

Reparatur- mechanismen in der Zelle

1. Nukleinsäuren – ein fragiler Informationsspeicher

Die Fähigkeit von Zellen, sich selbst zu reparieren, ist faszinierend und bisher zu einem erheblichen Teil unverstanden. Sie beruht auf außerordentlich komplexen molekularen Mechanismen und ist in hochgradig präzisen, für verschiedene Arten von Schäden geeigneten Programmen organisiert. Die erste Folge einer Artikelserie ist der Reparatur von Erbgutmolekülen (Nukleinsäuren) gewidmet. Welche Aussagen können anhand einer Betrachtung dieser unverzichtbaren Eigenschaft aller Organismen über ihre Herkunft getroffen werden?

Boris Schmidtgal

Einleitung

Die Vergänglichkeit aller irdischen Dinge ist eine alltägliche Erfahrung. Aufgrund dieser Gegebenheit gehören Reparaturen zu den häufigsten Aktivitäten in unserem Leben – nicht nur bei Handwerkern. Allgemein gilt hierbei: Je komplexer eine Vorrichtung ist, desto höher der Reparaturaufwand. Nicht selten werden umfangreiche Sätze von Werkzeugen und einige strategische Überlegungen benötigt, um komplexe Reparaturen zu verwirklichen. Dazu gehören:

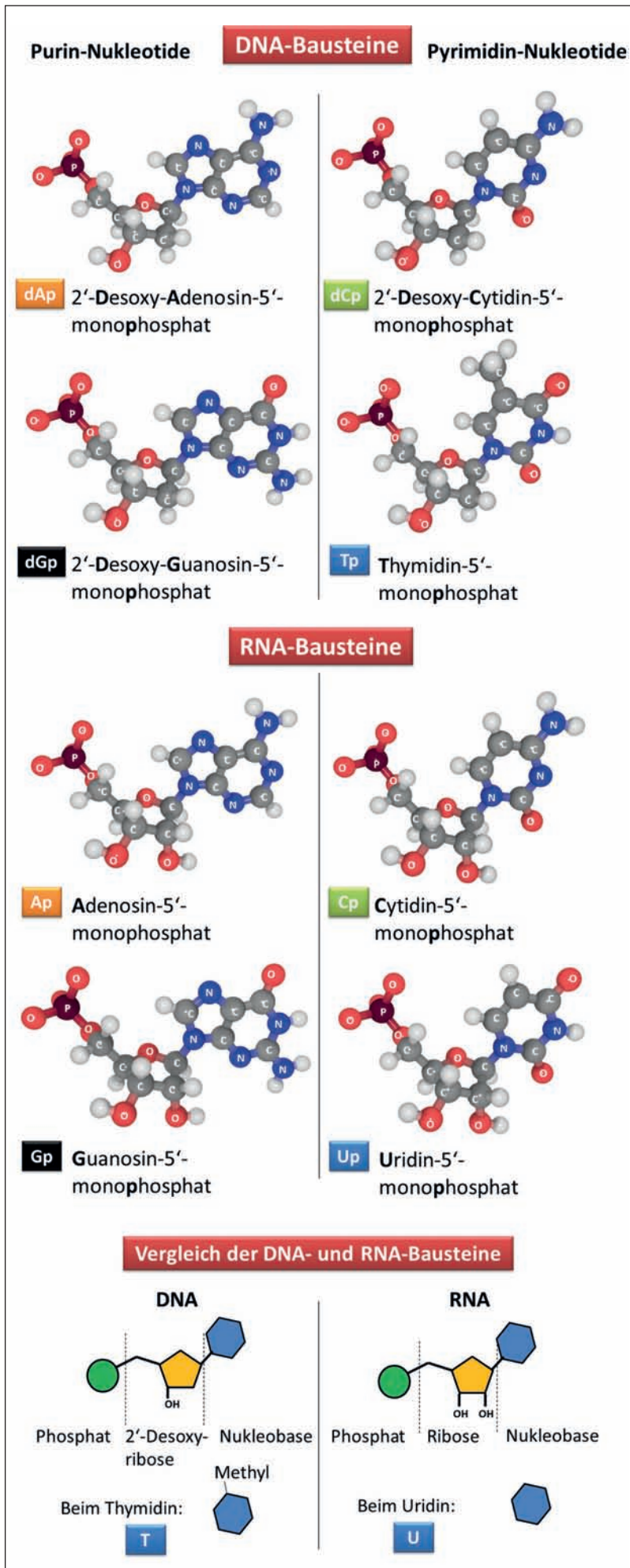
1. Erkennen/Beurteilen: Der Schaden muss richtig eingeordnet und eine angemessene Vorgehensweise zur Reparatur gewählt werden. Der Operateur muss zwischen dem intakten und dem beschädigten Zustand unterscheiden

können und über abrufbare Verfahren verfügen, die bei verschiedenen Arten von Schäden zum Erfolg führen.

2. Zugänglich machen: In vielen Fällen ist eine unmittelbare Reparatur nicht möglich, da die reparaturbedürftige Stelle zugänglich gemacht werden muss – z. B. durch Öffnen einer verschlossenen Einheit. Hierzu ist eine genaue Kenntnis über den größeren Kontext der zu reparierenden Einheit unverzichtbar.

3. Verstärken der Zerstörung: In vielen Fällen ist es erforderlich, einen entstandenen teilweisen Bruch zu vervollständigen, damit die anschließende Wiederherstellung erfolgreich ablaufen kann. Dieses Prinzip ist sowohl im Zusammenhang mit Gebäudesanierungen als auch dem Heilen von Knochenbrüchen im OP-Saal bekannt – auf das gezielte Brechen

Mit einem Stern* versehene Begriffe werden im Glossar erklärt.



eines beschädigten Teils folgt das Zusammenfügen oder der Neuaufbau mit nachfolgender Wiederherstellung. Hier ist vor allem Präzision gefragt, damit es nicht zu zusätzlichen Schäden oder irreparablen Zerstörungen kommt.

4. Die Wiederherstellung: Operationen zur Wiederherstellung einer beschädigten komplexen Einheit erfordern eine solide Fachkenntnis, Erfahrung und Geschick. Und dennoch ist kaum jemandem die unerfreuliche Erfahrung erspart geblieben, dass unsachgemäß vorgenommene Reparaturen auch zur Vergrößerung des Schadens führen können.

Zur Selbstreparatur befähigte technische Geräte sind nicht in Sicht. In biologischen Zellen dagegen ist die Selbstreparatur vielfach verwirklicht.

Reparaturen sind also nicht selten herausfordernde Aufgaben und es würde uns viel Arbeit ersparen, wenn Gegenstände wie Rechner oder Autos sich von selbst reparieren könnten. Doch von solchen technischen Errungenschaften sind wir noch sehr weit entfernt. In biologischen Zellen finden dagegen vielfältige und hochkomplexe Reparaturen statt, die von verschiedenen Ensembles von biologischen Nanomaschinen bewerkstelligt werden. Aufgrund der großen Vielfalt von Reparaturvorgängen in der Zelle ist dazu eine Serie an Artikeln vorgesehen, die nach der Art der reparierten Makromoleküle gegliedert sein wird: Nukleinsäuren, Proteine und Lipide (Zellwandbausteine). Der erste Teil dieser Serie ist der Reparatur von Schäden an Erbgutmolekülen (Nukleinsäuren) gewidmet.

Zu den Nukleinsäuren zählen die Desoxyribonukleinsäuren (DNA) und die Ribonukleinsäuren (RNA) – organische Kettenmoleküle, die sich in ihrer *Beschaffenheit* nur wenig, aber zum Teil erheblich hinsichtlich ihrer *biologischen Funktionen* unterscheiden (Abb. 1 und Abb. 2). Während DNA ausschließlich als Speichermedium für genetische Information fungiert, dienen RNA-Moleküle hauptsächlich als Überträger und Regulatoren des Informationsflusses von der DNA zu den Proteinen.

Ursachen von Schäden an Nukleinsäuren

Nukleinsäuren sind kinetisch* einigermaßen robust, aber thermodynamisch* unbeständig. Anders ausgedrückt: Im zellulären Milieu unterliegen diese Moleküle ständig einer unumkehrbaren Zerfallstendenz, auch wenn dies eher

Abb. 1 Kugel-Stab-Modelle der molekularen Bausteine (Nukleotide) von DNA und RNA (weiße Kugeln: Wasserstoff, grau: Kohlenstoff, blau: Stickstoff, rot: Sauerstoff, dunkelrot: Phosphor).

langsam geschieht. Ohne ständige Reparatur durch Enzyme würden die verursachten Schäden zu einem schnellen Tod des Organismus führen. Die Schäden können nicht-biologisch oder biologisch verursacht sein. Im Folgenden werden die Ursachen von Schäden an Nukleinsäuren kurz angeführt. Eine detaillierte Betrachtung der Prozesse, die Schäden hervorrufen, kann im Kastentext „Näheres zu Ursachen von Schäden an Nukleinsäuren“ nachgelesen werden.

Nicht-biologische Ursachen für Schäden an Nukleinsäuren

Strukturveränderung durch elektromagnetische Strahlung (s. Abb. 3): Elektromagnetische Strahlung kann die Struktur und chemische Bindungen von Nukleinsäuren verändern. UV-Strahlung fördert Reaktionen der DNA- und RNA-Bausteine mit Wasser und die Quervernetzung von Nukleinsäuren.

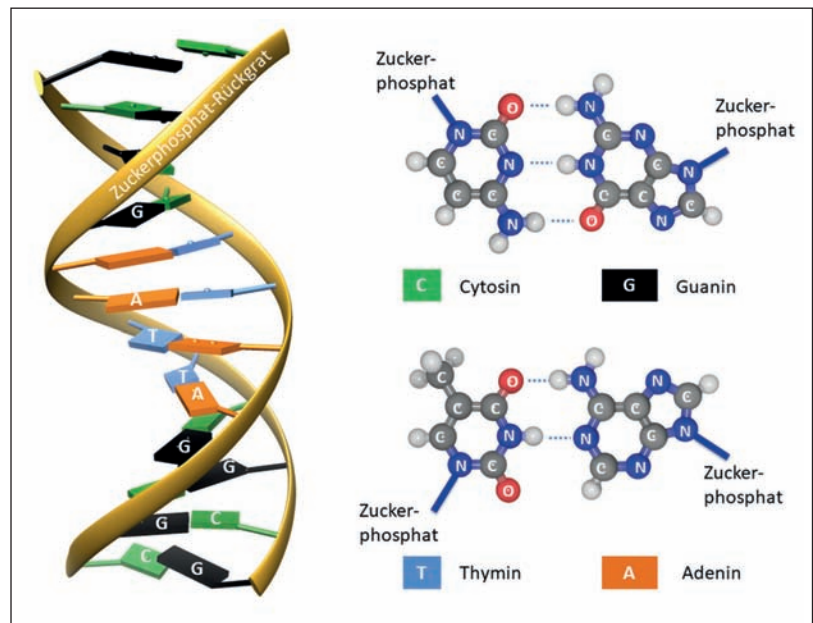


Abb. 2 Modell einer DNA-Doppelhelix und Kugel-Stab-Darstellungen der im Inneren der Doppelhelix angeordneten Nukleobasen*, die über Wasserstoff-Brückenbindungen (blau gepunktet) miteinander interagieren. Das Modell einer RNA-Doppelhelix unterscheidet sich nur wenig von demjenigen einer DNA-Doppelhelix.

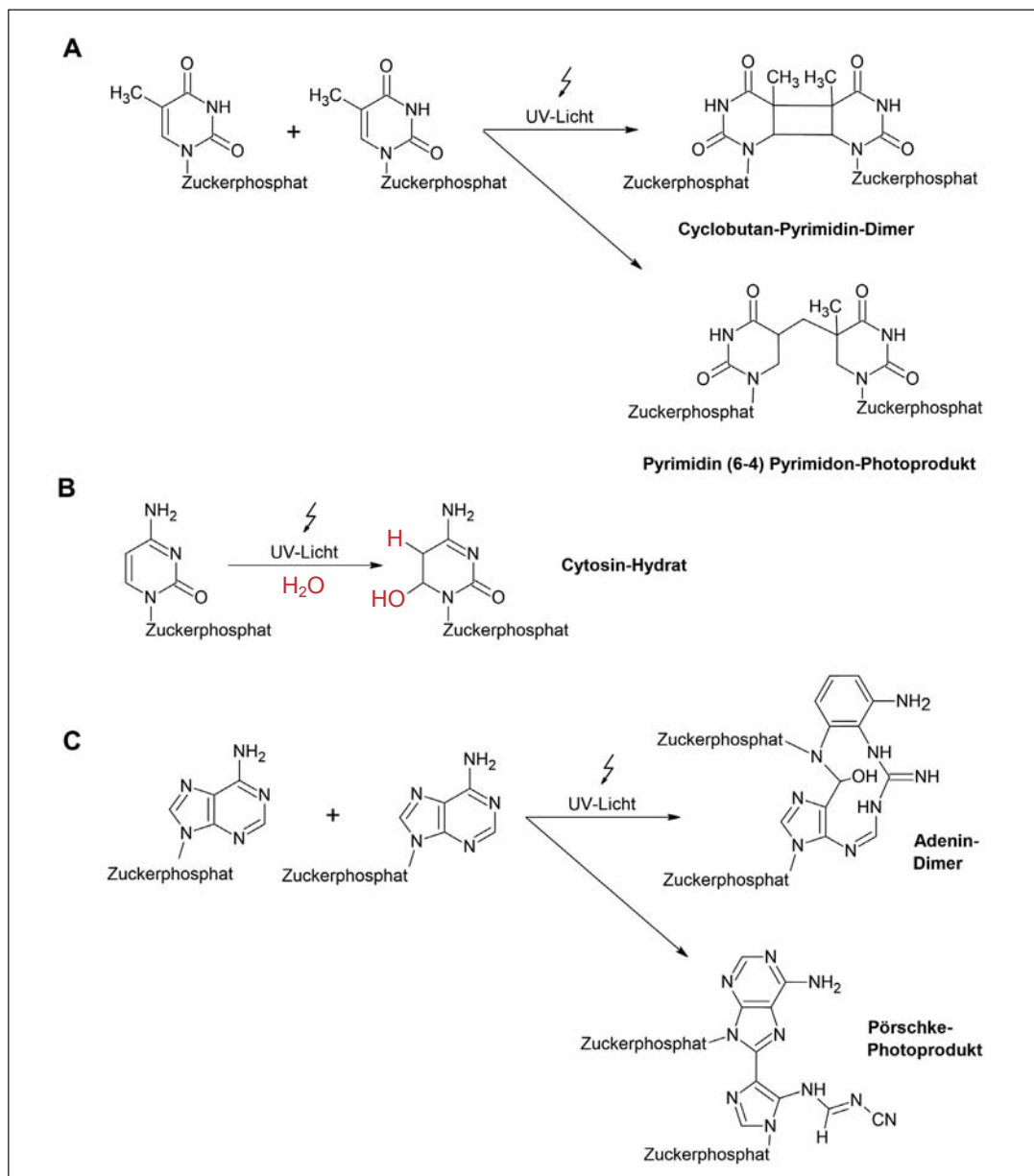


Abb. 3 Einige Beispiele für Veränderungen der Struktur von Nukleinsäuren durch UV-Licht. **A** Quervernetzung von DNA über Thymin-Nukleobasen; **B** Durch UV-Licht initiierte Reaktion einer Cytosin-Base mit Wasser; **C** Quervernetzung von DNA über Adenin-Nukleobasen. (Nach Kciuk et al. 2020)

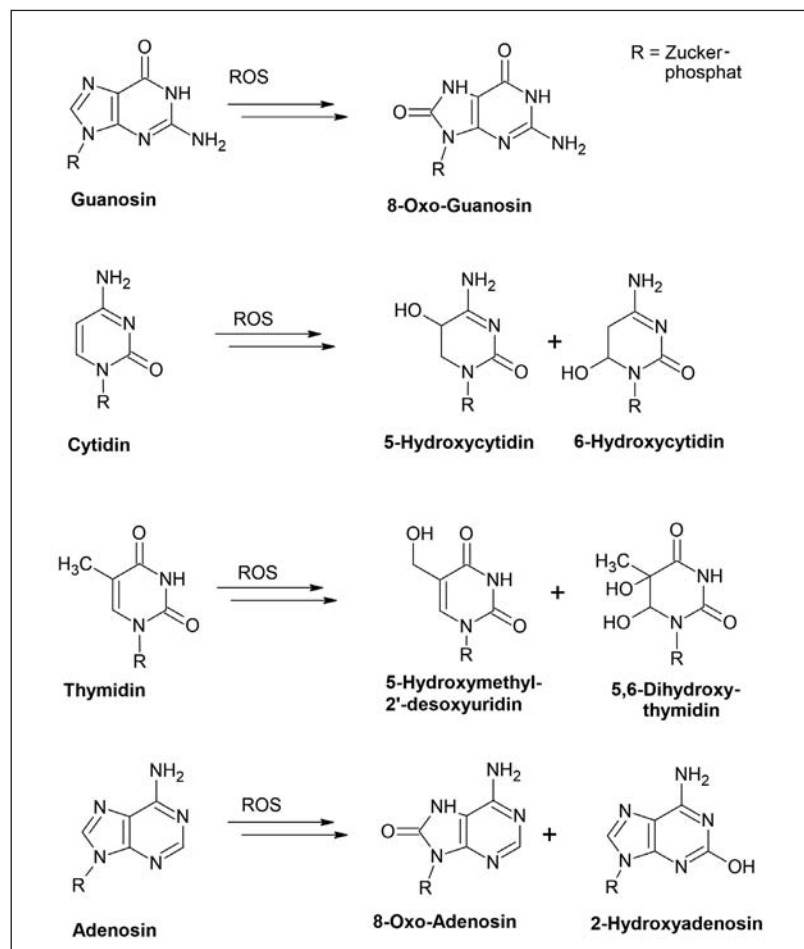
Kompakt

Organismen bestehen aus vielen chemisch unbeständigen Molekülen. Daher unterliegen nahezu alle Biomoleküle (DNA, RNA, Proteine und Bausteine der Zellwand und -membran) einer ständigen Zerfallstendenz. Um zumindest eine gewisse Zeit leben zu können, müssen Organismen dieser Tendenz durch gezielte Reparatur entstandener Schäden entgegenwirken. Hier werden Reparaturmechanismen der Nukleinsäuren, aus denen das Erbmolekül DNA aufgebaut ist, näher betrachtet. Diese Makromoleküle werden durch Einwirkung von UV-Licht, chemische Reaktionen mit Wasser und mit Reaktionsprodukten des Sauerstoffs beschädigt oder aufgrund von fehlerhaft verlaufenen biochemischen Synthesen mit mehr oder weniger stark ausgeprägter Beeinträchtigung der biologischen Funktion gebildet. Alle Zelltypen weisen daher eine Reihe von *hochpräzisen* und auf verschiedene Eventualitäten abgestimmten Reparaturprogrammen auf.

Eine nähere Betrachtung der Reparatursysteme zeigt auf, dass in den verschiedenen Domänen des Lebens (Archaea, Bakterien, Eukaryoten) ähnliche biochemische Werkzeuge (Enzyme) verwendet werden, wobei Eukaryoten sich hinsichtlich der Signalverarbeitung und -übertragung deutlich von den anderen Lebewesen unterscheiden. Während in der wissenschaftlichen Literatur vielfach behauptet wird, die Reparatursysteme seien evolviert, stellen die Autoren gleichermaßen oft fest, dass sie „extrem konserviert“ sind, was bedeutet, dass es also keine Hinweise auf nennenswerte Veränderungen gibt. Zudem fehlt es an gründlichen Versuchen, plausible Hypothesen für das evolutive Zustandekommen von Reparatursystemen aufzustellen. Eine zwanglose Interpretation aller bisherigen Erkenntnisse zu biologischen Reparatursystemen ergibt sich dagegen, wenn intelligente Planung angenommen wird.

Abb. 4 Oxidationen aller vier DNA-Nukleotide an den Nukleobasen durch ROS. Im Fall der RNA sind die Reaktionsmuster sehr ähnlich. Die Reaktionsgleichungen sind qualitativ und nicht stöchiometrisch (quantitativ).

Oxidation durch Reaktive Sauerstoffspezies (reactive oxygen species, ROS; s. Abb. 4): Durch Reaktionen mit ROS (Oxidationen) verändern sich sowohl die Gestalt als auch die chemischen und biologischen Eigenschaften der Erbgutmoleküle (SINHA & HÄDER 2002; KUSNETSOVA et al. 2009; KCIUK et al. 2020).



Bindungsspaltung durch Wasser (Hydrolyse; s. Abb. 5): Viele chemische Bindungen in der DNA sind anfällig für Spaltung durch Reaktionen mit Wasser. Betroffen sind die glykosidische Bindung*, die Phosphodiester-Verknüpfung zwischen Nukleotiden und die Aminogruppe des Cysteins.

Biologische Ursachen für Schäden an Nukleinsäuren

Fehlerhafte DNA-Replikation: Bei jeder Zellteilung und Fortpflanzung muss das Erbgut kopiert werden. Durch fehlerhafte Kopiervorgänge können Doppel- oder Einzelstrangbrüche entstehen.

Methylierungen: Die Genregulierung erfolgt zu einem großen Teil über Methylierungen der Nukleobasen Cytosin bzw. Adenin durch Methyltransferasen. Fehlerhafte Methylierungen können die Genfunktion stören und müssen daher beseitigt werden.

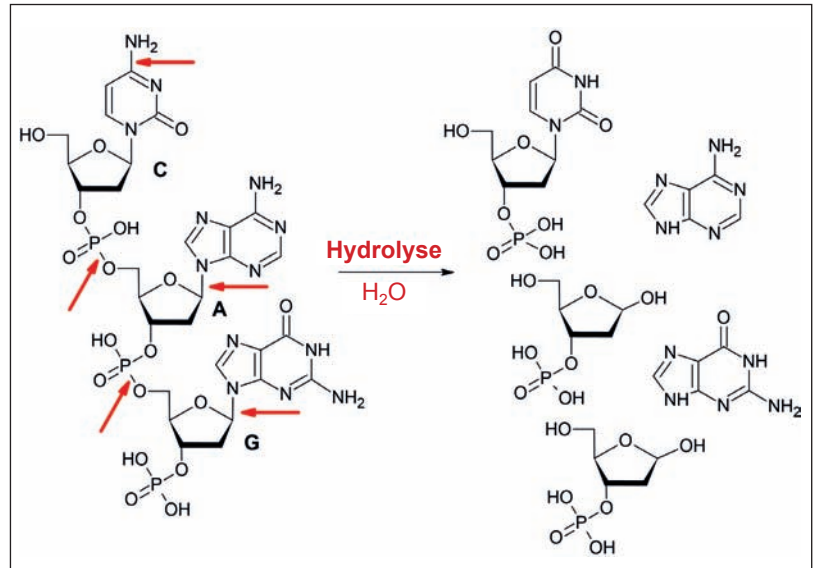
Schäden durch andere Organismen an RNA: RNA-Moleküle sind ähnlich anfällig für Oxidation wie DNA und *noch weniger* beständig gegen Hydrolyse. Darüber hinaus verfügen viele Organismen über biochemische Einrichtungen, die dazu dienen, RNA-Moleküle anderer Organismen zu zerstören – in vielen Fällen durch Spaltung der glykosidischen Bindung bestimmter Nukleotide der RNA-Sequenz. Einige Organismen verwenden RNA-zerstörende Gifte, um sich vor Fressfeinden zu schützen. Ziel solcher Angriffe sind tRNA-Moleküle und Ribosomen.

Es ist nicht übertrieben zu sagen, dass Schäden an Nukleinsäuren praktisch alle Vorgänge in der Zelle betreffen. Die Anzahl der DNA-Schäden bei Menschen pro Tag pro Zelle wird von verschiedenen Autoren auf 10^4 – 10^5 geschätzt (LINDAHL 1993; YOUSEFZADEH et al. 2021). Über eine vergleichbare Quantifizierung der Schäden an RNA-Molekülen liegen bisher keine belastbaren Daten vor. Dennoch dürfte auch hier der Reparaturaufwand der Zelle ähnlich immens sein. Folglich müssen alle Organismen über hocheffiziente, funktional sehr breit angelegte und ständig abrufbare Reparaturmechanismen verfügen, um zu überleben. Aus diesen Gründen ist das Interesse, biologische Selbstreparaturprozesse zu verstehen, in den Lebenswissenschaften sehr groß und die Forschung wächst rasant (HUANG & ZHOU 2021).

Alle Zellen müssen über hocheffiziente, funktional sehr breit angelegte und ständig abrufbare Reparaturmechanismen verfügen, um überleben zu können.

Bei sehr schweren oder irreparablen Schäden tritt bei höheren Lebewesen der programmierte Zelltod ein – eine altruistische („uneigennützig“) Verhaltensweise der Zellen, die den Erhalt des Organismus zum Ziel hat. Gegenwärtig wird angenommen, dass der programmierte Zelltod eine ausweichende Reaktion von Organismen ist, die aber das Altern zur Folge hat (YOUSEFZADEH et al. 2021).

Abb. 5 Spaltung chemischer Bindungen der DNA (rote Pfeile) – veranschaulicht an einem kurzen DNA-Strang aus drei Nukleotiden (CAG). Am Cytidin (C) erfolgt hydrolytische Desaminierung, die Purin-Basen (A und G) werden abgespalten (Spaltung der glykosidischen Bindung*) und die Phosphat-Brücken zwischen den Nukleotiden werden gespalten.



Näheres zu Ursachen von Schäden an Nukleinsäuren

Nicht-biologische Ursachen für Schäden an Nukleinsäuren

Schäden durch UV-Strahlung

Relevant ist vor allem Strahlung mit Wellenlängen im Bereich von 280–315 nm (UV-B), da sie nicht durch die Ozonschicht abgefangen wird. Sie führt zur Quervernetzung der DNA durch Bildung verschiedener Typen chemischer Bindungen zwischen DNA-Nukleobasen* (z. B. Dimerisierung von Thymin), wobei Verknüpfungen zwischen Pyrimidin-Basen deutlich häufiger vorkommen. Darüber hinaus kann direkte UV-Licht-Einwirkung Doppel- und Einzelstrangbrüche verursachen, wobei Erstere schwerer zu reparieren sind und besonders gravierende Folgen haben können (FERNANDEZ et al 2021).

Oxidation durch ROS (reactive oxygen species)

Während molekularer Sauerstoff (O_2) ungiftig ist, verhält es sich anders mit einigen seiner Reaktionsprodukte, den ROS. Solche Verbindungen können durch Einwirkung von UV-Licht entstehen oder durch Elektronentransfer auf Sauerstoff-Moleküle von einigen zelleigenen kleinen Molekülen (SCHMIDTGALL 2022). ROS gehen leicht mit vielen verschiedenen Molekülen Reaktionen ein, auch mit Erbgutmolekülen. Reaktionen von Erbgut-Molekülen mit ROS zählen zu den Oxidationen. Besonders anfällig für Oxidationen ist die Nukleobase Guanin.

Bindungsspaltung durch Wasser

Obwohl Nukleinsäuren gegenüber der Reaktion mit Wasser kinetisch* einigermaßen beständig sind, stellt die Hydrolyse die mit Abstand häufigste Ursache von Schäden an der DNA dar (YOUSEFZADEH et al. 2021). Der Grund dafür ist die große Menge von Wassermolekülen im zellulären Milieu, weswegen die langsam verlaufende Hydrolyse zu einem signifikanten Phänomen wird. Zum einen werden dadurch Nukleobasen vom Zuckerphosphat-Rückgrat der DNA abgespalten, sodass „Löcher“ in der DNA-Helix entstehen, wofür besonders der DNA-Baustein Adenosin anfällig ist. Zum anderen kommt es zu Einzelstrangbrüchen als Folge hydrolytischer Spaltungen des DNA-Rückgrats (Phosphodiester-Bindungen). Des Weiteren wird Cytosin durch Reaktion mit Wasser in Uracil umgewandelt – eine Reaktion, die als hydrolytische Desaminierung bezeichnet wird. Da Uracil nicht zu den kanonischen Nukleobasen der DNA (wohl aber der RNA) gehört, stellt es dort eine Störung dar und wird im Erbgut der Zelle als Defekt erkannt.

Biologische Ursachen für Schäden an Nukleinsäuren

Im Zuge der Zellteilung wird das gesamte Erbgut einer Zelle durch DNA-Polymerasen* kopiert. Da bei diesem Vorgang die Doppelhelix in ihre Einzelstränge aufgewickelt wird, spricht man bildhaft von einer „Replikationsgabel“. Im Verlauf des Kopiervorgangs bewegt sich der Enzymkomplex der DNA-Polymerase – vergleichbar mit einem Zug auf

Gleisen – auf der DNA, wobei die geöffnete Stelle (Replikationsblase) mitwandert. Trifft die DNA-Polymerase auf ungepaarte Stellen in der DNA (fehlgepaarte Basen) oder Löcher, d. h. Stellen ohne Nukleobase, kann es zum Zusammenbruch des Komplexes kommen und infolgedessen zu einem Doppelstrangbruch (DSB). Dieser Vorgang ist weit häufiger für die Entstehung von DSB ursächlich als z. B. die Einwirkung von UV-Licht (CHAPMAN et al. 2012).

Methylierungen

In Organismen ist das Anfügen von Methylgruppen ($-CH_3$) eine häufig vorkommende biochemische Reaktion. Durch Methylierung werden transponierbare Elemente reguliert – mobile genetische Elemente, die eine entscheidende Rolle in der Variabilität bzw. Anpassungsfähigkeit der Lebewesen spielen (BORGER 2023). Ebenso wird die Genaktivität durch Methylierungen der DNA reguliert: Indem die Nukleobasen Cytosin bzw. Adenin mit Methylgruppen versehen werden, erfolgt das Ausschalten bestimmter Gene. Solche Vorgänge erfolgen unter Katalyse durch DNA-Methyltransferasen, wobei es allerdings auch zu Nebenreaktionen kommt. Fehlplatzierte Methylierungen müssen entfernt werden, um die richtige Funktion der Gene aufrecht zu erhalten (SALL et al. 2022).

Schäden durch andere Organismen an RNA

Lange Zeit glaubte man, dass Schäden an RNA-Molekülen irrelevant sind, da diese Makromoleküle im Vergleich zur DNA relativ schnell verbraucht, enzymatisch abgebaut und an der DNA neu synthetisiert werden. Inzwischen ist zudem gesichert, dass verschiedene RNA-Moleküle im Rahmen der „biochemischen Kriegsführung“ auf zellulärer Ebene (z. B. durch Parasiten bzw. Fressfeinde) zwischen verschiedenen Organismen am häufigsten angegriffen werden (SHUMAN 2023). Vor allem bei Eukaryoten sind RNA-Moleküle in einem wesentlich höheren Maße für solche Angriffe exponiert als die im Zellkern kompakt verdrillte DNA. Da funktionale RNA-Moleküle im Unterschied zu Proteinen ihre Struktur kaum verändern und gleichzeitig zentrale Funktionen in der Zelle übernehmen, eignen sie sich besonders gut als Angriffsziele für Parasiten oder Räuber. Beispielsweise attackieren die Pilze *Kluyveromyces* und *Millerozyma* als Parasiten die Zellen von Wirtspflanzen, indem sie das RNA-Toxin Zymocin ausscheiden. Dieses Gift ist gegen das transfer-RNA (tRNA)-Molekül der Aminosäure Glutamin gerichtet und stört daher die Proteinbiosynthese der Pflanze (JABLONOWSKI & SCHAFFRATH 2007). Weit verbreitet ist auch die defensive Nutzung von RNA-Giften wie Rizin, Abrin oder Saporin z. B. durch Pflanzen gegen Fressfeinde. Diese Gifte bewirken die Spaltung der glykosidischen Bindung* von Nukleotiden in ribosomalen RNA (rRNA)-Molekülen und machen Ribosomen* funktionsuntüchtig (STIRPE & BATTELLI 2006).

Reparaturmechanismen für Schäden an DNA

Die zelluläre Antwort auf Schäden an Nukleinsäuren besteht aus einem mehrstufigen, hochkomplexen Vorgang, der immer noch zu einem erheblichen Teil unverstanden ist (HUANG & ZHOU 2021). Kurz zusammengefasst sieht der Verlauf der zellulären Antwort auf DNA-Schäden bei allen Lebewesen wie folgt aus: 1. Wahrnehmung und Signalweiterleitung: Sensor-Proteine interagieren mit der beschädigten Stelle und leiten ein Signal weiter, das verschiedene, auf das Beheben des Schadens ausgerichtete Maßnahmen auslöst. 2. Zu den Maßnahmen gehört das Anhalten des Zellzyklus bzw. der Zellteilung – begleitet vom Ankurbeln geeigneter Reparaturprozesse – oder dem Auslösen des programmierten Zelltods (Apoptose; nur bei Eukaryoten). Der beschriebene Vorgang impliziert im zweiten Teilschritt eine *Entscheidungsfindung*, der eine *Abwägung des Reparaturaufwands* vorausgeht; im Fall einer Reparatur ist dann die *Wahl* eines zum Schaden passenden Reparaturprogramms erforderlich.

Zu den Reparaturwerkzeugen, über die alle Lebewesen verfügen, gehören: 1. Erkennungsfaktoren: Proteine, die den Schaden identifizieren; 2. Helikasen: Enzyme, die die DNA-Helix entwinden; 3. Nukleasen: Enzyme, die beschädigte Teile des Erbguts ausschneiden; 4. DNA-Polymerasen: Enzyme, die den entfernten Teil des Erbguts erneut synthetisieren und 5. DNA-Ligasen: Enzyme, die den neu synthetisierten Strang mit dem noch intakten Erbgut verknüpfen.

Reparatur von Doppelstrangbrüchen (DSB)

Doppelstrangbrüche stellen, wie zuvor erwähnt, die größte Gefahr für Zellen dar. Eine besondere Herausforderung hierbei ist es, die voneinander abgetrennten Strang-Enden zwecks Wiederverknüpfung in unmittelbare Nähe zu bringen, was im sehr dichten Zellmilieu sehr schwierig ist (VOGT & HE 2023). Die frühesten Forschungsarbeiten zu Reparaturen von DSB wurden an *E.-coli*-Bakterien durchgeführt. Schon 1974 wurde unter dem Begriff „SOS-Antwort“ die Hypothese aufgestellt, dass DNA-Strangbrüche in Bakterien eine Antwort mit dem Ziel der Schadensbehebung auslösen (RADMAN 1974). Inzwischen sind viele Details dieses hochkomplexen Vorgangs bekannt (LIMA-NORONHA et al. 2022). Ausgelöst wird die Antwort durch das RecA-Protein – ein zentrales und hochgradig *multifunktionales* Steuerungselement in der bakteriellen SOS-Antwort.

Es erkennt ungepaarte DNA-Stränge und bindet daran. Diese Bindung bewirkt die Spaltung von LexA, einer Art Repressor*- und Schutzprotein der DNA. Dabei wird unter anderem das SOS-Regulon* freigelegt – eine Gruppe von Regionen im Bakterien-Erbgut, die für das Auslösen des Reparaturprogramms zuständig sind. Dazu gehört die vermehrte Synthese des Proteinkomplexes RecBCD, das ist ein großer Proteinkomplex, der die DNA *gezielt* und unter ATP*-Verbrauch an der Stelle des DSB entwindet und durch Schnitte an bestimmten Stellen für die Neusynthese des beschädigten Abschnitts durch eine DNA-Polymerase *vorbereitet*. Zudem wird mit Sula ein Protein erzeugt, das die Zellteilung verhindert, um zuerst die Reparatur des Schadens zu beenden und so die Weitergabe eines möglichst unbeschädigten Erbguts zu ermöglichen. Ebenso wird die Synthese von DNA-Polymerasen durch das SOS-Signal hochreguliert.

Der in den meisten Fällen stattfindende Reparaturvorgang wird als „homologe Rekombination“ (HR) bezeichnet und verläuft wie folgt: Der gebildete Komplex DNA-RecA sucht unter ATP-Verbrauch nach einer strukturell passenden Doppelstrang-DNA, die als Templat für die erneute Synthese der DNA dient. Die Neusynthese eines DNA-Abschnitts erfolgt unter Verwendung einer intakten dsDNA (doppelsträngige DNA) als Templat. Nach abgeschlossener Neusynthese verbindet eine DNA-Ligase den neuen Abschnitt mit dem intakten alten.

Die HR ist ein energieintensiver und sehr fehlerarmer Reparaturvorgang, da die darin wirksamen Polymerasen über eine Korrekturfunktion verfügen – sie erkennen falsch eingebaute Nukleotide und ersetzen sie durch die richtigen. Die HR kann allerdings nicht immer verwirklicht werden, z. B. wenn die Schäden an der DNA zu groß sind oder wenn ein passendes dsDNA-Templat nicht verfügbar ist. Aus diesem Grund verfügen Organismen über DNA-Polymerasen, die die Reparatur ohne Templat verwirklichen können. Hierbei kommt es allerdings wesentlich häufiger zu fehlerhaft eingebauten DNA-Bausteinen und auch dem Verlust von genetischer Information.

Das hier dargestellte Modell beruht auf Forschungsarbeiten an *E.-coli*-Bakterien, ist aber im Prinzip auf viele andere Bakterien anwendbar (LIMA-NORONHA et al. 2022). Bei Eukaryoten ist der Reparaturvorgang deutlich komplexer, wobei es hinsichtlich der Enzyme einige Entsprechungen gibt. Gänzlich anders ist bei Eukaryoten das die Reparaturmaßnahmen auslösende Signal und dessen Weiterleitung. (HUANG & ZHOU 2021; NIIDA & NAKANISHI 2006). Bei Archaea wurden viele ähnliche Elemente der

Reparatur von DSB gefunden, wobei wesentlich weniger Details über das gesamte Reparatursystem und die zugrundeliegende genetische Information bekannt sind. Überraschend und *bisher unverstanden* ist hierbei die Tatsache, dass selbst extremophile* Archaea nach bisherigem Wissen nicht über andere Reparaturwerkzeuge verfügen, obwohl sie unter Bedingungen leben, die zweifellos zu deutlich höheren Mutationsraten führen (MARSHALL & SANTANGELO 2020).

Reparatur von Basen-Fehlpaarungen (mismatch repair, MMR)

Das Resultat fehlerhafter Replikation sind häufig Basenfehlpaarungen. Solche Mutationen kommen einmal pro ca. 10^6 DNA-Bausteine vor. Relativ gut erforscht ist der Mechanismus der Wiederherstellung der korrekten Basenpaarungen bei Eukaryoten und Bakterien (MODRICH 2016). Die Herausforderung besteht hierbei darin, die Fehlpaarung zu erkennen und *zugleich* auch den Strang zu identifizieren, der das fehlerhaft eingebaute Nukleotid enthält. Bei *E.-coli*-Bakterien geschieht dies durch die zwei Proteine MutL und MutS, die als Komplex an die DNA binden und unter ATP-Verbrauch über die DNA gleiten können (MODRICH 2016). Sobald der Komplex MutS-MutL auf eine Fehlpaarung trifft, wird ein weiteres Protein MutH rekrutiert, das spezifisch an dem nichtmethylierten Strang einen Schnitt einfügt. Auf diese geniale Weise wird sichergestellt, dass der Schnitt am neu synthetisierten Strang gesetzt wird, der wahrscheinlich den fehlerhaft eingebauten Baustein enthält, da nur der alte Strang methyliert ist (MARSHALL 2020). Diese Schnittstelle wird von der Helikase UvrD erkannt, die die Helix entwindet. Anschließend wird der Strangteil, der das fehlerhaft eingeführte Nukleotid enthält, durch eine Exonuklease entfernt und es findet eine Neusynthese durch eine DNA-Polymerase nebst Verknüpfung durch eine Ligase statt. Insgesamt werden nach aktuellem Wissensstand mindestens *acht* verschiedene Proteine für die Reparatur von Fehlpaarungen bei *E.-coli*-Bakterien benötigt.

Insgesamt werden nach aktuellem Wissensstand mindestens acht verschiedene Proteine für die Reparatur von Fehlpaarungen bei *E.-coli*-Bakterien benötigt.

Bei Eukaryoten ist der Satz der Werkzeuge für die Reparatur demjenigen der *E.-coli*-Bakterien ähnlich, wobei es aber kein Analogon zu MutH gibt – dessen Funktion wird jedoch von

anderen Enzymen ausgeführt. Bei Archaea sind dagegen Analoga von MutS/MutL nur bei einigen Arten nachgewiesen worden (z. B. *Methanosaeta thermophila*). Bei vielen Archaea erfolgt die MMR durch NucS/EndoMS-Nukleasen, die sich strukturell deutlich von MutL/MutS unterscheiden. Es gibt allerdings auch Archaea, bei denen weder MutL/MutS noch EndoMS identifiziert worden sind (MARSHALL 2020).

Ausschneiden von Nukleobasen (base excision repair, BER)

Wird eine Nukleobase durch Oxidation, fehlerhafte Methylierung oder hydrolytische Desaminierung strukturell verändert, ist es erforderlich, sie zu entfernen. Der hierfür in Organismen verfügbare Reparaturmechanismus ist bei allen Lebewesen vom Bakterium bis zu Menschen *sehr ähnlich* (WALLACE 2014). DNA-Glykosylasen erkennen strukturell veränderte Nukleobasen als Defekt und spalten daraufhin die chemische Bindung zwischen dem Zuckerbaustein der DNA und der beschädigten Nukleobase. Auf diese Weise hinterlässt das Enzym ein „Loch“ (apurinic/apyrimidinic site [AP], eine basenfreie Stelle) in der DNA. Der verbleibende Zuckerrest wird von einem weiteren Enzym, einer AP-spezifischen Lyase, abgespalten. Anschließend erfolgen das Entfernen des beschädigten Strangteils durch eine Exonuklease und die erneute Synthese durch eine DNA-Polymerase mit abschließender Bindungsknüpfung durch eine Ligase. Interessant ist bei diesem Reparaturmechanismus, dass sowohl bei Menschen als auch bei Bakterien *elf* verschiedene Glykosylasen vorliegen, wovon vier für das Entfernen von fehlplatziertem Uracil oder Thymin zuständig sind, sechs für oxidativ abgewandelte Nukleobasen und eine für fehlerhaft methylierte Nukleobasen (WALLACE 2014). Organismen mit einfacheren Sätzen von Glykosylasen sind bisher nicht bekannt.

Beim Ausschneiden von Nukleobasen sind sowohl bei Menschen als auch bei Bakterien elf verschiedene Glykosylasen beteiligt – einfachere Sätze von Glykosylasen sind bisher nicht bekannt.

Ausschneiden von Nukleotiden und Ribonukleotiden (nucleotide excision repair, NER; ribonucleotide excision repair, RER)

Auflösungen von UV-induzierten DNA-Quervernetzungen erfolgen durch das Erkennen und

Ausschneiden der betroffenen Nukleotide. Dabei fügen bestimmte Enzyme auf beiden Seiten der DNA-Doppelhelix Schnitte ein. Bei Bakterien ist hierfür UvrA2/B/C/D der vollständige multifunktionale Enzymkomplex. Anschließend erfolgt wie in oben beschriebenen Fällen der Vierschritt aus Entwinden, Entfernen, Neusynthese und Ligation. *NER* ist bei Bakterien wie bei Archaea und Menschen sehr ähnlich beschaffen und ebenfalls unverzichtbar. Das Ausschalten der Gene für die Synthese der *NER*-Enzyme bei Halobakterien führte zu einer extremen Empfindlichkeit gegen UV-Licht (MARSHALL 2020).

Es kommt auch vor, dass Ribonukleotide* „irrtümlich“ in die DNA eingebaut werden. Das liegt unter anderem daran, dass Ribonukleotide in einer um einige Größenordnungen höheren Konzentration in der Zelle vorliegen als Desoxyribonukleotide*. Außerdem werden im Verlauf der Replikation Oligoribonukleotide als Primer* für die Initiation der DNA-Synthese verwendet, wonach es passieren kann, dass die Ribonukleotide unvollständig entfernt und anschließend in die DNA eingebaut werden. Bei einigen Archaea konnte der durchschnittliche Einbau von einem Ribonukleotid pro ca. 1000 DNA-Bausteine nachgewiesen werden (MARSHALL 2020). Der Reparaturmechanismus hierfür ist bei allen Organismen ähnlich und wird als „*universell konserviert*“ bezeichnet, was einerseits eine gemeinsame Abstammung aller Organismen unterstellt, andererseits ihre weitgehende Unveränderlichkeit anzeigt. Die Nuklease RNaseH2 führt *gezielt* entweder am 3'-Ende (Bakterien, Eukaryoten) oder am 5'-Ende des Ribonukleotids eine Bindungsspaltung ein. Anschließend erfolgt auch hier die Wiederherstellung durch Entwinden, Entfernen, Neusynthese und Ligation.

Die Reparaturmechanismen für das Entfernen mutierter Nukleobasen (BER) bzw. falscher Nukleotide (NER) sind bei allen Lebewesen auffallend ähnlich.

Einzigartige Reparaturvorgänge in Eukaryoten

Reparaturvorgänge bei Eukaryoten sind weit aus *komplexer* als bei Prokaryoten und Archaea, auch wenn die verwendeten Enzyme ähnlich sind. Kurz zusammengefasst verlaufen sie nach folgendem Muster: An der Stelle des Schadens bildet sich ein Proteinkomplex (9-1-1-Komplex), der ein Signal auslöst, das in der Form einer Kaskade von Phosphorylierungen* über

einige Stationen weitergegeben wird. Zentrale Rollen kommen dabei zwei sehr großen Proteinen ATM und ATR zu (jeweils ca. 350 kDa*), die *über 100* Reaktionspartner phosphorylieren. Anschließend erreicht das Signal dann Effektor-Proteine wie p53, die Maßnahmen zur Schadensbehebung auslösen (NIIDA & NAKANISHI 2006). Dazu gehört das Anhalten des Zellzyklus, das eine Vervollständigung der Reparatur vor der Zellteilung ermöglicht (HUANG & ZHOU 2021; NIIDA & NAKANISHI 2006). Ebenso wie in Bakterien wird die Synthese von Reparatur-enzymen angekurbelt und zum Schaden passende Reparaturprogramme werden ausgelöst – oder im Fall eines zu hohen Reparaturaufwands der Zelltod. Die großen Unterschiede zwischen Eukaryoten und den anderen Organismen liegen vor allem in der Weiterleitung des Signals, während die Reparaturprogramme, die oben erläutert wurden, bei Eukaryoten in vielerlei Hinsicht Ähnlichkeiten zu denjenigen von Bakterien bzw. Archaea aufweisen.

Reparatur von Schäden der RNA

Reparaturen von RNA-Molekülen sind neben Schäden durch Oxidation und Hydrolyse auch wegen der „biochemischen Kriegsführung“ zwischen Organismen erforderlich (z.B. bei intrazellulärem Parasitismus). Im Verlauf der vergangenen zwanzig Jahre sind viele faszinierende Enzyme entdeckt worden, die die Funktion haben, beschädigte RNA-Moleküle wiederherzustellen. Repariert werden tRNA-Moleküle und Ribosomen, nicht jedoch kleine RNA-Moleküle. Es sind unter anderem Reparaturenzyme beschrieben worden, die *zugleich gegensätzliche* Aktivitäten ausüben: das Brechen und das Reparieren bestimmter Bindungen (BURROUGHS & ARAVIND 2016). Zudem verfügen RNA-Reparatursysteme nicht nur über die Kompetenz, RNA-Moleküle zu reparieren, sondern können auch künftigen erneuten Angriffen *vorbeugen*. Nach der Reparatur wird die reparierte Stelle durch Methyltransferasen methyliert, sodass erneute Spaltungen verhindert werden (SHUMAN 2023). Die Reparatursysteme bestehen bei Prokaryoten aus verschiedenen Enzymen, die aufeinander abgestimmt die Reparatur von RNA-Molekülen ausführen. In Eukaryoten sind die einzelnen funktionellen Module zu einem einzigen, riesigen *Multienzymkomplex* kombiniert, der wegen seiner Multifunktionalität als „Schweizer-Messer-Protein“ bezeichnet wird (BURROUGHS & ARAVIND 2016). RNA-Reparaturenzyme kommen in allen Domänen des Lebens vor und die einzelnen Module sind bei allen Lebewesen sehr ähnlich, gelten also auch als „hochkonserviert“.

Diskussion: Erklärung der Entstehung von Reparatursystemen durch Evolution?

Bereits der Umstand, dass Erbgutmoleküle chemisch unbeständig und auf mannigfaltige Weise für Schäden anfällig sind, gibt Forschern zu denken. DE LAAT et al. (1999) sehen es als „fundamentales Problem, dass die genetische Information in einer Form gespeichert wird, die chemisch nicht inert [nicht reaktionsfähig] ist“.

Spekulationen über eine hypothetische „RNA-Welt“ erscheinen angesichts des beschriebenen Ausmaßes der Schäden an Erbgutmolekülen absurd.

Das hier beschriebene Ausmaß der Schäden an Nukleinsäuren allein durch Einwirkung von Wasser und UV-Licht lässt gegenwärtig weit verbreitete Spekulationen über eine hypothetische „RNA-Welt“ als evolutionäre Etappe vor dem Entstehen erster Zellen als absurd erscheinen. Zugleich wird deutlich, dass angenommene frühe primitive einzellige Lebensformen ohne einen umfangreichen „Werkzeugkoffer“ mit hocheffizienten Erkennungs-, Signal- und Reparaturenzymen nicht überlebensfähig sein konnten. Kaum ein Autor wagt den Versuch, im Detail zu erklären, wie die Reparaturmechanismen entstanden sein könnten. Es wird einfach ohne Begründung behauptet, sie seien evolviert. Zugleich wird oft konstatiert, dass die Reparaturwerkzeuge von Bakterien bis Menschen „extrem konserviert“ seien – damit wären sie nach evolutionärer Lesart seit ca. 3,5–4 Milliarden Jahren Evolution im Wesentlichen unverändert: „Darüber hinaus sind mehrere DNA-Reparatursysteme in jeder oder mindestens in zwei der Domänen des Lebens tief konserviert [...], sogar in Prokaryoten“ (BURROUGHS & ARAVIND 2016). Die vielfach nicht ausgesprochene, aber zwingende Folgerung ist demnach, dass praktisch alle hochkomplexen Reparaturenzyme sehr schnell bis quasi zeitgleich im Zuge der frühen Evolution entstanden sein müssten. Allerdings bringt niemand den Mut auf, eine derart vernunftwidrige Annahme zu Papier zu bringen.

Die Abhängigkeit vieler Reparaturprozesse von der molekularen Energiewährung ATP stellt ebenfalls eine schwierige Hürde für evolutionäre Modelle dar, da hierfür eine beständige ATP-Synthese benötigt wird. Das ist aber nur mit einem *äußerst komplexen* Energiestoffwechsel inklusive ATP-Synthase möglich. Es müsste also angenommen werden, dass beides *zugleich*

entstanden ist. Es dürfte wohl kaum gelingen, hierfür einen plausiblen schrittweisen Vorgang als Erklärung zu formulieren, während intelligente Planung hier nahe liegt.

Nicht nachvollziehbar aus Sicht der Evolutionslehre ist überdies der gewaltige Unterschied zwischen Bakterien/Archaea und Eukaryoten hinsichtlich der Signalübertragung im Fall von Schäden am Erbgut. Während bei *E. coli* DNA-bindende Proteine durch Freilegen eines DNA-Bereichs das Reparaturprogramm auslösen, läuft das Signal bei Eukaryoten über eine Kaskade von Phosphorylierungen. Das sind fundamental verschiedene biochemische Abläufe. Über Modelle einer schrittweisen Umstellung der Reparatursysteme im Zuge der angenommenen Evolution von Archaea bzw. Bakterien zu Eukaryoten inklusive der Selektionsdrücke, die das bewirkt haben könnten, ist der Literatur nichts zu entnehmen.

Ein weiteres schwerwiegendes Problem wäre auch eine allmähliche Entwicklung von Nukleasen. Primitive, wenig spezifisch schneidende Nukleasen würden das Erbgut sofort zerstören. Daher müssten *alle* Nukleasen *von Anfang an* mit hoher Präzision nur an den erforderlichen Stellen geschnitten haben. Außerdem muss *immer* eine strenge Kontrolle der Aktivität der Nukleasen gewährleistet sein – analog zu einem Skalpell, das in einer Schutzhülle aufbewahrt werden muss (SPIVAK 2015). Zugleich muss eine rasche Aktivierung der Synthese dieser Enzyme möglich sein. Das stellt eine weitere immense Überforderung für kleinschrittige Szenarien einer frühen Evolution dar.

Die koordinierte Zusammenarbeit der Reparaturenzyme nötigt den Gedanken an ein sorgfältig programmiertes Ensemble von Nanorobotern auf.

Die koordinierte und genau aufeinander abgestimmte Zusammenarbeit verschiedener Enzyme nötigt den Gedanken an ein sorgfältig programmiertes Ensemble von Nanorobotern auf. Es überrascht daher nicht, dass viele Autoren ihre evolutionären Hypothesen *teleologisch* (auf ein Ziel hin gerichtet) formulieren (MARSHALL 2020; Hervorh. hinzugef.): „Die DNA-Reparaturmechanismen haben sich so entwickelt, *um* eher die allgemeinen Verzerrungen des DNA-Rückgrats als die eigentliche Veränderung zu erkennen, was die Erkennung eines breiten Spektrums von DNA-Läsionen ermöglicht.“ Solche zielorientierten Aussagen sind mit dem Wesen evolutionärer Abläufe, die weder Ziel noch Zweck verfolgen, nicht vereinbar – sehr wohl dagegen mit *intelligenter Planung*.

Glossar

ATP: Adenosintriphosphat, der universelle molekulare Energieträger in der Zelle („Energiewährung“)

Desoxyribonukleotid: molekularer Einzelbaustein der DNA

Extremophil: „das Extreme liebend“ – Bezeichnung für Organismen, die unter sehr harschen Bedingungen leben (z. B. im Toten Meer oder in heißen Quellen)

glykosidische Bindung: chemische Bindung in der DNA zwischen Nukleobasen und Zuckereinheiten

kDa (kilodalton): Gewichtseinheit von Makromolekülen (1 Da = 1 g/mol)

kinetisch: Kinetische Größen beschreiben die Geschwindigkeit chemischer Reaktionen.

Nukleobase: Teil der DNA oder RNA, der einen entscheidenden Beitrag zur Reißverschluss-artigen Bildung der Doppelhelix-Moleküle leistet

Phosphorylierung: Anfügen einer PO_3 -Gruppe

Polymerase: Enzym, das die DNA-Kettenverlängerungsreaktion katalysiert

Primer: kurzes Stück RNA, das bei der Replikation als Hilfsmolekül (Auxiliar) dient und später wieder entfernt bzw. durch DNA ersetzt wird

Regulon: Gruppe voneinander unabhängiger Gene, die von demselben Protein reguliert werden

Repressor: Protein, das einen DNA-Abschnitt blockiert und dadurch dessen Ablesen und damit die Synthese des entsprechenden Proteins verhindert

Ribonukleotid: molekularer Einzelbaustein der RNA

Ribosomen: für Proteinbiosynthese zuständige molekulare Maschinen in der Zelle

Thermodynamisch: In der Chemie beschreiben thermodynamische Größen die Tendenz chemischer Prozesse, die sich aus der Differenz der Energien von Reaktionsprodukten und -ausgangsstoffen ergibt. Spontane chemische Reaktionen verlaufen stets in Richtung energieärmerer Produkte.

Darüber hinaus ist die Ähnlichkeit der Reparaturwerkzeuge (Enzyme) in allen Domänen des Lebens weit besser verständlich, wenn man sie durch funktionelle Notwendigkeit erklärt, anstatt gemeinsame Abstammung anzunehmen. So wie alle Schraubenschlüssel und -zieher in ihrer Form ähnlich sind, weil sie für sehr ähnliche Zwecke geschaffen wurden, so sind es auch Enzyme, deren Zweck die Reparatur von Nukleinsäuren ist.

Literatur

- BORGER P (2023) Über den Entwurf des Lebens: Mobile genetische Elemente. *Gentische Quellen der Anpassungsfähigkeit. Stud. Integr. J.* 30, 22–30.
- BURROUGHS MA & ARAVIND L (2016) RNA damage in biological conflicts and the diversity of responding RNA repair systems. *Nucleic Acids Res.* 44, 8525–8555.
- CHAPMAN JR et al. (2012) Playing the end game: DNA double-strand break repair pathway choice. *Mol. Cell* 47, 497–510.
- DE LAAT et al. (1999) Molecular mechanism of nucleotide excision repair. *Genes & Development* 13, 768–785.
- FERNANDEZ A et al. (2021) Epigenetic mechanisms in DNA double strand break repair: a clinical review. *Front. Mol. Biosci.* 8, Article 685440.
- HUANG RX & ZHOU PK (2020) DNA damage response

signaling pathways and targets for radiotherapy sensitization in cancer. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 5, 60.

- HUANG RX & ZHOU PK (2021) DNA damage repair: historical perspectives, mechanistic pathways and clinical translation for targeted cancer therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 6, 254.
- JABLONOWSKI D & SCHAFFRATH R (2007) Zymocin, a composite chitinase and tRNase killer toxin from yeast. *Biochem. Soc. Trans.* 35, 1533–1537.
- KCIUK M et al. (2020) Focus on UV-Induced DNA Damage and Repair – Disease Relevance and Protective Strategies. *Int. J. Mol. Sci.* 21, 7264.
- KUSNETSOVA AA et al. (2009) Oxidation of DNA and its components with reactive oxygen species. *Russ. Chem. Rev.* 78, 659–678.
- LAHUE RS & MODRICH P (1989) DNA mismatch in a defined system. *Science* 245, 160–164.
- LIMA-NORONHA M et al. (2022) Sending out an SOS – the bacterial DNA damage response. *Genet. Mol. Biol.* 45, 3.
- LINDAHL T (1993) Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature* 362, 709–715.
- MARSHALL CJ & SANTANGELO TJ (2020) Archaeal DNA Repair Mechanisms. *Biomolecules* 10, 1472, doi:10.3390/biom10111472.
- MODRICH P (2016) Mechanisms in *E. coli* and Human Mismatch Repair. *Angew. Chem. Int. Ed.* 55, 8490–8501.
- NIIDA H & NAKANISHI M (2006) DNA damage checkpoints in mammals. *Mutagenesis* 21, 3–9.
- RADMAN M (1974) Phenomenology of an inducible mutagenic DNA repair pathway in *Escherichia coli*: SOS repair hypothesis. In: PRAKASH L (ed) *Molecular and environmental aspects of mutagenesis*. Charles C. Thomas, Springfield, pp 128–142.
- SALL SO et al. (2022) DNA damage and DNA methylation, in GALVONAS JASIULIONIS M (ed., 2022) *Epigenetics and DNA damage*. Elsevier.
- SCHMIDTGALL B (2022) Die Sauerstoffkatastrophe 3. Biologische Schutzvorrichtungen gegen oxidativen Stress. *Stud. Integr. J.* 29, 27–35.
- SHUMAN S (2023) RNA repair: hiding in plain sight. *Annu. Rev. Genet.* 57, 461–489.
- SINHA RP & HÄDER DP (2002), UV-induced DNA damage and repair: a review. *Photochem. Photobiol. Sci.* 1, 225–236.
- SPIVAK G (2015) Nucleotide excision repair in humans. *DNA repair* 36, 13–18.
- STIRPE F & BATTELLI MG (2006) Ribosome-inactivating proteins: progress and problems. *Cell. Mol. Life Sci.* 63, 1850–1866.
- VAN DEN HEUVEL D et al. (2021) Transcription-coupled DNA repair: from mechanism to human disorder. *Trends Cell Biol.* 31, 359–371.
- VOGT A & HE Y (2023) Structure and mechanism in non-homologous end joining. *DNA repair* 130, 103547.
- WALLACE SS (2014) Base excision repair: A critical player in many games. *DNA repair* 19, 14–26.
- YOUSEFZADEH M et al. (2021) DNA damage – how and why we age? *eLife* 2021, 10:e62852.

Anschrift des Verfassers:

Boris Schmidtgall, SG Wort und Wissen,
Peter-Stein-Str. 4, 72250 Freudenstadt;
E-Mail: boris.schmidtgall@wort-und-wissen.de