

Hocheffiziente Reparatursysteme für das Erbgut



Die DNA als materieller Träger der Erbinformation von Lebewesen ist aufgrund ihrer physikalisch-chemischen Eigenschaften ausgezeichnet dafür geeignet, Information zu speichern und für deren Weitergabe zu kopieren. Mögliche chemische Reaktionen und damit verbundene Strukturänderungen schränken diese Nutzung ein. Inzwischen sind verschiedene komplexe Reparatursysteme beschrieben, die die chemische Fehleranfälligkeit der DNA deutlich reduzieren. Diese Reparatursysteme zeigen Hinweise auf Design.

Harald Binder

Die Isolierung und erste Charakterisierung von Nukleinsäure aus Eiterzellen markiert den Anfang der Erforschung des Erbguts. Friederich MIESCHER führte die entsprechenden Experimente 1869 in Tübingen durch, er bezeichnete den isolierten Stoff als „Nuklein“ (DAHM 2008). Ein weiterer Meilenstein war die Entwicklung des Doppelhelix-Modells. Grundlegend dafür war die Charakterisierung der Bausteine der DNA mit den zugehörigen N-Heterozyklen Adenin (A), Cytosin (C), Guanin (G) und Thymin (T) durch Erwin CHARGAFF. Er konnte zeigen, dass A und T bzw. C und G jeweils im Verhältnis 1:1 vorliegen. Diese Beobachtung und nicht zuletzt auch die Daten der Röntgenbeugungsexperimente an DNA-Proben von Rosalind FRANKLIN und Maurice WILKINS haben James WATSON und Francis CRICK zu ihrem berühmten Modell verholfen. WATSON und CRICK (1953) schlossen ihre erste Beschreibung der Doppelhelix mit der Bemerkung ab: „Es ist unserer Aufmerksamkeit nicht entgangen, dass die spezifische Paarbildung, die wir postuliert haben, unmittelbar einen möglichen Kopiermechanismus für das genetische Material nahelegt.“¹ Diese vielsagende Andeutung markiert einen erfolgrei-

chen Etappenabschluss in der Erforschung der Nukleinsäuren und gleichzeitig den Startschuss für weitere zukünftige Forschungen.

Die Speicherung und Vervielfältigung der Erbinformation bei Lebewesen sind Prozesse, in deren Zentrum das DNA-Makromolekül steht. Dabei steht die Langzeitstabilität der genetischen Information – lebenslang für einen Organismus und bei der Vererbung über viele Generationen hinweg – in einem Spannungsverhältnis zu chemischen und damit auch strukturellen Veränderungen an der DNA. Die chemische Natur des DNA-Moleküls bietet nämlich eine Vielzahl von Angriffspunkten für Reaktionen, die unter den physiologischen Bedingungen in Zellen auch stattfinden. Damit aber wird die langfristige Unversehrtheit der DNA und deren Eignung als materielle Grundlage zur Informationsspeicherung eingeschränkt. Mit anderen Worten ist die zuverlässige Verfügbarkeit der genetischen Information, die in der Sequenz der DNA ausgedrückt ist, durch die chemischen Veränderungen der Nukleinsäure in den Zellen gefährdet. Um eine unveränderte Struktur des DNA-Makromoleküls über lange Zeit und beim Kopiervorgang der Replikation sicherzustellen,



Abb. 1 Die drei Preisträger. Von links: Thomas LINDAHL, Paul MODRICH und Aziz SANCAR. (CC BY-SA 3.0)

sind Mechanismen zur Überwachung und gegebenenfalls zur Reparatur von entstandenen Anomalien notwendig und auch zu erwarten. Pro Tag und Zelle rechnet man gegenwärtig mit mehreren 10 000 Schädigungen an der DNA (CARELL 2015b).

Im Jahr 2015 wurden drei Wissenschaftler mit dem Nobelpreis für Chemie geehrt, die gemeinsam mit Mitarbeitern und Kollegen für unterschiedliche Veränderungen an DNA-Molekülen entsprechende Reparaturmechanismen untersucht und beschrieben haben: Thomas LINDAHL, Paul MODRICH und Aziz SANCAR (CARELL 2015a, b; Abb. 1).

Chemisch veränderte N-Heterozyklen herauschneiden

Die einzelnen N-Heterozyklen, welche in der verdrehten DNA-Strickleiter die Leitersprossen darstellen, werden zwar für sich genommen selten, aber aufgrund der hohen Anzahl in diesem Makromolekül doch merklich häufig chemisch verändert. So kann z. B. Cytosin (C) desaminiert werden, d. h. seine Aminogruppe ($-NH_2$) verlieren; es wird damit in Uracil (U) umgewandelt. Da Cytosin in der DNA-Doppelhelix über Wasserstoffbrücken komplementär mit Guanin verbunden ist (C : G), resultiert nach der Desaminierung von C eine U : G-Fehlpaarung. U kommt zwar in der RNA anstelle von T vor, aber in DNA kommt U nicht vor.

Thomas LINDAHL hat die chemische Modifikation von DNA-Bausteinen unter verschiedenen Randbedingungen untersucht und aufgrund entsprechender Beobachtungen Reparaturmechanismen für die natürliche DNA in Zellen postuliert. Zunächst von seiner Arbeitsgruppe und später auch von anderen sind dann Reparatursysteme beschrieben worden, deren zentraler Bestandteil in Glykolasen besteht. Diese Enzymkomplexe müssen zuerst am DNA-Strang die Stelle mit dem veränderten Baustein *lokalisieren*, den defekten Bereich *entfernen* und schließlich die Lücke wieder korrekt mit entsprechend komplementären Bausteinen *ergänzen* und die DNA wieder komplettieren. Dieses vielstufige Reparaturprinzip bezeichnet

man als Basenexzisionsreparatur, weil dabei zunächst ein bzw. mehrere Nukleotide aus der doppelsträngigen DNA herausgeschnitten und entfernt werden. Die einzelnen Schritte dieses Reparaturprinzips können bereits sehr detailliert beschrieben werden und sind recht aufwändig (SADEGHIAN et al. 2014). Die veränderte N-Base wird aus der Ebene der DNA-Strickleiter herausgedreht und im aktiven Zentrum der Glykolasen gebunden; der Komplex aus Enzym und N-Heterozyklus wird dann hydrolytisch aus der DNA entfernt. Durch weitere Enzyme wie Endonukleasen, Ligasen und Polymerasen wird an der entsprechenden Stelle die Phosphodiesterbindung gespalten, also die DNA aufgetrennt. Ligasen und Polymerasen ersetzen den fehlenden Baustein und komplettieren den DNA-Strang wieder.

Durch einen komplexen und fein abgestimmten Prozess können in Zellen chemische Veränderungen an der DNA entdeckt, lokalisiert und korrigiert werden.

Auf diese Weise, d. h. durch einen komplexen und fein abgestimmten Prozess, können in Zellen chemische Veränderungen an der DNA entdeckt, lokalisiert und korrigiert werden. Die häufigsten Modifikationen an den N-Heterozyklen stellen Desaminierung und Alkylierung dar oder werden durch Oxidationsprozesse hervorgerufen. Diese Schädigungen werden erkannt und durch die Aktivität mehrerer Enzyme korrigiert. Damit werden wirksame Schädigungen des Erbguts deutlich reduziert und ein bedeutender Beitrag zur Langzeitstabilität des Genoms geleistet.

Mismatch-Reparatur

Die N-Heterozyklen können in unterschiedlichen Strukturen auftreten; sind zwei solche Konstitutionen nur durch einen geringen Energieaufwand ineinander umwandelbar, nennt man sie Tautomere. Tautomerie kann während der Replikation, also dem Kopiervorgang der DNA, dazu führen, dass beim Einfügen des komplementären Nukleotids eine Fehlpaarung (mismatch) auftritt.

So dient die Aminogruppe ($-NH_2$) im Cytosin (C) als H-Donator für die Wasserstoffbrückenbindung, die bei der Bindung der komplementären Base ausgebildet wird. Sie stellt also Wasserstoff zur Verfügung. Die Aminogruppe kann aber auch tautomer als Iminogruppe ($=NH$) vorliegen und ist dann ein H-Akzeptor. Diese Tautomerie kann zur Folge haben, dass C bei der Replikation nicht G als komplementäre

Die Reparatursysteme weisen typische Kennzeichen teleologischer Strukturen auf: Sie sind auf das zu erwartende Auftreten von Fehlern eingerichtet.

Base bindet, sondern aufgrund des veränderten Musters bei der Ausbildung der H-Brücken Adenin (A) – es kommt also zu einer Fehlpaarung.

In diesem Fall der Fehlpaarung besteht die Herausforderung darin, dass ein Reparatursystem im eben beschriebenen Fall nicht nur den Fehler entdecken, sondern auch unterscheiden muss, in welchem Strang der Fehler vorliegt; ob also das C im einen Strang oder das A im anderen falsch ist und entfernt werden muss.

Die in Bakterien vorhandenen Enzyme, die dort die Reparatur ausführen, nutzen zu dieser Unterscheidung, in welchem DNA-Strang die falsche N-Base eingefügt worden ist, den Umstand, dass in der Zelle manche Adenin-Basen der DNA im Laufe der Zeit mit einer Methylgruppe versehen werden. Die N6-Methyladenine sind nur in den ursprünglichen DNA-Strängen enthalten; die bei der Replikation neu synthetisierten, komplementären Stränge tragen kein Methylmuster. Eines der an der Reparatur beteiligten Enzyme sucht also auf dem DNA-Strang ohne Methylgruppen nach einer Mismatch-Stelle und dient weiteren Enzymen, die ein Stück um die Stelle mit der Fehlpaarung ausschneiden, als Orientierung. Anschließend wird die entstandene Lücke auf dem entsprechenden Strang wieder durch Neusynthese gefüllt.

Für die anspruchsvolleren Mechanismen der Mismatch-Reparatur haben Paul MODRICH und seine Mitarbeiter grundlegende Beiträge geleistet (IYER et al. 2006).

Reparatur komplexer DNA-Schäden

Weitere Schäden an der DNA werden zusammenfassend als komplexe DNA-Schäden bezeichnet; dazu gehören z. B. Schädigungen der DNA, die durch UV-Licht induziert werden. Im Bereich der Reparaturmechanismen für komplexe DNA-Schädigungen hat sich die Arbeitsgruppe von Aziz SANCAR verdient gemacht (SANCAR 2003).

Der Einfluss von UV-Licht kann z. B. verursachen, dass chemische Bindungen zwischen zwei N-Heterozyklen im DNA-Doppelstrang gebildet werden, die ein Ablesen bei Replikation oder Transkription verhindern oder zu Fehlern führen. Die Reparatur solcher komplexen Schäden erlaubt z. B. Bakterien zu überleben, auch wenn sie längere Zeit UV-Licht ausgesetzt waren. Auch bei Pflanzen sind diese Mechanismen bedeutsam.

Die biochemischen Mechanismen umfassen auch hier jeweils verschiedene und zusammenwirkende Enzyme, die bisher vor allem in Bakterien erforscht sind.

Resumee

Die erstaunlichen physikalisch-chemischen Eigenschaften der Nukleinsäuren (wie z. B. die komplementäre Basenpaarung durch Wasserstoffbrücken) bilden die Voraussetzung dafür, dass sie die Funktion als Träger und Vermittler der Erbinformation auf faszinierende Weise erfüllen können. Die 2015 mit dem Nobelpreis für Chemie ausgezeichneten Forschungen weisen jedoch klar darauf hin, dass DNA unter den in einer Zelle vorherrschenden Bedingungen eine begrenzte chemische Stabilität hat und durch chemische Reaktionen derart verändert werden kann, dass dies ohne Reparaturmechanismen für die betreffenden Lebewesen fatale Folgen hätte. Die Zellen enthalten aber umfangreiche, komplexe und hochspezifische Reparatursysteme, die die Erhaltung und fehlerarme Weitergabe der Erbinformation ermöglichen.

Bereits beim derzeitigen Stand der Erkenntnisse wird deutlich, dass die DNA zur Erfüllung ihrer Funktion als Informationsträger in ein komplexes System eingebettet sein muss, das Fehler detektiert, lokalisiert und repariert. Zunächst muss also für eine natürliche Entstehung des Genoms für lebende Zellen plausibel gemacht werden, wie Nukleinsäuren in ungesteuerten Reaktionsabläufen so synthetisiert werden, dass sie für den Organismus geeignete Information tragen. Für dieses Problem liegt derzeit weder für die chemischen noch für informationstheoretische Aspekte eine plausible und empirisch fundierte Lösung vor. Darüber hinaus müssen auch Wege aufgezeigt werden, wie sich *sehr rasch* ein komplexes und effektives Reparatursystem etablieren kann, das für eine langfristige Nutzung der DNA notwendig ist; darauf weisen die preisgekrönten Arbeiten hin. Die darin erwähnten Reparatursysteme weisen typische Kennzeichen teleologischer Strukturen auf: Sie sind auf Zukunft angelegt, nämlich auf das zu erwartende Auftreten von Fehlern und auf den lebensnotwendigen längerfristigen Erhalt der Erbsubstanz. Gleichzeitig sind sie aufwändig und vielseitig und somit deutliche Indizien auf einen Schöpfer.

Anmerkung

¹ „It has not escaped our notice that the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material.“

Literatur

- CARELL T (2015a) Die Erbgut-Reparaturen. Nachrichten aus der Chemie 63, 1065–1067.
- CARELL T (2015b) DNA-Reparatur. Angew. Chem. Int. Ed. 54, 15330–15333; Angew. Chem. 127, 15546–15549.
- CHARGAFF E (1971) Preface to a grammar of biology. Science 172, 637–642.
- DAHM R (2008) Discovering DNA: Friedrich Miescher and the early years of nucleic acid research. Hum. Genet. 122, 565–581.
- IVER RR, PLUCIENNIC A, BURDETT V & MODRICH PL (2006) DNA mismatch repair: functions and mechanisms. Chem. Rev. 106, 302–323.
- SADEGHIAN K, FLAIG D, BLANK ID, SCHNEIDER S, STRASSER R, STATHIS D, WINNACKER M, CARELL T & OCHSENFELD C (2014) Ribose-protonated DNA base excision repair: a combined theoretical and experimental study. Angew. Chem. 126, 10208–10212.
- SANCAR A (2003) Structure and function of DNA Photolyase and Cryptochrome blue-light Photoreceptors. Chem. Rev. 103, 2203–2237.
- WATSON JD & CRICK FHC (1953) Molecular structure of nucleic acids. Nature 171, 737–738.

Ist der Erreger der Beulenpest erst vor 3000 Jahren entstanden?

Historische Evolution kann man nicht direkt beobachten. Deshalb haben sich Evolutionsbiologen lange gewünscht, DNA-Sequenzen von fossilen Organismen zu kennen. Inzwischen kann man sogar fossile Genome (= komplettes Erbgut) sequenzieren. Mehrere fossile und noch dazu sehr gut datierte Genome des Pestbakteriums *Yersinia pestis* legen nahe, dass der gefürchtete Erreger der Beulenpest erst vor etwa 3000 Jahren entstanden ist. Damit ist der Pesterreger ein Beispiel dafür, dass die Sequenzierung fossiler DNA die historische Evolutionsbiologie in eine neue Ära führt.

Siegfried Scherer

Pest: Eine alte biologische Waffe

Yersinia pestis verursacht die Beulenpest und gehört damit zu den gefürchtetsten bakteriellen Krankheitserregern. Nicht erst heute ist der Erreger als Biowaffe im Gespräch. Es gibt Indizien dafür, dass der Pesterreger bereits im Jahr 1346 bei der Belagerung der Stadt Kafa durch die Tataren eingesetzt wurde. Die Belagerer sollen ihre Pesttoten über die Mauern der Stadt katapultiert haben (WHEELIS 2002). Die infizierten Flüchtenden könnten die verheerende mittelalterliche Pestpandemie („Schwarzer Tod“) in Europa mit einem Höhepunkt zwischen 1347–1353 ausgelöst haben, sie soll schätzungsweise 25 Millionen Todesopfer gefordert haben.

Beschreibungen von Epidemien, die mutmaßlich auf *Yersinia pestis* zurückgehen, kennt man schon aus dem 5. Jahrhundert vor Christus und man weiß heute, dass auch die spätantike Justinianische Pandemie, welche zur Zeit des oströmischen Kaisers Justinian (527–565) grassierte, mit großer Wahrscheinlichkeit durch *Yersinia pestis* verursacht wurde. Die dritte Pandemie begann in der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts und forderte wohl weit über 10 Millionen Todesopfer. Zwischen diesen drei Pandemien traten immer wieder kleinere Epidemien in Europa und in Asien auf und bis heute ist *Yersinia pestis* eine Bedrohung für den Menschen (BOIRE 2013).

Während der dritten Pandemie wurde der Erreger von dem französischen Arzt Alexandre YERSIN isoliert und die Übertragung durch Flöhe konnte aufgeklärt werden. *Yersinia pestis* ist ein Gram negatives Bakterium aus der Familie der Enterobacteriaceae, zu welchen unter anderem Bakterien wie *Escherichia coli* gehören, die den Darm von vielen Tieren besiedeln. Die Herkunft der zahlreichen Gene, welche den Pesterreger zu einem der gefährlichsten bakteriellen Krankheitserreger der Menschheitsgeschichte machen („Virulenzfaktoren“), ist noch ungeklärt, derzeit existiert eine Reihe unterschiedlicher Hypothesen.

Taxonomische Stellung von *Yersinia pestis*

Zur Gattung *Yersinia* zählt man heute rund 20 Arten. Darunter finden sich neben dem Pesterreger die pathogenen Species *Y. enterocolitica* und *Y. pseudotuberculosis*, die beim Menschen die Yersiniose auslösen, eine durch Lebensmittel übertragene Erkrankung des Gastrointestinaltraktes, zuweilen kommt es in Folge auch zur Infektion von Gelenken und der Skelettmuskulatur. Für die Übertragung dieser Erreger ist ihre Kältetoleranz wichtig, wodurch sie sehr gut in gekühlten Lebensmitteln wachsen können