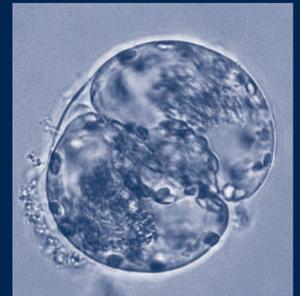
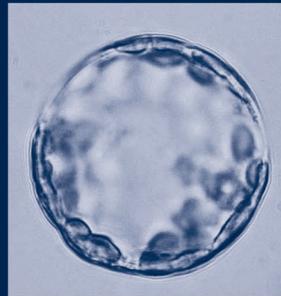


Dieter Heß

Pflanzenphysiologie

11. Auflage



Ulmer

UTB



UTB 8393

Eine Arbeitsgemeinschaft der Verlage

Böhlau Verlag · Köln · Weimar · Wien
Verlag Barbara Budrich · Opladen · Farmington Hills
facultas.wuv · Wien
Wilhelm Fink · München
A. Francke Verlag · Tübingen und Basel
Haupt Verlag · Bern · Stuttgart · Wien
Julius Klinkhardt Verlagsbuchhandlung · Bad Heilbrunn
Lucius & Lucius Verlagsgesellschaft · Stuttgart
Mohr Siebeck · Tübingen
C. F. Müller Verlag · Heidelberg
Orell Füssli Verlag · Zürich
Verlag Recht und Wirtschaft · Frankfurt am Main
Ernst Reinhardt Verlag · München · Basel
Ferdinand Schöningh · Paderborn · München · Wien · Zürich
Eugen Ulmer Verlag · Stuttgart
UVK Verlagsgesellschaft · Konstanz
Vandenhoeck & Ruprecht · Göttingen
vdf Hochschulverlag AG an der ETH Zürich

Dieter Heß

Pflanzenphysiologie

Grundlagen der Physiologie und Biotechnologie
der Pflanzen

11., komplett neu bearbeitete und neu gestaltete Auflage

388 Abbildungen
15 Tabellen

Verlag Eugen Ulmer Stuttgart

Dieter Hess, geb. 1933 in Karlsruhe. Studium der Biologie und Chemie in Freiburg i. Br. und Tübingen. Promotion 1957 im Fach Botanik bei F. Oehlkers in Freiburg i. Br.. Assistent am Botanischen Institut der Universität Freiburg 1957 bis 1961. Habilitation 1961 für Botanik an der Universität Freiburg i. Br.. 1961 Fortbildung in Biochemie bei F. Lynen in München. 1962 bis 1967 wiss. Mitarbeiter am Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Abt. Genetik, in Köln. In dieser Zeit Stellenangebote als wiss. Mitarbeiter von R.G.Stanley, University of Florida, Gainesville, USA, und B. L.Turner, University of Texas, Austin, USA.

Rufe:

1966 Associate Professor Genetic Biology, Purdue University, Lafayette, USA.

1966 Ordentlicher Professor Pflanzenphysiologie, Ruhr-Universität Bochum. Bochum.

1966 Ordentlicher Professor Botanische Entwicklungsphysiologie, Universität Hohenheim, Stuttgart.

1974 Ordentlicher Professor Allgemeine Genetik, Universität Regensburg, Regensburg.

Seit 1967 ordentlicher Professor, Direktor des Instituts für Physiologie und Biotechnologie der Pflanzen (Bezeichnung seit 1998) der Universität Hohenheim. 2001 Entpflichtung, 2002 Selbstvertretung, 2002 - 2004 Leiter der Gruppe Gentechnologie an der Universität Hohenheim. Hauptarbeitsgebiete: Molekularbiologie höherer Pflanzen, Biotechnologie der Pflanzen, Blütenbiologie.

Das Buch wurde ins Chinesische, Englische (auch englische UNESCO-Ausgabe), Japanische, Spanische, Tschechische und Ungarische übersetzt.

Bibliografische Information der deutschen Nationalbibliothek

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

ISBN 978-3-8001-2885-3 (Ulmer)

ISBN 978-3-8252-8393-3 (UTB)

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

© 2008 Eugen Ulmer KG

Wollgrasweg 41, 70599 Stuttgart (Hohenheim)

E-Mail: info@ulmer.de

Internet: www.ulmer.de

Lektorat: Alessandra Kreibaum

Herstellung: Jürgen Sprenzel

Entwurf Umschlag und Innenlayout: Atelier Reichert, Stuttgart

Satz: r&p digitale medien, Echterdingen

Druck und Bindung: Egedsa, Sabadell, Spanien

Printed in Spain

ISBN 978-3-8252-8393-3 (UTB-Bestellnummer)

Inhaltsverzeichnis

Vorwort	8
Das Programm	10

A Nukleinsäuren: Struktur und Expression

1 Die Struktur der Nukleinsäuren .	14	3 Photosynthetische Nitratassimila-	39
1.1 Bausteine der Nukleinsäuren	16	tion, Aminosäuren und Proteine	
1.2 Nucleoside, Nucleotide, Polynucleotide	16	3.1 Photosynthetische Nitratassimilation	40
1.3 Die DNA-Doppelhelix	18	3.2 Glutamat als primärer NH ₃ -Akzeptor	41
1.4 Die Organisation der DNA in den Chromosomen	20	3.3 Gentechnik und Basta-resistenter Mais	42
2 Die Expression der Gene	23	3.4 Transaminierungen	43
2.1 Die Struktur der Gene im Zellkern von Eukaryonten	24	3.5 Die Herkunft des C-Skeletts der Ami- nosäuren: Aminosäuren-Familien ..	45
2.2 Das Konzept der Genexpression	25	3.6 Der Shikimisäure-Weg zu aromati- schen Aminosäuren	46
2.3 Transkription	26	3.7 Posttranslationale Modifikationen der Polypeptide	47
2.4 Processing der Primärtranskripte ...	30	3.8 Regulation der Enzymaktivität	49
2.5 Translation	34	3.9 Abbau von Proteinen: Ubiquitinie- rung	51

B Biotechnik

4 Gewebekulturtechnik	55	5 Gentechnik	66
4.1 Embryonenkultur	56	5.1 DNA - Analytik	67
4.2 Isolierte Organe und Organteile	57	5.2 Methoden des Gentransfers	79
4.3 Isolierte Gewebe	64		
4.4 Einzelzellen und isolierte Proto- plasten	64		

C Stoffwechsel

6 Photosynthese	89	9.3 Mobilisierung der Speicherfette, β -Oxidation der Fettsäuren und Glyoxylat-Zyklus	149
6.1 Der Chloroplast: Ort der Photosynthese	90	9.4 Gentechnik und Rapsöle	151
6.2 Primärvorgänge der Photosynthese	95	10 Terpene	154
6.3 Sekundärprozesse der Photosynthese	106	10.1 Übersicht über die Gruppen der Terpene	155
6.4 Glykolat-Zyklus (Photorespiration)	113	10.2 Grundzüge der Biosynthese	156
7 Biologische Oxidation	116	10.3 Terpengruppen: Spezielle Biosynthesen, Funktion und Anwendung ..	157
7.1 Glykolyse	117	11 Phenole	168
7.2 Feinstruktur der Mitochondrien	119	11.1 Übersicht über die Gruppen der Phenole	169
7.3 Oxidative Decarboxylierung des Pyruvats zu Acetyl-CoA	119	11.2 Grundzüge der Biosynthese	169
7.4 Citrat-Zyklus	120	11.3 Phenolgruppen: Spezielle Biosynthesen, Funktion und Anwendung ..	171
7.5 Endoxidation in der Atmungskette ..	120	12 Stickstoffhaltige niedermolekulare Sekundärstoffe: Alkaloide und Tetrapyrrole	187
7.6 Der oxidative Pentosephosphat-Zyklus	124	12.1 Einteilung in Gruppen	188
8 Kohlenhydrate	127	12.2 Derivate von Ornithin und Lysin ..	189
8.1 Monosaccharide	128	12.3 Derivate von Phenylalanin und Tyrosin	192
8.2 Oligosaccharide	130	12.4 Derivate von Tryptophan: Indolalkaloide	194
8.3 Polysaccharide	132	12.5 Derivate von Glycin: Purin-Alkaloide	198
8.4 Endoplasmatisches Reticulum und Golgi-Apparat: Synthese- und Transportsystem	139	12.6 Derivate von Aspartat: Pyrimidin-Basen	200
9 Glycerolipide	142	12.7 Derivate von Glutamat: Tetrapyrrole	200
9.1 Chemische Konstitution der Glycerolipide	143		
9.2 Die Biosynthese der Glycerolipide ..	146		

D Transport

13 Transport	203	13.5 Langstreckentransport von Wasser und Nährsalzen im Xylem	211
13.1 Möglichkeiten des Transports	204	13.6 Langstreckentransport von Assimilaten im Phloem	215
13.2 Wasserstatus der Zelle	204		
13.3 Transmembrantransport	205		
13.4 Aufnahme und Quertransport (Mittelstreckentransport) von Wasser und Ionen	210		

E Entwicklung

14 Regulation durch Phytohormone	223
14.1 Grundlagen der Signaltransduktion .	224
14.2 Phytohormone	228
15 Regulation über den Außenfaktor Licht	249
15.1 Morphogenetische Pigmentsysteme .	250
15.2 Phytochrome	250
15.3 Blaulichtrezeptoren	254
16 Wachstum	257
16.1 Teilungswachstum	258
16.2 Streckungswachstum	265
17 Grundlagen der Differenzierung	274
17.1 Totipotenz	275
17.2 Differentielle Genaktivität: Definition und Nachweis	277
17.3 Differentielle Genaktivität: Polarität und inäquale Teilungen	280
17.4 Differentielle Genaktivität: Polarität, Positionseffekte und Musterbildung .	284
18 Die embryonale Phase	285
18.1 Embryogenese	286
18.2 Reservestoffspeicherung	291
18.3 Dormanz der Embryonen	292
18.4 Bildung der Frucht	293
19 Die Keimlingsphase	296
19.1 Ablauf der Keimlingsphase (Kurzform)	297
19.2 Brechen der Keimruhe (Dormanz) ..	297
19.3 Keimungsbedingungen und Keimung	300
20 Die vegetative Phase: Organogenese im Spross-System	303
20.1 Die Anlage der Blätter	304
20.2 Die Verzweigung	305
20.3 Anschluss der Lateralorgane an die Leitbahnen der Hauptachse	306
21 Die vegetative Phase: Reaktionen auf abiotische Außenfaktoren ..	308
21.1 Bewegungen von Pflanzenorganen .	309
21.2 Stressresistenz	316
22 Die vegetative Phase: Interaktionen mit biotischen Außenfaktoren	326
22.1 Pflanzen gegen Pflanzen: Allelopathie	327
22.2 Pflanzen gegen Pathogene: Pathogenabwehr	330
22.3 Pflanzen gegen Tiere: Herbivorabwehr	338
22.4 Pflanzen mit Bakterien: Symbiosen und Assoziationen	346
23 Die reproduktive Phase: Blühinduktion	354
23.1 Der Anfang: Gene für das vegetative Wachstum und andere Gene für die Blühinduktion	355
23.2 Blühinduktion: Terminologie	356
23.3 Kälte und Blühinduktion: Vernalisation	356
23.4 Tageslänge und Blühinduktion: Photoperiodismus	358
24 Die reproduktive Phase: Blütendifferenzierung	369
24.1 Gen-Kaskaden bei der Blütenbildung	370
24.2 Blütendifferenzierung	371
24.3 Entwicklung der Gametophyten ...	372
25 Die reproduktive Phase: Pollenschlauchwachstum, Selbstinkompatibilität, Doppelte Befruchtung	376
25.1 Pollenschlauchwachstum	377
25.2 Selbstinkompatibilität	378
25.3 Doppelte Befruchtung	381
26 Die Seneszenz: Programmierter Zelltod und Seneszenz von Organen	383
26.1 Der programmierte Zelltod	384
26.2 Seneszenz von Blattorganen	385
Literatur	393
Bildquellen	404
Sachregister	405

Vorwort zur 1. Auflage

Meiner Mutter †

In den vergangenen Jahren hat die Molekularbiologie in allen Teilbereichen der Botanik Einzug gehalten. Ganz besonders gilt das für die Pflanzenphysiologie. Im vorliegenden Buch wird der Versuch unternommen, auf der Basis molekularbiologischer Daten eine Einführung in die Stoffwechsel- und Entwicklungsphysiologie der höheren Pflanzen zu geben. Von der heterokatalytischen Funktion der DNS ausgehend wird in den ersten zehn Kapiteln der Stoffwechsel, von der autokatalytischen Funktion der DNS ausgehend in den folgenden neun Kapiteln, von mehr stoffwechsel-physiologisch orientierten Einschüben abgesehen, die Entwicklung dargestellt. Beide Bereiche der Pflanzenphysiologie sind so eng verzahnt, daß eine derart integrierte Darstellung nicht nur möglich, sondern sogar wünschenswert erschien.

Im Gegensatz zu anderen Darstellungen wird wenigstens versucht, Stoffwechsel und Entwicklung *gleichgewichtig* herauszuarbeiten. Vor allem werden auch die sog. „sekundären“ Pflanzenstoffe, die nicht nur für den Biologen, sondern auch den Pharmazeuten, Nahrungsmitteltechnologien, Techniker und Landwirt von wesentlichem Interesse sind, wenigstens einigermaßen adäquat abhandelt. Dass die Fülle des Stoffs eine exemplarische Darstellungsweise bedingte, ist selbstverständlich.

Das Buch ist für Anfänger gedacht. Dementsprechend musste teilweise simplifiziert werden. Aber es konnte nicht darauf verzichtet werden, weiterführende Hypothesen zu erwähnen. Denn auch der Anfänger sollte erfahren, wie man auf Grund bestimmter Fakten zunächst Arbeitshypothesen aufstellt, die es dann zu beweisen oder zu widerlegen gilt.

In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage, welche Kenntnisse von dem eben angesprochenen „Anfänger“ erwartet werden sollten. Er sollte über ein gutes Lehrbuch der Allgemeinen Botanik verfügen, etwa den „Nultsch“. Hauptfachbotani-

ker werden ohnedies auch den „Strasburger“ besitzen. Unser Anfänger sollte die Bücher aber nicht nur besitzen, sondern auch mit ihnen arbeiten! Vor allem aber sollte sich der Biologe schon im ersten Semester Karlsons „Kurzes Lehrbuch der Biochemie“ als ständigen Begleiter zulegen. Das bedeutet keinesfalls, dass er den dort gebotenen Stoff bereits beherrschen müsste. Aber er sollte immer wieder nachlesen und sich so langsam einarbeiten.

Auf eine Schilderung der Methodik musste, von kurzen Hinweisen abgesehen, verzichtet werden, um den Rahmen des Buches nicht hinsichtlich des Umfanges und des Preises zu sprengen. Aber hierfür gibt es Angaben in jedem biochemisch orientierten Lehrbuch und auch kurzgefasste Einführungen in Buchform, so z. B. E. S. Lenhoff „Tools of Biology“.

Der Verfasser hofft, dass sein Buch nicht nur den Studierenden der Biologie und benachbarter Disziplinen in ihren ersten Semestern, sondern auch Lehrkräften an höheren Schulen von Nutzen sein kann, die sich über neuere Entwicklungen im Bereich der Pflanzenphysiologie informieren und den einen oder anderen Sachverhalt auch im Unterricht berücksichtigen möchten.

Recht herzlich danken möchte der Verfasser seinem Verleger, Herrn Roland Ulmer, und dessen Mitarbeitern für die gute Zusammenarbeit, ebenso Herrn Ekkehart Volk für seine Sorgfalt bei der Ausführung der Zeichnungen. Und Dank gebührt auch Frau und Tochter, die für die „Überstundenarbeit“ volles Verständnis bewiesen.

Am Ende dieses Vorwortes aber soll ein Wunsch stehen: Möge es den Wissenschaftlern an den deutschen Universitäten auch in Zukunft nicht durch Entscheidungen einer kurzfristig orientierten Politik verwehrt werden, an der Klärung der für uns alle zentral wichtigen Fragen der modernen Biologie aktiv mitzuarbeiten!

Stuttgart-Hohenheim, im Juli 1970 Dieter Heß

Vorwort zur 11. Auflage

Die erste Auflage der Pflanzenphysiologie wurde 1970 von Roland Ulmer herausgebracht. Diese 11. Auflage erscheint nach Weitergabe der Verlagsleitung an seinen Sohn Matthias. Über Generationen und Auflagen hinweg blieb die gute Zusammenarbeit zwischen Verlag und Autor unverändert. Für die vorliegende Auflage möchte ich besonders Frau Dr. N. Kneissler in der Programmleitung, Frau A. Kreibaum im Lektorat und Herrn J. Sprengel in der Herstellung danken. Frau Sabine Seifert fertigte mit Verständnis und Einfühlungsvermögen die Zeichnungen an, vielfach nach Vorlagen des Autors. Ein neues Layout mit nun durchgehend vierfarbiger Darstellung erforderte ein entsprechendes Engagement aller Beteiligten. In diesem Zusammenhang möchte ich auch Kollegen und Freunden in aller Welt, darunter vielen ehemaligen Mitarbeitern, für die Bereitstellung von Farbfotos danken.

Die äußere Form ist wichtig, doch wäre sie nichts ohne einen entsprechenden Inhalt. Er wurde in dieser Auflage grundlegend umgestaltet, gestrafft und thematisch erweitert. Die Gentechnik, ohne die viele pflanzenphysiologische Laboratorien nicht auskommen könnten, war schon in den vorhergehenden Auflagen berücksichtigt worden, wird aber nun ausgebaut. Ihre Grundlagen finden sich in einem eigenen Kapitel, Fallbeispiele in den nachfolgenden Kapiteln. Gewebekulturen, auf denen viele Verfahren des Gentransfers basieren, die aber auch davon abgesehen von hoher Relevanz in Forschung und Praxis sind, wurden ebenfalls in einem eigenen Kapitel berücksichtigt. Damit deckt das Buch die Biotechnik in wesentlichen Aspekten ab.

Neu ist auch die Aufnahme wichtiger Bereiche der Bewegungsphysiologie. Dazu gehören außer einigen Nastien insbesondere Gravi- und Phototropismus, in denen in den letzten Jahren entscheidende Fortschritte gemacht wurden. Ebenfalls neu ist auch ein Kapitel über PCD und Seneszenz. Damit wird die Darstellung der Pflanzenphysiologie wesentlich abgerundet. Dabei wurde das Schwergewicht wie schon bisher auf biochemische und molekulare Daten gelegt.

Das Buch entspricht den Anforderungen für den Bachelor oder die Zwischenprüfung bzw. das Vordiplom, geht aber insbesondere in manchen Boxen in Richtung Master oder auch Staatsexamen darüber hinaus. Dementsprechend wurden Quellenangaben zu Übersichtsreferaten, „Meilensteinen“ der Forschung und weiteren Originalarbeiten eingebracht. Dabei wurden ältere Arbeiten nicht vernachlässigt. Denn sie legten die Basis für die Erfolge der modernen Pflanzenphysiologie.

Der Autor hofft, dass die neue Pflanzenphysiologie wieder eine freundliche Aufnahme an Universitäten und anderen Hochschulen findet, aber auch bei Kollegen im Lehramt und in der Wirtschaft, die sich einen Überblick über ein faszinierendes, rasch wachsendes Teilgebiet der Biologie verschaffen oder ihr Wissen aktualisieren möchten.

Hohenheim, Januar 2008

Dieter Heß

Das Programm

Die Entwicklung einer Pflanze ist eine Folge von Merkmalsbildungen: ein Same keimt und entwickelt sich zum Keimling. Der Keimling ergrünt und bildet einen Spross mit Folgeblättern und schließlich Blüten. Samen und Frucht schließen den Kreislauf, der bei mehrjährigen Pflanzen vielfach wiederholt werden kann. Doch früher oder später kommt es zur Seneszenz und zum Absterben der Pflanze. Dementsprechend gliedert man den Entwicklungszyklus nach einem Vorschlag von Oehlkers (1956) in die **embryonale Phase**, die **Keimlingsphase (unselbständige**

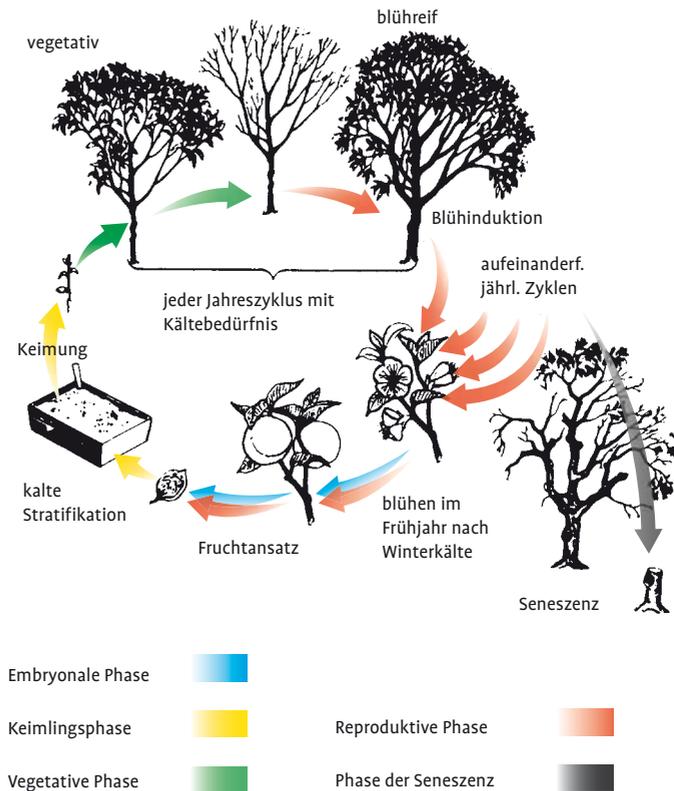
vegetative Phase), die **vegetative Phase**, die **reproduktive Phase** und, später zwingend hinzugefügt, **die Phase der Seneszenz und des Zelltods** (Abb. 1.1).

Jede Merkmalsbildung besteht aus einer Vielzahl ineinander verflochtener chemischer Reaktionsketten. Sie sind genetisch gesteuert. Doch Abb. 1.1 lässt auch die Abhängigkeit von Außenfaktoren erkennen, die auf die Genexpression Einfluss nehmen.

Wir werden uns in diesem Buch zuerst mit dem genetischen Material und seiner Expression be-

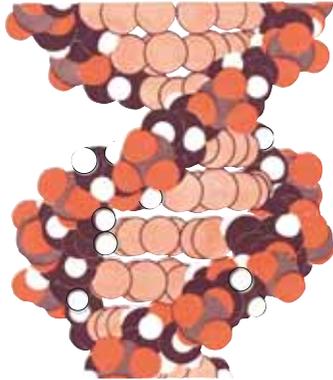
Abb. 1.1

Schema der Entwicklung eines vieljährigen Holzgewächses am Beispiel des Pfirsichs (*Prunus persica*). Der Same keimt nach einer kalten Stratifikation (**Keimlingsphase**) und entwickelt sich zu einem Baum. Nach ein bis drei Jahren ist die **vegetative Phase** beendet. Der Baum wird blühreif. Nach Einwirken der winterlichen Kälte kommt es zum Blühen und Fruchten (**reproduktive Phase**; im Samen entwickelt sich parallel dazu der Embryo = **embryonale Phase**). Dieser Jahreszyklus wiederholt sich, wobei jedes Mal die Kälte die Voraussetzung für das Blühen ist. Allmählich altert der Baum und geht nach einem längeren **Stadium der Seneszenz** zugrunde. Eine Verjüngung ist durch Stockausschläge aus dem Baumstumpf möglich, solange er noch nicht zu weit abgestorben ist (verändert nach JANICK et al. 1969).



fassen. Nach einem Einschub zu grundlegenden Methoden der Biotechnik, die in Forschung und Praxis routinemäßig Verwendung finden, werden der Stoffwechsel und anschließend der Stofftransport besprochen. Erst danach ist eine Behandlung der Entwicklung sinnvoll. Was sie angeht, werden vorweg Grundlagen von Wachstum und Entwicklung (Phytohormone, morphogenetische Pigmentsysteme, Wachstum, Grundlagen der Differenzierung) besprochen, die in allen Lebensphasen wichtig sind. Danach wird nach den

erwähnten Lebensphasen gegliedert. Dabei werden die belebten und unbelebten Außenfaktoren berücksichtigt, die ständig auf unsere Pflanzen Einfluss nehmen. So werden in den Kapiteln zur vegetativen Phase nicht nur Allelopathie, Phytopathologie, Herbivorie und Symbiose (belebte Außenfaktoren), sondern auch Photo- und Gravitropismus und Stressphysiologie (unbelebte Außenfaktoren) behandelt. Kapitel über die reproduktive Phase sowie Seneszenz und Zelltod schließen das Buch ab.



A Nucleinsäuren: Struktur und Expression

- 1 Die Struktur der Nucleinsäuren**
- 2 Die Expression der Gene**
- 3 Photosynthetische Nitratassimilation, Aminosäuren und Proteine**

1 Die Struktur der Nucleinsäuren

- 1.1 Bausteine der Nucleinsäuren
- 1.2 Nucleoside, Nucleotide, Polynucleotide
- 1.3 Die DNA-Doppelhelix
- 1.4 Die Organisation der DNA in den Chromosomen

INHALT

Nucleinsäuren sind die primären Informationsträger, in Zellen DNA und in vielen phytopathogenen Viren RNA. Die Struktur beider Nucleinsäuren wird besprochen. In diesem Kapitel befassen wir uns also mit struktureller Genomik. Das Kettenabbruchverfahren erlaubt die Sequenzierung der DNA. Die DNA-Doppelhelix wird eingeführt und ihre Organisation in Chromosomen geschildert. Strukturelemente dabei sind die aus DNA und Histonen aufgebauten Nucleosomen. Über Veränderungen der Histone lässt sich der Kondensationszustand des Chromatins steuern. Zu einer Expression kommt es nur im aufgelockerten Chromatin.



DEFINITION

Unter **Genom** im weiteren Sinn versteht man die Gesamtheit der Gene eines Virus oder Organismus. Bei Eukaryonten wird als Genom im engeren Sinn oder **Nucleom** die Gesamtheit der Gene auf den Chromosomen, als **Plastom** die Gesamtheit der Gene in den Plastiden und als **Chondriom** die Gesamtheit der Gene in den Mitochondrien bezeichnet. **Genomik** ist die analytische Erfassung von Struktur (**strukturelle Genomik**) und Funktion (**funktionelle Genomik**) des Genoms.

Seit den Transformationsexperimenten Averys' an Pneumokokken (1944) steht fest, dass es sich bei dem genetischen Material in der Regel um einen bestimmten Typ von Nucleinsäuren, nämlich Desoxyribonucleinsäuren (**deoxyribonucleic acid = DNA**) handelt (→ Box 1.1.). Doch kann, zum Beispiel bei den meisten Pflanzenviren, auch ein zweiter Nucleinsäuretyp, die Ribonucleinsäure (**ribonucleic acid = RNA**), primärer Träger der genetischen Information sein. Aber auch dann, wenn es sich bei dem primären Informationsträger um DNA handelt, spielt RNA bei der



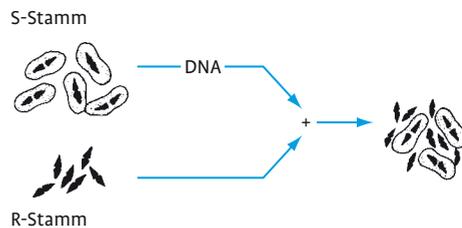
BOX 1.1

Avery's' Transformationsexperimente

Mit den Experimenten Avery's' (1) begann im Jahre 1944 das Zeitalter der molekularen Genetik. Versuchsobjekte waren Pneumokokken, Bakterien also, die unter anderem als Erreger von Lungentzündungen bekannt sind. Bei manchen ihrer Stämme sind die einzelnen Bakterien von einer Polysaccharid-Kapsel umgeben. Die Kapsel schützt die Bakterien vor dem Angriff von Enzymen des befallenen Organismus. Bakterien mit Kapseln können sich deshalb im Wirtsorganismus vermehren und werden so virulent. In der Petrischale bilden sie Kolonien mit einer glatten Oberfläche. Man spricht deshalb von S-Stämmen (engl. smooth = glatt). Andere Pneumokokkenstämme besitzen keine schützende Kapsel. Sie sind infolgedessen auch nicht virulent. Ihre Kolo-

Abb. 1.2

Transformation bei Pneumokokken. DNA aus dem S-Stamm wird in einige Bakterien des R-Stammes übertragen, die daraufhin wie die Bakterien des S-Stammes Kapseln ausbilden (KAUDEWITZ 1958).



Expression der aus DNA bestehenden Gene eine ausschlaggebende Rolle.



DEFINITION

Genetisch stabile Veränderungen durch experimentelle Genübertragung nennt man (genetische) **Transformationen**, die übertragenen Fremdgene **Transgene**. Transformationen liefern Transformanten, transgene Organismen oder **gentechnisch veränderte Organismen (GVOs)**. **Gv** bedeutet gentechnisch verändert.

nien weisen eine raue Oberfläche auf, daher die Bezeichnung R-Stämme (engl. rough = rau). Avery isolierte DNA aus S-Stämmen und übertrug sie in Kulturen von R-Stämmen. Ein geringer Prozentsatz (in diesen Versuchen unter 1 %) der so behandelten R-Bakterien bildete daraufhin Kapseln aus (Abb. 1.2). Die einmal erworbene Fähigkeit zur Kapselbildung wurde von den Nachkommenschaften konstant beibehalten. Es war also gelungen, das Gen für Kapselbildung zu übertragen, und dieses Gen musste sich in der DNA befinden haben, mit der die R-Stämme behandelt worden waren. Damit war bewiesen, dass DNA genetisches Material sein kann.

¹ Avery et al. 1944.

1.1 Bausteine der Nucleinsäuren

Alle Nucleinsäuren bauen sich prinzipiell aus drei Gruppen von Substanzen auf: aus stickstoffhaltigen **zyklischen Basen**, aus **Pentosen**, das sind Zucker mit fünf Kohlenstoffatomen, und aus **anorganischem Phosphat** (Abb. 1.3, Tab. 1.1). Je nachdem, welche Basen und welche Zucker sich am Aufbau der Nucleinsäuren beteiligen, unterscheidet man zwischen den beiden erwähnten Nucleinsäuren, der DNA und RNA. Jede dieser Gruppen ist in sich heterogen. Es gibt nicht eine DNA, sondern unzählige verschiedene Sorten von DNA, und es gibt nicht eine RNA, sondern es gibt drei große Untergruppen von RNA und jede dieser drei Untergruppen gliedert sich wieder in eine Vielzahl verschiedener Sorten.

Die Basenbausteine der **DNA** sind die Purinbasen **Adenin** (A) und **Guanin** (G) und die Pyrimidinbasen **Cytosin** (C) und **Thymin** (T). Der Pentosezucker der DNA ist die **2-Desoxyribose**.

Die **RNA** führt ebenfalls die Purinbasen **Adenin** und **Guanin** und die Pyrimidinbase **Cytosin**. Die zweite Pyrimidinbase ist aber nicht Thymin, sondern **Uracil** (U). Auch der Pentosezucker ist ein anderer: die RNA enthält **Ribose**.

Zu den genannten Basen kommt noch eine Reihe seltener Basenbausteine. Von ihnen soll das

5-Methylcytosin (5-MC) erwähnt werden, weil es unter den seltenen Basen relativ häufig in der DNA höherer Pflanzen vorkommt.

Stellen wir noch einmal deutlich heraus, in welchen Bausteinen sich DNA und RNA voneinander unterscheiden: DNA enthält die Pyrimidinbase Thymin, RNA stattdessen die Pyrimidinbase Uracil. Der Pentosezucker der DNA ist die 2-Desoxyribose, der Pentosezucker der RNA die Ribose.

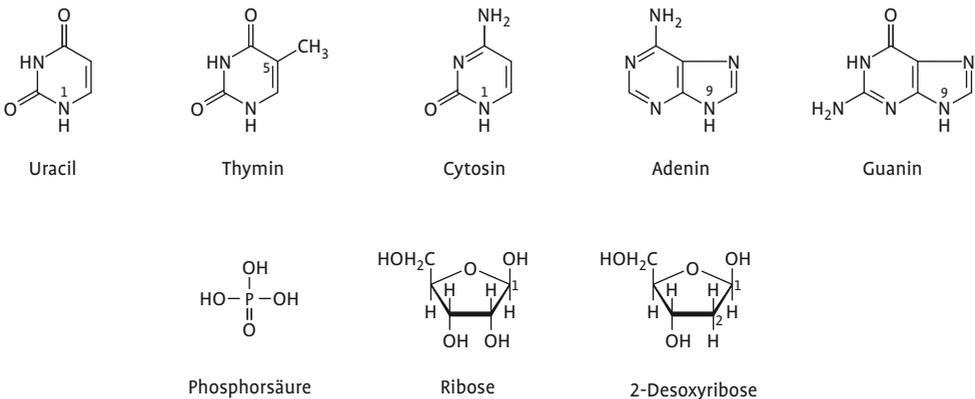
1.2 Nucleoside, Nucleotide, Polynucleotide

Die drei genannten Bausteintypen, die Basen, die Pentosezucker und das Phosphat, bauen in gesetzmäßiger Weise die Nucleinsäuren auf (Abb. 1.4, Tab. 1.1).

Zunächst einmal kann die Base mit dem Pentosezucker über eines ihrer Stickstoffatome verbunden werden. Man nennt die resultierende Verbindung ein **Nucleosid**. Besetzt man dann ein Hydroxyl des Pentosezuckers mit anorganischem Phosphat, so erhält man ein **Nucleotid**. Viele Nucleotide schließlich treten zu **Polynucleotiden** zusammen. Die Verbindung zwischen den einzelnen Nucleotiden wird jeweils über das Phosphat gelegt.

Abb. 1.3

Die Bausteine der Nucleinsäuren.



Tab. 1.1

Bezeichnungen der Nucleoside und Nucleotide in DNA und RNA, ph = Phosphat, d = desoxy- (wird oft fortgelassen, wenn es sich klar ersichtlich um d-Verbindungen handeln muss)

Base	Abkürzung	RNA Nucleosid	Nucleotid
Thymin	T	–	–
Cytosin	C	Cytidin	Cytidin-5'-ph
Uracil	U	Uridin	Uridin-5'-ph
Adenin	A	Adenosin	Adenosin-5'-ph
Guanin	G	Guanosin	Guanosin-5'-ph

Base	Abkürzung	DNA Nucleosid	Nucleotid
Thymin	T	d-Thyminidin	d-Thyminidin-5'-ph
Cytosin	C	d-Cytidin	d-Cytidin-5'-ph
Uracil	U	–	–
Adenin	A	d-Adenosin	d-Adenosin-5'-ph
Guanin	G	d-Guanosin	d-Guanosin-5'-ph

Fragen wir uns nun noch, welche funktionellen Gruppen sich am Zustandekommen dieser Bindungen beteiligen. Bei der Bildung eines Nucleosids reagiert ein Wasserstoff am Stickstoff Nr. 1 einer Pyrimidinbase oder am Stickstoff Nr. 9 einer Purinbase mit der Hydroxylgruppe am Kohlenstoffatom 1 des Pentosezuckers unter Wasserabspaltung. Die Zuckerchemie lehrt uns, dass dieses Hydroxyl am Kohlenstoffatom Nr. 1 ein glykosidisches Hydroxyl ist. Das Nucleosid ist dementsprechend ein N-Glykosid.

Die Bildung des Nucleotids erfolgt über eine Esterbildung zwischen dem Hydroxyl am Kohlenstoffatom Nr. 5' – im Verbund mit der Base werden die C-Atome der Pentose als 1', 2' etc. durchnummeriert – der Pentose und dem Phosphat. Das Nucleotid ist also jeweils der Phosphorsäureester des betreffenden Nucleosids.

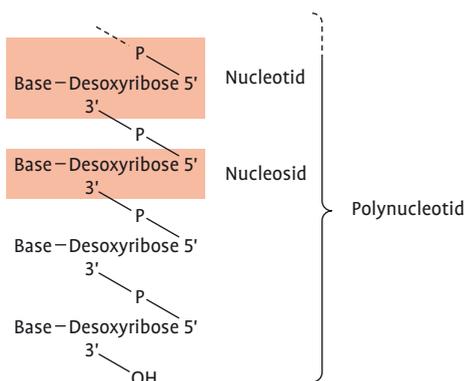
Nun bleiben uns noch die Bindungen zwischen den einzelnen Nucleotiden. Das Hydroxyl am Kohlenstoffatom Nr. 3' der betreffenden Pentose reagiert unter Wasserabspaltung mit einem Hydroxyl der Phosphorsäure des nächsten Nucleotids.

Polynucleotide sind lange Stränge mit einer ausgesprochenen Polarität. Die Polarität liegt darin, dass wir immer die Reihenfolge Pentose-3'-Phosphat-5'-Pentose-3' auffinden, oder auch umgekehrt, je nachdem an welchem Ende man zu zählen beginnt. Am Anfang einer solchen Kette steht ein Nucleotid mit einem Phosphatrest am Kohlenstoffatom 5', am Ende dieser Kette ein Nucleotid mit einem freien Hydroxyl am Kohlenstoffatom Nr. 3'.

Die Basensequenz einer DNA wird meistens über das **Kettenabbruch**-Verfahren nach Sanger (1977) (→ Box 1.2) ermittelt. Die erste höhere Pflanze, bei der im Jahr 2000 das Genom des Zellkerns, das Nucleom, vollständig sequenziert werden konnte, war die Modellpflanze Acker-Schmalwand (*Arabidopsis thaliana*; Seite 84).

Abb. 1.4

Der Aufbau von Nucleosiden, Nucleotiden und Polynucleotiden. P = Phosphat.




BOX 1.2

Das Kettenabbruch-Verfahren der DNA-Sequenzierung

Um das Verfahren (1) zu verstehen, sollten die Grundzüge der DNA-Replikation nachgelesen werden. Die dabei normalerweise als DNA-Bausteine dienenden Desoxynucleosid-triphosphate besitzen in Position 3' eine Hydroxylgruppe, an der das nächste Desoxynucleosid-triphosphat angeschlossen wird. Wird in eine wachsende Kette ein Didesoxynucleosid-triphosphat (Abb. 1.5) eingebaut, dem diese Hydroxylgruppe fehlt, ist der Anschluss und damit die Kettenverlängerung nicht mehr möglich. Die Kette bricht ab.

Die zu sequenzierende DNA wird in ihre Einzelstränge zerlegt (Abb. 1.6). Einer der Einzelstränge (grau) dient dann als Matrize für die Replikation im Reagenzglas. Die Basensequenz der Matrize ist in Wirklichkeit unbekannt. Die Replikation erfolgt in vier parallelen Ansätzen. Alle vier Ansätze enthalten gleichermaßen die DNA-Matrizen, einen kurzen DNA-Primer (braun), eine DNA-Polymerase, die am Primer ansetzt und die Replikation durchführt, und einen Überschuss an den normalen DNA-Bausteinen (grün), den Desoxyribonucleosid-triphosphaten Adenin (dATP), Thymin (dTTP), Cytidin (dCTP) und Guanin (dGTP). Zusätzlich enthalten die vier Ansätze in geringen

Mengen ein jeweils anderes Didesoxyribonucleosid-triphosphat (rot), der erste ddATP, der zweite ddTTP, der dritte ddCTP und der vierte ddGTP. Die Didesoxy-Derivate sind über Radioaktivität oder Fluoreszenz markiert. Die DNA-Replikation wird in jedem Ansatz an den entsprechenden komplementären Positionen durch Einbau der Desoxy-Verbindungen abgebrochen. In jedem Ansatz findet sich dann eine Serie verschieden langer DNA-Fragmente. Sie werden über Gelelektrophorese aufgetrennt und an Hand ihrer Markierung im Gel lokalisiert. Je kleiner die Fragmente sind, desto schneller wandern sie im elektrischen Feld. Die kleinsten Fragmente liegen im Bild also unten (vgl. a, b, c in der linken Spur). Dann liest man in jedem Ansatz ab, in welcher Position sich ein A, T, C oder G, jeweils als markiertes Didesoxy-Derivat, befindet. Damit hat man die Basensequenz des nicht als Matrize eingesetzten Einzelstrangs (grün) in der ursprünglichen DNA-Doppelhelix ermittelt. Die komplementäre Basensequenz der Matrize (grau) ergibt sich daraus. Die Analysen werden heute computergesteuert in Automaten durchgeführt.

¹ Sanger et al. (1977).

Ihr Genom besteht aus 125 Megabasenpaaren (1 Mbp = 1 Million Basenpaare). Rund 25 000 Gene sind in ihm enthalten. Das ebenfalls komplett sequenzierte Kern-Genom des Reises (*Oryza sativa*) weist rund 400 Mbp mit ca. 37 000 Genen auf.

1.3 Die DNA-Doppelhelix

Die Polynucleotidstränge der DNA liegen nur in seltenen Fällen als Einzelstränge vor. In der Regel treten zwei DNA-Einzelstränge zu einem schraubenförmig gewundenen DNA-Doppelstrang zusammen. 1953 veröffentlichten Watson und Crick

unter Einbezug auch der Daten von KollegInnen ein entsprechendes Modell der DNA-Struktur, demzufolge die DNA aus einer Doppelwendel, einer **Doppelhelix** besteht (Abb. 1.7). An der Bildung dieser Helix beteiligen sich zwei DNA-Stränge **gegenläufiger Polarität**. An dem Ende der Helix, an dem das 3'-Hydroxylende des einen DNA-Stranges liegt, findet sich also das 5'-Phosphatende des anderen DNA-Stranges. Die beiden DNA-Stränge werden durch Wasserstoffbindungen zwischen den Purin- und Pyrimidinbasen zusammengehalten. Denn die Purin- und Pyrimidinbasen stehen vom Rückgrat der Wendeln, die aus Zucker-Phosphat-Sequenzen gebildet werden, nach innen ab. Dabei ergibt sich Gelegenheit, Wasserstoffbrücken zwischen den Basen der

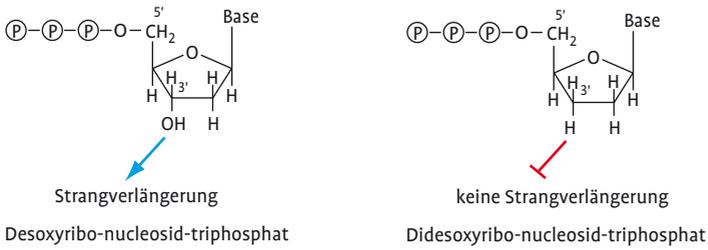


Abb. 1.5
Desoxy- und Dideoxy-
nucleosid-triphosphat.

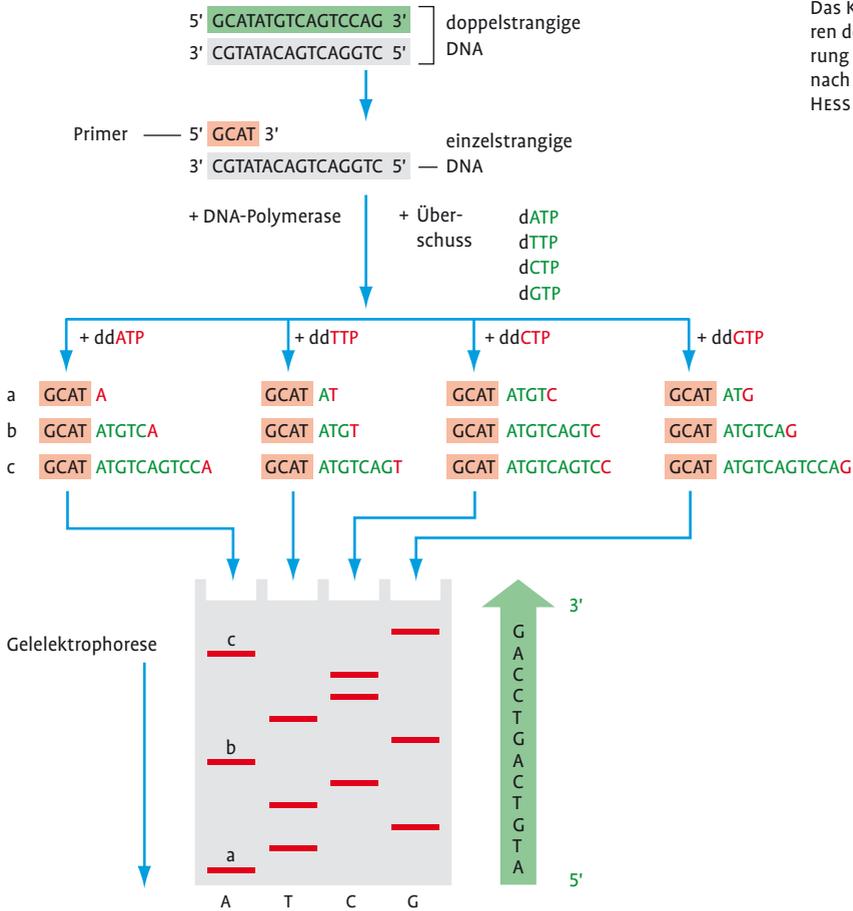
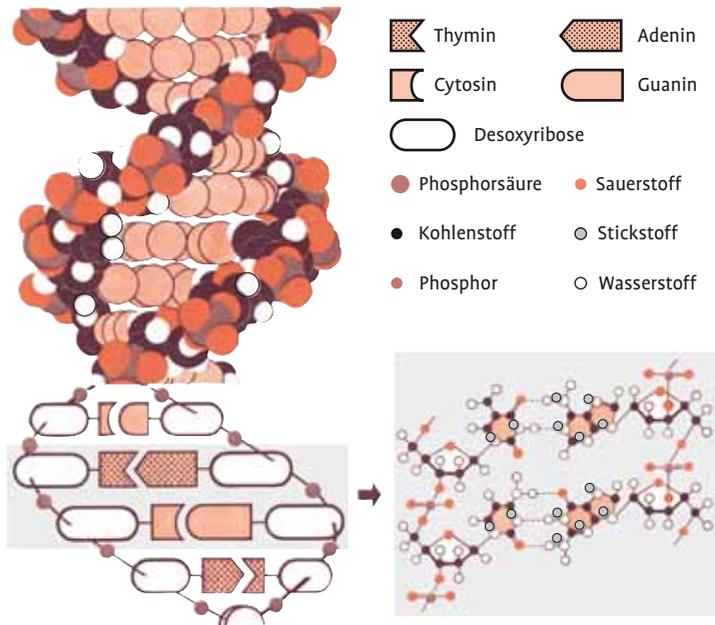


Abb. 1.6
Das Kettenabbruchverfahren der DNA-Sequenzierung (→ Text) (verändert nach ALBERTS et al. aus HESS 2004).

Abb. 1.7

Schema der DNA-Doppelhelix (Ausschnitt). Zwei DNA-Einzelstränge mit gegenläufiger Polarität lagern sich zu einer Doppelwendel (Doppelhelix) zusammen. Das Rückgrat jedes Stranges bildet eine abwechselnd aus 2-Desoxyribose und Phosphat aufgebaute Kette. Von ihr stehen nach innen Purin- und Pyrimidin-Basen ab. Wasserstoffbrücken zwischen den Basen verbinden Guanin auf dem einen mit Cytosin auf dem anderen Strang und ebenso Adenin mit Thymin (Details rechts unten). Dieses Prinzip der Basenpaarung hat zur Folge, dass die beiden Einzelstränge antiparallel und einander komplementär sind (Hess 1982).



beiden Stränge zu schlagen. Man spricht hier von einer **Basenpaarung**. Sie folgt einer strengen Gesetzmäßigkeit, die man als das **Gesetz der Basenpaarung** bezeichnet hat. Es paart sich nämlich immer ein Cytosin bzw. Methylcytosin auf dem einen Strang mit einem Guanin auf dem anderen Strang und ein Thymin auf dem einen Strang mit einem Adenin auf dem anderen Strang. Zwischen Cytosin bzw. 5-Methylcytosin und Guanin können drei, zwischen Thymin und Adenin können zwei Wasserstoffbindungen ausgebildet werden (Abb. 1.7). Das Gesetz der Basenpaarung bringt es mit sich, dass die beiden DNA-Stränge in ihrer Basensequenz einander **komplementär** sind.

**HINWEIS**

Die beliebte ansteigende Spirale gibt es nicht. Denn die Spirale bleibt in zwei Dimensionen. Sobald eine Raumstruktur ausgebildet wird, also die dritte Dimension erreicht wird, handelt es sich wie bei der DNA um eine Schraube, Wendel oder Helix.

1.4 Die Organisation der DNA in den Chromosomen

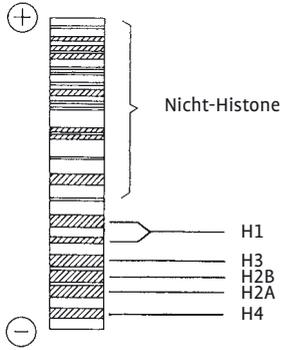
Die chromosomale Substanz, das **Chromatin**, setzt sich aus DNA und Proteinen zusammen, wenn man von RNA absieht, die gerade gebildet wurde. Die Proteine ihrerseits gliedern sich in die mengenmäßig vorherrschenden **Histone** und in die **Nicht-Histone** (Abb. 1.8).

1.4.1 Histone

Die Histone sind basische Proteine, was auf ihren hohen Gehalt an den basischen Aminosäuren Arginin und Lysin zurückzuführen ist. Bei entsprechender Auftrennung erhält man fünf Histonfraktionen, H1, H3, H2B, H2A und H4 (Abb. 1.8). Fraktion H1 kann nicht nur von Pflanzenart zu Pflanzenart verschieden sein, sie ist auch aus mehreren bis vielen Polypeptiden zusammengesetzt. Die anderen vier Histonfraktionen werden von je einem Polypeptid gestellt. Sie sind in verschiedenen Eukaryonten fast gleich. Falls Un-

Abb. 1.8

Die chromosomalen Proteine. Trennung über Polyacrylamid-Gelelektrophorese. Fünf Histonfraktionen lassen sich fassen (verändert nach FELLEBERG 1974).

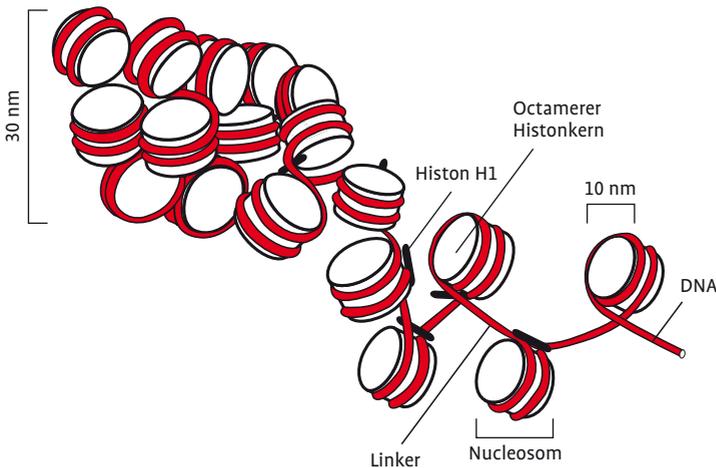


terschiede auftreten ist das auf Veränderungen im betreffenden Polypeptid zurückzuführen. H4 aus Erbsenkeimlingen und Kalbsthymus zum Beispiel weisen nur vier Unterschiede auf: an zwei Stellen sind Aminosäuren ausgetauscht, wozu der Austausch jeweils nur einer Base im codierenden Tripletts ausreicht, und an zwei anderen Stellen sind zwar die gleichen Aminosäuren vorhanden, aber sie sind unterschiedlich modifiziert. Diese Modifikation erfolgt erst nach der Transla-

tion durch Acetylierungen. Der konservierte Charakter der vier Histone lässt zentrale Funktionen vermuten.

1.4.2 Nucleosomen

In der Tat sind die Histone unerlässliche Bestandteile der Chromosomenstruktur, wobei die Funktion der eben genannten vier Histone sich von der des H1 wesentlich unterscheidet. Denn die **Core-Histone** H3, H2B, H2A und H4 bilden ein Oktamer, in dem sich je zwei der genannten Polypeptide finden. Über den scheibenförmigen Kern aus Histonen legt sich die DNA in zwei Windungen, die 146 Basenpaare enthalten. Die DNA-Wendel setzt sich außerhalb dieser Perle in eine VerbinderdNA (linker-DNA) unterschiedlicher Länge fort. Im Mittel sind es bei Pflanzen 60 Basenpaare, die auf die VerbinderdNA entfallen. Nun fehlt noch das **Histon H1**. Es findet sich auf der VerbinderdNA außerhalb der Perle, aber nahe an sie herangerückt. Was wir damit kennen gelernt haben, ist ein **Nucleosom** (Abb. 1.9). Zahlreiche hintereinander gereihete Nucleosomen machen die Perlenkettenstruktur des Chromatins aus. Auf den nucleosomenfreien Strangabschnitten sind Nicht-Histone lokalisiert. Ein Teil von ihnen gehört zu den regulatorisch

Seitenansicht eines Solenoides**Abb. 1.9**

Modellvorstellung zur Nucleosomenstruktur des Chromatins. Rechts einzelne Nucleosomen, links die durch Aufwinden der Perlenkette übergeordnete Struktur eines Solenoids. Man stellt sich vor, Solenoid könnten dann zu einer Struktur höherer Ordnung aufgewunden werden. Dieses Aufwinden zu jeweils übergeordneten Strukturen setzt sich fort, bis die Organisationsstufe einer Chromatide, also eines nicht-replizierten Chromosoms erreicht wird (verändert nach LODISH et al. 1995).

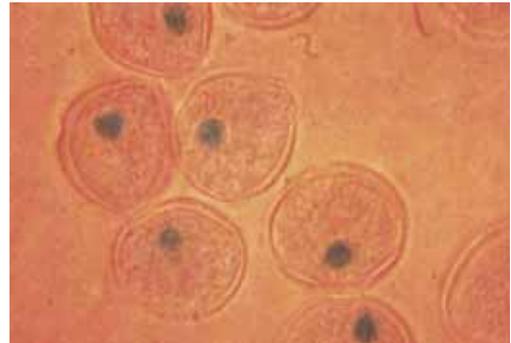
aktiven Proteinen, ein anderer stellt Strukturproteine.

Doch damit haben wir erst die niedrigste Struktureinheit des Chromatins erfasst. Denn die Nucleosomen-Perlenkette bildet eine Reihe weiterer, übergeordneter Raumstrukturen, zunächst das Solenoid (Abb. 1.9), die schließlich zum mikroskopisch sichtbaren Chromosom überleiten. Wir können hier darauf nicht im Detail eingehen. Doch beim Zustandekommen dieser übergeordneten Strukturen fungiert Histon H1 dadurch als Klebemittel, dass es mit anderen Oktameren und Linker-DNA Kontakt aufnimmt.

► **Änderung des Kondensationszustands des Chromatins und Transkription.** Der Kondensationszustand der Nucleosomen (Abb. 1.10) kann durch Veränderungen vor allem der Core-Histone gesteuert werden. An ihren N-terminalen Enden können Acetylierungen, Methylierungen, Phosphorylierungen, Glykosidierungen und weitere Veränderungen stattfinden, die den Faltungszustand des Chromatins beeinflussen. Transacetylasen zum Beispiel führen Acetylgruppen in alle Histone, also in die Core-Histone ebenso wie in H1 ein. Das bedeutet eine Lockerung des Nucleosomen-Verbunds und der auf ihm basierenden übergeordneten Strukturen. Einer der Deutungen ist, die Histonschwänze könnten nach der Acetylierung nicht mehr in der Lage sein, andere Proteine zu binden, die mit der Kondensation des Chromatins zu tun haben. Fest steht, dass die DNA für die Transkription (Seite 27) besser zugänglich wird. Umgekehrt können die Acetylgruppen durch Deacetylasen auch wieder problemlos entfernt werden, wodurch die Transkription erschwert wird.

Abb. 1.10

Kondensationszustand der Histone in Pollen der Päonie (*Päonia tenuifolia*). Es wurde auf lysinreiche Histone angefärbt. Im physiologisch inaktiven Kern der generativen Zelle (→ Seite 283) sind die Histone dicht gepackt und liefern eine grüne Färbung. Der Kern der vegetativen Zelle ist hoch aktiv; seine dekondensierten Histone lassen sich nicht sichtbar anfärben. Der vegetative Kern ist nur über eine leichte Unschärfe fassbar (Foto J. SAUTER; Lit. SAUTER und MARQUARDT 1967).



FRAGEN

(Seitenverweise zur Beantwortung)

- Welche Basenbausteine finden sich in der DNA, welche in der RNA? (Seite 26)
- Aus welchen Bausteinen besteht ein Nucleosid, ein Nucleotid? (Seiten 16, 17)
- Beschreiben Sie den Aufbau der DNA-Doppelhelix! (Seite 18)
- Nennen sie die Basenpaarungen in der DNA! (Seite 20)
- Beschreiben Sie den Aufbau eines Nucleosoms! (Seite 21)
- Inwiefern unterscheiden sich die Histone H1 von den anderen Histonfraktionen? (Seiten 20, 22)

2 Die Expression der Gene

2.1 Die Struktur der Gene im Zellkern von Eukaryonten

2.2 Das Konzept der Genexpression

2.3 Transkription

2.4 Processing der Primärtranskripte

2.5 Translation

INHALT

Gene aus dem Zellkern von Eukaryonten bestehen aus einer in Introns und Extrons gestückelten codierenden Sequenz und flankierenden Expressionssignalen. Diese finden sich vor allem stromaufwärts in der Promotor-Region, in der die Enzyme der Transkription, die RNA-Polymerasen ansetzen. Die Expression der Gene erfolgt in mehreren Schritten. In der Transkription kommt es zu einer Umschreibung des DNA-Codes in einen RNA-Code. Im Processing werden alle RNA-Typen, die polypeptid-codierenden mRNAs ebenso wie die rRNAs und die tRNAs, beide mit Hilfsfunktionen bei der nachfolgenden Translation, funktionsfähig gemacht. Die Translation der mRNA, die Umsetzung ihres Codes in Polypeptide, findet in Ribosomen statt. Die Ribosomen des Zellkerns von Eukaryonten und diejenigen in Mitochondrien und Plastiden unterscheiden sich; die letztgenannten ähneln in ihrer Struktur und in weiteren Eigenschaften den Ribosomen von Bakterien. Über die Translation entstehen zunächst Primärstrukturen. Die gebildeten Polypeptide müssen zur Funktionsfähigkeit dann noch posttranslationalen Modifikationen unterzogen werden (Seite 47).

Die DNA muss als genetisches Material zwei Anforderungen entsprechen:

- Sie muss identisch reduplizierbar sein. Denn nur so ist es möglich, das genetische Material von Zelle zu Zelle, von Organismus zu Organismus konstant weiterzugeben. Diese **Replikation** (= Reduplikation) der DNA wird auf Seite 258 besprochen.
- Sie muss steuernd in die Merkmalsbildung eingreifen. Man spricht hier von der **Expression der DNA** – und das bedeutet der Gene – bei der Merkmalsbildung. Da die sichtbaren Merkmale auf bestimmte biochemische Umsetzungen zurückgehen, können wir einengen und von der DNA erwarten, dass sie letztlich chemische Reaktionen steuern kann, zum Beispiel über die Bereitstellung von Enzymen. Enzyme oder zumindest ihre Apoproteine sind Polypeptide oder bauen sich aus ihnen auf. In der Tat bedeutet die Expression in der Regel eine **Bereitstellung von Polypeptiden**. Bei ihnen

handelt es sich allerdings nicht nur um Enzyme, sondern um Polypeptide mit den verschiedensten Funktionen innerhalb oder auch außerhalb der Zellen.

2.1 Die Struktur der Gene im Zellkern von Eukaryonten

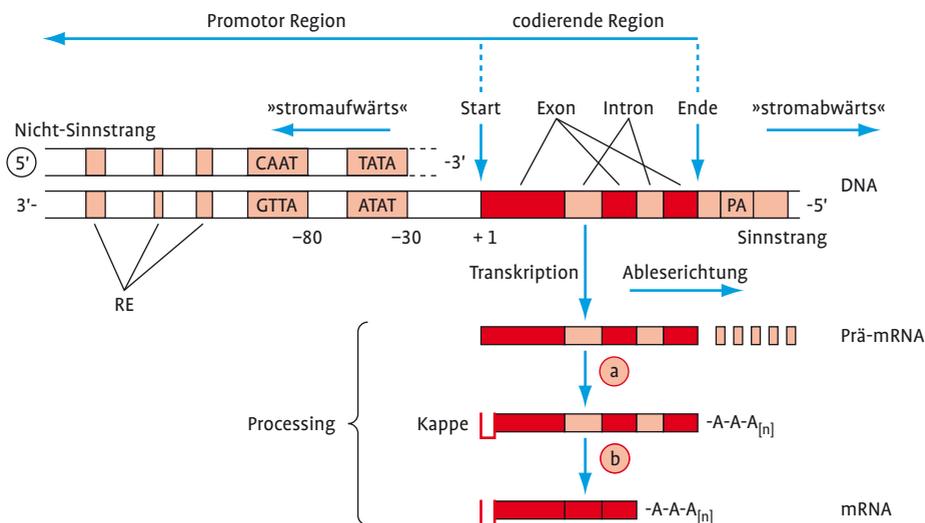
Seit 1977 hat man für zunehmend mehr Gene bewiesen, das sie gestückelt sind: polypeptid-codierende DNA-Abschnitte des betreffenden Gens, die **Exons** (expressed regions), wechseln mit nicht-codierenden DNA-Abschnitten, den **Introns** (intervening regions), ab (Abb. 2.1). Beide werden transkribiert. Die transkribierbaren Sequenzen werden beidseitig, besonders ausgeprägt in der **Promotor-Region**, von **Expressions-signalen** flankiert (Seite 26).

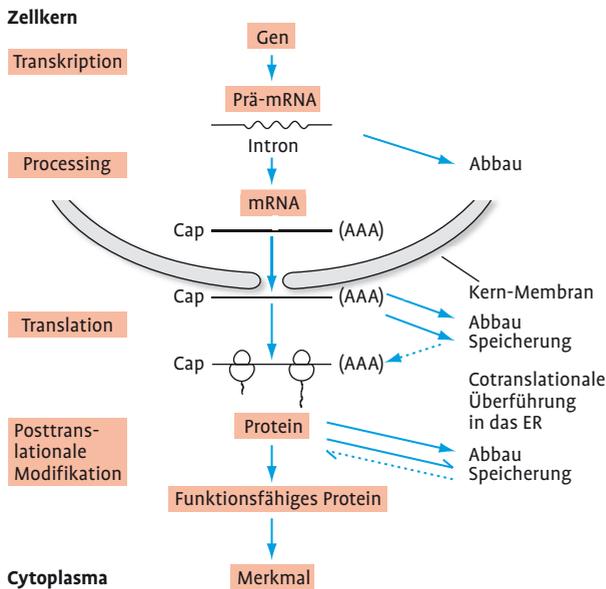
Die → Definition eines Eukaryonten-Gens berück-

Abb. 2.1

Schema eines Eukaryonten-Gens mit Transkription und Processing der mRNA. In der Promotorregion befindet sich im Bereich der TATA-Box die Ansatzstelle für die RNA-Polymerase. Die Transkription kann über die polypeptid-codierende Sequenz hinausschießen. Im Processing wird die betreffende RNA entfernt, am nun endgültigen 3'-Ende eine Poly-

A-Sequenz unter Steuerung durch das Poly-A-Signal (PA), aber ohne Codierung angehängt und am 5'-Ende die Kappe gebildet (a). Außerdem wird die den Introns entsprechende DNA über das Spleißen eliminiert (b). RE = regulatorische Sequenzen wie Enhancer, Silencer, Ansatzstellen für Transkriptionsfaktoren (→ Text).



**Abb. 2.2**

Das Konzept der Genexpression. Zugrunde gelegt wurde ein Gen im Zellkern von Eukaryonten. rRNA und tRNA wurden hier nicht berücksichtigt.

sichtigt, dass an ihm außer mRNAs, die in Polypeptide translatiert werden, auch rRNAs und tRNAs (→ unten) gebildet werden können.



DEFINITION

Gene sind DNA-Sequenzen mit der Funktion, genspezifische RNA zu bilden. Bei Eukaryonten bestehen sie aus einer in RNA transkribierbaren Sequenz, über die ein genspezifisches Polypeptid codiert werden kann, und aus Expressionssignalen.

2.2 Das Konzept der Genexpression

Bevor wir auf einige Details eingehen, sei das Konzept der Genexpression (Abb. 2.2) vorangestellt. Die Expression bis zum funktionsfähigen Protein verläuft in vier Etappen: der Transkription, dem Processing der RNA, der Translation und posttranslationalen Modifikationen der Polypeptide.

In der **Transkription** wird die in einem bestimmten Abschnitt eines DNA-Einzelstranges enthaltene genetische Information auf RNA umgeschrieben. Dabei entstehen zunächst **Primärtranskripte**, die noch nicht funktionsfähig sind. Das gilt für alle drei Gruppen von RNA, die wir noch kennenlernen werden: die mRNA, rRNA und tRNA. Die Primärtranskripte sind Vorstufen dieser drei RNA-Sorten. Dementsprechend spricht man von **Prä-mRNA**, **Prä-rRNA** und **Prä-tRNA**.

Im anschließenden **Processing** werden die Primärtranskripte funktionsfähig gemacht. Am Ende dieser Phase stehen demnach **mRNA**, **rRNA** und **tRNA**.

In der letzten Etappe, der **Translation**, wird die in der mRNA enthaltene genetische Information in die Bildung genspezifischer Polypeptide umgesetzt. Die rRNA und die tRNA haben dabei Hilfsfunktionen. Die Polypeptide unterliegen dann noch posttranslationalen Modifikationen (Seite 47).

Soweit das grobe Konzept, das zu einer ersten Übersicht verhelfen soll. Nun einige Details.

2.3 Transkription

Die in der DNA enthaltene genetische Information wird mit Hilfe bestimmter Enzyme, der DNA-abhängigen **RNA-Polymerasen** abgelesen und in RNA umgeschrieben. Bei den Eukaryonten ist die **RNA-Polymerase II** für die Transkription polypeptid-codierender Sequenzen auf den Chromosomen zuständig. Die Polymerasen bestehen aus mehreren Untereinheiten, über die auch der Kontakt mit der auszuwertenden DNA hergestellt wird. Denn diese DNA enthält Ansatzstellen für die RNA-Polymerasen. Man nennt diese DNA-Abschnitte **Promotoren** (im eigentlichen Sinn). Von ihnen aus gleiten die Polymerasen dann an der DNA der Gene entlang und lesen sie ab (Abb. 2.3).

2.3.1 Die Promotor-Region

Bei Eukaryonten findet sich nicht nur ein Promotor im engeren Sinn, die Ansatzstelle für RNA-Polymerasen (TATA-Box, s.unten), sondern eine komplex gebaute Promotor-Region (Abb. 2.1), die wichtige **Expressionssignale** enthält. Zu ihnen gehören **Start-Codons**, an denen die Transkription beginnt. Das wichtigste von ihnen ist ATG (→ Box 2.1). Ihr erstes Nucleotid trägt die Zahl +1. Vom Startpunkt der Transkription aus liegen bezogen auf den Nicht-Sinnstrang die DNA-Sequenzen in 5'-Richtung stromaufwärts, die in 3'-Richtung stromabwärts. Bei der Zählung stromaufwärts erhalten die Nucleotide ein negatives Vorzeichen. Die Transkription läuft vom

Start-Codon aus stromabwärts bis zu einem der **Terminations-Codons** (Abb. 2.6), an dem sie abbricht.

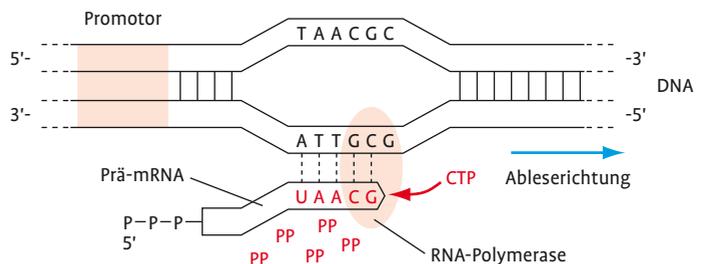
Nun zu weiteren funktionell wichtigen Abschnitten in der Promotor-Region, die stromaufwärts liegen und den Beginn der Transkription steuern. Die betreffenden DNA-Sequenzen sind AT-reich. In ihnen finden sich Boxen, die bei verschiedenen Eukaryonten eine einigermaßen ähnliche Nucleotidsequenz aufweisen. In solchen Fällen spricht man von **konservierten Regionen**. Der konservierte Charakter ist schon ein erster Hinweis darauf, dass die betreffenden Sequenzen zentral wichtig sind. Sonst wären sie im Laufe der Evolution kaum erhalten geblieben. Zu ihnen gehören die **TATA-Box** etwa 30 Nucleotide und die **CAAT-Box** ungefähr 80 Nucleotide stromaufwärts des Startcodons und Ansatzstellen für allgemeine Transkriptionsfaktoren (→ unten).

Besonders bei der **TATA-Box** besteht kein Zweifel an einem Zusammenhang mit dem Beginn der Transkription. Denn die jeweils zuständige RNA-Polymerase nimmt mit ihr über spezielle Bindungsproteine (→ unten) Kontakt auf. Über die TATA-Box werden die RNA-Polymerasen also eingewiesen. Bei ihr handelt es sich um den Promotor im engeren Sinn, den **Basis-Promotor**.

Ohne **allgemeine Transkriptionsfaktoren** von Proteincharakter, die bei jeder Transkription mitwirken müssen, kann die codierende Region nicht abgelesen werden. So vermitteln sie als Bindungsproteine den Kontakt zwischen der RNA-Polymerase II und der TATA-Box. **Spezifische Transkriptionsfaktoren** werden nur für die Transkription bestimmter Gene benötigt.

Abb. 2.3

Schema der Transkription. RNA-Polymerase II liest den Sinnstrang der DNA in 5'-Richtung ab. Die Bausteine sind Nucleosid-triphosphate, hier zuletzt CTP. Unter Abspaltung von Pyrophosphat (PP) werden sie an die wachsende RNA angeschlossen. Bei der Anlagerung des ersten Nucleosid-triphosphates an den Sinnstrang wird kein PP abgespalten. Deshalb beginnt die RNA mit PPP.



BOX 2.1

Transkriptionsfaktoren

Transkriptionsfaktoren bestehen in der Regel aus zwei Polypeptiden, die gleich oder verschieden sein können (homodimere oder heterodimere Transkriptionsfaktoren). Sie weisen zwei funktionell wichtige Regionen auf: eine Domäne zur Bindung an eine bestimmte DNA-Sequenz und eine Domäne zur Förderung der Transkription. Eine Domäne zur Bindung von weiteren Liganden kann hinzukommen. Man kennt mehrere Typen, darunter die **Leucin-Zipper** (Abb. 2.4). Dabei handelt es sich um homodimere Proteine mit einer DNA-Bindungs-Domäne aus basischen Aminosäuren, die sich leicht an DNA fixieren. Im Anschluss an sie weist jede der beiden Polypep-

tidketten vier bis fünf Leucin-Einheiten auf. Dabei folgt an siebter Stelle nach einem Leucin wieder ein Leucin. Diese Abfolge führt dazu, dass die Leucin-Reste auf der gleichen Seite der Helix als hydrophober Streifen übereinander stehen. Dieser Streifen schließt sich mit der hydrophoben Leucin-haltigen Kette des zweiten Proteins zum Leucin-Reißverschluss zusammen.

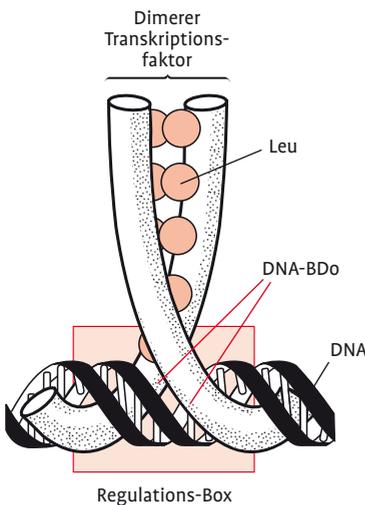
Bei einer Variante der Leucin-Zipper, den basischen Zippern, ist Leucin teilweise durch andere hydrophobe Aminosäuren ersetzt. Leucin-Zipper und basische Zipper fasst man auch als **basische Leucin-Zipper** zusammen. Sie sind die häufigste Gruppe der Transkriptionsfaktoren in Pflanzen.

Hinzu kommen noch weitere Regulationselemente, die die Stärke der Transkription beeinflussen. Sie liegen meistens ebenfalls stromaufwärts der CAAT-Box. An ihnen setzen bestimmte Faktoren an, in einigen Fällen nachgewiesenermaßen Pro-

teine, die die Transkription verstärken oder abschwächen. Dementsprechend nennt man diese DNA-Abschnitte **Enhancer** (Verstärkung) oder **Silencer** (Abschwächung).

Die Regulationselemente können weit stromaufwärts der TATA-Box oder sogar stromabwärts der codierenden Sequenz liegen. Damit überhaupt ein Kontakt zwischen distalen Expressionssignalen und der Promotorregion im engeren Sinn zustande kommen kann, nimmt man eine Schleifenbildung an (Abb. 2.5).

Abb. 2.4 Schema eines Leucin-Reißverschlusses (Leucin-Zipper) in einem dimeren Transkriptionsfaktor. Leu = Leucin; DNA-BDo = DNA-Bindungsdomäne (verändert nach STRYER 1996).



2.3.2 Transkription

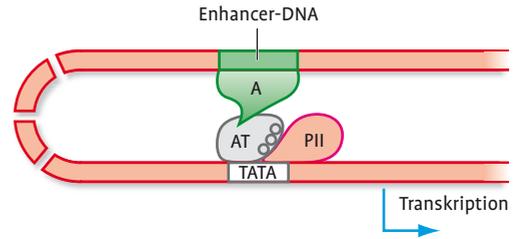
Transkribiert wird nur einer der beiden Einzelstränge einer DNA-Doppelhelix, der **codogene Strang** oder Sinnstrang (Abb. 2.1). Der zweite Strang ist nicht-codogen. Der codogene Strang dient als Matrize für die Synthese einer komplementären RNA. Das ordnende Prinzip ist die Basenpaarung. Bei der Synthese der RNA entspricht immer einem Adenin auf der DNA ein Uracil auf der RNA, einem Guanin auf der DNA ein Cytosin auf der RNA und umgekehrt. Wir finden also Basenpaare ganz ähnlich wie auch zwischen den beiden Strängen einer DNA-Doppelhelix, nur tritt in der RNA Uracil an die Stelle von Thymin. Das Ausgangsmaterial für die Bildung der RNA

sind nicht Nucleotide oder gar freie Basen, sondern **Nucleosid-5'-triphosphate**. Sie sind es, die sich entlang der DNA-Matrize nach den Regeln der Basenpaarung anordnen. Die RNA-Polymerasen spalten von den Triphosphaten Pyrophosphat ab und verknüpfen die resultierenden Nucleosid-5'-monophosphate = Nucleotide zur RNA. Die Spaltung der Triphosphate liefert die dazu benötigte Energie.

Produkte der Transkription sind die **Primärtranskripte**. Sie enthalten oft noch RNA ohne erkennbare Funktion bei der Translation. Damit lässt sich vorhersagen, dass diese funktionslose RNA wohl in einem Processing entfernt werden wird.

Abb. 2.5

Schleifenstruktur (Schema). Durch sie wird ermöglicht, dass auch weit von der TATA-Box entfernte Expressionssignale räumlich zum Zug kommen können. Zuerst setzt sich ein allgemeines Transkriptionssignal AT an die TATA-Box. Weitere allgemeine Transkriptionssignale (kleine Kreise) und die RNA-Polymerase II (PII) folgen. Ein von der TATA-Box weit entferntes Enhancer-Element bindet im Beispiel ein Aktivator-Protein A. Wegen der Schleifenstruktur kann es dennoch auf den Komplex mit RNA-Polymerase II fördernd einwirken.



BOX 2.2

Der genetische Code

Bei der Gen-Expression (Abb. 2.2) fließt die genetische Information quasi von DNA über RNA zum Polypeptid. In welcher Form ist die genetische Information in den genannten Makromolekülen enthalten, mit anderen Worten: Welches ist der genetische Code?

Die Buchstaben des genetischen Codes sind die einzelnen Nucleotide. Je drei solcher Nucleotide, ein **Nucleotid-Triplett**, bilden ein Code-Wort oder **Codon**. Nun beteiligen sich zwei Nucleinsäuren an der Realisation der genetischen Information, DNA und RNA. Was nennt man ein Codon? Ein Nucleotid-Triplett auf der DNA oder ein Nucleotid-Triplett auf der RNA?

Der genetische Code wurde unter anderem in Experimenten mit synthetischen Ribonucleinsäuren entschlüsselt. Damit wird es verständlich, dass man als **Codon ein Nucleotid-Triplett auf einer mRNA** bezeichnet, das für den Einbau einer bestimmten Aminosäure in Polypeptid zuständig ist. Die mRNA ist diejenige Sorte RNA, die die genetische Information für die Bildung von

Polypeptiden enthält. Dementsprechend werden die drei Buchstaben eines Codons in der in 5'→3'-Richtung gelesen, das ist die Richtung, in der die mRNA bei der Translation ausgewertet wird. Dem **Codon** auf der mRNA entsprechen das **Codogen** auf der DNA und das **Anticodon** in der t-RNA (Abb. 2.6).

Die Beweisführung begann damit, dass in ein zellfreies System, das alle anderen für die Polypeptidsynthese notwendigen Faktoren enthielt, eine synthetische mRNA einbracht wurde, die nur aus Uracil-Nucleotiden bestand (1). Unter dem Diktat dieses Poly-U wurde ein Polypeptid gebildet, das fast nur aus Phenylalanin bestand. Bei Annahme eines Dreier-Codes musste das Code-Wort für den Einbau von Phenylalanin ins Polypeptid demnach UUU sein. Weitere Versuche führten schließlich zur Entschlüsselung der Codons für alle Protein-Aminosäuren. Damit war der **RNA-Code** entschlüsselt (Abb. 2.7).

¹ Nirenberg and Matthaei (1961).

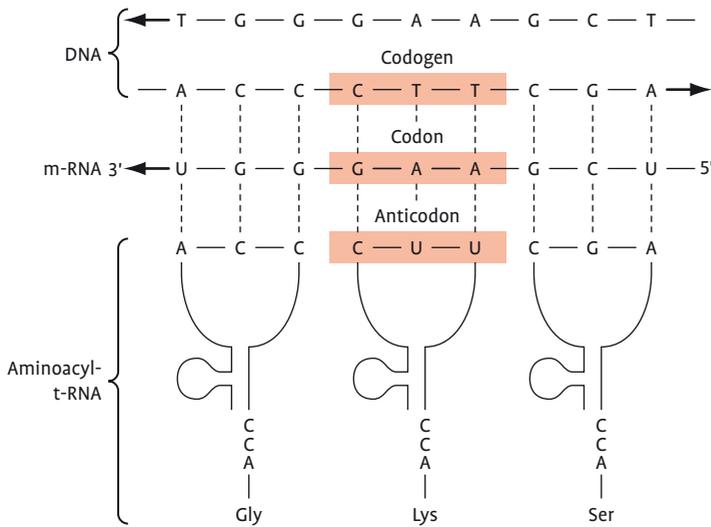


Abb. 2.6
Codogen, Codon und Anticodon (verändert nach HESS 1982).

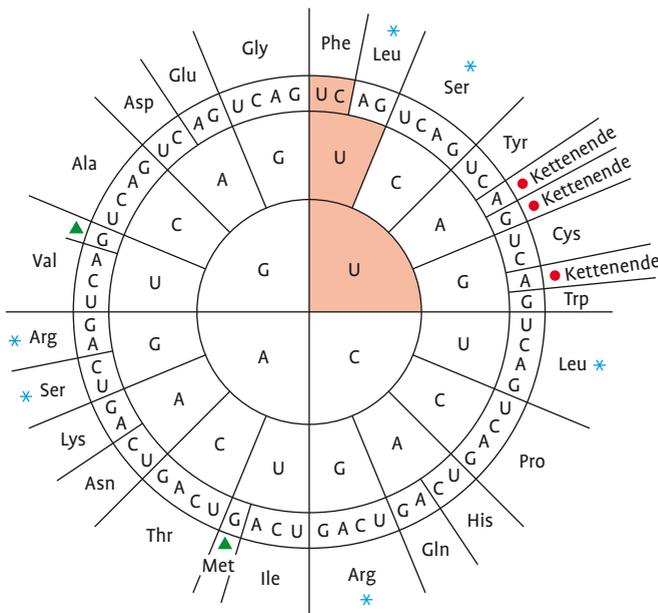


Abb. 2.7
Der mRNA-Code in Form der Code-Sonne. Die Codons werden durch Lesen von innen (entspricht dem jeweiligen 5'-Ende) nach außen (entspricht dem jeweiligen 3'-Ende) zusammengesetzt. UUU und ebenso UUC bedeuten Einbau von Phenylalanin (verändert nach BRESCH und HAUSMANN 1972).

- * zweimal auftretende Aminosäuren
- Terminations-Codonen
- ▲ Starter-Codonen, die am Anfang der Translation stehend stets das Start-Methionin einbauen, in der Mitte des Messengers aber die in der Sonne angegebenen Aminosäuren

2.4 Processing der Primärtranskripte

Bei der Transkription wurde ein Abschnitt eines DNA-Einzelstranges in eine komplementäre RNA umgeschrieben. Dabei wurde der DNA-Code in einen RNA-Code überführt. Die resultierenden Primärtranskripte enthalten aber noch RNA, die bei der Translation nicht benötigt wird. Im Processing wird

- diese RNA eliminiert
- und die jeweils verbleibende RNA durch eine Reihe weiterer Veränderungen funktionstüchtig gemacht. Diese Modifikationen sind je nach den beteiligten RNA-Klassen im Detail verschieden.

Damit steht aber auch schon das Programm dieses Abschnitts fest. Die drei großen RNA-Klassen müssen charakterisiert und das jeweilige Processing beschrieben werden.

2.4.1 mRNA, Prä-mRNA und ihr Processing

Die **mRNA** enthält die genetische Information zur genspezifischen Polypeptidsynthese. Sie trägt diese Information aus dem Zellkern ins Cytoplasma, wo an Ribosomen (Seite 31) die Polypeptidbildung (Translation, Seite 34) stattfindet.

Wegen dieser Botenfunktion erhielt sie ihren Namen (mRNA = engl. messenger-RNA = Boten-RNA). Das Primärtranskript wird über folgende Etappen des Processings in funktionsfähige mRNA überführt:

Spleißen: Da Exons wie Introns transkribiert werden, entsteht eine Prä-mRNA, die polypeptid-codierende und nicht-codierende Sequenzen aufweist (Abb. 2.1). Meistens nennt man auch sie – nicht ganz korrekt – Exons und Introns. Beim Processing werden die nicht-codierenden Introns herausgeschnitten und die dadurch freigesetzten Exons zur reifen mRNA zusammengefügt, gespleißt. Dieses Spleißen muss mit äußerster Genauigkeit erfolgen. Wird dabei nur ein Nucleotid zu viel oder zu wenig eliminiert, kommt es in der RNA zu einer Verschiebung des Leserasters für die Translation und zu entsprechenden Schädigungen.

Das Spleißen erfolgt mit Hilfe von **Spleißosomen**. Sie bestehen aus einigen kleinen nucleären Ribonucleoprotein-Partikeln (small nuclear ribonucleoprotein particles = snRNPs), die sich jeweils aus kleinen Polypeptiden und ebenfalls kleinen RNAs zusammensetzen sowie weiteren Polypeptiden. Die RNAs weisen katalytische Fähigkeiten auf und führen das Spleißen durch. Man kann sie deshalb als **Ribozyme** bezeichnen. Sie können auch ein **alternatives Spleißen** (→ Box 2.3) bewerkstelligen.



BOX 2.3

Alternatives Spleißen

Die Frage liegt nahe, warum Eukaryonten-Gene überhaupt gestückelt sind. Denn das scheint nur zu unnötigen Komplikationen beim Processing der Prä-mRNA zu führen. Die Antwort kam von Untersuchungen an tierischen Organismen, weil es bei Pflanzen schwierig ist, das Spleißen in vitro zu verfolgen: über **alternatives Spleißen** können Familien nahe verwandter Polypeptide entstehen, die eine Anpassung an besondere Bedingungen erlauben. Denn die Spleißosomen arbeiten nicht immer so korrekt, wie in Abb. 2.1. Es kann

vorkommen, dass sie nicht nur die RNA-Introns herausschneiden, sondern mit ihnen auch ein RNA-Exon (Abb. 2.8). Das hängt davon ab, wo innerhalb der Prä-mRNA die Spleißosomen ansetzen. Die einzelnen snRNPs weisen unterschiedliche Spezifitäten auf. Da das alternative Spleißen nicht wie in unserem Beispiel nur ein RNA-Exon sondern mehrere von ihnen in wechselnden Kombinationen betreffen kann, resultieren so ganze Familien von verschiedenen, aber doch verwandten Polypeptiden.