können z.B. zur Fragmentierung der Zellkernhülle während der Prometaphase führen, die Kondensation der Chromosomen steuern und Bildung des Spindelapparates in der Prophase veranlassen. Während der Anaphase leitet der MPF seine Inaktivierung ein, indem er den Abbau seines Cyclinpartners initiiert.

11.3.2. Zellzyklus-Regulation an den Kontrollpunkten durch innere und äussere Signale

Im Allgemeinen halten tierische Zellen den Zellzyklus durch eingebaute Stoppsignale an den Kontrollpunkten an, bis ein Weiter-Signal das Stoppsignal aufhebt. Diese Signale werden innerhalb der Zelle durch Signaltransduktion vermittelt. Interne Überwachungsmechanismen teilen der Zelle mittels Signalisierung mit, ob alle für den nächsten Schritt notwendigen Vorgänge abgeschlossen sind.

Der G₁-Kontrollpunkt (Restriktionspunkt) ist für viele Zellen der wichtigste, weil hier entschieden wird, ob sich die Zelle teilt (sie ein Weiter-Signal erhält), oder ob sie in die als G₀-Phase bezeichneten Zustand übergeht und sie sich nicht teilt (Weiter-Signal fällt aus). Es ist durchaus möglich, vom G₀-Zustand wieder in die G₁-Phase einzusteigen. Dies wird durch äussere Signale wie Wachstumsfaktoren ausgelöst.

Tatsächlich teilen sich die meisten Säugetierzellen auch bei ansonsten optimalen Teilungsbedingungen nur dann, wenn ein entsprechender Wachstumsfaktor zugesetzt wird. Wachstumsfaktoren sind Proteine, die von einer Zelle sezerniert werden und andere Zellen zur Teilung anregen. Verschiedene Zellen reagieren nur auf bestimmte Wachstumsfaktoren. Ein solcher Wachstumsfaktor für Fibroblasten ist der Thrombocyten-Wachstumsfaktor PDGF. Er wird von Thrombocyten hergestellt und freigesetzt. Fibroblasten bilden eine Form des Bindegewebes und tragen PDGF-Rezeptoren aus der Gruppe der RTKs in ihrer Plasmamembran. Bei einer Verletzung setzen die am Wundverschluss beteiligten Blutplättchen den Wachstumsfaktor frei. Die Bindung eines PDGF-Moleküls veranlasst dann die Zelle zur Überschreitung des G₁-Checkpoints und sie teilt sich. Es führt zur Bildung von neuem Gewebe und damit zur Heilung der Wunde.

Kontakthemmung

Bei der Kontakthemmung wird die Teilung von Zellen eingestellt, wenn eine bestimmte Populationsdichte erreicht ist. So vermehren sich Zellen nur so lange, bis sich eine lückenlose einlagige Zellschicht auf einer Unterlage gebildet hat. Solche Zellen tragen Proteine an ihrer Oberfläche, die bei der Berührung mit einem entsprechenden Protein der Nachbarzelle ein Signal auslösen, um die Teilung einzustellen. Die Hemmung bleibt auch in Anwesenheit eines Wachstumsfaktors bestehen.

Verankerungsabhängigkeit der Zellteilung

Die meisten Tierzellen sind von einer Verankerung abhängig. Um sich teilen zu können, müssen sie an einem Substrat (Oberfläche einer Kulturschale, extrazelluläre Matrix etc.) verankert sein. Die Signale der Verankerung werden wie bei der Kontakthemmung durch Proteine an der Plasmamembran ausgelöst

und an das Kontrollsystem des Zellzyklus weitergeleitet. Auch dies ist also ein Mechanismus zur Verhinderung einer Vermehrung von Zellen über eine optimale Populationsdichte hinaus oder wenn sie ihre angestammten Gewebe verlassen.

11.3.3. Der Verlust der Zellzyklus-Kontrolle bei Krebszellen

Krebszellen lassen sich durch folgende Eigenschaften charakterisieren:

- Krebszellen ignorieren die normalen Signale, die den Zellzyklus steuern. Sie teilen sich unkontrolliert und dringen in andere Gewebe vor. Sie sprechen weder auf die Teilungshemmung durch Populationsdichte an, noch auf die Verankerungsabhängigkeit.
- Sie teilen sich auch dann weiter, wenn die Wachstumsfaktoren verbraucht sind. Entweder können sie einen Wachstumsfaktor selbst herstellen, die Signaltransduktion ist fehlerhaft, oder die Zellzyklussteuerung versagt (z.B. beim Ausfall einer Hemmung).
- Krebszellen stellen ihre Teilung an einem beliebigen Punkt im Zellzyklus ein und nicht, wenn sie einen der normalen Kontrollpunkte erreichen.
- Sie können sich in Kultur unbegrenzt weiter teilen, solange ausreichend Nährstoffe vorhanden sind, während sich normale Zellen nach einer bestimmten Zahl von Teilungen nicht mehr vermehren (z.B. teilen sich die meisten Säugetierzellen in Kultur nur ca. 20-50 Mal). Krebszellen sind damit potentiell unsterblich.
- Krebszellen können auch eine abweichende Chromosomenzahl aufweisen, wobei unklar ist, ob dies eine Ursache oder Folge der Transformation ist.
- Ihr Stoffwechsel kann beeinträchtigt sein, sodass sie ihre normalen Funktionen nicht mehr ausführen können.

In allen Fällen gründet das anormale Verhalten auf eine Mutation von einem oder mehreren Genen, deren exprimierte Proteine am Zellzyklus beteiligt und fehlerhaft sind.

Die Veränderung einer einzelnen Zelle zu einer Krebszelle wird als **Transformation** bezeichnet. Häufig werden solche Zellen vom Immunsystem erkannt und vernichtet. Wenn nicht, können sie sich vermehren und einen Tumor bilden. Verbleiben sie an ihrem Ursprungsort, wird der Tumor als **gutartig** bezeichnet. Sie können operativ entfernt werden. **Bösartige** Tumore verbreiten sich so weit, dass sie die Funktion eines oder mehrerer lebenswichtiger Organe beeinträchtigen. Das betroffene Individuum leidet unter Krebs.

Verbreitung von Krebszellen

Veränderungen an der Zelloberfläche führen dazu, dass bösartige Zellen den Kontakt zu ihren Nachbarzellen im gesunden Gewebe und zur extrazellulären Matrix verlieren. Dies erlaubt es ihnen, in umliegende Gewebe einzuwandern oder sich mit dem Blutkreislauf oder Lymphgewebe in ganz andere Bereiche des Körpers vorzudringen (Metastasenbildung).

Sie können auch Botenstoffe freisetzen, die zur Bildung neuer Blutgefäße führen (Angiogenese), die in den Tumor hineinwachsen und ihn mit Nährstoffen versorgen. Auch über diese Gefäße können sich Zellen im Körper verteilen und Metastasen bilden.

Bekämpfung von Krebszellen

Bestrahlung Ein örtlich begrenzter Tumor kann häufig mit einer Strahlenbehandlung bekämpft werden, die die DNA der Zellen beschädigt und so zum Zelltod führt. Diese Schädigung betrifft Krebszellen stärker, weil sie sich ständig teilen.

Chemotherapie Zur Bekämpfung von metastatisierenden Tumoren wird häufig eine Chemotherapie eingesetzt. Diese cytotoxischen Chemotherapeutika wird über den Blutstrom verteilt und erreicht so den gesamten Körper. Chemotherapeutika greifen oft an bestimmten Stellen in den Zellzyklus ein und verhindern so eine Zellteilung. Sie greifen auch Zellen von gesundem Gewebe an und haben darum schwere Nebenwirkungen.

Part III.

Genetik

12. Die Meiose

12.1. Begriffserklärungen

Locus Die Lage eines Gens auf dem Chromosom.

Maternale Vererbung Die mitochondriale DNA (mtDNA) wird ausschliesslich über die Eizelle der Mutter vererbt.

Ungeschlechtliche Vermehrung Organismen, die sich ungeschlechtlich vermehren, bringen genetisch identische Nachkommen hervor (Ausnahme: Zufällige Mutationen). Eine Ansammlung genetisch identischer Lebewesen, die aus einem Ursprungsorganismus hervorgegangen sind, bezeichnet man als **Klon**. Einzellige Eukaryonten können sich durch mitotische Teilung ungeschlechtlich vermehren. Auch einige vielzellige Organismen besitzen die Möglichkeit zur ungeschlechtlichen Vermehrung.

Karyogramm Das Bild, das sich ergibt, wenn man Chromosomen nach ihrer Grösse paarweise anordnet.

Karyotyp Die chromosomale Konstitution.

Homologe Chromosomen Sie enthalten die gleichen Gene in der gleichen Abfolge. Sie erhalten in einem Karyogramm dieselbe Nummer.

Geschlechtschromosomen Gonosomen, Heterosomen. So wird das X- und Y-Chromosom bezeichnet, wobei das Geschlecht genau genommen vom Y-Chromosom bestimmt wird. Nur kleine Bereiche von X- und Y-Chromosom sind homolog. Eine unbefruchtete Eizelle trägt immer ein X-Chromosom, während bei einem Spermium die Wahrscheinlichkeit bei je 50% liegt. Die restlichen, paarweise vorhandenen Chromosomen bezeichnet man als **Autosomen**.

Haploider Chromosomensatz Die für jede Art typische Anzahl nicht-homologer Chromosomen. Sie wird mit dem Buchstaben n symbolisiert. Beim Menschen ist $n = 23$.

Diploider Chromosomensatz Diploide Zellen enthalten $2n$ Chromosomen: Einen maternalen (mütterlichen) und einen paternalen (väterlichen) Chromosomensatz.

Bei Tieren vollzieht sich die Meiose nur in den primären Geschlechtsorganen, den Keimdrüsen (Hoden und Eierstöcke).

12.2. Die verschiedenen Lebenszyklen bei der geschlechtlichen Fortpflanzung

Je nach Organismus gibt es verschiedene Lebenszyklen und Generationenwechsel:

Menschen und die meisten Tiere Die Gameten sind die einzigen haploiden Zellformen. Die Meiose läuft in den Vorläuferzellen der Gameten ab, die sich in den Keimdrüsen (**Gonaden**) befinden. Vor der Befruchtung teilen sich die Gameten nicht nochmals. Die Zygote durchläuft nach der Befruchtung viele Mitosen und erzeugt so einen vielzelligen, diploiden Organismus.

Höhere Pflanzen und einige Algen Hier betrachtet man einen regelrechten **Generationswechsel**, in dem sich vielzellige haploide und diploide Generationen innerhalb einer Art abwechseln. Der wesentliche Unterschied zu den Tieren ist das Auftreten einer vielzelligen haploiden Phase.

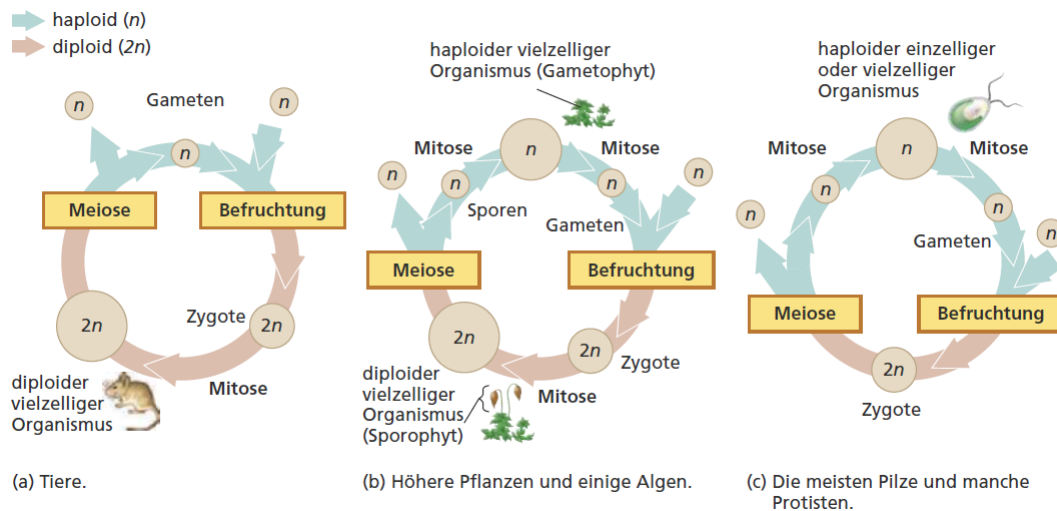
Der **Sporophyt** bildet das vielzellige, diploide Stadium. Durch Meiose entstehen am Sporophyten haploide Zellen, die **Sporen**. Eine Spore fusioniert nicht mit einer anderen haploiden Spore, sondern

teilt sich mitotisch und bildet damit einen vielzelligen, haploiden Organismus, den **Gametophyten**. Die Gameten werden durch Mitose aus den Zellen des Gametophyten gebildet.

Aus der Verschmelzung zweier haploider Gameten entsteht eine diploide Zygote, aus der wieder ein Sporophyt hervorgeht. Damit wechseln sich haploide und diploide Generationen ab, was den Begriff Generationenwechsel rechtfertigt.

Die eigentliche Pflanze ist dabei in der Regel der Sporophyt und der Gametophyt eher ein Zellhaufen.

Manche Protisten, die meisten Pilze, einige Algen Nachdem die Gameten zu einer diploiden Zygote verschmolzen sind, kommt es umgehend wieder zu einer Meiose, ohne dass ein Stadium mit vielzelligen, diploiden Nachkommen zu finden ist. Die Produkte der Meiose sind also schlussendlich haploide Zellen, die durch Mitosen entweder einzellige oder vielzellige haploide Organismen bilden.



Abhängig vom jeweiligen Lebenszyklus können sich also sowohl haploide, wie auch diploide Zellen mitotisch teilen. Andererseits sind nur diploide Zellen in der Lage, sich meiotisch zu teilen.

12.3. Der Ablauf der Meiose und die Unterschiede zur Mitose

In den Abbildungen 12.1 und 12.2 sind die Stadien der Meiose beschrieben.

Im Verlauf der ersten meiotischen Teilung kommt es zu drei Ereignissen, die nur bei dieser Art der Zellteilung auftreten:

Synapsis und Crossing-over (→ Abb. 12.3) Während der Prophase I paaren sich die replizierten homologen 2-Chromatidenchromosomen hochpräzise (Genort zu Genort) und werden dabei durch spezifische Proteine (**Kohäsine**) im **synaptonemalen Komplex** nicht-kovalent zusammengehalten. Der Vorgang der Homologenpaarung wird als **Synapsis** bezeichnet und tritt normalerweise bei mitotischen Teilungen nicht auf. Während der Synapsis kommt es zu einer Umlagerung zwischen den Chromatiden des synaptonemalen Komplexes: Ein Rekombinationsvorgang, der **Crossing-over** genannt wird. Bei Schwesterchromatiden bleibt dieser Vorgang ohne Folgen, bei Nicht-Schwesterchromatiden führt es dagegen zu einer Neukombination der Allele.

Nach der Auflösung des synaptonemalen Komplexes in der späten Prophase I werden die beiden rekombinanten Homologen leicht auseinandergezogen, bleiben jedoch im Bereich einer X-förmigen Überkreuzungsstelle verbunden, dem sogenannten **Chiasma**. Die ursprünglichen Schwesterchromatiden dürfen nun nicht mehr als solche bezeichnet werden.

Meistens gibt es mehrere (durchschnittlich 2-3) Crossing-over pro homologes Chromosom. Tatsächlich muss es mindestens eines geben, damit die Homologenpaare während der Metaphase I verbunden bleiben.

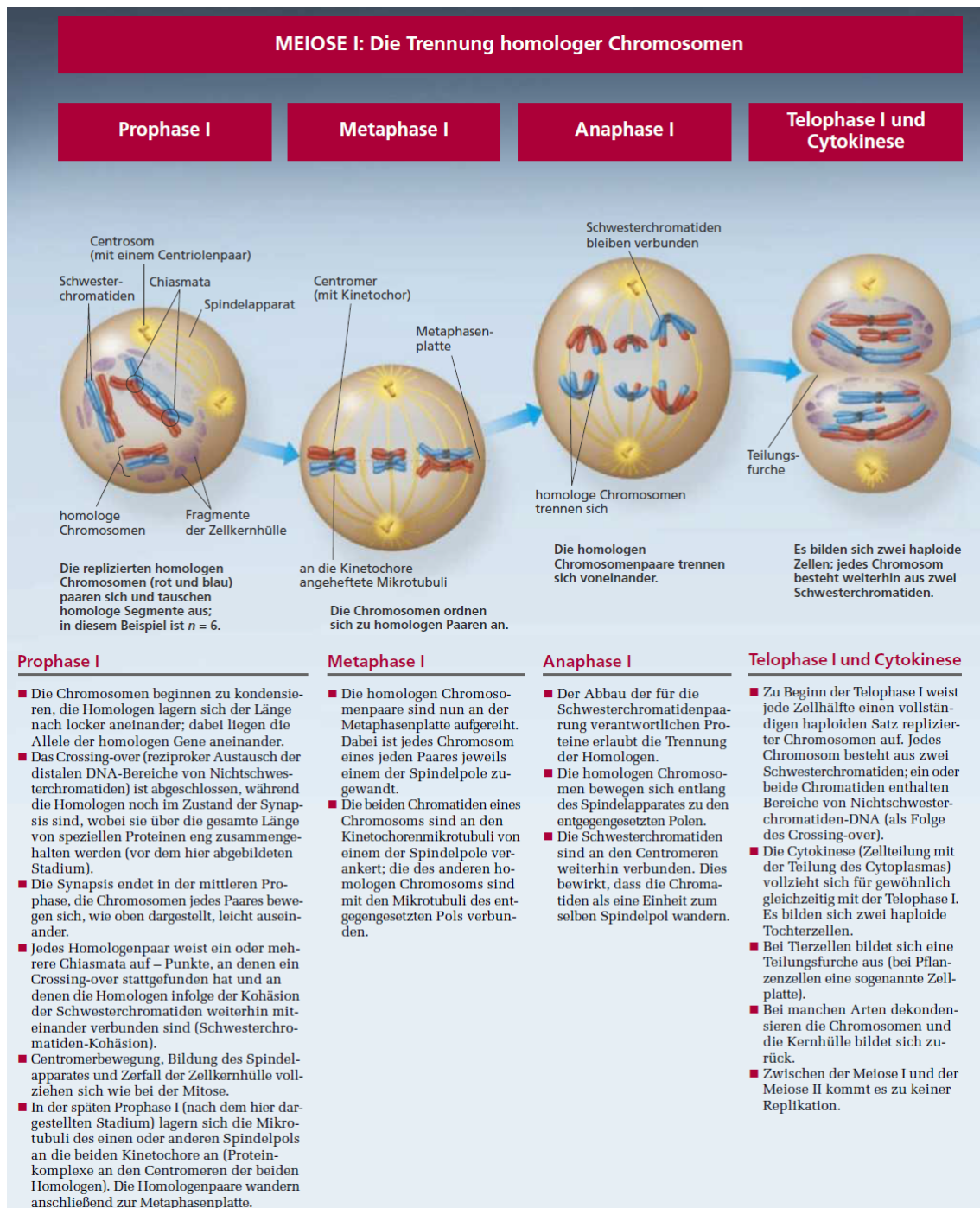


Figure 12.1.: Meiose 1

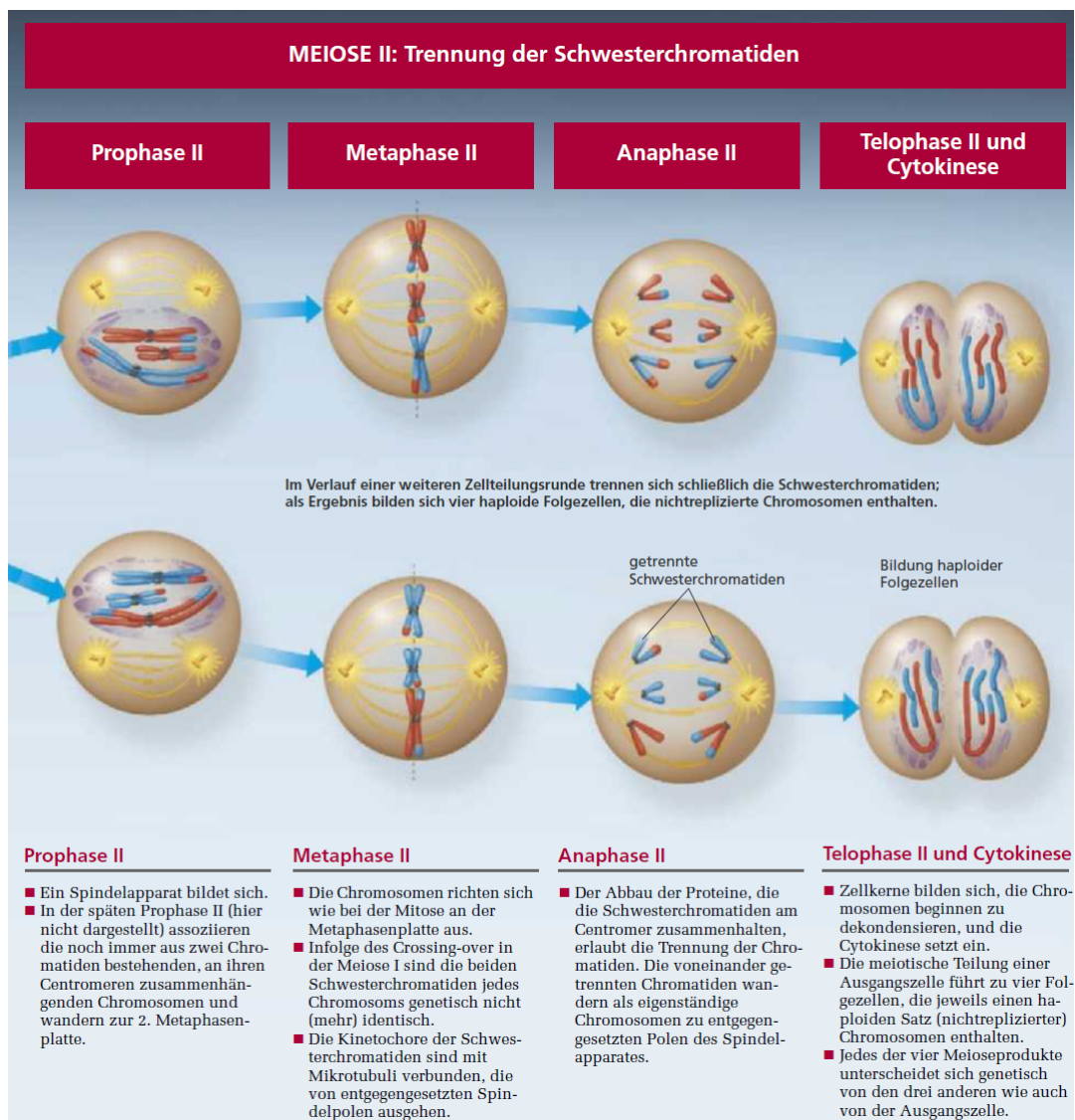


Figure 12.2.: Meiose 2

Homologe Chromosomenpaare ordnen sich in der Metaphasenplatte an In der Metaphase der ersten meiotischen Teilung werden die Chromosomen als homologe Paare in der Ebene der Metaphasenplatte angeordnet, und nicht als einzelne 2-Chromatidenchromosome.

Trennung der Homologen In der Anaphase I wandern die rekombinanten 2-Chromatidenchromosomen jedes Homologenpaares zu gegenüberliegenden Zellpolen. Die rekombinanten 2-Chromatidenchromosomen bleiben weiterhin verbunden.

12.3.1. Die Kohäsion der 2-Chromatidenchromosomen in der Mitose und in der Meiose

Die Chromatiden der 2-Chromatidenchromosomen werden sowohl in der Mitose, wie auch in der Meiose mit Kohäsinen über ihre gesamte Länge nicht-kovalent miteinander verbunden (sie werden wie ein Ring umschlossen).

- In der Mitose bleibt diese Verbindung bis zum Ende der Metaphase bestehen. Dann spalten Enzyme die Kohäsine und setzen die Schwesterchromatide frei.

- In der Meiose wird die Chromatidenkohäsion in zwei Schritten aufgehoben: In der Anaphase I werden die Crossing-over aufgelöst und die Kohäsinkomplexe entlang der Chromosomenarme zu beiden Seiten des Centromers, aber nicht am Centromer selbst, gespalten. In der Anaphase II werden dann auch die Kohäsine im Bereich des Centromers gespalten, sodass sich die rekombinanten Schwesterchromatiden trennen können.

12.4. Erhöhung der genetischen Variabilität durch geschlechtliche Fortpflanzung

Die geschlechtliche Fortpflanzung führt zu massiver genetischer Variabilität und ist damit ein wichtiger Motor der Evolution. Für diese Vielfalt sind im Wesentlichen drei Punkte entscheidend:

Unabhängige Verteilung der Chromosomen

In der Metaphase I werden zuerst die rekombinanten homologen Chromosomenpaare zufällig aufgeteilt. Danach, in der Metaphase II, werden noch die rekombinanten Schwesterchromatide aufgeteilt. Für eine Zelle mit n Chromosomen gibt es 2^n mögliche Kombinationen. Beim Menschen sind das schon $2^{23} \approx 8,4$ Millionen Möglichkeiten der Neukombination.

Rekombination durch Crossing-over In obigem Punkt wird noch nicht berücksichtigt, dass die Chromosomen keine exakten Kopien der väterlichen oder mütterlichen Chromosomen sind. Crossing-over führen dazu, dass die Gene auf einem Chromosom bereits teilweise vom einen, teilweise vom anderen Elternteil stammen.

Die zufällige Verschmelzung von Gameten bei der Befruchtung

Sie führt noch einmal zu einer Erhöhung der Variabilität. Beim Menschen gibt es ohne Crossing-over $2^{23} \cdot 2^{23}$ mögliche Kombinationen nach der Befruchtung.

Sind die Umweltbedingungen relativ stabil, so kann die sexuelle Vermehrung Nachteile gegenüber der asexuellen haben, da letztere eher die Aufrechterhaltung und Vervielfältigung einer erfolgreichen Allelkombination ermöglicht.

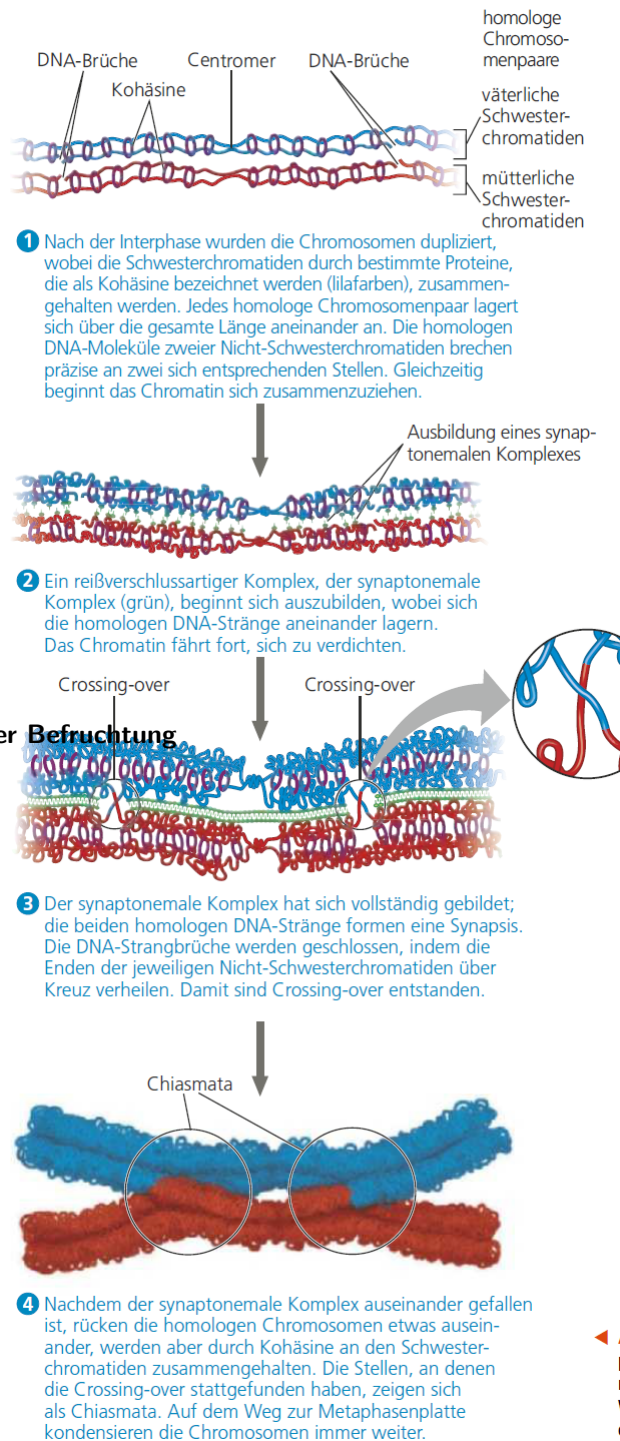


Figure 12.3.: Crossing-over

13. Mendel und das Genkonzept

13.1. Begriffserklärungen

Homozygot Ein diploider Organismus, der zwei identische Allele für ein Merkmal besitzt. Er ist reinerbig bezüglich dem betrachteten Merkmal.

Heterozygot Ein diploider Organismus, der zwei verschiedene Allele für ein Merkmal trägt. Er ist mischerbig bezüglich dem betrachteten Merkmal.

Phänotyp Die Merkmalsausprägung, beinhaltet das äusserliche Erscheinungsbild, muss aber nicht zwingend sichtbar sein.

Genotyp Die dem Phänotyp zugrunde liegende genetische Konstitution.

Monohybrider Erbgang Ein Erbgang, bei dem reinerbige Individuen gekreuzt werden, die sich nur in einem Merkmal unterscheiden.

Monohybride Individuen der ersten Tochtergeneration (F1) eines monohybriden Erbgangs. Sie sind heterozygot.

Dihybrider Erbgang Ein Erbgang, bei dem reinerbige Individuen gekreuzt werden, die sich in zwei Merkmalen unterscheiden.

Dihybride Individuen der ersten Tochtergeneration (F1) eines dihybriden Erbgangs. Sie sind heterozygot bezüglich beiden betrachteten Merkmalen.

Wildtyp Als Wildtyp wird ein Lebewesen bezeichnet, dessen Genom in einem Zustand vorliegt, wie er natürlicherweise durch die Evolution entstanden ist. Der Begriff wird auch für einzelne Gene verwendet ("Wildtyp-Allel"). Abweichende Allele sind mutante Allele.

Genetische Variation Genetische Unterschiede zwischen Individuen einer Art zu einem bestimmten Zeitpunkt.

13.2. Die Mendelschen Regeln

Die Mendelschen Regeln gelten für dominant-rezessive Erbgänge, bezogen auf Merkmale, die durch nur ein Gen bestimmt werden. Die ersten zwei Regeln gelten zudem nur für monohybride Erbgänge.

- 1. Regel, Uniformitätsregel** Kreuzt man Individuen einer Art, die sich in einem Merkmal unterscheiden, selbst in diesem Merkmal aber homozygot sind, sind die Nachkommen uniform, sowohl bezüglich dem Phänotyp wie auch dem Genotyp (immer heterozygot).
- 2. Regel, Spaltungsregel** Kreuzt man innerhalb der F1-Generation, also zwei heterozygote Individuen, treten die Nachkommen in einem Zahlenverhältnis 3:1 auf, der Genotyp im Verhältnis 1:2:1.
- 3. Regel, Unabhängigkeitsregel** Bei der Gametenbildung wird jedes Allelpaar unabhängig von anderen Allelpaaren verteilt. Diese Regel gilt für Gene, die auf unterschiedlichen Chromosomen liegen. Crossing-over werden hier aussen vor gelassen. Die Phänotypen lassen sich in vier Gruppen unterteilen, die im Verhältnis 9:3:3:1 auftauchen.

13.2.1. Die Rückkreuzung

Wenn bei einer Pflanze violette Blüte dominant (P) über weisse Blüten (p) ist, kann man bei einer Pflanze mit violetten Blüten nicht wissen, ob sie homozygot (PP) oder heterozygot (Pp) ist. Man muss sie mit einer homozygot weissen Pflanze kreuzen, um sicher zu sein. Haben alle Nachkommen violette Blüten, ist die Pflanze homozygot, gibt es unter den Nachkommen violette und weisse Blüten in einem Verhältnis von 1:1, ist sie heterozygot.

13.3. Die Methoden der Statistik für die Genetik

Folgende Regeln für voneinander unabhängigen Ereignissen sind primär von Bedeutung:

- Die **Multiplikationsregel** besagt, dass man die Gesamtwahrscheinlichkeit erhält, wenn man die Einzelwahrscheinlichkeiten multipliziert.
- Gemäss der **Additionsregel** ergibt sich die Wahrscheinlichkeit, dass ein bestimmtes Ereignis eintritt, wenn sich die Einzelereignisse wechselseitig ausschliessen, aus der Summe der Einzelwahrscheinlichkeiten.

Diese Regeln können beispielsweise auf folgende genetische Fragestellung angewandt werden: Wir haben eine Kreuzung zweier Pflanzen mit den Genotypen: PpYyRr und Ppyyrr. Welcher Prozentsatz wäre für mindestens zwei der drei betrachteten Merkmale homozygot rezessiv? Zuerst müssen alle Genotypen aufgelistet werden, die diese Bedingungen erfüllen, dann mit der Multiplikationsregel die Einzelwahrscheinlichkeiten berechnet, und diese schliesslich addiert werden. Ein Aufstellung ergibt:

<i>ppyYRr</i>	$\frac{1}{4}$ (Wahrscheinlichkeit für <i>pp</i>) \times $\frac{1}{2}$ (<i>yy</i>) \times $\frac{1}{2}$ (<i>Rr</i>)	= 1/16
<i>ppYyrr</i>	$\frac{1}{4} \times \frac{1}{2} \times \frac{1}{2}$	= 1/16
<i>Ppyyrr</i>	$\frac{1}{2} \times \frac{1}{2} \times \frac{1}{2}$	= 2/16
<i>PPyyrr</i>	$\frac{1}{4} \times \frac{1}{2} \times \frac{1}{2}$	= 1/16
<i>ppyYrr</i>	$\frac{1}{4} \times \frac{1}{2} \times \frac{1}{2}$	= 1/16
Wahrscheinlichkeit für die gleichzeitige Ausprägung von		= 6/16
<i>mindestens zwei</i> rezessiven Merkmalen		= 3/8

13.4. Die Erweiterung der Mendelschen Regeln bei einzelnen Genen

Merkmale, die von einem einzelnen Gen bestimmt werden, weichen bei ihrer Vererbung vom einfachen Mendelschen Muster ab, wenn die beteiligten Allele nicht vollständig dominant oder rezessiv sind, wenn das betreffende Gen mehr als zwei unterschiedliche Allele besitzt oder wenn ein einzelnes Gen mehr als einen Phänotyp besitzt.

Bei der **unvollständigen Dominanz** zeigen die Hybriden einen Phänotyp, der zwischen denen der reinerbigen Eltern liegt, z.B. wenn die Blüten einer heterozygoten Pflanze weniger Farbstoff als eine homozygot dominante erzeugt. Allgemein werden Merkmale, die verschiedene Zwischenstufen besitzen, als **quantitative Merkmale** bezeichnet. Oft werden sie von mehreren Genen beeinflusst. Demgegenüber stehen **diskrete Merkmale**, die zwei Ausprägungen haben.

Eine andere mögliche Beziehung zwischen verschiedenen Allelen ist die **Kodominanz**. Bei dieser Form wirken sich zwei Allele unabhängig voneinander auf den Phänotyp aus. Zum Beispiel wird das Blutgruppensystem MN des Menschen von zwei kodominanten Allelen bestimmt, die für die Bildung zweier spezifischer Proteine M und N verantwortlich sind. Die für das M-Allel homozygoten Personen (MM) haben nur das M-Molekül auf ihren Zellen, jene für das N-Allel homozygoten (NN) nur das N-Molekül. Heterozygote Personen (MN) bilden beide Proteine aus. Der Phänotyp MN ist aber nicht intermediär. M und N sind also zwei verschiedene, phänotypisch unabhängige Merkmale.

Die meisten Gene haben **multiple Allele**. Ein Beispiel beim Menschen sind die Blutgruppen. Es gibt drei Allele I^A , I^B und i , die vier mögliche Blutgruppen A, B, AB und 0 hervorrufen können.

Wenn sich ein Gen auf mehrere Phänotypen auswirkt, wird das **Pleiotropie** genannt. Zum Beispiel beeinflusst das Gen, das die Blütenfarbe festlegt, auch die Färbung der Erbsenhaut.

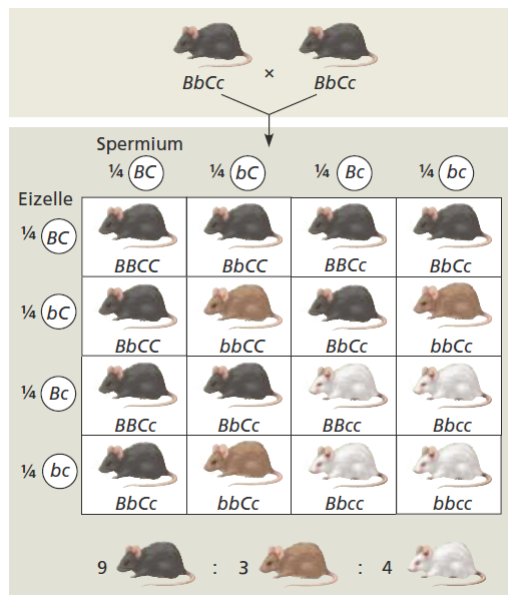


Figure 13.1.: Epistasie bei der Fellfarbe von Mäusen. Das C/c -Gen bestimmt, ob sich ein gebildetes Pigment einlagert und es ist epistatisch zum Gen B/b , welches die Pigmentbildung steuert.

13.5. Die Erweiterung der Mendelschen Regeln auf die Wechselwirkungen von Genen

13.5.1. Epistasie

Eine Epistasie bezeichnet die übergeordnete Wirkung eines Gens und liegt dann vor, wenn ein Gen die phänotypische Expression eines anderen Gens verändert (also eines beliebigen Allels an einem anderen Locus). Beispielsweise gibt es bei Mäusen ein Gen mit zwei Allelen für die Fellfarbe. Ein zweites Gen bestimmt aber, ob das für die Fellfarbe verantwortliche Pigment überhaupt in den Haaren abgelagert wird oder nicht. Obwohl beide Genorte den gleichen Phänotyp beeinflussen, werden sie nach der Mendelschen Unabhängigkeitsregel vererbt. Die Mengenverhältnisse der Merkmalsausprägung bei Epistasie leitet sich immer vom Grundmuster 9:3:3:1 ab. Beim Beispiel der Mäuse ist es 9:3:4 (\rightarrow Abb. 13.1).

13.5.2. Polygene Vererbung

Bei der polygenen Vererbung hängt der Phänotyp von zwei oder mehr Genen ab. Formell kann dies als Umkehrung der Pleiotropie betrachtet werden. Ein Beispiel hierfür ist die Hautfarbe des Menschen, die durch mindestens drei Gene beeinflusst wird, die sich additiv verhalten. Das heisst, je mehr dominante Allele der mindestens drei Gene jemand hat, desto dunkler ist seine Hautfarbe. Jemand mit dem Genotyp $AaBbCc$ hat z.B. die gleiche Hautfarbe wie jemand mit $AABbcc$. In Abbildung 13.2 ist ersichtlich, dass die Wahrscheinlichkeit für die verschiedenen Phänotypen einer glockenförmigen Normalverteilung folgen.

13.5.3. Der Einfluss der Umwelt auf den Phänotyp

Im Allgemeinen ruft ein bestimmter Genotyp nicht unausweichlich einen bestimmten Phänotyp hervor, sondern bildet vielmehr ein Gerüst für die Eigenschaften, die durch die Umwelt angepasst werden. Man spricht hier von **multifaktoriell** beeinflussten Merkmalen oder von **komplexen Merkmalen**. Solche setzen sich also aus dem Genotyp und den Umwelteinflüssen zusammen. Komplexe Merkmale werden meistens von mehreren Genen beeinflusst.

Der Grad der Flexibilität bei dieser Anpassung unterscheidet sich bei jedem Merkmal. Die dafür bestehende Bandbreite wird als **Reaktionsnorm** bezeichnet. In anderen Worten: Die Reaktionsnorm gibt

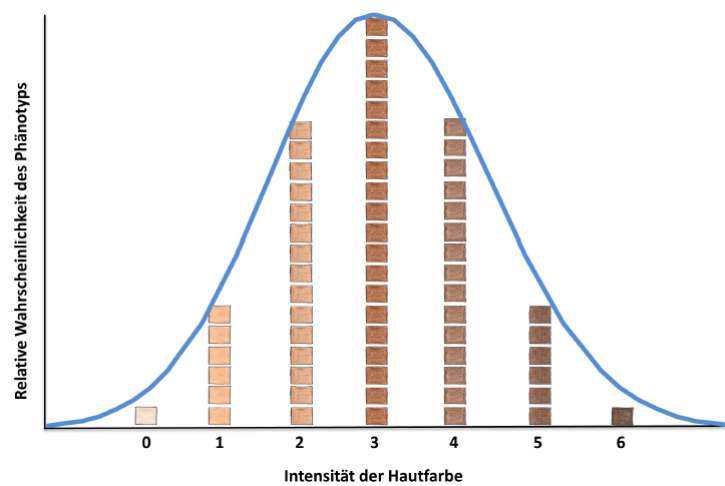


Figure 13.2.: Glockenförmige Normalverteilung eines polygen vererbten Merkmals

an, wie stark sich die Umwelt auf den Phänotyp auswirken kann. Im Allgemeinen ist die Reaktionsnorm polygen beeinflusster Merkmale am grössten. Hat eine Variation der Umweltbedingungen einen unterschiedlichen Einfluss auf verschiedene Genotypen, nennt man dies **genotype-by-environment interaction**. Diese Interaktion bedeutet, dass die Wechselwirkung zwischen Genen und Umweltfaktoren schwierig vorherzusagen ist.

Bei komplexen Merkmalen ähneln die Nachkommen ihren Eltern, zeigen aber eine **Regression zum Mittelwert**. Dieses Phänomen wird durch folgende zwei Punkte erklärt:

- Segregation¹ und Rekombination während der Meiose trennen Genkombinationen, die bei den Eltern extreme Phänotypen hervorgebracht haben.
- Die Ausprägung des Merkmals hängt eben auch von der Umwelt ab, die i.d.R. anders ist als jene der Eltern.

In Abbildung 13.3 ist als Beispiel die Körpergrösse des Menschen aufgeführt.

Heritabilität

Die **Heritabilität** eines Merkmals in einer Population von Organismen gibt an, wie stark der durchschnittliche Phänotyp der Nachkommen den Eltern gleicht. Eine andere Definition lautet: Die Heritabilität eines Merkmals in einer Population von Organismen ist der Anteil der totalen Variation des Merkmals, der auf genetische Unterschiede zwischen den Individuen zurückzuführen ist. Um wieder Abbildung 13.3 zu referenzieren: Die rote Linie stellt den durchschnittlichen Phänotyp der Eltern dar, die schwarze Linie den Populationsdurchschnitt. Die blaue Linie bringt den durchschnittlichen Phänotyp der Nachkommen mit dem der Eltern in Verbindung. Die Steigung dieser blauen Linie ist ein Mass für die Heritabilität: Liegt die blaue Linie auf der roten Linie, gleichen sich der Phänotyp der Eltern und der Phänotyp der Nachkommen vollständig, obwohl die Umweltbedingungen unterschiedlich sein könnten. In diesem Fall beträgt die Heritabilität 100%. Anders ausgedrückt: Die Grössenunterschiede, die man innerhalb einer Population beobachten kann, wären vollständig auf Unterschiede bei den Genotypen zurückzuführen. Liegt die blaue Linie auf dem Populationsdurchschnitt (schwarze Linie), gleichen die Nachkommen ihren Eltern nicht mehr als andere Individuen; natürlich nur bezogen auf das betrachtete komplexe Merkmal. Die Heritabilität würde hier 0% betragen. Alle Grössenunterschiede innerhalb einer Population wären durch unterschiedliche Umweltfaktoren bedingt, und nicht durch genetische Unterschiede.

Die Heritabilität ist keine intrinsische Eigenschaft eines Merkmals und nicht immer gleich gross. Man kann sie nur für eine bestimmte Population zu einer bestimmten Zeit angeben. Die Heritabilität ist

¹Die Trennung von Genen, die auf verschiedenen Chromosomen liegen.

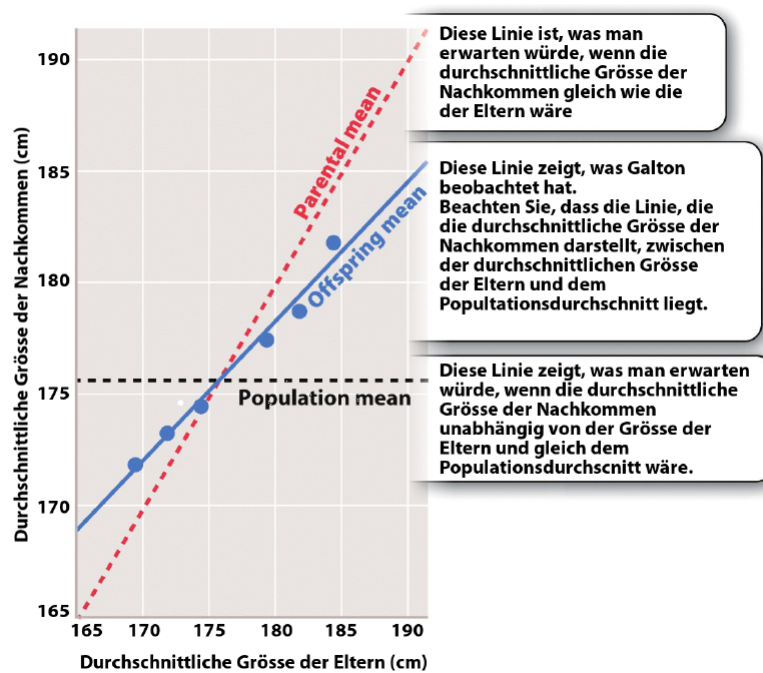


Figure 13.3.: Regression zum Mittelwert

evolutionär von Bedeutung, da sie bestimmt, wie schnell eine Population durch künstliche Selektion (Zucht) oder natürliche Selektion verändert werden kann. Ein Merkmal mit einer hohen Heritabilität wird schnell auf selektive Bedingungen ansprechen.

13.6. Menschliche Erbkrankheiten

13.6.1. Rezessive Erbkrankheiten

Ein Allel, das eine Krankheit bedingen kann, codiert entweder für ein fehlerhaftes Protein, oder das Protein wird gar nicht gebildet. Obwohl sie selbst gesund sind, können Heterozygote das defekte Allel an ihre Nachkommen weitergeben. Solche Individuen bezeichnet man als **Merkmalsträger**. Im Allgemeinen sind Erbkrankheiten nicht gleichmässig unter allen Bevölkerungsgruppen verteilt. Das ist eine Folge unterschiedlicher genetischer Entwicklungen von Teilen der Weltbevölkerung, die sich in vorindustrieller Zeit herausgebildet haben. Die damals vergleichsweise geringe Bevölkerungsdichte und eingeschränkte Mobilität bedingte das Auftreten geografisch und genetisch isolierter Teilpopulationen. Falls ein Mann und eine Frau nah verwandt sind, erhöht sich die Wahrscheinlichkeit für die Ausprägung der rezessiven Merkmale stark. Man spricht hier von **konsanguinischen** (blutsverwandten) Paarungen und kennzeichnet dies in Stammbäumen durch Doppellinien.

13.6.2. Dominante Erbkrankheiten

Dominante Allele, die eine tödliche Krankheit bedingen, sind aus offensichtlichen Gründen viel seltener als rezessive Allele, die nur im homozygoten Zustand tödlich sind. Alle letalen Allele müssen durch Mutationen in den Zellen der Keimbahn entstanden sein, aus denen die Keimzellen hervorgehen, um vererbt zu werden. Ein dominant letales Allel wird in der Regel nicht weitergegeben, weil die Träger sterben, bevor sie sich fortpflanzen können. Ausnahmen bilden Krankheiten, die erst in fortgeschrittenem Alter eintreten, also nachdem das Allel bereits an die Nachkommen weitergegeben wurde (z.B. Chorea Huntington).

13.6.3. Multifaktorielle Krankheiten

Dominante und rezessive Erbkrankheiten werden auch als "einfache Mendelsche Krankheiten" oder als **monogene Merkmale / Krankheiten** bezeichnet, weil sie durch Veränderungen eines oder beider Allele eines Gens verursacht werden. Beispiele hierfür sind Chorea Huntington, Cystische Fibrose und die Sichelzellenanämie. Viele Krankheiten haben aber auch multifaktorielle Ursachen. Dies gilt häufig für Krankheiten, bei denen erbliche Faktoren eine Veranlagung bilden oder für die zumindest eine genetische Komponente angenommen wird. Beispiele für multifaktorielle Krankheiten sind einige Arten von Krebs, Herz-Kreislauf-Krankheiten und Diabetes.

13.6.4. Vorgeburtliche Untersuchungen

Folgende vorgeburtliche Untersuchungen sind gängig:

Fruchtwasseruntersuchung (Amniozentese) Ab der 14. bis 16. Woche kann man Fruchtwasser, das die Fruchtblase ausfüllt und den Embryo umgibt, entnehmen und untersuchen. Einerseits kann man anhand der Substanzen erkennen, ob eine Stoffwechselstörung vorliegt, oder Fetuszellen in Zellkulturen weiterzüchten, die sich vom Embryo abgelöst haben. In diesen kann man dann die DNA untersuchen.

Chorionzottenbiopsie Hierbei wird dem Mutterkuchen (Placenta) eine Gewebeprobe entnommen. Die Placenta wird teilweise von der Mutter und teilweise vom Embryo gebildet und verbindet den Embryo in der Fruchtblase mit dem Körper der Mutter. Die Chorionzotten, aus denen das Probenmaterial entnommen wird, gehören zum fetalen Teil und tragen daher das Erbgut des Embryos. Dieses Verfahren kann schon in der 8. bis 10. Woche durchgeführt werden, und die Zellen müssen nicht noch kultiviert werden.

Zu den nichtinvasiven Methoden gehört die Ultraschalluntersuchung und die Fetoskopie. Bei letzterer wird ein nadelfeines Glasfaserkabel mit einer Kamera in die Gebärmutter eingeführt und der Embryo wird direkt betrachtet.

14. Chromosomen als Grundlage der Vererbung

14.1. Die Eigenschaften der Geschlechtschromosomen

Beim Menschen und anderen Säugetieren wird das Geschlecht durch das Vorhandensein eines Y-Chromosoms bestimmt. Ein Individuum, das zwei X-Chromosomen erbt (wenn die Eizelle (Oocyte) von einem Spermium mit X-Chromosom befruchtet wird), entwickelt sich zu einem Weibchen, und eines, das ein X- und ein Y-Chromosom erbt (Spermium enthält Y-Chromosom), zu einem Männchen. Die Wahrscheinlichkeit liegt also bei je 50%. Nur kurze Abschnitte an beiden Enden des Y-Chromosoms weisen homologe Regionen auf dem X-Chromosom auf. Sie stellen sicher, dass sich diese Chromosomen während der Meiose in den Hoden zu einem Paar zusammenlagern können.

Es existieren weitere Systeme der Geschlechtsbestimmung, von denen drei erwähnt werden:

Das X/0-System Bei Heuschrecken, Schaben und einigen anderen Insektengruppen gibt es nur das X-Chromosom. Weibchen haben den Genotyp XX, Männchen haben nur ein Geschlechtschromosom (Genotyp X0). Die Spermien enthalten dann entweder ein X-Chromosom oder nicht.

Das Z/W-System Bei Vögeln, sowie manchen Fisch- und Insektenarten, liegt das entscheidende Chromosom (hier das W-Chromosom), wenn es vorliegt, in der Eizelle vor. Weibchen haben Genotyp ZW, Männchen ZZ.

Das haplo-diplo-System Bei den meisten Bienen- und Ameisenarten finden sich keine Geschlechtschromosomen. Die Weibchen entwickeln sich aus befruchteten Eiern und haben einen diploiden Chromosomensatz. Männchen entwickeln sich aus unbefruchteten Eiern und sind haploid (haben demnach keinen Vater).

14.1.1. Die Vererbung geschlechtsgebundener Gene

Die Geschlechtschromosomen, vor allem das X-Chromosom, enthalten auch Gene, die geschlechtsunabhängige Merkmale definieren. Väter vererben geschlechtsgebundene Allele mit dem X-Chromosom nur an die Töchter, Mütter geben sie an Söhne und Töchter weiter. Da männliche Individuen nur ein Allel von Genen auf dem X-Chromosom enthalten, spricht man hierbei nicht von homozygot oder heterozygot, sondern von **hemizygot**. Geschlechtsgebundene rezessive Erbkrankheiten treten also wesentlich häufiger bei Männern als bei Frauen auf. Ein Beispiel hierfür ist die **Duchenne'sche Muskeldystrophie (Muskelschwund)**, von der nur männliche Kinder betroffen sind. Die Krankheit bewirkt einen fortschreitenden Muskelschwund und Betroffene werden kaum älter als 20 Jahre. Die Ursache der Krankheit wird auf den Verlust eines Muskelproteins (Dystrophin) zurückgeführt, das von einem Gen auf dem X-Chromosom codiert wird.

14.1.2. Die Inaktivierung eines X-Chromosoms bei weiblichen Säugetieren.

Bei Weibchen wird frühzeitig in der Embryonalentwicklung eines der beiden X-Chromosomen stillgelegt. Das inaktivierte X-Chromosom verdichtet sich in den Zellen zum sogenannten **Barr-Körperchen**. Dabei wurde eine Methylierung von Cytosinen in der DNA als kovalente Modifikation nachgewiesen. Ausserdem gibt es auf dem X-Chromosom ein Gen mit dem Namen XIST, das nur in den Barr-Körperchen exprimiert wird. Die davon gebildete, nicht für ein Protein codierende RNA, lagert sich am inaktiven X-Chromosom an und bedeckt es vollständig. Ist einmal ein X-Chromosom inaktiviert, wird dieser Zustand in den folgenden Mitosen beibehalten.

14.2. Die Vererbung gekoppelter Gene auf einem Chromosom (Linkage)

Gekoppelte Gene Gene, die auf demselben Chromosom nahe beieinander liegen und gemeinsam vererbt werden.

Parentaltyp Nachkommen, die einen Phänotyp zeigen, der einem der Eltern entspricht.

Rekombinanten Nachkommen, die von den Elternorganismen abweichende Merkmalskombinationen zeigen.

14.2.1. Rekombination und Kopplung

Wenn zwei Gene auf unterschiedlichen Chromosomen liegen, also nicht gekoppelt sind, gibt es eine Rekombinationshäufigkeit von 50%. Liegen die Gene auf dem gleichen Chromosom, hängt die Häufigkeit der Rekombination aufgrund von Crossing-over vom räumlichen Abstand zueinander ab. Die Wahrscheinlichkeit ist umso höher, je weiter sie auseinanderliegen.

Aufgrund der Rekombinationshäufigkeit kann der relative Abstand zweier Gene auf dem Chromosom bestimmt werden, dafür wird die Einheit Zentimorgan (cM) verwendet. Dabei entspricht eine Einheit einer Rekombinationshäufigkeit von einem Prozent. Die Auswertung der Rekombinationshäufigkeiten ist aber schwieriger als angenommen, denn manche Gene liegen so weit auseinander, dass ganz sicher ein Crossing-over dazwischen stattfindet. Die Rekombinationshäufigkeit entspricht dann den 50% wie wenn sie auf verschiedenen Chromosomen liegen würden. Der Abstand zwischen genetisch ungekoppelten Genen kann ermittelt werden, indem man durch Kreuzungen die Rekombinationshäufigkeiten von Genen ermittelt, die näher beieinander und zwischen den beiden zu kartierenden Genen liegen. Auf der Summe ihrer Rekombinationshäufigkeiten kann dann der Abstand zwischen nicht gekoppelten Genen berechnet werden. Es sind also Werte über 100 cM möglich.

Ein Crossing-over ist nicht auf allen Bereichen eines Chromosoms gleich wahrscheinlich. Folglich entsprechen die in cM angegebenen Abständen nicht immer genau den tatsächlichen, physikalischen Abständen, die heute in Kilobasenpaaren angegeben wird. Eine Kopplungskarte gibt nur die relative Anordnung der Gene zueinander auf einem Chromosom an, nicht aber deren genaue Position.

14.3. Abweichungen in der Zahl oder Struktur von Chromosomen

Physikalische und chemische Parameter können sich auf den Verlauf der Meiose auswirken und ganze Chromosomen schädigen oder ihre Zahl in der Zelle verändern. Chromosomale Veränderungen werden als **Aberrationen** bezeichnet. Grössere Aberrationen führen zu Fehlgeburten, oder, wenn die Individuen geboren werden, zu verschiedenen Entwicklungsstörungen. Bei Pflanzen sind vergleichbare Veränderungen meist weniger schwerwiegend als bei Tieren.

14.3.1. Abweichende Chromosomenzahlen

Gelegentlich werden Chromosomen in der Meiose nicht gleichmässig getrennt. Die Trennung kann entweder bei den homologen 2-Chromatidenchromosomen in der ersten meiotischen Teilung oder in der zweiten meiotischen Teilung bei den rekombinanten Chromatiden ausbleiben. Falls eine so gebildete *aberrante* Keimzelle von einer normalen Keimzelle befruchtet wird, entsteht eine Zygote mit abweichender Chromosomenzahl, was als **Aneuploidie** bezeichnet wird. Es liegt dann eine **Monosomie** oder eine **Trisomie** für ein bestimmtes Chromosom (oder mehrere Chromosomen) vor. Meist entstehen durch den Überschuss oder das Fehlen von Genprodukten schwere Schäden.

Eine Vervielfachung eines ganzen Chromosomensatzes wird als **Polyloidie** (Triploidie, Tetraploidie, Hexaploidie etc.) bezeichnet. Im Gegensatz zu Tieren (kommt aber bei Fischen und einigen Amphibien vor) ist sie unter Pflanzen weit verbreitet. Im Allgemeinen sind die Auswirkungen einer Polyloidie wesentlich unauffälliger als die einer Aneuploidie.

14.3.2. Abweichende Chromosomenstrukturen

Folgende Formen abweichender Chromosomenstrukturen kommen vor:

Deletion Der Verlust eines ganzen DNA-Fragments. Häufig fehlen unverzichtbare Gene und das betroffene Individuum ist nicht lebensfähig - das ist insbesondere bei diploiden Embryonen der Fall, die bezüglich einer Deletion homozygot sind, bzw. die Deletion auf dem X-Chromosom eines Männchen stattfindet.

Duplikation Wenn ein ganzes DNA-Fragment von einem Schwesterchromatiden übertragen wird. Gene liegen dann doppelt vor. Wird das Fragment von einem homologen Nicht-Schwesterchromatiden übertragen, enthält es andere Allele. Deletion und Duplikation treten häufig während der Meiose beim Crossing-over auf, wenn ungleich grosse DNA-Segmente ausgetauscht werden. Das ist ein Beispiel für **nichtreziproke Rekombination**, weil ungleich viel Erbsubstanz ausgetauscht wird.

Inversion Wenn sich ein Fragment in umgekehrter Reihenfolge in sein Ursprungschromosom integriert.

Translokation Wenn ein Fragment von einem Chromosom auf ein nicht-homologes übertragen wird. Sind die Translokationen reziprok, bleibt das Gleichgewicht der Gene erhalten (wie auch bei der Inversion). Trotzdem können solche Veränderungen zu einem anderen Phänotypen führen, weil die Expression anders ist.

14.3.3. Aneuploidien der Geschlechtschromosomen

Im Allgemeinen stören Aneuploidien der Geschlechtschromosomen das genetische Gleichgewicht weniger als jene der Autosomen, denn Y-Chromosome tragen nur wenige aktive Gene und zusätzliche X-Chromosome werden inaktiviert. Trotzdem führen sie zu Veränderungen:

- Ein zusätzliches X-Chromosom beim Mann (Klinefelter-Syndrom) führt zu unterentwickelten Hoden und das Individuum ist steril. Zudem bilden sich weibliche Körpermerkmale stärker aus.
- Männer mit zusätzlichem Y-Chromosom sind nur überdurchschnittlich gross.
- Frauen mit Trisomie-X sind gesund.
- Monosomie-X führt zum Turner-Syndrom (Eierstöcke werden nicht vollständig entwickelt, führt zu Sterilität), der einzigen bekannten lebensfähigen Monosomie.

14.4. Genomische Prägung

Die genomische Prägung betrifft nur DNA (Autosome und Gonosome) im Zellkern. Dabei hängt die Ausprägung eines Gens davon ab, ob das Allel von der Mutter oder vom Vater stammt. Das hat nichts mit der geschlechtsgebundenen Vererbung zu tun.

Die genomische Prägung erfolgt während der Bildung der Keimzellen (**Gametogenese**) und führt bei bestimmten Genen zur Stilllegung des einen oder anderen Allels. Das Prägungsmuster wird während der weiteren Entwicklung auf alle Zellen des Körpers übertragen, sodass immer nur das eine, und nie das andere Allel exprimiert wird. Die Stilllegung eines Allels wird bei der Bildung der Keimzellen aufgehoben. Bei einer gegebenen Art werden bestimmte Gene immer auf die gleiche Weise geprägt, das heisst es wird immer entweder das Allel der Mutter oder jenes vom Vater stillgelegt. Ein Beispiel ist das Gen für den insulinabhängigen Wachstumsfaktor 2 bei der Maus (Igf2), der für das normale embryonale Wachstumsverhalten verantwortlich ist. Nur das Allel vom Vater wird exprimiert. Ist die Mutter homozygot für eine Mutation, zeigen trotzdem alle Nachkommen ein normales Wachstumsverhalten. Ist der Vater homozygot für das Mutantallel, zeigen hingegen alle Nachkommen ein eingeschränktes Wachstum.

Die Prägung erfolgt häufig durch Methylierung der Gene, wobei dies manchmal zur Stilllegung und manchmal zur Aktivierung führt, je nach Gen.

Die Ausprägung hängt also nicht vom Vorliegen eines bestimmten Allels ab, sondern von Prozessen, die dessen genetischer Information übergeordnet sind. Man spricht darum hier auch von **epigenetischen Prozessen**.

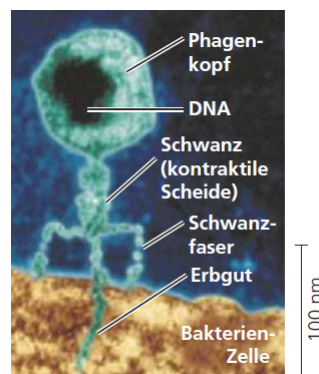
14.5. Genome von Organellen und ihre Vererbung

Ein geringer Teil der Erbinformation liegt ausserhalb des Zellkerns vor, nämlich in den Mitochondrien und bei Pflanzen auch in den Chloroplasten. Man spricht von **extranucleärer** oder **cytoplasmatischer Erbinformation** und entsprechend von **cytoplasmatischer Vererbung**. Diese DNA ist meist klein und zirkulär. Hierbei findet eine ausschliesslich maternale Vererbung statt, weil die Eizelle den grossen Teil des Cytoplasmas einbringt und die wenigen Organellen, die vom Spermium eingebracht werden, durch eine Art Autophagie abgebaut werden. Viele der vom Mitochondriengenom codierten Proteine bilden Untereinheiten der Atmungskettenkomplexe. Da das Nervensystem (vor allem das Gehirn) und die Muskulatur im menschlichen Körper am empfindlichsten auf Energiemangel reagieren, werden sie in erster Linie von mitochondrialen Krankheiten beeinträchtigt.

15. Die molekularen Grundlagen der Vererbung

15.1. Viren können Bakterien beeinflussen

Ein Virus ist wenig mehr als ein Stück DNA oder RNA, das von einer schützenden Hülle umschlossen wird. Die Hülle besteht oft nur aus Protein. Viren vermehren sich nur in lebenden Zellen, müssen diese also infizieren und benutzen dafür deren Stoffwechselleistungen. Viren, die Bakterien (und Archaeen) als Wirtszelle nutzen, werden als **Bakteriophagen** oder kurz **Phagen** bezeichnet. Sie haften sich an die Oberfläche ihrer Wirtszelle und injizieren ihr Erbgut durch die Zellwand und die Plasmamembran ins Cytoplasma der Wirtszelle.



Die injizierte DNA veranlasst die Wirtszelle dazu, neue Virus-DNA und neues Virus-Protein herzustellen, also neue Kopien des Virus herzustellen.

15.2. DNA-Replikation

Zunächst werden in Abbildung 15.1 der Aufbau eines DNA-Einzelstrangs und die Basenpaarungen in der DNA illustriert. Die DNA-Replikation ist bei Bakterien besser erforscht, daher wird hier grundsätzlich der Ablauf der DNA-Replikation von *E. coli*-Bakterien erläutert und bei Unterschiedenen zu Eukaryonten werden diese erwähnt.

15.2.1. Der Beginn der DNA-Replikation

Die Replikation beginnt immer an einem sogenannte **Replikationsursprung**. Die meisten Bakterien haben wie *E. coli* ein zirkuläres Chromosom und einen einzigen Replikationsursprung. Die Replikation setzt sich in beide Richtungen fort, bis sich die Replikationskomplexe wieder treffen. Ein eukaryontisches Chromosom kann je nach seiner Größe hunderte von Replikationsursprüngen haben. Auch hier setzt sich die Replikation in beide Richtungen fort. An jedem Ende befindet sich eine **Replikationsgabel**. Hier findet die eigentliche Replikation statt. Weitere an der Replikation beteiligten Proteine werden dediziert erklärt:

Helicasen Enzyme, die die beiden Stränge der Doppelhelix im Bereich der Replikationsgabeln entwinden und voneinander trennen, sodass sie als Matrizen für die Neusynthese zur Verfügung stehen.

Einzelstrangbindende Proteine Sie lagern sich nach der Trennung an die beiden ungepaarten DNA-Stränge an, um sie zu stabilisieren bis sie als Matrize benötigt werden.

Topoisomerasen Durch die Trennung der Stränge verdreht sich die DNA stromabwärts noch mehr. Die Topoisomerase entspannt die DNA durch gezieltes Aufbrechen, Entwinden und Wiederverbinden der DNA-Stränge.

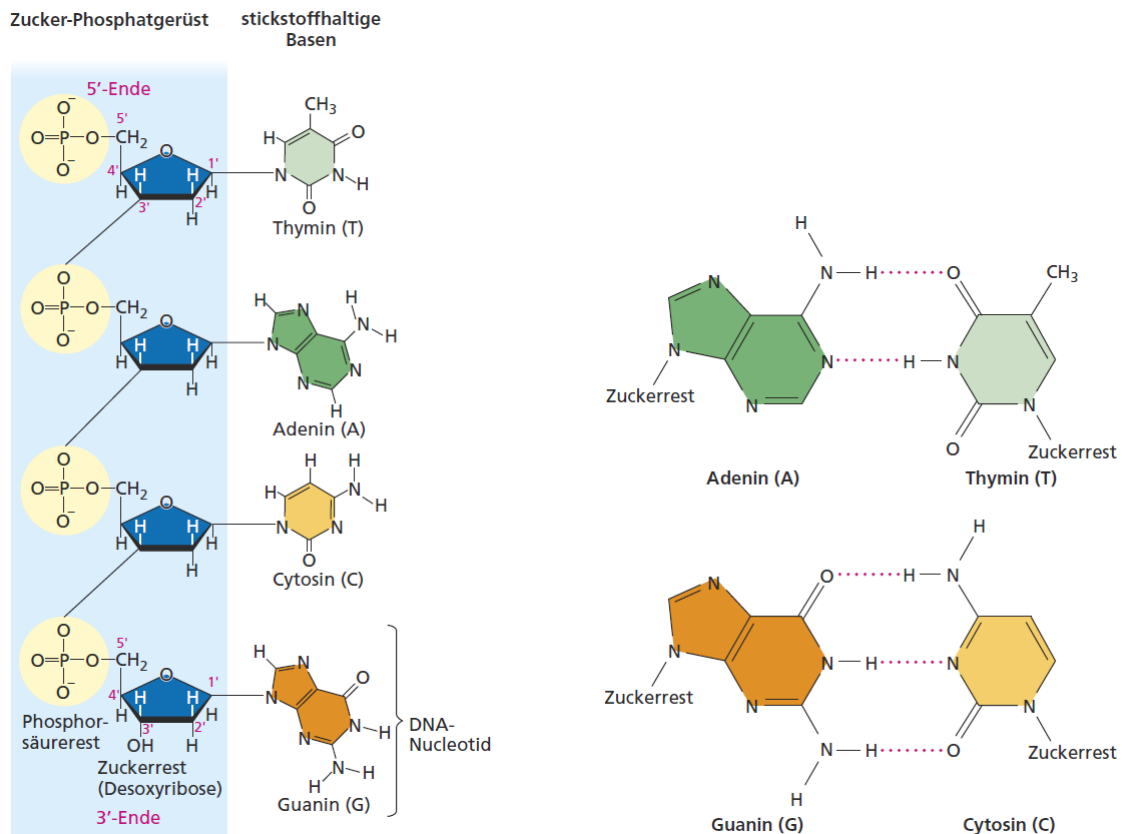


Figure 15.1.: Der Aufbau eines DNA-Einzelstrangs und die Basenpaarungen in der DNA

RNA-Primer (Primer) Die DNA-Polymerase kann nur bestehende Stränge verlängern, ist also auf einen bereits existierenden Strang angewiesen. Der RNA-Primer ist eine zum DNA-Matrizenstrang komplementäre RNA, an der die DNA-Neusynthese beginnen kann. Der Primer erreicht eine Länge von ca. 5 - 10 Nucleotiden.

Primase Das Enzym, das die Primer-RNA synthetisiert. Sie beginnt mit einem einzelnen Ribonucleotid und hängt weitere daran an.

Die an der DNA-Synthese beteiligten Proteine bilden einen einzigen grossen Komplex, bei dem viele der Protein-Protein-Wechselwirkungen die Leistungsfähigkeit verbessern. Diese Komplexe scheinen in eukaryontischen Zellen in der Kernmatrix verankert zu sein, einem Netzwerk aus Fäden, das den Kern durchzieht. Die DNA wird dann durch den Komplex gezogen.

15.2.2. Die Synthese eines neuen DNA-Strangs

Die Synthese neuer DNA-Stränge wird durch DNA-Polymerasen katalysiert, die Desoxynucleotide an vorhandene Nucleinsäureketten anhängen. Bei *E. coli* sind hauptsächlich zwei DNA-Polymerasen an der Replikation beteiligt: Die DNA-Polymerase III und die DNA-Polymerase I. Bei Eukaryonten sind es mindestens elf. Die grundlegenden Mechanismen der Replikation sind vergleichbar. Die DNA-Polymerase III (DNA-Pol III) fügt Desoxyribonucleotide an das Ende des RNA-Primers an und verlängert den Strang durch Anfügen weiterer Nucleotide an das 3'-Ende immer weiter. Die **Elongationsrate** (Geschwindigkeit, mit der neue Nucleotide angehängt werden) beträgt etwa 500 Nucleotide pro Sekunde, während sie in menschlichen Zellen bei etwa 50 Nucleotiden pro Sekunde liegt.

Jeder Baustein tritt als **Nucleosidtriphosphat**¹ in die Reaktion ein. Beim Eintritt in den DNA-Strang

¹Der einzige Unterschied zwischen dem DNA-Baustein Desoxyadenosintriphosphat dATP zu ATP ist, dass dATP am 2'-Kohlenstoffatom nur einen Wasserstoffrest, und keine OH-Gruppe enthält.

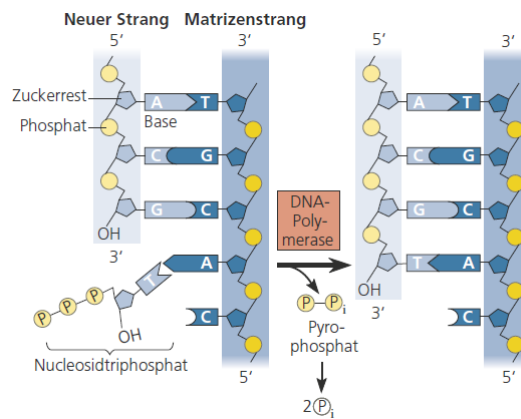


Figure 15.2.: Einbau eines Nucleotids in einen DNA-Strang.

werden zwei der Phosphorylreste als Pyrophosphat abgespaltet und später zu Phosphat hydrolysiert. Die Kopplung der beiden Schritte ergibt eine exergonische Reaktion, die die Energie für die DNA-Synthese liefert (\rightarrow Abb. 15.2).

Antiparallele Kettenverlängerung

DNA-Polymerasen können neue Nucleotide nur an das 3'-OH-Ende eines Primers resp. wachsenden DNA-Strangs anhängen. Ein Strang kann also nur am 3'-Ende verlängert werden und somit vom 5'-Ende zum 3'-Ende wachsen ($5' \rightarrow 3'$). Beim **führenden Strang (Leitstrang, leading strand)** können die Nucleotide fortlaufend angefügt werden und es braucht nur einen Primer. Der **Folgestrang (lagging strand)** muss diskontinuierlich synthetisiert werden. Dabei entstehen zunächst nicht verknüpfte kurze Nucleinsäureketten - die **Okazaki-Fragmente**. Sie sind bei *E. coli*-Bakterien ca. 1'000-2'000 Nucleotide lang, bei eukaryontischen Zellen nur etwa 100-200 Nucleotide. Jedes Okazaki-Fragment benötigt einen eigenen Primer. Nachdem die DNA-Polymerase I ein Okazaki-Fragment synthetisiert hat und den folgenden Primer erreicht hat, wird letzterer durch die DNA-Polymerase I durch DNA-Nucleotide ersetzt. Die **DNA-Ligase** katalysiert am Schluss noch die Verknüpfung der Zucker-Phosphat-Gerüste der Okazaki-Fragmente zu einem durchgehenden DNA-Molekülstrang.

In Abbildung 15.3 ist eine Zusammenfassung über die DNA-Replikation ersichtlich.

15.2.3. Korrekturlesen und DNA-Reparatur

Die Basenspezifität sorgt zwar schon für die sehr geringe Fehlerrate von 1:100'000 Nucleotiden, doch kontrolliert die DNA-Polymerase jedes eingebaute Nucleotid und tauscht es gegebenenfalls aus. Einige Fehlpaarungen entgehen allerdings auch der DNA-Polymerase, sodass spezielle Reperaturenzyme (für den Menschen sind schon ca. 130 bekannt) falsch eingebaute, einzelne Nucleotide aus dem Strang ausschneiden und die richtigen Nucleotide einsetzen (**Mismatch-Repair**, \rightarrow Abb. 15.4 Links). Damit wird die Fehlerrate auf $1:10^{10}$ gesenkt. Dieser Prozess findet während der Replikation statt. Daneben gibt es drei weitere Reparaturmechanismen, die vor allem nach der Replikation vonstatten gehen:

Base Excision Repair Eine Glykosylase schneidet eine Base aus dem DNA-Doppelstrang aus und lässt dabei das Zucker-Phosphat-Rückgrat unangetastet. Eine Endonuclease schneidet dann das Zucker-Phosphat-Rückgrat aus. Anschliessend wird noch der richtige Nucleotid eingebaut (\rightarrow Abb. 15.4 Mitte).

Nucleotide Excision Repair Das ist dem Mismatch-Repair ähnlich und wird in Abbildung 15.4 Rechts illustriert.

DNA-Ligase Die DNA-Ligase kommt bei einem single-strand-Bruch zum Einsatz und verknüpft die beiden Enden.

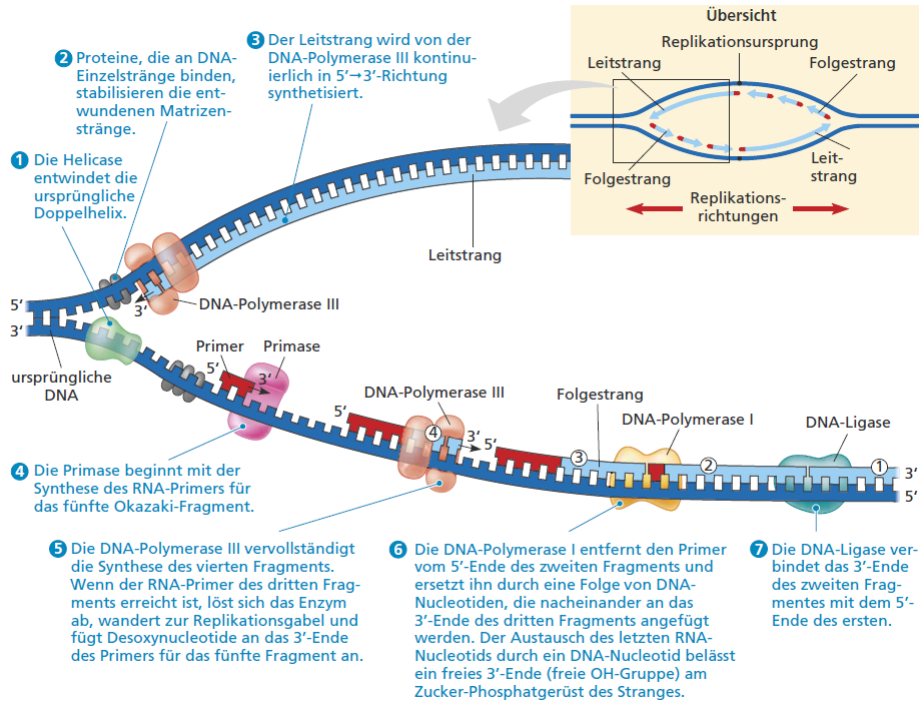


Figure 15.3.: Zusammenfassung der bakteriellen DNA-Replikation

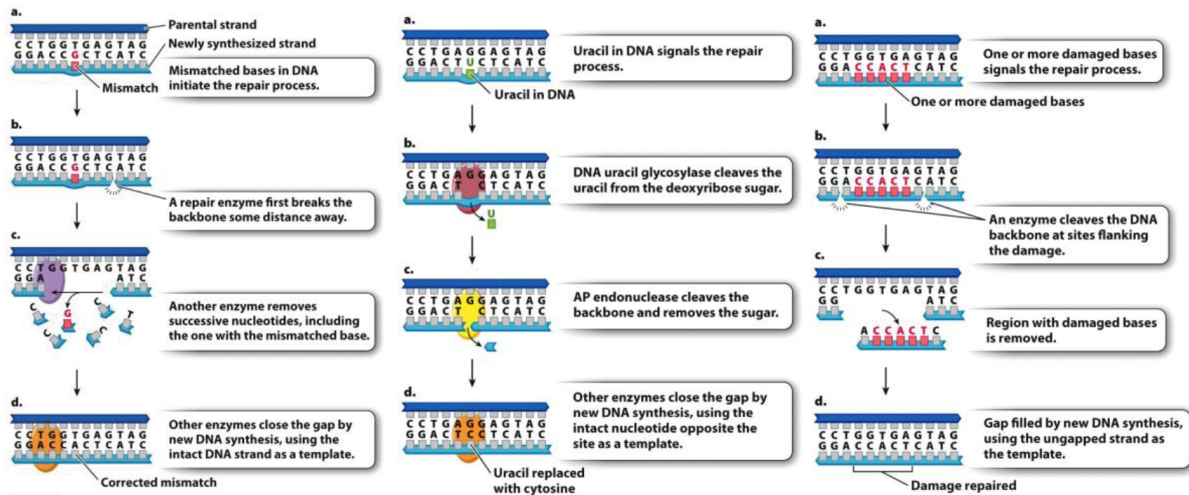


Figure 15.4.: Links: Mismatch-Repair. Eine Erhöhung oder Vertiefung wird bei einer falsch eingebauten einzelnen Base erkannt. Ein Teil des Strangs wird herausgeschnitten und neu synthetisiert. Mitte: Base Excision Repair. Rechts: Nucleotide Excision Repair.

Übrigens kann es durchaus vorkommen, dass bei einer Reparatur der fehlerhafte Strang als Matrize genommen wird, insbesondere dann, wenn die DNA nicht gerade frisch repliziert wurde.

15.2.4. Die Replikation an den Enden linearer DNA-Moleküle

Die normale Replikationsmaschinerie bietet keine Möglichkeit, bei eukaryontischen Zellen die 5'-Enden der neu gebildeten DNA-Stränge zu vervollständigen (beim zirkulären Chromosom der Prokaryonten nicht). Am 5'-Ende des Folgestrangs wird ein Primer angelagert und ein Okazaki-Fragment gebildet. Wenn der Primer entfernt wird, kann dieser aber nicht mit DNA ersetzt werden, weil kein 3'-Ende als Ansatzpunkt für DNA-Polymerase vorhanden ist.

Eukaryontische Chromosomen besitzen an ihren Enden spezialisierte Bereiche mit einer für jede Art typischen Sequenz, die **Telomere** genannt werden. Dieser Bereich codiert nicht für Proteine sondern ist eine 100-1'000-fache Wiederholung einer bestimmten repetitiven Sequenz (beim Menschen TTAGGG). Das Enzym **Telomerase** bewirkt eine Verlängerung der Telomere und gleicht die Verkürzung während der Replikation wieder aus. Die Telomerase ist aber in den meisten Körperzellen nicht aktiv und bei den restlichen Zellen findet man in verschiedenen Geweben Unterschiede in ihrer Aktivität. In den Vorläuferzellen der Keimbahn sorgt sie jedoch dafür, dass die Telomere in einer Zygote ihre maximale Länge haben. Des weiteren binden sich an die Telomer-DNA Proteine, die die Chromosomenenden vor einem enzymatischen Abbau durch Nucleasen und einer Rekombination mit anderen Chromosomen schützen.

15.3. Der Aufbau von Chromosomen

Bekanntlich liegt bei den meisten Bakterien das Genom in Form *eines* doppelsträngigen, ringförmig geschlossenen DNA-Moleküls vor, an das einige Proteine angelagert werden. Dabei bewirken bestimmte Proteine ein Aufdrehen und eine Überspiralisierung des Chromosoms, sodass es nur einen Teil der Zelle einnimmt. Dieser Bereich wird als **Nucleoid** bezeichnet und ist nicht von einer Kernmembran eingeschlossen.

Bei Eukaryonten wird die DNA, wie in den Abbildungen 15.5 und 15.6 gezeigt, mehrfach aufspiralisiert. Der Verbund aus DNA und den verschiedenen Proteinen wird als **Chromatin** bezeichnet.

Trotz seiner geringen Dichte ist auch das Chromatin in der Interphase mehrstufig mit Proteinen verpackt. So kann ein Teil des Chromosoms in 10 nm-Fasern vorliegen, während ein anderer zu 30 nm-Fasern, oder noch weiter verdichtet ist. Das Chromatin der einzelnen Chromosomen ist in separaten Bereichen des Zellkerns zu finden und teilweise in der Kernlamina verankert. Dies könnte einen Einfluss auf die Expression der Gene haben.

Die verdichteten Chromatinbereiche werden als **Heterochromatin** bezeichnet und die darin enthaltenen Gene werden nicht exprimiert. Das weniger dichte Chromatin wird **Euchromatin** bezeichnet. Die darin enthaltenen Gene können exprimiert werden.

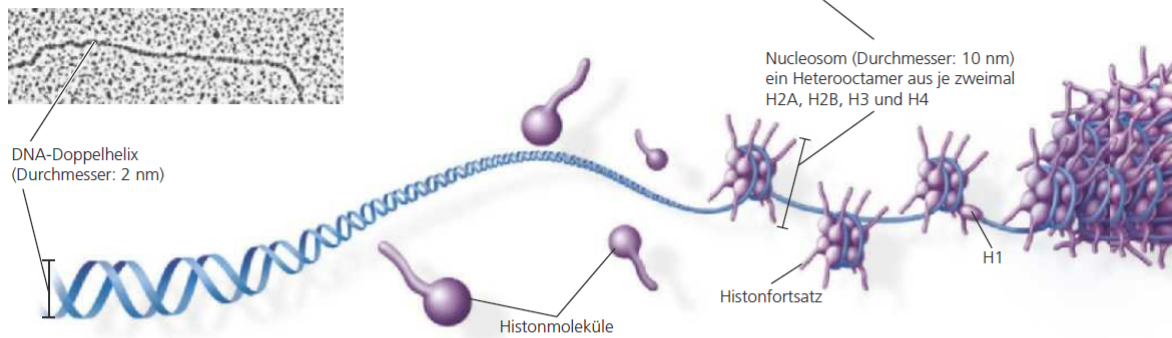
Die Packungsdichte des Chromatins, und damit die Expression der Gene, kann durch Phosphorylierungen und anderen chemischen Modifikationen von Histonen beeinflusst werden.

15.4. Viren und virale Genome

Viren bestehen nicht aus Zellen, sondern sind meistens lediglich in Proteinhüllen verpackte Gene. Viren haben keinen eigenen Stoffwechsel und können sich nicht ausserhalb einer Wirtszelle vermehren. Deshalb zählt man sie nicht zu Prokaryonten oder Eukaryonten; sie werden nicht einmal als Lebewesen klassifiziert.

Viren unterscheidet man nach ihrem genetischen Material. Das Genom bei Viren kann nicht nur in Form von doppelsträngiger DNA vorliegen wie bei Prokaryonten oder Eukaryonten, sondern es gibt auch RNA-Viren. Ausserdem unterscheidet man zwischen einzelsträngigen oder doppelsträngigen Genomen. Ein weiteres Unterscheidungsmerkmal ist, welche Gene sie besitzen (was die Sequenz des Virus ist) und woraus die Proteinhülle zusammengesetzt ist. In der Regel besteht ein Virengenom aus einem einzelnen linearen oder zirkulären DNA- oder RNA-Molekül. Die Grösse eines Virengenoms reicht je nach Virentyp

Diese Folge von Schemazeichnungen und elektronenmikroskopischen Aufnahmen gibt unsere gegenwärtigen Vorstellungen der DNA-Verdrillung und -Faltung in Chromosomen wieder. Die Bebilderung schreitet von der Doppelhelix der chromosomalen DNA (ganz links) bis zu dem im Lichtmikroskop erkennbaren Metaphasenchromosom (rechte Seite) fort.



DNA – die Doppelhelix

Vereinfachtes Bändermodell der DNA, in der jedes der Bänder das Zucker-Phosphatgerüst eines Stranges repräsentiert. Wie Sie aus Abbildung 16.7 wissen, sind die Phosphatgruppen an der Außenseite des Gerüsts negativ geladen. Die elektronenmikroskopische Aufnahme zeigt ein metallbedampftes Einzelmolekül einer proteinfreien, doppelsträngigen DNA. Die Doppelhelix hat einen Durchmesser von etwa zwei Nanometern (2 nm).

Histone

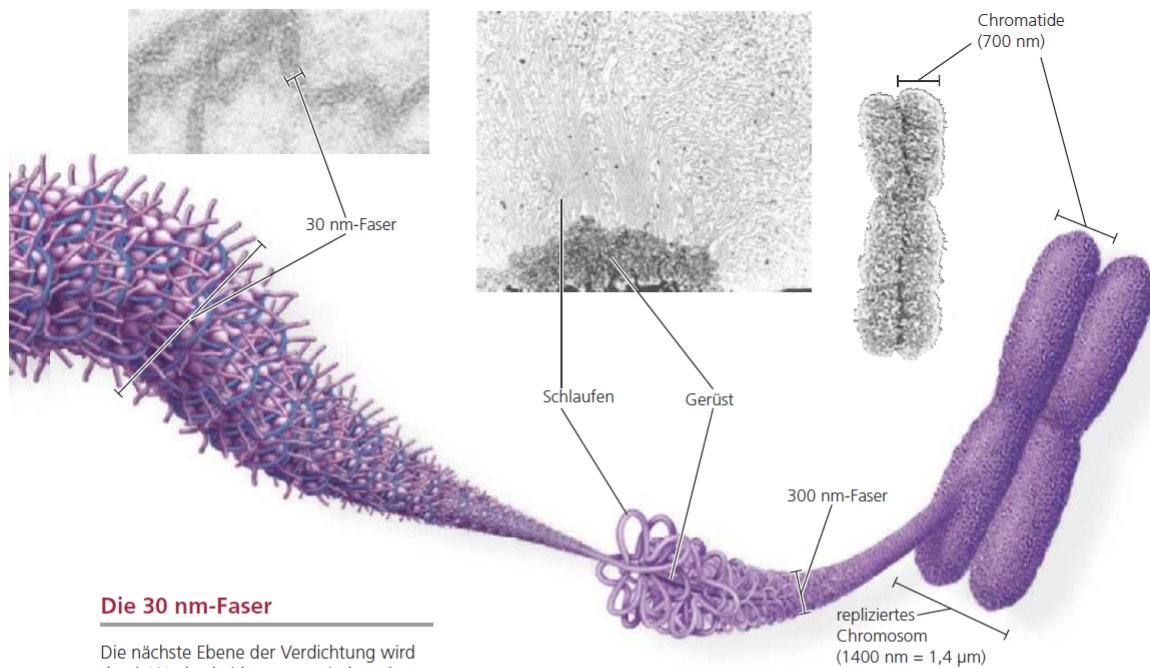
Histone sind Proteine, die für die erste Stufe der DNA-Kondensation im Chromatin verantwortlich sind. Obwohl jedes Histoneinzelmolekül klein ist (es besteht aus ca. 100 Aminosäureresten), entspricht die Gesamtmasse aller Histoneinzelmoleküle des Chromatins etwa der Masse der darin enthaltenen DNA. Mehr als ein Fünftel aller Aminosäurereste eines Histoneinzelmoleküls sind unter physiologischen Bedingungen positiv geladen (Lysinbeziehungsweise Argininreste) und stehen deshalb in starken Ionenwechselwirkungen mit der negativ geladenen DNA. Es gibt vier Haupttypen von Histoneproteinen: H2A, H2B, H3 und H4. Histone sind stark konservierte Proteine. So sind zwischen den Sequenzen des Histons H4 des Rinds und dem der Erbse nur zwei Aminosäuren ausgetauscht. Die starke Konservierung der Histonequenzen weist auf ihre zentrale Rolle in der Verpackung von DNA eukaryontischer Zellen hin. Die vier genannten Histone sind wichtig für den nächsten Grad der DNA-Kondensation. (Ein weiteres Histone, H1, ist an der weiteren Verdichtung beteiligt.)

Nucleosomen, oder: „Perlen einer Kette“ (10 nm-Fasern)

Auf elektronenmikroskopischen Abbildungen hat das locker gepackte Chromatin einen Durchmesser von 10 nm. Diese Struktur wird als 10 nm-Faser bezeichnet, in der das Chromatin an eine Perlenkette erinnert (EM-Aufnahme oben). Jede „Perle“ wird durch ein Nucleosom gebildet, das die Grundeinheit zur DNA-Verdichtung darstellt. Die Abschnitte zwischen den Nucleosomen werden als *Linker-DNA* (engl. *to link*, verbinden, verknüpfen) bezeichnet. Ein Nucleosom besteht aus einem DNA-Abschnitt, der etwa zweimal um einen Proteinkern gewickelt ist. Dieser besteht aus acht Histoneinzelmolekülen, je zwei Moleküle der vier Haupttypen. Der Aminoterminus jedes Histoneinzelmoleküls (Histonfortsätze; „Schwänze“) ragt nach außen. Im Verlauf des Zellzyklus lösen sich die Histone nur während der Replikation kurz von der DNA ab. Dies geschieht auch während der Genexpression – einem weiteren Vorgang, der es erforderlich macht, dass die DNA der molekularen Maschinerie der Zelle zugänglich gemacht wird. Nucleosomen, insbesondere ihre Histonfortsätze, sind ganz wesentlich an der Regulation der Genexpression beteiligt.

Figure 15.5.: Aufbau des Chromatins eukaryontischer Chromosomen.

von wenigen bis zu Hunderten von Genen. Die Proteinhülle von Viren wird auch als Capsid bezeichnet. Die Proteine an der Virusoberfläche sind wichtig für die Erkennung und Infektion von Wirtszellen. Einige Viren enthalten neben ihrer DNA oder RNA auch noch Enzyme, die beim Befall einer Wirtszelle in diese freigesetzt werden und dort bei der Virenvermehrung helfen.



Die 30 nm-Faser

Die nächste Ebene der Verdichtung wird durch Wechselwirkungen zwischen den Histonfortsätzen eines Nucleosoms mit der Linker-DNA und benachbarten Nucleosomen bewirkt. Ein fünfter Histontyp, das Histon H1, ist hieran beteiligt. Die Wechselwirkungen führen dazu, dass sich die gestreckte 10 nm-Faser aufrollt und sich eine Chromatin-faser mit einem Durchmesser von etwa 30 nm bildet – die *30 nm-Faser*. Obwohl die 30 nm-Faser in Interphasekernen überwiegt, ist die genaue Anordnung der Nucleosomen darin noch nicht geklärt.

Schlaufendomänen (300 nm-Fasern)

Die 30 nm-Faser bildet ihrerseits Schlaufenstrukturen aus, die auch als Schlaufendomänen bezeichnet werden und an einem aus Proteinen bestehenden Kerngerüst verankert sind. Zusammen ergibt dies die *300 nm-Faser*. Das Gerüst enthält eine bestimmte Topoisomerase. Histon H1-Moleküle sind ebenfalls nachweisbar.

Das Metaphasenchromosom

Während der Mitose falten sich die Schlaufendomänen der Chromosomen weiter, wobei auch hier die genaue Struktur noch nicht geklärt ist. Dabei wird das Chromatin bis hin zur Stufe der charakteristischen Metaphasenchromosomen weiter komprimiert, von denen eines oben im elektronenmikroskopischen Bild zu sehen ist. Die Breite einer Chromatide beträgt 700 nm (0,7 µm). Bestimmte Gene finden sich in einem Metaphasenchromosom immer an der gleichen Stelle, was darauf hindeutet, dass die Kondensierung sehr spezifisch und präzise abläuft.

Figure 15.6.: Aufbau des Chromatins eukaryontischer Chromosomen (Fortsetzung).

16. Vom Gen zum Protein

In diesem Kapitel wird auf die zwei Vorgänge der Genexpression von proteincodierenden Genen eingegangen: Transkription (Synthese einer prä-mRNA, dem **Primärtranskript**, anhand einer DNA als Bauanleitung) und Translation (Synthese eines Proteins anhand einer mRNA-Vorlage). Der Begriff *proteincodierend* ist gebräuchlich, aber nicht ganz richtig, weil bei Proteinen, die aus mehreren Polypeptiden aufgebaut sind, jedes Polypeptid durch ein eigenes Gen codiert wird. Transkription und Translation sind Grundprozesse des Lebens und man findet sie ohne Ausnahme in allen Lebewesen.

16.1. Der genetische Code

Das Konzept des genetischen Codes, die **Codone** (Dreifachfolgen von Nucleotiden), die für eine bestimmte Aminosäure bzw. für Start (und Met)/Stop codieren, wird als bekannt vorausgesetzt. Es folgen einige Ergänzungen:

- Bei jedem Gen wird nur einer der Stränge der DNA, der **codogene Strang**, als **Matrizenstrang** bezeichnet, da er die Vorlage für die Bildung der mRNA abgibt. Im Gegensatz zum codogenen Strang werden die Begriffe **codierender Strang**, **Sinnstrang** oder **Plusstrang** für denjenigen Strang gebraucht, der in seiner Sequenz der gebildeten RNA entspricht. Bei Genen auf demselben DNA-Molekül ist nicht immer derselbe Strang der codogene Strang. Aber bei einem bestimmten Gen bleibt es immer derselbe, ansonsten würden verschiedene Proteine exprimiert.
- Die Codons werden von der Translationsmaschinerie in 5' → 3'-Richtung abgelesen und übersetzt.
- Der genetische Code ist nicht bei allen Lebewesen ganz der gleiche. Ausnahmen findet man bei eukaryontischen Einzellern und bei den Organellengenomen einiger Arten (die DNA-enthaltenden Organellen wie Mitochondrien und Plastiden haben einen eigenen Translationsapparat mit Ribosomen und allen anderen notwendigen Komponenten).

16.2. Die Transkription

Eine Übersicht über die Transkription und dessen Initiation ist in Abbildung 16.1 ersichtlich.

16.2.1. Die molekularen Komponenten des Transkriptionsapparats

Boten-RNA (mRNA) Sie überbringt die in der DNA gespeicherte Information zu den Ribosomen.

RNA-Polymerase Dieses Enzym trennt die beiden Stränge der DNA voneinander und verknüpft die RNA-Nucleotide, die sich durch komplementäre Basenpaarung an den Matrizenstrang anlagern, zu einer mRNA-Kette. Auch RNA-Polymerasen können nur in 5' → 3'-Richtung synthetisieren. Sie ist aber nicht auf einen Primer angewiesen. Bakterien haben nur einen einzigen Typ von RNA-Polymerase. Eukaryontische Zellen haben mindestens drei: Die RNA-Polymerase II zur Synthese von mRNA und die RNA-Polymerasen I und III, die RNA-Moleküle herstellen, die nicht translatiert werden.

Promotor Eine bestimmte Nucleotidfolge, die den Teil des Gens bildet, an den die RNA-Polymerase anfänglich bindet und der den Initiationsort der Transkription darstellt. Zudem bestimmt der Promotor, welcher Strang als Matrize dient. Eine wichtige Sequenz ist die **TATA-Box**, an die sich ein Transkriptionsfaktor anlagert.

Terminator Die Basenfolge, die das Ende der Transkription signalisiert.

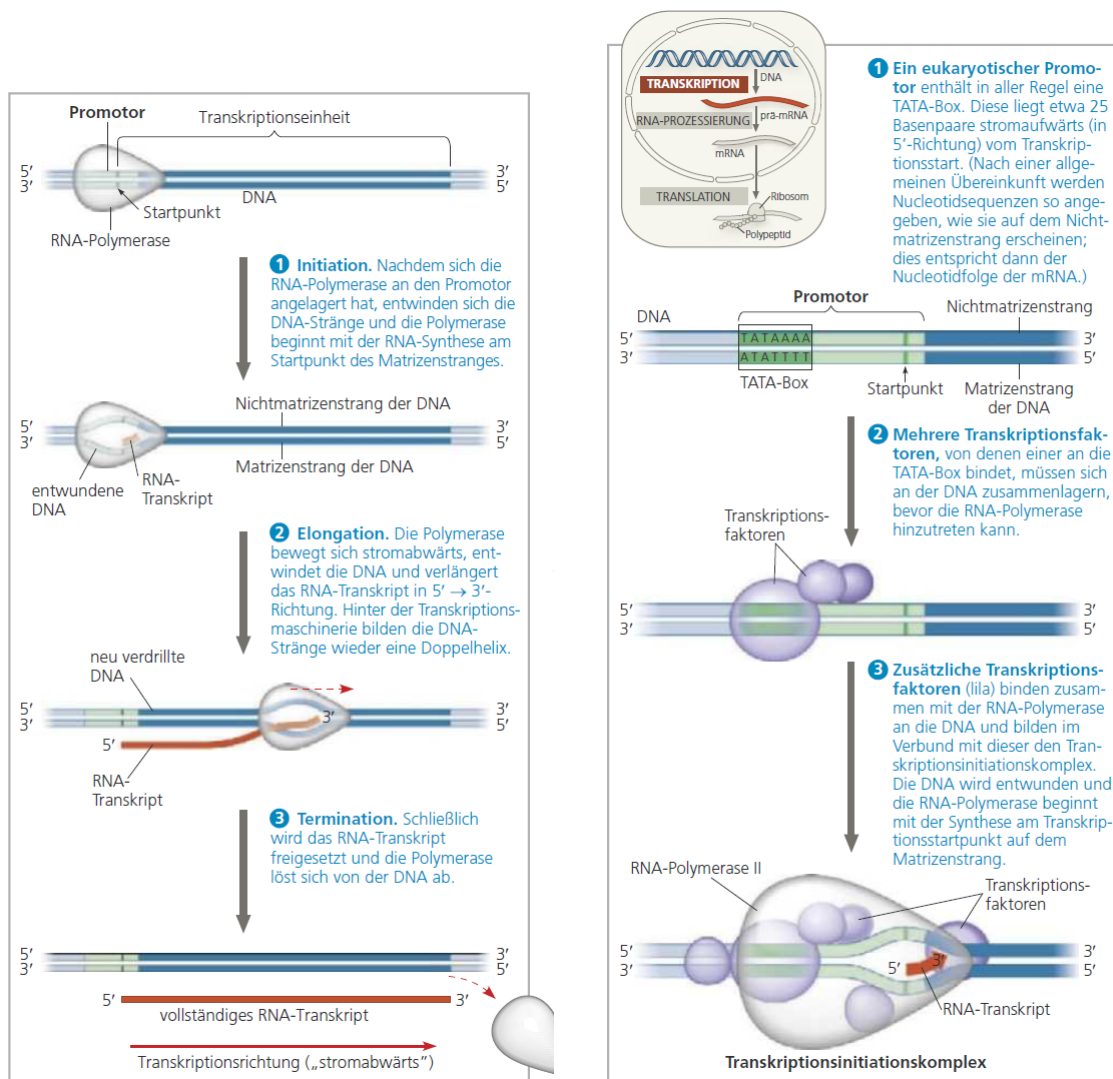


Figure 16.1.: Links: Verallgemeinerte schematische Darstellung der Transkription, die auf Bakterien und Eukaryonten zutrifft. Rechts: Die Initiation der Transkription an einem eukaryontischen Promotor.

Transkriptionseinheit Der DNA-Bereich, der zu einer RNA transkribiert wird.

In Nucleinsäuren werden die Richtungen wie folgt bezeichnet: **5'-wärts = stromaufwärts** und **3'-wärts = stromabwärts**.

16.2.2. Die Synthese eines RNA-Transkripts

Initiation: Die Bindung der RNA-Polymerase und die Initiation der Transkription

Bei Bakterien wird ein Promotor durch einen Teil der RNA-Polymerase selbst erkannt. Bei Eukaryonten vermitteln **Transkriptionsfaktoren**, von denen es spezifische und allgemeine gibt, die Bindung der RNA-Polymerase und damit die Initiation der Transkription. Erst nachdem bestimmte Transkriptionsfaktoren an den Promotor angelagert wurden, kann auch die RNA-Polymerase II dort binden. Der Gesamtkomplex aus den Transkriptionsfaktoren und der RNA-Polymerase wird als **Transkriptionsinitiationskomplex** bezeichnet.

Die Elongation der RNA

Die RNA-Polymerase entwindet fortlaufend die DNA und legt ca. 10-20 Basenpaare frei. Am Matrizenstrang lagern sich die Ribonucleotide an und werden dann in die RNA eingebaut. Die neugebildete RNA löst sich von der Matrize ab und die DNA bildet wieder ihre gewohnte helikale Struktur. In eukaryontischen Zellen kann die RNA-Polymerase rund 40 Nucleotide pro Sekunde anhängen. Ein Gen kann gleichzeitig von mehreren, aufeinanderfolgenden RNA-Polymerasen transkribiert werden.

Termination der Transkription

Bei Bakterien verläuft die Transkription bis zu einem Terminatorbereich (Terminationssequenz), der die RNA-Polymerase zur Ablösung der DNA veranlasst. In eukaryontischen Zellen transkribiert die RNA-Polymerase II eine weitere Sequenz hinter dem codierenden Bereich, das Polyadenylierungssignal (Poly-A-Signal), das als AAUAAA-Sequenz in der mRNA auftaucht. Zehn bis 35 Nucleotide stromabwärts dieses Signals wird das wachsende Transkript von der Polymerase abgeschnitten.

16.3. RNA-Prozessierung in eukaryontischen Zellen

Die RNA-Prozessierung umfasst die Veränderung der beiden Enden, sowie das Spleissen des Primärtranskripts. Danach kann die reife mRNA den Zellkern verlassen.

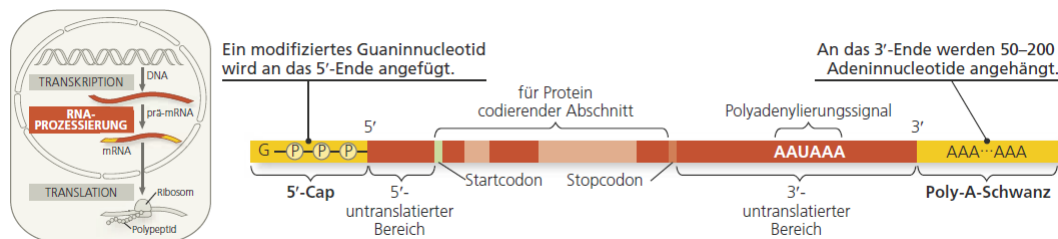
16.3.1. Veränderungen der beiden Enden einer eukaryontischen mRNA

Die beiden Enden werden wie folgt modifiziert:

5'-Ende Noch während der Transkription wird an das 5'-Ende eine sogenannte **5'-Cap-Struktur** angebracht, ein umgebildetes Guanin-Nucleotid.

3'-Ende Am 3'-Ende fügt ein Enzym 50-200 Adeninnucleotide an und es bildet sich ein sogenannter **Poly-A-Schwanz**.

Durch diese Modifikation wird die mRNA vor einem vorzeitigen Abbau durch Ribonucleasen geschützt. Zudem sind beide Bereiche für die Bindung eines Ribosoms notwendig. Folgende Abbildung zeigt schematisch die **nicht-translatierten Bereiche (UTRs)** einer mRNA. Das sind die eben besprochenen Bereiche, die nicht in eine Peptidsequenz übersetzt werden.



16.3.2. RNA-Spleissen

Beim RNA-Spleissen werden nicht-codierende Abschnitte (**Introns**) aus der mRNA entfernt, sodass nur noch codierende Abschnitte (**Exons**) verbleiben, die von einem Start- und einem Stopcodon begrenzt werden. Beim Menschen machen Introns etwa 95% aus. Die Begriffe Intron und Exon werden sowohl bei der DNA als auch bei der RNA verwendet.

Kleine, als **Zellkern-Ribonucleoproteine (small nuclear Ribonucleoprotein, snRNPs)** bezeichnete Molekülaggregate aus RNA und Proteinen, erkennen Spleissstellen (bestimmte Nucleotidfolgen an den Enden eines Introns) und bilden zusammen mit anderen snRNPs und Proteinen einen größeren Verbund (das **Spleissosom**), der dann das Intron herausschneidet. In Abbildung 16.2 wird der Vorgang illustriert und beschrieben.

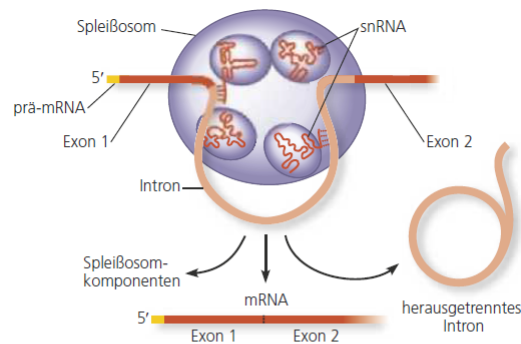


Abbildung 17.12: Die Rolle der snRNPs und der Spleißosomen beim Spleißen der prä-mRNA. Die Schemazeichnung zeigt einen Teil eines Primärtranskripts (prä-mRNA), mit einem Intron (beige), das von zwei Exons (orange) eingeschlossen wird. Weitere Introns und Exons liegen stromabwärts (3') von den hier dargestellten. Die RNAs in kleinen Zellkern-Ribonucleoproteinen (snRNPs; engl. *small nuclear ribonucleoproteins*) des Spleißosoms („Spleißkörperchen“) gehen Basenpaarungen mit bestimmten Intronsequenzen ein. Das Spleißosom zerschneidet dann die prä-mRNA, setzt ein Intron frei, das schnell abgebaut wird, und spleißt die angrenzenden Exons zusammen. (Die „Lassostruktur“ des herausgetrennten Introns entsteht durch eine kovalente Verknüpfung eines Endes mit der internen TACTAAC-Box.)

Figure 16.2.: Vorgang des RNA-Spleissens

Durch **alternatives Spleissen** kann ein Gen für verschiedene Proteine codieren, je nachdem welche Exons in der reifen mRNA auftauchen. Hierzu passt auch, dass Proteine oft modular aus Bau- und Funktionsbereichen aufgebaut sind, die Domänen genannt werden. Oft entsprechen Exons einer solchen Domäne. So kann relativ flexibel z.B. die Bindungsstelle für die Membranverankerung entfernt, oder das aktive Zentrum ausgetauscht werden. Das ist auch eine interessante Spielwiese für die Evolution (Stichwort Exon-Shuffling¹).

16.3.3. Ribozyme

Ribozyme sind RNA-Moleküle, die eine bestimmte chemische Reaktion katalysieren können, also wie ein Enzym wirken. So können z.B. bei einigen Organismen die Introns ihre eigene Exzision katalysieren, indem sie als Ribozym wirken.

Drei Eigenschaften der RNA tragen zu ihrer katalytischen Aktivität bei:

- RNA-Moleküle sind in der Regel einzelsträngig, können somit Basenpaarungen mit sich selbst ausbilden und so eine spezifische räumliche Struktur erhalten.
- RNA-Moleküle besitzen an den Basen funktionelle Gruppen wie die Aminosäurereste, die an einer katalytischen Reaktion beteiligt sein können.
- Komplementäre Basenpaarungen sorgen für die notwendige Spezifität.

16.4. Die Translation

Die Translation ist bei Eukaryonten wesentlich komplizierter als bei Prokaryonten. Darum werden hier im Wesentlichen die grundlegenden Vorgänge erläutert, die bei beiden Lebensformen vorkommen.

¹Durch Fehler während der meiotischen Rekombination können verschiedene Exone innerhalb eines Gens oder zwischen zwei nichtallelischen Genen vermischt werden. Dieser Vorgang kann zu neuen Proteinfunktionen oder zur Kombination bestimmter Eigenschaften führen.

16.4.1. Die molekularen Komponenten des Translationsapparats

Transfer-Ribonucleinsäuren (tRNA)

Die Funktion der tRNA besteht darin, Aminosäuren aus dem Cytoplasma zu den Ribosomen zu bringen. Dazu hat die tRNA erstens eine einem Codon komplementäre Sequenz (**Anticodon**), die der Erkennung auf der mRNA dient, und zweitens eine Bindungsstelle für eine bestimmte Aminosäure.

Die Verknüpfung der tRNA mit der entsprechenden Aminosäure vermittelt eine Gruppe von Enzymen mit der allgemeinen Bezeichnung **Aminoacyl-tRNA-Synthetase (AA-tRNA-Synthetase)**. Für jede Aminosäure gibt es eine spezifische AA-tRNA-Synthetase. Es gibt also mehr als 20 davon, weil sie neben der Aminosäure auch das Anticodon erkennen müssen. Das Reaktionsprodukt wird als **Aminoacyl-tRNA** bezeichnet und ist bereit, sich vom Enzym zu lösen und für die Translation zum Ribosom zu gelangen.

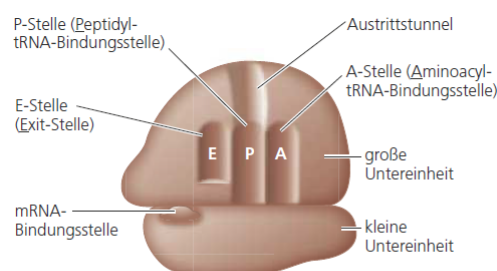
tRNAs werden wie andere Formen der RNA durch Transkription anhand einer DNA-Matrize gebildet, verlassen dann den Zellkern und werden jeweils mehrfach verwendet. Es gibt rund 45 verschiedene tRNAs, nicht 61, weil die Paarung der dritten Base des Codons weniger bedeutend ist. So kann sich die Base U in der 5'-Position des Anticodons mit A oder G in der letzten (3')-Position des Codons paaren. Diese Flexibilität wird als **Wobbling** bezeichnet.

Die Ribosomen

Die ribosomalen Untereinheiten setzen sich aus Proteinen und ribosomalen Ribonucleinsäuren (rRNA) zusammen. In eukaryontischen Zellen werden die Untereinheiten der Ribosomen im Bereich des Nucleolus im Zellkern zusammengebaut. Die rRNAs werden an ihren Genorten der chromosomalen DNA transkribiert. Die prozessierten Transkripte werden dann mit aus dem Cytoplasma importierten Proteinen zu einem geordneten Komplex zusammengefügt. Die beiden Untereinheiten werden als Ganzes, aber unabhängig voneinander durch die Kernporen in das Cytoplasma exportiert. Sowohl in Pro-, wie auch in Eukaryonten lagern sich die beiden Untereinheiten nur in Anwesenheit einer mRNA zu einem vollständigen Ribosom zusammen.

Die Ribosome von Bakterien und Eukaryonten sind sehr ähnlich, wobei jene von Eukaryonten grösser sind und auch sonst etwas anders aufgebaut. Dies ist z.B. bei einem Antibiotika wichtig, das die Aktivität von bakteriellen Ribosomen hemmt.

Zusätzlich zu einer Bindungsstelle für eine mRNA verfügt jedes Ribosom über drei Bindungsstellen für tRNA-Moleküle. Die **P-Stelle (Peptidyl-tRNA-Stelle)** hält die tRNA gebunden, an der die wachsende Polypeptidkette befestigt ist. Die **A-Stelle (Aminoacyl-tRNA-Stelle)** bindet die beladene tRNA, die zu dem gerade translatierten Codon der mRNA gehört. Die von ihrem Aminoacylrest befreiten tRNA-Moleküle verlassen das Ribosom über die **E-Stelle (Exit- bzw. Export-Stelle)**.



(b) Schematische Darstellung der Bindungsstellen. Ein Ribosom besitzt eine mRNA-Bindungsstelle und drei tRNA-Bindungsstellen, die als A-, P- und E-Stelle bezeichnet werden. Dieses schematisierte Ribosom wird in späteren Abbildungen weiterverwendet.

Das Ribosom katalysiert die Umlagerung des Aminoacylrests und die Bildung der neuen Peptidbindung. Dabei sind die RNA-Anteile der Ribosome für deren Struktur und Funktion von grösserer Bedeutung als die Proteine. An der P- und A-Stelle wirken im Wesentlichen rRNA-Moleküle, sie katalysieren die Ausbildung der Peptidbindung. Ein Ribosom kann somit als grosses Ribozym betrachtet werden.

16.4.2. Die Biosynthese von Polypeptiden

Für bestimmte Teilschritte der Initiation und der Elongation muss Energie aufgewendet werden, die in diesem Fall aus der Hydrolyse von Guanosintriphosphat (GTP) stammt. Dieses ist eng mit ATP verwandt.

Zusammenbau der ribosomalen Untereinheiten und Initiation der Translation

Der Zusammenbau und die Initiation geschieht in folgender Abfolge, wobei bei Bakterien die kleine Untereinheit die beiden Moleküle in beliebiger Reihenfolge binden kann:

1. Die kleine ribosomale Untereinheit lagert zunächst eine spezielle, methioninspezifische **Initiator-tRNA^{Met}** an.
2. Die Untereinheit erkennt dann die 5'-Cap-Struktur der mRNA als Eintrittsstelle und bewegt sich stromabwärts, bis das Anticodon der Initiator-tRNA^{Met} komplementäre AUG-Startcodon erreicht ist.
3. Es folgt die Anlagerung der grossen ribosomalen Untereinheit. Damit ist der **Translations-Initiations-Komplex** vollständig ausgebildet.
4. Die P-Stelle ist besetzt und dessen Aminosäure (Methionin) bildet das Aminoende (N-Terminus) jeder Peptidkette. Die A-Stelle ist frei und bereit für die Aufnahme ihrer ersten Aminoacyl-tRNA.
5. Die Synthese schreitet bis zum Carboxyl-Ende (Carboxy-Terminus) fort.

Für die richtige Zusammenlagerung all dieser Komponenten sind spezielle Proteine, die **Initiationsfaktoren** verantwortlich. Die Zelle verbraucht ausserdem Energie in Form von GTP, um den Initiationskomplex auszubilden.

Die Verlängerung (Elongation) der Polypeptidkette

Die Elongation ist in der Abbildung 16.3 illustriert. Dabei werden in den Schritten 1 und 3 Energie verbraucht. Zur Erkennung des Codons wird GTP hydrolysiert, um die Effizienz und Genauigkeit dieses Schrittes zu gewährleisten. Bei jeder neuen Verknüpfung sind mehrere Proteine, die sogenannten **Elongationsfaktoren** beteiligt.

Die Termination der Translation

Die Verlängerung setzt sich fort, bis ein Stopp-Codon der mRNA in der A-Stelle des Ribosoms zu liegen kommt. Ein wie eine tRNA geformtes Protein, der **Freisetzungsfaktor (RF)** bindet an das Stopp-Codon. Anstelle einer Aminosäure setzt er ein Wassermolekül ein, sodass die Bindung zwischen dem Peptidylrest und der ihn tragenden Peptidyl-tRNA hydrolysiert wird. Die Polypeptidkette wird freigesetzt und gelangt durch den Austrittstunnel in der grossen Untereinheit in das Cytoplasma. Der Rest des Translationsapparats zerfällt dann in einem mehrstufigen Prozess, an dem weitere Proteinfaktoren beteiligt sind. Diese Dissoziation erfordert Energie aus der Hydrolyse von zwei GTP-Molekülen.

16.5. Vom Polypeptid zum funktionsfähigen Protein

16.5.1. Proteinfaltung und posttranslationale Modifikation

Noch während der Synthese beginnt ein Polypeptid sich zu einer spezifischen Struktur zu falten, die neben der Aminosäuren auch von der Umgebung und **Faltungshelferproteinen (Chaperone)** abhängig ist.

Es folgen weitere Schritte in Form von **posttranslationaler Modifikation**:

- Bestimmte Aminosäurereste können durch die kovalente Bindung von Glykosylresten (Zuckern), Lipiden, Phosphatgruppen oder anderen chemischen Modifikationen verändert werden.
- Enzyme können auch einen oder mehrere Aminosäurereste vom Amino-Ende abspalten oder das Protein in kleinere Peptide zerlegen (**partielle Proteolyse**).

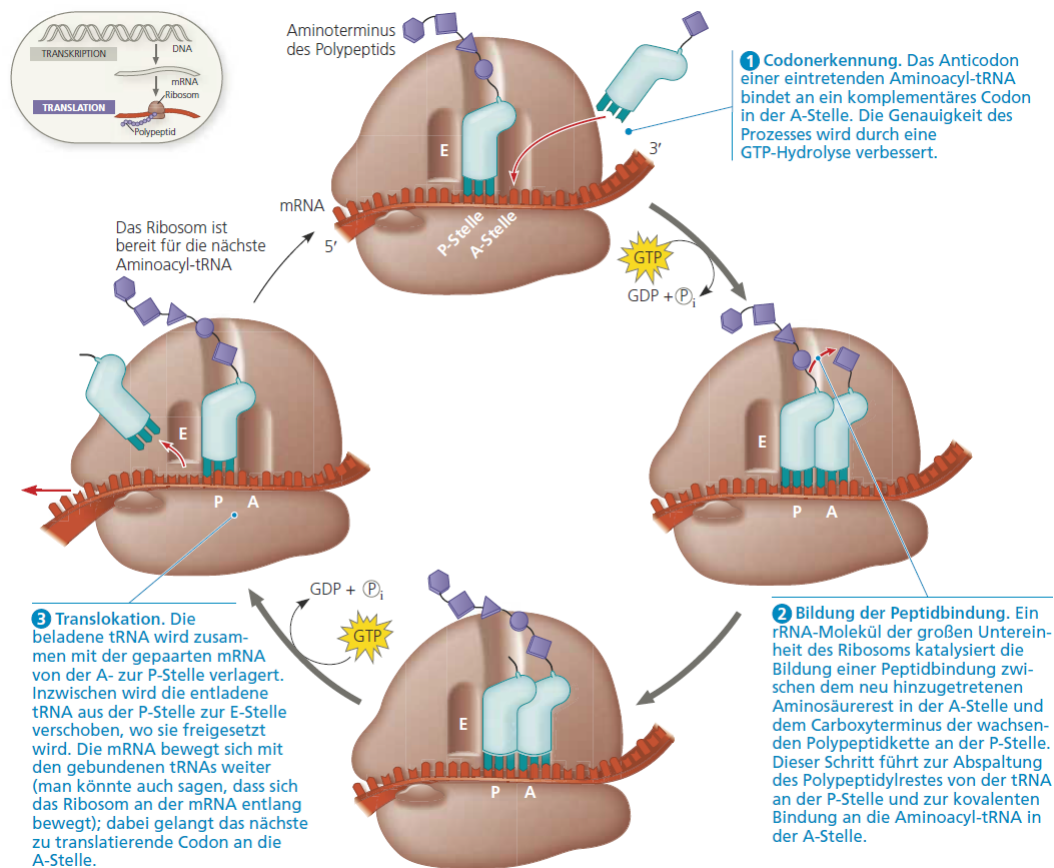


Figure 16.3.: Der Elongationszyklus der Translation

- In anderen Fällen treten zwei oder mehr Polypeptidketten, die unabhängig voneinander synthetisiert worden sind, zusammen und werden so zu Untereinheiten eines multimeren Proteins mit einer Quartärstruktur.

16.5.2. Der Transport von Polypeptiden an bestimmte Zielorte

Bekanntlich gibt es freie Ribosome, die Proteine synthetisieren, die im Cytoplasma verbleiben, und solche, die an die ER-Membranen (cytosolische Seite) gebunden sind, und Proteine für das ER oder von der Zelle sezernierte Proteine herstellen. Beide Ribosomen sind identisch und austauschbar.

Die Polypeptidsynthese beginnt in jedem Fall im Cytosol, wo ein freies Ribosom mit der Translation beginnt. Falls sich das Ribosom am ER anlagern soll, wird dieser Prozess durch die wachsende Polypeptidkette, genauer durch eine Folge von etwa 20 Aminosäuren (**Signalpeptid**) ganz zu Beginn, initiiert. Das Signalpeptid wird von einem als **Signalerkennungspartikel (SRP)** bezeichneten RNA/Protein-Komplex erkannt und gebunden. Der weitere Verlauf ist in Abbildung 16.4 dargestellt. Das Polypeptid wird nach der Synthese entweder in die Membran eingebettet (integrales Membranprotein) oder mithilfe von Transportvesikel an seinen eigentlichen Zielort in der Zelle gebracht.

Andere Signalpeptide bestimmen den Transport von Polypeptiden zu den Mitochondrien, den Plastiden, in den Zellkern oder zu anderen Organellen. Der Unterschied besteht hier darin, dass die Translation vollständig im Cytosol abläuft und das fertige, komplett oder teilweise gefaltete Protein in das Organell importiert wird. Auch Bakterien benutzen Signalpeptide, um Proteine zu kennzeichnen, die in die Plasmamembran eingebaut oder aus der Zelle ausgeschleust werden sollen.

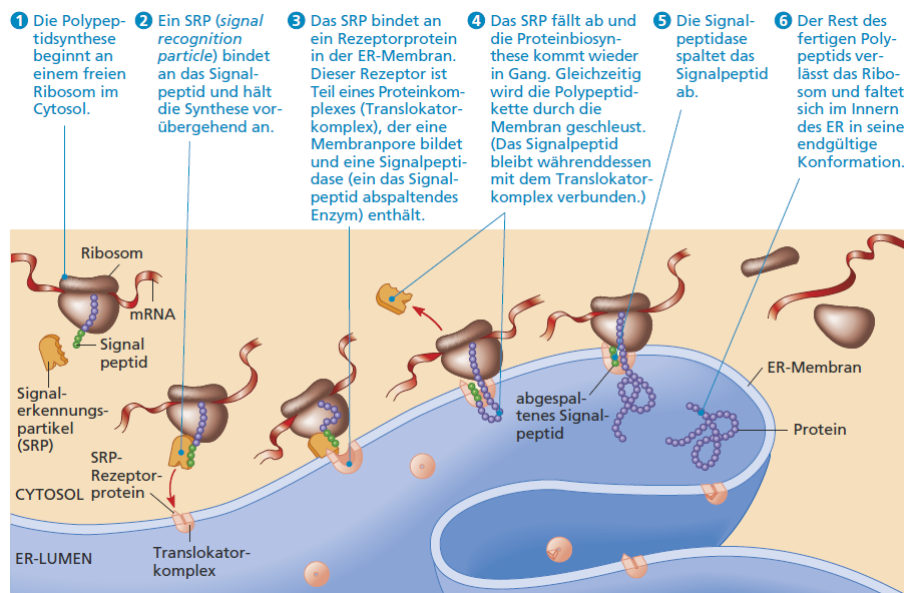


Figure 16.4.: Der Signalmechanismus für den Transport von Proteinen zum ER.

16.6. Punktmutationen

16.6.1. Arten von Punktmutationen

Basenpaar-Substitutionen

Basenpaar-Substitutionen lassen sich weiter unterteilen:

Stumme Mutation Wenn ein Basenpaar so substituiert wird, dass das daraus entstehende Codon immer noch für dieselbe Aminosäure codiert.

Missense-Mutation (Fehlsinn) Wenn das neue Codon für eine andere Aminosäure codiert. Das Protein mit der anderen Aminosäure kann immer noch sehr ähnliche Eigenschaften haben. Liegt die Substitution aber in einem funktionell wichtigen Teil des Proteins (z.B. im aktiven Zentrum eines Enzyms) kann die Funktion des Proteins verändert werden. Häufig sind solche Substitutionen nachteilig und führen schlimmstenfalls zur Funktionslosigkeit, können aber durchaus auch zu einer veränderten, unter bestimmten Umständen besseren Funktion des Proteins führen.

Nonsense-Mutation (Unsinn) Wenn eine Punktmutation zu einem Stopp-Codon führt.

Insertionen und Deletionen

Solche Mutationen haben vor allem dann schwerwiegende Folgen, wenn die Zahl der Basen-Einschübe oder -Ausfälle keine Vielfachen von drei sind und somit zu einem veränderten Leseraster führen (**Rasterschubmutation** resp. **Frameshift-Mutation**). Eine solche Mutation führt zudem häufig zu einem verfrühten Stopp-Codon.

16.6.2. Neue Mutationen und Mutagene

Mutationen können verschiedene Ursachen haben:

- Fehler während der Replikation der DNA oder Rekombinationen können zu Substitutionen, Deletionen, Insertionen oder anderen grösseren Veränderungen der DNA führen. Wenn ein Fehler bei der Replikation nicht korrigiert wird, bleibt sie erhalten und man spricht von einer **spontanen Mutation**.

- Mutationen können durch viele physikalische Einflüsse und chemische Substanzen, die allgemein als **Mutagene** bezeichnet werden, hervorgerufen werden. Man kann Mutagene verschiedenen Gruppen zuordnen:
 - **Basenanaloga** sind Stoffe, die anstelle der normalen Nucleobasen in die Nucleinsäuren eingebaut werden.
 - Andere mutagene Stoffe stören die Replikation der DNA, indem sie sich zwischen den Basenpaaren der DNA einlagern (interkalieren) und so die Doppelhelixstruktur stören.
 - Reaktive Substanzen können die Basen chemisch modifizieren und so die Basenpaarungen verändern.

16.6.3. Definition eines Gens

Ein Gen ist ein DNA-Bereich, der exprimiert werden kann und dabei entweder ein Polypeptid oder ein RNA-Molekül als Endprodukt mit einer Funktion herstellt.

17. Regulation der Genexpression

In Abbildung 17.1 ist eine Übersicht über die verschiedenen Möglichkeiten zur Regulation der Genexpression.

17.1. Regulation der Transkription bei Bakterien

17.1.1. Das Operon-Konzept

Häufig sind mehrere Gene, deren Genprodukte zusammen funktionieren, auf der DNA direkt aufeinanderfolgend lokalisiert. Sie haben alle ihr eigenes Start- und Stop-Codon und somit ein eigenes **offenes Leseraster** (der Bereich zwischen Start- und Stopp-Codon), aber nur einen Promotor und bilden so eine Gengruppe, eine sogenannte **Transkriptionseinheit**. Ein Beispiel sind die Gene, die für Enzyme codieren, die die Reaktionen bei der Synthese der Aminosäure Tryptophan (Trp) katalysieren. Bei der Transkription wird nur ein mRNA-Molekül synthetisiert, bei der Translation aber verschiedene Proteine hergestellt. Dies erleichtert die Regulation von Trp, weil es nur einen "Schalter" braucht, um den ganzen Biosyntheseweg zu kontrollieren. Bei diesem Schalter handelt es sich um einen Operator.

Operator Er liegt entweder im Promotor oder zwischen diesem und dem Beginn des offenen Leserasters und kontrolliert den Zugang der RNA-Polymerase zu den codierenden Genbereichen.

Operon Es setzt sich aus einer Transkriptionseinheit mit den offenen Leserastern und den zugehörigen Steuerelementen, Promotor und Operator, zusammen. Im Grundzustand ist das Operon "angeschaltet". Die RNA-Polymerase kann sich an den Promotor binden und die Gene transkribieren.

Regulatorprotein Es kann entweder ein Repressor oder ein Aktivator sein.

Repressor Er kann sich an die DNA-Sequenz des Operators binden und so den Zugang für die RNA-Polymerase verhindern. Rezeptorproteine sind im Allgemeinen spezifisch für ein bestimmtes Operon.

Aktivator Dieser kann sich an die DNA anlagern und die Transkription eines Gens fördern (siehe 17.1.3).

Regulatorgen Es codiert für den Repressor, befindet sich weiter entfernt auf dem Bakterienchromosom und wird von einem eigenen Promotor kontrolliert. Regulatorgene werden i.d.R. ständig, aber nur schwach exprimiert. Es gibt also nur wenige Repressor-Moleküle in einer Zelle.

Co-Repressor Ein kleines Molekül, das einen Repressor durch seine Bindung aktiviert (allosterisches Effektormolekül).

Die Aktivität des Repressors unterliegt einer allosterischen Regulation (siehe Kapitel 5.3.3, Seite 30). Das heisst, es kann entweder in einer aktiven oder inaktiven Konformation vorliegen. Gleich nach seiner Synthese ist der trp-Repressor inaktiv. Wird aber die allosterische Bindungsstelle durch Tryptophan als Effektormolekül besetzt, nimmt das Protein seine aktive Konformation ein und lagert sich an den Operator des Operons an, um es abzuschalten. Das Tryptophan selbst wirkt hier als Co-Repressor. Die Vorgänge sind in Abbildung 17.2 illustriert.

17.1.2. Zwei Formen der negativen Regulation der Genexpression

Bei der negativen Regulation kann die Transkription durch die Bindung eines Moleküls in seiner aktiven Konformation unterdrückt werden.

Das oben beschriebene trp-Operon wird auch als reprimierbares Operon bezeichnet, weil es normalerweise transkribiert, und erst durch die Bindung eines aktiven Repressors stillgelegt wird. Diese Art der Kontrolle wird vor allem in anabolen Stoffwechselwegen verwendet, weil ein Molekül seine eigene Expression

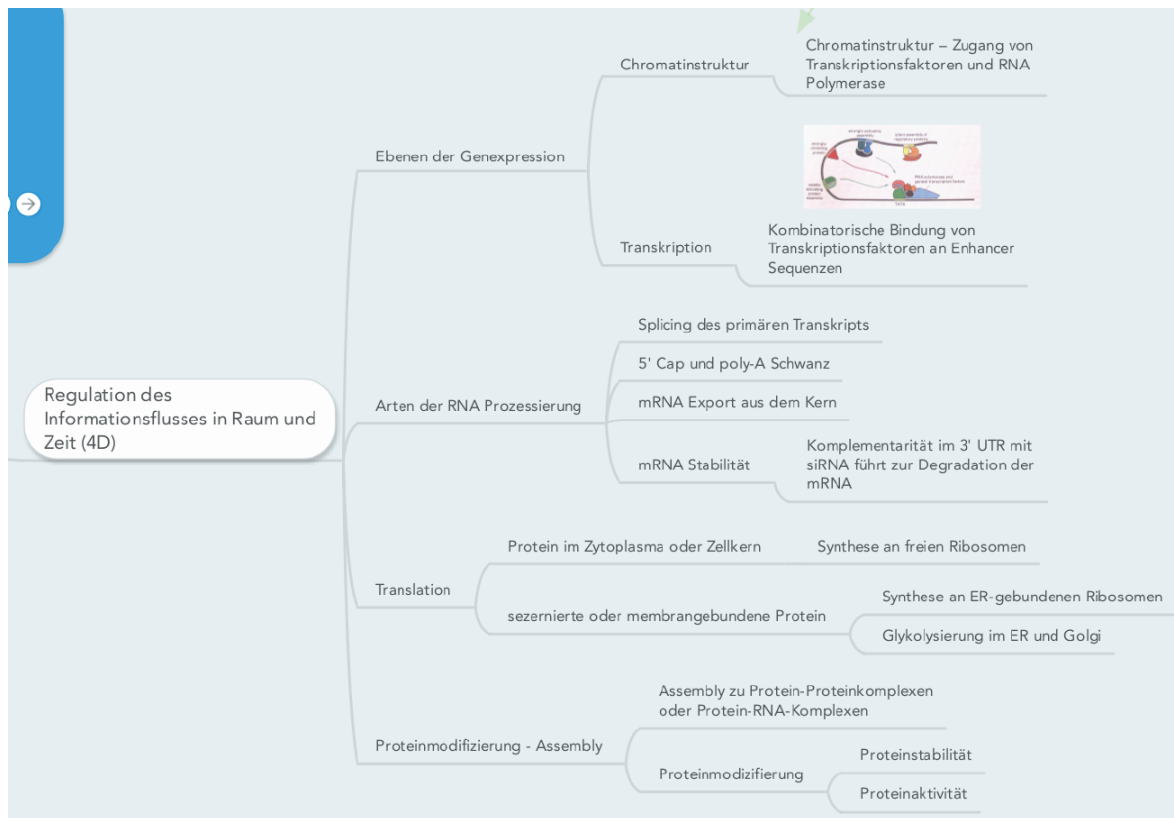


Figure 17.1.: Übersicht über die Möglichkeiten zur Regulation der Genexpression

hemmen kann, sodass nicht zu viel der Substanz hergestellt wird. Im Gegensatz dazu wird ein **induzierbares Operon** im Grundzustand nicht transkribiert, kann aber angeschaltet werden, wenn ein kleines Molekül an sein Regulatorprotein bindet (siehe nächster Abschnitt und Abbildung 17.3). Man bezeichnet diese Art von Kontrolle als **Induktion** und das kleine Molekül als **Induktor**. Induzierbare Operone gibt es vor allem in katabolen Stoffwechselwegen, weil die Anwesenheit eines Stoffs die Transkription anregen kann. Bemerke: Auch hier blockiert der aktive Repressor durch seine Bindung die Transkription. Induzierbare Operone gehören also wie die reprimierbaren Operone zur negativen Regulation der Genexpression.

Zum Beispiel wird in *E.coli* das Enzym zum Abbau von Lactose nur hergestellt, wenn auch tatsächlich Lactose im umgebenden Medium vorhanden ist. Dieses lac-Operon ist grundsätzlich gleich aufgebaut wie das trp-Operon. Auch hier wird ausserhalb des Operons für den allosterisch regulierbaren Repressor codiert. Im Gegensatz zum trp-Repressor ist der lac-Repressor für sich aber bereits aktiv und wird durch ein Effektormolekül inaktiviert und das Operon kann transkribiert werden. In diesem Beispiel ist der Induktor nicht Lactose selbst, sondern Allolactase, das in geringen Mengen aus Lactose hergestellt wird. Hier wird also durch das Vorhandensein eines Stoffs die Transkription angeregt, während bei der reprimierbaren Kontrolle die Anwesenheit eines Stoffs die Transkription hemmt. Der einzige Unterschied ist aber jener, dass der Repressor im Standardzustand bei der reprimierbaren Kontrolle inaktiv ist, und bei der induzierbaren Kontrolle aktiv.

Die beim Lactose-Abbau beteiligten Enzyme werden auch als **induzierbare Enzyme** bezeichnet, während jene zur Synthese von Tryptophan als **reprimierbare Enzyme** bezeichnet werden.

17.1.3. Positive Regulation der Genexpression

Das lac-Operon kann auch positiv reguliert werden. Wenn die Glucose im umgebenden Medium einer *E.coli*-Zelle knapp wird, reichert sich cAMP in der Zelle an. cAMP kann sich an das Regulatorprotein

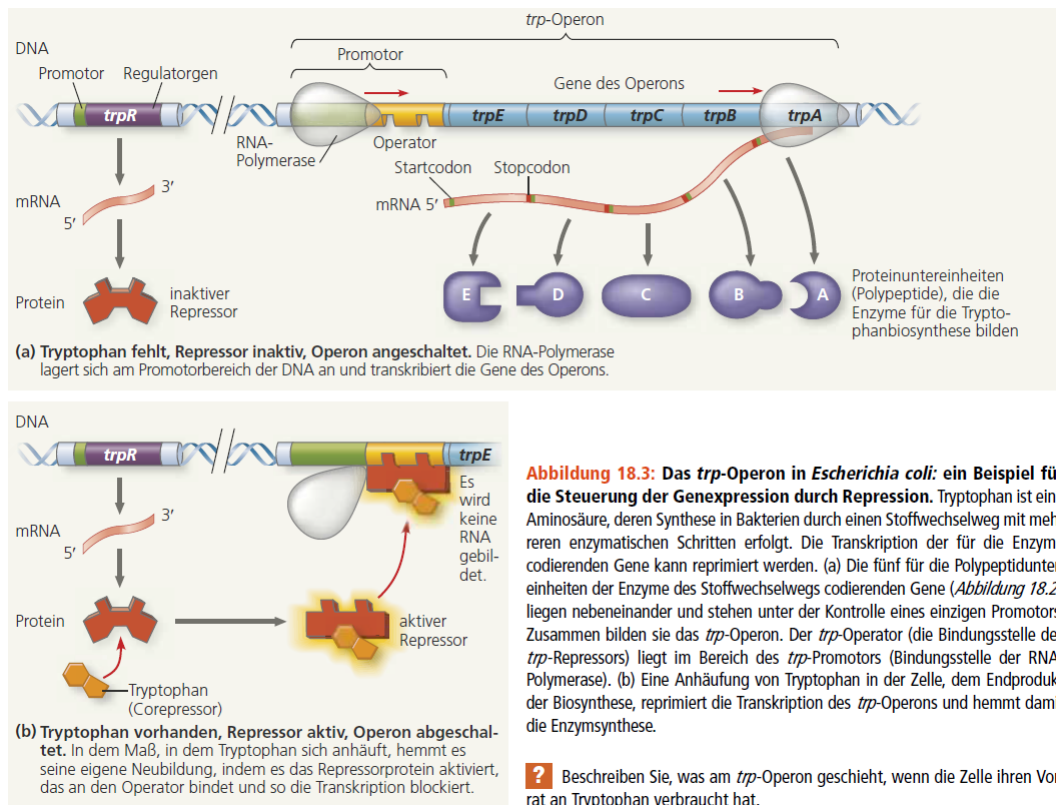


Figure 17.2.: Das reprimierbare trp-Operon

Kataboliten-Aktivator-Protein (CAP) binden und dieses so aktivieren. Der aktivierte Aktivator bindet sich dann stromaufwärts an den Promotor des Operons. Diese Anlagerung erhöht die Affinität der RNA-Polymerase zum Promotor, die normalerweise auch dann gering ist, wenn der lac-Repressor nicht gebunden ist. Man spricht in diesem Fall von positiver Regulation.

In diesem Beispiel unterliegt das lac-Operon also doppelter Kontrolle. Der Repressor legt fest, ob das Operon überhaupt transkribiert wird, und der Aktivator bestimmt die Transkriptionsrate.

17.2. Regulation der Genexpression bei Eukaryonten

Bei Eukaryonten gibt es mehrere Möglichkeiten zur Regulation, weil erstens die DNA anders aufgebaut ist (Bakterien besitzen keine Histone), und die mRNA nicht während der Transkription translatiert wird, sondern zuerst noch den Zellkern verlassen muss. Die Regulation der Genexpression erfolgt aber bei allen Lebewesen als erste Stufe bei der Transkription. Diese Regulation erfolgt häufig als Reaktion auf äussere Signale wie Hormone und andere Signalmoleküle.

17.2.1. Regulation der Chromatinstruktur

Durch das Chromatin wird die DNA nicht nur dicht gepackt, es dient auch zur Regulation der Genexpression. Sowohl die Lage eines Promotors (auf oder zwischen den Nucleosomen), als auch seine Entfernung zu den Anheftungsstellen der DNA an das Kerngerüst oder die Kernlamina, können sich auf die Transkription auswirken.

Modifikation von Histonen und DNA-Methylierung

Posttranslationale Modifikationen der Histone (positiv geladene Proteine, um die sich die DNA in den Nucleosomen windet) beeinflusst direkt die Transkription von Genen. "Angriffspunkte" für solche Modi-

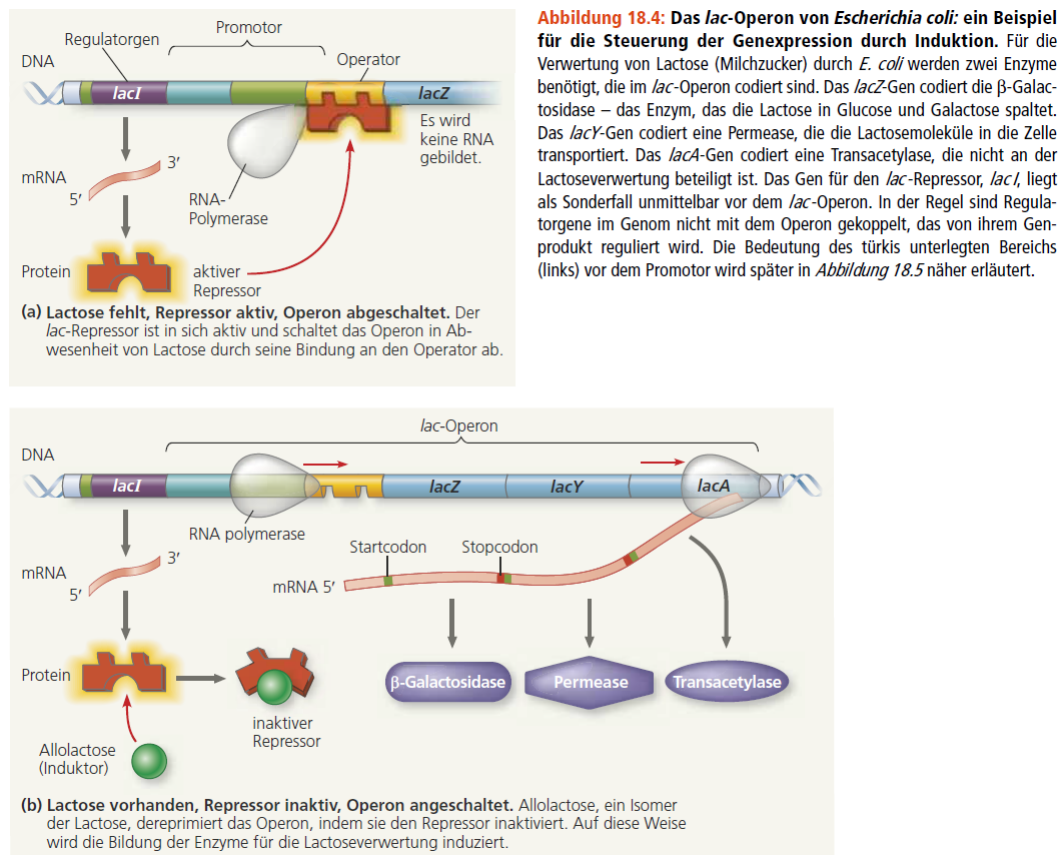


Figure 17.3.: Das induzierbare lac-Operon

fikationen sind die aminoterminalen Enden aller acht Histonmolekülen, die aus einem Nucleosom heraus ragen (\rightarrow Abb. 17.4). Die Modifikation umfasst das Anheften und Abspalten funktioneller Gruppen wie Acetyl-, Methyl- und Phosphatgruppen:

- Im Allgemeinen wird durch **Histonacetylierung** (Acetylrest: $C(O)CH_3$) das Chromatin gelockert. Vermutlich weil dadurch ein Teil der positiven Ladung der Lysin-Reste neutralisiert wird, was zu einer schwächeren Interaktion mit der DNA führen könnte.
- **Histonmethylierung** führt dagegen meistens zu einer Verdichtung des Chromatins.

Neben den Enzymen die die Histone methylieren, gibt es **DNA-Methylasen**, die Methylgruppen an die DNA heften. Diese Methylierung der DNA führt in der Regel zu einer verringerten Transkription.

Das einmal festgelegte Muster der DNA-Methylierung bleibt in der Regel auch in allen folgenden Zellteilungen in einem Individuum erhalten. Ist der Matrizenstrang einer DNA methyliert, so methylieren die zuständigen Enzyme nach jeder Replikationsrunde auch den neu gebildeten Molekülstrang. Ein auf diese Weise weitergegebenes Muster des Erbgutes ist für die **genomische Prägung** verantwortlich, bei der festgelegt wird, ob ein bestimmtes Allel des Vaters oder der Mutter ausgeprägt wird.

Epigenetische Vererbung

Die Weitergabe von Merkmalen durch nicht direkt an die DNA-Sequenz gebundene Mechanismen, bezeichnet man als **epigenetische Vererbung**. Modifikationen des Chromatins können im Gegensatz zu Mutationen rückgängig gemacht werden. Beispielsweise werden während der Bildung der Gameten die DNA-Methylierungsmuster weitgehend gelöscht und neu gesetzt.

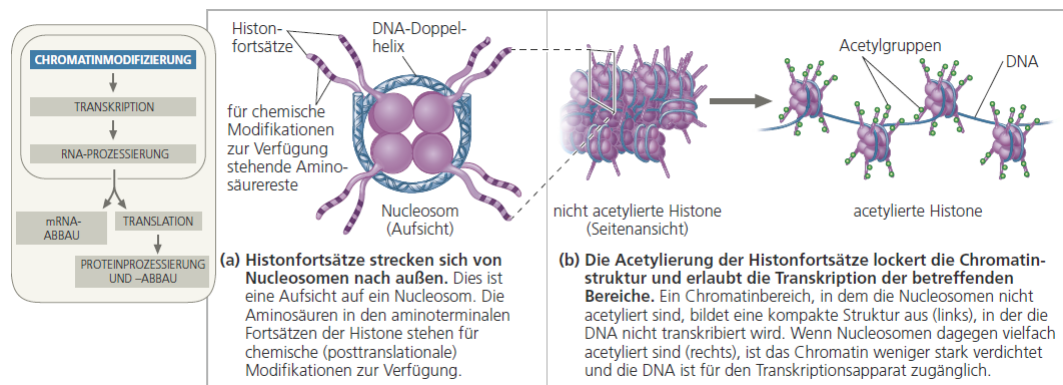
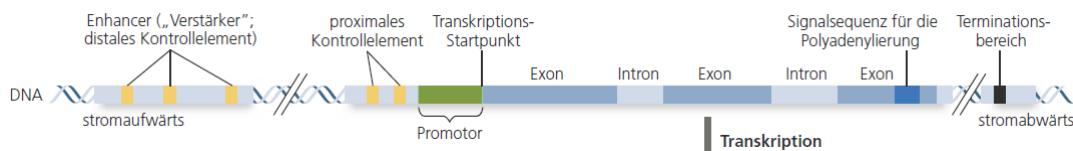


Figure 17.4.: Ein vereinfachtes Modell zur Acetylierung von Histonfortsätzen

17.2.2. Regulation der Transkriptionsinitiation

Ist das Chromatin erst soweit modifiziert, dass es eine Genexpression begünstigt, dann stellt die Initiation der Transkription den nächsten Schritt dar, der reguliert werden kann. Wie bei den Bakterien sind auch bei Eukaryonten DNA-bindende Proteine beteiligt, die eine Bindung der RNA-Polymerase entweder fördern oder behindern. Der Vorgang ist in eukaryontischen Zellen aber komplizierter.

Zu den meisten eukaryontischen Genen gehört eine Reihe von **Kontrollelementen**. Das sind DNA-Abschnitte, die durch die Bindung bestimmter Proteine die Transkription steuern. Kontrollelemente in der Nähe des Promotors werden als **proximale Kontrollelemente** bezeichnet. Solche, die weit stromaufwärts, stromabwärts oder sogar innerhalb eines Introns liegen, bezeichnet man als **Enhancer**. Wichtig: In der Vorlesung wird der Begriff CRE (cis-regulatory elements) anstatt Enhancer verwendet, ist aber dasselbe. Die Expression eines einzelnen Gens kann von mehreren Enhancern abhängig sein, jeder Enhancer wirkt in der Regel aber nur für ein bestimmtes Gen.



Die Tatsache, dass die Enhancer weit vom Gen entfernt sein können, wird durch **DNA-Looping** ermöglicht, das verschiedenste Bereiche der DNA zufälligerweise immer wieder in die Nähe zueinander bringen. Das ermöglicht der Evolution Vorteile:

- Grosse Flexibilität in der Genregulation.
- Informationsintegration weil ein Enhancer mehrere eventuell überlappende Bindungsstellen für Transkriptionsfaktoren enthalten kann, die entweder als Aktivatoren oder Repressoren wirken können. Je nach dem, welche Art überwiegt, wird die Genexpression entweder gefördert oder vermindert.
- DNA-Brüche führen zu Neukombination von solchen Enhancern, was wiederum eine Spielwiese für die Evolution ist.

Die Rolle der Transkriptionsfaktoren

Transkriptionsfaktoren sind Kontrollproteine, mit denen die RNA-Polymerase wechselwirken muss, um mit der Transkription beginnen zu können.

Allgemeine Transkriptionsfaktoren werden für die Transkription aller proteincodierenden Gene benötigt. Nur wenige von ihnen binden an eigene Erkennungssequenzen wie die TATA-Box innerhalb der Promotorregion. Die anderen wechselwirken untereinander und mit anderen Proteinen, einschliesslich der RNA-Polymerase II. Solche Proteinwechselwirkungen sind äusserst wichtig für die Initiation der Transkription

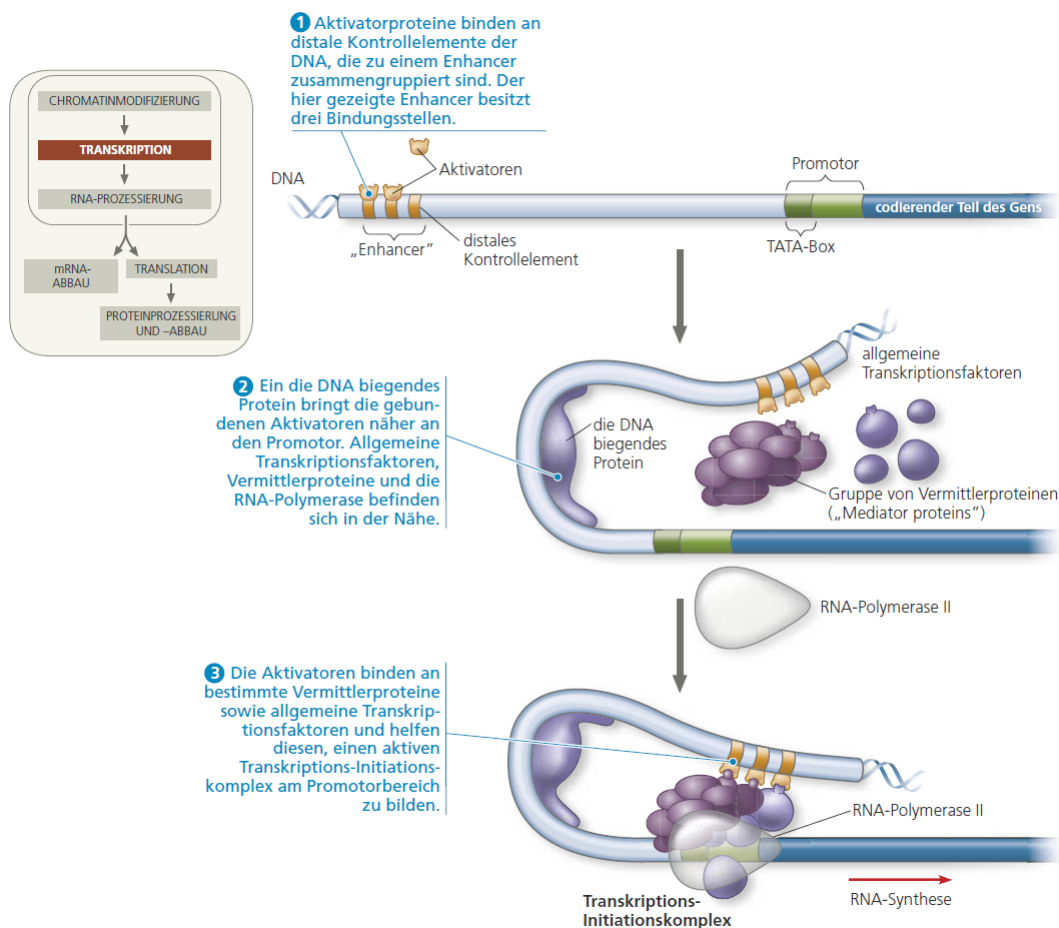


Figure 17.5.: Ein Modell für die Wirkung Enhancerelementen und Transkriptionsfaktoren

bei Eukaryonten. Erst nach dem Aufbau des gesamten **Initiationskomplexes** kann die RNA-Polymerase mit dem Ablesen beginnen.

Spezifische Transkriptionsfaktoren sind für eine hohe Transkriptionsrate erforderlich. Sie haben jeweils zwei Domänen: Eine **DNA-Bindungsdomäne**, die den Kontakt zur DNA herstellt, und eine **Aktivierungsdomäne**, die mit Komponenten des Transkriptionsapparates wechselwirkt um die Transkription zu fördern. Solche aktivierenden oder reprimierenden Proteine binden sich an Enhancer. Ein Transkriptionsfaktor kann jeweils mehrere dieser beiden Domänen besitzen. Die am Enhancer gebundenen Aktivatoren treten über weitere Vermittlerproteine mit denjenigen Proteinen in Kontakt, die am Promotor gebunden sind. Diese Protein/Protein-Wechselwirkungen fördern die Zusammenlagerung und Ausrichtung des Initiationskomplexes am Promotor. Dieser Ablauf ist in Abbildung 17.5 illustriert.

Transkriptionsfaktoren, die die Genexpression reprimieren, können auf verschiedene Weisen ihre hemmende Funktion ausüben:

- Einige Repressoren binden direkt an ein Kontrollelement und verhindern so die Anlagerung eines Aktivators.
- Andere Repressoren wechselwirken direkt mit Aktivatoren und verhindern so ihre Bindung an die DNA.
- Einige Aktivatoren acetylieren Histonfortsätze von Nucleosomen im Bereich von Promotoren und fördern so die Transkription. Repressoren können nun mit Deacetylasen wechselwirken und so die Transkription verringern. Dieses Phänomen wird als **Silencing** bezeichnet.

Die kombinierte Steuerung der Genaktivierung Durchschnittlich enthält jeder Enhancer etwa zehn Kontrollelemente, von denen jedes einen oder zwei spezifische Transkriptionsfaktoren binden kann. Die Enhancer verschiedener Gene können einzelne gleiche Kontrollelemente beinhalten. Die Transkription eines Gens wird nun durch eine spezifische Kombination an Kontrollelementen gesteuert. Eine bestimmte Kombination von Kontrollelementen wird nur dann zur Transkription eines Gens führen, wenn alle Transkriptionsfaktoren gebunden sind.

Die Koordination der Genexpression bei Eukaryonten

Bei Eukaryonten gibt es bis auf ganz wenige Ausnahmen keine Operone. Meistens liegen die z.B. für einen gemeinsamen Stoffwechselweg codierenden Gene verteilt auf den Chromosomen des Genoms vor. Solche Gene haben aber ähnliche Kontrollelemente. Die koordinierte Kontrolle verstreut liegender Gene erfolgt oft als Reaktion auf extrazelluläre chemische Signale. Zum Einen können z.B. Steroidhormone direkt in die Zelle eindringen, sich dort an ein bestimmtes Rezeptorprotein binden und als Hormon/Rezeptor-Komplex als Aktivator dienen. Zum Anderen können Signalmoleküle auch an einen Rezeptor an der Zelloberfläche binden und über Signaltransduktionswege die Transkriptionsaktivatoren oder -repressoren regulieren.

Auswirkungen der Strukturen im Zellkern auf die Genexpression

Im Interphasen-Zellkern gibt es Chromatinschleifen von denselben und verschiedenen Chromosomen, die in bestimmte Bereiche des Zellkerns hineinragen. Diese Bereiche sind mit RNA-Polymerasen und anderen an der Transkription beteiligten Proteinen angereichert. Man hält diese Transkriptionsfabriken für allgemein zugängliche Kernbereiche, die eine bestimmte Funktion erfüllen. Im Zellkern scheint es also eine sehr geordnete Chromatinstruktur zu haben, und Gene werden als Vorbereitung für ihre Expression in die Transkriptionsfabriken verlagert. Die hier erläuterten Prozesse stammen aber aus einem noch jungen Forschungsgebiet.

17.2.3. Mechanismen der posttranskriptionalen Regulation

In diesem Abschnitt werden nun noch die Möglichkeiten zur Regulation der Genexpression besprochen, die zwischen der Synthese der RNA und dem Wirken des aktiven Proteins angreifen können. Solche Mechanismen erlauben eine Schnelle Anpassung an die Umweltbedingungen, ohne dass das gesamte Transkriptionsmuster verändert werden muss.

RNA-Prozessierung

Dies ist ein Ansatzpunkt für die Regulation, die es bei Prokaryonten nicht gibt. Hauptsächlich geht es hier um **alternatives Spleissen**, das in Kapitel 16.3.2 bereits erläutert wurde.

Initiation der Translation und mRNA-Abbau

Die Regulation setzt meist auf der Stufe der Initiation an.

- Regulatorische Proteine können an bestimmte Sequenzen oder Sekundärstrukturen im 5'-Bereich der mRNA binden und somit das Anlagern des Ribosoms verhindern.
- Es kann auch die Translation der gesamten mRNA in einer Zelle reguliert werden. Dies wird durch eine Aktivierung oder Inaktivierung von Proteinen vermittelt, die an der Initiation der Translation mitwirken. Z.B. können Pflanzen in Dunkelphasen mRNA einlagern und bei Licht die Translationsmaschinerie wieder aktivieren.
- Zudem hat die Lebensdauer der mRNA einen Einfluss auf die Menge der synthetisierten Endprodukte. Die Lebensdauer variiert von wenigen Minuten (bei Bakterien die Regel) bis mehreren Wochen. Die Nucleotidsequenzen, die die Lebensdauer einer mRNA bestimmen, liegen oft im nicht-translatierten 3'-Bereich des Moleküls.
- Zudem können nicht-codierende RNA-Moleküle die Genexpression auf verschiedenen Stufen regulieren (siehe nächstes Kapitel).

Umbau und Abbau von Proteinen

Eine letzte Möglichkeit der Einflussnahme ergibt sich nach der Translation, da viele eukaryontische Polypeptide noch verändert werden müssen, bis sie ihre Funktion ausüben können. So können Proteine selektiv abgebaut werden. Um ein bestimmtes Protein dem schnellen Abbau zuzuführen, wird oft ein kleines Protein (**Ubiquitin**) angehängt, das von einem grossen Multiproteinkomplex (**Proteasom**) erkannt wird und dadurch das Protein abgebaut wird.

17.3. Die Regulation der Genexpression durch nicht-codierende RNA

Nur etwa 1.5 % des menschlichen Genoms codiert für Proteine. Trotzdem wird ca. 75% des Genoms einer jeden Zelle zu irgendeinem Zeitpunkt transkribiert. RNA, die nicht für Proteine codiert, wird als **nicht-codierende RNA (ncRNA)** bezeichnet. ncRNA kann die Genexpression an verschiedenen Punkten beeinflussen: Es kann die Translation der mRNA und die Konformation des Chromatins beeinflussen, sowie die Transkription stilllegen.

Mikro-RNA (miRNA) Das sind kleine (ca. 22 Nucleotide lang), einzelsträngige RNA-Moleküle, die durch Enzyme aus längeren Vorläufer-RNAs hergestellt werden. Sie bilden mit einem oder mehreren Proteinen einen Komplex, der über die miRNA an mRNA binden kann, die mindestens 7 oder 8 Nucleotide einer komplementären Sequenz enthält. Der miRNA/Protein-Komplex baut die erkannte mRNA entweder ab, oder hemmt deren Translation.

Small interfering RNA (siRNA) Sie ähneln in Länge und Funktion den miRNAs. Sie binden an die gleichen Proteine und haben gleiche Auswirkungen. Man unterscheidet die beiden RNAs nur aufgrund feiner Unterschiede der Vorläufermoleküle, bei denen es sich aber immer um RNAs mit doppelsträngigen Bereichen handelt. Die Hemmung der Genexpression durch siRNAs wird als **RNA-Interferenz (RNAi)** bezeichnet und im Labor zur gezielten Inaktivierung von Genen eingesetzt. Der zelluläre Weg der RNA-Interferenz führt über den Abbau doppelsträngiger RNA, was darauf hindeutet, dass dieser Mechanismus sich aus der Abwehr gegen virale Infektionen entwickelt haben könnte - denn doppelsträngige RNA (dsRNA) bildet sich häufig in Zusammenhang mit der Transkription von DNA-Sequenzen, die durch Viren ins Genom eingebaut wurden (hier nicht weiter ausgeführt). Virale DNA-Sequenzen haben häufig sehr starke Promotoren, und mit starken Promotoren können auch flankierende DNA-Sequenzen transkribiert werden. siRNA hilft wahrscheinlich auch bei der Verdichtung des Chromatins an den Centromeren nach der DNA-Replikation.

Piwi-interacting-RNA (piRNA) Diese RNAs führen ebenfalls zur Bildung von Chromatin und hemmen die Genexpression einiger Transposons (DNA-Abschnitt, der seine Position im Genom verändern kann). Sie sind unverzichtbar in den Keimzellen einiger Tierarten, in denen sie während der Bildung der Gameten den Wiederaufbau der richtigen Methylierungsmuster sicherstellen.

XIST-RNA Siehe Kapitel 14.1.2. Auch das ist ein Beispiel für nicht-codierende RNA, die Einfluss auf die Genexpression nimmt.

17.4. Entstehung von verschiedenen Zelltypen

Die Verwandlung einer einzelnen Zelle hin zu einem mehrzelligen Organismus wird durch drei miteinander verknüpfte Vorgänge bewirkt: Zellteilung, Zelldifferenzierung und Morphogenese (der gesamte Prozess, der einem Lebewesen sein Aussehen verleiht).

Von der Mutter werden Stoffe in die Eizelle eingelagert (**maternale Faktoren**), die ein genau festgelegtes Programm der Genexpression in Gang setzen, während die Zellen sich teilen. Dieses Programm sorgt letztendlich für die richtige Ausstattung der Zellen mit unterschiedlichen Proteinen.

17.4.1. Cytoplasmatische Determinanten und Induktionssignale

Welche Gene zu einem bestimmten Zeitpunkt in der Entwicklung exprimiert werden sollen, entnimmt die Zelle einer von zwei Informationsquellen (→ Abb. 17.6), deren Bedeutung sich in verschiedenen Arten unterscheiden kann.

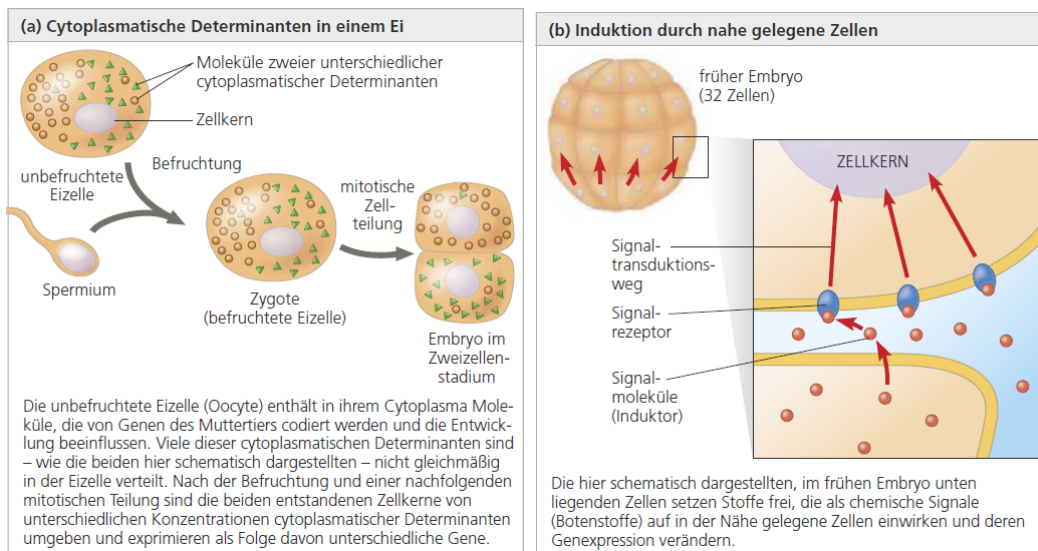


Figure 17.6.: Die Anlage entwicklungsgenetischer Informationen im frühen Embryo

Das Cytoplasma der Eizelle In dieses werden von der Mutter sowohl RNA-Moleküle als auch Proteine eingelagert. Dabei ist das Cytoplasma befruchteter (wie auch unbefruchteter) Zellen keineswegs homogen. mRNA-Moleküle, Proteine und andere Stoffe sind nicht gleich verteilt. Solche, von der Mutter eingelagerten Stoffe, die die frühe Entwicklung beeinflussen, nennt man **cytoplasmatische Determinante**. Bei der ersten Teilung der Zygote wird das Cytoplasma auf verschiedene Zellen verteilt. Die genetische Information in den beiden Tochterzellen steht dann unter dem Einfluss unterschiedlicher cytoplasmatischer Determinanten, die die weitere Entwicklung beeinflussen, indem sie sich auf die Genexpression während der Zelldifferenzierung auswirken.

Umgebung der Zelle Mit steigender Zellzahl gewinnt diese Informationsquelle an Bedeutung. Dazu gehören vor allem Signale, die von den in nächster Nachbarschaft liegenden Zellen gesendet werden (z.B. Wachstumsfaktoren), aber auch direkte Zell-Zell-Kontakte über Oberflächenproteine. Solche Signale rufen Veränderungen in der Empfängerzellen hervor. Ein Vorgang, der als **Induktion** bezeichnet wird. Im Allgemeinen verändern die Signalmoleküle letztlich das Muster der Genexpression in der Empfängerzelle und legen sie damit auf einen Entwicklungsweg fest, der sich oft in sichtbaren Veränderung der Zellmorphologie äußert.

17.4.2. Die schrittweise Regulation der Genexpression während der Zelldifferenzierung

Die ersten in einer Zelle auftretenden Veränderungen auf dem Weg zu einer funktionalen Spezialisierung sind molekularer Natur. Sie wird **Determination** genannt. Nach der Determination ist eine embryonale Zelle unwiderruflich auf eine bestimmte Entwicklung festgelegt. Die sichtbare Differenzierung einer Zelle als Ergebnis ihrer Determination wird durch die Bildung gewebespezifischer Proteine veranlasst. Sie finden sich nur in bestimmten Zelltypen und verleihen der Zelle ihre charakteristische Form und Funktion. Auf der molekularen Ebene werden dabei verschiedene Gengruppen nacheinander und genau kontrolliert exprimiert, während die Zellen durch Teilung aus ihren Vorläuferzellen hervorgehen.

Als Beispiel kann die Differenzierung zu Muskelzellen betrachtet werden. Sie bilden sich aus embryonalen Vorläuferzellen. Solche Stammzellen haben noch die Fähigkeit, verschiedene Zelltypen zu bilden, einschließlich Knorpel- und Fettzellen. Äußere Signale veranlassen die Zelle dazu, sich zu Muskelzellen zu differenzieren. Die Zelle ist nun determiniert und wird als Myoblast bezeichnet (Vorläuferzelle der Skelettmuskelfaser). Es gibt einige **Hauptregulatorgene**, die für Proteine codieren, die zu dieser Differenzierung führen. Eines davon ist *myoD*, das für das Protein MyoD codiert. Dieses Protein ist ein

Transkriptionsfaktor, der an Kontrollelementen in Enhancern verschiedener Gene bindet und deren Expression anregt. Einige dieser Gene codieren für andere Transkriptionsfaktoren, ein anderes codiert für sein eigenes Protein (MyoD). Durch diese positive Rückkopplung hält es den Status seiner Differenzierung aufrecht. Die sekundären Transkriptionsfaktoren führen zur Expression der Gene für Myosin und Actin. Fett- oder Leberzellen könnten auch dazu veranlasst werden, sich zu Muskelzellen zu differenzieren. Sie enthalten eine Kombination regulatorischer Faktoren, die in anderen Zellen nicht vorhanden ist.

Dem am Beispiel der Differenzierung zu Muskelzellen illustrierten Prozess ist ein Bauplan übergeordnet, der dafür sorgt, dass die richtige dreidimensionale Anordnung eingehalten wird.

17.4.3. Musterbildung zur Festlegung des Körperbaus

Cytoplasmatische Determinanten und Signale tragen für die Induktion zur räumlichen Organisation des Körpers bei. Dies wird unter dem Begriff **Musterbildung** zusammengefasst. Die Musterbildung setzt bei Tieren im frühen Embryonalstadium ein, wenn die Hauptachsen des Körpers festgelegt werden (Position von Kopf- und Schwanzende, links und rechts, oben und unten). Die molekularen Signale zur Steuerung der Musterbildung werden unter dem Oberbegriff der **Positionsinformation** zusammengefasst und von cytoplasmatischen Faktoren und durch äussere Induktion bereitgestellt. Diese Signale teilen einer Zelle mit, wo sie sich im Verhältnis zu den Körperachsen und zu den Nachbarzellen befindet.

17.5. Entstehung von Krebs

17.5.1. Gene und Krebs

Gemäss Kapitel 11.3.3 haben Krebszellen die Kontrolle über den Zellzyklus verloren. Die Regulation von Wachstum und Zellteilung während des Zellzyklus erfolgt durch Wachstumsfaktoren, Rezeptoren und Komponenten intrazellulärer Signalketten, also Proteine, die von Genen codiert werden. Wenn in somatischen Zellen Mutationen in solchen Genen auftreten, kann unter Umständen Krebs entstehen. Solche Veränderungen können durch Mutationen entstehen, die häufig auf Umwelteinflüsse wie karzinogene Substanzen, Röntgenstrahlen, UV-Strahlen oder auf Infektionen mit bestimmten Viren zurückzuführen sind.

Onkogene und Proto-Onkogene

Onkogene Krebsverursachende Gene bei bestimmten Retroviren.

Proto-Onkogene Gene in Zellen mit sehr ähnlichen Eigenschaften wie Onkogene, die in ihrem normalen genomischen Umfeld keinen Krebs auslösen. Die von ihnen codierten Gene regen häufig das normale Zellwachstum an.

Manchmal führt eine Mutation in einem Proto-Onkogen zu einem Onkogen, weil entweder wesentlich mehr des vom Gen codierten Proteins gebildet oder die Aktivität des Proteins selbst gesteigert wird. In jedem Fall kann es dazu führen, dass der Zellzyklus unkontrolliert abläuft und sich die Zelle auch dann teilt, wenn sie es eigentlich nicht tun sollte. Die genetischen Veränderungen bei dieser Umwandlung können in drei Klassen unterteilt werden:

Verschiebung von DNA-Abschnitten innerhalb des Genoms Wenn z.B. nach einem Bruch die Chromosomen falsch zusammengesetzt wurden, kann ein Proto-Onkogen unter die Kontrolle eines besonders starken Promotors fallen, sodass es durch seine verstärkte Transkription zum Onkogen wird.

Vervielfältigung des Proto-Onkogens Bei der Vervielfachung des Gens im Genom wird entsprechend auch die Transkription erhöht, was die Menge des gebildeten Proteins steigert.

Punktmutationen in Kontrollelementen oder im codierenden Bereich des Proto-Onkogens Eine Punktmutation im Promotor oder in einem Enhancer kann eine verstärkte Genexpression bewirken. Liegt sie im codierenden Bereich, kann es zu einem Protein mit höherer Aktivität führen, weil es sich (z.B. der allosterischen) Regulation entzieht oder langsamer abgebaut wird.

Tumorsuppressor-Gene

Tumorsuppressor-Gene hindern die Zellen an einer unkontrollierten Vermehrung. Folglich kann jede Mutation, die die Aktivität eines Tumorsuppressor-Proteins mindert, zu unkontrollierter Zellteilung und somit zu Krebs führen. Einige dieser Proteine sind an der Reparatur der DNA beteiligt und verhindern damit die Anhäufung von Mutationen im Genom, die unter Umständen auch Krebs auslösen könnten. Andere Proteine vermitteln die Anheftung von Zellen untereinander oder an der extrazellulären Matrix. Eine solche Verankerung ist für Zellen in normalen Geweben sehr wichtig und oft bei Krebszellen aufgehoben. Wieder andere Tumorsuppressor-Gene codieren für Komponenten von Signalketten, die den Zellzyklus hemmen.

17.5.2. Die Störung zellulärer Signalketten

Hier wird exemplarisch einerseits das ras-Proto-Onkogen und das p53-Tumorsuppressor-Gen betrachtet.

ras-Proto-Onkogen

ras-Mutationen finden sich bei etwa einem Drittel aller menschlichen Tumore. Das Ras-Protein leitet als monomeres G-Protein das Signal vom Rezeptor von Wachstumsfaktoren zu einer Kaskade von Proteinkinasen weiter. Diese Signalkette löst als zelluläre Antwort die Synthese eines Proteins aus, das den Zellzyklus anregt. Eine Mutation im ras-Gen führt zu Ras-Proteinen, die die Kinasekaskade auch ohne Wachstumsfaktor als Signalmolekül aktiviert. Dies führt zu einer vermehrten Zellteilung.

p53-Tumorsuppressor-Gen

p53-Mutationen finden sich bei mehr als der Hälfte aller menschlichen Tumore. Dieses Gen codiert einen spezifischen Transkriptionsfaktor, der die Expression von Genen anregt, die für hemmende Proteine des Zellzyklus codieren (im Fall des p21-Proteins, indem es sich an cyclinabhängige Kinasen bindet und damit den Zellzyklus anhält). Solche Proteine werden dann gebraucht, wenn z.B. durch UV-Strahlung die DNA beschädigt wurde und der Zelle Zeit verschafft werden soll, um den Schaden zu reparieren. Eine Mutation im p53-Gen, das den Transkriptionsfaktor unbrauchbar macht, führt also zu einer ungewollten Teilung der Zelle.

17.5.3. Das Mehrstufenmodell der Krebsentstehung

Zur Transformation einer normalen Körperzelle in eine bösartige Krebszelle ist meist mehr als nur eine somatische Mutation erforderlich. Das erklärt auch, warum die Krebshäufigkeit mit dem Alter der Individuen zunimmt.

Krebs entwickelt sich langsam und schrittweise. Die ersten Anzeichen sind vielfach **Polypen**, die aus normal aussehenden Zellen bestehen, die sich ungewöhnlich häufig teilen. Der Tumor wächst dann heran, kann bösartig werden und in andere Gewebe einwachsen (invasive Wucherung). Während der Entwicklung eines bösartigen Tumors häufen sich die Mutationen, sodass Proto-Onkogene in Onkogene umgewandelt werden und Tumorsuppressor-Gene ihre Wirkung verlieren. Etwa fünf bis sechs solche Veränderung der DNA sind für eine Transformation erforderlich, dazu gehört i.d.R. ein aktives Onkogen (solche Mutationen sind dominant, eine Mutation reicht also) und mehrere inaktivierte Tumorsuppressor-Gene (solche Mutationen sind rezessiv, es müssen also beide Allele ausfallen).

In bösartigen Tumoren ist häufig auch die Expression des Telomerase-Gens erhöht, sodass Krebszellen potentiell unsterblich werden.

Weitere Bemerkungen

- Es gibt genetische Veranlagungen, die das Risiko, an Krebs zu erkranken, erhöhen. Jemand, der bereits ein Onkogen oder ein Mutaten-Allel geerbt hat, besitzt ein höheres Risiko, an Krebs zu erkranken.
- Es gibt sogenannte Tumor-Viren, die Krebs bei Mensch und Tier verursachen können. Sie können selbst Onkogene mitbringen, in Tumorsuppressor-Gene integrieren und es damit inaktivieren, oder

Proto-Onkogene in Onkogene umwandeln, indem sie in ihre Kontrollbereiche integrieren und die Expressionsrate erhöhen. Zudem können sie nach der Infektion der Wirtszelle Proteine herstellen lassen, die p53 und andere Tumorsuppressoren hemmen. Tumurviren spielen bei geschätzt 15% aller Krebsfälle eine Rolle.

18. Gentechnik in der Biotechnologie

18.1. DNA-Sequenzierung und Klonierung

Die Grundlage vieler Methoden der DNA-Sequenzierung ist die **Hybridisierung von Nucleinsäuren**, d.h. die Basenpaarung eines Stranges einer Nucleinsäure mit der komplementären Sequenz des Stranges eines anderen Nucleinsäure-Moleküls.

18.1.1. Die Vervielfältigung von Genen und anderen DNA-Fragmenten

Die Isolierung und Vervielfältigung genau definierter DNA-Abschnitte wird als **DNA-Klonierung** bezeichnet.

Häufig werden bei der DNA-Klonierung Bakterien wie *E.coli* verwendet. Neben einem einzelnen, grossen, zirkulären Gen haben Bakterien sogenannte **Plasmide**, also kleinere, auch zirkuläre DNA-Moleküle. Sie replizieren sich unabhängig vom bakteriellen Chromosom und sind für die Grundfunktionen der Zelle unter normalen Wachstumsbedingungen entbehrlich (sie können bei speziellen Umweltbedingungen Vorteile bringen).

Um DNA-Fragmente zu vervielfältigen, isoliert man zunächst ein Plasmid aus einem Bakterium und **integriert** (also inseriert) **Fremd-DNA**. Dieses rekombinante DNA-Molekül wird in eine neue Bakterienzelle eingeschleust, die sich vermehrt und einen Klon (eine Population genetisch identischer Zellen: "rekombinante Bakterien") bildet. Während der Vermehrung werden die Plasmide ebenfalls repliziert und an die Nachkommen vererbt. Man kann das klonierte Gen aus den Bakterien isolieren, um es in der Grundlagenforschung zu verwenden. Das Plasmid dient hier als **Klonierungsvektor**, also als ein DNA-Molekül, das fremde DNA in eine Wirtszelle einbringen und dort replizieren lassen kann. Der Prozess ist in Abbildung 18.1 (links) illustriert.

18.1.2. Die Verwendung von Restriktionsenzymen zur Herstellung rekombinanter Plasmide

Bakterien schützen sich mit **Restriktionsendonucleasen** (= Restriktionsenzyme) vor Fremd-DNA von Phagen oder anderen Organismen, indem sie diese zerschneiden. Jede Restriktionsendonuclease zeigt die für Enzyme typische Spezifität und erkennt eine bestimmte Basenfolge in der DNA, die als **Restriktionsschnittstelle** bezeichnet wird. Die eigene DNA der Bakterienzelle ist durch Methylierung von Basen an Adenin- oder Cytosinresten der Erkennungssequenz geschützt. Diese verhindern die Erkennung oder die Hydrolyse.

In Abbildung 18.1 (rechts) ist dargestellt, wie Fremd-DNA in ein Plasmid eingebaut wird, also ein rekombinantes Plasmid hergestellt wird. Wie hier sind die meisten Restriktionsschnittstellen symmetrisch, d.h. die Sequenz des oberen Stranges ist mit der des unteren Stranges identisch, wenn man jeweils in 5' → 3'-Richtung liest (ein sogenanntes **Palindrom**). Die meisten Restriktionsenzyme erkennen Sequenzen von 4-8 Basenpaaren Länge. Solche Sequenzen kommen in grossen DNA-Molekülen relativ oft vor. Das DNA-Molekül wird also in zahlreiche Bruchstücke zerlegt - **Restriktionsfragmente**.

Die meisten Restriktionsenzyme zerschneiden die Zucker/Phosphat-Stränge jeweils um einige Nucleotide versetzt. Die Restriktionsfragmente besitzen so einen einzelsträngigen **Restriktionsüberhang**, der auch als **kohäsives Ende** (sticky end) bezeichnet wird. Über Wasserstoffbrückenbindungen können sich andere Segmente, die mit demselben Restriktionsenzym geschnitten wurden, anlagern. Diese Verbindungen sind noch nicht stabil und müssen mit einer DNA-Ligase dauerhaft verknüpft werden.

Um ein vervielfältigtes rekombinantes Plasmid zu überprüfen, kann man es mit demselben Restriktionsenzym schneiden und mittels Gelelektrophorese die Längen vergleichen.

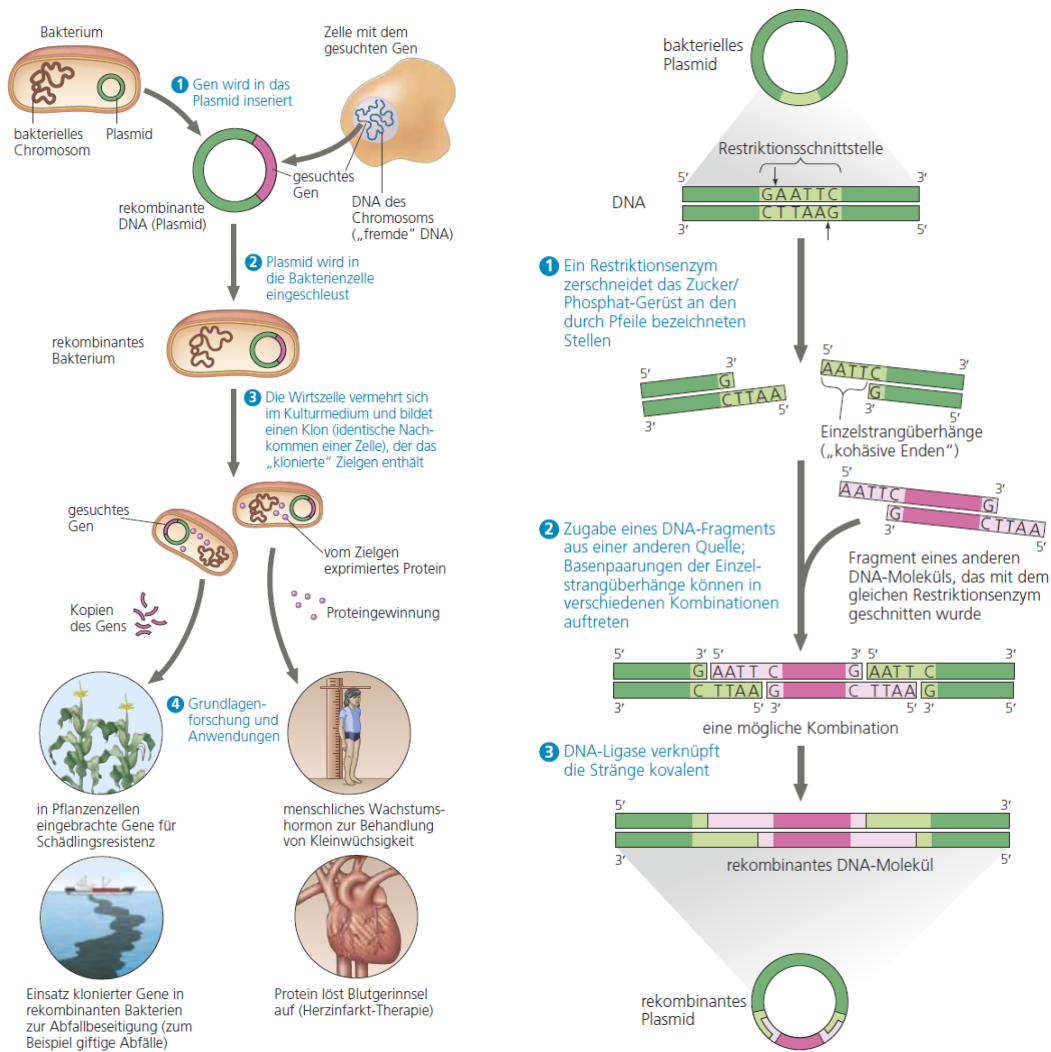


Figure 18.1.: Links: Genklonierung und einige Anwendungsbereiche. Rechts: Der Einsatz eines Restriktionsenzym und der DNA-Ligase bei der Herstellung eines rekombinanten Plasmids.

Gelelektrophorese

Hierbei wird ein Gel aus einem Polymer (meist Agarose oder Polyacrylamid) als Molekularsieb benutzt, mit dem man Nucleinsäuren oder Proteine aufgrund ihrer unterschiedlichen Größe, elektrischen Ladung oder anderen physikalischen Eigenschaften trennen kann.

In diesem Zusammenhang wird die Gelelektrophorese vor allem zur "Sortierung" von Restriktionsfragmenten nach ihrer Länge verwendet. Nucleotide sind wegen ihrer Phosphat-Gruppen negativ geladen. In einem elektrischen Feld wandern sie also vom Minus- zum Plus-Pol, wobei grosse Bruchstücke vom Gel stärker behindert werden als kleinere. Dadurch entstehen im Gel sogenannte Banden, also DNA-Fragmente verschiedener Größe, die mit fluoreszierenden Farbstoffen sichtbar gemacht werden können (→ Abb. 18.2).

18.1.3. Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Mithilfe der Polymerase-Kettenreaktion kann schnell, selektiv und automatisiert ein bestimmtes DNA-Fragment vervielfältigt werden. Mithilfe der vollautomatisierten PCR lassen sich in wenigen Stunden Milliarden Kopien eines gewünschten DNA-Abschnitts erzeugen. Die in Abbildung 18.3 dargestellten

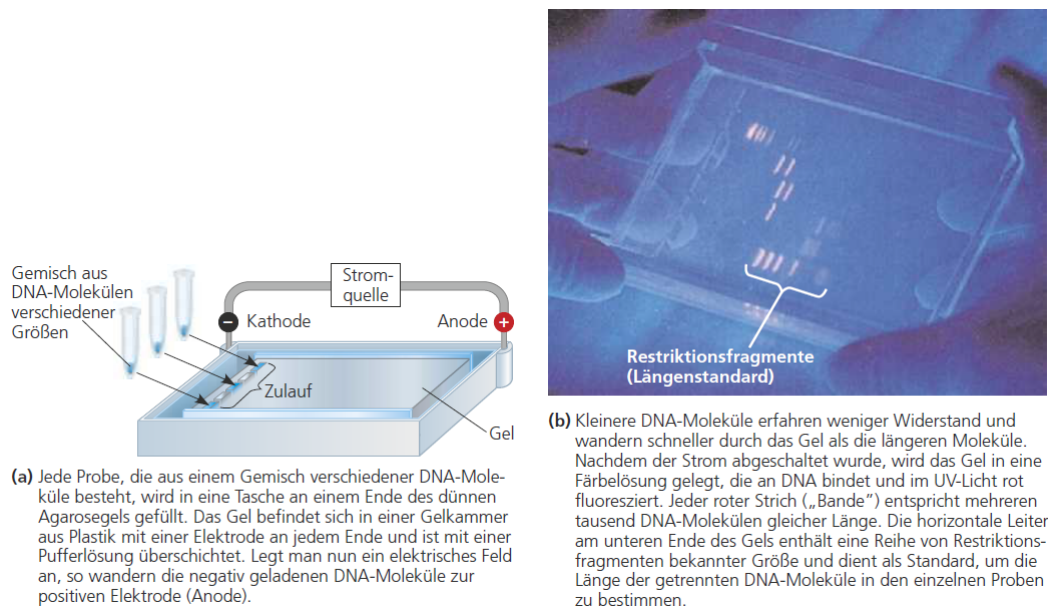


Figure 18.2.: Gelelektrophorese

Schritte lassen sich n Mal wiederholen um 2^n Kopien zu erzeugen.

Der Trick bei dieser Methode ist die Verwendung einer hitzestabilen DNA-Polymerase, die bei der hohen Temperatur der DNA-Denaturierung aktiv bleibt. Verwendet wird die sogenannte **Taq-Polymerase**, die aus dem thermophilen Bakterium *Thermus aquaticus* gewonnen wurde. Es ist an eine Vermehrung bei bis zu 95°C angepasst.

Entscheidend für die Spezifität sind die Primer, sie müssen mindestens 15-20 Nucleotide lang sein.

- **Forward-Primer** markieren den "Anfang" des gewünschten DNA-Abschnitts und werden auf dem $3' \rightarrow 5'$ verlaufenden Strang angelagert. Am Primer können dann Nucleotide wie gewohnt an dessen $3'$ -Ende angebracht werden.
- **Reverse-Primer** markieren das "Ende" (oder den anderen Anfang) auf dem zum anderen komplementären Strang. Die Synthese verläuft dann in die entgegengesetzte Richtung.

Nach dem dritten Zyklus haben sich zwei Kopien des gewünschten Abschnitts gebildet (\rightarrow Abb. 18.3). Übrigens werden hier DNA-Primer verwendet, nicht RNA-Primer wie sie bei der DNA-Replikation in der Zelle verwendet werden.

Die PCR-Amplifikation kann die Genklonierung in Zellen nicht ersetzen, wenn grosse Mengen eines Gens benötigt werden. Gelegentlich auftretende Replikationsfehler führen zu Mutationen und begrenzen die Zahl brauchbarer Kopien, die mit der PCR-Methode erhalten werden. Oft werden die Primer darum mit spezifischen Restriktionserkennungsschnittstellen synthetisiert, die dann an den Enden des PCR-Fragments zur Klonierung benutzt werden können. Das PCR-Fragment und der Klonierungsvektor werden dann mit demselben Restriktionsenzym behandelt und ligiert.

18.1.4. Methoden der DNA-Sequenzierung

Dideoxy-Kettenabbruch-Methode zur DNA-Sequenzierung

Die Dideoxy-Kettenabbruch-Methode, auch **Sanger-Sequenzierung** genannt, ist in Abbildung 18.4 illustriert. Hierbei wird ein DNA-Molekül zuerst durch Erhitzen denaturiert und somit in seine Einzelstränge zerlegt. Anschliessend wird es mit den für eine DNA-Synthese notwendigen Komponenten vermischt. Das sind hier:

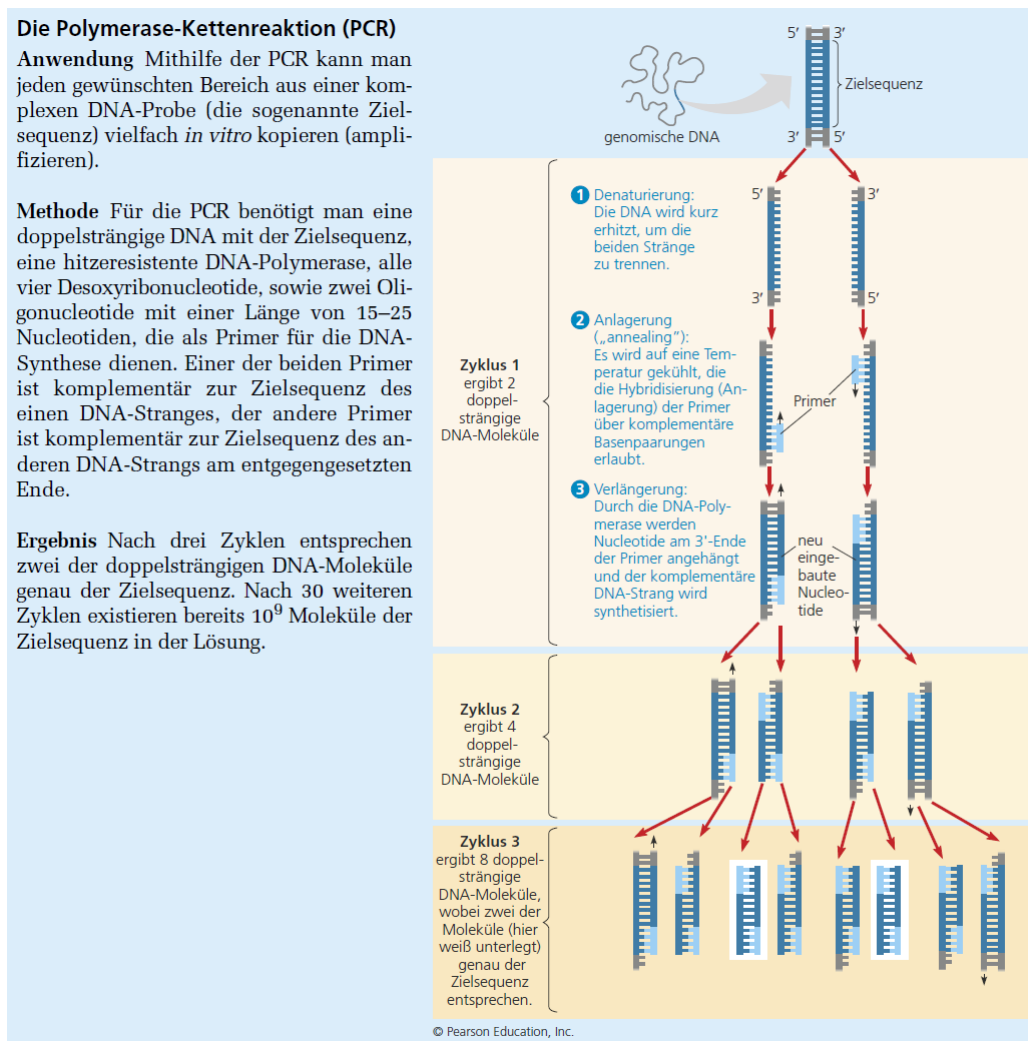


Figure 18.3.: Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

- Desoxyribonucleotide (dNTP¹), also die "normalen" Bausteine der DNA.
- Didesoxyribonucleotide (ddNTP), bei denen am 3' C-Atom keine OH-Gruppe ist. An ihr können sich also keine weiteren Nucleotide anlagern. Jeder Typ der ddNTP-Moleküle ist mit einem anderen Farbstoff fluoreszenzmarkiert.
- DNA-Polymerase
- Primer

Die Konzentration der dNTPs ist höher als jene der fluoreszenzmarkierten ddNTPs. Der DNA-Einzelstrang wird nun viele Male kopiert, und bricht nach unterschiedlich vielen verknüpften dNTPs jeweils mit einem ddNTP ab. So entstehen verschieden lange fluoreszenzmarkierte Stränge. Alle gleich langen Stränge enden mit demselben ddNTP und sind somit gleich markiert. Mithilfe der Gelelektrophorese können die Fragmente nun der Länge nach geordnet, und über die Farbmarkierung die Sequenz abgelesen werden. Die Sequenz auf dem ursprünglichen Einzelstrang entspricht dem Komplement der ermittelten Sequenz.

Diese Methode wird vollautomatisch von Maschinen durchgeführt, ist aber nur für kurze Sequenzen geeignet. Es werden keine Restriktionsenzyme gebraucht.

¹Nukleotid ist eine andere Bezeichnung für *Nuklosidtriphosphat*, also Nucleoside, die phosphoryliert sind. Nucleoside

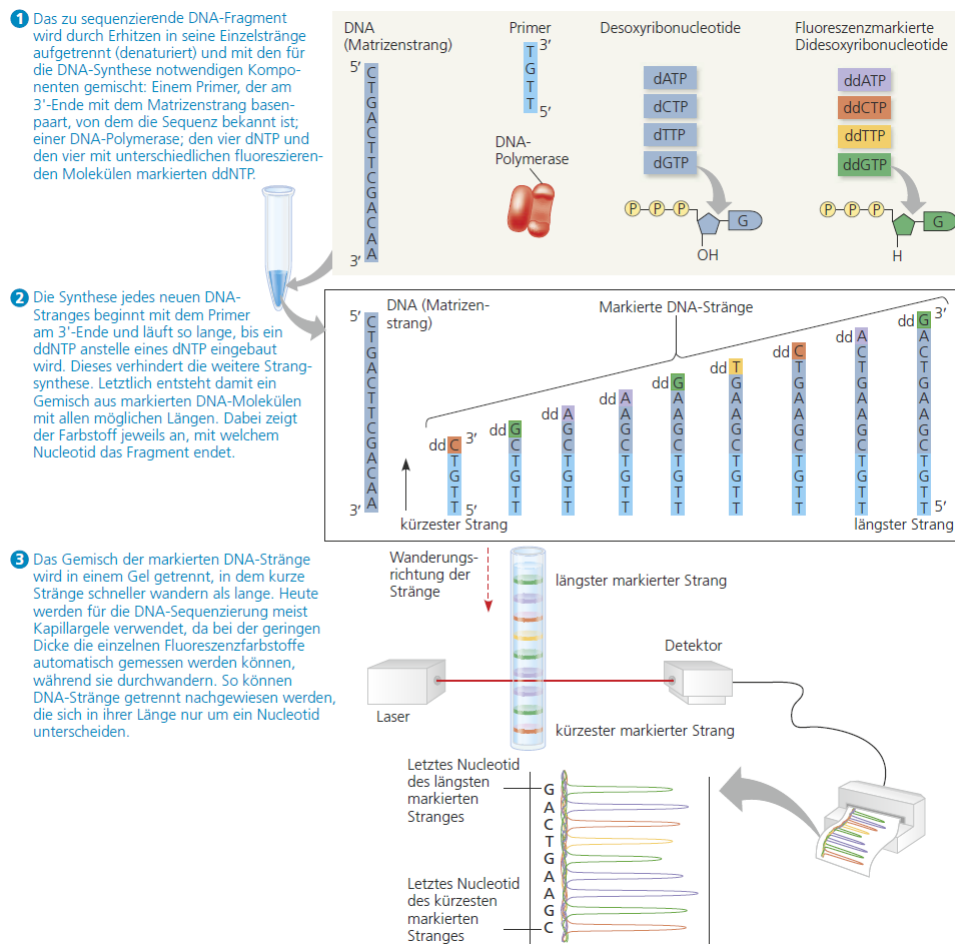


Figure 18.4.: Dideoxy-Kettenabbruch-Methode

DNA-Sequenzierung der nächsten Generation (Pyrosequenzierung)

Das Vorgehen hier basiert nicht auf der Kettenabbruch-Methode. Stattdessen werden DNA-Fragmente vervielfältigt um eine grosse Zahl gleicher Fragmente zu erhalten. Ein bestimmter Einzelstrang jeder dieser Fragmente wird an ein Trägermaterial gebunden und Nucleotid für Nucleotid synthetisiert. Wenn ein Nucleotid eingebaut wird, erzeugt das durch die Freisetzung von Pyrophosphat (PP_i) einen Lichtblitz, der aufgezeichnet wird. Die Umsetzung zu einem Lichtblitz wird durch das zugesetzte Enzym Luciferase katalysiert.

Der genaue Ablauf der Sequenzierung ist in Abbildung 18.5 erklärt. Der Hauptvorteil gegenüber der Kettenabbruch-Methode ist, dass nun die Kettenverlängerung und Sequenzbestimmung in einem Schritt erfolgen kann.

Nanopore-Sequenzierung (Sequenzierung der dritten Generation)

Bei der Nanopore-Sequenzierung ist im Gegensatz zur Pyrosequenzierung keine Vervielfältigung der DNA, sowie keine fluoreszierenden oder sonst modifizierten Nucleotide nötig. Die DNA kann direkt abgelesen werden. Die Methode beruht auf Potentialänderungen, die beim Durchfluss des DNA-Moleküls durch eine künstlich hergestellte Nanopore in einer Membran erzeugt werden.

wiederum sind Nucleobasen, an die eine Ribose oder eine Desoxyribose gekoppelt ist. dNTP steht also für Desoxyribonucleosidtriphosphat).

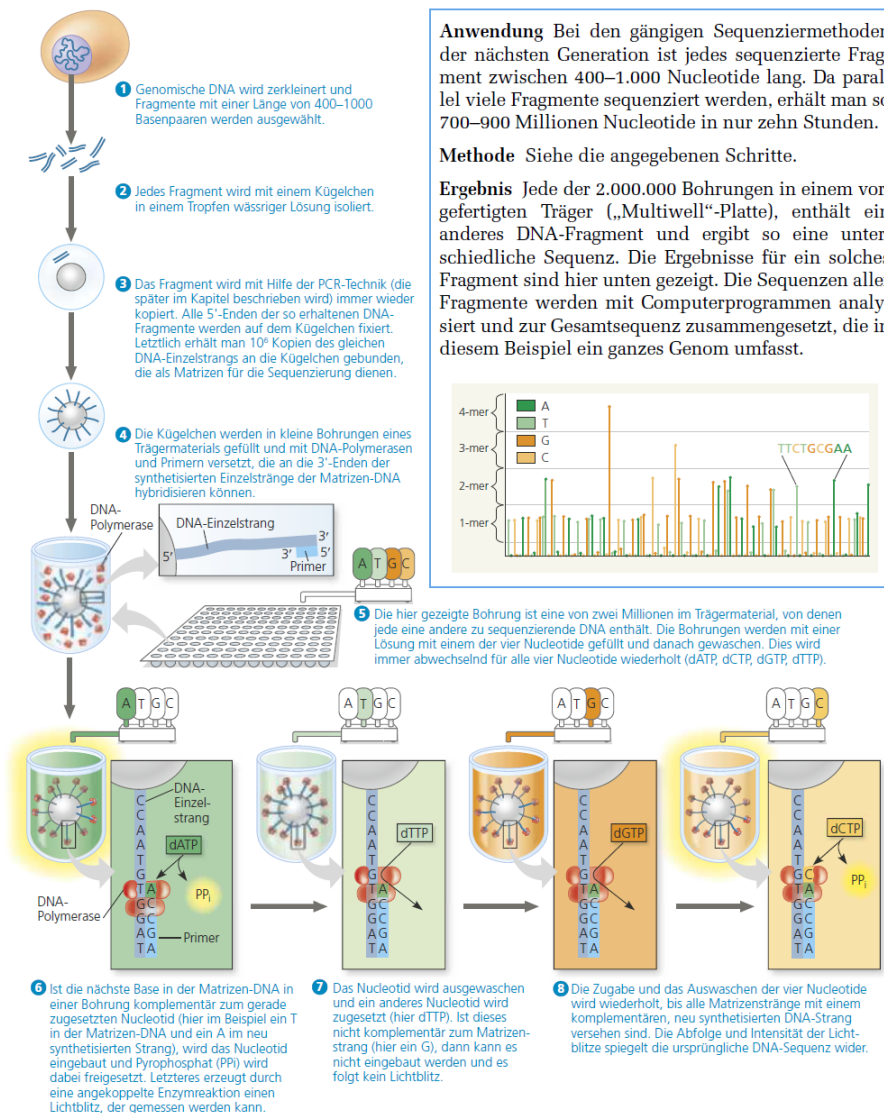


Figure 18.5.: DNA-Sequenzierung der nächsten Generation.

Die Shotgun-Methode zur Genom-Sequenzierung

Mit der Kettenabbruch-Methode kann man kurze DNA-Fragmente bis zu einer Länge von ca. 100 Nucleotiden sequenzieren. Unter Zuhilfenahme der Kettenabbruch-Methode kann mit der Shotgun-Methode auch ein ganzes Genom mit Millionen von Basenpaaren sequenziert werden. Dazu wird das ganze DNA-Molekül zunächst vervielfacht und dann die einzelnen Moleküle mit Restriktionsenzymen in viele kleine Fragmente zerlegt. Die Fragmente werden sequenziert und aufgrund von überlappenden Sequenzen am Computer wieder zu einer Sequenz zusammengesetzt. Kurze, repetitive Sequenzen, wie sie später noch beschrieben werden, erschweren dieses Verfahren. Dieses Zusammenfügen wird auch als **genome assembly** bezeichnet. Es ist eine sogenannte Button-Up-Methode, da man eine Gesamtsequenz aus einzelnen Bruchstücken zusammenfügt.

18.1.5. Die Klonierung und Expression eukaryontischer Gene

Eukaryontische Gene können grundsätzlich sowohl in Bakterienzellen, wie auch in eukaryontischen Zellen exprimiert werden, wobei jedes System seine Vor- und Nachteile hat.

Bakterielle Expressionssysteme

Um die molekulargenetischen Schwierigkeiten hinsichtlich der Funktionalität von Promotoren zu umgehen, werden normalerweise spezielle Vektoren eingesetzt, die an den Produktionsorganismus angepasst sind. Ein solcher Expressionsvektor ist oft ein Plasmid, das einen starken wirtseigenen Promotor für (hier) Bakterien enthält. Dieser liegt normalerweise knapp oberhalb (stromaufwärts) der Restriktionsschnittstelle, in die der codierende Bereich des eukaryontischen Gens eingesetzt werden kann. Die bakterielle Wirtszelle erkennt dann ihren Promotor und transkribiert das unter seiner Kontrolle stehende Gen, in das man mithilfe der Restriktionsenzyme beliebige Sequenzen einsetzen kann. So kann man sich ein Expressionssystem schaffen, das (beliebige) eukaryontische Proteine synthetisieren kann.

Hier gibt es natürlich noch viele Einschränkungen. So dürfen die Gene beispielsweise keine Introns enthalten, wobei man dieses Problem mithilfe von cDNA, die nur Exon-Sequenzen enthält, umgehen kann.

Eukaryontische Klonierungs- und Expressionssysteme

Hier sind insbesondere die einzelligen Hefezellen geeignet, die zwei Hauptvorteile bieten:

- Sie lassen sich so einfach kultivieren wie Bakterien und enthalten auch Plasmide (was bei Eukaryonten sehr selten vorkommt). Es können rekombinante Plasmide verwendet werden, die sowohl in Bakterien wie auch in Hefen vermehrt werden können (sogenannte Shuttle-Vektoren).
- **Künstliche Hefechromosomen (YAC)** enthalten die wichtigsten Funktionselemente eukaryontischer Chromosomen wie einen Replikationsursprung, ein Centromer und zwei Telomere und zusätzlich eingebaute Fremd-DNA. Diese Vektoren verhalten sich bei der Mitose wie normale Chromosomen, wobei die Fremd-DNA mitrepliziert und damit kloniert wird.

Eukaryontische Expressionssysteme werden vor allem dann benötigt, wenn die Proteine nach der Translation modifiziert werden müssen. Bakterienzellen fehlt hierzu die enzymatische Ausstattung. Bezüglich den Modifikationen gibt es auch innerhalb der Eukaryonten Unterschiede, aber gentechnisch hergestellte Hefestämme können z.B. menschliche Glykosylasen exprimieren.

18.2. Die Verwendung der Gentechnik zur Untersuchung der Expression und Funktion von Genen

18.2.1. Genexpressionsanalyse

Die schnellste Methode herauszufinden, ob ein bestimmtes Gen in Zellen exprimiert wird, ist die Nachweisung der von den Genen transkribierten mRNAs. Dabei basieren verschiedene Ansätze auf der **Hybridisierung**, also der Basenpaarung zwischen komplementären Nucleotidsequenzen.

Untersuchung der Expression einzelner Gene

In situ-Hybridisierung Der Nachweis der mRNA beruht auf der Hybridisierung von Nucleinsäuren mit komplementären Sequenzen, die sichtbar gemacht werden können. Diese kurze, einzelsträngige Nucleinsäure (DNA oder RNA) wird als **Sonde** bezeichnet. Wie in Abbildung 18.6 gezeigt wird, kann man ein Drosophila-Embryo mit mehreren Sonden ausstatten, die mit unterschiedlichen Farbstoffen markiert wurden. Die Sonden hybridisieren dann nur mit ihren komplementären Sequenzen. Diese Methode erlaubt es, die mRNA am Ort ihrer Entstehung nachzuweisen und wird daher als In situ-Hybridisierung ("am Platz") bezeichnet.

RT-PCR Eine andere Methode zum Nachweis der Expression bestimmter Gene in Proben ist die **Reverse-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion** (RT-PCR). Hier werden zuerst alle mRNAs in einer Probe in doppelsträngige DNA (cDNA) umgeschrieben, aus der dann das gesuchte Gen (wenn es denn vorhanden ist) mittels PCR vervielfältigt und schließlich nach einer Gelelektrophorese sichtbar gemacht.

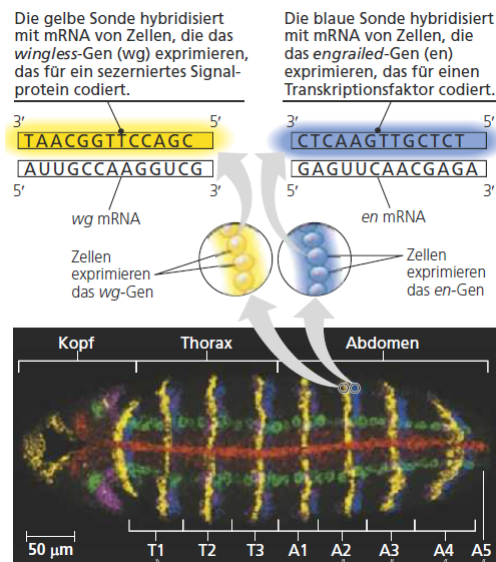


Figure 18.6.: Die In situ-Hybridisierung zur Bestimmung der Gewebe, in denen bestimmte Gene exprimiert werden.

Die Herstellung einer zur mRNA komplementären DNA (cDNA) ist in Abbildung 18.7 beschrieben. Zuerst wird Reverse Transkriptase zugesetzt, sowie ein Primer, der an den Poly-A-Schwanz andocken kann. Nach Synthese des ersten komplementären DNA-Strangs wird die mRNA enzymatisch abgebaut und der zweite DNA-Strang komplementär zum ersten synthetisiert. Die DNA enthält keine Introns mehr, weil diese nach der Transkription herausgeschnitten wurden und ist somit auch für die Genexpression in Bakterien geeignet.

Nun wird mit den cDNAs eine PCR durchgeführt, wobei Primer verwendet werden, die mit Sequenzen des gesuchten Gens übereinstimmen. Proben, die mRNA des gesuchten Gens enthalten, zeigen danach PCR-Fragmente.

Untersuchung der Expression von miteinander wechselwirkenden Gengruppen

Genomweite Untersuchungen zur Transkription von Genen basieren auf sogenannten **DNA-Microarrays** oder auch DNA-Chips. Ein solches enthält winzige Mengen einer grossen Anzahl einzelsträngiger DNA-Fragmente, die in einem geordneten, engmaschigen Muster auf einem Glasträger fixiert sind. Diese DNA-Fragmente umfassen im Idealfall alle proteincodierenden Gene eines Lebewesens. Das Vorgehen ist dann ähnlich jenem der RT-PCR. Die mRNAs einer Zelle werden als Matriz für die Synthese von cDNAs verwendet. Diese cDNAs werden mit fluoreszierenden Farbstoffen markiert und mit dem DNA-Chip hybridisiert. Häufig werden die cDNAs verschiedener Proben mit unterschiedlichen Farbstoffen markiert und mit demselben DNA-Chip hybridisiert (→ Abb. 18.8). Damit lässt sich die Expression von Tausenden von Genen in einem einzigen Ansatz bestimmen.

Eine weitere Alternative ist die **RNA-Sequenzierung**. Hierbei werden einfach die cDNA-Proben aus verschiedenen Geweben gewonnen und sequenziert. Je häufiger eine Sequenz auftaucht, desto höher war die mRNA-Konzentration und umso stärker wurde das Gen transkribiert.

18.2.2. Die Aufklärung der Funktion eines Gens

Zur Aufklärung der Funktion eines Gens, respektive des daraus exprimierten Proteins, gibt es verschiedene Ansätze:

- Die DNA-Sequenz eines Gens kann mit derjenigen von anderen Arten verglichen werden. Ist die Funktion eines ähnlichen Gens aus einer anderen Art bekannt, besteht die Vermutung, dass das vom fraglichen Gens codierte Protein eine ähnliche Aufgabe erfüllt.

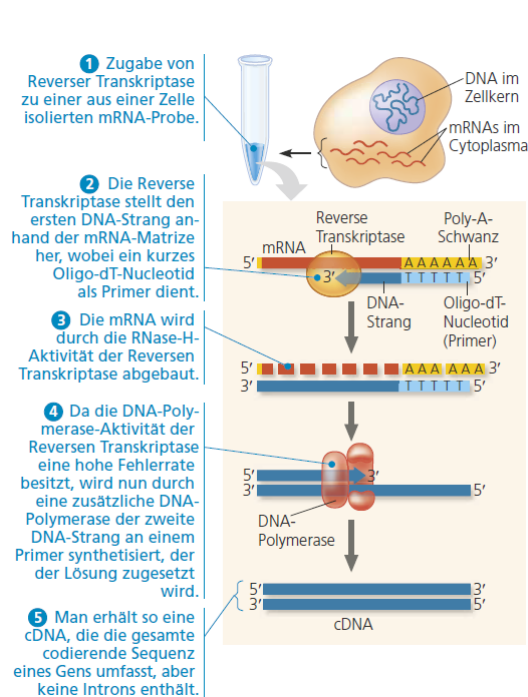


Figure 18.7.: Die Herstellung komplementärer DNA (cDNA) eines eukaryontischen Gens.

- Das Gen kann durch RNA-Interferenz (RNAi, siehe Kapitel 17.3) inaktiviert, und dann die Auswirkungen auf den Organismus untersucht werden.
- Durch In-vitro-Mutagenese kann man gezielt Mutationen (z.B. den Austausch einzelner Basenpaare) erzeugen und die Auswirkungen auf den Phänotyp beobachten.
- Beim Menschen sind Untersuchungen, wie sie in obigen Punkten beschrieben sind, aus ethischen Gründen nicht möglich. Hier führt man häufig sogenannte **genomweite Kopplungsanalysen (auch genomweite Assoziationsstudie, GWAS)** durch. Dabei werden die Genome von Menschen mit bestimmten Eigenschaften oder Krankheiten sequenziert und verglichen. Letztlich mit dem Ziel, herauszufinden, welche Allele eines Gens gemeinsam mit einem Merkmal auftreten. GWAS können also nur korrelative Ergebnisse liefern, die Kausalität muss mit weiteren Untersuchungen ermittelt werden. Häufig ist es für die Untersuchung einer bestimmten Eigenschaft nicht nötig, das ganze Genom zu untersuchen. Vielfach werden **genetische Marker** genutzt, also DNA-Sequenzen, die sich innerhalb der Bevölkerung unterscheiden. Entsprechende Variationen innerhalb eines Gens bilden die Grundlage für Allele. Solche Abweichungen gibt es aber auch in nicht-codierenden Bereichen und man bezeichnet sie allgemein als **Polymorphismen**. Ein einzelnes Basenpaar, das bei mehr als einem Prozent der Bevölkerung variiert, wird als **Einzelnucleotidpolymorphismus (SNP)** bezeichnet. Sie treten im menschlichen Genom etwa alle 300-400 Basenpaare auf, und zwar häufiger in nicht-codierenden als in codierenden Abschnitten. Genetische Marker oder SNPs treten häufig in Zusammenhang mit Erbkrankheiten auf, sind aber nicht direkt für die Krankheiten verantwortlich, indem sie die Sequenz des codierten Proteins verändern. Falls ein SNP zufällig in der Schnittstelle eines Restriktionsenzym auftritt, beeinflusst es die Länge der Restriktionsfragmente, da durch den SNP die Erkennungssequenz für das Restriktionsenzym verloren geht. Dieses Phänomen nennt man **Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus (RFLP)**. SNPs kann man via PCR nachweisen, RFLP via Elektrophorese. Weil man bei GWAS mit SNPs arbeitet, findet man nur Assoziationen von relativ häufigen Polymorphismen mit bestimmten Merkmalen, seltene bleiben unentdeckt.

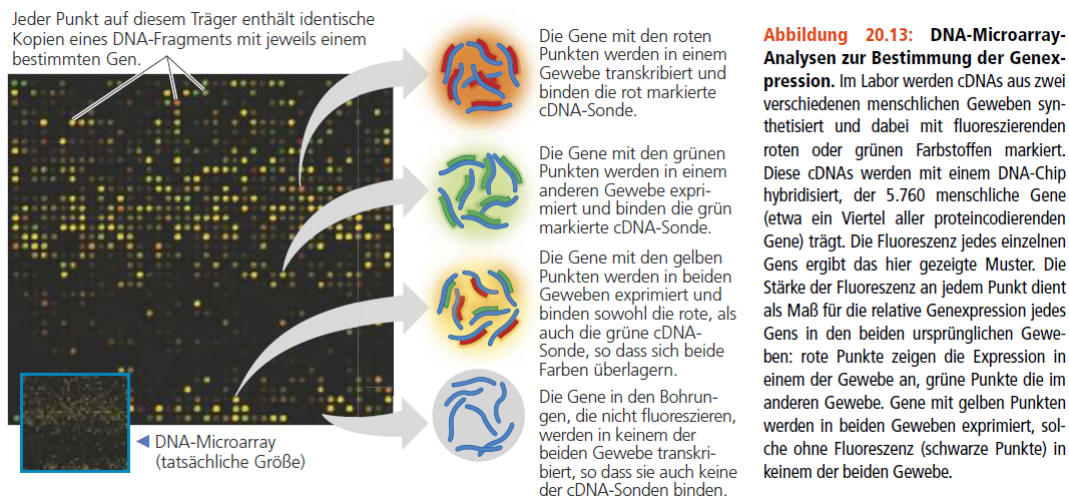


Figure 18.8.: DNA-Microarray-Analysen zur Bestimmung der Genexpression

18.3. Die Klonierung von Organismen zur Bereitstellung von Stammzellen

Der Begriff Klonierung wurde schon mehrmals leicht unterschiedlich angewandt, darum hier eine kurze Übersicht:

Genklonierung Isolierung eines Gens aus dem Genom.

Zellklonierung Die Teilung sich ungeschlechtlich fortpflanzender Zellen.

Organismische Klonierung Die Erzeugung eines oder mehrerer genetisch identischer Lebewesen aus einer einzelnen Ausgangszelle.

Therapeutische Klonierung Die Gewinnung embryonaler Stammzellen mit dem Ziel, Krankheiten zu behandeln.

In diesem Kapitel wird die organismische (und später auch die therapeutische) Klonierung besprochen, bei der es im Wesentlichen um die Gewinnung von Stammzellen² geht.

18.3.1. Die Klonierung von Pflanzen aus Einzelzellkulturen

In Kultur gezüchtete, differenzierte Wurzelzellen konnten sich in einem Experiment zu normalen adulten Pflanzen entwickeln. Zumindest hier waren also spezialisierte Zellen dazu in der Lage, sich zu entdifferenzieren und alle Zelltypen hervorzubringen, aus denen die adulte Pflanze besteht. Man spricht von **totipotenten Zellen**.

18.3.2. Die Klonierung von Tieren: Zellkerntransplantation

Differenzierte Zellen von Tieren teilen sich in Kultur in der Regel nur begrenzt und können sich nicht entdifferenzieren, um die Gewebe für ein ganzes Tier neu zu bilden. Man kann aber den Zellkern einer Eizelle entfernen und durch den Zellkern einer differenzierten Zelle ersetzen. Häufig waren solche verpflanzten Zellkerne in der Lage, die normale Entwicklung zum adulten Tier zu steuern, beispielsweise bei einer Kaulquappe.

²Sie sind noch nicht differenziert und können sich zu verschiedenen Geweben entwickeln.

Die Klonierung mittels Zellkerntransplantation, bei der der Zellkern aus einer differenzierten Zelle entnommen wurde, gelang auch bei Säugetieren (Beispiel Dolly³). Klonierte Säugetiere wiesen meistens schwere Krankheitsbilder auf, was auf einer unvollständigen "Reprogrammierung" des ursprünglich verpflanzten Spenderzellkerns beruhen konnte. Ausserdem sahen die Individuen nicht immer gleich aus (was z.B. auf die zufällige Inaktivierung der X-Chromosomen beruhen konnte) - aber auch normale eineiige Zwillinge (natürliche Klone) unterscheiden sich. Noch häufiger aber entwickelten sich die Tiere gar nicht bis zur Geburt. Ein heute bekannter Grund dafür ist, dass bei differenzierten Zellen einige Gene stillgelegt wurden, und das Chromatin auch sonst verändert wird (Acetylierung von Histonen, Methylierung von DNA). Während der Kerntransplantation müssen solche Modifikationen rückgängig gemacht werden, was nicht ganz gelingt. Der Klonierungserfolg hängt also davon ab, inwiefern die Chromatinstruktur im Spenderzellkern derjenigen in einer frisch befruchteten Eizelle angeglichen werden kann.

18.3.3. Tierische Stammzellen

Die Erzeugung menschlicher Embryonen durch Klonierung zielt auf die Gewinnung von **embryonalen Stammzellen (ES-Zellen)** zur Behandlung von Krankheiten ab, nicht zur Klonierung von Menschen. Stammzellen sind relativ unspezialisiert, können sich unter geeigneten Bedingungen unbegrenzt vermehren und sich zu einem oder mehreren spezialisierten Zelltypen differenzieren. Viele frühe Embryonalstadien von Tieren enthalten Stammzellen, die differenzierte Zellen *jeden* Typs bilden können - sie sind **pluripotent**. Durch gezielte Änderungen der Kulturbedingungen können sie zu einer Differenzierung in verschiedene spezialisierte Zelltypen, einschliesslich Ei- und Samenzellen, veranlasst werden. Demgegenüber sind Stammzellen von adulten Tieren in ihrer Differenzierbarkeit stark eingeschränkt, aber auch bei ihnen kann die Differenzierung unter den richtigen Bedingungen (z.B. durch Zugabe von Wachstumsfaktoren) veranlasst werden.

ES-Zellen können nur aus frühen Embryonen gewonnen werden. So wird daran gearbeitet, menschliche Embryonen im Reagenzglas bis zum Blastocystenstadium zu züchten. Es ist aber zunehmend auch möglich, differenzierte Stammzellen zu "entdifferenzieren". Sie verhalten sich dann fast wie ES-Zellen. Solche Zellen werden als **induzierte pluripotente Stammzellen (iPS-Zellen)** bezeichnet. Sie weisen aber bezüglich der Genexpression und auch anderen zellulären Eigenschaften Unterschiede zu ES-Zellen auf.

Kürzlich wurden Gene gefunden, mit deren Hilfe differenzierte Zellen eines bestimmten Typs direkt in eine andere differenzierte Zelle umgewandelt werden können, ohne über den pluripotenten Zwischenschritt zu gehen.

18.4. Anwendungen der Gentechnik

18.4.1. CRISPR/Cas9

Mithilfe des CRISPR/Cas9-Systems (Clustered Regularly-Interspaced Short Palindromic Repeats) ist es möglich, Punktmutationen, kleinere Insertionen und Deletionen zielgenau an gewünschten Zielsequenzen in Genomen von Bakterien bis zu menschlichen Zellen zu erzeugen, sowie gezielte Veränderungen (Aktivierung oder Hemmung) der Genexpression zu erreichen. Dazu wird die DNA zuerst zielgenau geschnitten und dann modifiziert. Diese Methode kann in allen möglichen Zellen angewandt werden, auch wenn das System ursprünglich aus Bakterien stammt.

Das CRISPR/Cas9-System

Das CRISPR/Cas9-System beruht ursprünglich auf einem bakteriellen Verteidigungsmechanismus gegen Infektionen durch Viren oder Plasmid-DNA (→ Abb. 18.9a). Kurze Bruchstücke der eingedrungenen Fremd-DNA werden dabei in das bakterielle Wirtsgenom am CRISPR-Locus eingesetzt und, wie in Abbildung 18.10 detailliert dargestellt und beschrieben, transkribiert und zur Abwehr einer erneuten

³Die Entdifferenzierung der Spenderkerne wurde durch die Kultivierung von Zellen der Milchdrüse in einem nährstoffarmen Medium erreicht. Die behandelten Zellen wurden dann mit entkernten Zellen fusioniert. Die daraus erhaltenen diploiden Zellen teilten sich bis zur Bildung früher Embryonen, die dann in Leihmuttertschafe eingepflanzt wurden. Von mehreren hundert implantierten Embryonen entwickelte sich nur Dolly.

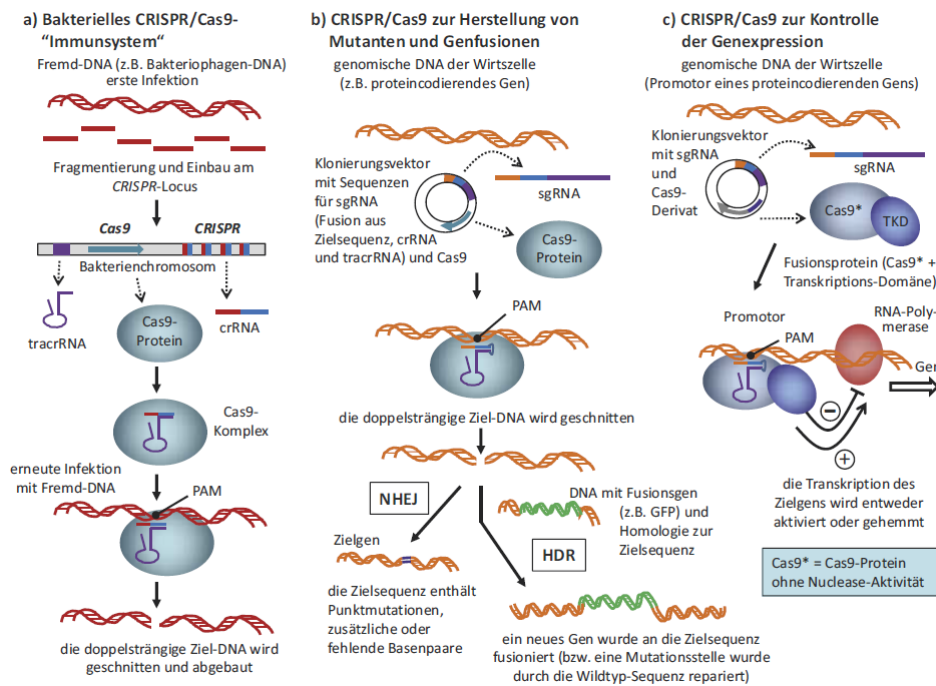


Figure 18.9.: Das CRISPR/Cas9-System

Infektion verwendet, indem die DNA zerschnitten wird. In der Ziel-DNA wird also ein Doppelstrangbruch gesetzt, der stromaufwärts einer sogenannten PAM-Sequenz (protospacer-adjacent motif) liegt. In einem bestimmten Bakterium ist diese PAM-Sequenz NGG, wobei das erste noch jede beliebige Base enthalten kann. Eine solche PAM-Sequenz lässt sich also relativ häufig in der Nähe jedes beliebigen Zielortes finden. Sie muss aber innerhalb der ersten ca. 20 Basenpaaren auftreten, ansonsten kann die Methode nicht angewandt werden. Durch den Doppelstrangbruch wird die Fremd-DNA dem Angriff von Nucleasen ausgesetzt.

CRISPR/Cas9 zur Genomeditierung

Man kann die crRNA und die tracrRNA zur einzelnen Leit-RNA (single guide RNA, **sgRNA**) fusionieren (→ Abb. 18.9b). Durch entsprechende Vektoren können die codierenden Sequenzen für Cas9 und für die sgRNA (Fusion der tracrRNA mit der gewünschten Zielsequenz) in die entsprechenden Wirtszellen eingebracht und exprimiert werden. Damit können DNA-Moleküle an einem nahezu beliebigen Ort geschnitten werden.

Der durch Cas9 gezielt erzeugte Doppelstrangbruch kann unter Ausnutzung der zellulären Reparatursysteme zu verschiedenen Ergebnissen führen.

- Durch nichthomologe Verknüpfung der beiden DNA-Enden (non-homologous end joining, NHEJ) können entweder einige Basenpaare verloren gehen (Deletion) oder werden zusätzlich eingebaut (Insertion).
- Es kann zusätzliche doppelsträngige DNA zugesetzt werden, die an ihren beiden Enden mit der Ziel-DNA übereinstimmende Sequenzen trägt. Über homologe Rekombination kann dieses Stück DNA eingebaut werden (homology-directed repair, HDR).

CRISPR/Cas zur Kontrolle der Genexpression

Durch gentechnische Methoden wurden Varianten von Cas9 erzeugt, denen die Nucleaseaktivität fehlt (Cas9*-Protein), sodass nach seiner Bindung an die Ziel-DNA keine Doppelstrangbrüche mehr auftreten.

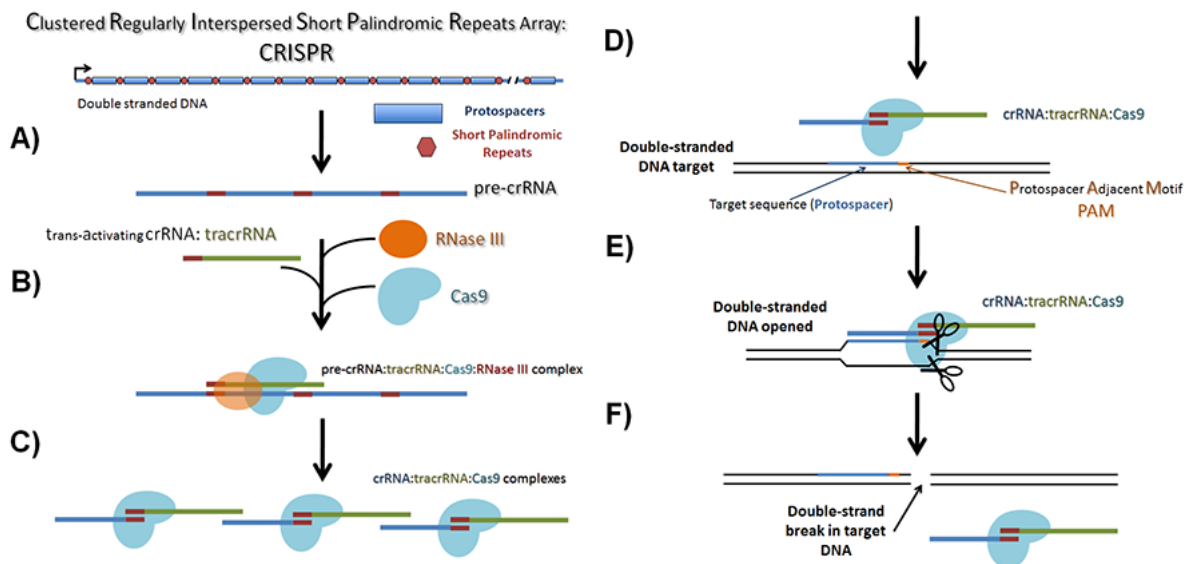


Figure 18.10.: (A) Im CRISPR-Locus haben sich verschiedene Fremd-DNAs (Protospacers) angesammelt, die durch sogenannte short palindromic repeats (sie sind etwa 20-40 Basenpaare lang und Palindrome, lesen sich also von links und rechts gleich) getrennt sind. Der ganze CRISPR-Locus wird zur pre-crRNA (pre CRISPR-RNA)) transkribiert. (B) Die trans-aktivierende CRISPR RNA (tracrRNA) kann an die short palindromic repeats andocken und mit der RNase III und dem Cas9-Enzym die pre-crRNA zu einzelnen crRNAs separieren. (C) Die tracrRNA und das Cas9-Enzym bilden den crRNA:tracrRNA:Cas9-Komplex. (D-F) Wenn nun die crRNA einen komplementären Strang binden kann, wird dieser oberhalb der PAM-Sequenz geschnitten und der Komplex löst sich von der Ziel-DNA.

An die codierende Sequenz für das Cas9*-Protein wurden Sequenzen für bestimmte Transkriptionsdomänen anderer Proteine verknüpft. Die aus einem solchen Fusionsgen gebildeten Proteine können entweder hemmend oder aktivierend auf die Genexpression wirken. Mit der sgRNA dirigiert man solche Proteine an den Promotor bestimmter Zielgene und kann so deren Expression gezielt an- bzw. abschalten (→ Abb. 18.9c).

18.4.2. Medizinische Anwendungen

Die oben besprochenen Methoden ermöglichen diverse Anwendungen in der Medizin:

- Mithilfe von DNA-Microarrays kann die Genexpression von gesundem Gewebe mit krankem verglichen werden und analysiert werden, welche Gene ab- oder angeschaltet werden.
- Man kennt z.B. die Sequenz des RNA-Genoms vom HI-Virus. Mithilfe der RT-PCR kann die HIV-RNA in Blut- oder Gewebeproben nachgewiesen werden.
- Mithilfe einer PCR mit spezifischen Primern können auch die Gene von Erbkrankheiten nachgewiesen werden. Die amplifizierte DNA wird dann sequenziert sodass auch rezessive Mutationen entdeckt werden.
- In genomweiten Kopplungsanalysen können SNPs mit Allelen von Genen assoziiert werden, die Krankheiten auslösen. Mithilfe der PCR oder DNA-Sequenzierung kann überprüft werden, ob jemand einen SNP trägt, der mit einem Krankheitsallel gekoppelt ist.

Gentherapie beim Menschen

Bei der Gentherapie versucht man Gene zur Behandlung einer (Erb-)Krankheit in betroffene Personen einzubringen. Dabei benutzt man die Fähigkeit von Retroviren, ihr RNA-Gnom in DNA umzuschreiben

und diese in die chromosomale DNA der Wirtszelle einzubauen. Für die Zukunft ist CRISPR/Cas9 erfolgversprechend. Der dauerhafte Erfolg einer solchen somatischen Gentherapie hängt davon ab, ob das normale Allel stabil in das defekte Gen eingebaut wird, und ob die Zellen lebenslang teilungsfähig bleiben. Erfolgversprechende Kandidaten sind Zellen des Knochenmarks. Diese Methoden wurden erfolgreich angewandt, werfen aber auch Fragen auf: Wie lässt sich die Aktivität des übertragenen Gens steuern, sodass die Zellen zum richtigen Zeitpunkt und am richtigen Ort die richtige Menge des Genprodukts herstellen? Wie lässt sich sicherstellen, dass keine anderen wichtigen Genfunktionen beeinträchtigt werden?

Pharmazeutische Produkte

Niedermolekulare Wirkstoffe werden primär mit den Methoden der organischen Chemie hergestellt. Übrigens: Gegen einen Krebs-Typ wurde ein Wirkstoff entwickelt, mit dem fast vollständige Heilung inklusive Rückbildung des Tumors erzielt werden konnte. Es entwickelten sich aber später Tumorzellen, die gegen den Wirkstoff resistent sind. An solchen Krebszellen zeigt sich ein wichtiges Prinzip der Evolution: In einigen Zellen tritt eine Mutation auf, die ihnen erlaubt, die Wirkung des Hemmstoffs zu überleben. Als Konsequenz können die entsprechenden Zellen wachsen und sich weiter vermehren.

Proteine werden hingegen bevorzugt von pro- und eukaryontischen Mikroorganismen (E.coli und Hefezellen) und einigen tierischen Zellkulturen hergestellt. Es können aber auch ganze Tiere zur Proteinproduktion genutzt werden. Dazu wird ein bestimmtes Gen eines Tieres in das Genom eines anderen Tieres der gleichen oder oft auch einer anderen Art eingebracht. Auf diese Art erzeugte Individuen bezeichnet man als **transgene Tiere**. Zu diesem Zweck werden einem weiblichen Tier Eizellen entnommen und eine Reagenzglasbefruchtung durchgeführt. Das Gen, das eingebracht werden soll, muss vorher aus dem Spenderorganismus isoliert und kloniert werden. Die klonierte DNA wird direkt in den Zellkern einer der befruchteten Eizellen injiziert. In seltenen Fällen integriert die FremdDNA - das Transgen - in das Genom und wird exprimiert.

So produziert eine Ziege ein bestimmtes Protein, wobei das Transgen so konstruiert wurde, dass das heterologe Protein in die Milch abgegeben und durch Melken gewonnen werden konnte. Aus der Milch lässt sich das Protein einfacher als aus einer Zellkultur reinigen.

18.4.3. Genetische Profile in der Gerichtsmedizin

In der Gerichtsmedizin wird Gebrauch von sogenannten **Short Tandem Repeats (STR)** gemacht. Bei diesen handelt es sich um kurze, nur zwei bis fünf Basenpaare umfassende Nucleotidfolgen, die an verschiedenen Stellen unseres Genoms auftreten. Die Anzahl der Wiederholungen in solchen STR-Bereichen unterliegt starken Schwankungen zwischen verschiedenen Personen und innerhalb eines Menschen (Polymorphie, also wie zwei verschiedene Allele). Normalerweise werden 13 verschiedene STR-Marker untersucht. Die Wahrscheinlichkeit, dass zwei Menschen das gleiche Profil aufweisen liegt zwischen eins zu zehn Milliarden und eins zu mehreren Billionen (bei einer Weltbevölkerung von ca. 7.3 Milliarden Menschen). Nur eineiige Zwillinge unterscheiden sich hier nicht.

18.4.4. Umweltsanierung

Zur Umweltsanierung werden häufig Mikroorganismen mit erstaunlichen Fähigkeiten zur Stoffumwandlung eingesetzt. Nur sind diese Mikroorganismen nicht auf die jeweilige Umweltsituation angepasst. Die gewünschten Eigenschaften können dann auf "passendere" Mikroorganismen übertragen werden.

Eine weitere Anwendung ist die Gewinnung von Energie aus nachwachsenden Rohstoffen. Z.B. kann Stärke zunächst enzymatisch in Di- und Monosaccharide gespalten und dann von der Hefe zu Alkohol und Kohlendioxid vergoren werden, das ist allerdings auch ohne Gentechnologie möglich.

18.4.5. Landwirtschaftliche Anwendungen

Die Gentechnik verfolgt in der Landwirtschaft grundsätzlich die gleichen Ziele wie herkömmliche Züchtungen. Dazu gehört z.B. die Verbesserung der Wollqualität von Schafen, die Verminderung des Fettgehalts bei

Schweinen oder die Beschleunigung der Entwicklung zur Geschlechtsreife von Kühen. Ein einmal identifiziertes Gen, z.B. jenes zur Förderung des Muskelwachstums einer bestimmten Rinderrasse kann so auf andere Rinderrassen - oder z.B. auch auf Schafe - übertragen werden. Auch hier kann CRISPR/Cas9 Anwendung finden.

Zur Herstellung transgener Pflanzen verwendet man häufig ein bestimmtes Bakterium, das in der Lage ist, einen Teil seiner DNA - die sogenannte T-DNA - in die chromosomale DNA infizierter Wirtszellen zu übertragen und zu integrieren. Das gewünschte Gen kann in die T-DNA eingebracht und damit in die Zielzelle übertragen werden. Bei vielen Pflanzen kann sich eine komplette Pflanze aus kultivierten Einzelzellen einer Suspensionskultur entwickeln. Damit lassen sich gentechnische Veränderung an normalen somatischen Zellen vornehmen, aus denen sich danach ganze Pflanzen mit neuen Eigenschaften entwickeln. Mithilfe der "grünen Gentechnik" können z.B. Reiskörner mit besonders hohem Nährwert und wichtigen Vitaminen produziert werden. Auch sind Pflanzen mit hoher Salztoleranz von Interesse.

Einige Bemerkungen

- Häufig wird in der Forschung mit "verkrüppelten" Laborstämmen gearbeitet, die in der freien Natur nicht überleben können.
- Im allgemeinen Sprachgebrauch bezeichnet der Begriff **rekombinanter Organismus** einen Organismus, bei dem eines oder mehrere Gene aus einer anderen Art (oder entsprechende Gene aus genetischen Varianten der gleichen Art) eingebracht wurden.
- Ein Befürchtung ist, dass durch horizontalen Gentransfer bei Pflanzen die neuen Gene durch Pollen verbreitet und auf benachbarte Pflanzen anderer Arten übertragen werden können. Die Wildpflanzen könnten sich dann zu "Super-Unkräutern" entwickeln.

19. Genome und ihre Evolution

Metagenomik Die DNA einer ganzen Population verschiedener Arten aus einer Probe wird sequenziert, man erhält ein Mischgenom. Ein Computer kann dann die einzelnen Sequenzen sortieren und zu spezifischen Genomen von einzelnen Individuen zusammensetzen. Beispielsweise befasste sich eine Arbeit mit dem menschlichen Mikrobiom, das heisst der Gesamtheit aller Mikrobenpezies, die in und auf unserem Körper leben. Der Vorteil hier ist, dass die DNA gemischter Populationen sequenziert werden kann, ohne dass jede einzelne Spezies zunächst getrennt und in Reinkultur gezüchtet werden muss.

Bioinformatik Die Bioinformatik befasst sich mit der Entwicklung von Algorithmen, Programmen und Datenstrukturen, die in der Biologie Anwendung finden, z.B. der Speicherung und Verarbeitung der riesigen Datenmengen, die im Rahmen der DNA-Sequenzierung und deren Analyse auftreten.

19.1. Genomanalyse mithilfe der Bioinformatik

19.1.1. Das Aufspüren proteincodierender Gene in DNA-Sequenzen

In der klassischen Genetik erzeugt man Mutanten, um aus einem Phänotypen Rückschlüsse auf den Genotypen zu ziehen. Ausgangspunkt der Untersuchungen ist der Phänotyp. Da nun die DNA-Sequenzen vieler Arten bekannt sind, können Gene direkt untersucht und gezielt verändert werden. Nun muss also für einen bestimmten Genotypen ein entsprechender Phänotyp gefunden werden, dieser Ansatz wird als **reverse Genetik** bezeichnet.

Gen-Annotation ist der Prozess, bei dem aus gegebenen DNA-Sequenzen proteincodierende Gene aufgespürt und deren Funktion abgeleitet wird. Dieser Prozess wurde weitgehend automatisiert. Dabei können folgende Informationen genutzt werden, um Gene aufzuspüren:

- Codons für den Beginn und das Ende der Translation (Start-/Stop-Codons).
- Signale für den Beginn und das Ende der Transkription.
- Stellen für das RNA-Splicing (sofern hinreichend lange offene Leserahmen (open reading frames, ORF) gefunden wurden).
- Exprimierte Sequenzanhänge/Sequenzteilstücke (**expressed sequence tags (EST)**)¹.

Hinweise auf die Funktion der von den entdeckten Genen codierten Proteine geben Vergleiche mit anderen Genen, wobei wegen der Redundanz des genetischen Codes jeweils die Aminosäuresequenzen, und nicht die DNA-Sequenzen verglichen werden. So kann im entdeckten Gen auch nach ESTs gesucht werden. In jedem Fall muss die Funktion eines Gens experimentell bestätigt werden, z.B. durch Ausschalten des Gens mit RNAi, um die Auswirkungen auf den Phänotypen zu beobachten.

19.1.2. Untersuchungen von Genen und ihren Produkten in komplexen Systemen

Das Forschungsprojekt ENCODE (Encyclopedia of DNA-Elements) verfolgt das Ziel, alle funktionell wichtigen Elemente im menschlichen Genom zu entschlüsseln. Diese Elemente umfassen: Proteincodierende Gene, Gene für nichtcodierende RNAs, regulatorische Sequenzen wie Enhancer und Promotoren. Weiter werden Histon- und DNA-Modifikationen, sowie die Chromatinstruktur charakterisiert. Die vielleicht überraschendste Erkenntnis dabei war, dass ungefähr 75% des menschlichen Genoms irgendwann transkribiert werden, obwohl weniger als zwei Prozent der DNA für Proteine codieren.

¹ESTs sind kurze DNA-Sequenzen, die aus cDNAs gewonnen werden, also vom Zelltyp exprimiert werden. Man kann diese Sequenzen mit solchen anderer Gene vergleichen um auf die Funktion des Gens zu schliessen. ESTs werden in Datenbanken gespeichert und für Vergleiche zur Verfügung gestellt.

Organismus	Größe des haploiden Genoms (Mbp)	Genzahl	Gene pro Mbp
Bakterien			
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,8	1.700	940
<i>Escherichia coli</i>	4,6	4.400	950
Archaeen			
<i>Archaeoglobus fulgidus</i>	2,2	2.500	1.130
<i>Methanosarcina barkeri</i>	4,8	3.600	750
Eukaryonten			
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Bäckerhefe)	12	5.800	483
<i>Caenorhabditis elegans</i> (ein Fadenwurm)	100	20.100	200
<i>Arabidopsis thaliana</i> (Ackerschmalwand; eine Blütenpflanze)	120	27.000	225
<i>Daphnia pulex</i> (Wasserfloh)	200	31.000	155
<i>Drosophila melanogaster</i> (eine Taufliege)	165	14.000	85
<i>Oryza sativa</i> (Reis; eine Blütenpflanze)	430	42.000	98
<i>Zea mays</i> (Mais)	2.300	32.000	14
<i>Ailuropoda melanoleuca</i> (Großer Panda)	2.400	21.000	9
<i>Homo sapiens</i> (Mensch)	3.200	< 21.000	7
<i>Paris japonica</i> (Japanische Lavendelheide)	149.000	Noch nicht bekannt	Noch nicht bekannt

Figure 19.1.: Genomgrößen und angenäherte Genzahlen einiger Organismen

Genomik bezeichnet die systematische Analyse des vollständigen Genoms einer Zelle, eines Gewebes, eines Organs oder eines ganzen Organismus. Analog dazu bezeichnet die **Proteomik** systematische Studien bezüglich der Proteinausstattung von Lebewesen. Sie umfasst auch die Wechselwirkungen zwischen Proteinen.

Systembiologische Ansätze

Ein wesentliches Ziel der Systembiologie ist die Erstellung von genetischen "Schaltkreisen" und Netzwerken der Proteinwechselwirkungen. Dabei kann man Proteine paarweise aus dem haploiden Genom entfernen und so Doppelmutanten erzeugen. Auf Grundlage der Größe der gebildeten Kolonien auf festen Nährmedien kann dann die Fitness der Doppelmutanten mit der der beiden Einzelmutanten verglichen werden. Wenn sich der beobachtete Phänotyp der Doppelmutanten nicht von dem zu erwartenden Phänotypen aus den einzelnen Deletionsmutanten unterscheidet, kann man daraus schließen, dass die Genprodukte nicht funktionell miteinander in Verbindung stehen. Wenn die beobachtete Fitness der Doppelmutanten aber grösser oder kleiner ist, dann wirken die Genprodukte in ähnlichen funktionellen Gruppen zusammen. Es kann dann ein grafisches Modell erstellt werden, in dem die Gene anhand der Ähnlichkeit ihrer Wechselwirkungen bestimmten Orten im Modell zugeordnet werden. So ein Modell wurde z.B. für die Bäckerhefe erstellt.

Ein weiteres Beispiel für einen systembiologischen Ansatz ist der **Atlas der Krebsgenomen (CGA)**, bei dem eine grosse Gruppe wechselwirkender Gene und Genprodukte analysiert wurde. Es soll zu einem besseren Verständnis darüber führen, wie Änderungen in biologischen Systemen schliesslich Krebs entstehen lassen. Dazu werden Gensequenzen und Genexpressionsmuster von Krebszellen mit denen normaler Zellen verglichen. Hier spielen DNA-Chips eine wichtige Rolle.

19.2. Charakteristische Grössen von Genomen

In Abbildung 19.1 sind die Angaben bezüglich Genomgröße, Genzahl und Gendichte aufgelistet, woraus folgende Trends auffallen:

Genomgröße Eukaryonten haben allgemeingültig grössere Genome als Prokaryonten. Dabei haben Bakterien und Archaeen ungefähr gleiche Genomgrößen. Die unterschiedlichen Grössen innerhalb der Eukaryonten haben keinen offensichtlichen Zusammenhang zum Erscheinungsbild der entsprechenden Arten. Die enormen Grössen einiger Pflanzengenome sind durch viele transponierbare Elemente begründet.

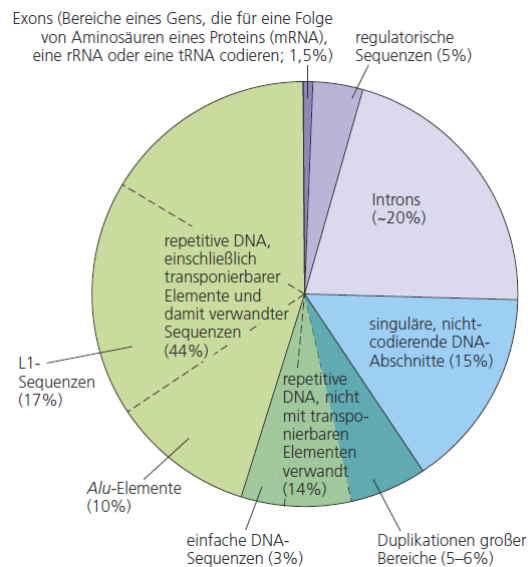


Figure 19.2.: Die Verteilung von DNA-Sequenzen im menschlichen Genom.

Genzahl (proteincodierend) Bakterien und Archaeen haben im Allgemeinen weniger Gene als Eukaryonten. Innerhalb der Eukaryonten ist die Genzahl oft deutlich geringer, als man nach der Genomgröße annehmen könnte. Beim Menschen sind es rund 21'000, weniger als es verschiedene Proteine gibt. Das wird durch das alternative Spleissen (dieses Werkzeug steht Prokaryonten nicht zur Verfügung) und posttranslationale Modifikationen erklärt.

Gendichte Im Allgemeinen haben Eukaryonten eine höhere Genomgröße, aber eine geringere Gendichte als Prokaryonten, wobei Säugetiere die geringsten Gendichten haben.

In allen untersuchten Bakteriengenomen codiert der grösste Teil der DNA für Proteine, tRNAs oder rRNAs. Der kleine Anteil nicht-transkribierter DNA besteht zum überwiegenden Teil aus regulatorischen Sequenzen wie Promotoren und Terminatoren. Sie haben keine Introns. Im Gegensatz dazu codiert der Grossteil der DNA eines Eukaryontengenoms weder für Proteine, noch wird er in eine der genannten RNAs umgeschrieben. Ausserdem sind die regulatorischen Bereiche komplexer. Das Genom eines Menschen enthält etwa die 10'000-fache Menge an nicht-codierender DNA im Vergleich zu einem Bakteriengenom. Die durchschnittliche Länge eines Gens des Menschen (27'000 bp) ist wesentlich höher als jene von Bakterien (1'000 bp), wofür hauptsächlich Introns verantwortlich sind.

19.3. Nichtcodierende DNA und Multigenfamilien

In Abbildung 19.2 ist ersichtlich, welcher Anteil vom Genom welchem "Zweck" dient. In den 15% singulärer, nichtcodierender DNA sind Abschnitte wie Genfragmente und **Pseudogene** (also ehemalige Gene, die im Laufe der Evolution so viele Mutationen angesammelt haben, dass sie funktionslos wurden). Der grössere Anteil intergenetischer DNA macht mit 58% die **repetitive DNA** aus, das heisst Sequenzen, die im Genom vielfach wiederholt vorkommen. Drei viertel davon (44% im Gesamtgenom) sind **transponierbare Elemente** oder mit diesen verwandte Sequenzen. Früher wurden nicht-codierende Bereiche als Junk-DNA bezeichnet. Im Verlauf der Evolution blieben diese Sequenzen aber über hunderte von Generationen und Artenschränken hinweg erhalten und haben einen höheren Grad an Sequenzerhaltung (Konservierung) als bei den meisten proteincodierenden Abschnitten.

19.3.1. Transponierbare Elemente und verwandte Sequenzen

Transponierbare Elemente haben die Fähigkeit, innerhalb des Genoms ihren Platz zu wechseln. Sie kommen sowohl bei Eukaryonten als auch bei Prokaryonten vor. Bei einer Transposition kommt es zu

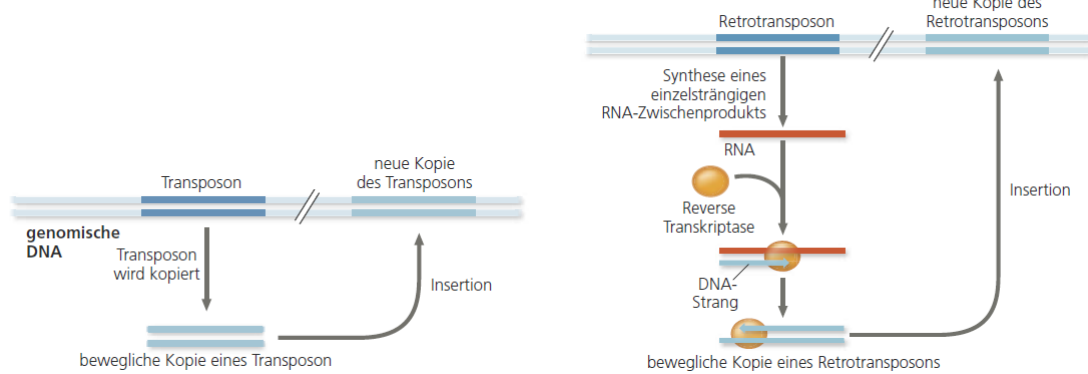


Figure 19.3.: Links: Ortswechsel eines eukaryontischen Transposons (hier wird der "Kopier/Einfüge-Mechanismus" dargestellt, der "Ausschneide/Einfüge-Mechanismus" nicht), Rechts: Ortswechsel eines Retrotransposons.

einer durch Proteine verursachten DNA-Biegung die den ursprünglichen und den neuen Integrationsort für die Rekombination in engen räumlichen Kontakt bringt.

Nach dem genauen Mechanismus des Ortswechsels (→ Abb. 19.3) lassen sich die transponierbaren Elemente in zwei Klassen unterteilen:

Transposons Sie bewegen sich mithilfe eines DNA-Zwischenprodukts und werden entweder kopiert oder verschoben. Beide Mechanismen benötigen das Enzym **Transposase**, das normalerweise von Transposons selbst codiert wird.

Retrotransposons Sie vollziehen den Ortswechsel über eine RNA als Zwischenprodukt. Durch die Transkription in eine intermediäre RNA verbleibt das ursprüngliche Element an seinem Ursprungsort. Um an einem anderen Ort im Genom eingesetzt zu werden, wird die RNA-Zwischenstufe zunächst durch die im Retrotransposon selbst codierte Reverse Transkriptase in eine DNA zurückverwandelt. Ein anderes zelluläres Enzym katalysiert dann in einem Folgeschritt den Einbau der revers transkribierten DNA am neuen Integrationsort.

Mit transponierbaren Elementen verwandte Sequenzen

Ein transponierbares Element umfasst für gewöhnlich Hunderte bis einige Tausend Basenpaare. Die verstreuten Kopien lassen sich zwar deutlich als ähnlich erkennen, sind aber im Regelfall nicht völlig identisch.

Beim Menschen und anderen Primaten besteht ein Grossteil der mit transponierbaren Elementen verwandten Sequenzen aus sogenannten **Alu-Sequenzen**. In diesen Sequenzen ist eine Erkennungssequenz des Restriktionsenzym AluI, daher der Name. Ein einzelnes dieser Elemente besteht aus rund 300 bp, ist kürzer als ein funktionelles transponierbares Element. Einige von ihnen werden transkribiert und scheinen eine Rolle bei der Regulation der Genexpression zu spielen.

Ein grösserer Anteil am menschlichen Genom machen die **LINE-1 (L1)-Sequenzen** aus. Sie bestehen aus rund 6500 bp und transponieren sehr selten, auch sie haben vermutlich eine Funktion.

Obwohl viele transponierbare Elemente auch Proteine codieren, erfüllen diese keine normalen zellulären Funktionen, sondern sind nur für die eigene Verbreitung zuständig. Die transponierbaren Elemente werden daher zusammen mit anderen repetitiven Sequenzen zu den nicht-codierenden Bereichen des Genoms gezählt.

19.3.2. Andere repetitive DNA-Sequenzen

Repetitive DNA-Sequenzen, die nicht mit transponierbaren Elementen verwandt sind, sind wahrscheinlich aufgrund von Fehlern während der DNA-Replikation oder der Rekombination entstanden. Sie machen

etwa 14% des Humangenoms aus.

Von den 14% besteht etwa ein Drittel aus Duplikationen langer DNA-Bereiche mit jeweils 10'000 - 300'000 Basenpaaren. Solche Kopien wurden dann innerhalb des Genoms herunkopiert und enthalten wahrscheinlich auch einige Gene.

Neben diesen langen Sequenzen gibt es sogenannte **einfache Sequenzwiederholungen**, bei denen viele Kopien kurzer Sequenzen tandemartig wiederholt werden. Abschnitte mit solchen Sequenzwiederholungen können bis zu 500 Nucleotide umfassen, bestehen aber meist aus weniger als 15 wiederholten Nucleotiden. Wenn eine Einheit nur 2-5 Nucleotide umfasst, spricht man von STRs. Viele der einfachen Sequenzwiederholungen eines Eukaryontengenoms liegen im Bereich der Telomere und der Centromere. Insofern könnten solche Sequenzen eine strukturelle Funktion haben.

19.3.3. Gene und Multigenfamilien

Etwas mehr als die Hälfte der transkribierten Gene von vielen Tieren und Pflanzen entfällt auf **Multigenfamilien**, die aus zwei oder mehr identischen oder sehr ähnlichen sequenzverwandten Genen bestehen.

Bei aus **identischen DNA-Sequenzen** zusammengesetzten Multigenfamilien sind die Gene tandemartig angeordnet und bilden, mit der wichtigen Ausnahme der Histogene, ausschliesslich RNAs (und keine Proteine) als Endprodukte. Beispielsweise werden die rRNA-Moleküle aus einzelnen Transkriptionseinheiten gebildet, die an einer oder mehreren Stellen in eukaryontischen Genomen in Hunderten von Sequenzwiederholungen vorliegen können. Diese zahlreichen Kopien erleichtern es der Zelle, rasch die rRNAs für Millionen von Ribosomen zu erzeugen. Hier wird zunächst ein einziges rRNA-Molekül erstellt, aus dem dann zwei Bereiche herausgeschnitten werden, sodass drei Moleküle für die verschiedenen Untereinheiten übrig bleiben.

Nicht-identische DNA-Sequenzen können durchaus proteincodierend sein. Ein klassisches Beispiel sind die beiden miteinander verwandten Familien der Globin-Gene. Aus ihren Translationsprodukten, dem α - und β -Globin wird das Hämoglobin gebildet. Von beiden Typen gibt es verschiedene Isoformen, die zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Individualentwicklung exprimiert werden.

19.4. Genomevolution durch Duplikation, Umlagerung und Mutation der DNA

19.4.1. Duplikation ganzer Chromosomensätze

Die Duplikation ganzer Chromosomensätze ist in der Regel letal. Trotzdem können sie in seltenen Fällen zur Evolution von Genen beitragen. Bei einem polyploiden Organismus genügt ein Gensatz zur Erhaltung der lebenserhaltenden Funktionen. §In den Genen der überzähligen Chromosomen können sich dann Mutationen ansammeln, die sich nicht auf die Lebensfähigkeit auswirken. Irgendwann kann so ein Gen eine neue Aufgabe übernehmen, was sich dann im Phänotyp des Individuums widerspiegelt.

19.4.2. Veränderungen der Chromosomenstruktur

Durch die vielen Genomsequenzen kann man die chromosomale Organisation vieler verschiedener Spezies miteinander vergleichen. Man fand dabei zahlreiche Duplikationen und Inversionen grosser Chromosomenteile, die auf fehlerhafte Rekombinationsereignisse beim Crossing-over während der Meiose zurückgeführt werden. Die DNA der beteiligten Chromosomen wurde geschnitten und falsch zusammengefügt. Obwohl zwei Individuen mit unterschiedlich zusammengesetzten Chromosomen sich zwar immer noch paaren und Nachkommen erzeugen könnten, hätten diese Nachfahren dann zwei unterschiedliche Chromosomensätze, was eine anschliessende Meiose behindern oder sogar verhindern würde. Chromosomale Umlagerungen führen also zu zwei verschiedenen Populationen, die sich nicht mehr erfolgreich miteinander paaren können. Solche Umlagerungen erklären auch, warum viele grosse Genblöcke des Menschen solchen z.B. einer Maus sehr ähneln. Übrigens fanden solche Umlagerungen immer an denselben Stellen statt. Solche "Hotspots" der Rekombination entsprechen Stellen im Humangenom, die mit bestimmten Erbkrankheiten in Verbindung gebracht werden.

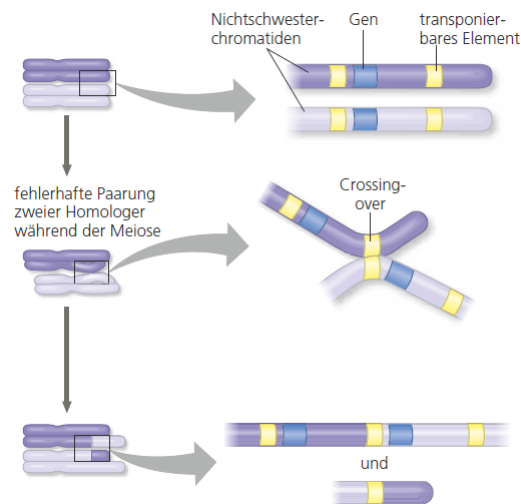


Figure 19.4.: Genduplikation infolge illegitimen Crossing-overs zwischen fehlerhaft gepaarten Nichtschwesterchromatiden homologer Chromosomen

Beispielsweise haben sich bei der Entwicklung zum Menschen zwei Chromosomen eines gemeinsamen Vorfahrens zwischen Schimpansen ($n=24$) und Menschen ($n=23$) verschmolzen. Sie fusionierten an den Telomer-Sequenzen ihrer Enden.

19.4.3. Duplikation und Divergenz einzelner Genbereiche

Hier werden Duplikationen und Deletionen kleinerer Bereiche betrachtet, sie entsprechen ungefähr den Grössen von Genen. Es gibt zwei Hauptursachen:

Illegitimes Crossing-over zwischen Nichtschwesterchromatiden Transponierbare Elemente können Sequenzen bereitstellen, an denen Nichtschwesterchromatiden rekombinieren können, selbst dann, wenn die flankierenden Chromatidbereiche nicht korrekt aneinandergelagert sind. So kann ein Gen auf einem Chromosom dupliziert, und auf dem anderen gelöscht werden (→ Abb. 19.4).

Verrutschungen bei der Replikation Wenn der Matrizenstrang relativ zum neu entstehenden Komplementärstrang verrutscht, können Bereiche entweder nicht oder doppelt repliziert werden. Solche Fehler passieren häufiger in genomischen Sequenzwiederholungen und sind wahrscheinlich die Ursache für die unterschiedliche Anzahl Wiederholungen bei STRs.

Ein Beispiel, wie solche Duplikationen einen Einfluss auf die Evolution haben können, bietet die Genfamilie der Globine beim Menschen. Durch mehrfache Duplikationen konnten sich verschiedene Isoformen entwickeln, die erhalten blieben, weil sie einen positiven Effekt hatten. Einige Mutationen in den duplizierten Genen hatten negativen Einfluss und blieben entweder nicht erhalten oder führten zuerst zum Verlust der Funktion des Gens und schliesslich zur Bildung des Pseudogens. Dieser Prozess ist in Abbildung 19.5 illustriert.

19.4.4. Wie transponierbare Elemente zur Genomevolution beitragen

Transponierbare Elemente können durch folgende Wirkungsweisen zur Genomevolution beitragen:

- Sie können die Rekombinationshäufigkeit erhöhen, indem sie homologe Bereiche für ein Crossing-over bereitstellen.
- Falls ein transponierbares Element mitten in ein Gen hineinspringt, kann dies zur Bildung eines veränderten Proteins führen.
- Falls es in eine regulatorische Sequenz springt, kann es zu einer verminderten oder vermehrten Bildung des Proteins führen.

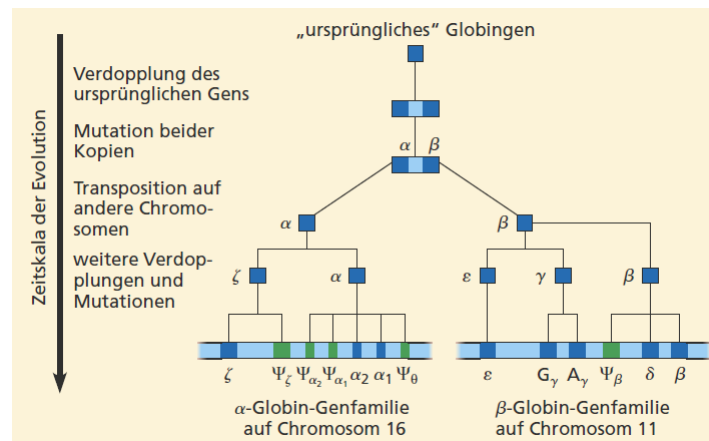


Figure 19.5.: Ein Modell für die Evolution der Familie der menschlichen α - und β -Globingene, das von einem gemeinsamen Vorläufer ausgeht.

- Während der Transposition kann ein transponierbares Element ein Gen oder eine ganze Gruppe von Genen an eine neue Position im Genom verschieben.
- Ein transponierbares Element kann auch ein Exon mitführen und es so innerhalb des Genoms verschieben, ähnlich wie Exon-Shuffling.
- Eines der beschriebenen Alu-Elemente kann in ein Intron inseriert werden, sodass eine neue alternative Spleissstelle entstehen kann. In einem Beispiel wird diese neue Spleissstelle nur selten genutzt, sodass das ursprüngliche Protein weiterhin normal exprimiert wurde. Gelegentlich wird sie aber doch genutzt und ein verändertes Protein wird gebildet. So können die Veränderung von Genen quasi "ausprobiert" werden.

19.5. Vergleich von Genomsequenzen

Je mehr sich die Sequenzen von einzelnen Genen oder ganzen Genomen ähneln, desto näher sind die betrachteten Arten in ihrer Entstehungsgeschichte miteinander verwandt. Der Vergleich von Genomen eng verwandter Arten gibt also Einsicht in jüngere evolutive Ereignisse, während ein Vergleich entfernt verwandter Arten hilft, die weiter zurückliegende Evolutionsgeschichte zu verstehen.

Will man weit entfernt verwandte Spezies untersuchen, so vergleicht man stark konservierte Sequenzen, die an grundlegenden zellulären Prozessen beteiligt sind und die es in allen Tieren gibt. Mit solchen hochkonservierten Genen kann man Beziehungen zwischen Spezies herstellen, die sich schon früh getrennt haben. Zudem können Erkenntnisse über solche Gene häufig auch auf andere Organismen übertragen werden.

Die Untersuchung nah verwandter Arten wird schon dadurch erleichtert, dass man das Genom einer Art als Grundgerüst für das Genom der anderen verwenden kann, was bei der DNA-Sequenzierung hilfreich ist (wobei dieser Vorteil durch immer schnellere und günstigere Sequenziermethoden marginal wird). Die phänotypischen Unterschiede zweier nah verwandten Arten können vergleichsweise leicht auf die genotypischen Unterschiede zurückgeführt werden.

Am schnellsten verändern sich übrigens Gene für Transkriptionsfaktoren, weil diese das Expressionsverhalten von ganzen Gengruppen steuern und damit eine entscheidende Rolle bei der Umsetzung des genetischen Programms spielen. Auch interessant ist der Fakt, dass das Genom von Mäusen zu 85% mit jenem der Menschen übereinstimmt und sie somit auch zur Untersuchung von Erbkrankheiten verwendet werden können. Schliesslich kann man auch Genome **innerhalb einer Art** vergleichen. Beim Menschen machen SNPs einen grossen Teil der Unterschiede aus. Daneben wurden aber auch sogenannte **copy number variants (CNVs)** entdeckt. Das sind Gene oder ganze genomische Regionen, von denen einige Personen mehrere Kopien auf üblicherweise denselben Homologen besitzen. Bei 40 Personen fand man über

8'000 CNVs, an denen 13% der Gene des menschlichen Genoms beteiligt waren. Sie spielen mit grosser Wahrscheinlichkeit eine Rolle bei komplexen Erbkrankheiten, weil sie viel grössere DNA-Bereiche als die SNPs umfassen.

CNVs, SNPs und Unterschiede in der repetitiven DNA wie STRs sind nützliche genetische Marker für die Untersuchung der menschlichen Entwicklungsgeschichte.

19.5.1. Sequenzvergleiche geben Aufschluss über Entwicklungsprozesse

Die evolutionäre Entwicklungsbiologie wird auch als **Evo-Devo-Forschung** (evolution and development) bezeichnet. Dabei vergleicht man die Entwicklungsgänge verschiedener vielzelliger Organismen miteinander und versucht herauszufinden, auf welchen biologischen Mechanismen die Individualentwicklung beruht. Kleine Unterschiede in der Sequenz von Genen oder ihrer Regulation reichen aus, um die deutlich verschiedenen morphologischen Merkmale nah verwandter Arten zu erklären. Generell sind Gene, die an der Entwicklungssteuerung beteiligt sind, stark konserviert. Die morphologischen Unterschiede der verschiedenen Arten sind vor allem in den zeitlich und örtlich veränderten Expressionsmuster begründet.

19.6. Übersicht Mutationen

In Abbildung 19.6 ist eine Übersicht zu den verschiedenen Arten von Mutationen.

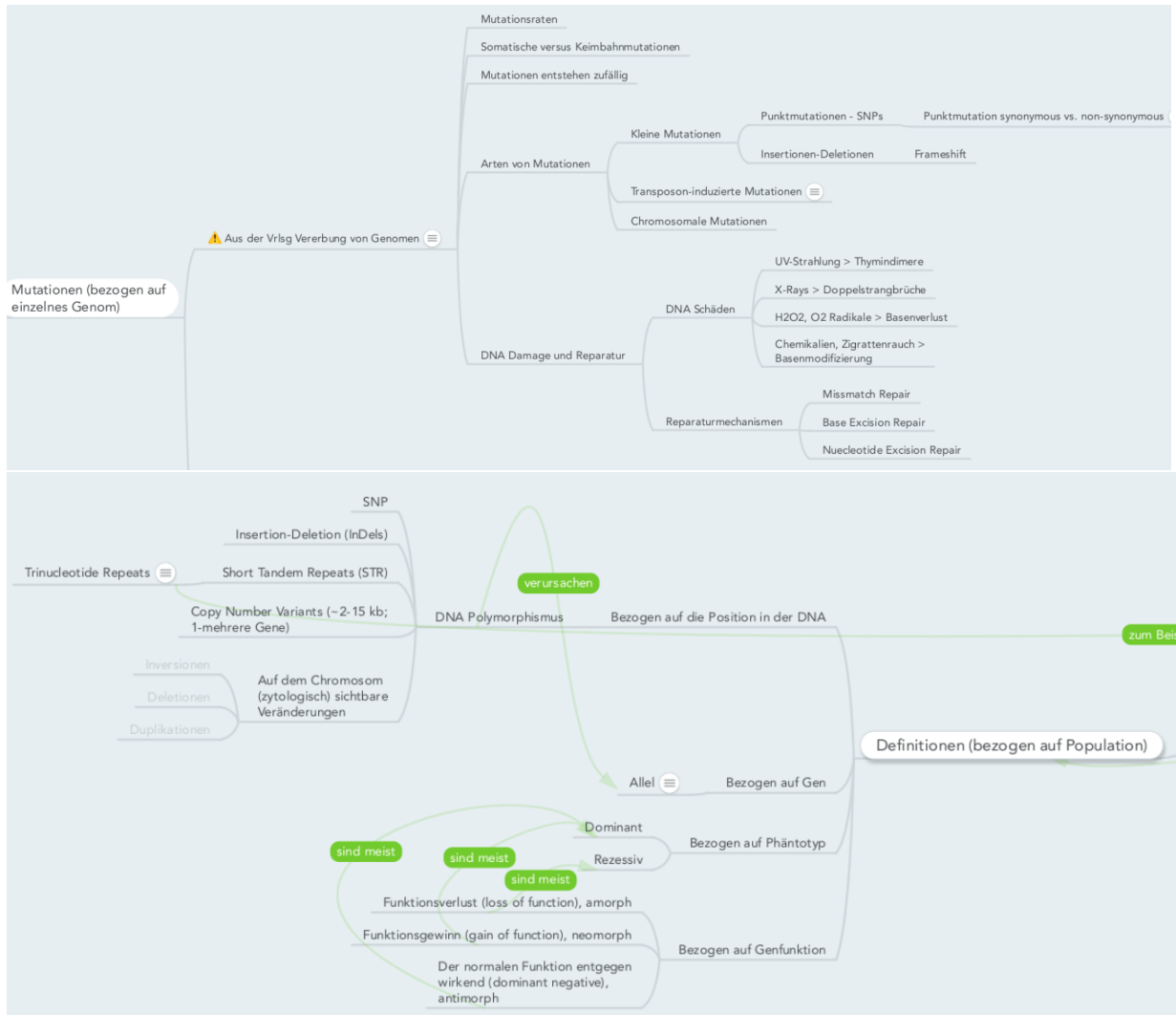


Figure 19.6.: Übersicht über die verschiedenen Arten von Mutationen