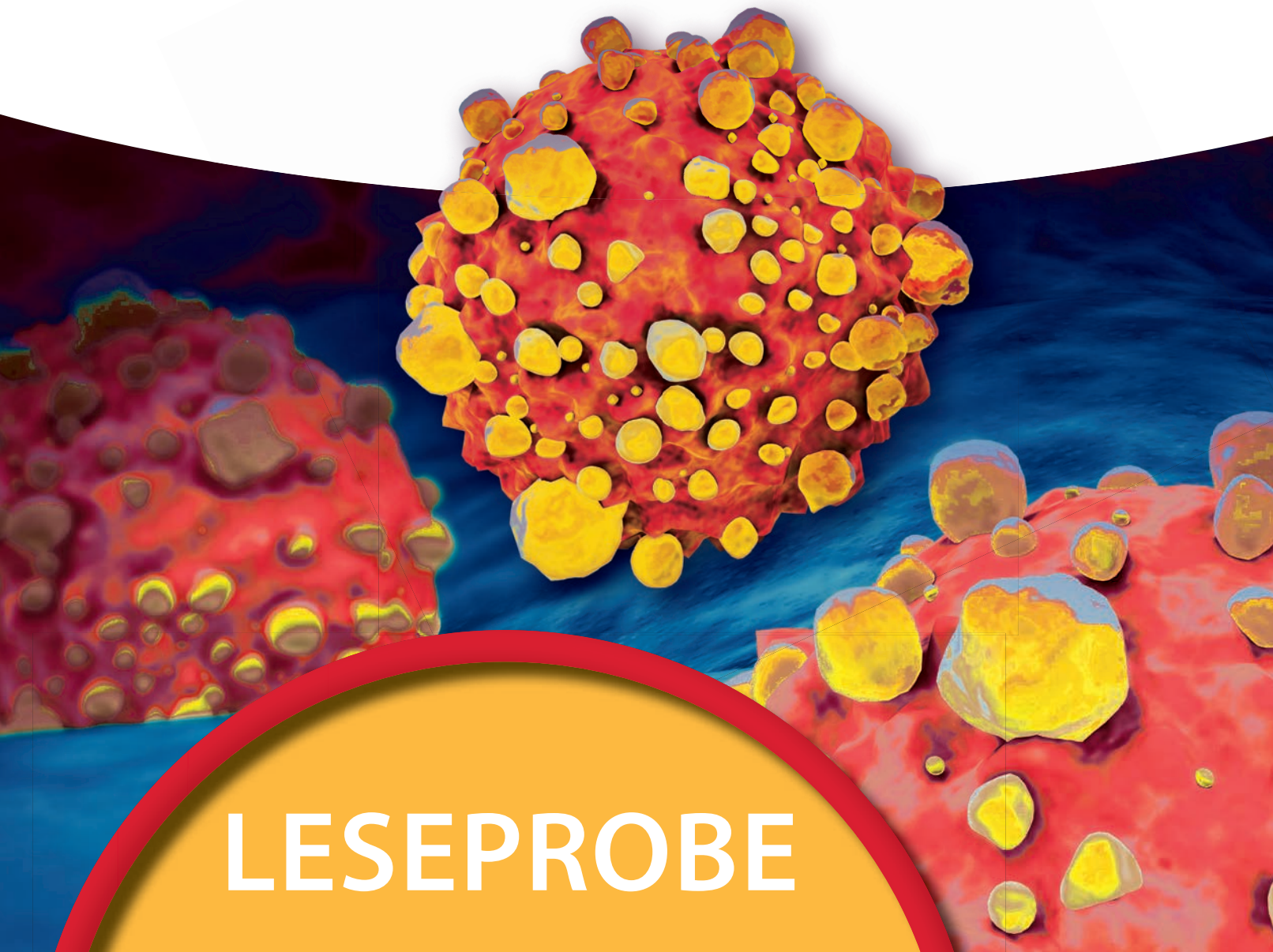


Bruce Alberts, Alexander Johnson,
Julian Lewis, David Morgan, Martin Raff,
Keith Roberts und Peter Walter

Molekularbiologie der Zelle

Übersetzung herausgegeben von Ulrich Schäfer
6. Auflage



LESEPROBE

In dieser Lehrbuchinformation finden Sie die folgenden Abschnitte:

- Die Autoren
- Vorwort
- Inhaltsverzeichnis
- Probekapitel in Auszügen
- Bestellinformationen

*Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, David Morgan,
Martin Raff, Keith Roberts und Peter Walter*

Molekularbiologie der Zelle

6. Auflage

Übersetzung herausgegeben von Ulrich Schäfer

Die Autoren



Bruce Alberts promovierte an der Harvard University und ist Inhaber des Chancellor's Leadership Chair in Biochemistry and Biophysics for Science and Education an der University of California, San Francisco. Von 2008 bis 2013 war er Editor-in-Chief von *Science* und für zwölf Jahre Präsident der U.S. National Academy of Sciences (1993–2005).

Alexander Johnson promovierte an der Harvard University und ist Professor für Mikrobiologie und Immunologie an der University of California, San Francisco.

Julian Lewis (1946–2014) promovierte als D.Phil. an der University of Oxford und war Emeritus Scientist am London Research Institute of Cancer Research UK.

David Morgan promovierte an der University of California, San Francisco, und ist Professor am dortigen Institut für Physiologie sowie Direktor des Biochemistry, Cell Biology, Genetics, and Developmental Biology Graduate Program.

Martin Raff erwarb seinen M.D. an der McGill University und ist Emeritus Professor of Biology am Medical Research Council Laboratory for Molecular Cell Biology des University College London.

Keith Roberts promovierte an der University of Cambridge und war Stellvertretender Direktor des John Innes Centre, Norwich.

Peter Walter promovierte an der Rockefeller University in New York und ist Professor am Department of Biochemistry and Biophysics an der University of California, San Francisco, sowie Forscher am Howard Hughes Medical Institute.

Vorwort

Seit die letzte Auflage dieses Buchs erschienen ist, wurden über fünf Millionen wissenschaftliche Arbeiten veröffentlicht. Zusätzlich nimmt das Ausmaß der digitalen Medien immer weiter zu: neue Daten über Genomsequenzen, Protein-Interaktionen, Molekularstrukturen und Genexpression – alle in riesigen Datenbanken gespeichert. Die Herausforderung sowohl für Wissenschaftler als auch für Buchautoren besteht darin, diese überwältigende Masse an Information in ein zugängliches und zeitgemäßes Verständnis darüber wie Zellen funktionieren, umzuwandeln.

Hilfreich ist die große Zunahme an Review-Artikeln, die versuchen, „Rohwissen“ leichter verständlich zu machen, obwohl die große Mehrheit dieser Reviews immer noch ziemlich stark fokussiert ist. Mittlerweile versucht uns eine schnell wachsende Ansammlung von Online-Quellen zu überzeugen, dass das Verständnis nur wenige Mausklicks entfernt ist. In einigen Bereichen war diese Veränderung, wie wir auf Wissen zugreifen, sehr erfolgreich – zum Beispiel bei der Entdeckung der neuesten Information über unsere eigenen medizinischen Probleme. Aber um etwas so schönes und komplexes zu verstehen wie das Funktionieren lebender Zellen, braucht es mehr als nur ein Wiki-Dies oder Wiki-Das. Es ist extrem schwer, die wertvollen und beständigen Juwelen aus so viel Müll herauszufinden. Viel effektiver ist eine sorgsam ausgearbeitete Schilderung, die logisch und schrittweise durch die wesentlichen Begriffe, Komponenten und Experimente führt, sodass die Leser sich selbst ein einprägsames, konzeptionelles Grundgerüst der Zellbiologie bilden können. Dieses Konzept ermöglicht ihnen, die ganze neue Wissenschaft kritisch zu beurteilen und, noch wichtiger, sie zu verstehen. Das ist es, was wir mit *Molecular Biology of the Cell* erreichen wollen.

Bei der Vorbereitung dieser neuen Auflage mussten wir zwangsläufig einige schwierige Entscheidungen treffen. Um spannende, neue Entdeckungen aufzunehmen, mussten wir, um das Buch transportabel zu halten, vieles streichen. Wir haben neue Abschnitte hinzugefügt, wie diejenigen über neue RNA-Funktionen, Fortschritte in der Stammzellbiologie, neue Methoden zur Untersuchung von Proteinen und Genen und zur Abbildung von Zellen, Fortschritte in der Genetik und Behandlung von Krebs und zeitlicher Ablauf, Wachstumskontrolle und Morphogenese der Entwicklung.

Die Chemie einer Zelle ist extrem komplex und jede Liste von Zellteilen und ihren Wechselbeziehungen – ganz gleich wie vollständig sie ist – wird gewaltige Lücken in unserem Verständnis hinterlassen. Wir begreifen inzwischen, dass wir, wenn wir überzeugende Erklärungen für das Verhalten einer Zelle liefern wollen, quantitative Information über Zellen benötigen. Diese Informationen sind an ausgefeilte mathematische/computergestützte Ansätze gebunden, die z.T. noch gar nicht erfunden sind. Dementsprechend zeichnet es sich ab, dass es immer mehr zum Ziel von Zellbiologen wird, ihre Studien weiter in Richtung quantitativer Beschreibungen und mathematischer Schlussfolgerungen zu verlagern. Dieses Konzept und einige seiner Methoden legen wir in einem neuen Abschnitt am Ende von Kapitel 8 dar.

Konfrontiert mit der Unermesslichkeit dessen was wir über Zellbiologie gelernt haben, mag es verlockend für einen Studenten sein zu glauben, dass es nur noch wenig zu entdecken gibt. Je mehr wir jedoch über Zellen herausfinden, umso mehr neue Fragen tauchen auf. Um deutlich zu machen, wie lückenhaft unser Verständnis von der Zellbiologie ist, haben wir einige wichtige Wissenslücken am Ende eines jeden Kapitels in dem Abschnitt *Was wir nicht wissen* hervorgehoben. Diese kurzen Listen enthalten nur einen winzigen Teil der heiklen, unbeantworteten Fragen und Herausforderungen für die nächste Gene-

ration von Wissenschaftlern. Wir freuen uns darauf, dass einige unserer Leser in der Zukunft Antworten darauf liefern werden.

Parallel zum Text und eng mit ihm verflochten werden die Themen anhand von über 1.500 Abbildungen erklärt. Wir haben deren Übereinstimmung zwischen den verschiedenen Kapiteln verbessert, insbesondere in Bezug auf Verwendung von Farben und gängigen Symbolen. Membranpumpen und -kanäle sind ein gutes Beispiel. Um Textunterbrechungen zu vermeiden, wurde ein Teil des Materials in leicht zugängliche Tafeln verschoben. Die meisten wichtigen Proteinstrukturen wurden überarbeitet und einheitlich gefärbt. Für jedes Protein ist inzwischen der entsprechende Protein Data Bank (PDB)-Code angegeben. Er kann verwendet werden, um Zugriff auf Online-Tools zu erhalten, die zusätzliche Information über das Protein liefern, wie z. B. auf der RCSB PDB-Webseite (www.rcsb.org). Mithilfe dieser Zusammenhänge können die Leser dieses Buchs die Proteine, die den Kern der Zellbiologie bilden, besser verstehen.

(...)

Wir leben in einer Welt, die uns mit vielen komplexen Sachverhalten konfrontiert, die alle mit der Zellbiologie verbunden sind: Biodiversität, Klimawandel, Sicherung der Ernährung, Umweltzerstörung, Raubbau an Ressourcen und Krankheiten des Menschen. Wir hoffen unser Lehrbuch hilft dem Leser besser zu verstehen und diese Herausforderungen womöglich besser zu bewältigen. Wissen und Verständnis liefern die Macht einzugreifen.

(...)

Bevor wir mit den Arbeiten an dieser Auflage begannen, baten wir einige Wissenschaftler, die die letzte Auflage verwendet hatten, um Studenten in der Zellbiologie zu unterrichten, sich mit uns zusammzusetzen und Verbesserungsvorschläge einzubringen. Sie gaben uns hilfreiche Rückmeldungen, die uns bei der Neuauflage inspirierten. Wir profitierten auch von den wertvollen Beiträgen einer Gruppe von Studenten, die die meisten Kapitel Korrektur lasen.

(...)

Wir danken unseren Ehepartnern, Familien, Freunden und Kollegen für Ihre anhaltende Unterstützung, die es wieder einmal möglich gemacht hat, dass dieses Buch geschrieben werden konnte.

Als wir diese Auflage gerade fertiggestellt hatten, erlag Julian Lewis, unser Koautor, Freund und Kollege seinem Krebsleiden, gegen das er zehn Jahre lang so heroisch gekämpft hatte. Seit 1979 trug Julian in großem Umfang zu allen sechs Auflagen bei. Er war unser wortgewandtester Schreiber und brachte sowohl den Stil als auch den Ton all der vielen Kapitel, die er bearbeitete auf ein hohes Niveau. Er war bekannt für seine sorgfältige, wissenschaftlich exakte Vorgehensweise. Sein Schreiben war von Klarheit und Schlichtheit geprägt. Julian ist unersetzbar, und wir werden alle seine Freundschaft und Zusammenarbeit schmerzlich vermissen. Die sechste Auflage widmen wir seinem Andenken.

Inhaltsverzeichnis (gekürzt)

Einführung in die Zelle Teil I

1 Zellen und Genome

- 1.1 Die allgemeinen Merkmale von Zellen auf der Erde
- 1.2 Die Vielfalt der Genome und der Stammbaum des Lebens
- 1.3 Genetische Information bei Eukaryoten

2 Zellchemie und Bioenergetik

- 2.1 Die chemischen Bestandteile einer Zelle
- 2.2 Katalyse und Energienutzung durch Zellen
- 2.3 Wie Zellen Energie aus Nahrung gewinnen

3 Proteine

- 3.1 Form und Struktur von Proteinen
- 3.2 Proteinfunktion

Genetische Grundmechanismen Teil II

4 DNA, Chromosomen und Genome

- 4.1 Struktur und Funktion von DNA
- 4.2 Chromosomale DNA und ihre Verpackung in der Chromatinfaser
- 4.3 Die Struktur und Funktion von Chromatin
- 4.4 Die Gesamtstruktur der Chromosomen
- 4.5 Wie sich Genome entwickeln

5 Replikation, Reparatur und Rekombination von DNA

- 5.1 Die Erhaltung der DNA-Sequenzen
- 5.2 Mechanismen der DNA-Replikation
- 5.3 Die Initiation und Vollendung der DNA-Replikation der Chromosomen
- 5.5 Homologe Rekombination
- 5.6 Transposition und konservative ortsspezifische Rekombination

6 Wie Zellen das Genom ablesen: von der DNA zum Protein

- 6.1 Von der DNA zur RNA
- 6.2 Von der RNA zum Protein
- 6.3 Die RNA-Welt und die Ursprünge des Lebens

7 Kontrolle der Genexpression

- 7.1 Ein Überblick über die Genkontrolle
- 7.2 Transkriptionskontrolle durch sequenzspezifische DNA-Bindeproteine
- 7.3 Transkriptionsregulatoren schalten Gene an und aus
- 7.4 Molekulargenetische Mechanismen, die spezialisierte Zelltypen schaffen und erhalten
- 7.5 Mechanismen, die das Zellgedächtnis in Pflanzen und Tieren verstärken
- 7.6 Posttranskriptionale Kontrolle
- 7.7 Regulation der Genexpression durch nicht codierende RNAs

Methoden für die Arbeit mit Zellen Teil III

8 Untersuchung von Zellen, Molekülen und Systemen

- 8.1 Isolierung von Zellen und ihre Aufzucht in Kultur
- 8.2 Aufreinigung von Proteinen
- 8.3 Proteine analysieren
- 8.4 DNA analysieren und manipulieren
- 8.5 Untersuchung der Genexpression und -funktion
- 8.6 Mathematische Analyse der Zellfunktionen

9 Das Abbild der Zellen

- 9.1 Betrachtung der Zellstrukturen unter dem Lichtmikroskop
- 9.2 Betrachtung von Zellen und Molekülen im Elektronenmikroskop

Die innere Organisation der Zelle Teil IV

10 Der Aufbau der Membran

- 10.1 Die Lipid-Doppelschicht
- 10.2 Membranproteine

11 Membrantransport kleiner Moleküle und elektrische Eigenschaften von Membranen

- 11.1 Grundlagen des Transports durch Membranen
- 11.2 Transporter und aktiver Membrantransport
- 11.3 Kanäle und die elektrischen Eigenschaften von Membranen

12 Zellkompartimente und Proteinsortierung

- 12.1 Die Kompartimentierung der Zelle
- 12.2 Molekültransport zwischen Zellkern und Cytosol
- 12.3 Proteintransport in Mitochondrien und Chloroplasten
- 12.4 Peroxisomen
- 12.5 Das Endoplasmatische Reticulum

13 Intrazellulärer Membranverkehr

- 13.1 Die molekularen Mechanismen des Membrantransports und die Erhaltung der Kompartimentunterschiede
- 13.2 Transport vom ER durch den Golgi-Apparat
- 13.3 Transport vom trans-Golgi-Netzwerk zu den Lysosomen
- 13.4 Transport von der Plasmamembran ins Zellinnere: Endocytose
- 13.5 Transport vom trans-Golgi-Netzwerk zur Zelloberfläche: Exocytose

14 Energieumwandlung: Mitochondrien und Chloroplasten

- 14.1 Das Mitochondrium
- 14.2 Die Protonenpumpen der Elektronentransportkette
- 14.3 ATP-Produktion in Mitochondrien
- 14.4 Chloroplasten und Photosynthese
- 14.5 Die genetischen Systeme von Mitochondrien und Chloroplasten

15 Zellsignalübertragung

- 15.1 Grundsätze der Zellsignalübertragung
- 15.2 Signalisierung über G-Protein-gekoppelte Rezeptoren
- 15.3 Signalisierung über Enzym-gekoppelte Rezeptoren
- 15.4 Alternative Signalwege bei der Genregulation
- 15.5 Signalisierungsvorgänge in Pflanzen

16 Das Cytoskelett

- 16.1 Funktion und Ursprung des Cytoskeletts
- 16.2 Aktin und aktinbindende Proteine
- 16.3 Myosin und Aktin
- 16.4 Mikrotubuli
- 16.5 Intermediärfilamente und Septine
- 16.6 Zellpolarisierung und Zellwanderung

17 Zellzyklus

- 17.1 Überblick über den Zellzyklus
- 17.2 Das Zellzyklus-Kontrollsystem
- 17.3 S-Phase
- 17.4 Mitose
- 17.5 Cytokinese
- 17.6 Meiose
- 17.7 Kontrolle von Zellteilung und Zellwachstum

18 Der Zelltod

- 18.1 Die Apoptose beseitigt unerwünschte Zellen
- 18.2 Die Apoptose hängt von einer intrazellulären proteolytischen Kaskade ab, die durch Caspasen vermittelt wird
- 18.3 Todesrezeptoren auf der Zelloberfläche aktivieren den extrinsischen Apoptoseweg
- 18.4 Der intrinsische Weg der Apoptose hängt von Mitochondrien ab
- 18.5 Bcl2-Proteine regulieren den intrinsischen Weg der Apoptose
- 18.6 IAPs helfen bei der Kontrolle der Caspasen
- 18.7 Extrazelluläre Überlebensfaktoren hemmen die Apoptose auf verschiedene Weisen
- 18.8 Phagozyten entfernen die apoptotische Zelle
- 18.9 Sowohl eine überschießende als auch eine unzureichende Apoptose kann zu Krankheiten führen

Zellen in ihrem sozialen Umfeld Teil V

19 Zellverbindungen und die extrazelluläre Matrix

- 19.1 Zell-Zell-Verbindungen
- 19.2 Die extrazelluläre Matrix bei Tieren
- 19.3 Zell-Matrix-Verbindungen
- 19.4 Die Pflanzenzellwand

20 Krebs

- 20.1 Krebs als Mikro-Evolutionsprozess
- 20.2 Krebskritische Gene: Wie man sie findet und was sie tun
- 20.3 Behandlung von Krebs und Krebsvorsorge: heute und in Zukunft

21 Die Entwicklung vielzelliger Organismen

- 21.1 Überblick über die Entwicklung
- 21.2 Mechanismen der Musterbildung
- 21.3 Zeitliche Steuerung der Entwicklung
- 21.4 Morphogenese
- 21.5 Wachstum
- 21.6 Neuronale Entwicklung

22 Stammzellen und Gewebeerneuerung

- 22.1 Stammzellen und die Erneuerung von Epithelgewebe
- 22.2 Fibroblasten und ihre Abkömmlinge: die Familie der Bindegewebszellen
- 22.3 Entstehung und Neubildung der Skelettmuskulatur
- 22.4 Blutgefäße, Lymphgefäße und Endothelzellen
- 22.5 Ein hierarchisches Stammzellensystem: Bildung der Blutzellen
- 22.6 Erneuerung und Reparatur
- 22.7 Zell-Reprogrammierung und pluripotente Stammzellen

23 Krankheitserreger und Infektion

- 23.1 Einführung in die Krankheitserreger und die Normalflora des Menschen
- 23.2 Zellbiologie der Infektion

24 Angeborene und adaptive Immunsysteme

- 24.1 Das angeborene Immunsystem
- 24.2 Überblick über das adaptive Immunsystem
- 24.3 B-Zellen und Immunglobuline
- 24.4 T-Zellen und MHC-Proteine

Glossar

Register

Kontrolle der Genexpression

7

Die DNA eines Organismus codiert für alle RNA- und Proteinmoleküle, die zum Aufbau seiner Zellen notwendig sind. Trotzdem würde es uns die Beschreibung der vollständigen DNA-Sequenz eines Organismus – gleichgültig, ob es sich um die paar Millionen Nukleotide eines Bakteriums oder um die mehreren Milliarden Nukleotide eines Menschen handelt – nicht ermöglichen, den Organismus zu rekonstruieren, genauso wenig, wie es möglich wäre, ein Theaterstück von Shakespeare aus einem englischen Wörterbuch abzuleiten. In beiden Fällen stehen wir vor dem gleichen Problem, nämlich: Wie werden die Elemente der DNA-Sequenz bzw. des Wörterbuches benutzt? Unter welchen Bedingungen wird jedes einzelne Genprodukt hergestellt und – wenn es hergestellt ist – welche Funktion übt es aus?

In diesem Kapitel konzentrieren wir uns auf die erste Hälfte dieses Problems: Wir werden die Regeln und Mechanismen betrachten, nach denen eine Gruppe von Genen in jeder Zelle selektiv aktiviert werden kann. Diese Mechanismen arbeiten auf vielen Ebenen, und wir werden jede Ebene der Reihe nach behandeln. Wir beginnen mit einer Übersicht über einige der beteiligten Grundprinzipien.

7.1 Ein Überblick über die Genkontrolle

Die verschiedenen Zelltypen eines vielzelligen Organismus unterscheiden sich sowohl in ihrer Morphologie als auch in ihrer Funktion wesentlich voneinander. Vergleichen wir beispielsweise bei einem Säuger ein Neuron mit einer Leberzelle, sind die Unterschiede so extrem, dass es schwierig wird sich vorzustellen, dass beide Zellen das gleiche Genom enthalten (Abb. 7–1). Aus diesem Grund, und weil die Zelldifferenzierung häufig irreversibel ist, nahmen die Biologen ursprünglich an, dass Gene im Verlauf der Differenzierung selektiv verloren gehen. Jetzt wissen wir jedoch, dass die Zelldifferenzierung im Allgemeinen ohne Veränderungen in der Nukleotidsequenz des Zellgenoms zustande kommt.

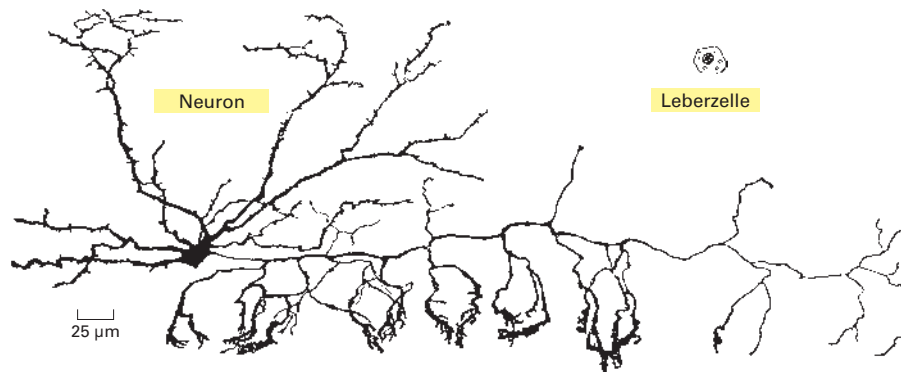


Abb. 7–1 Ein Neuron und eine Leberzelle teilen das gleiche Genom. Die langen Äste dieses Neurons aus der Retina ermöglichen es ihm, elektrische Signale von vielen Zellen zu empfangen und diese Signale an viele benachbarte Zellen weiterzuleiten. Die Leberzelle, die im gleichen Maßstab gezeichnet ist, ist an vielen Stoffwechselvorgängen beteiligt, darunter die Verdauung und Entgiftung von Alkohol und Arzneistoffen. Beide Zelltypen enthalten das gleiche Genom, aber sie exprimieren unterschiedliche RNAs und Proteine. (Neuron nach S. Ramón y Cajal, *Histologie du Systeme Nerveux de l'Homme et de Vertebres*, 1909–1911. Paris: Maloine; Nachdruck Madrid: C.S.I.C., 1972.)

- 7.1 Ein Überblick über die Genkontrolle
- 7.2 Transkriptionskontrolle durch sequenzspezifische DNA-Bindeproteine
- 7.3 Transkriptionsregulatoren schalten Gene an und aus
- 7.4 Molekulargenetische Mechanismen die spezialisierte Zelltypen schaffen und erhalten
- 7.5 Mechanismen, die das Zellgedächtnis in Pflanzen und Tieren verstärken
- 7.6 Posttranskriptionale Kontrolle
- 7.7 Regulation der Genexpression durch nicht codierende RNAs

7.1.1 Die verschiedenen Zelltypen eines vielzelligen Organismus enthalten die gleiche DNA

Die Zelltypen eines vielzelligen Organismus entwickeln sich unterschiedlich, weil sie verschiedene RNA- und Proteinmoleküle synthetisieren und anreichern. Erste Hinweise darauf, dass sie dies ohne Änderung ihrer DNA-Sequenz tun, stammen von klassischen Experimenten an Fröschen. Wenn der Kern einer vollständig differenzierten Froschzelle in ein Frosch-Ei injiziert wird, dessen Kern vorher

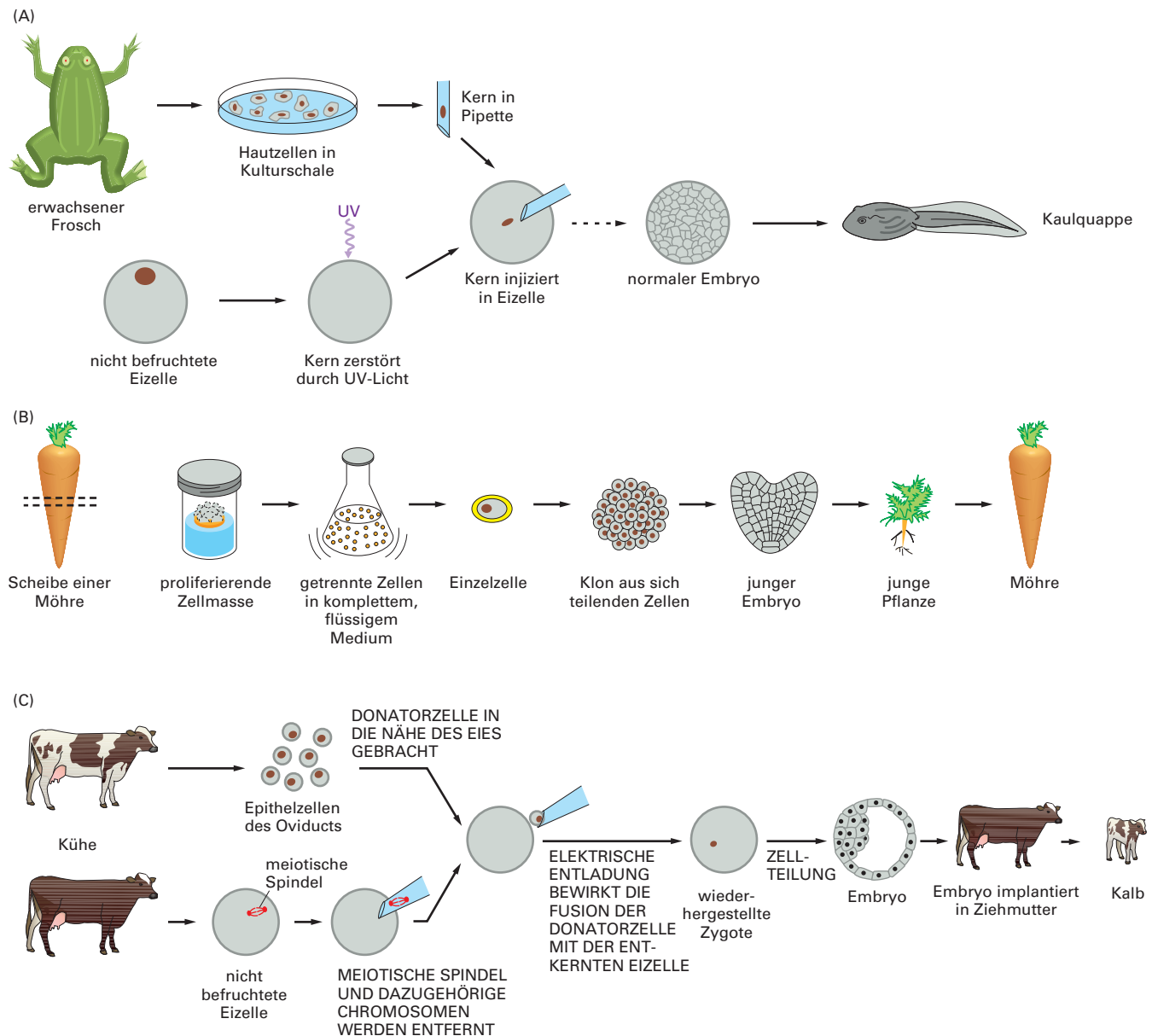


Abb. 7-2 Differenzierte Zellen enthalten alle zur Bildung eines kompletten Organismus nötigen genetischen Informationen. (A) Der in ein entkerntes Ei transplantierte Kern einer Hautzelle eines erwachsenen Froschs kann die Entwicklung einer ganzen Kaulquappe bewirken. Der unterbrochene Pfeil deutet an, dass ein weiterer Transferschritt nötig ist, um dem transplantierten Genom Zeit zu geben, sich einer embryonalen Umgebung anzupassen. Dabei wird ein Kern des sich entwickelnden frühen Embryos in eine weitere entkernte Eizelle gebracht. (B) Bei vielen Pflanzenarten behalten die differenzierten Zellen die Fähigkeit zur „Entdifferenzierung“. Dadurch kann aus einer einzelnen Zelle ein Klon von Nachkommen hervorgehen, aus dem später eine vollständige Pflanze entstehen kann. (C) Ein Zellkern aus einer differenzierten Zelle von einer ausgewachsenen Kuh wurde in eine entkernte Eizelle einer anderen Kuh eingebracht, aus der ein Kalb entstehen kann. Verschiedene, aus differenzierten Zellen desselben Spenders hervorgegangene Kälber sind alle Klone dieses Spenders und somit genetisch identisch. (A, verändert nach J. B. Gurdon, *Sci. Am.* 219:24–35, 1968. Mit Erlaubnis von Scientific American.)

entfernt wurde, ist der injizierte Spenderkern in der Lage, die Empfänger-Eizelle zur Entwicklung einer normalen Kaulquappe zu programmieren (Abb. 7–2A). Da die Kaulquappe das vollständige Spektrum differenzierter Zellen enthält, die alle ihre DNA-Sequenzen vom Kern der ursprünglichen Spenderzelle erhalten haben, muss gefolgt werden, dass die differenzierte Spenderzelle keine wesentlichen DNA-Sequenzen verloren hat. Ähnliche Rückschlüsse ließen Experimente mit verschiedenen Pflanzen zu. Hierbei wurden Stücke von differenzierten Zellgeweben in Kulturmedium kultiviert und danach in einzelne Zellen zerlegt.

(...)

7.6 Posttranskriptionale Kontrolle

Im Prinzip könnte jeder Schritt der Genexpression kontrolliert werden. Tatsächlich kann man auch Beispiele für jede Art der Regulation finden, und viele Gene werden über mehrere Mechanismen reguliert. Wie wir gesehen haben, ist die Kontrolle der Initiation der Gentranskription für alle Gene die wichtigste Form der Kontrolle. Andere Kontrollen können auch später auf dem Weg von der DNA zum Protein eingreifen, um die Menge des hergestellten Genprodukts zu regulieren – und in manchen Fällen die exakte Aminosäuresequenz des Proteinprodukts festzulegen. Diese **posttranskriptionalen Kontrollen**, die ihre Funktion ausüben, nachdem die RNA-Polymerase an den Promotor des Gens gebunden und die RNA-Synthese bereits begonnen hat, sind für die Regulation vieler Gene entscheidend.

In den folgenden Abschnitten werden wir die Vielfalt der posttranskriptionalen Regulation in der zeitlichen Abfolge der Regulationsereignisse betrachten, die auf ein RNA-Molekül nach Beginn der Transkription einwirken können (Abb. 7–54).

7.6.1 Transkriptionsabschwächung bewirkt eine vorzeitige Beendigung der Transkription einiger RNA-Moleküle

Seit Langem weiß man, dass die Expression bestimmter Gene durch eine vorzeitige Beendigung der Transkription gehemmt wird, ein Phänomen, das *Transkriptionsabschwächung* (engl. *attenuation*) genannt wird. In einigen dieser Fälle nimmt die wachsende RNA-Kette eine Struktur an, durch die sie mit der RNA-Polymerase derart in Wechselwirkung tritt, dass die Transkription abbricht. Wird das Genprodukt benötigt, binden Kontrollproteine an die wachsende Kette und beseitigen die Abschwächung, sodass die Transkription eines vollständigen RNA-Moleküls möglich wird.

Ein gut studiertes Beispiel der Transkriptionsabschwächung ereignet sich während des Lebenszyklus des HIV, des menschlichen Immunschwächevirus, dem Verursacher des erworbenen Immunschwäche-syndroms (AIDS). Wenn das HIV-Genom sich in das Wirtsgenom integriert hat, wird die virale DNA durch die zelluläre RNA-Polymerase II transkribiert (s. Abb. 5–62). Diese Wirtspolymerase beendet aber üblicherweise die Transkription, nachdem sie Skripte von einigen Hundert Nukleotiden hergestellt hat, und ist deswegen nicht in der Lage, das ganze Genom des Virus effizient zu transkribieren. Wenn die Bedingungen für das Wachstum des Virus günstig sind, verhindert ein vom Virus codiertes Protein namens Tat, das an eine spezifische Haarnadelstruktur in der entstehenden RNA bindet, die eine „hervorspringende Base“ enthält, die vorzeitige Beendigung (s. Abb. 6–89). Sobald Tat an diese besondere RNA-Struktur (TAR genannt) gebunden hat, sammelt es mehrere Wirtszellproteine, die es der RNA-Polymerase ermöglichen, die Transkription fortzusetzen. Die normale Funktion zumindest einiger dieser Proteine ist es, das Pausieren und den vorzeitigen Abbruch der RNA-Polymerase zu verhindern, wenn sie normale Gene der Zelle transkribiert. Offensichtlich ist ein normaler Mechanismus der Zelle von HIV übernommen worden, um die Transkription seines eigenen Genoms durch ein einziges Virusprotein kontrollieren zu können.

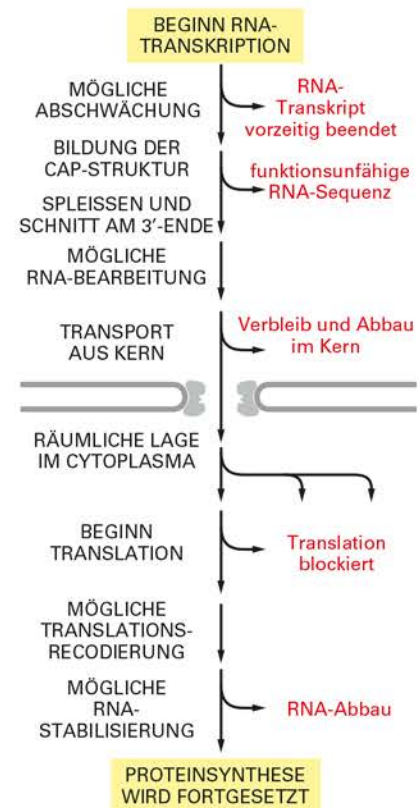


Abb. 7–54 Mechanismen der posttranskriptionalen Kontrolle der Genexpression. Die endgültige Synthesegeschwindigkeit eines Proteins kann im Prinzip durch irgendeinen der mit Großbuchstaben aufgelisteten Schritte kontrolliert werden. Auch das RNA-Spleißen, das RNA-Editieren und die translationale Recodierung können die Aminosäuresequenz in einem Protein verändern; dies ermöglicht der Zelle, mehr als nur eine Proteinvariante vom gleichen Gen zu bilden. Nur einige wenige der hier gezeigten Schritte sind wahrscheinlich für die Regulation eines bestimmten Proteins entscheidend.

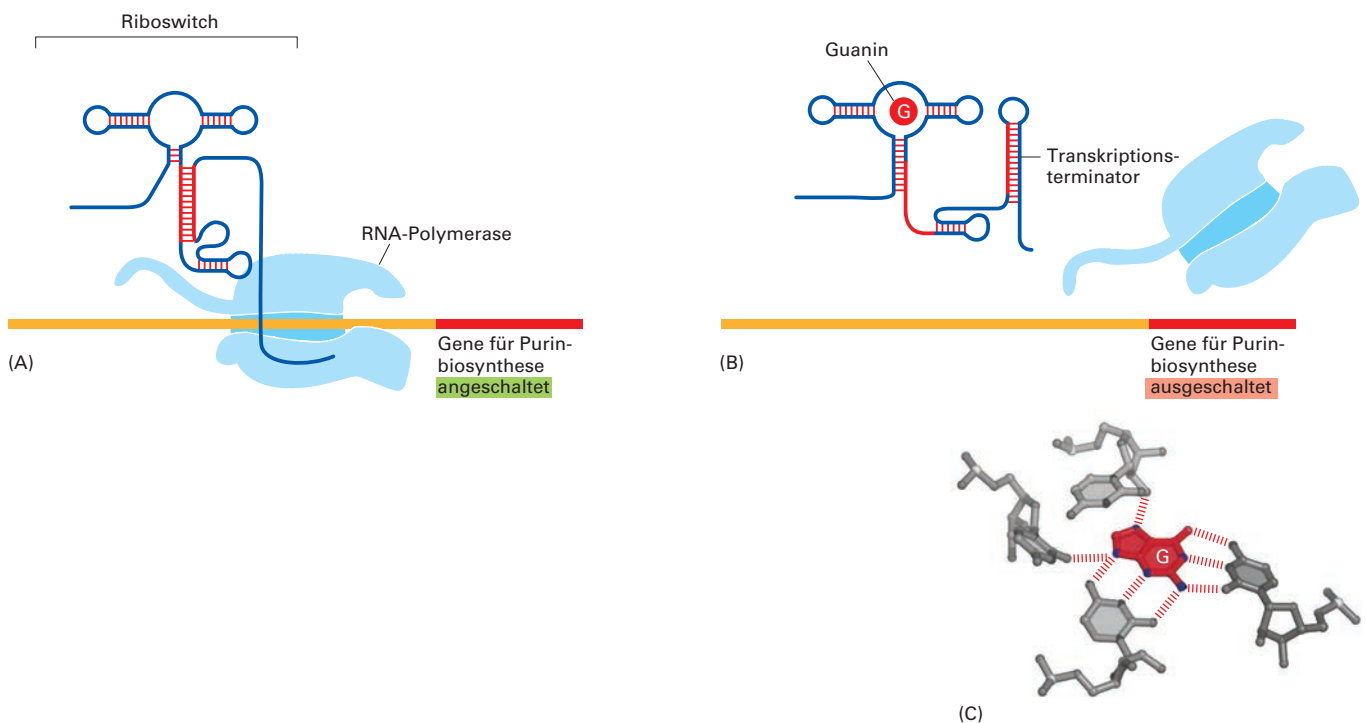
7.6.2 Riboswitche stellen wahrscheinlich eine alte Form der Genkontrolle dar

In [Abschnitt 6.3](#) haben wir die Vorstellung erörtert, dass RNA sowohl die Funktion von DNA als auch von Protein innehatte und sowohl Erbinformation speicherte als auch chemische Reaktionen katalysierte, bevor die modernen Zellen auf der Erde entstanden. Die Entdeckung der *Riboswitche* zeigte, dass RNA auch Kontrollvorrichtungen bilden kann. Riboswitche sind kurze RNA-Sequenzen, die bei Bindung kleiner Moleküle, wie Metaboliten, ihre Konformation ändern. Jeder Riboswitch erkennt ein bestimmtes kleines Molekül, und die sich ergebende Konformationsänderung dient dazu, die Genexpression zu regulieren. Riboswitche sitzen oft in der Nähe des 5'-Endes der mRNAs, und sie falten sich, während die mRNA synthetisiert wird, und blockieren oder erlauben das Voranschreiten der RNA-Polymerase, je nachdem, ob das kleine Regulatormolekül gebunden ist oder nicht ([Abb. 7-55](#)).

Riboswitche sind besonders in Bakterien üblich, in denen sie wichtige kleine Metaboliten in der Zelle wahrnehmen und die Genexpression entsprechend anpassen. Ihre vielleicht bemerkenswerteste Eigenschaft ist die hohe Spezifität und Affinität, mit der jeder Riboswitch nur das jeweils passende kleine Molekül erkennt; in vielen Fällen wird jede chemische Eigenschaft des kleinen Moleküls durch die RNA gelesen ([Abb. 7-55C](#)). Zudem sind die beobachteten Bindungsaffinitäten so fest wie diejenigen, die man normalerweise zwischen kleinen Molekülen und Proteinen beobachtet.

Riboswitche sind vielleicht insofern die ökonomischsten Beispiele von Genkontrollvorrichtungen, als sie die Notwendigkeit für Regulatorproteine insgesamt umgehen. In dem in [Abb. 7-55](#) gezeigten Beispiel kontrolliert der Riboswitch die Transkriptionselongation, aber Riboswitche regulieren auch andere Schritte der Genexpression, wie wir an späterer Stelle in diesem Kapitel noch sehen werden. Offensichtlich können hoch entwickelte Genkontrollvorrichtungen aus kurzen RNA-Sequenzen gebildet werden, eine Tatsache, die die Hypothese einer frühen „RNA-Welt“ unterstützt.

Abb. 7-55 Ein Riboswitch, der auf Guanin reagiert. (A) In diesem Beispiel aus Bakterien kontrolliert der Riboswitch die Expression der Gene für die Purinbiosynthese. Wenn die Guaninkonzentration in Zellen niedrig ist, dann transkribiert eine transkriptverlängernde RNA-Polymerase die Gene der Purinbiosynthese und deshalb werden die für die Guaninsynthese benötigten Enzyme exprimiert. (B) Wenn reichlich Guanin vorhanden ist, bindet es den Riboswitch und verursacht, dass dieser eine Konformationsänderung erfährt, die die RNA-Polymerase dazu zwingt, die Transkription einzustellen (s. [Abb. 6-11](#)). (C) An ein Riboswitch gebundenes Guanin (rot). Es sind nur diejenigen Nukleotide gezeigt, die die Guanin-Bindungstasche bilden. Es existieren viele andere Riboswitche, dazu zählen auch jene, die S-Adenosylmethionin, Coenzym B₁₂, Flavinmononukleotid, Adenin, Lysin und Glycin erkennen. (Verändert nach M. Mandal und R. R. Breaker, *Nat. Rev. Cell Biol.* 5:451–463, 2004. Mit Erlaubnis von Macmillan Publishers Ltd., und nach C. K. Vanderpool und S. Gottesman, *Mol. Microbiol.* 54:1076–1089, 2004. Mit Erlaubnis von Blackwell Publishing.)



7.6.3 Durch alternatives RNA-Spleißen können verschiedene Formen eines Proteins von ein und demselben Gen entstehen

Wie in Kapitel 6 (s. Abb. 6–26) besprochen, verkürzt das RNA-Spleißen die Transkripte vieler eukaryotischer Gene, indem die Intronsequenzen aus der Vorläufer-mRNA entfernt werden. Wir haben auch gesehen, dass eine Zelle das RNA-Transkript auf verschiedene Weise spleißen und dadurch unterschiedliche Polypeptidketten von demselben Gen herstellen kann – ein Prozess, der **alternatives RNA-Spleißen** genannt wird (Abb. 7–56). Ein wesentlicher Anteil der Gene von Tieren (schätzungsweise 90 % im Menschen) führt auf diese Weise zu mehreren Proteinen.

Falls es verschiedene Spleißmöglichkeiten an mehreren Stellen des Transkripts gibt, kann ein einzelnes Gen zu Dutzenden von Proteinen führen. Ein Gen bei *Drosophila* kann, als allerdings außergewöhnliches Beispiel, durch alternatives Spleißen theoretisch zu etwa 38.000 unterschiedlichen Proteinen führen (Abb. 7–57), jedoch konnte bisher nur ein Teil dieser Formen experimentell beobachtet werden. Bedenken wir, dass das *Drosophila*-Genom etwa 14.000 identifizierte Gene hat, dann wird deutlich, dass die Komplexität der Proteine eines Lebewesens die Anzahl seiner Gene weit überschreiten kann. Dieses Beispiel zeigt auch die Gefahr, die Anzahl der Gene mit der Komplexität eines Lebewesens gleichzusetzen. Ein Beispiel: Alternatives Spleißen ist bei einzelligen Sprosshefen selten, aber sehr üblich bei Fliegen. Die Sprosshefe hat etwa 6.200 Gene, von denen nur rund 300 gespleißt werden, und fast alle haben nur ein einziges Intron. Zu behaupten, dass Fliegen nur zwei- bis dreimal so viele

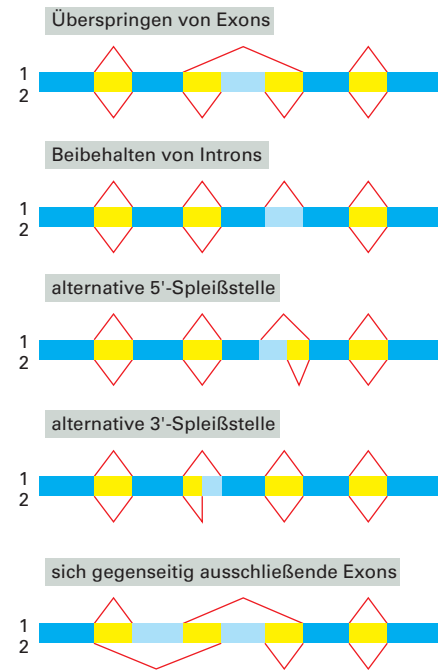
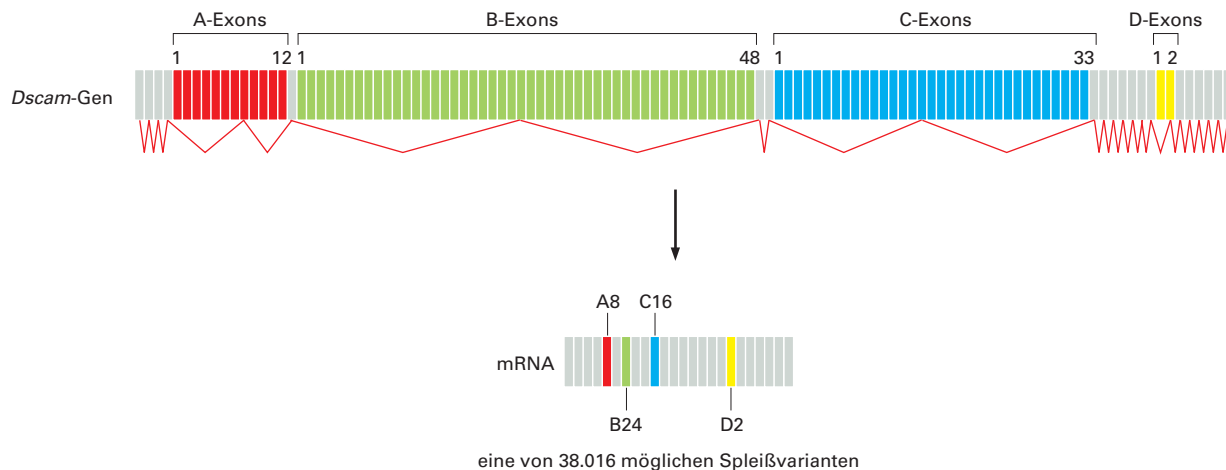


Abb. 7–56 Fünf Muster des alternativen Spleißens. In jedem Fall wird ein einzelner Typ von RNA-Transkripten auf zwei verschiedene Arten gespleißt, wodurch zwei verschiedene mRNAs (1 und 2) entstehen. Die dunkelblauen Kästchen markieren Exonsequenzen, die in beiden mRNAs vertreten sind. Die hellblauen Kästchen markieren mögliche Exonsequenzen, die nur in einer der mRNAs auftreten. Die Kästchen werden mit roten Linien verbunden, um anzudeuten, wo Intronsequenzen (gelb) entfernt werden. (Verändert nach H. Keren *et al.*, *Nat. Rev. Genet.* 11:345–355, 2010. Mit Erlaubnis von Macmillan Publishers Ltd.)

Abb. 7–57 Alternatives Spleißen des RNA-Transkripts des *Dscam*-Gens von *Drosophila*. DSCAM-Proteine haben mehrere verschiedene Funktionen. In Zellen des Fliegen-Immunsystems vermitteln sie die Phagozytose bakterieller Krankheitserreger. In Zellen des Nervensystems sind DSCAM-Proteine für die Verschaltung der Nervenzellen nötig. Die endgültige mRNA enthält 24 Exons, von denen 4 (mit A, B, C und D bezeichnet) im *Dscam*-Gen als Gruppen alternativer Exons vorliegen. Jede RNA enthält 1 von 12 Alternativen für Exon A (rot), 1 von 48 Alternativen für Exon B (grün), 1 von 33 Alternativen für Exon C (blau) und 1 von 2 Alternativen für Exon D (gelb). In der Abbildung ist nur eines der vielen möglichen Spleißmuster (angedeutet durch die rote Linie und die reife mRNA darunter) dargestellt. Jede Variante des DSCAM-Proteins würde sich in ungefähr die gleiche Gestalt falten (vorzugsweise eine Serie extrazellulärer immunoglobulinartiger Domänen, verbunden mit einer membrandurchspannenden Region, s. Abb. 24–48, aber die Aminosäuresequenz der Domänen würde sich abhängig vom Spleißmuster unterscheiden. Die Diversität der DSCAM-Varianten trägt ebenso zur Plastizität des Immunsystems wie zur Bildung komplexer neuronaler Schaltkreise bei; wir greifen die spezifische Rolle der DSCAM-Varianten wieder genauer auf, wenn wir die Entwicklung des Nervensystems in Kapitel 21 beschreiben. (Verändert nach D. L. Black, *Cell* 103:367–370, 2000. Mit Erlaubnis von Elsevier.)



Gene wie Hefen haben, bedeutet, den Unterschied in der Komplexität dieser zwei Genome weit zu unterschätzen.

Es gibt Fälle, wo das alternative Spleißen deshalb auftritt, weil es eine „Intronsequenzmehrdeutigkeit“ (engl. *intron sequence ambiguity*) gibt: Der normale, in Kapitel 6 besprochene Spleißosomenmechanismus zur Entfernung von Introns ist nicht in der Lage, zwischen zwei oder mehreren alternativen Paarungen der 5'- und 3'-Spleißstellen sauber zu unterscheiden, sodass durch Zufall bei verschiedenen individuellen Transkripten eine unterschiedliche Auswahl getroffen wird. Wo dieses konstitutive alternative Spleißen auftritt, werden mehrere Versionen des Proteins ein und desselben Gens in allen Zellen hergestellt, in denen dieses Gen exprimiert wird.

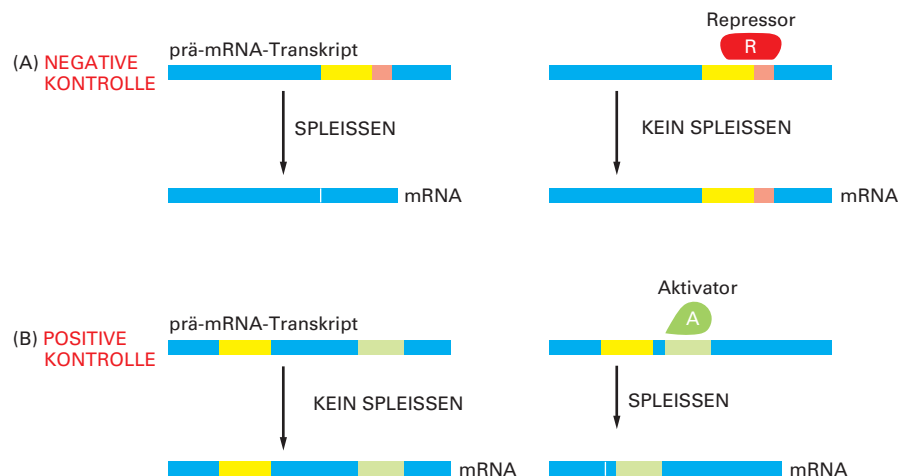
In vielen Fällen jedoch ist das alternative Spleißen reguliert. Im einfachsten Beispiel wird das regulierte Spleißen benutzt, um von der Synthese eines nicht funktionsfähigen Proteins zur Synthese eines funktionierenden umzuschalten (oder umgekehrt). Die Transposase z. B., die die Transposition des P-Elements bei *Drosophila* katalysiert, wird in den Keimzellen der Fliege in einer funktionsfähigen Form und in den Somazellen in einer funktionsunfähigen Form synthetisiert, wodurch es möglich ist, dass das P-Element sich über das Fliegen-genom verteilt, ohne dass Schäden in den Somazellen verursacht werden (s. Abb. 5–61). Der Unterschied in der Transposonaktivität konnte auf die Anwesenheit einer Intronsequenz in der Transposase-RNA zurückgeführt werden, die nur in den Keimzellen entfernt wird.

Das regulierte RNA-Spleißen kann, neben der Befähigung zum Wechsel von der Synthese eines funktionierenden Proteins zu der einer nicht funktionierenden Form (oder umgekehrt), gemäß den Bedürfnissen der Zelle unterschiedliche Versionen eines Proteins in unterschiedlichen Zelltypen erzeugen. Tropomyosin beispielsweise wird in unterschiedlichen Zellen in unterschiedlichen Formen hergestellt (s. Abb. 6–26). Zelltypspezifische Formen vieler anderer Proteine werden auf die gleiche Weise gebildet.

Das RNA-Spleißen kann entweder negativ reguliert werden, indem ein Kontrollmolekül den Zugang zu einer bestimmten Spleißstelle auf der RNA für die Spleißmaschine blockiert, oder positiv, indem ein Kontrollmolekül die Spleißmaschine zu einer andernfalls ignorierten Spleißstelle lenkt (Abb. 7–58).

Aufgrund der Plastizität des RNA-Spleißens kann die Blockade einer „starken“ Spleißstelle eine „schwache“ Stelle freigeben und in einem anderen Spleißmuster resultieren. Somit kann man das Spleißen eines Vorläufer-RNA-Moleküls als feines Gleichgewicht zwischen konkurrierenden Spleißstellen ansehen – ein Gleichgewicht, das leicht durch die Einwirkung von Regulationsproteinen auf das Spleißen aus der Balance gebracht werden kann.

Abb. 7–58 Negative und positive Kontrolle des alternativen RNA-Spleißens. (A) Bei der negativen Kontrolle bindet ein Repressorprotein an eine spezifische Sequenz des prä-mRNA-Transkripts und blockiert damit den Zugang der Spleißmaschine zu einer Spleißverbindung. Dies hat oft die Verwendung einer sekundären Spleißstelle zur Folge, wodurch ein verändertes Spleißmuster entsteht (s. Abb. 7–56). (B) Bei der positiven Kontrolle ist es der Spleißmaschine ohne Unterstützung durch ein Aktivatorprotein nicht möglich, eine bestimmte Intronsequenz zu entfernen. Weil RNA flexibel ist, können die Nukleotidsequenzen, die diese Aktivatoren binden, viele Nukleotidpaare entfernt von den Spleißverbindungen, die sie kontrollieren, lokalisiert sein. Sie heißen oft *Spleiß-Verstärker* in Analogie zu den Transkriptionsverstärkern, die an früherer Stelle in diesem Kapitel erwähnt wurden.



7.6.4 Die Definition eines Gens wurde nach der Entdeckung des alternativen RNA-Spleißens geändert

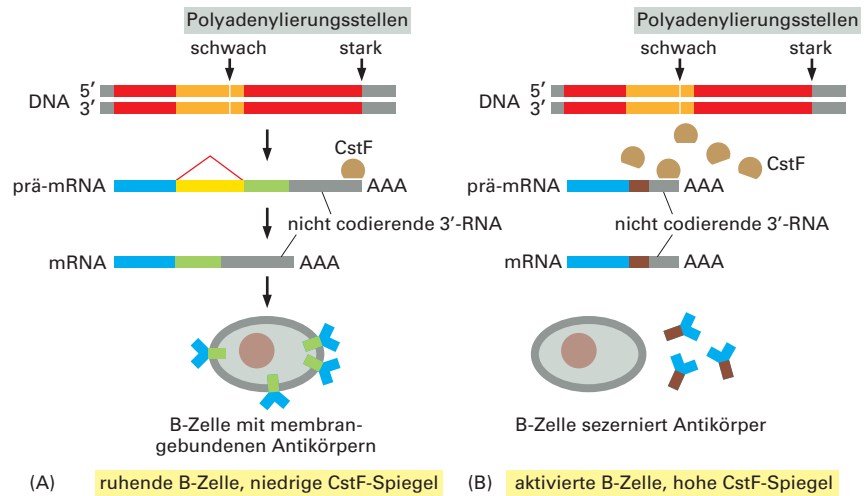
Die Entdeckung, dass Eukaryoten gewöhnlich Introns enthalten und dass ihre codierenden Sequenzen in mehr als einer Art zusammengesetzt werden können, hat die Diskussion um die Definition des Gens neu belebt. Die erste klare Definition eines Gens in der Terminologie der Molekularbiologie wurde in den frühen 1940er-Jahren aus Arbeiten über die biochemische Genetik des Pilzes *Neurospora* erhalten. Bis dahin wurde ein Gen funktionell als Abschnitt des Genoms definiert, der als Einheit der Meiose segregiert und durch den ein definierbares Phänotypmerkmal entsteht, wie z. B. rote oder weiße Augen bei *Drosophila* oder glatte oder runzlige Samen bei Erbsen. Die Arbeiten an *Neurospora* zeigten, dass die meisten Gene mit solchen Abschnitten auf dem Genom zusammenfallen, die die Synthese eines einzelnen Enzyms bestimmen. Dies führte zu der Hypothese, dass ein Gen für eine Polypeptidkette codiert. Diese Hypothese hat sich für die weitere Forschung als enorm fruchtbar erwiesen, und je mehr man in den 1960er-Jahren über den Mechanismus der Genexpression lernte, desto mehr wurde ein Gen als ein Stück DNA erkannt, das in RNA transkribiert wird, das für eine einzelne Polypeptidkette (oder eine einzelne Struktur-RNA, wie beispielsweise ein tRNA- oder ein rRNA-Molekül) codiert. Die Entdeckung der Mosaik-Gene und Introns in den späten 1970er-Jahren konnte noch leicht mit der ursprünglichen Definition eines Gens in Einklang gebracht werden, vorausgesetzt, dass nur eine einzige Polypeptidkette durch die RNA spezifiziert wurde, die von irgendeiner DNA transkribiert wurde. Es ist jetzt jedoch klar, dass viele DNA-Sequenzen bei Zellen höherer Eukaryoten zwei oder mehrere unterscheidbare (aber verwandte) Proteine mithilfe des alternativen Spleißens hervorbringen. Wie sollen wir nun ein Gen definieren?

In jenen relativ seltenen Fällen, in denen zwei sehr verschiedene eukaryotische Proteine von einer einzelnen Transkriptionseinheit hergestellt werden, nimmt man an, dass die beiden Proteine von verschiedenen Genen produziert werden, die auf dem Chromosom überlappen. Es scheint jedoch unnötig kompliziert, die meisten Proteinvarianten, die durch alternatives Spleißen entstehen, als solche zu betrachten, die von überlappenden Genen abstammen. Sinnvoller ist es, die ursprüngliche Definition zu modifizieren und eine DNA-Sequenz als einzelnes proteincodierendes Gen zu werten, wenn sie als eine Einheit transkribiert wird und für einen Satz von nahe verwandten Polypeptidketten (Proteinisoformen) codiert. Diese Definition wird auch jenen DNA-Sequenzen gerecht, die für Proteinvarianten codieren, die durch andere posttranskriptionale Prozesse als das RNA-Spleißen entstehen, wie z. B. Transkriptspaltung und RNA-Editierung (s. unten).

7.6.5 Eine Änderung der Stelle der RNA-Transkriptspaltung und der Polyadenylierung kann den carboxyterminalen Bereich eines Proteins verändern

In Kapitel 6 haben wir gehört, dass das 3'-Ende des mRNA-Moleküls bei Eukaryoten nicht wie in Bakterien durch den Abschluss der RNA-Synthese durch die RNA-Polymerase gebildet wird. Stattdessen entsteht es durch eine Spaltungsreaktion an der RNA, die durch zusätzliche Faktoren katalysiert wird, während das Transkript verlängert wird (s. Abb. 6–34). Die Zelle kann die Stelle dieser Spaltung kontrollieren, sodass das Carboxyende des entsprechenden Proteins verändert wird. Im einfachsten Fall ist eine Proteinvariante nur eine gestutzte Version der anderen; in vielen Fällen liegen jedoch die alternativen Schnitt- und Polyadenylierungsstellen innerhalb von Intronsequenzen und das Spleißmuster wird dadurch verändert. Dieser Vorgang kann zwei eng verwandte

Abb. 7–59 Die Regulation der RNA-Spaltungs- und poly-A-Anheftungsstelle bestimmt, ob ein Antikörpermolekül sezerniert wird oder membrangebunden bleibt. Bei nicht stimulierten B-Lymphocyten (*links*) wird ein langes RNA-Transkript gebildet, und die Intronsequenz (*gelb*) nahe seinem 3'-Ende wird durch RNA-Spleißen entfernt, um ein mRNA-Molekül zu erzeugen, das für ein membrangebundenes Antikörpermolekül codiert. In der Abbildung ist nur ein Teil des Antikörpergens gezeigt; das tatsächliche Gen und seine mRNA würden sich noch weiter links im Diagramms erstrecken. Nach Antigenstimulierung (*rechts*) wird das RNA-Transkript stromaufwärts von der 3'-Spleißstelle des Introns geschnitten und polyadenyliert. Als Folge davon verbleibt ein Teil der Intronsequenz als codierende Sequenz in dem kurzen Transkript und spezifiziert den hydrophilen C-terminalen Anteil des sezernierten Antikörpermoleküls (*braun*). (Nach D. Di Giamartino *et al.*, *Mol. Cell* 43:853–866, 2011. Mit Erlaubnis von Elsevier.)



Proteine erzeugen, die sich nur in den Aminosäuresequenzen an ihren C-terminalen Enden unterscheiden. Genaue Untersuchung von RNAs, die vom Humangenom in einer Vielzahl von Zellarten gebildet werden (s. [Abb. 7–3](#)), zeigen, dass 50 % der menschlichen proteincodierenden Gene mRNA-Arten erzeugen, die sich an ihren Polyadenylierungsstellen unterscheiden.

Ein gut untersuchtes Beispiel der regulierten Polyadenylierung ist der Wechsel von der Synthese eines membrangebundenen zur Synthese eines sezernierten Antikörpers während der Entwicklung der B-Lymphocyten (s. [Abb. 24–22](#)). Zu Beginn der Lebensgeschichte eines B-Lymphocyten wird der von ihm produzierte Antikörper in der Plasmamembran verankert, wo er als Rezeptor für ein Antigen wirkt. Die Stimulierung durch das Antigen veranlasst die Zelle, sich zu vermehren und mit der Sezernierung ihres Antikörpers zu beginnen. Die sezernierte Form des Antikörpers ist mit der membrangebundenen Form mit Ausnahme des äußersten Carboxyendes identisch. In diesem Teil des Proteins trägt die membrangebundene Form eine lange Kette hydrophober Aminosäuren, die die Lipid-Doppelmembran durchdringen, während die sezernierte Form hier eine viel kürzere Folge hydrophiler Aminosäuren aufweist. Der Wechsel von einem membrangebundenen zu einem sezernierten Antikörper wird über eine Änderung der Schnitt- und Polyadenylierungsstelle in der RNA erzeugt, wie in [Abb. 7–59](#) skizziert.

Die Änderung wird durch einen Anstieg in der Konzentration einer Unter-einheit eines Proteins (CstF) bewirkt, das die Spaltung der RNA fördert (s. [Abb. 6–34](#)). Die erste Spalt- und poly-A-Anheftungsstelle, auf die eine transkribierende RNA-Polymerase stößt, ist suboptimal und wird normalerweise in nicht stimulierten B-Lymphocyten übergangen, was zur Synthese der längeren RNA-Transkripte führt. Wenn der B-Lymphocyt aktiviert ist, um Antikörper zu bilden, dann steigert er seine CstF-Konzentration; infolgedessen wird nun die RNA an der suboptimalen Stelle gespalten und das kürzere Transkript wird hergestellt. So hat die Änderung in der Konzentration eines allgemeinen RNA-Prozessierungsfaktors drastische Auswirkungen auf die Expression eines spezifischen Gens.

7.6.6 RNA-Editierung kann den Inhalt der RNA-Botschaft verändern

Die von den Zellen genutzten molekularen Mechanismen sind eine stetige Quelle von Überraschungen. Ein Beispiel ist das Phänomen der **RNA-Editierung**, durch das die Nukleotidsequenz von mRNA-Transkripten verändert wird, nachdem sie synthetisiert wurden, wodurch sich die in ihnen codierte Botschaft verändert. In [Kapitel 6](#) haben wir gesehen, dass tRNA- und rRNA-Moleküle nach

ihrer Synthese chemisch modifiziert werden: Hier konzentrieren wir uns auf Änderungen an mRNAs.

In Tieren gibt es zwei grundsätzliche Arten von mRNA-Editierung: die Desaminierung von Adenin, bei der Inosin entsteht (A-zu-I-Editierung), und nicht so häufig die Desaminierung von Cytosin, bei der sich Uracil bildet (C-zu-U-Editierung; s. Abb. 5–43). Weil diese chemischen Modifikationen die Paarungseigenschaften der Basen ändern (I paart mit C und U paart mit A), können sie tiefgreifende Auswirkungen auf den Informationsgehalt der RNA haben. Wenn das Editieren in einer codierenden Region stattfindet, kann es die Aminosäuresequenz des Proteins verändern oder durch ein vorzeitiges Stopp-Codon ein gestutztes Protein erzeugen. Editierungen, die sich außerhalb codierender Sequenzen abspielen, können das Muster der prä-mRNA-Spleißung, den Transport der mRNA vom Zellkern ins Cytosol, die Effizienz, mit der die RNA translatiert wird, oder die Basenpaarung zwischen microRNAs (miRNAs) und ihren mRNA-Zielen beeinträchtigen, eine Regulationsform, die an späterer Stelle in diesem Kapitel behandelt wird.

Die A-zu-I-Editierung herrscht besonders beim Menschen vor, wo es bei etwa tausend Genen vorkommt. Enzyme namens *ADARs* (*Adenosin-desaminasen agierend an RNA*, engl. *adenosine deaminases acting on RNA*) führen diesen Editiertyp durch; diese Enzyme erkennen eine doppelsträngige RNA-Struktur, die sich durch Basenpaarung zwischen der zu editierende Stelle und einer komplementären Sequenz, die irgendwo auf dem gleichen RNA-Molekül sitzt, normalerweise in einem Intron, bildet (Abb. 7–60). Die Struktur der doppelsträngigen RNA spezifiziert, ob die mRNA editiert werden soll, und falls ja, wo genau die Editierung vorgenommen werden soll. Ein besonders wichtiges Beispiel der A-zu-I-Editierung findet an der Vorläufer-mRNA statt, die für einen Transmitter-kontrollierten Ionenkanal im Gehirn codiert. Ein einziger Bearbeitungsschritt ändert ein Glutamin zu einem Arginin; die betroffene Aminosäure liegt an der inneren Wand des Kanals, und der durch das Editieren bewirkte Austausch ändert die Permeabilität des Kanals für Ca^{2+} . Mutierte Mäuse, die diese Editierung nicht durchführen können, sind anfällig für epileptische Anfälle und sterben während oder kurz nach der Entwöhnung, was zeigt, dass die Editierung der Ionenkanal-RNA normalerweise für eine ordentliche Gehirnentwicklung entscheidend ist.

Die C-zu-U-Editierung, die von einem anderen Enzymsatz durchgeführt wird, ist bei Säugetieren ebenfalls sehr wichtig. In bestimmten Darmzellen beispielsweise erfährt die mRNA für Apolipoprotein B eine C-zu-U-Editierung, die ein vorzeitiges Stopp-Codon erzeugt und deshalb eine verkürzte Form dieses Proteins hervorbringt. In Zellen der Leber wird das Editier-Enzym nicht exprimiert, und das Apolipoprotein B wird in voller Länge gebildet. Die beiden Proteinisoformen haben unterschiedliche Eigenschaften und jede spielt eine

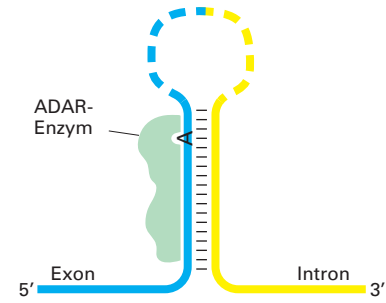


Abb. 7–60 Mechanismen der A-zu-I-RNA-Editierung bei Säugern. Typischerweise existiert eine zur Editier-Position komplementäre Sequenz in einem Intron, und die resultierende doppelsträngige RNA zieht ein A-zu-I-editierendes Enzym (ADAR) an. Im gezeigten Fall wird das Editieren im Exon durchgeführt; in den meisten Fällen jedoch geschieht dies in den nicht codierenden Anteilen der mRNA. Das Editieren durch ADAR findet im Zellkern statt, bevor die prä-mRNA vollständig prozessiert wurde. Mäuse und Menschen besitzen zwei ADAR-Gene: ADR1 wird in vielen Geweben exprimiert und ist in der Leber für die korrekte Entwicklung der roten Blutkörperchen erforderlich; ADR2 wird nur im Gehirn exprimiert, wo es für die richtige Gehirnentwicklung nötig ist.

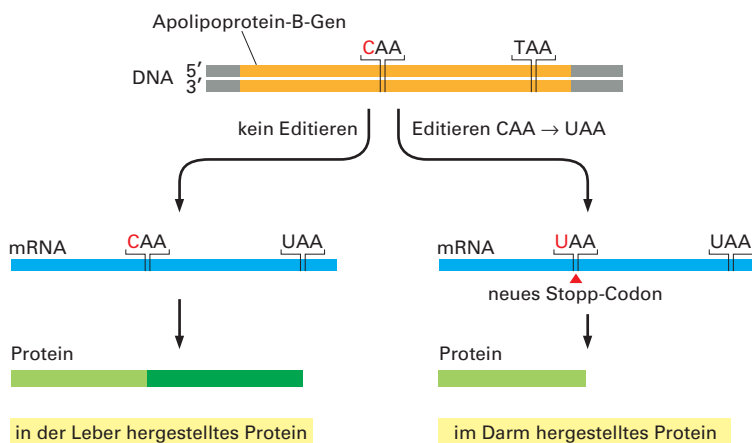


Abb. 7–61 Die C-zu-U-RNA-Editierung erzeugt eine gestutzte Form von Apolipoprotein B.

Rolle im Fettstoffwechsel, die für das Organ, das sie produziert, spezifisch ist (Abb. 7–61).

Warum die RNA-Editierung überhaupt existiert, ist ein Rätsel. Eine Vorstellung ist, es sei im Laufe der Evolution entstanden, um „Fehler“ im Genom zu korrigieren. Eine andere ist, dass es der Zelle eine etwas schludrige Möglichkeit gibt, von einem einzigen Gen geringfügig unterschiedliche Proteine herzustellen. Eine dritte Möglichkeit ist, dass sich das RNA-Editieren ursprünglich aus einem Abwehrmechanismus gegen Retroviren und Retrotransposons entwickelte und später von der Zelle angepasst wurde, um die Bedeutung bestimmter mRNAs zu verändern. In der Tat spielt die RNA-Editierung in der Zellabwehr immer noch eine wichtige Rolle. Manche Retroviren, einschließlich HIV, werden ausgiebig editiert, nachdem sie Zellen infiziert haben. Dieses Hypereditieren erzeugt viele schädliche Mutationen im viralen RNA-Genom und verursacht auch, dass virale mRNAs im Zellkern zurückgehalten werden, wo sie schließlich abgebaut werden. Obwohl sich manche der heutigen Retroviren vor diesem Abwehrmechanismus schützen, trägt die RNA-Editierung vermutlich dazu bei, viele Viren in Schach zu halten.

7.6.7 Der Transport der RNA aus dem Zellkern kann kontrolliert werden

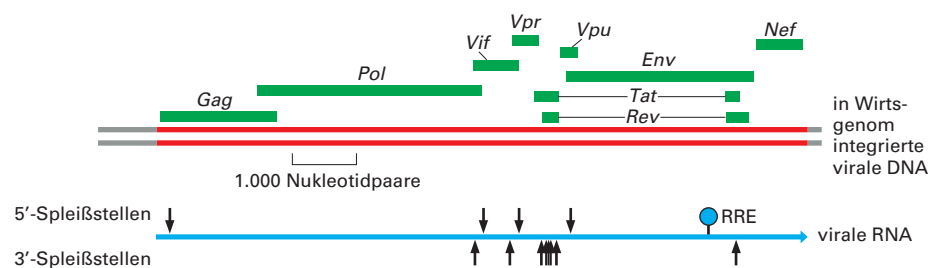
Man schätzt, dass bei Säugetieren nur etwa 5 Prozent der gesamten synthetisierten Menge der RNA jemals den Zellkern verlässt. In Kapitel 6 haben wir gesehen, dass die meisten RNA-Moleküle bei Säugetieren einer ausgeprägten Bearbeitung unterliegen und die „übrig gelassenen“ RNA-Fragmente (ausgeschnittene Introns und hinter der Spalt-/poly-A-Stelle gelegene RNA-Sequenzen) im Zellkern abgebaut werden. Unvollständig prozessierte und sonstwie beschädigte RNAs werden ebenfalls im Rahmen der Qualitätskontrolle für die RNA-Produktion im Zellkern abgebaut.

Wie in Kapitel 6 beschrieben, wird der Export von RNA-Molekülen aus dem Zellkern verzögert, bis deren Bearbeitung abgeschlossen ist. Mechanismen, die absichtlich diesen Kontrollpunkt überwinden, können jedoch zur Regulation der Genexpression verwendet werden. Diese Eigenschaft bildet die Grundlage für eines der am besten verstandenen Beispiele des **kontrollierten Kerntransports** von mRNA, das bei HIV, dem AIDS auslösenden Virus, auftritt.

HIV ist, wie wir in Kapitel 5 gesehen haben, ein Retrovirus – ein RNA-Virus, das, einmal in einer Zelle angekommen, die Bildung einer doppelsträngigen DNA-Kopie seines Genoms steuert, die dann in das Genom des Wirts eingebaut wird (s. Abb. 5–62). Sobald sie eingebaut ist, kann die DNA des Virus als langes RNA-Molekül durch die RNA-Polymerase II der Wirtszelle transkribiert werden. Dieses Transkript wird dann auf viele unterschiedliche Arten zu über 30 unterschiedlichen mRNAs gespleißt, die wiederum zu einer Vielzahl unterschiedlicher Proteine translatiert werden (Abb. 7–62). Um Virusnachkommen zu bilden, müssen ganze, nicht gespleißte Transkripte des Virus aus dem Zellkern in das Cytosol exportiert werden, wo sie dann in virale Capside verpackt werden und als virales Genom dienen. Dieses große Transkript sowie alternativ gespleißte HIV-

Abb. 7–62 Das kompakte Genom von HIV, dem AIDS-Virus des Menschen. Die Lage der neun HIV-Gene ist grün dargestellt. Die rote Doppellinie stellt eine in die Wirts-DNA (grau) integrierte DNA-Kopie des Virusgenoms dar. Man beachte, dass die codierenden Regionen mehrerer Gene überlappen und die von *Tat* und *Rev* durch Introns geteilt sind. Die blaue Linie unten in der Abbildung stellt das prä-mRNA-Transkript der viralen DNA dar, auf der alle möglichen Spleißstellen (Pfeile) markiert sind. Es gibt viele alternative Möglichkeiten, das virale Transkript zu spleißen; beispielsweise behält die *Env*-mRNA das Intron, das aus den mRNAs von *Tat* und *Rev* entfernt wird. Das auf *Rev* reagierende Element (*Rev* response element; *RRE*) ist als blauer Kreis mit Stiel angedeutet. Es ist ein 234 Nukleotide langes Stück RNA, das sich in eine definierte Struktur falten kann; *Rev* erkennt eine besondere Haarnadelstruktur innerhalb dieses größeren Gebildes.

Das *Gag*-Gen codiert für ein Protein, das in mehrere kleinere Proteine gespalten wird, die das virale Capsid bilden. Das *Pol*-Gen codiert für ein Protein, das in die Reverse Transkriptase, die RNA in DNA umschreibt, und die Integrase, die am Einbau des Virusgenoms (als doppelsträngige DNA) in das Wirtsgenom beteiligt ist, gespalten wird. Das *Env*-Gen codiert für die Hüllproteine (s. Abb. 5–62). *Tat*, *Rev*, *Vif*, *Vpr*, *Vpu* und *Nef* sind kleine Proteine mit unterschiedlichen Funktionen. So reguliert beispielsweise *Rev* den Kernexport (s. Abb. 7–63) und *Tat* reguliert die Elongation der Transkription über das gesamte integrierte virale Genom (s. Abschnitt 7.6.1).

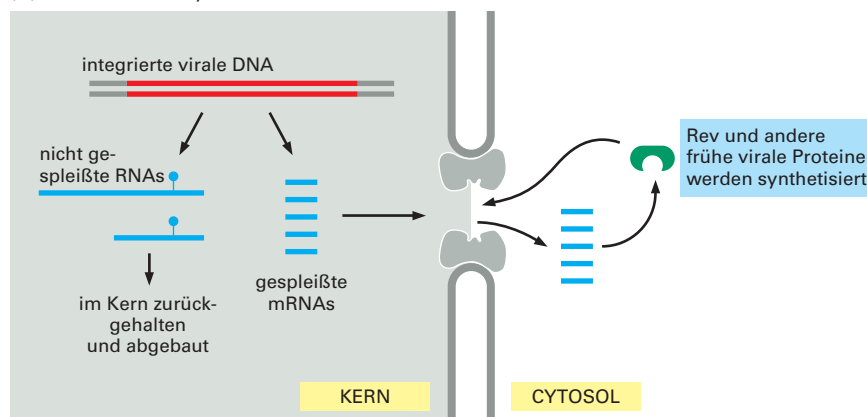


mRNAs, die das Virus für die Proteinsynthese ins Cytosol überführen muss, tragen immer noch die vollständigen Introns. Die normale Blockade des Kernexports von ungespleißten RNAs der Wirtszelle stellt somit ein spezielles Problem für HIV dar.

Die Blockade wird auf geniale Weise bezwungen. Das Virus codiert für ein mit Rev bezeichnetes Protein, das an eine spezifische, innerhalb eines viralen Introns gelegene RNA-Sequenz (genannt „auf Rev reagierendes Element“, RRE) bindet. Das Rev-Protein interagiert mit einem Kernexportrezeptor (Crm1), worauf trotz der Gegenwart der Intronsequenzen der Transport viraler RNAs durch die Kernporen in das Cytosol erfolgt. Wie Exportrezeptoren im Detail funktionieren, besprechen wir in [Kapitel 12](#).

Die Regulation des Kerntransports durch Rev hat mehrere wichtige Folgen für das Wachstum und die Pathogenese von HIV. Es stellt nicht nur den Kerntransport bestimmter nicht gespleißter RNAs sicher, sondern teilt die Virusinfektion in eine frühe Phase, bei der Rev von einer völlig gespleißten RNA translatiert wird und alle intronhaltigen viralen RNAs im Kern zurückbleiben und abgebaut werden, und eine späte Phase, in der nicht gespleißte RNAs dank der Funktion von Rev exportiert werden. Diese zeitliche Abstimmung erlaubt dem Virus die Replikation, indem die Genprodukte in ungefähr der Reihenfolge bereitgestellt werden, in der sie benötigt werden ([Abb. 7–63](#)). Die Regulation durch Rev und durch Tat, dem HIV-Protein, das der vorzeitigen Beendigung entgegenwirkt, erlaubt dem Virus, Latenz zu erlangen, ein Zustand, in dem das HIV-Genom ins Wirtszellgenom integriert wurde, aber die Bildung viraler Proteine vorübergehend nachgelassen hat. Falls nach dem anfänglichen Eintritt in eine Wirtszelle die Umstände für eine Transkription und Replikation des Virus zu schlecht werden, werden Rev und Tat in zu geringen Mengen hergestellt, um

(A) früh in der HIV-Synthese



(B) spät in der HIV-Synthese

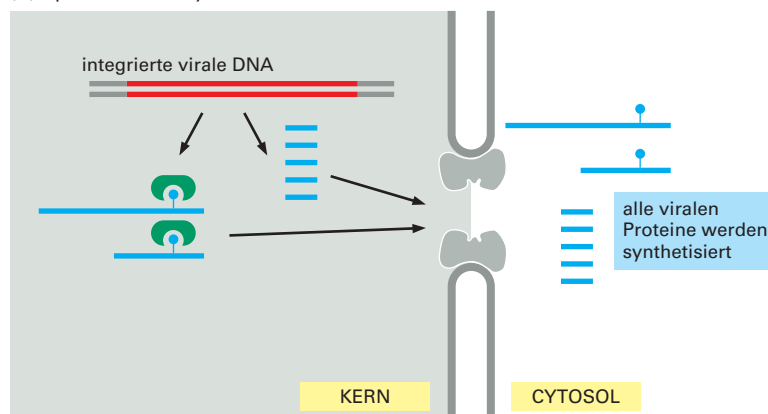


Abb. 7–63 **Regelung des Exports aus dem Kern durch das HIV-Rev-Protein.** (A) Früh bei der HIV-Infektion werden nur vollständig gespleißte RNAs (die die codierenden Sequenzen für Rev, Tat und Nef tragen) vom Kern exportiert und translatiert. (B) Sobald sich genug Rev-Protein angesammelt hat und in den Kern transportiert worden ist, können nicht gespleißte virale RNAs vom Kern exportiert werden. Viele dieser RNAs werden zu Proteinen translatiert, und die Transkripte voller Länge werden zu neuen Viruspartikeln verpackt.

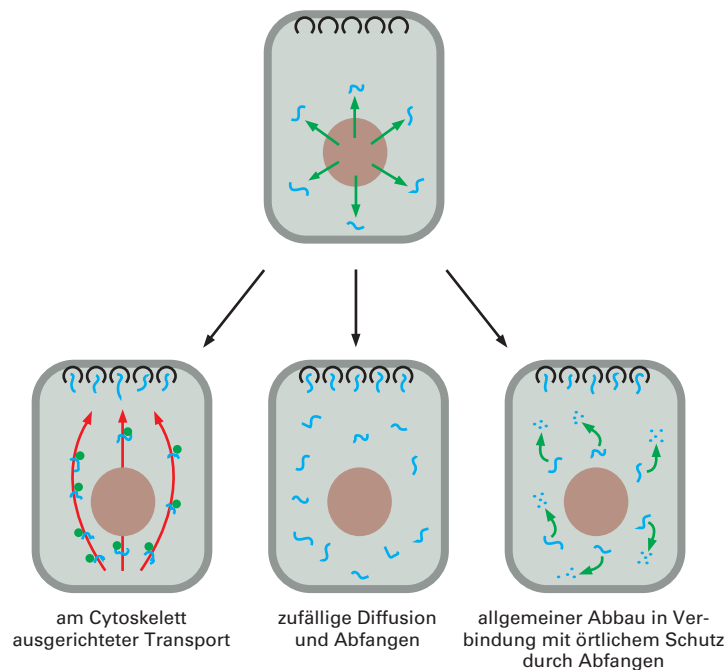
die Transkription und den Export nicht gespleißter RNAs zu ermöglichen. Dieser Zustand bremst den Wachstumszyklus des Virus, bis sich die Bedingungen verbessern, woraufhin die Mengen an Rev und Tat ansteigen und das Virus in den Replikationszyklus eintreten kann.

7.6.8 Einige mRNAs sind besonderen Regionen des Cytosols zugeordnet

Sobald ein neu synthetisiertes mRNA-Molekül die Kernpore passiert hat und in das Cytosol gelangt, wird es normalerweise von einem Ribosom in Empfang genommen und in eine Polypeptidkette übersetzt (s. Abb. 6–8). Sobald die erste Translationsrunde den Nonsense-vermittelten Abbauteil „besteht“ (s. Abb. 6–76), wird die mRNA gewöhnlich tatsächlich translatiert. Wenn die mRNA für ein Protein codiert, das sezerniert oder an der Zelloberfläche präsentiert werden soll, wird das Protein durch eine Signalsequenz am N-Terminus zum Endoplasmatischen Reticulum (ER) gelenkt. In diesem Fall, wie in Kapitel 12 behandelt, erkennen Bausteine des Proteinsortierapparats der Zelle die Signalsequenz, sobald diese das Ribosom verlässt, und lotsen den gesamten Komplex aus Ribosom, mRNA und entstehendem Protein zur Membran des ER, wo der Rest der Polypeptidkette synthetisiert wird. In anderen Fällen wird das gesamte Protein an freien Ribosomen im Cytosol synthetisiert, und Signale in der fertiggestellten Polypeptidkette können dann das Protein zu anderen Stellen in der Zelle leiten.

Viele mRNAs werden, noch bevor ihre effiziente Translation beginnt, an besondere Orte in der Zelle geleitet. Dies gestattet der Zelle, ihre mRNA-Moleküle nahe an den Stellen zu positionieren, an denen das codierte Protein benötigt wird. Die RNA-Lokalisierung hat man in vielen Organismen beobachtet, einschließlich einzelliger Pilze, Pflanzen und Tiere, und es ist wahrscheinlich, dass es sich um einen üblichen Mechanismus handelt, den Zellen verwenden, um die Bildung von Proteinen auf hoher Ebene an spezifischen Stellen zu konzentrieren. Diese Strategie verschafft der Zelle auch andere Vorteile. Sie gestattet beispielsweise die Errichtung von Asymmetrien im Cytosol der Zelle, ein wichtiger Schritt in vielen Entwicklungsphasen. Lokalisierte mRNA, gekoppelt mit der Translationskontrolle, gestattet der Zelle außerdem, die Genexpression in

Abb. 7–64 Mechanismen zur Lokalisation von mRNAs. Die zu lokalisierende mRNA verlässt den Kern durch Kernporen (*oben*). Einige lokalisierte mRNAs (*linkes Diagramm*) bewegen sich durch die Anlagerung an Motoren des Cytoskeletts zu ihren Bestimmungsorten. Diese Motoren nutzen die Energie der ATP-Hydrolyse, um die mRNAs gerichtet entlang der Filamente des Cytoskeletts (*rot*) zu bewegen (s. Kapitel 16). An ihrem Ziel werden die mRNAs durch Ankerproteine (*schwarz*) an Ort und Stelle gehalten. Andere mRNAs diffundieren ungerichtet durch das Cytosol und werden an ihrer Zielposition einfach durch Ankerproteine festgehalten (*mittlere Zeichnung*). Einige mRNAs (*rechtes Diagramm*) werden im Cytosol abgebaut, wenn sie nicht durch zufällige Diffusion an einen lokalisierten Proteinkomplex (*schwarz*) binden, der die mRNA festhält und vor dem Abbau schützt. Jeder Mechanismus benötigt spezifische Signalsequenzen auf der mRNA, die gewöhnlich in der 3'-UTR zu finden sind. Weitere Komponenten können die Translation der mRNA blockieren, bis sie am richtigen Ort angekommen ist. (Verändert nach H. D. Lipshitz und C. A. Smibert, *Curr. Opin. Gen. Dev.* 10:476–488, 2000. Mit Erlaubnis von Elsevier.)



ihren verschiedenen Teilen unabhängig zu regulieren. Diese Eigenschaft ist besonders wichtig in großen, stark polarisierten Zellen wie Neuronen, wo sie eine zentrale Rolle bei der Funktion der Synapsen spielt.

Man hat mehrere Mechanismen für die mRNA-Lokalisierung entdeckt (Abb. 7–64), aber sie alle benötigen spezifische Signale in der mRNA selbst. Diese Signale sind normalerweise in der 3'-untranslatierten Region (UTR) konzentriert, der RNA-Region, die vom Stopp-Codon, das die Proteinsynthese beendet, bis zum Beginn des poly-A-Schwanzes reicht (Abb. 7–65). Diese mRNA-Lokalisierung ist normalerweise mit Translationskontrollen gekoppelt, um sicherzustellen, dass die mRNA ruhig bleibt, bis sie an ihren Platz gewandert ist.

Ein besonders auffälliges Beispiel der mRNA-Lokalisierung kann im Ei von *Drosophila* beobachtet werden, wo die für den Transkriptionsregulator Bicoid codierende mRNA durch Anlagerung an das Cytoskelett in der anterioren Spitze des sich entwickelnden Eies angesammelt ist. Wenn die Translation dieser mRNA durch die Befruchtung ausgelöst wird, bildet sich ein Gradient des Bicoid-Proteins, der bei der Steuerung der Entwicklung der Vorderhälfte des Embryos eine wichtige Funktion erfüllt (s. Abb. 7–26). Viele mRNAs in somatischen Zellen sind auf eine ähnliche Weise angeordnet. Beispielsweise ist die mRNA, die für Aktin codiert, bei Säugerfibroblasten durch ein 3'-UTR-Signal an der Zellrinde angelagert, die viele Aktinfilamente enthält.

Wir haben in Kapitel 6 gelesen, dass mRNA-Moleküle den Zellkern verlassen und zahlreiche Markierungen in Form von RNA-Modifikationen (das 5'-Cap und der 3'-poly-A-Schwanz) und gebundenen Proteinen (z. B. Exon-Junction-Komplexe) tragen, die den erfolgreichen Abschluss der verschiedenen prä-mRNA-Prozessierungsschritte signalisieren. Wie wir gerade gehört haben, kann die 3'-UTR praktisch eine „Postleitzahl“ enthalten, durch die die mRNA an verschiedene Stellen der Zelle geleitet wird. Weiter unten werden wir auch erfahren, dass die mRNA außerdem Informationen trägt, die die durchschnittliche Lebensdauer einer jeden mRNA im Cytosol und die Effizienz, mit der jede mRNA in Protein translatiert wird, festlegt. Im weiteren Sinne gleichen die nicht translatierten Regionen der eukaryotischen mRNA den Transkriptionskontrollregionen der Gene: Ihre Nukleotidsequenz enthält Informationen über den richtigen Gebrauch der RNA, und spezielle Proteine, die diese Information interpretieren, binden an diese Sequenz. Neben der Information über die Aminosäuresequenz eines Proteins enthalten also mRNA-Moleküle noch sehr viele andere Informationen.

7.6.9 Die 5'- und 3'-untranslatierten Bereiche der mRNAs kontrollieren ihre Translation

Einer der häufigsten Wege, nach der mRNA-Synthese die Menge eines Proteins zu regulieren, ist, die Translationsinitiation zu kontrollieren. Auch wenn sich die Details der Translationsinitiation zwischen Eukaryoten und Bakterien (wie wir in Kapitel 6 gesehen haben) unterscheiden, verwenden sie alle die gleichen grundlegenden Kontrollstrategien.

In mRNAs von Bakterien wird wenige Nukleotide vor dem initiierenden AUG-Codon stets eine konservierte Sequenz von sechs Nukleotiden, die *Shine-Dalgarno-Sequenz*, gefunden. In Bakterien werden Translationskontrollmechanismen von Proteinen oder RNA-Molekülen ausgeführt und sie schließen im Allgemeinen eine Freilegung oder Blockade der Shine-Dalgarno-Sequenz ein (Abb. 7–66).

Auf mRNAs von Eukaryoten gibt es keine solche Sequenz; stattdessen wird, wie wir in Kapitel 6 besprochen haben, die Auswahl eines AUG-Codons als Translationsstartstelle zum Großteil durch seine Nähe zum Cap am 5'-Ende des mRNA-Moleküls bestimmt, der Stelle, an der die kleine ribosomale Untereinheit

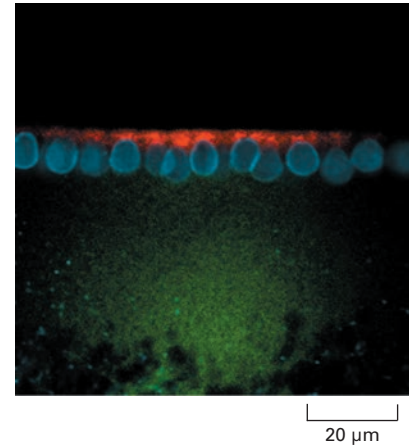


Abb. 7-65 Ein Experiment, das die Bedeutung der 3'-UTR für den Transport von mRNA an spezifische Orte im Cytoplasma zeigt. Für dieses Experiment wurden durch *In-vitro*-Transkription von DNA in Gegenwart von fluoreszenzmarkierten Derivaten des UTP zwei unterschiedlich fluoreszenzmarkierte RNAs hergestellt. Die eine RNA (markiert mit einem roten Fluorochrom) enthält die für das *Drosophila*-Protein Hairy codierende Region sowie die anschließende 3'-UTR (s. Abb. 6-21). Die andere RNA (*grün*) enthält auch die für Hairy codierende Region, die 3'-UTR wurde jedoch entfernt. Die beiden RNAs wurden gemischt und in einen *Drosophila*-Embryo in einem frühen Entwicklungsstadium injiziert, in dem viele Kerne in einem syncytialen Cytoplasma zu finden sind (s. Abb. 7-26). Als die markierten RNAs nach 10 Minuten sichtbar gemacht wurden, war die *hairy*-RNA von voller Länge (*rot*) auf die apikale Seite der Kerne (*blau*) begrenzt, während das Transkript ohne 3'-UTR (*grün*) nicht lokalisiert wurde. Hairy ist einer von vielen Transkriptionsregulatoren, die im sich entwickelnden Embryo von *Drosophila* die Information über die Position festlegen (wie in Kapitel 21 diskutiert). Die Lokalisation seiner mRNA (die, wie in diesem Experiment gezeigt, von der 3'-UTR abhängig ist) ist für die richtige Entwicklung der Fliege notwendig. (Mit freundlicher Genehmigung von Simon Bullock und David Ish-Horowicz.)

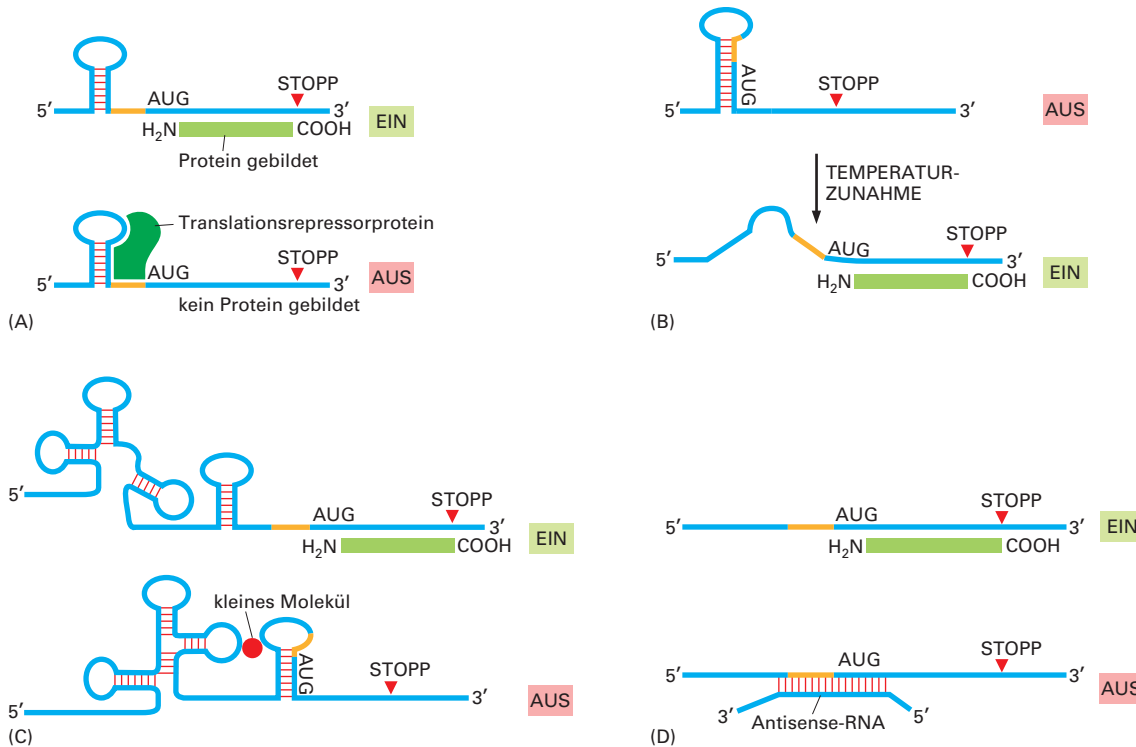


Abb. 7-66 Mechanismen der Translationskontrolle. Obgleich diese Beispiele von Bakterien stammen, sind viele gleiche Prinzipien in Eukaryoten wirksam. (A) Sequenzspezifische RNA-Bindungsproteine reprimieren die Translation spezifischer mRNAs, indem sie für Ribosomen den Zugang zur Shine-Dalgarno-Sequenz (*orange*) blockieren. Beispielsweise reprimieren manche ribosomalen Proteine die Translation ihrer eigenen RNA. Dieser Mechanismus erlaubt der Zelle, die ausgewogenen Mengen der verschiedenen Komponenten, die zur Bildung der Ribosomen erforderlich sind, korrekt aufrechtzuerhalten. (B) Ein RNA-„Thermosensor“ erlaubt eine wirksame Translationsinitiation nur bei erhöhten Temperaturen, bei denen die Haarnadelstruktur geschmolzen wurde. Ein Beispiel kommt beim Humanpathogen *Listeria monocytogenes* vor, bei dem die Translation seiner Virulenzgene bei 37 °C, der Temperatur des Wirts, zunimmt. (C) Die Bindung eines kleinen Moleküls an einen Riboswitch verursacht eine große Strukturänderung der RNA, wodurch eine andere Reihe von Stamm-Schleifen-Strukturen gebildet wird. Im gebundenen Zustand wird die Shine-Dalgarno-Sequenz (*orange*) verborgen und dadurch die Translationsinitiation blockiert. In vielen Bakterien wirkt 5-Adenosylmethionin auf diese Weise, um die Bildung der Enzyme zu blockieren, die es synthetisieren. (D) Eine „Antisense“-RNA, die irgendwo vom Genom gebildet wurde, geht Basenpaarungen mit einer spezifischen mRNA ein und blockiert ihre Translation. Viele Bakterien regulieren die Expression der Eisenspeicherproteine auf diese Weise.

an die mRNA bindet und mit der Suche nach dem initiiierenden AUG-Codon beginnt. In Eukaryoten können Translationsrepressoren an das 5'-Ende der mRNA binden und dadurch die Translationsinitiation hemmen. Andere Repressoren erkennen Nukleotidsequenzen in der 3'-UTR bestimmter mRNAs und vermindern die Translationsinitiation durch Störung der Kommunikation zwischen dem 5'-Cap und dem 3'-poly-A-Schwanz – ein Schritt, der für eine erfolgreiche Translation nötig ist (s. [Abb. 6-70](#)). Eine besonders wichtige Art der Translationskontrolle der Eukaryoten stützt sich auf kleine RNAs (*microRNAs* oder *miRNAs* genannt), die an mRNAs binden und die hergestellte Proteinmenge verringern, wie später in diesem Kapitel behandelt wird.

7.6.10 Die Phosphorylierung eines Initiationsfaktors regelt die Proteinsynthese umfassend

Eukaryotische Zellen senken die Geschwindigkeit ihrer Proteinsynthese als Reaktion auf verschiedene Bedingungen, einschließlich Mangel an Wachstumsfaktoren oder Nährstoffen, Infektionen durch Viren und Hitzeschock. Diese Kontrolle wird zu einem großen Teil durch die Phosphorylierung des Translationsinitiationsfaktors eIF-2 durch eine spezifische Proteinkinase, die auf sich ändernde Bedingungen reagiert, gesteuert.

Die normale Funktion des eIF-2 ist in [Abschnitt 6.2.10](#) besprochen worden. Er bildet einen Komplex mit GTP und vermittelt die Bindung der Methionyl-Initiator-tRNA an die kleine Ribosomenuntereinheit, die sich dann an das 5'-Ende der mRNA heftet und ihre Suche an der mRNA beginnt. Nach dem Erkennen eines AUG-Codons hydrolysiert das eIF-2-Protein das gebundene GTP zu GDP, was zu einer Konformationsänderung im Protein führt, wodurch es von der kleinen Ribosomenuntereinheit entlassen wird. Die große Ribosomenuntereinheit verbindet sich nun mit der kleinen, um das komplette Ribosom zu bilden, das die Proteinsynthese beginnt.

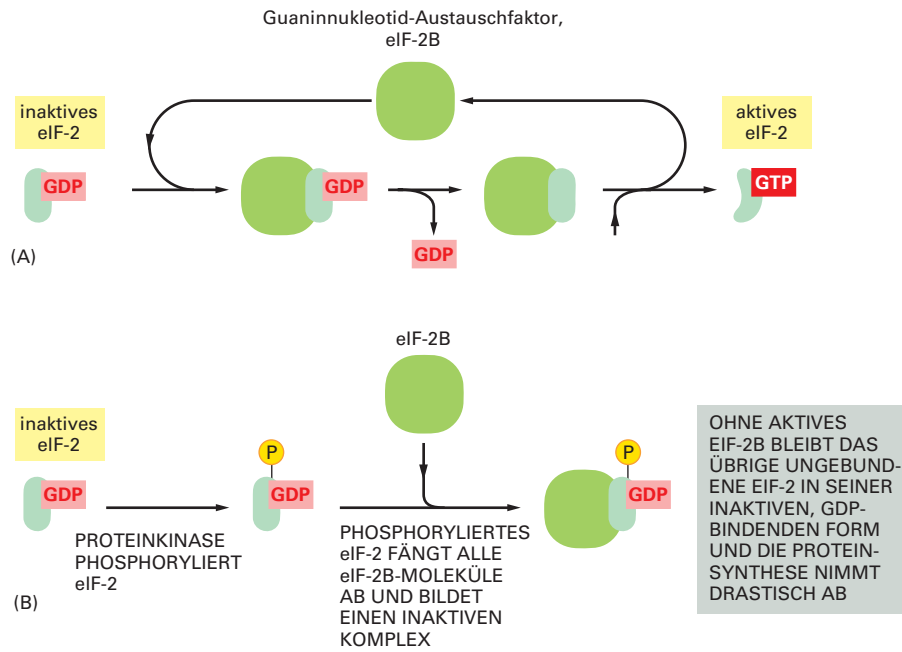


Abb. 7–67 Der eIF-2-Kreislauf. (A) Wiederverwendung von benutztem eIF-2 durch einen Guaninnukleotid-Austauschfaktor (eIF-2B). (B) Phosphorylierung von eIF-2 kontrolliert die Geschwindigkeit der Proteinsynthese durch Bindung an eIF-2B.

Da eIF-2 sehr fest an GDP gebunden ist, wird ein Guanin-Nukleotid-Austauschfaktor (s. [Abschnitt 3.2.22](#)), als eIF-2B bezeichnet, zur Freisetzung des GDP benötigt, damit ein neues GTP binden und eIF-2 wiederverwendet werden kann ([Abb. 7–67A](#)). Der erneute Einsatz des eIF-2 wird unterdrückt, wenn es im phosphorylierten Zustand vorliegt; das phosphorylierte eIF-2 bindet ungewöhnlich fest an eIF-2B und inaktiviert es dadurch. In den Zellen gibt es mehr eIF-2 als eIF-2B, und selbst ein Bruchteil an phosphoryliertem eIF-2 genügt, um nahezu alles verfügbare eIF-2B einzufangen. Dies verhindert die Wiederverwendung von nicht phosphoryliertem eIF-2 und verlangsamt die Geschwindigkeit der Proteinsynthese wesentlich ([Abb. 7–67B](#)).

Die Regulierung der Menge an aktivem eIF-2 ist in Säugerzellen besonders wichtig, da sie Teil des Mechanismus ist, der es ihnen ermöglicht, einen Ruhezustand (als G_0 bezeichnet) einzunehmen, in dem sie sich nicht teilen und in dem die gesamte Proteinsynthese auf etwa ein 1/5 der Geschwindigkeit in proliferierenden Zellen reduziert ist.

7.6.11 Initiation an AUG-Codons oberhalb des Start-Codons kann die Translation bei Eukaryoten regulieren

Wir haben in [Kapitel 6](#) gesehen, dass die Translation bei Eukaryoten normalerweise am ersten AUG nach dem 5'-Ende der mRNA beginnt, dem ersten AUG, das die kleine Ribosomenuntereinheit auf ihrer Suche antrifft. Die Nukleotide unmittelbar um das AUG beeinflussen ebenfalls die Wirksamkeit der Translationsinitiation. Wenn die Erkennungsstelle schwach ist, wird die Ribosomenuntereinheit auf ihrer Suche das erste AUG-Codon auf der mRNA manchmal überlesen und stattdessen zum zweiten oder dritten AUG-Codon weiterlaufen. Dieses Phänomen, das als „durchlässige Suche“ (engl. *leaky scanning*) bekannt ist, ist eine oft benutzte Strategie, um von derselben mRNA zwei oder mehr nahe verwandte Proteine herzustellen, die sich nur in ihrem N-Terminus unterscheiden. Eine besonders wichtige Anwendung dieses Mechanismus ist die Bildung des gleichen Proteins mit und ohne Signalsequenz am N-Terminus. Dies ermöglicht, dass das Protein an zwei unterschiedliche Orte in der Zelle (z. B. sowohl zu Mitochondrien als auch zum Cytosol) geleitet wird. Zellen können die relativen

Mengen der durch „durchlässige Suche“ hergestellten Proteinisoformen kontrollieren; beispielsweise führt ein zelltypspezifischer Anstieg in der Menge des Initiationsfaktors eIF-4F zu einer bevorzugten Nutzung des AUG, das am nächsten zum 5'-Ende der mRNA liegt.

Ein weiterer bei Eukaryoten gefundener Kontrolltyp nutzt einen oder mehrere kurze *offene Leseraster* – kurze DNA-Abschnitte, die mit einem Start-Codon (ATG) beginnen und mit einem Stopp-Codon enden, ohne Stopp-Codons dazwischen – die zwischen dem 5'-Ende der mRNA und dem Beginn des Gens liegen. Häufig sind die Aminosäuresequenzen, die durch diese vorangestellten offenen Leseraster (uORFs, engl. *upstream open reading frames*) codiert sind, nicht wichtig; vielmehr haben diese uORFs eine reine Kontrollfunktion. Ein auf dem mRNA-Molekül vorhandenes uORF senkt im Allgemeinen die Translation des nachgelagerten Gens, da es einen Ribosomeninitiationskomplex auf der Suche abfängt und das Ribosom so das uORF translatiert und von der mRNA abspringt, bevor es die eigentliche proteincodierende Sequenz erreicht.

Man würde erwarten, dass, wenn die Aktivität eines allgemeinen Translationsfaktors (wie des oben besprochenen eIF-2) vermindert wird, die Translation aller mRNAs ebenso vermindert würde. Entgegen dieser Erwartung kann jedoch die Phosphorylierung von eIF-2 selektive Effekte zeigen und sogar die Translation von bestimmten mRNAs, die uORFs enthalten, erhöhen. Auf diese Weise können sich Zellen einem Mangel an bestimmten Nährstoffen anpassen, indem sie die Synthese aller Proteine beenden, mit Ausnahme derer, die für eine Synthese der fehlenden Substrate nötig sind. In allen Einzelheiten wurde der Mechanismus für eine bestimmte Hefe-mRNA aufgeklärt, die für ein mit Gcn4 bezeichnetes Protein codiert, ein Transkriptionsregulator, der viele Gene aktiviert, die für Proteine codieren, die für die Aminosäuresynthese wichtig sind.

Die *Gcn4*-mRNA enthält vier kurze uORFs, und wenn ausreichend Aminosäuren vorhanden sind, translatieren Ribosomen die uORFs und lösen sich im Allgemeinen ab, bevor sie die codierende Region von *Gcn4* erreichen. Eine durch Aminosäuremangel ausgelöste allgemeine Abnahme der eIF-2-Aktivität macht es wahrscheinlicher, dass eine suchende kleine Ribosomenuntereinheit über die uORFs hinweggeht (ohne sie zu translatieren), bis sie sich einen eIF-2 aneignet (s. Abb. 6–70). Ein solches Ribosom kann dann die Translation der tatsächlichen *Gcn4*-Sequenz initiieren, und die gesteigerte Menge dieses resultierenden Transkriptionsregulators führt zur Produktion von Enzymen für die Synthese von Aminosäuren.

7.6.12 Interne Ribosomeneintrittsstellen bieten eine Möglichkeit der Translationskontrolle

Obwohl bei Eukaryoten die Translation bei etwa 90 % der mRNAs mit dem ersten AUG nach dem 5'-Cap beginnt, können manche AUGs, wie wir im vorigen Abschnitt gesehen haben, bei dem Suchvorgang übergangen werden. In diesem Abschnitt werden wir eine weitere Möglichkeit besprechen, durch die Zellen die Translation an Stellen fern vom 5'-Ende der mRNA beginnen können. Hier wird die Translation mithilfe einer besonderen RNA-Sequenz begonnen, die als **interne Ribosomeneintrittsstelle (IRES)** bezeichnet wird. In einigen Fällen liegen zwei unterschiedliche proteincodierende Sequenzen als Tandem auf derselben mRNA; die Translation der ersten Sequenz geschieht über den üblichen Suchmechanismus und die Translation der zweiten über eine IRES. IRES-Sequenzen sind normalerweise mehrere Hundert Nukleotide lang und falten sich in bestimmte Strukturen, an die viele, aber nicht alle der Proteine binden, die für die Initiation der normalen 5'-Cap-abhängigen Translation nötig sind (Abb. 7–68). Unterschiedliche IRESs benötigen tatsächlich unterschiedliche Untergruppen von Initiationsfaktoren. Alle sind jedoch unabhängig von

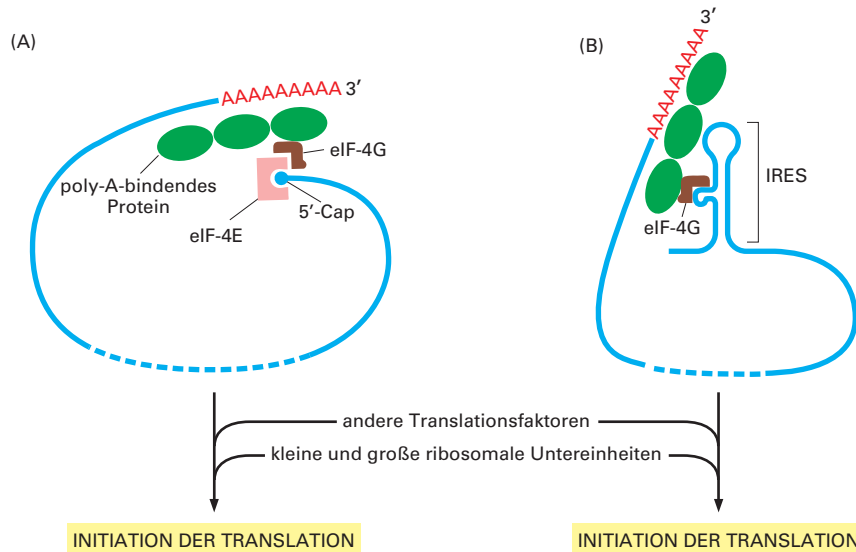


Abb. 7–68 Zwei Mechanismen für die Translationsinitiation. (A) Der normale Cap-abhängige Mechanismus braucht eine Gruppe von Initiationsfaktoren, deren Versammlung auf der mRNA durch das Vorhandensein eines 5'-Caps und eines poly-A-Schwanzes (s. auch Abb. 6–70) stimuliert wird. (B) Der hauptsächlich bei Viren vorkommende IRES-abhängige Mechanismus benötigt nur eine Untergruppe der normalen Translationsinitiationsfaktoren, die sich direkt auf der gefalteten IRES ansammeln. (Verändert nach A. Sachs, *Cell* 101:243–245, 2000. Mit Erlaubnis von Elsevier.)

einer 5'-Cap-Struktur und dem sie erkennenden Translationsinitiationsfaktor eIF-4E.

Manche Viren verwenden IRESs als Teil einer Strategie, damit ihre eigenen mRNA-Moleküle translatiert werden, während die normale 5'-Cap-abhängige Translation der Wirts-mRNAs blockiert wird. Bei der Infektion bilden diese Viren eine im Genom des Virus codierte Protease, die den Translationsfaktor eIF-4G der Wirtszelle spaltet und ihn dadurch unfähig macht, an eIF-4E, den Cap bindenden Komplex, zu binden. Dies legt den größten Teil der Wirtszelltranslation still und lenkt den Translationsapparat wirkungsvoll zu den IRES-Sequenzen um, die sich auf den viralen mRNAs befinden. (Das geschnittene eIF-4G ist noch in der Lage, die Translation an diesen internen Stellen zu initiieren.)

Die vielen Weisen, auf die Viren die Proteinsynthesemaschinerie ihrer Wirtszellen zu ihrem eigenen Vorteil manipulieren, überrascht Biologen immer wieder. Die Untersuchung dieses „Wettrüstens“ zwischen Menschen und Krankheitsregern hat zu vielen grundlegenden Einsichten in die Arbeitsweisen der Zelle geführt, und wir werden diesem Thema in [Kapitel 23](#) nochmals begegnen.

7.6.13 Eine Veränderung der mRNA-Stabilität kann die Genexpression regulieren

Die meisten mRNAs der Bakterien sind sehr instabil und haben eine Halbwertszeit von weniger als ein paar Minuten. Exonukleasen, die in 3'→5'-Richtung arbeiten, sind normalerweise für den raschen Abbau der mRNAs zuständig. Da bakterielle mRNAs sowohl sehr rasch synthetisiert als auch sehr rasch wieder abgebaut werden, kann sich ein Bakterium schnell an Veränderungen seiner Umwelt anpassen.

In der Regel sind die mRNAs der eukaryotischen Zellen viel stabiler. Einige, wie z. B. die des β -Globins, haben eine Halbwertszeit von mehr als 10 Stunden. Aber die meisten haben eine beträchtlich kürzere Halbwertszeit, normalerweise unter 30 Minuten. Die mRNAs, die für Proteine wie die Wachstumsfaktoren und Transkriptionsregulatoren codieren, deren Bildungsgeschwindigkeit sich in Zellen rasch ändern muss, besitzen besonders kurze Halbwertszeiten.

In [Kapitel 6](#) haben wir gesehen, dass die Zelle über mehrere Mechanismen verfügt, um nicht richtig prozessierte RNAs rasch zu zerstören; hier betrachten wir das Schicksal der typischen „normalen“ eukaryotischen RNA. Es gibt zwei Mechanismen, um jede von der Zelle gebildete mRNA schließlich abzubauen. Beide beginnen mit einer schrittweisen Verkürzung des poly-A-Schwanzes durch

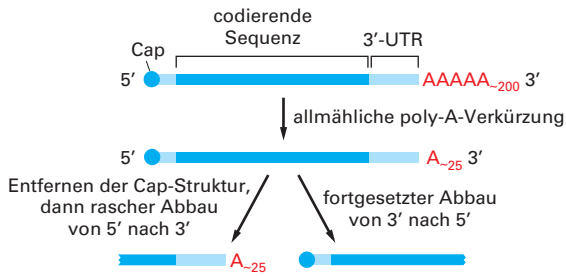


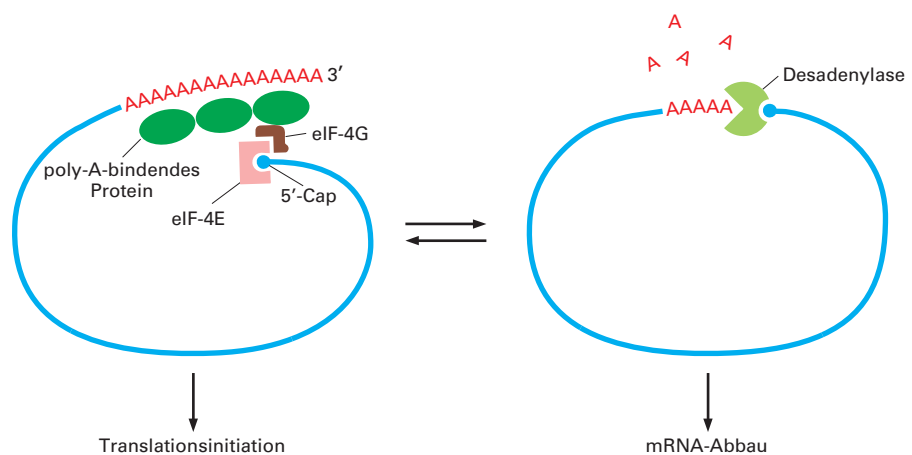
Abb. 7-69 Zwei Mechanismen für den Abbau eukaryotischer mRNA. Eine kritische Schwelle der Länge des poly-A-Schwanzes induziert den raschen 3'→5'-Abbau und steht möglicherweise in Zusammenhang mit dem Verlust von poly-A-bindenden Proteinen. Wie in *Abb. 7-70* gezeigt, assoziiert die Desadenylase sowohl mit dem 3'-poly-A-Schwanz als auch mit der 5'-Cap-Struktur, und diese Verbindung kann an dem Signal zur Beseitigung der Cap-Struktur nach der poly-A-Verkürzung beteiligt sein. Obwohl der 5'→3'- und der 3'→5'-Abbau hier an verschiedenen RNA-Molekülen gezeigt werden, können beide Vorgänge zusammen am selben Molekül ablaufen. (Verändert nach C. A. Beelman und R. Parker, *Cell* 81:179–183, 1995. Mit Erlaubnis von Elsevier.)

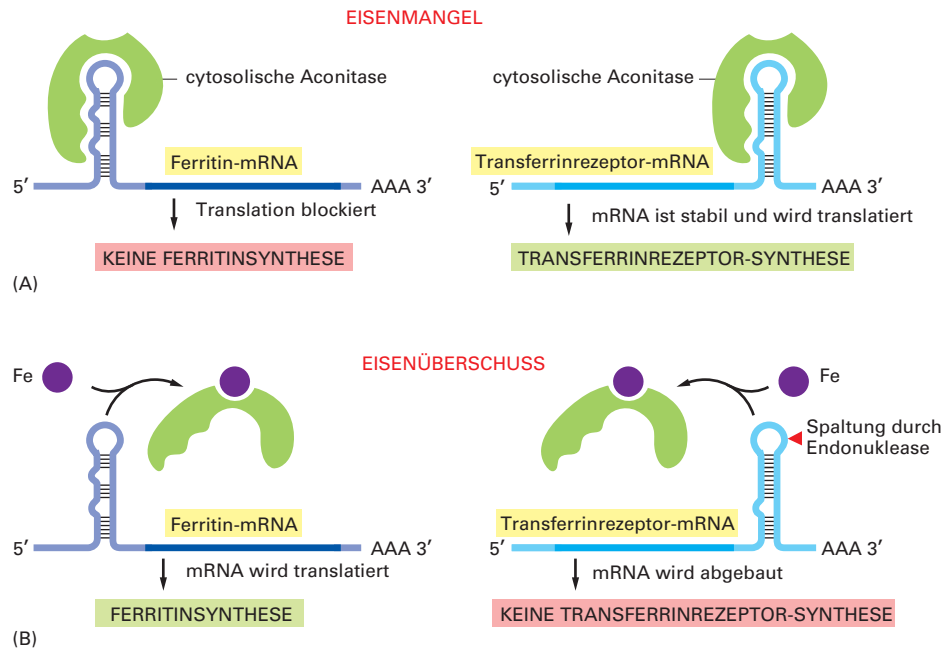
eine Exonuklease, ein Vorgang, der beginnt, sobald die mRNA das Cytosol erreicht. In gewissem Sinn wirkt diese poly-A-Verkürzung als Zeitmesser, der die Lebensdauer jeder mRNA herunterzählt. Sobald der poly-A-Schwanz auf eine kritische Länge gekürzt ist (etwa 25 Nukleotide beim Menschen), trennen sich die beiden Wege. Auf dem einen Weg wird das 5'-Cap entfernt (ein Vorgang, den man Decapping nennt) und die „freigelegte“ mRNA wird rasch von ihrem 5'-Ende her abgebaut. Auf dem anderen Weg wird die mRNA weiterhin von ihrem 3'-Ende her abgebaut, durch den poly-A-Schwanz in die codierenden Sequenzen hinein (*Abb. 7-69*).

Nahezu alle mRNAs unterliegen den beiden Abbauarten, und die spezifischen Sequenzen jeder mRNA legen fest, wie schnell jeder Schritt abläuft und damit wie lange jede mRNA in der Zelle bestehen bleibt und in der Lage ist, Protein zu bilden. Die 3'-UTR-Sequenzen sind besonders wichtig bei der Kontrolle der mRNA-Lebensdauer, und sie tragen oft Bindungsstellen für bestimmte Proteine, die die Geschwindigkeit der poly-A-Verkürzung, des Decappings oder des 3'→5'-Abbaus steigern oder drosseln. Die Halbwertszeit einer mRNA wird auch dadurch beeinflusst, wie effizient sie translatiert wird. Die poly-A-Verkürzung und das Decapping konkurrieren direkt mit der Maschinerie, die die mRNA translatiert; deshalb wirken sich alle Faktoren, die die Translationseffizienz einer mRNA beeinflussen, auf ihren Abbau gegenteilig aus (*Abb. 7-70*).

Obwohl die poly-A-Verkürzung die Halbwertszeit der meisten eukaryotischen mRNAs verkürzt, können manche mRNAs durch einen spezialisierten Mechanismus abgebaut werden, der diesen Schritt insgesamt umgeht. In diesen Fällen schneiden Nukleasen die mRNA intern, sodass sie von einem Ende das Cap und vom anderen den poly-A-Schwanz entfernen, wodurch beide Hälften schnell abgebaut werden. Die auf diese Weise zerstörten mRNAs tragen spezifische Nukleotidsequenzen, oft in den 3'-UTRs, die als Erkennungssequenzen für diese Endonukleasen dienen. Diese Strategie macht es besonders einfach, die Stabilität dieser mRNAs streng zu regulieren, indem die Endonukleasestelle als Reaktion auf äußere Signale blockiert oder exponiert wird. Die Zugabe von Eisen zu Zellen verringert beispielsweise die Stabilität der mRNA, die für das Rezep-

Abb. 7-70 Der Wettstreit zwischen mRNA-Translation und mRNA-Abbau. Die gleichen zwei Merkmale eines mRNA-Moleküls, 5'-Cap und 3'-poly-A-Schwanz, werden sowohl bei der Translationsinitiation als auch beim desadenylierungsabhängigen mRNA-Abbau (s. *Abb. 7-69*) benutzt. Die Desadenylase, die den poly-A-Schwanz von 3' nach 5' verkürzt, assoziiert auch mit dem 5'-Cap. Wie in *Kapitel 6* (s. *Abb. 6-70*) beschrieben, assoziiert auch die Translationsinitiationsmaschinerie mit dem 5'-Cap und dem poly-A-Schwanz. (Verändert nach M. Gao *et al.*, *Mol. Cell* 5:479–488, 2000. Mit Erlaubnis von Elsevier.)





torprotein codiert, das das Eisen transportierende Protein Transferrin bindet; dies verursacht, dass der Rezeptor in geringerem Maße gebildet wird. Diese Wirkung wird durch das eisenempfindliche RNA-bindende Protein Aconitase vermittelt. Aconitase kann an die 3'-UTR der Transferrinrezeptor-mRNA binden, so die endonukleolytische Spaltung der mRNA verhindern und eine Erhöhung der Rezeptorproduktion bewirken. Durch Zugabe von Eisen wird die Aconitase von der mRNA freigesetzt, wodurch die Spaltungsstelle exponiert wird und somit die Stabilität der mRNA abnimmt (Abb. 7-71).

7.6.14 P-Körperchen und Stressgranula sind an der Regulation der mRNA-Stabilität beteiligt

In Kapitel 3 und 6 haben wir gesehen, dass große Aggregate aus Proteinen und Nukleinsäuren, die zusammenarbeiten, oft durch lockere, niedrigaffine Verbindungen in Nachbarschaft gehalten werden (s. Abb. 3-36). Auf diese Weise fungieren sie als „Organellen“, obwohl sie nicht von Membranen umschlossen sind. Viele der im vorigen Abschnitt behandelten Ereignisse – einschließlich des Cap-Abbaus und des RNA-Abbaus – finden in Aggregaten statt, den sogenannten *Prozessierungs-* oder *P-Körperchen*, die im Cytosol vorliegen (Abb. 7-72).

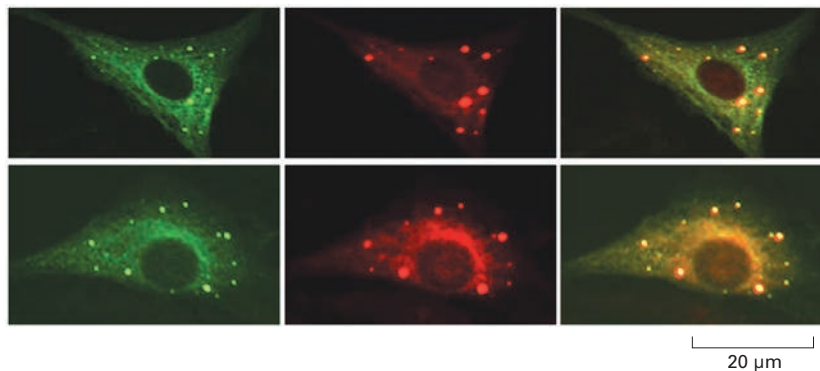


Abb. 7-71 Zwei durch Eisen vermittelte posttranslationale Kontrollen. (A) Während des Eisenmangels blockiert die Bindung der Aconitase an die 5'-UTR der Ferritin-mRNA die Translationsinitiation; ihre Bindung an die 3'-UTR der Transferrinrezeptor-mRNA blockiert eine Endonuklease-Schnittstelle und stabilisiert dabei die mRNA. (B) Als Reaktion auf die Zunahme der Eisenkonzentration im Cytosol steigert eine Zelle ihre Ferritinsynthese, um das zusätzliche Eisen zu binden, und sie senkt die Synthese des Transferrinrezeptors, um weniger Eisen durch die Plasmamembran zu befördern. Beide Reaktionen werden durch das gleiche auf Fe-Ionen reagierende Kontrollprotein, Aconitase, ausgelöst, das gemeinsame Eigenschaften in einer Haarnadelstruktur in den mRNAs von Ferritin und vom Transferrinrezeptor erkennt. Aconitase dissoziiert von der mRNA, wenn es ein Fe-Ion bindet. Da der Transferrinrezeptor und das Ferritin durch verschiedene Mechanismen reguliert werden, antworten ihre Spiegel entgegengesetzt auf Eisen-Konzentrationen, obwohl sie durch das gleiche eisenabhängige Kontrollprotein reguliert werden. (Verändert nach M. W. Hentze *et al.*, *Science* 238:1570–1573, 1987 und J. L. Casey *et al.*, *Science* 240:924–928, 1988. Mit Erlaubnis der AAAS.)

Abb. 7-72 Sichtbarmachen der P-Körperchen. Menschliche Zellen wurden mit einem Antikörper gegen eine Komponente des Enzyms Dcp1a (*decapping enzyme*, linke Bilder), das an der mRNA das Cap beseitigt, und gegen das Protein Argonaut (*mittlere Bilder*) gefärbt. Wie an späterer Stelle in diesem Kapitel beschrieben, ist Argonaut eine Schlüsselkomponente der RNA-Interferenzwege. Die übereinandergelegten Bilder (*rechte Bilder*) zeigen, dass die beiden Proteine im Cytoplasma gemeinsam in den sogenannten P-Körperchen lokalisieren. (Verändert nach J. Liu *et al.*, *Nat. Cell Biol.* 7:719–723, 2005. Mit Erlaubnis von Macmillan Publishers Ltd.)

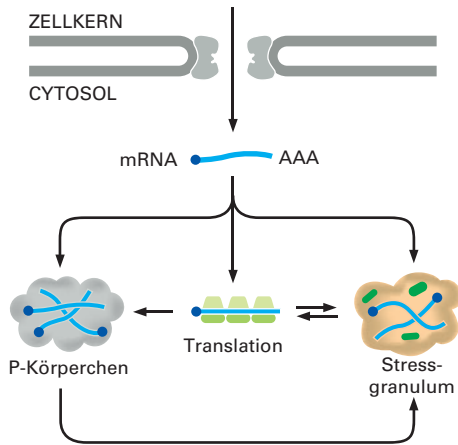


Abb. 7-73 Mögliches Schicksal eines mRNA-Moleküls. Ein aus dem Zellkern freigesetztes mRNA-Molekül kann aktiv translatiert (Mitte), in Stressgranula gespeichert (rechts) oder in P-Körperchen abgebaut (links) werden. Wenn sich die Bedürfnisse der Zelle ändern, können mRNAs, wie durch die Pfeile angedeutet, von einer Stelle zur nächsten verschoben werden.

Obwohl viele mRNAs letztendlich in P-Körperchen abgebaut werden, bleiben manche intakt und werden später wieder dem Vorrat der translatierenden mRNAs zurückgegeben. Um auf diese Weise „gerettet“ zu werden, wandern die mRNAs von den P-Körperchen zu einem anderen Aggregattyp, dem *Stressgranulum*, das Translationsinitiationsfaktoren, poly-A-Bindeproteine und kleine Ribosomenuntereinheiten enthält. Die Translation selbst findet in den Stressgranula nicht statt, aber mRNAs können „translationsbereit“ gemacht werden, wenn die an sie in den P-Körperchen gebundenen Proteine durch diejenigen in den Stressgranula ersetzt werden. Die Wanderung der mRNAs zwischen der aktiven Translation, den P-Körperchen und den Stressgranula kann als mRNA-Kreislauf (Abb. 7-73) angesehen werden, in dem die Konkurrenz zwischen Translation und mRNA-Abbau sorgfältig kontrolliert wird. Wenn der Start der Translation blockiert wird (durch Hungern, Arzneistoffe oder genetische Manipulation), vergrößern sich die Stressgranula, da ihnen immer mehr nicht translatierte mRNAs zur Speicherung direkt zugeführt werden. Wenn eine Zelle die große Investition gemacht hat, ein ordentlich prozessiertes mRNA-Molekül zu erzeugen, kontrolliert sie offensichtlich sein nachfolgendes Schicksal sorgfältig.

Zusammenfassung

Viele Schritte auf dem Weg von der RNA zum Protein werden durch die Zellen reguliert, um die Genexpression zu kontrollieren. Außer der Kontrolle im Anfangsstadium der Transkription werden die meisten Gene auf mehreren Ebenen reguliert. Zu den Regulationsmechanismen zählen: (1) RNA-Transkriptabschwächung durch vorzeitige Beendigung, (2) alternative RNA-Spleißstellenauswahl, (3) Kontrolle der 3'-Endenbildung durch Schneiden und poly-A-Anheftung, (4) RNA-Editierung, (5) Kontrolle des Transports vom Zellkern zum Cytoplasma, (6) Lokalisierung der mRNAs in bestimmten Zellregionen, (7) Kontrolle des Translationsstarts und (8) regulierter mRNA-Abbau. Die meisten dieser Kontrollvorgänge erfordern die Erkennung spezifischer Sequenzen oder Strukturen im zu regulierenden RNA-Molekül, eine Aufgabe, die entweder durch Regulationsproteine oder regulatorische RNA-Moleküle ausgeführt wird.

7.7 Regulation der Genexpression durch nicht codierende RNAs

Im vorigen Kapitel haben wir das zentrale Dogma eingeführt, demgemäß der Fluss der genetischen Information von der DNA über die RNA zum Protein verläuft (s. Abb. 6-1). Aber wir haben immer wieder in diesem Buch gesehen, dass RNA-Moleküle neben ihrer Übermittlerfunktion für genetische Information viele andere entscheidende Aufgaben in der Zelle wahrnehmen. Unter diesen nicht codierenden RNAs sind rRNA- und tRNA-Moleküle, die für das Lesen des genetischen Codes und die Proteinsynthese verantwortlich sind. Das RNA-Molekül in der Telomerase dient als Matrize für die Replikation der Chromosomenenden, snoRNAs modifizieren ribosomale RNA und snRNAs führen die wichtigsten Abläufe des RNA-Spleißens aus. Und im vorangegangenen Abschnitt haben wir gesehen, dass Xist-RNA eine wichtige Rolle bei der Inaktivierung einer Kopie des X-Chromosoms in weiblichen Individuen spielt.

Eine Reihe von Entdeckungen in jüngster Zeit hat offenbart, dass nicht codierende RNAs weit mehr vorherrschen, als man zuvor dachte. Wir wissen jetzt, dass solche RNAs weitreichende Aufgaben bei der Regulation der Genexpression sowie dem Schutz des Genoms vor Viren und springenden Elementen wahrnehmen. Diese neu entdeckten RNAs sind Gegenstand dieses Abschnitts.

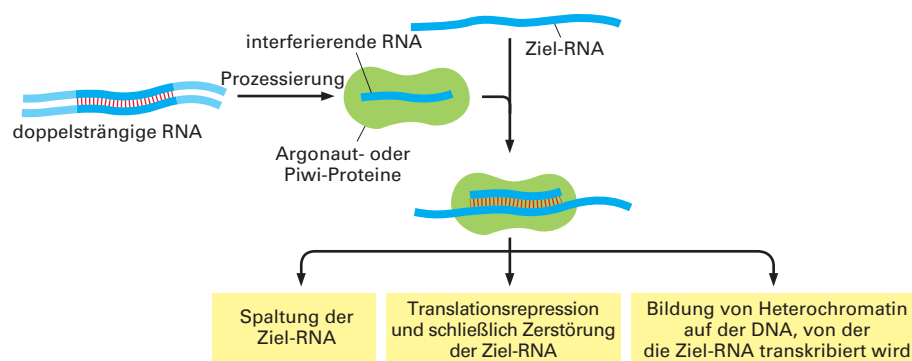


Abb. 7-74 RNA-Interferenz in Eukaryoten. Aus doppelsträngigen RNAs werden einzelsträngige Interferenz-RNAs gebildet. Diese orten Ziel-RNAs über Basenpaarung und an diesem Punkt sind, wie gezeigt, mehrere Schicksale möglich. Wie im Text beschrieben, gibt es mehrere Arten von RNA-Interferenz; die Art und Weise, wie die doppelsträngige RNA gebildet und bearbeitet wird, sowie das letztendliche Schicksal der Ziel-RNA hängen von dem jeweiligen System ab.

7.7.1 Kleine nicht codierende RNA-Transkripte regulieren durch RNA-Interferenz viele tierische und pflanzliche Gene

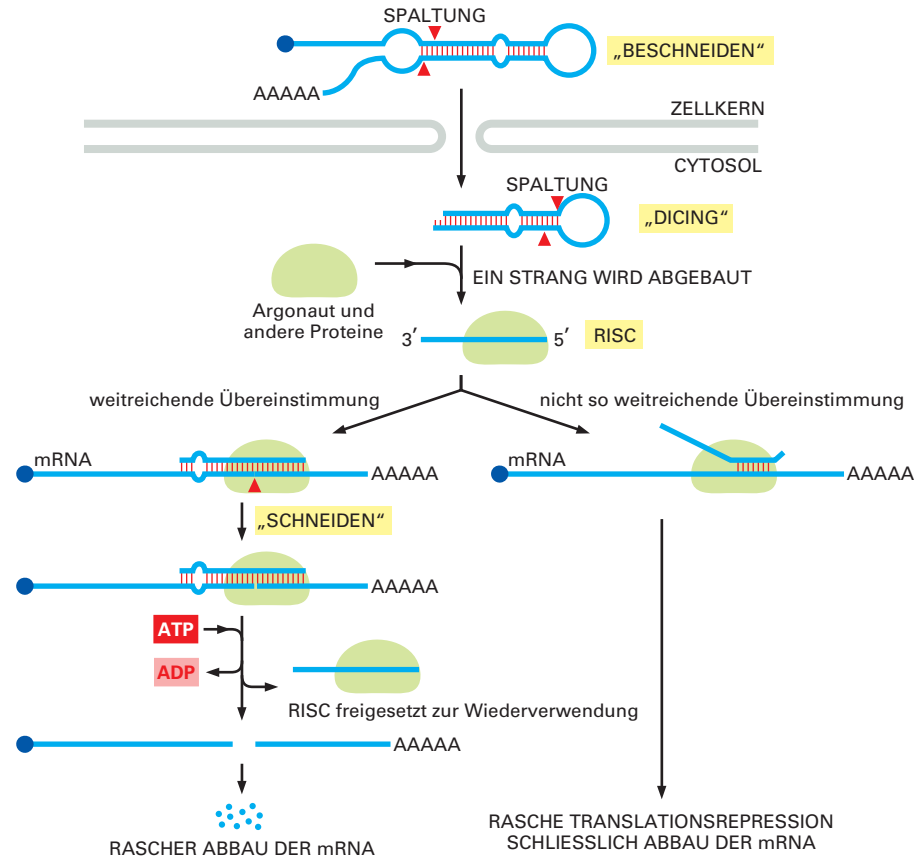
Wir beginnen unsere Besprechung mit einer Gruppe kurzer RNAs, die **RNA-Interferenz** oder **RNAi** ausführen. Hier dienen kurze einzelsträngige RNAs (20–30 Nukleotide) als Leit-RNA, die selektiv – über Basenpaarung – andere RNAs in der Zelle umgruppiert und bindet. Wenn es sich bei dem Ziel um eine reife mRNA handelt, können die kleinen nicht codierenden RNAs ihre Translation hemmen oder sogar ihre Zerstörung katalysieren. Falls das RNA-Zielmolekül sich im Transkriptionsvorgang befindet, kann die kleine nicht codierende RNA an es binden und die Bildung bestimmter repressiver Chromatinarten auf seiner angehefteten DNA-Matrize steuern (Abb. 7-74). Drei Klassen kleiner nicht codierender RNAs arbeiten auf diese Weise – *microRNAs* (*miRNAs*), *kleine interferierende RNAs* (*siRNAs*, engl. *small interfering RNAs*) und *piwi-wechselwirkende RNAs* (*piRNAs*, engl. *piwi-interacting RNAs*) – und wir behandeln sie nacheinander in den folgenden Abschnitten. Obwohl sie sich hinsichtlich der Weise, wie die kurzen Stücke einzelsträngiger RNA erzeugt werden, unterscheiden, orten alle drei Arten kurzer RNAs ihre Ziele über eine RNA–RNA-Basenpaarung und im Allgemeinen verursachen sie eine Verringerung der Genexpression.

7.7.2 miRNAs regulieren die mRNA-Translation und -Stabilität

Der Mensch exprimiert beispielsweise über 1.000 verschiedene **microRNAs** (**miRNAs**), und diese scheinen zumindest ein Drittel aller menschlichen proteincodierenden Gene zu regulieren. Sobald sie hergestellt sind, basenpaaren sich miRNAs mit bestimmten mRNAs und stimmen deren Translation und Stabilität fein ab. Die miRNA-Vorstufen werden von der RNA-Polymerase II synthetisiert, mit einem Cap versehen und polyadenyliert. Sie unterliegen dann einer speziellen Art von Prozessierung, nach der sich die miRNA (typischerweise 23 Nukleotide lang) mit einer Reihe von Proteinen zu einem Komplex namens RISC (*RNA-induzierter Stilllegungskomplex*, engl. *RNA-induced silencing complex*) zusammenlagert. Sobald sich der RISC gebildet hat, spürt er seine Ziel-mRNAs auf, indem er nach komplementären Nukleotidsequenzen sucht (Abb. 7-75). Diese Suche wird durch das Argonaut-Protein erheblich erleichtert, eine Komponente des RISC, die die 5'-Region der miRNA festhält, sodass sie optimal für die Basenpaarung mit einem anderen RNA-Molekül positioniert ist (Abb. 7-76). In Tieren erstreckt sich die Basenpaarung normalerweise über zumindest sieben Nukleotidpaare und findet zumeist in der 3'-UTR der Ziel-mRNA statt.

Sobald die mRNA von der miRNA gebunden wurde, sind mehrere Auswirkungen möglich. Wenn die Basenpaarung weitreichend ist (was beim Menschen unüblich, aber bei Pflanzen üblich ist), wird die mRNA vom Argonaut-Protein gespalten, wodurch ihr poly-A-Schwanz erfolgreich entfernt und sie den Exonukleasen ausgesetzt wird (s. Abb. 7-69). Auf die Spaltung der mRNA folgt

Abb. 7-75 miRNA-Prozessierung und Wirkmechanismus. Die miRNA-Vorstufe bildet über die Komplementarität zwischen einem Teil ihrer Sequenz und einem anderen eine doppelsträngige Struktur. Diese RNA wird beschnitten, während sie noch im Zellkern ist, und dann ins Cytosol exportiert, wo sie vom Enzym Dicer noch weiter geschnitten wird, sodass die richtige miRNA entsteht. Argonaut, in Verbindung mit anderen Komponenten des RISC, verbindet sich zunächst mit beiden Strängen der miRNA, spaltet dann einen davon und verwirft ihn. Der andere Strang lenkt RISC durch Basenpaarung zu spezifischen mRNAs. Wenn die RNA-RNA-Paarung weitreichend ist, wie man es üblicherweise in Pflanzen beobachtet, dann schneidet Argonaut die Ziel-mRNA und verursacht dadurch ihren raschen Abbau. Bei Säugern erstreckt sich die miRNA-mRNA-Paarung oft nicht weiter als bis zu einer kurzen 7-Nukleotid-„Keim“-Region in der Nähe des 5'-Endes der miRNA. Diese weniger ausgedehnte Basenpaarung führt zur Hemmung der Translation, mRNA-Destabilisierung und Übergabe der mRNA an P-Körperchen, wo sie letztlich abgebaut wird.

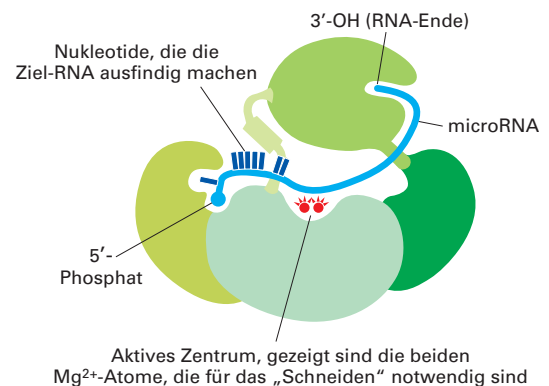


die Freisetzung des RISC (mit der assoziierten miRNA), der nun weitere mRNAs ausfindig machen kann (s. Abb. 7-75). Somit kann eine einzelne miRNA katalytisch arbeiten und viele komplementäre mRNAs zerstören. Man kann sich somit diese miRNAs als Leitsequenzen vorstellen, die die abbauenden Nukleasen mit spezifischen mRNAs in Kontakt bringen.

Falls die Basenpaarung zwischen der miRNA und der mRNA nicht so ausgedehnt ist (wie man bei den meisten menschlichen miRNAs beobachtet), schneidet Argonaut die mRNA nicht; stattdessen wird die Translation der mRNA reprimiert und die mRNA pendelt zu den P-Körperchen (s. Abb. 7-73), wo sie sich vor den Ribosomen verborgen schließlich der Verkürzung des poly-A-Schwanzes, dem Entfernen des Caps und dem Abbau unterwirft.

Mehrere Eigenschaften machen die miRNAs zu besonders nützlichen Regulatoren der Genexpression. Erstens kann ein einzelnes miRNA-Molekül eine ganze Reihe verschiedener mRNAs regulieren, solange die mRNAs in ihren

Abb. 7-76 Menschliches Argonaut-Protein, das eine miRNA trägt. Das Protein ist in vier Strukturdomänen gefaltet, jede ist mit einer anderen Farbe kenntlich gemacht. Die miRNA ist in einer ausgestreckten Form gehalten, die optimal für die Bildung der RNA-RNA-Basenpaare ist. Das Aktive Zentrum von Argonaut, das eine Ziel-RNA „schneidet“, wenn sie mit einer miRNA ausgiebig Basenpaare ausgebildet hat, ist rot gezeigt. Viele Argonaut-Proteine (z. B. drei von vier der menschlichen Proteine) haben kein Katalysezentrum und binden deshalb Ziel-RNAs, ohne sie zu schneiden. (Nach C. D. Kuhn und L. Joshua-Tor, *Trends Biochem. Sci.* 38:262–271, 2003. Mit Erlaubnis von Cell Press.)



UTRs eine gemeinsame Sequenz tragen. Diese Situation ist beim Menschen üblich, wo eine einzelne miRNA Hunderte verschiedener mRNAs kontrollieren kann. Zweitens kann die Regulation durch miRNAs kombinatorisch sein. Wenn es der Basenpaarung zwischen der miRNA und der mRNA misslingt, die Spaltung einzuleiten, dann führen weitere miRNAs, die an dieselbe mRNA binden, zu einer weiteren Verringerung ihrer Translation. Wie an früherer Stelle für Transkriptionsregulatoren besprochen, erweitert die kombinatorische Kontrolle die für die Zelle verfügbaren Möglichkeiten enorm, indem sie die Genexpression mit einer Kombination verschiedener Regulatoren – anstatt mit einem einzigen Regulator – verbindet. Drittens nimmt eine miRNA im Vergleich zu einem Protein relativ wenig Raum im Genom ein. Tatsächlich ist ihre kleine Größe der Grund dafür, dass die miRNAs erst vor kurzem entdeckt wurden. Obwohl wir erst jetzt beginnen, die volle Bedeutung von miRNAs zu würdigen, ist es klar, dass sie einen sehr wichtigen Teil der zellulären Ausstattung für die Regulation der Expression der Zellgene darstellen. Wir behandeln spezielle Beispiele von miRNAs, die wichtige Funktionen in der Entwicklung haben, in [Kapitel 21](#).

7.7.3 RNA-Interferenz wird auch als zellulärer Abwehrmechanismus verwendet

Viele der Proteine, die an dem eben beschriebenen miRNA-Regulationsmechanismus beteiligt sind, haben auch eine weitere Funktion als Abwehrmechanismus: Sie koordinieren den Abbau fremder RNA-Moleküle, insbesondere jener, die in doppelsträngiger Form vorkommen. Viele springende Elemente und Viren bilden im Laufe ihres Lebenszyklus zumindest vorübergehend doppelsträngige RNA, und RNA-Interferenz hält solche potenziell schädlichen Eindringlinge in Schach. Wie wir sehen werden, liefert diese Form von RNAi der Forschung auch eine wirkungsvolle Experimentiertechnik, um die Expression einzelner Gene einer Zelle abzuschalten.

Die Anwesenheit doppelsträngiger RNA in der Zelle löst RNAi aus, indem sie einen Proteinkomplex anlockt, der *Dicer* enthält, die gleiche Nuklease, die miRNAs prozessiert (s. [Abb. 7–75](#)). Dieses Protein spaltet die doppelsträngige RNA in kleine Bruchstücke (etwa 23 Nukleotidpaare), die man **siRNAs (small interfering RNAs, kleine interferierende RNAs Interferenz-RNAs)** nennt. Diese doppelsträngigen siRNAs werden dann von Argonaut und anderen Komponenten des RISC gebunden. Wie wir oben für miRNAs gesehen haben, wird ein Strang des RNA-Doppelstrangs von Argonaut geschnitten und verworfen. Das einzelsträngige siRNA-Molekül, das übrig bleibt, lenkt RISC zurück zu komplementären RNA-Molekülen, die vom Virus oder transponierbaren Elementen gebildet werden. Weil die Paarung in der Regel exakt ist, schneidet Argonaut diese Moleküle, was zu deren rascher Zerstörung führt.

Jedes Mal, wenn RISC ein neues RNA-Molekül spaltet, wird RISC wieder freigesetzt. Somit kann ein einzelnes RNA-Molekül – so wie wir es bei miRNAs gesehen haben – katalytisch arbeiten und viele komplementäre RNAs zerstören. Manche Organismen verwenden einen weiteren Mechanismus, der die RNAi-Antwort noch weiter verstärkt. In diesen Organismen verwenden RNA-abhängige RNA-Polymerasen siRNAs als Primer, um zusätzliche Kopien der doppelsträngigen RNAs zu bilden, die dann zu siRNAs geschnitten werden. Diese Vermehrung gewährleistet, dass die RNA-Interferenz, sobald sie begonnen hat, sogar dann weiter wirken kann, nachdem die gesamte auslösende doppelsträngige RNA abgebaut oder ausgedünnt wurde. So können beispielsweise Tochterzellen die spezifische RNA-Interferenz weiterführen, die in der Mutterzelle ausgelöst wurde.

In manchen Organismen kann RNA-Interferenzaktivität durch die Übertragung von RNA-Fragmenten von Zelle zu Zelle verbreitet werden. Dies ist

besonders wichtig für Pflanzen (deren Zellen, wie wir in [Kapitel 19](#) erfahren werden, durch dünne, verbindende Kanäle vernetzt sind), da es so einer ganzen Pflanze möglich ist, resistent gegen ein RNA-Virus zu werden, obwohl nur wenige ihrer Zellen infiziert wurden. Im weiteren Sinn ähnelt die RNAi-Antwort bestimmten Aspekten des tierischen Immunsystems; in beiden Fällen erzeugt ein eindringender Organismus eine individuelle Reaktion, und der Wirt wird – durch Vermehrung der „Angriffs“-Moleküle – systemisch geschützt.

Wir haben gesehen, dass miRNAs und siRNAs, obwohl auf leicht unterschiedliche Weise erzeugt, auf die gleichen Proteine bauen und ihre Ziele auf grundsätzlich ähnliche Weise suchen. Weil siRNAs in den verschiedensten Spezies zu finden sind, glaubt man, dass sie die älteste Form der RNA-Interferenz darstellen, mit miRNAs als spätere Verfeinerung. Diese siRNA-vermittelten Abwehrmechanismen sind für Pflanzen, Würmer und Insekten wesentlich. In Säugetieren hat ein proteinbasiertes System (in [Kapitel 24](#) beschrieben) größtenteils die Aufgabe der Virenabwehr übernommen.

7.7.4 RNA-Interferenz kann die Heterochomatinbildung steuern

Der eben beschriebene siRNA-Interferenzweg stoppt nicht zwangsläufig mit der Zerstörung der Ziel-RNA-Moleküle. In manchen Fällen kann die RNA-Interferenzmaschinerie auch selektiv die *Synthese* der Ziel-RNAs abschalten. Damit dies abläuft, vereinigen sich die kurzen, vom Protein Dicer gebildeten siRNAs mit einer Gruppe von Proteinen (einschließlich Argonaut), um den RITS-Komplex (*RNA-induzierter transkriptionaler Stilllegungskomplex*, engl. *RNA-induced transcriptional silencing complex*) zu bilden. Mithilfe einzelsträngiger siRNA als Leitsequenz bindet dieser Komplex komplementäre RNA-Transkripte, wenn sie an einer transkribierenden RNA-Polymerase II entstehen ([Abb. 7–77](#)). Auf diese Weise auf dem Genom positioniert, zieht der RITS-Komplex Proteine an, die benachbarte Histone kovalent modifizieren, und bewirkt schließlich die Bildung

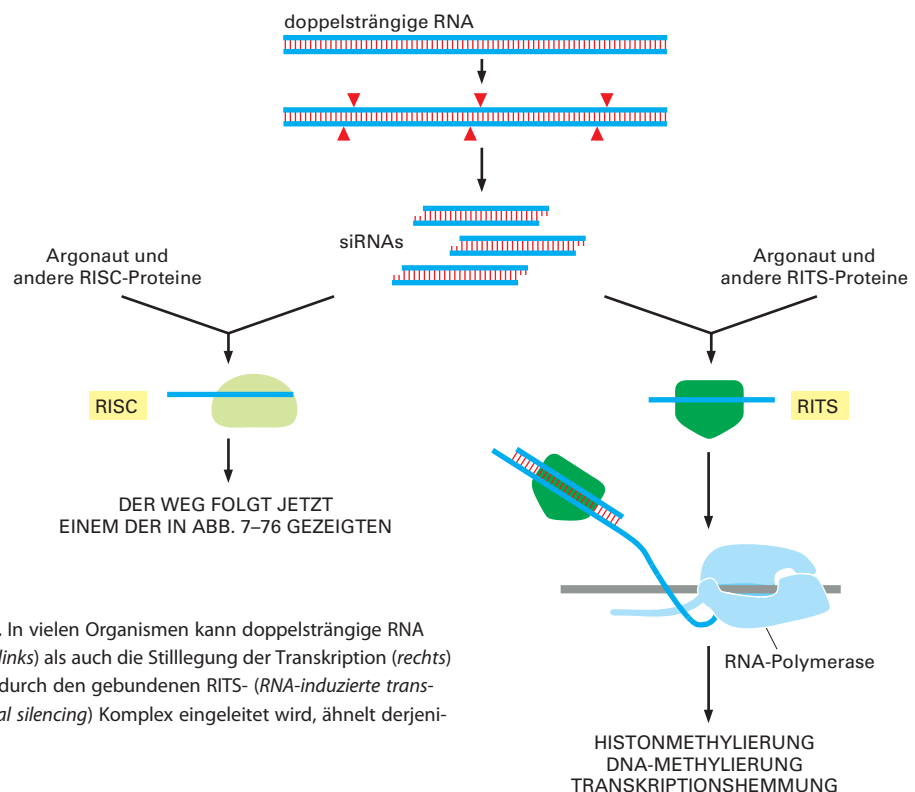


Abb. 7–77 Durch siRNA gesteuerte RNA-Interferenz. In vielen Organismen kann doppelsträngige RNA sowohl die Zerstörung der komplementären mRNAs (*links*) als auch die Stilllegung der Transkription (*rechts*) ankurbeln. Die Änderung der Chromatinstruktur, die durch den gebundenen RITS- (*RNA-induzierte transkriptionale Stilllegung*, engl. *RNA-induced transcriptional silencing*) Komplex eingeleitet wird, ähnelt derjenigen in [Abb. 7–45](#).

von Heterochromatin, um eine weitere Transkriptionsinitiation zu verhindern. In manchen Fällen werden auch eine RNA-abhängige RNA-Polymerase und ein Dicer-Enzym durch den RITS-Komplex rekrutiert, um fortwährend weitere siRNAs *in situ* zu erzeugen. Diese positive Rückkopplungsschleife gewährleistet sogar dann die fortgesetzte Repression des Zielgens, wenn die initiierten siRNA-Moleküle verschwunden sind.

Die RNAi-gesteuerte Heterochromatinbildung ist ein wichtiger zellulärer Abwehrmechanismus, der die Ausbreitung transponierbarer Elemente im Genom beschränkt, indem er ihre DNA-Sequenzen in einer transkriptionsstummen Form hält. Der gleiche Mechanismus wird aber auch bei manchen anderen Vorgängen in der Zelle verwendet. In vielen Organismen erhält beispielsweise die RNA-Interferenzmaschinerie das um Centromere gebildete Heterochromatin aufrecht. Centromer-DNA-Sequenzen werden in beide Richtungen transkribiert, wobei komplementäre RNA-Transkripte entstehen, die über Basenpaarung eine doppelsträngige RNA bilden können. Diese doppelsträngige RNA kurbelt den RNA-Interferenzweg an und stimuliert die Bildung von Heterochromatin, das die Centromere umgibt. Dieses Heterochromatin ist wiederum nötig, damit die Centromere während der Mitose die Chromosomen exakt trennen können.

7.7.5 piRNAs schützen die Keimbahn vor springenden Elementen

Ein drittes RNA-Interferenzsystem baut auf **piRNAs (piwi-wechselwirkende RNAs, engl. *piwi-interacting RNAs***, benannt nach Piwi, einer mit Argonaut verwandten Proteinklasse). piRNAs werden speziell in der Keimbahn gebildet, wo sie die Bewegung springender Elemente blockieren. Die Gene, die für piRNAs codieren finden sich in vielen Lebewesen, einschließlich des Menschen, und sie bestehen größtenteils aus Sequenzbruchstücken springender Elemente. Diese Fragment-Cluster werden transkribiert und in kurze einzelsträngige piRNAs aufgebrochen. Die Prozessierung unterscheidet sich von der bei miRNAs und siRNAs (z. B. ist das Dicer-Enzym nicht daran beteiligt) und die daraus hervorgehenden piRNAs sind geringfügig länger als miRNAs und siRNAs; zudem sind sie im Komplex mit Piwi- anstatt mit Argonaut-Proteinen. Sobald sie gebildet sind, suchen die piRNAs RNA-Ziele durch Basenpaarung und ganz wie siRNAs schalten sie die Transkription intakter Transposogene stumm und zerstören jede RNA (einschließlich mRNAs), die von ihnen gebildet wird.

Viele Geheimnisse umgeben die piRNAs. Über eine Million piRNA-Arten sind in den Genomen vieler Säugetiere verschlüsselt und in den Hoden exprimiert, wenngleich nur ein kleiner Anteil gegen die in diesen Genomen vorhandenen Transposons gerichtet ist. Sind die piRNAs Überbleibsel oder ehemalige Invasoren? Decken sie so viel „Sequenzraum“ ab, dass sie vor jeder fremden DNA weitgehend Schutz bieten können? Eine andere kuriose Eigenschaft der piRNAs ist, dass viele von ihnen (insbesondere, wenn die Basenpaarung nicht perfekt sein muss) grundsätzlich die normalen, vom Organismus gebildeten mRNAs angreifen müssten, dies aber nicht tun. Man hat vorgeschlagen, dass die große Anzahl von piRNAs ein System bilden könnte, um „eigene“ RNAs von „fremden“ RNAs zu unterscheiden und nur Letztere anzugreifen. Wenn das der Fall ist, muss es für die Zelle einen speziellen Weg geben, ihre eigenen RNAs zu verschonen. Eine Vorstellung ist, dass RNAs, die in der vorausgegangenen Generation eines Organismus gebildet wurden, irgendwie registriert werden und in nachfolgenden Generationen von einem piRNA-Angriff verschont bleiben. Ob dieser Mechanismus tatsächlich existiert oder nicht, und falls ja, wie er dann arbeitet, sind Fragen, die unser unvollständiges Verständnis der vollen Bedeutung der RNA-Interferenz zeigen.

7.7.6 RNA-Interferenz wurde ein schlagkräftiges Werkzeug für Experimente

Obwohl die RNA-Interferenz wahrscheinlich als Abwehrmechanismus gegen Viren und springende Elemente entstand, wurde sie, wie wir gesehen haben, vollumfänglich in viele Aspekte der normalen Zellbiologie integriert – von der Kontrolle der Genexpression bis zur Struktur von Chromosomen. Sie wurde auch von Wissenschaftlern zu einem leistungsfähigen experimentellen Werkzeug entwickelt, das die Inaktivierung nahezu jedes Gens gestattet, indem eine RNAi-Antwort gegen das Gen hervorgerufen wird. Diese Technik, die leicht in kultivierten Zellen und manchmal in ganzen Tieren und Pflanzen ausgeführt wird, hat neue genetische Ansätze in der Zell- und Molekularbiologie ermöglicht. Wir werden sie im nächsten Kapitel ausführlicher behandeln, in dem wir moderne genetische Methoden besprechen, die zur Untersuchung von Zellen eingesetzt werden (s. [Abschnitt 8.5.15](#)). Die RNAi besitzt auch ein großes Potenzial bei der Behandlung menschlicher Krankheiten. Da viele Krankheiten beim Menschen von der Fehlexpression von Genen herrühren, ist die Fähigkeit, diese Gene durch experimentell eingeführte komplementäre siRNA-Moleküle abzuschalten, medizinisch vielversprechend. Obwohl der Mechanismus der RNA-Interferenz schon vor einigen Jahrzehnten entdeckt wurde, werden wir immer noch von seinen mechanistischen Details und seinen breiten biologischen Konsequenzen überrascht.

7.7.7 Bakterien verwenden kleine nicht codierende RNAs, um sich vor Viren zu schützen

Bakterien machen die große Mehrheit der Biomasse der Erde aus und, was nicht überrascht, Viren, die Bakterien befallen, übertreffen die Pflanzen- und Tierviren zahlenmäßig. Diese Viren besitzen im Allgemeinen DNA-Genome. Eine neuere Entdeckung enthüllte, dass viele Bakterienarten (und nahezu alle Arten von Archaeobakterien) einen Vorrat kleiner nicht codierender RNA-Moleküle benutzen, um die DNA eindringender Viren ausfindig zu machen und zu zerstören. Viele Eigenschaften dieses Abwehrmechanismus, als **CRISPR**-System bekannt, ähneln denjenigen, die wir oben für miRNAs und siRNAs gesehen haben, aber es gibt zwei entscheidende Unterschiede. Erstens, wenn Bakterien und Archaeen erstmals von einem Virus befallen werden, haben sie einen Mechanismus, der verursacht, dass kurze Bruchstücke dieser viralen DNA in ihr Genom eingebaut werden. Diese dienen insofern als „Impfstoffe“, als sie Matrizen für die Bildung kleiner nicht codierender RNAs werden, die **crRNAs** (CRISPR-RNAs), die danach das Virus zerstören, sollte es die Nachkommen der ursprünglichen Zelle erneut infizieren. Dieser Aspekt des CRISPR-Systems ähnelt prinzipiell der adaptiven (erworbenen) Immunität bei Säugetieren, insofern als die Zelle eine Aufzeichnung vergangener Kontakte trägt, die dazu dient, vor künftigen Expositionen zu schützen. Die zweite, sich unterscheidende Eigenschaft des CRISPR-Systems ist, dass diese crRNAs dann mit speziellen Proteinen vergesellschaftet werden, die es ihnen erlauben, anstatt einzelsträngiger RNA-Moleküle doppelsträngige DNA-Moleküle aufzuspüren und zu zerstören.

Obwohl noch viele Einzelheiten der CRISPR-vermittelten Immunität auf ihre Entdeckung warten, können wir den allgemeinen Vorgang in drei Schritten skizzieren ([Abb. 7–78](#)). Im ersten Schritt werden virale DNA-Sequenzen in spezielle Regionen des Bakteriengenoms, als CRISPR (geclusterte regulär unterbrochene kurze palindromische Wiederholung, engl. *clustered regularly interspersed short palindromic repeat*)-Loci bezeichnet, eingebaut; diese sind benannt nach der eigenartigen Struktur, die zuerst die Aufmerksamkeit der Wissenschaftler erweckte. In seinem einfachsten Fall besteht ein CRISPR-Locus aus mehreren

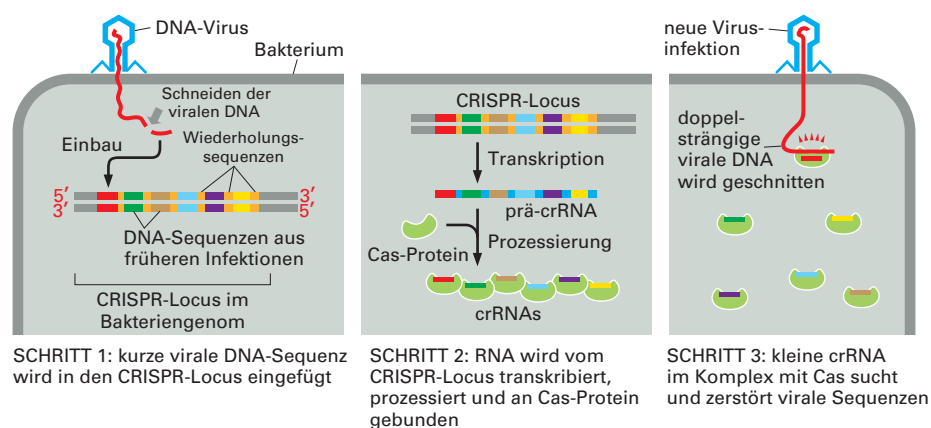


Abb. 7-78 CRISPR-vermittelte Immunität in Bakterien und Archaeobakterien. Nach der Infektion durch ein Virus (*linke Tafel*) wird ein kleines Stückchen des viralen Genoms in den CRISPR-Locus eingebaut. Damit dies passiert, muss ein kleiner Anteil der infizierten Zellen die anfängliche Virusinfektion überleben. Die überlebenden Zellen, oder allgemeiner ihre Nachkommen, transkribieren den CRISPR-Locus und bearbeiten das Transkript zu crRNAs (*mittlere Tafel*). Bei einer erneuten Infektion mit einem Virus, gegen das die Population bereits „geimpft“ wurde, wird die eindringende virale DNA durch eine komplementäre crRNA zerstört (*rechte Tafel*). Damit ein CRISPR-System effektiv sein kann, dürfen die crRNAs nicht den eigentlichen CRISPR-Locus zerstören, auch wenn die crRNAs eine zu ihm komplementäre Sequenz besitzen. Damit crRNAs das eindringende DNA-Molekül angreifen, muss es in vielen Spezies zusätzliche kurze Nukleotidsequenzen geben, die vom Zielmolekül getragen werden. Da diese sogenannten PAM (Protospacer benachbartes Motiv, engl. *protospacer adjacent motif*)-Sequenzen außerhalb der crRNA-Sequenzen liegen, bleibt der Wirts-CRISPR-Locus verschont (s. [Abb. 8-55](#)).

Hundert Wiederholungen einer Wirts-DNA-Sequenz, die mit einer großen Sequenzsammlung (typischerweise jeweils 25–70 Nukleotidpaare) durchsetzt ist, die von früheren Kontakten mit Viren und anderer Fremd-DNA stammt. Die neueste virale Sequenz wird immer am 5'-Ende des CRISPR-Locus eingebaut, dem Ende, das zuerst transkribiert wird. Jeder Locus trägt deshalb eine zeitliche Aufzeichnung vorangegangener Infektionen. Viele Bakterien- und Archaeenarten tragen mehrere große CRISPR-Loci in ihren Genomen und sind damit gegen eine große Bandbreite von Viren immun.

Im zweiten Schritt wird der CRISPR-Locus transkribiert, um ein langes RNA-Molekül zu bilden, das dann zu viel kürzeren (etwa 30 Nukleotide) crRNAs verarbeitet wird. Im dritten Schritt spüren crRNAs im Komplex mit *Cas*- (*CRISPR-assoziierten*) Proteinen komplementäre virale DNA-Sequenzen auf und steuern deren Zerstörung durch Nukleasen. Obgleich strukturell unähnlich, entsprechen *Cas*-Proteine den oben besprochenen Argonaut- und Piwi-Proteinen: Sie halten kleine einzelsträngige RNAs in einer ausgestreckten Konformation, die in diesem Fall zum Aufspüren komplementärer Basenpaare mit DNA optimiert ist.

Wir haben noch viel über die CRISPR-basierte Immunität in Bakterien und Archaeobakterien zu lernen. Der Mechanismus, über den Virussequenzen zunächst identifiziert und ins Wirtsgenom eingebaut werden, ist kaum verstanden, ebenso die Art und Weise, wie die crRNAs ihre komplementären Sequenzen in doppelsträngiger DNA finden. Zudem werden in verschiedenen Bakterien- und Archaeenarten crRNAs auf verschiedene Weise bearbeitet, und in manchen Fällen können die crRNAs sowohl virale RNAs als auch DNAs angreifen.

Im folgenden Kapitel werden wir sehen, dass bakterielle CRISPR-Systeme bereits künstlich in Pflanzen und Tiere eingebracht worden sind, wo sie zu sehr leistungsfähigen experimentellen Werkzeugen zur Manipulation von Genomen wurden.

7.7.8 Lange nicht codierende RNAs haben in der Zelle verschiedene Funktionen

In diesem und den vorausgegangenen Kapiteln haben wir gesehen, dass nicht codierende RNA-Moleküle viele Funktionen in der Zelle haben. Dennoch bleiben wie im Fall der Proteine viele nicht codierende RNAs übrig, deren Funktion immer noch unbekannt ist. Viele RNAs unbekannter Funktion gehören zu einer Gruppe, die **lange nicht codierende RNAs (lncRNAs)** genannt werden. Diese werden willkürlich als über 200 Nukleotide lange RNAs definiert, die nicht für Proteine codieren. Nachdem die Methoden zur Bestimmung der Nukleotidsequenzen aller von einer Zelllinie oder einem Gewebe gebildeten RNA-

Moleküle verbessert wurden, stellte sich die enorme Anzahl der lncRNAs (z. B. beim menschlichen Genom schätzungsweise 8.000) als eine Überraschung für die Wissenschaftler heraus. Die meisten lncRNAs werden von der RNA-Polymerase II transkribiert und besitzen 5'-Caps und poly-A-Schwänze, und in vielen Fällen werden sie gespleißt. Es war schwierig, lncRNAs zu beschreiben, weil, wie nun bekannt ist, von 75 % des Humangenoms RNA in niedrigen Konzentrationen gebildet wird. Man denkt, dass die meisten dieser RNAs vom Hintergrund-„Rauschen“ der Transkription und der RNA-Prozessierung stammen. Gemäß dieser Vorstellung bieten solche nichtfunktionalen RNAs keine Fitnessvorteile oder -nachteile für den Organismus und sind ein toleriertes Nebenprodukt der komplexen Genexpressionsmuster, die in Vielzellern gebildet werden müssen. Aus diesen Gründen ist es schwierig, die Anzahl der lncRNAs, die in der Zelle wahrscheinlich eine Funktion haben, abzuschätzen und sie von der Hintergrundtranskription zu unterscheiden.

Wir sind bereits auf einige wenige lncRNAs gestoßen, darunter die RNA in der Telomerase (s. Abb. 5–33), die Xist-RNA (s. Abb. 7–52) und eine an der Prägung beteiligte RNA (s. Abb. 7–49). Andere lncRNAs spielen eine Rolle bei der Kontrolle der Enzymaktivität von Proteinen, der Inaktivierung von Transkriptionsregulatoren, der Beeinflussung von Spleißmustern und der Blockierung der Translation bestimmter mRNAs.

Hinsichtlich der biologischen Funktion sollte lncRNA als Sammelbegriff betrachtet werden, der eine große Funktionsvielfalt umfasst. Dennoch gibt es zwei verbindende Eigenschaften der lncRNAs, die der Grund für ihre vielen Aufgaben in der Zelle sein können. Die erste ist, dass lncRNAs als *Gerüst-RNA-Moleküle* fungieren können, die Gruppen von Proteinen zusammenhalten, um deren Funktionen zu koordinieren (Abb. 7–79A). Wir haben bereits ein Beispiel bei der Telomerase gesehen, wo das RNA-Molekül Proteinkomponenten zusammenhält und organisiert. Diese RNA-basierten Gerüste entsprechen den in Kapitel 3 (s. Abb. 3–78) und Kapitel 6 (s. Abb. 6–47) behandelten Proteingerüsten. RNA-Moleküle eignen sich gut als Gerüste: Kleine RNA-Sequenzstückchen, oft die Teile, die die Stamm-Schleifen-Strukturen bilden, können als Bindungsstellen für Proteine dienen, und diese können aneinandergereiht sein, mit zufälligen RNA-Sequenzen dazwischen. Diese Eigenschaft mag ein Grund sein, warum lncRNAs eine relativ geringe Konservierung der Primärsequenz über die Arten hinweg zeigen.

Das zweite Hauptmerkmal der lncRNAs ist ihre Fähigkeit, als Leitsequenzen zu dienen, indem sie über Basenpaarung an spezifische RNA- oder DNA-Zielmoleküle binden. Bei diesem Vorgang bringen sie Proteine, die an sie gebunden sind, in enge Nachbarschaft zu DNA- und RNA-Sequenzen (Abb. 7–79B). Dieses Verhalten hat Ähnlichkeit mit demjenigen der snoRNAs (s. Abb. 6–41), crRNAs (s. Abb. 7–78) und miRNAs (s. Abb. 7–75), die allesamt auf diese Weise wirken, um Proteinenzyme zu spezifischen Nukleinsäuresequenzen zu lotsen.

In manchen Fällen arbeiten lncRNAs einfach über Basenpaarung, ohne Enzyme oder andere Proteine einzubeziehen. Eine Anzahl von lncRNA-Genen ist beispielsweise in proteincodierende Gene eingebettet, aber sie werden in die „falsche Richtung“ transkribiert. Diese (gegensinnigen) *Antisense-RNAs* können mit der mRNA (die in die „richtige“ Richtung transkribiert wurde) komplementäre Basenpaare bilden und deren Translation in das Protein blockieren (s. Abb. 7–66D). Andere Antisense-lncRNAs bilden mit prä-mRNAs Basenpaare, wenn diese synthetisiert werden, und ändern das RNA-Spleißmuster, indem sie Spleißstellensequenzen maskieren. Wieder andere wirken als „Schwämme“, indem sie Basenpaare mit miRNAs bilden und dabei deren Wirkungen abschwächen.

Schließlich ist anzumerken, dass manche lncRNAs nur *in cis* arbeiten, d. h. sie beeinflussen nur das Chromosom, von dem sie transkribiert wurden. Dies geschieht leicht, wenn die transkribierte RNA noch nicht von den RNA-Polymerasen freigesetzt wurde (Abb. 7–79C). Viele lncRNAs diffundieren jedoch weg

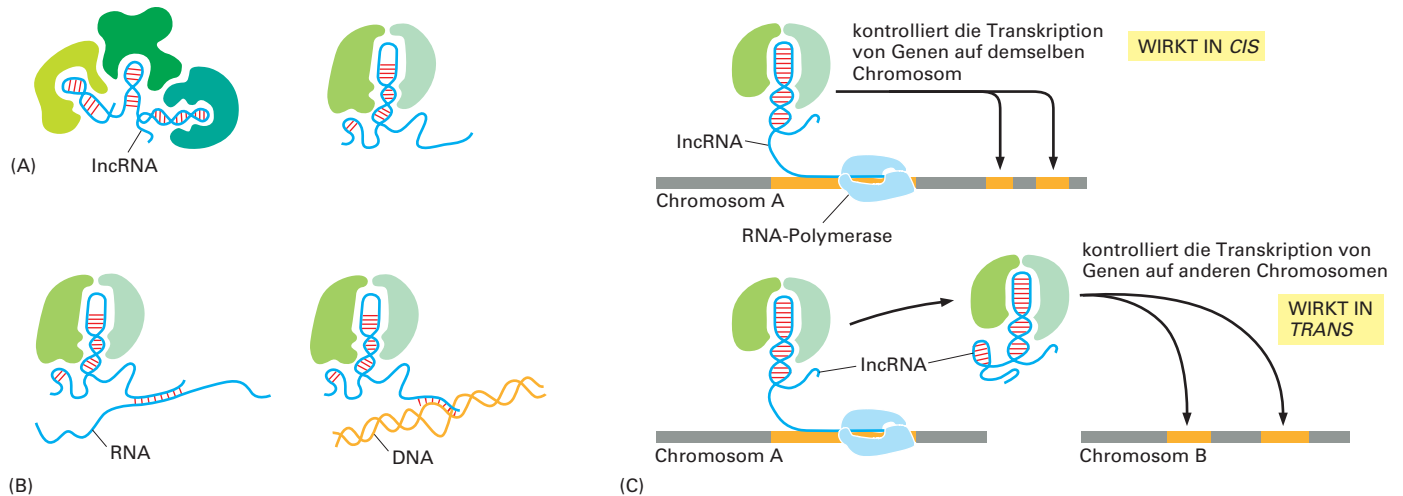


Abb. 7-79 Funktionen der langen nicht codierenden RNAs (lncRNAs). (A) lncRNAs können als Gerüste dienen, die Proteine zusammenbringen, die beim gleichen Vorgang mitwirken. Wie in Kapitel 6 beschrieben, können sich RNAs zu spezifischen dreidimensionalen Strukturen falten, die oft von Proteinen erkannt werden. (B) Zusätzlich zu ihrer Gerüstfunktion können lncRNAs über die Bildung komplexer Basenpaare Proteine an spezifischen Sequenzen auf RNA- oder DNA-Molekülen lokalisieren. (C) In manchen Fällen wirken lncRNAs nur *in cis*, z. B. wenn die RNA von der RNA-Polymerase an Ort und Stelle festgehalten wird (oben). Andere lncRNAs diffundieren jedoch weg von ihren Syntheseorten und wirken somit *in trans*.

von ihrem Synthesort und wirken *in trans*. Obwohl die am besten verstandenen lncRNAs im Zellkern arbeiten, finden sich auch viele im Cytosol. Die Funktionen – falls vorhanden – der überwiegenden Mehrheit dieser cytosolischen lncRNAs ist noch unentdeckt.

Zusammenfassung

RNA-Moleküle haben neben der Funktion als Informationsträger zur Spezifizierung der Aminosäuresequenz während der Proteinsynthese viele andere Verwendungen. Obwohl wir in anderen Kapiteln auf nicht codierende RNAs gestoßen sind (z. B. tRNAs, rRNAs, snoRNAs), hat die hohe Anzahl der von Zellen gebildeten nicht codierenden RNAs die Wissenschaftler überrascht. Eine gut verstandene Anwendung nicht codierender RNAs geschieht bei der RNA-Interferenz, bei der sich Leit-RNAs (miRNAs, siRNAs, piRNAs) mit mRNAs basenpaaren. RNA-Interferenz kann dazu führen, dass mRNA-Moleküle zerstört werden oder ihre Translation reprimiert wird. Sie kann auch bewirken, dass bestimmte Gene in Heterochromatin verpackt werden, um so ihre Transkription zu hemmen. In Bakterien und Archaeobakterien dient die RNA-Interferenz als adaptive Immunantwort, um Viren zu zerstören, die sie befallen. Vor Kurzem wurde eine große Familie langer nicht codierender RNAs (lncRNAs) entdeckt. Obwohl die Funktion der meisten dieser RNAs unbekannt ist, dienen manche als RNA-Gerüste, um spezifische Proteine und RNA-Moleküle zusammenzubringen, damit erforderliche Reaktionen beschleunigt werden.

Was wir nicht wissen

- Wie wird die Endgeschwindigkeit der Transkription eines Gens durch Hunderte von Proteinen spezifiziert, die sich auf seinen Kontrollregionen aufbauen? Werden wir je in der Lage sein, diese Geschwindigkeit aus der Betrachtung der DNA-Sequenzen der Kontrollregionen vorherzusagen?
- Wie dirigiert die Sammlung der *cis*-Regulationssequenzen in einem Genom das Entwicklungsprogramm eines Vielzellers?
- Wie viel der menschlichen Genomsequenz ist funktional und warum wird der Rest beibehalten?
- Welche der Tausende nicht untersuchter nicht codierender RNAs haben eine Funktion in der Zelle und was sind diese Funktionen?
- Waren in frühen Zellen Introns vorhanden (und gingen anschließend in manchen Lebewesen verloren) oder sind sie zu späteren Zeiten entstanden?

Literatur

7 Allgemein

- Brown, T.A. (2007) *Genomes 3*, Garland Science, New York; dt. (2007) *Genome und Gene*, 3. Aufl. Heidelberg: Spektrum.
- Epigenetics (2004) *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* **69**.
- Gilbert, S.F. (2013) *Developmental Biology*, 10th ed. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA.
- Hartwell, L., Hood, L., Goldberg, M.L. et al. (2010) *Genetics: From Genes to Genomes*. 4th edn McGraw Hill, Boston.
- McKnight, S.L., Yamamoto, K.R. (eds) (1993) *Transcriptional Regulation*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.
- Mechanisms of Transcription (1998) *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* **63**.
- Ptashne, M., Gann, A. (2002) *Genes and Signals*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.
- Watson, J., Baker, T., Bell, S. et al. (2013) *Molecular Biology of the Gene*, 7th ed. Benjamin Cummings, Menlo Park, CA.

7.1 Ein Überblick über die Genkontrolle

- Davidson, E.H. (2006) *The Regulatory Genome: Gene Regulatory Networks in Development and Evolution*. Elsevier, Burlington, MA.
- Gurdon, J.B. (1992) The generation of diversity and pattern in animal development. *Cell* **68**, 185–199.
- Kellis, M., Wold, B., Synder, M.P. et al. (2014) Defining functional DNA elements in the human genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **111**, 6131–6138.

7.2 Transkriptionskontrolle durch sequenzspezifische DNA-Bindeproteine

- McKnight, S.L. (1991) Molecular zippers in gene regulation. *Sci. Am.* **264**, 54–64.
- Pabo, C.O., Sauer, R.T. (1992) Transcription factors: structural families and principles of DNA recognition. *Annu. Rev. Biochem.* **61**, 1053–1095.
- Seeman, N.C., Rosenberg, J.M., Rich, A. (1976) Sequence-specific recognition of double helical nucleic acids by proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **73**, 804–808.
- Weirauch, M.T., Hughes, T.R. (2011) A catalogue of eukaryotic transcription factor types, their evolutionary origin, and species distribution. In *A Handbook of Transcription Factors*. Springer Publishing Company, New York, NY.

7.3 Transkriptionsregulatoren schalten Gene an und aus

- Beckwith, J. (1987) The operon: an historical account. In: *Escherichia coli and Salmonella typhimurium: Cellular and Molecular Biology* Neidhart, F.C., Ingraham, J.L., Low, K.B., et al. (eds.), **2**: 1439–1443. ASM Press, Washington, DC.
- Gilbert, W., Müller-Hill, B. (1967) The lac operator is DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **58**, 2415–2421.
- Jacob, F., Monod, J. (1961) Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *J. Mol. Biol.* **3**, 318–356.
- Levine, M., Cattoglio, C., Tjian, R. (2014) Looping back to leap forward: transcription enters a new era. *Cell* **157**, 13–25.
- Narlikar, G.J., Sundaramoorthy, R., Owen-Hughes, T. (2013) Mechanisms and functions of ATP-dependent chromatin-remodeling enzymes. *Cell* **154**, 490–503.
- Ptashne, M. (1967) Specific binding of the lambda phage repressor to lambda DNA. *Nature* **214**, 232–234.
- Ptashne, M. (2004) *A Genetic Switch: Phage and Lambda Revisited*, 3rd edn. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.
- St Johnston, D., Nüsslein-Volhard, C. (1992) The origin of pattern and polarity in the *Drosophila* embryo. *Cell* **68**, 201–219.
- Turner, B.M. (2014) Nucleosome signaling: an evolving concept. *Biochim. Biophys. Acta* **1839**, 623–626.

7.4 Molekulargenetische Mechanismen, die spezialisierte Zelltypen schaffen und erhalten

- Alon, U. (2007) Network motifs: theory and experimental approaches. *Nat. Rev. Genet.* **8**, 450–461.

- Buganim, Y., Faddah, D.A., Jaenisch, R. (2013) Mechanisms and models of somatic cell reprogramming. *Nat. Rev. Genet.* **14**, 427–439.
- Hobert, O. (2011) Regulation of terminal differentiation programs in the nervous system. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **27**, 681–696.
- Lawrence, P.A. (1992) *The Making of a Fly: The Genetics of Animal Design*. Blackwell Scientific Publications, New York.

7.5 Mechanismen, die das Zellgedächtnis in Pflanzen und Tieren verstärken

- Bird, A. (2011) Putting the DNA back into DNA methylation. *Nat. Genet.* **43**, 1050–1051.
- Gehring, M. (2013) Genomic imprinting: insights from plants. *Annu. Rev. Genet.* **47**, 187–208.
- Lawson, H.A., Cheverud, J.M., Wolf, J.B. (2013) Genomic imprinting and parent-of-origin effects on complex traits. *Nat. Rev. Genet.* **14**, 609–617.
- Lee, J.T., Bartolomei, M.S. (2013) X-Inactivation, imprinting, and long noncoding RNAs in health and disease. *Cell* **152**, 1308–1323.
- Li, E., Zhang, Y. (2014) DNA methylation in mammals. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **6**, a019133.

7.6 Posttranskriptionale Kontrolle

- DiGiammartino, D.C., Nishida, K., Manley, J.L. (2011) Mechanisms and consequences of alternative polyadenylation. *Mol. Cell* **43**, 853–866.
- Gottesman, S., Storz, G. (2011) Bacterial small RNA regulators: versatile roles and rapidly evolving variations. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **3**, a003798.
- Hershey, J.W.B., Sonenberg, N., Mathews, M.B. (2012) Principles of translational control: an overview. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **4**, a011528.
- Hundley, H.A., Bass, B.L. (2010) ADAR editing in double-stranded UTRs and other noncoding RNA sequences. *Trends Biochem. Sci.* **35**, 377–383.
- Kalsotra, A., Cooper, T.A. (2011) Functional consequences of developmentally regulated alternative splicing. *Nat. Rev. Genet.* **12**, 715–729.
- Kortmann, J., Narberhaus, F. (2012) Bacterial RNA thermometers: molecular zippers and switches. *Nat. Rev. Microbiol.* **10**, 255–265.
- Parker, R. (2012) RNA degradation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics* **191**, 671–702.
- Popp, M.W., Maquat, L.E. (2013) Organizing principles of mammalian nonsense-mediated mRNA decay. *Annu. Rev. Genet.* **47**, 139–165.
- Serganov, A., Nudler, E. (2013) A decade of riboswitches. *Cell* **152**, 17–24.
- Thompson, S.R. (2012) Tricks an IRES uses to enslave ribosomes. *Trends Microbiol.* **20**, 558–566.

7.7 Regulation der Genexpression durch nicht codierende RNAs

- Bhaya, D., Davison, M., Barrangou, R. (2011) CRISPR-Cas systems in bacteria and archaea: versatile small RNAs for adaptive defense and regulation. *Annu. Rev. Genet.* **45**, 273–297.
- Cech, T.R., Steitz, J.A. (2014) The noncoding RNA revolution—trashing old rules to forge new ones. *Cell* **157**, 77–94.
- Fire, A., Xu, S., Montgomery, M.K. et al. (1998) Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* **391**, 806–811.
- Guttman, M., Rinn, J.L. (2012) Modular regulatory principles of large non-coding RNAs. *Nature* **482**, 339–346.
- Lee, H.C., Gu, W., Shirayama, M. et al. (2012) *C. elegans* piRNAs mediate the genome-wide surveillance of germline transcripts. *Cell* **150**, 78–87.
- Meister, G. (2013) Argonaute proteins: functional insights and emerging roles. *Nat. Rev. Genet.* **14**, 447–459.
- Rinn, J.L., Chang, H.Y. (2012) Genome regulation by long noncoding RNAs. *Annu. Rev. Biochem.* **81**, 145–166.
- tenOever, B.R. (2013) RNA viruses and the host microRNA machinery. *Nat. Rev. Microbiol.* **11**, 169–180.
- Ulitsky, I., Bartel, D.P. (2013) lincRNAs: genomics, evolution, and mechanisms. *Cell* **154**, 26–46.
- Wiedenheft, B., Sternberg, S.H., Doudna, J.A. (2012) RNA-guided genetic silencing systems in bacteria and archaea. *Nature* **482**, 331–338.



B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis,
D. Morgan, M. Raff, K. Roberts, P. Walter

Molekularbiologie der Zelle

Übersetzung herausgegeben
von Ulrich Schäfer

6. Auflage April 2017. 1676 Seiten,
Hardcover. 1492 Abbildungen,
70 Tabellen. Lehrbuch
ISBN: 978-3-527-34072-9
Preis: 139,00 €

Die Zelle – das ganze Wissen in einem Buch

„Molekularbiologie der Zelle“ ist auch international das führende Lehrbuch der Zellbiologie. Vollständig aktualisiert stellt die Neuauflage das sich rasch weiterentwickelnde Wissen zum zentralen Gegenstand der Biologie dar – der Zelle.

Studierende in den Fächern Molekularbiologie, Genetik, Zellbiologie, Biochemie und Biotechnologie führt dieses Buch vom ersten Semester des Bachelor- bis ins Master-Studium und darüber hinaus:

- zum Lesen verführender, unverwechselbarer „Alberts“-Stil
- vermittelt neue Erkenntnisse zu intrazellulärer Organisation, Membranstruktur, Dynamik und Transport
- stellt aktuelle Themen verständlich dar, wie neu entdeckte Funktionen von RNA, Nuclear Reprogramming, pluripotente Stammzellen, Krebs und personalisierte Medizin
- vertieft den Stoff des Buchs mit über 170 englischsprachigen Animationen und mikroskopischen Aufnahmen auf einer separaten Web-Seite
- über 1400 anschauliche Farbbildungen, größtenteils neu gestaltet
- 21 großformatige Tafeln verdeutlichen komplexe Vorgänge, klassische Experimente und aktuelle Methoden
- weiterführende Literatur mit wichtigen Originalarbeiten und Lehrbüchern
- Glossar mit mehr als 1100 grundlegenden Begriffen

Mit erstklassiger und bewährter Didaktik führt die sechste Auflage sowohl in die grundlegenden Konzepte der Zellbiologie als auch in deren faszinierende Anwendungen in Medizin, Gentechnik und Biotechnologie ein.

Web-Seite mit Zusatzmaterial:
www.wiley-vch.de/home/MolBioZelle6

Aus Rezensionen zu früheren englisch- und deutschsprachigen Auflagen:

„Jede Seite zeugt von der Liebe der Autoren zum exakten Detail, gleichzeitig aber von ihrer Anstrengung, Wissen aus einem schier unüberschaubaren Fachgebiet leicht erfassbar und gut lesbar aufzubereiten. ... Der klare, prägnante Stil, die Fülle an informativen Diagrammen und Abbildungen setzen eindrucksvolle Maßstäbe.“

Nature

„... Molecular Biology of the Cell gelingt es ausgezeichnet, die Fortschritte [der molekularen Zellbiologie] darzustellen. Auch aus der kommenden Generation von Interessenten wird es niemand auch nur einen Moment bedauern, sich dieses Werk zugelegt zu haben.“

Cell

„Man spürt, wie sehr es den Autoren daran gelegen ist, ihre eigene Begeisterung für ihr Metier auf den geeigneten Leser zu übertragen. ... Wer hier einmal eingestiegen ist, wird nur schwerlich wieder herausfinden, denn Biologie live macht süchtig. ... Das Buch ... gehört auf das Bücherregal jedes Lebenswissenschaftlers ...“

BIOspektrum

„Gleichgültig, was man gerade sucht: immer wird mehr geboten als erwartet ... Beispielhaft sind nicht nur die verständlichen, prägnanten Texte, sondern auch die großzügigen, durchwegs farbigen Illustrationen.“

Frankfurter Allgemeine Zeitung

