

## **Leben aus der Sicht der molekularen Biologie**

Bärbel FRIEDRICH ML (Berlin)

Vizepräsidentin der Akademie

Mit 16 Abbildungen und 2 Tabellen



### *Zusammenfassung*

Drei Attribute bilden die Grundlage für das Leben einer Zelle: eine eigenständige Vermehrung, ein autonomer Stoffwechsel und die Teilhabe an der Evolution. Diese Eigenschaften hat vermutlich bereits die Urzelle besessen, von der sich vor mehr als 3,5 Milliarden Jahren die jetzigen Lebewesen entwickelt haben. In dieser langen Zeitspanne der Evolution passten sich die Organismen an die unterschiedlichsten Habitate an und brachten die vielfältigsten Formen und Stoffwechsellösungen hervor. Einblicke in die molekulare Struktur und Funktion einer lebenden Zelle wurden durch die Weiterentwicklung der Mikroskopie im Verbund mit hochauflösenden spektroskopischen Verfahren und detaillierten biochemischen Analysen gewonnen. Damit konnten die elementaren Bestandteile einer Zelle wie semipermeable Membranen, Nukleinsäuren und Proteine identifiziert und die Prozesse der Vererbung und der Entzifferung von in Desoxyribonukleinsäure enthaltenen Informationen aufgeklärt werden. Diese molekularbiologischen Erkenntnisse bildeten die Basis für die Systembiologie, eine aufstrebende interdisziplinäre Forschungsdomäne, die komplexe Lebensvorgänge innerhalb und zwischen Organismen aus einer ganzheitlichen holistischen Perspektive angeht. Dieses integrative Konzept erfordert Techniken, die es gestatten eine Fülle von genetischen und biochemischen Daten in komplexen Transkriptom-, Proteom- und Metabolom-Netzwerken zusammenzufügen. Diese Netzwerke bilden die Blaupause einer lebenden Zelle und spiegeln geringste Veränderungen in Abhängigkeit von äußeren Bedingungen wider. Vor diesem Hintergrund hat sich eine neue Forschungsrichtung, die „Synthetische Biologie“, entwickelt mit dem Ziel, neuartige Lebensformen mit Methoden der synthetischen Chemie und des „Genetic Engineering“ zu konstruieren. Ob es jemals gelingen wird, eine Zelle herzustellen, die den oben genannten Kriterien des Lebens entspricht, bleibt fraglich und ist Gegenstand laufender Diskussionen.

### *Abstract*

Three major features are attributed to a living cell: an autonomous replication, an independent metabolism and participation in the evolution. The “last universal common ancestor” of whom the present population of organisms descended more than 3.5 billion years ago likely shared the three characteristics. During the long period of evolution the organisms adapted to a great diversity of habitats and developed a wide variety of metabolic capabilities. Insights into the molecular structure and function of a living cell were achieved by advancements in microscopy in addition to using a variety of high-resolution spectroscopic techniques and detailed biochemical analyses. These strategies led to the identification of basic cellular components such as semipermeable membranes, nucleic acids and proteins and subsequently to the elucidation of the entire replication process and the decipherment of the information encoded by the deoxyribonucleic acid and its transfer to functional units. The vast amount of knowledge provided the basis for “systems biology”, an emerging biology-based inter-disciplinary research domain that focuses on complex interactions within or between organisms using a more holistic view. This integrative concept involves techniques that allow us to assemble numerous genetic and biochemical data piece by piece within transcriptomic, proteomic and metabolomic networks. These networks constitute the blue print of life and reflect subtle changes in response to environmental conditions. Behind this background a new research area the so-called “synthetic biology” emerged, which combines synthetic chemistry and genetic engineering for the design of novel life forms. If it will ever be possible to construct a living cell that fulfills the above-mentioned criteria of life still remains questionable and subject of on-going discussion.

## 1. Einleitung

„Was ist Leben?“ Diese Frage hat die Menschheit seit Jahrhunderten bewegt. Ich habe die Ehre und zugleich die schwierige Aufgabe, ein komplexes und vielschichtiges Thema aus der Sicht der Molekularbiologie zu beleuchten. Gestatten Sie mir, dass ich als Mikrobiologin meinen Blick vornehmlich auf die Kleinstlebewesen, die Mikroorganismen, richten werde. Im Zentrum meiner Ausführungen über die Molekularbiologie des Lebens steht die mikrobielle Zelle. Mikroorganismen sind im Verhältnis zu den höheren Lebewesen zwar einfacher strukturiert, bilden jedoch eine unermessliche Artenvielfalt von der nur weniger als 1 % bekannt ist. Es wird angenommen, dass etwa  $5 \times 10^{30}$  Mikroorganismen auf unserem Planeten vorkommen, während die Artenvielfalt der Tiere auf 10 bis 30 Millionen und die der Pflanzen auf 300 000 geschätzt wird. Der Genetiker MULLER 1922 interpretierte Variation in einem Anfang des 20. Jahrhunderts verfassten Aufsatz als Folge einer Veränderung in einem Gen. Diese mit Mutationen in Zusammenhang gebrachte Beobachtung bildete die Grundlage zu dem 1944 von Erwin SCHRÖDINGER veröffentlichten Konzept „What is Life?“. Darin wurde postuliert, dass die genetische Information in einem komplex strukturierten Molekül gespeichert sein muss.

Aus jetziger Sicht können der lebenden Zelle – gleich ob sie von einer Mikrobe oder einem höheren Organismus stammt – drei Attribute zugeordnet werden:

- die Befähigung zur Vermehrung,
- ein eigenständiger Stoffwechsel,
- die Teilhabe an der Evolution.

Bevor ich den Blick auf die molekularen Zusammenhänge dieser elementaren Lebensprozesse richte und die Möglichkeiten diskutiere, inwieweit synthetisches Leben geschaffen werden kann, das diese Kriterien erfüllt, möchte ich die Grenzen des Lebens kurz aufzeigen.

## 2. Grenzen des Lebens

Legt man die oben genannten Merkmale der Definition von Leben zugrunde, existieren lebensnahe sogenannte Grenzformen des Lebens, zu denen Viren und auch Endosymbionten sowie Parasiten zählen. Ihnen ist gemeinsam, dass sie sich durch Replikation vermehren und genetische Austauschprozesse durchlaufen, aber keinen vollständigen eigenständigen Stoffwechsel besitzen, der ihnen ein individuelles, vom Wirt unabhängiges Leben gestattet. Dass Viren einen erheblichen Teil zur Evolution beitragen, auch zu der des Menschen, wird von dem britischen Arzt und Wissenschaftler Frank RYAN (2009) in seinem jüngsten Buch *Virovolution* detailliert beschrieben. Die darin enthaltenen Postulate sind Anlass lebhafter Diskussionen.

Eine andere Grenze des Lebens ist durch Alterungsprozesse und letztlich durch den Tod gesetzt. Die durchschnittliche Lebenserwartung eines neugeborenen Jungen betrug 2010 in Deutschland 77 Jahre und 4 Monate, die entsprechende Lebenserwartung eines Mädchens 82 Jahre und 6 Monate (*Statistisches Bundesamt Wiesbaden*). Seit 1910 hat sich die Alterspyramide in Deutschland signifikant verändert, von wenig Alten und viel Jungen hin zu einem ständig wachsenden Anteil einer alternden Bevölkerung. An Tiermodellen wird ersichtlich,

dass die Lebensspanne, die beim Menschen bei 120 bis 130 Jahren liegt, eine von Generation zu Generation weitervererbte Eigenschaft ist. Eine Maus bringt immer wieder Nachkommen mit einer maximalen Lebensspanne von vier Jahren zur Welt. Die maximale Lebensspanne von Schildkröten liegt dagegen bei 250 Jahren, die des Grönlandwals bei 210 und die des Riesenmammutbaums bei 2560 Jahren. Aus 2000 Jahre alten Samen einer Dattelpalme gelang es israelischen Forschern einen Ableger heranzuziehen (SALLON et al. 2008). Nahezu „unsterblich“ scheinen bakterielle Endosporen zu sein, die einen Zustand des Lebens reflektieren, der als „latentes Leben“ bezeichnet wird. Stark dehydratisiert und durch besondere Zellhüllen geschützt, überdauern sie widrige Umweltbedingungen, und es gibt zahlreiche Veröffentlichungen, in denen nachweislich uralte Sporen wieder in einen vegetativen Zustand versetzt werden. Besonders beeindruckend ist die Wiedererweckung von Sporen aus einem in Bernstein eingeschlossenen Insekt, denen ein Alter von 25 bis 40 Millionen Jahren zugeschrieben wird (CANO und BORUCKI 1995).

An einfachen Alternsmodellen, wie dem Fadenwurm *Caenorhabditis elegans*, der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* oder dem filamentösen Pilz *Podospora anserina*, wurden Erkenntnisse gewonnen, die konservierte Merkmale aufzeigen, die den Alterungsprozess, vermutlich auch den des Menschen, wesentlich bestimmen. Dazu gehört ein Netzwerk von molekularen Reaktionen, in denen die Mitochondrien, die Kraftwerke der Zelle, eine zentrale Bedeutung haben, beeinflusst die Lebensspanne von Organismen (OSIEWACZ 2007). Die Grenzen dieser Lebensspanne sind offenbar genetisch programmiert und auch von den jeweiligen Lebensbedingungen abhängig.

Die äußeren Lebensbedingungen, z. B. weite Temperaturbereiche, vielfältige Nährstoffquellen, hohe Salzkonzentrationen, Intensität von Licht, Druck, Strahlung und Sauerstoff, bilden treibende Kräfte für die Selektion speziell angepasster Organismen. Dabei werden durch Mutationen genetische Veränderungen angesammelt, die einen Selektionsvorteil bieten und den Organismen einen weiten Lebensraum auf unserem Planeten erschließen. Dieser reicht einerseits bis zu 12 km in die Tiefe des Meeres und andererseits bis in eine Höhe von 9 km in die Atmosphäre. Die Masse aller Lebewesen wird auf 1850 Milliarden Tonnen geschätzt, davon ist ein Drittel unterirdisch angesiedelt (INAGAKI et al. 2006, WOMACK et al. 2010).

An diesem Punkt möchte ich die immer wieder gestellte Frage nach außerirdischem Leben streifen. Die theoretische Möglichkeit, dass Leben auch außerhalb der Erdatmosphäre existieren könnte, wird seit Jahrhunderten diskutiert. Die Hypothese der Panspermie, nach der Lebewesen über große Distanzen durch das Universum auf die Erde getragen werden, steht beispielhaft hierfür. Aus der Sicht der Molekularbiologie sind Funde organischer Moleküle wie Aminosäuren oder Nukleinsäuren in Meteoriten interessante Beobachtungen, die zumindest die Existenz einer extraterrestrischen organischen Welt nicht gänzlich ausschließen (CALLAHANA et al. 2011).

### 3. Ursprung des Lebens

Wenden wir uns wieder unserem Planeten Erde zu, dessen Alter auf etwa 4,6 Milliarden Jahre geschätzt wird und über den wir in nachfolgenden Vorträgen mehr hören werden. Es wird postuliert, dass zelluläres Leben vor mehr als 3,5 Milliarden Jahren entstanden sein könnte, in einer dunklen, weitgehend Sauerstoff freien, reduzierten Eisen-Schwefelwelt (Abb. 1). Das Sonnenlicht wurde erstmals von den sogenannten anoxygenen oder anaeroben phototrophen

Bakterien als Energiequelle genutzt, bevor die oxygenen phototrophen Bakterien – wahrscheinlich die Cyanobakterien – einen Quantensprung in der Evolution vollzogen, indem sie Licht getrieben Wasser als Quelle der Reduktionskraft für Biosynthesen nutzten (WOESE 1987). Bei der Photolyse des Wassers wird Sauerstoff in erheblichen Konzentrationen freigesetzt. Dies hatte zur Folge, dass der Sauerstoffgehalt der Erdatmosphäre langsam anstieg und damit die Lebensbedingungen für die „modernen“, mit Sauerstoff atmenden Lebewesen geschaffen wurden (SCHILDLOWSKI et al. 1974). Zu diesen zählt auch die Gattung *Homo*, die sich vor etwa zwei Millionen Jahren in Afrika entwickelt hat.

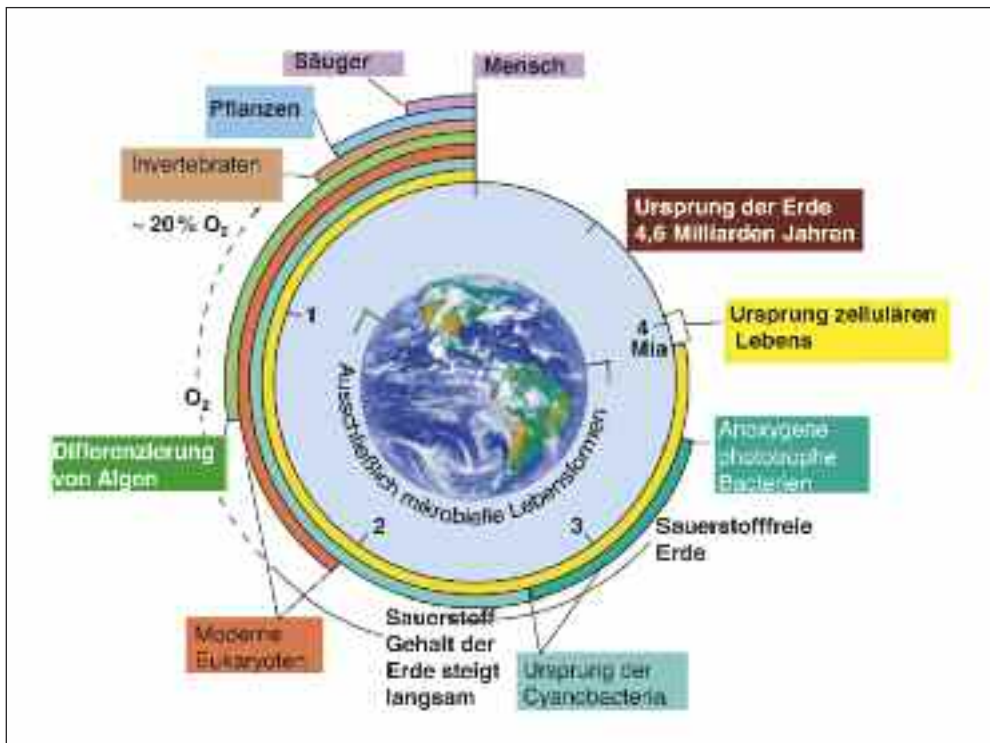


Abb. 1 Erdgeschichtliche Stadien der Entwicklung zellulären Lebens und der Ausprägung von Lebensformen. Der Ursprung der Erde wird auf etwa 4,6 Milliarden Jahre geschätzt. Es wird postuliert, dass zelluläres Leben vor etwas mehr als 3,5 Milliarden Jahren entstanden sein könnte, in einer dunklen, weitgehend sauerstofffreien, d. h. reduzierten Eisen-Schwefelwelt. Das Sonnenlicht wurde erstmals von den anoxygenen phototrophen Bakterien als Energiequelle genutzt, bevor die Cyanobakterien das Wasser als Elektronenquelle für Biosynthesen erschlossen und zunehmend Sauerstoff freigesetzt haben. Dies hatte zur Folge, dass der Sauerstoffgehalt der Erdatmosphäre langsam stieg und damit die Lebensbedingungen für die „modernen“ atmenden Lebewesen geschaffen wurden, zu denen auch seit mehr als 200000 Jahren der Mensch zählt. (Modifiziert nach BROCK 2012, S. 34.)

Worauf basiert die Datierung der ältesten Lebewesen? Schon Anfang der 1990er Jahre erregte ein Fund in Australien Aufsehen. Der amerikanische Paläontologe William SCHOPF deutete Milliarden Jahre altes Gestein als fossile Bakterien (SCHOPF 2000). Sein damaliger ärgster Kritiker, der Oxforder Paläontologe Martin BRASIER, der die Strukturen für chemische Reaktionsprodukte hielt, veröffentlichte im Juli dieses Jahres einen Bericht, in dem er mit mehreren

experimentellen Techniken darlegt, dass unweit der ursprünglichen Fundstätte 3,4 Milliarden Jahre alte Schwefelbakterien in Quarzformationen erhalten blieben (WACEY et al. 2011), was letztlich die ursprüngliche These stützt.

Die Suche nach LUCA, dem „Last Universal Common Ancestor“ unserer jetzigen Lebewesen, ist mit dem Fund der Mikrofossilien noch nicht abgeschlossen. Von der postulierten Urzelle zweigt nach einem molekularbiologischen Konzept, das Carl WOESE zusammen mit Otto KANDLER und Mark WHEELIS vorgeschlagen hat, ein phylogenetischer Stammbaum ab, der die Lebewesen in drei Domänen gliedert: die *Bacteria*, die *Archaea* und die *Eukarya*, wobei die beiden letztgenannten Domänen einen frühen Entwicklungsweg teilen (WOESE et al. 1990). Die *Bacteria* und *Archaea* bilden die Prokaryoten, die im Gegensatz zu den Eukaryoten keinen Zellkern besitzen. Bei aller Kritik an diesem Stammbaum, bietet er doch eine praktikable Arbeitsgrundlage gegenüber der klassischen Taxonomie, die sich an vergleichenden phänotypischen Merkmalen orientiert. Die Molekularbiologie hat wesentlich zur Konzeption des phylogenetischen Stammbaums beigetragen, der auf der Verwandtschaft ribosomaler Ribonukleinsäuren beruht, einem hoch konservierten Merkmal einer lebenden Zelle, das bei der Proteinbiosynthese eine herausragende Rolle spielt.

Wie stellt man sich die Entstehung von LUCA vor? Ich möchte diese Frage nur kurz behandeln, um nicht nachfolgenden Vorträgen vorzugreifen. Es wird postuliert, dass in der präbiologischen Evolution organische Moleküle entstanden sind, die in einem zweiten Schritt zu Makromolekülen verknüpft wurden. Darunter befinden sich Peptide wie auch Nukleinsäuren. Nach der Theorie von Manfred EIGEN (1971) erzeugt die Kopplung von Ribonukleinsäuren und Peptiden Informationen für sich selbst organisierende Systeme. Dieser Prozess findet in membranumhüllten Tröpfchen statt, die gegenüber der Außenwelt einen chemischen Zustand höheren Ordnungsgrades aufrechterhalten. In einem derartigen Milieu entstehen sich selbst replizierende Einheiten, die über Mutation und genetische Rekombination weiter evolvieren.

#### 4. Einblicke in molekulare Strukturen der Zelle

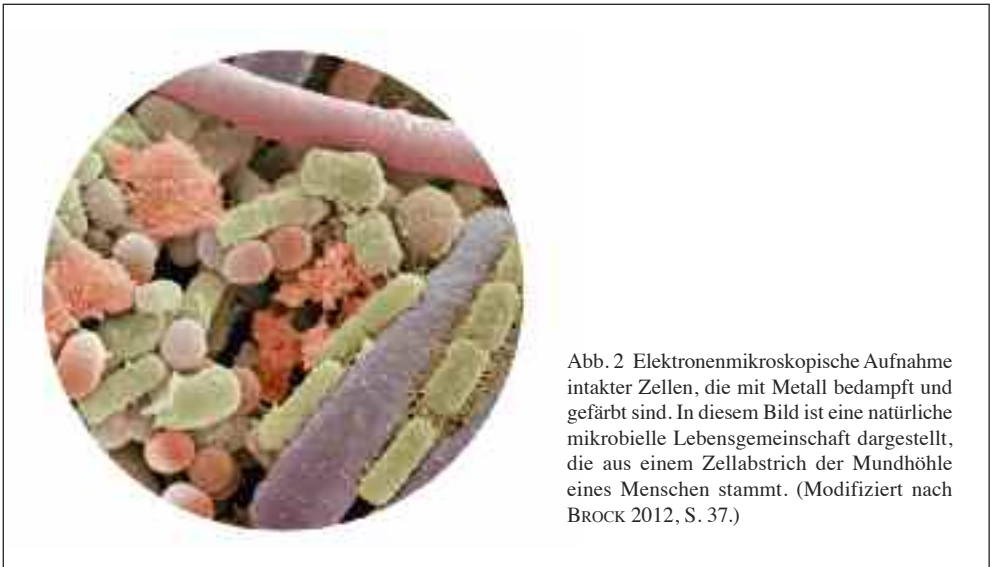
Wenn also eine zelluläre Entität mit den Fähigkeiten zur Vermehrung, zum autonomen Stoffwechsel und zur Evolution als die einfachste Form des Lebens betrachtet wird, möchte ich im Folgenden den Blick auf die molekularen Strukturen richten, die einer solchen Zelle diese Fähigkeiten verleihen.

##### 4.1 Erkennung von Zellstrukturen

Lange Zeit blieb die Einzelzelle aufgrund ihrer geringen Größe, die in der Dimension von Mikrometern (Eintausendstelmillimeter) liegt, unsichtbar. Der Delfter Tuchmacher Antoni VAN LEEUWENHOEK betrieb als Hobby die Kunst des Linsenschleifens und entdeckte mit einem einfachen Lichtmikroskop erstmals Bakterien, die er als Bazillen, Kokken und Spirillen ansprach. Nach anfänglicher Skepsis wurden seine Beobachtungen 1673 von der *Royal Society*, zu deren Mitglied er 1680 ernannt wurde, veröffentlicht (LEEUEWENHOECK und DE GRAAF 1673). Es dauerte mehr als 250 Jahre, bis das Elektronenmikroskop verfügbar war, das sich anstelle des Lichts der Elektronen zur Auflösung zellulärer Strukturen bedient. Mit dieser Technik können Details von Einzelstrukturen der Zelle im Nanometermaßstab (Eintausendstelmikro-

meter) sichtbar gemacht werden. Diese bahnbrechende Entwicklung ist das Verdienst von Ernst RUSKA und Max KNOLL (1931), wofür RUSKA erst 1986 mit dem Nobelpreis für Physik ausgezeichnet wurde.

Durch Weiterentwicklung der Mikroskopie können inzwischen Oberflächenstrukturen von Einzelzellen und Zellverbänden differenziert dargestellt werden, wie dies in Abbildung 2 veranschaulicht ist. Eine geradezu revolutionäre neue Entwicklung der Lichtmikroskopie, die es gestattet, zelluläre Substrukturen wie Proteinkomplexe im Nanometerbereich in einer lebenden Zelle zu identifizieren, gelang der Arbeitsgruppe von Stefan W. HELL (EGNER und HELL 2005). Im Vergleich zur herkömmlichen Lichtmikroskopie bringt hier ein Laserstrahl fluoreszenzmarkierte Inhaltsstoffe einer Zelle zum Leuchten, und ein zweiter Laserstrahl – der sogenannte STED-Strahl (*Stimulated Emission Depletion*) – fokussiert das Objekt auf einen kleinen Lichtpunkt und erzielt damit eine phantastische Auflösung.



Isolierte zelluläre Makromoleküle, selbst große komplexe Entitäten, bestehend aus einem Gemisch von Einzelkomponenten, lassen sich durch Röntgen-Absorptionsspektroskopie oder bei kleineren Molekülen durch Nukleare Magnetische Resonanzanalyse dreidimensional bis in den Ångström-Bereich (0,1 nm) auflösen. Dieser Überblick verdeutlicht, dass inzwischen experimentelle Instrumentarien verfügbar sind, die es der Molekularbiologie erlauben, in die Nanowelt einer lebenden Zelle vorzustoßen und damit wichtige Erkenntnisse über deren strukturbasierte Funktionen zu erschließen.

Der Vergleich eines Bakteriums mit einer einfachen eukaryotischen Zelle zeigt neben einer etwa 10-fachen Größendifferenz (Abb. 3) membranumhüllte Strukturen im Innern der eukaryotischen Zelle (Abb. 4), sogenannte Organelle, zu denen der Kern, die Mitochondrien und die Chloroplasten zählen, die bei der prokaryotischen Zelle fehlen. Der Zellkern beherbergt die Erbinformation, die Desoxyribonukleinsäure (DNA). An den Ribosomen findet die Proteinbiosynthese statt; im Falle der Eukaryoten an dem Membransystem des endoplasmatischen

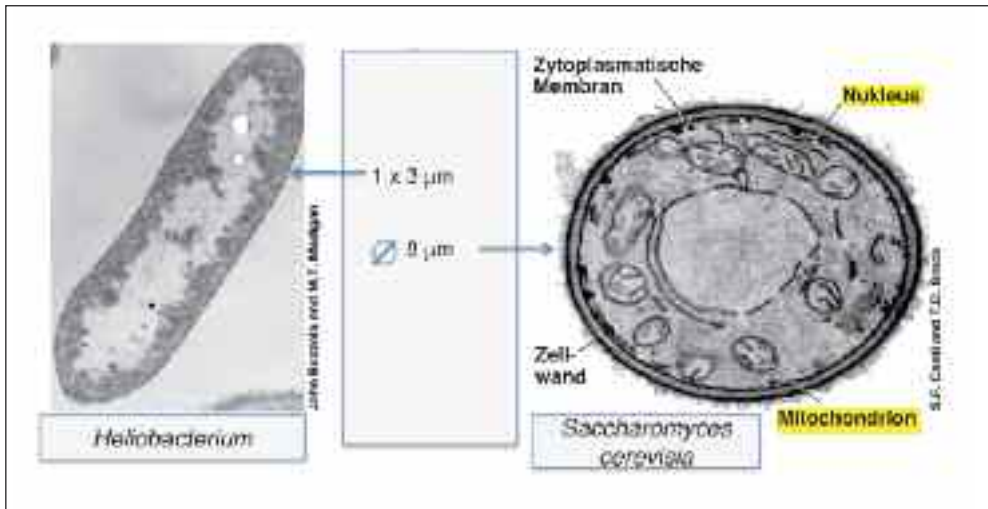


Abb. 3 Struktur der Prokaryoten- und Eukaryoten-Zelle: Der Vergleich eines phototrophen Bakteriums (*links*) mit einer einfachen eukaryotischen Hefezelle (*rechts*) in einer elektronenmikroskopischen Aufnahme. Die eukaryotische Zelle ist stärker kompartimentiert und erheblich größer als die prokaryotische Zelle. (Modifiziert nach BROCK 2012, S. 60.)

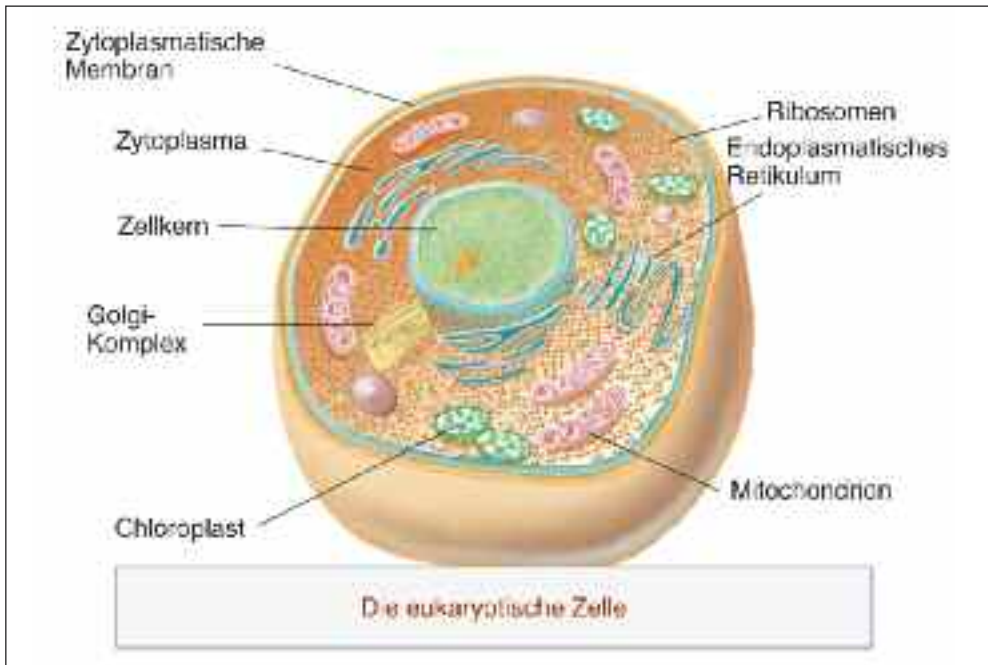


Abb. 4 Die schematische Struktur der eukaryotischen Zelle zeigt die Zytoplasmamembran, die das Zytosol mit den Zellinhaltsstoffen umschließt. Der Zellkern beherbergt die Erbinformation, die DNA. Am endoplasmatischen Retikulum findet die Proteinsynthese statt, an der die Ribosomen mitwirken. Der Golgiapparat sortiert und modifiziert Proteine und Membrankomponenten. Die Mitochondrien bilden die „Kraftwerke“, die die Zelle mit Energie versorgen, während in den Chloroplasten die Photosynthese abläuft. (Modifiziert nach BROCK 2012, S. 60.)

Retikulum. Der Golgiapparat übernimmt in diesen Zellen u. a. die Sortierung und Modifizierung von Proteinen und Membrankomponenten. Die Mitochondrien dienen den Eukaryoten als Ort der Energiegewinnung, während in den Chloroplasten die Photosynthese abläuft (MADIGAN et al. 2010). Dem Endosymbiontenkonzept folgend, stammen die Mitochondrien der „modernen“ Eukaryoten von aeroben, respiratorischen Bakterien ab, während den Chloroplasten ein cyanobakterieller Ursprung zugeordnet wird. Diese Theorie wurde erstmals im 19. Jahrhundert veröffentlicht (SCHIMPER 1883).

#### 4.2 Die DNA als Träger der Erbinformation

1944 identifizierte Oswald AVERY die Desoxyribonukleinsäure (DNA) als Träger der Erbinformation (AVERY et al. 1944). Diese Erkenntnis basierte auf Versuchen, die Frederick GRIFFITH 1928 an Pneumokokken durchgeführt hatte. Das Wissen um die Struktur und die Vervielfältigung der DNA blieben noch knapp ein Jahrzehnt verborgen. Unter Zuhilfenahme der Röntgenstrukturaufnahmen von Rosalind FRANKLIN (FRANKLIN und GOSLING 1953) und Maurice WILKINS (WILKINS et al. 1953) am *King's College* in London entwickelten James WATSON und



Abb. 5 Am 5. April 1953 publizierten James WATSON ([B] rechts) und Francis CRICK ([B] links) ihr Modell von der DNA als Doppelhelix in der Zeitschrift *Nature* (WATSON und CRICK 1953). Sie arbeiteten in dieser Zeit im *Cavendish-Labor* in Cambridge (D) und hielten die Pressekonferenz im „Eagle“, einem nahegelegenen Pub ab (A). (B) und (C) zeigen Francis CRICK ([B] links und [C] rechts) und James WATSON ([B] rechts und [C] links) 1953. *Cold Spring Harbor Laboratory Archives*. Die Aufnahmen der „Wiege der Molekularbiologie“ entstanden während eines privaten Aufenthaltes in Cambridge 2010.

Francis CRICK das Modell der Doppelhelix, das am 5. April 1953 publiziert wurde (WATSON und CRICK 1953). Dem Modell lag die wichtige von CHARGAFF und Mitarbeitern gemachte Beobachtung zugrunde, dass die Purin- und Pyrimidinbasen in der DNA in einem gleichen Verhältnis vorkommen und dabei der Gehalt an Guanin dem von Cytosin und der von Adenin dem von Thymin gleicht. Die Pressemitteilung der folgenreichen Erkenntnis über die Doppelhelix fand offenbar im „Eagle“ statt, einem Pub in unmittelbarer Nähe zu dem *Cavendish*-Labor in Cambridge. Ich hatte das Vergnügen, diese „Wiege“ der Molekularbiologie im Sommer während einer dortigen Tagung kennenzulernen (Abb. 5).

Inzwischen sind die Bausteine der Erbinformation allseits bekannt. Strukturmerkmal der DNA ist die Doppelhelix, in der die Desoxyribosephosphat-Moleküle das Gerüst bilden, an dem nach innen weisend die Pyrimidin- und Purinbasen angeordnet sind, in denen die genetische Information chiffriert ist (Abb. 6). Durch Wasserstoffbrückenbindungen kommt es zu den festgelegten Basenpaarungen, und in der Ribonukleinsäure (RNA) tritt anstelle von Thymin die Base Uracil, und die Desoxyribose wird durch die Ribose (ein Zucker mit 5 Kohlenstoffatomen, der im Gegensatz zur Desoxyribose am C2-Atom eine Hydroxylgruppe trägt) ersetzt. Für ihre Entdeckungen zur „Molekularstruktur der Nukleinsäuren und ihre Bedeutung für die Informationsübertragung in lebender Substanz“ erhielten WATSON, CRICK und WILKINSON 1963 den Nobelpreis für Medizin.

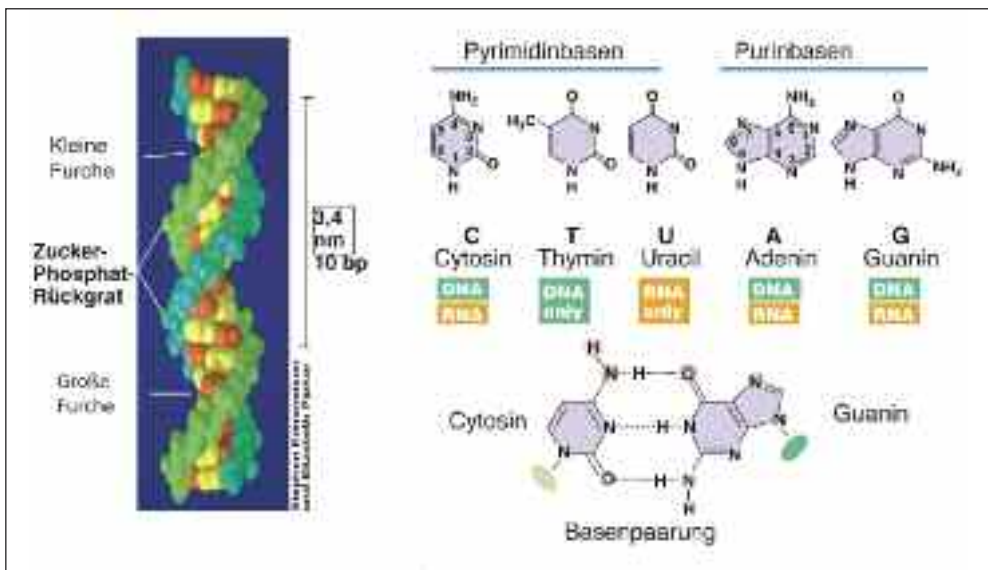


Abb. 6 Struktur und Aufbau der Desoxyribonukleinsäure (DNA). Desoxyribosephosphatmoleküle bilden das Rückgrat der Doppelhelix (linker Teil). Nach innen weisen die Pyrimidin- und Purinbasen, die über Wasserstoffbrücken in gesetzmäßigen Paarungsmustern Cytosin/Guanin und Adenin/Thymin verbunden sind. Dabei tritt in der Ribonukleinsäure anstelle von Thymin die Base Uracil.

Der Mechanismus der Vererbung (Replikation) von in der DNA gespeicherter Information ist weitestgehend aufgeklärt. Hierbei hat hauptsächlich das Enterobakterium *Escherichia coli* als Modell gedient, wobei anzumerken ist, dass die Grundzüge der Replikation bei Bakterien und höheren Organismen im Wesentlichen ähnlich sind. Die Replikation wird katalysiert durch

eine komplexe zelluläre Maschine, das Replisom, dessen Einzelkomponenten in Abbildung 7 skizziert sind. Um den Ablauf dieses mit enormer Geschwindigkeit und Präzision ablaufenden Prozesses zu verdeutlichen, wurde an dieser Stelle ein Videofilm gezeigt, der als Lehrmaterial verfügbar ist (Pearson Education, Inc. 2009).

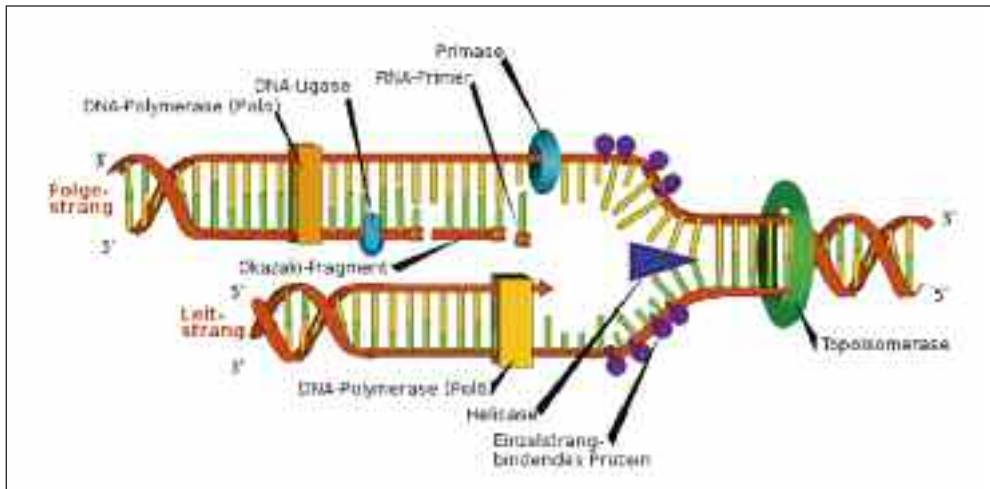


Abb. 7 Das Grundprinzip der Replikation, der Vervielfältigung des Informationsträgers DNA. Die Replikation der DNA wird katalysiert durch eine komplexe molekulare Maschine, das Replisom, dessen Einzelkomponenten bestimmte Funktionen des Prozesses ausführen, deren Ablauf sich in drei Phasen unterteilen lässt: (1) In der Initiationsphase startet die Replikation durch das Enzym Helicase, die das durch Topoisomerase teilweise entwundene DNA-Doppelhelix-Molekül an einer bestimmten Stelle öffnet. Dieser Ort wird durch ein weiteres Enzym, die Primase, markiert und anschließend durch Polymerase beladen. Die Einzelstrangbereiche werden vorübergehend vor dem Abbau durch Einzelstrang-bindende Proteine vor dem Abbau geschützt. (2) In der Elongationsphase geht die eigentliche Vervielfältigung der DNA vonstatten. Sie erfolgt „bidirektional“, von einer bestimmten Startsequenz ausgehend in beide Richtungen, wobei die beiden Stränge zeitgleich durch Polymerase komplementär synthetisiert werden. An dem sogenannten Leitstrang kann nach einmaligem „Priming“ durch ein RNA-Molekül bis zur Symmetrieachse der Replikationsgabel in Leserichtung des Polymerasekomplexes repliziert werden. Am gegenüberliegenden Folgestrang ist eine kontinuierliche Replikation hingegen nicht möglich, da er entgegen der Laufrichtung der Polymerase verläuft. In diesem Fall ist ein der Helicase folgendes wiederholtes Priming erforderlich, damit die Polymerase erneut ansetzen kann. In diesem diskontinuierlichen Prozess entstehen DNA-Einzelfragmente, die als Okazaki-Fragmente bezeichnet werden. (3) In der Terminationsphase wird durch Blockierung der Helicase die Replikation beendet. Dies geschieht an bestimmten Terminationsstellen, die Bindeorte für ein Kontrollprotein (Tus, *Terminus utilizing substance*) darstellen, das für eine genaue Verteilung der Replikate bei der Zellteilung sorgt. (de.wikipedia.org/wiki/Replikation)

### 4.3 Informationsübertragung in der Zelle

Das genetische Programm einer Zelle beinhaltet neben der DNA die Ribonukleinsäure (RNA) und Proteine. Die Umschreibung der DNA in RNA erfolgt in dem Prozess der Transkription. In wenigen Fällen ist dieser Vorgang reversibel, wie bei der Integration von viraler RNA in die DNA, katalysiert durch die Reverse Transkriptase. Die Übersetzung von RNA in Proteine ist als Translation beschrieben. In Bakterien läuft diese kolinear ab, d. h. gleichzeitig mit der Transkription, während in Eukaryoten die Transkription im Kern stattfindet und die Translation räumlich davon getrennt im Zytoplasma abläuft. Jedes Codewort, bestehend aus einem Triplet

der vier Basen, codiert für eine der insgesamt 21 Aminosäuren im Protein. Die Transkription wird katalysiert durch die RNA-Polymerase, die eine bestimmte Startsignatur in der DNA – den Promotor – erkennt und daran bindet. Ausgehend vom Promotor wird der komplementäre RNA-Strang, die Messenger-RNA (mRNA), synthetisiert. Das Transkript kann in Bakterien mehrere Gene umfassen (Abb. 8A). In diesem Fall liegt eine polycistronische mRNA vor, die relativ kurzlebig ist und schnell an die Ribosomen bindet, an denen die Proteinbiosynthese stattfindet (KNIPPERS 2006) (Abb. 8B).

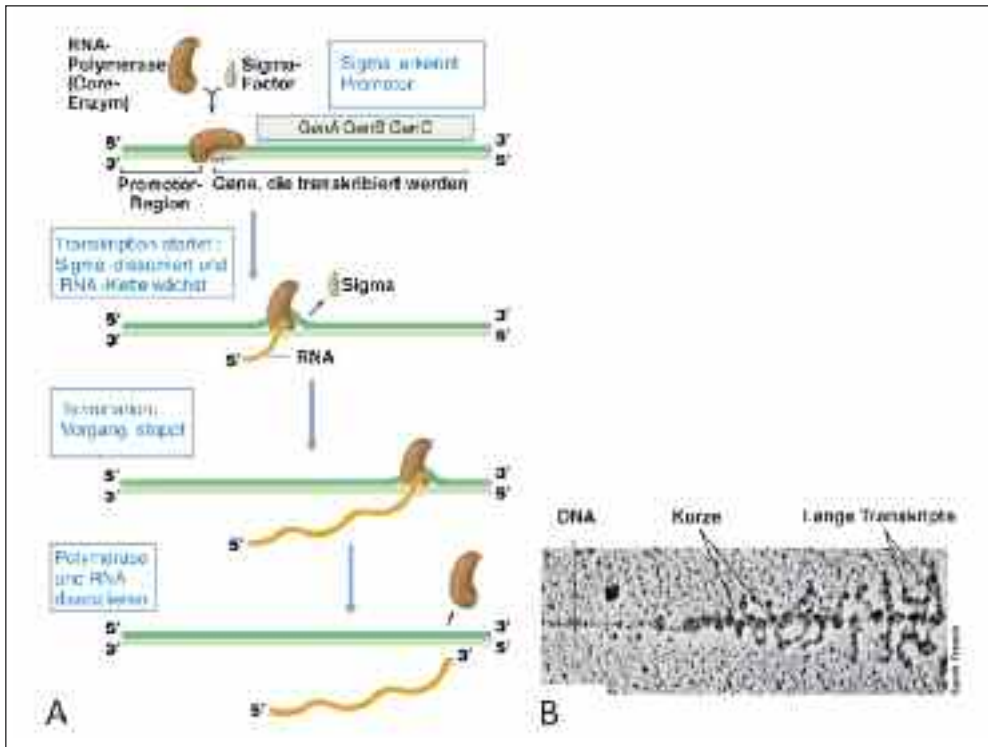


Abb. 8 Übersetzung der in der DNA enthaltenen Erbinformation in ein RNA-Transkript. (A) Diese Skizze beschreibt den Ablauf der Transkription in Bakterien. Die RNA-Polymerase mit der Untereinheit Sigma erkennt eine bestimmte Startsignatur in der DNA, den Promotor, von dem aus sie den komplementären Messenger-RNA (mRNA)-Strang synthetisiert, der mehrere Gene umfassen kann. Die mRNA assoziiert mit den Ribosomen, und die Proteinbiosynthese schreitet voran. Bestimmte Signaturen auf der DNA markieren die Termination der Transkription, an dieser Stelle wird die Bindung von Polymerase und Transkript aufgelöst. Bei Bakterien erfolgt die Transkription im Zytoplasma der Zelle. (B) Elektronenmikroskopische Aufnahme des Transkriptionsprozesses (Foto: Sarah FRENCH) (Modifiziert nach BROCK 2012, S. 199.)

Analog erfolgt die Übertragung der genetischen Information in Eukaryoten im Vergleich zu den Prokaryoten schrittweise. Das im Kern gebildete primäre mRNA-Transkript wird zunächst prozessiert, indem die nicht-codierenden Bereiche eines Gens, die sogenannten Introns, ausgeschnitten und die codierenden Bereiche, die Exons, zur muren RNA zusammengefügt werden. Das so gereifte Molekül wird an den Enden modifiziert, um es vor dem enzymatischen Abbau durch zelluläre Nucleasen zu schützen (Abb. 9). Bei der Maturation der RNA wirken

katalytische RNA-Moleküle, sogenannte Ribozyme, mit. Das fertige Produkt wird durch die Kernmembran transportiert, anschließend findet im Zytoplasma die Translation in das entsprechende Protein statt (KNIPPERS 2006).

In dem neuen Forschungsgebiet der „Synthetischen Biologie“, angesiedelt im Grenzbereich von Molekularbiologie, Chemie, Ingenieurwissenschaften und Informationstechnik, wird z. B. der Proteinbiosynthese-Apparat einer lebenden Zelle bereits erfolgreich genutzt, um synthetisch gefertigte Aminosäuren maßgeschneidert in ein Protein einzuschleusen und somit ein Produkt zu erzeugen, das in dieser Form in der Natur nicht vorkommt (NEUMANN et al. 2010). Derartige Strategien werden in nachfolgenden Beiträgen der Versammlung vertiefend behandelt.

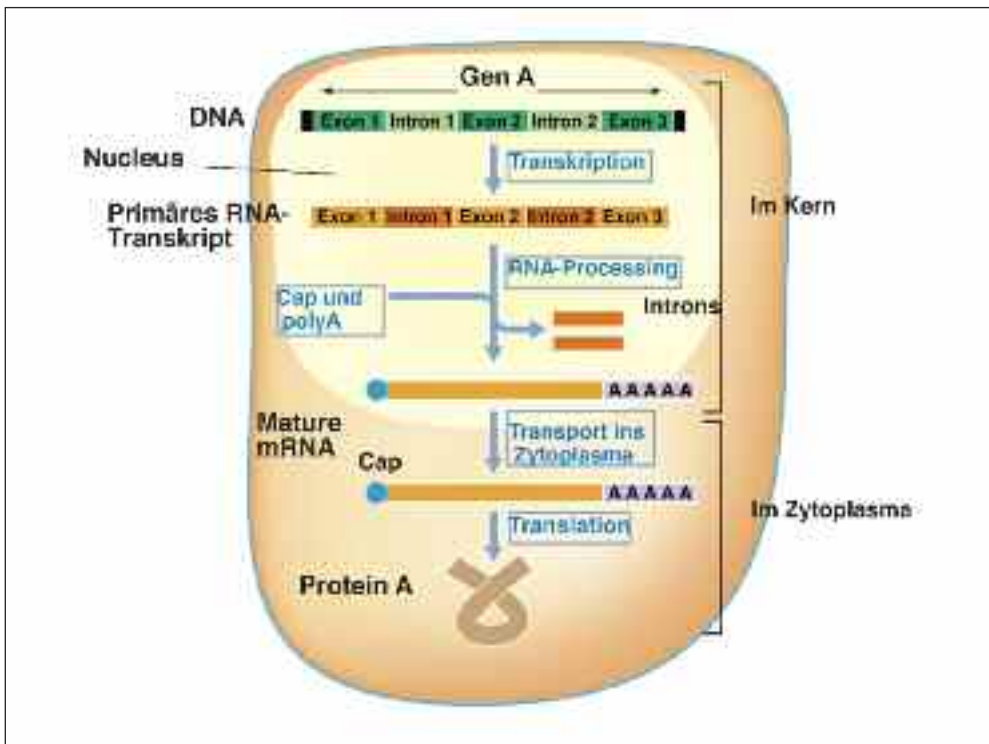


Abb. 9 Der Weg von der DNA zum Protein in Eukaryoten. Die Übertragung der genetischen Information in Eukaryoten erfolgt in mehreren Schritten. Das im Kern gebildete primäre mRNA-Transkript wird zunächst prozessiert, wobei die nichtcodierenden Bereiche eines Gens (Introns) ausgeschnitten werden und die codierenden Bereiche (Exons) zur muren RNA fusionieren. Dieser Vorgang wird als „Splicen“ bezeichnet. Anschließend wird das Molekül an den Enden durch Verknüpfung mit Biomolekülen (Cap und polyA) modifiziert und so vor dem Abbau geschützt. Nach dem Transport des muren RNA-Transkripts durch die Kernmembran erfolgt im Zytosol die Translation in Proteine. (Modifiziert nach BROCK 2012, S. 255.)

Die Bedeutung der Ribonukleinsäure ist nicht nur auf die Proteinbiosynthese beschränkt. Die RNA-Welt ist weitaus vielfältiger als ursprünglich vermutet, wie jüngere Forschungsergebnisse zeigen. Altbekannt sind die RNA-Spezies-mRNA, die Aminosäuren transportierenden tRNAs sowie die ribosomale (r)RNA, die zusammen mit Proteinen die Ribosomen bildet. Dies

trifft ebenso für die „splicenden“ RNAs sowie die an der Reifung der rRNA mitwirkenden kleinen nicht-codierenden RNA-Moleküle zu. Relativ neu ist dagegen die Erkenntnis, dass Ribonukleinsäuren in beträchtlichem Umfang auch regulatorische Funktionen ausüben. So wirken z. B. MikroRNAs als Hemmstoff der Translation, oder die interferierenden RNAs zerstören gezielt mRNA-Moleküle. Es gibt Hinweise, dass auch längere RNA-Moleküle regulatorische Funktionen besitzen; sie verbergen sich hinter intronischen Bereichen der DNA, die lange Zeit als bedeutungsloser Ballast klassifiziert wurden, offensichtlich aber eine wichtige biologische Rolle in der Zelle spielen und auch die Evolution maßgeblich beeinflussen (MATTICK 2004).

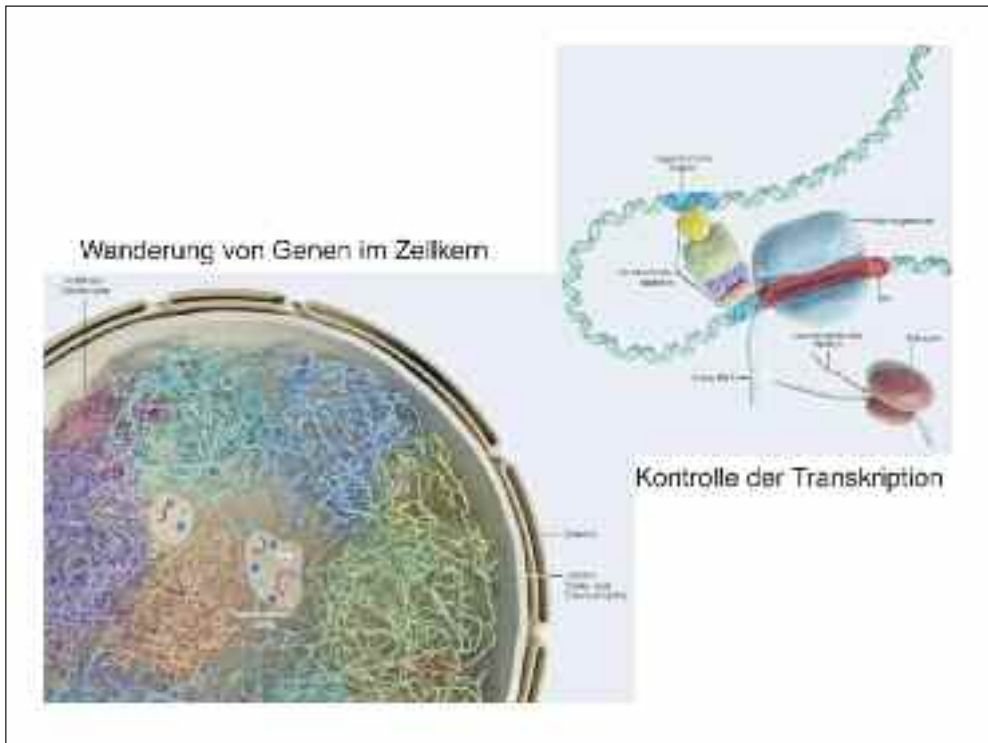


Abb. 10 Mechanismen der Regulation der Genaktivität. Die Genaktivität wird maßgeblich auf dem Niveau der Transkription reguliert, in dem regulatorische Proteine die RNA-Polymerase am Promotor entweder blockieren oder ihre Funktion aktivieren, wie dies im rechten Teil der Abbildung skizziert ist. Bei Eukaryoten spielt auch die sekundäre Struktur des Genoms, erzeugt durch Assoziation der DNA mit Proteinen eine wichtige Rolle bei der Regulation der Genaktivität. Im Zellkern besetzt jedes Chromosom einen klar definierten Ort (Territorium). Je weiter ein Chromosom an der Peripherie des Zellkerns liegt, desto weniger aktiv sind die dort verankerten Gene. Das „chromosome painting“ erlaubt es, jedes Chromosom zur besseren Unterscheidung mit einer anderen Farbe zu markieren. (Modifiziert nach MISTELLI 2011, S. 29.)

Die Genaktivität wird hauptsächlich auf der Ebene der Transkription reguliert. Regulatorische Proteine können die RNA-Polymerase am Promotor entweder blockieren oder ihre Wirkung beschleunigen, wie dies im rechten Teil der Abbildung 10 skizziert ist. Jüngsten Entdeckungen zufolge ist die Architektur des Genoms – zumindest bei Eukaryoten – ein wichtiges Kriterium für die Regulation der Genaktivität. Im Zellkern besetzt jedes Chromosom einen klar defi-

nierten Ort, ein „Territorium“. Je weiter ein Chromosom an der Peripherie des Zellkerns positioniert ist, desto weniger aktiv sind die dort verankerten Gene. Positionsänderungen sind möglich, was Auswirkungen auf Entwicklungsprozesse, aber auch auf die Ausprägung von Krankheiten haben könnte (MISTELLI 2011). Diese Positionseffekte und dadurch bewirkte Veränderungen in der Genexpression zählen zu den epigenetischen Merkmalen. Dies sind genetische Veränderungen, die nicht auf Veränderungen der DNA-Sequenz beruhen.

## 5. Der Stoffwechsel determiniert Aktivität und Diversität lebender Zellen

Ein eigenständiger Stoffwechsel bildet eine der Voraussetzungen zum Leben. Dies bedeutet, dass die Inhaltsstoffe einer Zelle gegenüber dem äußeren Milieu durch amphipathische Moleküle wie Phospholipide eingegrenzt werden. Eine solche osmotische Schranke bildet die

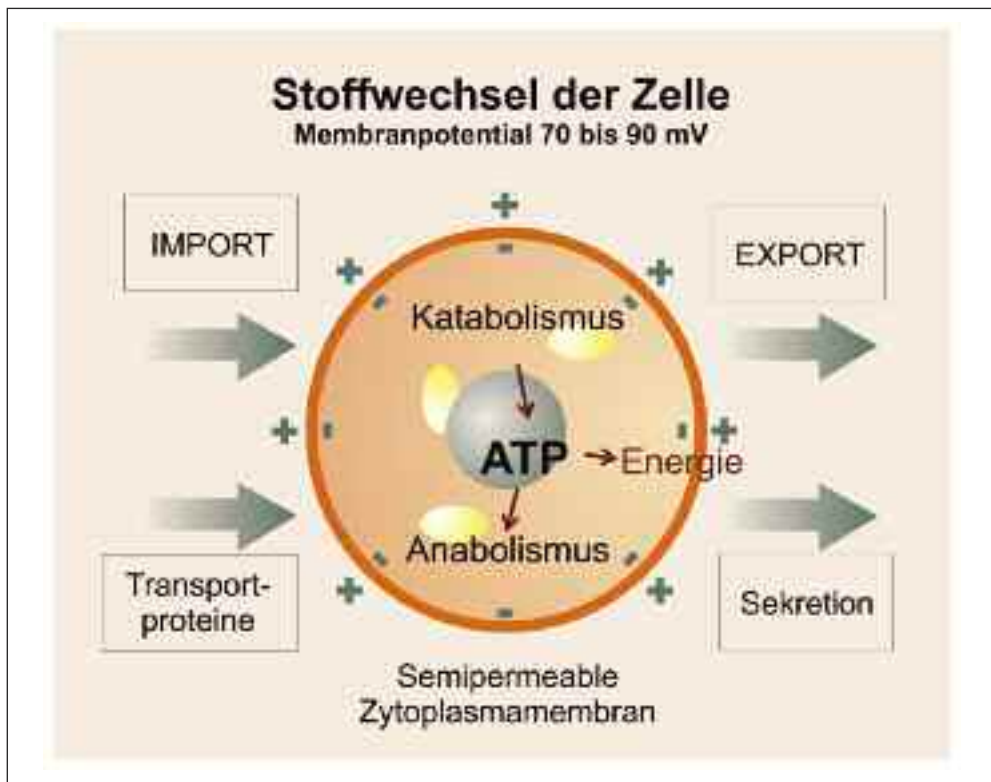


Abb. 11 Grundlagen eines eigenständigen Stoffwechsels einer Zelle. Die Zelle ist gegenüber ihrem äußeren Milieu durch eine Zytoplasmamembran abgegrenzt. Sie kontrolliert die Aufnahme und die Abgabe von Substanzen und besitzt eine elektrische Spannung, ein Membranpotential, das außen positiv und innen negativ geladen ist. Diese Potentialdifferenz kann für Transportvorgänge oder andere energieabhängige Prozesse genutzt werden. Import und Export von Stoffen erfolgen durch Transportproteine bzw. durch sekretorische Proteine. Aus molekularen Bausteinen werden im Zuge der Biosynthese (Anabolismus) makromolekulare Zellbestandteile wie Proteine, Phospholipide, Nucleinsäuren und Zellwand aufgebaut. Hierzu benötigt die Zelle Energie, z. B. den universellen Energieträger Adenosin-5'-triphosphat (ATP), sowie Nährstoffe, deren Abbau (Katabolismus) oder Umwandlung die Vorstufen für Biosynthesen liefert.

Zytoplasmamembran, die für einige wenige Komponenten wie Wasser selektiv durchlässig ist, ansonsten intrazelluläre Stoffe, sogenannte Metabolite, zurückhält. Dieses hat zur Folge, dass im Zytoplasma befindliche Biomoleküle, wie Zucker, Fettsäuren, Aminosäuren und Nukleinsäuren, sowie anorganische Komponenten entgegen einem Konzentrationsgradienten akkumulieren. So kann die Synthese von polymeren Bestandteilen, die für das Wachstum und die Vermehrung einer Zelle unerlässlich sind, mit relativ hoher Umsatzrate ablaufen. Die metabolischen Reaktionen werden darüber hinaus durch eine Vielzahl von Enzymen katalysiert. Diese sind verantwortlich für die aktive Aufnahme von Nährstoffen in die Zelle, den Abbau dieser Substrate zu Intermediaten, deren Umwandlung in einzelne Zellbausteine, die Synthese neuer Moleküle und die Sekretion von Stoffen aus dem Innern der Zelle in das äußere Milieu (Abb. 11).

Der Stoffwechsel funktioniert nur, wenn der Zelle genügend Energie zugeführt wird. Als Energiequellen nutzen Organismen entweder chemische Substanzen oder Licht. Nahrungsquellen können organischen oder anorganischen Ursprungs sein, man spricht von chemoorganotropher bzw. chemolithotropher Lebensweise. Letztere ist häufig bei prokaryotischen Mikroorganismen anzutreffen, deren Stoffwechsel sich wahrscheinlich unter unwirtlichen Bedingungen in der frühen Entwicklungsphase der Erde herausgebildet hat. Chemolithotrophe Organismen verwerten im Vergleich zum menschlichen Stoffwechsel recht ungewöhnliche Substrate wie reduzierte Schwefel- und Metallverbindungen, auch gasförmige Verbindungen wie Wasserstoff und Kohlenmonoxid. Aus der Oxidation dieser Stoffe beziehen sie biologisch verwertbare Energie. Bei der chemoorganotrophen Lebensweise, die auch dem Menschen eigen ist, werden dagegen organische Nährstoffe wie Zucker und Stärke in der Regel mit Sauerstoff oxidiert. Dieser Prozess liefert sowohl Zellbausteine als auch Energie. Zahlreiche Mikroorganismen vermögen auch in Abwesenheit von Sauerstoff mit alternativen Elektronenakzeptoren wie Carbonat, Nitrat oder Sulfat organische Nährstoffe zu oxidieren. Diese Form des Stoffwechsels bezeichnet man als „anaerobe Atmung“. Ein weiterer unter Ausschluss von Sauerstoff ablaufender Metabolismus, der biochemisch verwertbare Energie bereitstellt, ist die Vergärung organischer Nährstoffe, beispielhaft in Hefezellen zu beobachten. In diesem Prozess werden Produkte freigesetzt, die biotechnologisch von Bedeutung sind, z. B. Alkohol und organische Säuren.

Dient Licht im Zuge der Photosynthese als Energiequelle oder werden anorganische Verbindungen als Energieträger metabolisch verwertet, so synthetisiert die betreffende Zelle in der Regel die Vorstufen zu den Zellbausteinen aus Kohlendioxid ( $\text{CO}_2$ ). Für diese „autotrophe“ Lebensweise haben die Mikroorganismen vielfältige Stoffwechselwege entwickelt. Der bekannteste und energieaufwendigste ist der Calvin-Benson-Bassham-Zyklus, den auch die Pflanzen und Algen nutzen und der in diesem Fall durch Lichtenergie getrieben wird (MADIGAN et al. 2010). Diesen Stoffwechselreaktionen verdanken wir die Entstehung von Biomasse als Nahrungsquelle für die Tiere und den Menschen.

Dieser kurze Überblick zeigt, dass Organismen im Verlauf der Evolution eine Vielzahl von Stoffwechselwegen entwickelt haben, die ihnen ein weites Repertoire an Nahrungsquellen erschlossen und das Leben in unterschiedlichsten Habitaten ermöglichten. Aus den zentralen Reaktionen im Energiestoffwechsel von lebenden Zellen möchte ich beispielhaft die Atmung und die damit gekoppelte Synthese von Adenosintriphosphat (ATP) näher beleuchten. Diese Reaktionen laufen nahezu universell ab, bei den Eukaryoten in den Mitochondrien und bei den Prokaryoten an der Zytoplasmamembran. Die Abfolge dieses komplexen Prozesses wurde detailliert in einem Videofilm gezeigt (Micro Flix™-Metabolism, Pearson Education, Inc. 2009).

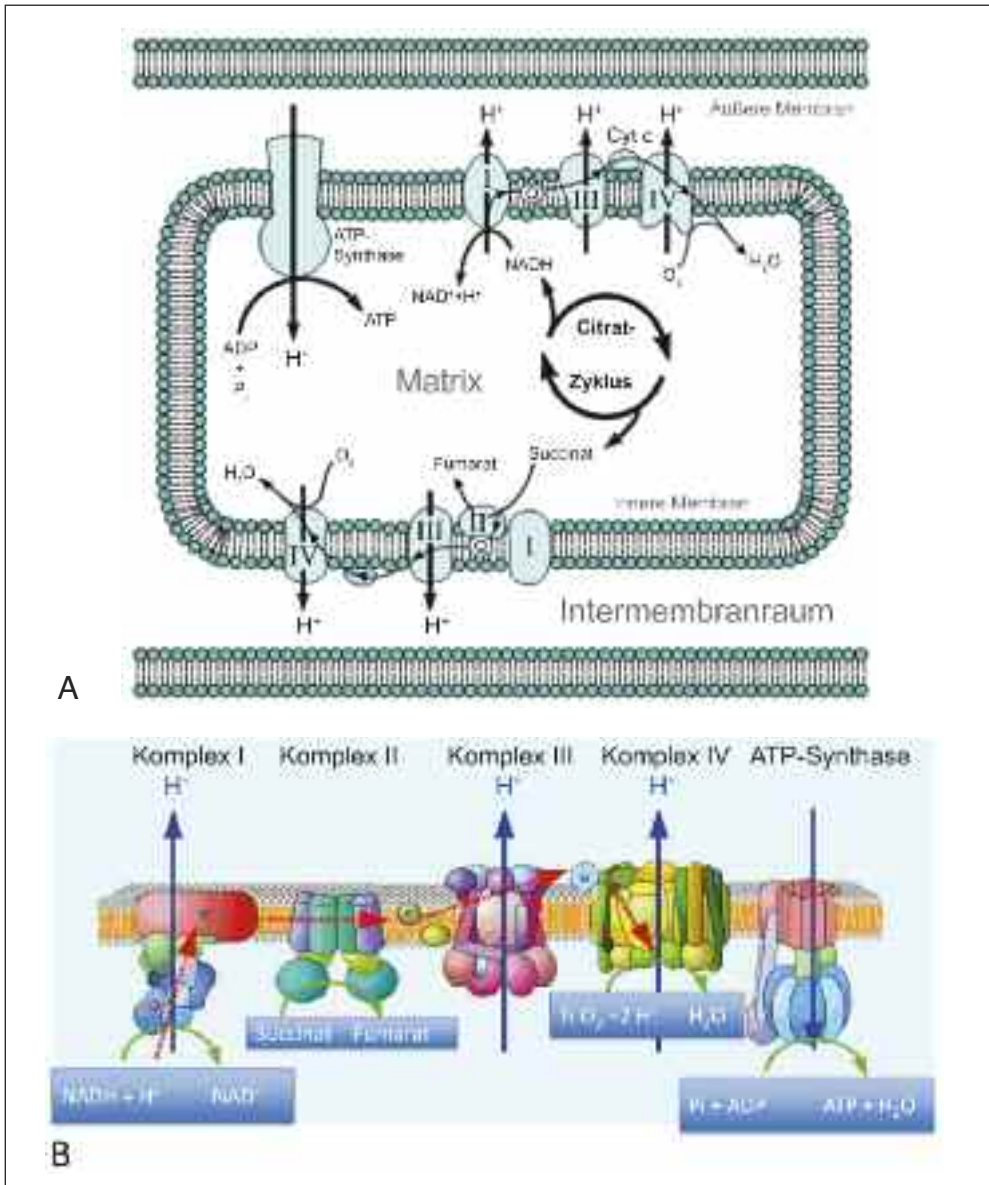


Abb. 12 (A) Die Atmungskette ist ein zentraler Teil des Energiestoffwechsels der Mehrzahl aller Lebewesen. Sie besteht aus einer Kette redoxabhängiger Reaktionen, die durch membranständige Proteinkomplexe katalysiert werden. Durch den Abbau von Nährstoffen, z. B. über die Glycolyse oder die Fettsäureoxidation, die schließlich im Citrat-Zyklus weiter oxidiert werden, gelangen die anfallenden Reduktionsäquivalente auf Mediatoren (NADH, FMN<sub>2</sub>, FADH<sub>2</sub>). (B) Diese werden durch Proteinkomplexe in der Membran, die im unteren Teil der Abbildung näher ausgeführt sind, in Einzelschritten reoxidiert, und die Elektronen wandern über eine Endoxidase (Komplex IV) bis zu einem terminalen Elektronenakzeptor, in der Regel Sauerstoff. Bei diesem der Knallgasreaktion analogen Prozess entsteht Wasser und die freiwerdende Energie wird im Zuge der oxidativen Phosphorylierung dazu genutzt, aus Adenosindiphosphat und Phosphat den universellen biochemischen Energieträger Adenosintriphosphat (ATP) zu synthetisieren. Das dafür zuständige Enzym ist die transmembrane ATPase. (Modifiziert nach [de.wikipedia.org/wiki/Atmungskette](http://de.wikipedia.org/wiki/Atmungskette))

An dieser Stelle beschränke ich mich auf die Skizzierung der Atmungskette (Abb. 12) und kommentiere die Synthese von ATP. Es ist bemerkenswert, dass die Forschungen zum Energiestoffwechsel in den Mitochondrien in jüngster Zeit große Aufmerksamkeit gefunden haben, werden Störungen im Mitochondrienenergiestoffwechsel doch zunehmend als Ursache zahlreicher, teilweise genetisch bedingter, Erkrankungen identifiziert (SCHARFEN et al. 2009).

## 6. Adenosintriphosphat, ein universeller biologischer Energieträger

Adenosintriphosphat (ATP) wurde 1929 von Karl LOHMANN entdeckt. Er war später Professor für Physiologische Chemie an der Humboldt-Universität und von 1953 bis 1964 am Institut für Medizin und Biologie der Deutschen Akademie der Wissenschaften (DAW) in Berlin-Buch tätig. Von der Leopoldina wurde er für diese Entdeckung mit der Cothenius-Medaille ausgezeichnet. Die Spaltung der Phosphoanhydridbindungen im ATP ist stark exergon und setzt Energie frei (Abb. 12). Dass diese Energie den Stoffwechsel treiben kann, war die Erkenntnis von Fritz LIPMANN (1971). In Königsberg geboren, in New York gestorben, entdeckte LIPMANN auch Acetyl-CoA, ein weiteres energiereiches Biomolekül, und wurde dafür zusammen mit Hans KREBS 1947 mit dem Nobelpreis für Medizin ausgezeichnet. 1969 wurde er zum Ehrenmitglied der Leopoldina ernannt.

Inzwischen sind Wirkungsweise und Synthese von ATP weitestgehend erforscht. ATP wird durch die ATPase synthetisiert, eine membranständige hoch komplexe Zellmaschine (Abb. 12), die aus ADP und Phosphat das ATP aufbaut und dazu unter physiologischen Bedingungen pro Mol ca. 45 kJ benötigt. Die ATPase setzt sich je nach Herkunft aus 8 bis 20 Proteinuntereinheiten zusammen, einem wasserlöslichen Komplex, der in den Mitochondrien und an der Zytoplasmamembran von Bakterien nach innen weist und an dem die ATP-Bildung abläuft. Der wasserunlösliche, in der Membran verankerte Teil des Proteins rotiert und transportiert dabei Protonen oder andere Ionen über die Membran, wobei diese sogenannte protonenmotorische Kraft in chemische Energie umgewandelt wird. Damit nutzt die ATPase den Protonengradienten, der durch die Atmungsenzyme NADH-Dehydrogenase, den Cytochrom-*bc1*-Komplex und die Endoxidase aufgebaut wird, zur Bereitstellung biochemisch verwertbarer Energie (Abb. 12). Die dem Prozess zugrundeliegende chemioosmotische Theorie, die erstmals von Peter MITCHELL (1961) vorgeschlagen wurde, hat wesentlich zum Verständnis des Energiestoffwechsels einer lebenden Zelle beigetragen. Der Entdecker erhielt für diese Leistung 1978 den Nobelpreis. Mit einem weiteren Nobelpreis wurden 1997 Paul D. BOYER, John E. WALKER und Jens C. SKOU geehrt, die durch Struktur- und Funktionsstudien maßgeblich den molekularen Wirkungsmechanismen des ATPase-Komplexes entschlüsselt haben (BOYER 1997).

## 7. Das Gesamtsystem einer Zelle

Nach diesem kurzen Einblick in die Energiefabrik der Zelle möchte ich im letzten Teil des Vortrages die zuvor beschriebenen molekularen Einzelkomponenten, die das Leben prägen, ganzheitlich zusammenfügen und auf ihr funktionelles Zusammenspiel innerhalb der Zelle oder auch im Zellverbund eingehen. Eine als „Systembiologie“ bezeichnete Forschungsrichtung beruht auf einer neu dimensionierten experimentellen Herangehensweise. Im Konzert



Wie viel genetische Information benötigt eine Zelle zum Leben?

Bevor ich beispielhaft die Proteomforschung vertiefend diskutiere, möchte ich eine immer wiederkehrende Frage kommentieren: Wie viel genetische Information benötigt eine Zelle zum Leben?

Tab. 1 Beispiele für total sequenzierte Genome

Organismus	Genomgröße <sup>[1]</sup>	Gene	Gendichte <sup>[2]</sup>
Blattfloh-Endosymbiont <i>Carsonella ruddii</i>	$1,6 \times 10^5$	182	1138
<i>Mycoplasma genitalium</i>	$5,8 \times 10^5$	476	
<i>Haemophilus influenzae</i> (1995)	$1,8 \times 10^6$	1709	
Darmbakterium <i>Escherichia coli</i>	$4,6 \times 10^6$	4500	900
Bäckerhefe <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	$2,0 \times 10^7$	6000	300
Fadenwurm <i>Caenorhabditis elegans</i>	$8,0 \times 10^7$	19000	200
Acker-Schmalwand <i>Arabidopsis thaliana</i>	$1,0 \times 10^8$	25 500	255
Taufliege <i>Drosophila melanogaster</i>	$2,0 \times 10^8$	13 500	70
Kugelfisch <i>Fugu rubripe</i>	$3,65 \times 10^8$		
Kohl <i>Brassica oleracea</i>	$5,99-8,68 \times 10^8$	100 000	599-868
Mensch <i>Homo sapiens</i> (2003)	$3,27 \times 10^9$	20 000-25 000	10
Teichmolch <i>Triturus vulgaris</i>	$2,5 \times 10^{10}$		

[1] In Basenpaaren, [2] Anzahl der Gene pro Millionen Basenpaare

Wie aus Tabelle 1 ersichtlich, besitzt das endosymbiontische Bakterium *Carsonella ruddii*, das seinen Wirt mit Aminosäuren versorgt, ein winziges Genom von 160 000 Basenpaaren. Der Endosymbiont ist nicht in der Lage, unabhängig von seinem Wirt frei zu leben, stellt nach der oben gegebenen Definition also einen Grenzfall des Lebens dar. *Mycoplasma genitalium* hat dagegen eine ausreichende Genausstattung, um ein wirtsunabhängiges Leben führen zu können. Daraus folgt, dass für das elementare Leben einer prokaryotischen Zelle etwa 500 Gene erforderlich sind. Von dem Genom des wohl wichtigsten Modellbakteriums der Molekularbiologie, *Escherichia coli*, wurde experimentell durch Entfernen einzelner DNA-Abschnitte die Information von etwa 1000 Genen eliminiert und damit ein sogenanntes Minimalgenom geschaffen, das um etwa 25% gegenüber dem Genom der Ausgangszelle verkleinert ist (Tab. 1). Die so veränderten *E. coli*-Zellen sind unter bestimmten Kulturbedingungen gut lebensfähig, haben aber ihre Anpassungsfähigkeit an Stresssituationen oder wechselnde Nährstoffangebote weitestgehend eingebüßt (ARIGONI et al. 1998, PÓSFÁI et al. 2006).

Die Genome von Eukaryoten sind im Vergleich zu denen der Prokaryoten größer (Tab. 1). Durch den Besitz nicht-codierender DNA-Anteile weisen diese Genome eine geringere Gendichte auf. Dies trifft besonders für das Genom des Menschen zu. Inzwischen wächst die Erkenntnis, dass zunächst als überflüssig betrachtete DNA-Abschnitte vermutlich wichtige regulatorische Funktionen tragen. Darüber hinaus ist die Anzahl der Gene nicht direkt proportional zur Komplexität eines Organismus. So besitzt der Mensch nicht wesentlich mehr Gene als das Pflänzchen *Arabidopsis thaliana*, darüber hinaus gibt es zahlreiche Organismen, deren Genomgröße die des Menschen sogar übersteigt, zu ihnen gehört auch der Teichmolch (GREGORY 2006).

Aus dem Wissen, dass der Besitz einer überschaubaren Anzahl von Genen einer einfachen prokaryotischen Zelle offensichtlich zum Leben genügt, resultiert sogleich eine weitere Frage: Kann diese Erbinformation nicht chemisch synthetisiert und damit artifizielles Leben geschaffen werden? Derartige Ansätze, die ethische Diskussionen auslösen und Fragen der biologischen Sicherheit berühren, werden im Rahmen des neuen Forschungsgebietes der Synthetischen Biologie berührt, das sich noch weitgehend auf der Ebene der Grundlagenforschung bewegt. Die Konstruktion einer künstlichen Zelle – einer sogenannten Protozelle – kann eher als ein visionäres Ziel betrachtet werden (*Acatech, DFG, Leopoldina* 2009).

Auf dem Weg zu einer Protozelle hat es allerdings in den letzten 10 Jahren bemerkenswerte Fortschritte gegeben. Es ist inzwischen gelungen, vollständige Genome aus chemischen Bausteinen zu synthetisieren. Die Liste reicht vom Poliovirus-Genom über komplexe DNA-Module – bezeichnet als „BioBricks“ – bis hin zu dem bakteriellen Genom von *Mycoplasma genitalium* (Tab. 2). Aufsehen erregte im Jahr 2010 eine Publikation der Arbeitsgruppe von Craig VENTER, die das synthetisch erzeugte Genom von *Mycoplasma mycoides* in eine DNA-freie Zelle des verwandten Bakteriums *Mycoplasma capricolum* transplantierte mit dem Ergebnis, dass die neu gewonnenen Zellen die Eigenschaft des DNA-Spenders, *M. mycoides*, aufwiesen (GIBSON et al. 2010). Damit war es gelungen, eine authentische Kopie, aber noch kein artifizielles Leben zu schaffen, das den eingangs erwähnten Kriterien entspricht.

Tab. 2 Chemische Synthese von komplexen Nukleinsäuremolekülen

Objekt	Größe	Referenz
Poliovirus	7500 bp	CELLO et al. 2002
BioBricks	variabel	KNIGHT 2003
Influenza-Virus	3500 bp	COUZIN 2002
<i>M. genitalium</i> -Genom	582 970 bp	GIBSON et al. 2008
<i>M. mycoides</i> -Genom transplantiert in <i>M. capricolum</i>	1 100 000 bp	GIBSON et al. 2010

## 8. Das Leben im Spiegel des Proteoms

Durch die Techniken der Transkriptom-, Proteom- und Metabolom-Forschung verfügt die Molekularbiologie über ein Instrumentarium, mit dem erstmals die Dynamik von Lebensprozessen erfasst werden kann. Am Beispiel der Proteom-Analyse lässt sich anschaulich nachvollziehen, welche der möglichen Proteine einer Zelle zu einem bestimmten Zeitpunkt in einer bestimmten Konzentration und in einem konkreten Zellkompartiment vorhanden und wahrscheinlich aktiv sind. In diesem Abbild spiegeln sich die elementaren molekularen Lebensvorgänge am deutlichsten wider.

Der experimentelle Weg dahin wurde vor mehr als 20 Jahren mit der zweidimensionalen Auftrennung von Proteinextrakten nach Ladung und Größe in einer Gelmatrix (O'FARRELL 1975) geebnet. Jeder gefärbte Punkt (Spot) in diesem Gel (Abb. 14) entspricht bestimmten Einzelproteinen oder Proteinagglomeraten, deren Konzentration abhängig ist von äußeren Lebensbedingungen wie z. B. dem Nährstoffangebot, der Temperatur, der Gegenwart von Sau-

erstoff oder Licht. In dem dokumentierten Experiment ist der Wechsel des Proteininventars von der heterotrophen Lebensweise eines Bakteriums (rot markierte Proteinspots) zum autotrophen Stoffwechsel mit Wasserstoff als Energiequelle (grün markierte Proteinspots) dargestellt (Abb. 14). Stets vorhandene, das bedeutet konstitutiv exprimierte Proteine, sind gelb markiert. Mit dieser Technik konnten die Genprodukte auch bestimmten genomischen Substrukturen, hier den bakteriellen Chromosomen und einem großen Plasmid, zugeordnet werden (SCHWARTZ et al. 2009). Durch die Weiterentwicklung der Massenspektrometrie ist die Proteomanalyse inzwischen so ausgefeilt und sensitiv, dass etwa 80% der gebildeten Proteine, darunter zytosolische, membranständige und extrazelluläre Proteine erfasst werden können. Dies ist in der Arbeitsgruppe von Michael HECKER (Universität Greifswald) beeindruckend bei dem Krankheitserreger *Staphylococcus aureus* gezeigt worden. Darüber gibt Abbildung 15 Aufschluss (BECHER et al. 2009).

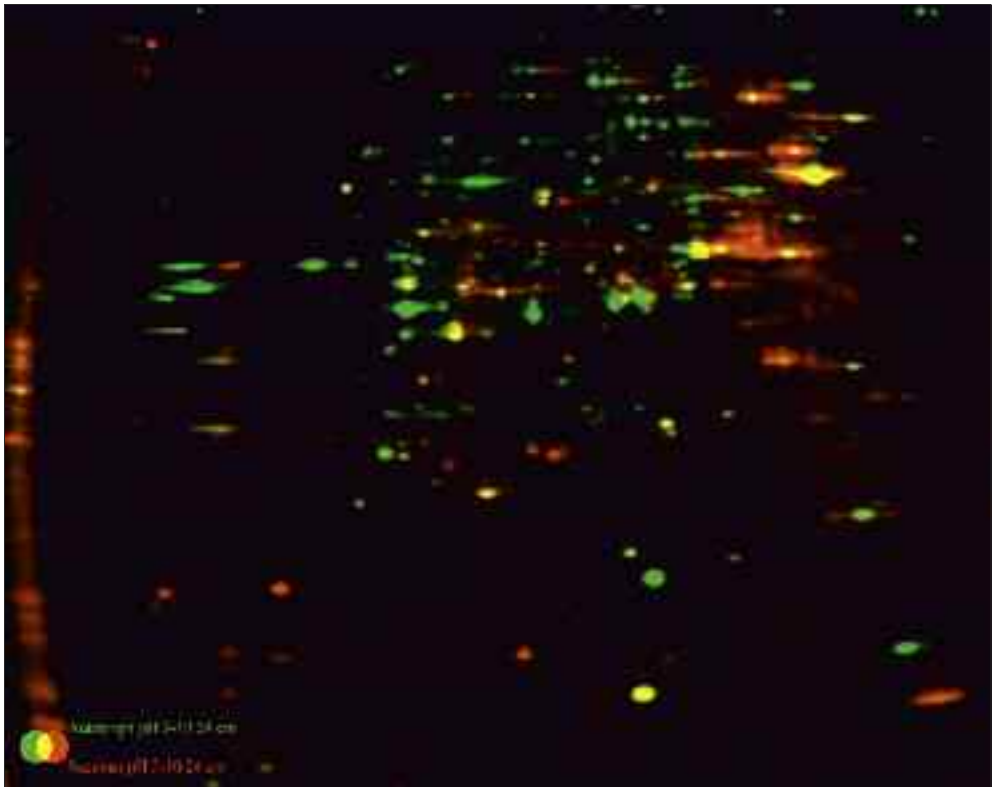


Abb. 14 Proteinprofile aus dem löslichen Extrakt des Knallgasbakteriums *Ralstonia eutropha*. Der Extrakt wurde aus Zellen präpariert, die zwei grundsätzlich verschiedene Ernährungsweisen, autotroph ( $H_2 + O_2 + CO_2$ ) und heterotroph (mit Succinat als Kohlenstoffquelle), reflektieren. Durch farbige Markierung der Proteine entsteht eine Karte, die autotroph hoch regulierte Proteine als grüne Flecken ausweist, heterotroph exprimierte Proteine rot markiert darstellt und Proteine, die unter beiden Bedingungen identifizierbar sind, als gelbe Flecken in Erscheinung treten lässt. In der betreffenden Proteomstudie konnten die Proteine zusätzlich ihrem genetischen Ursprung, den beiden Chromosomen bzw. dem Megaplasmid zugeordnet werden (SCHWARTZ et al. 2009).

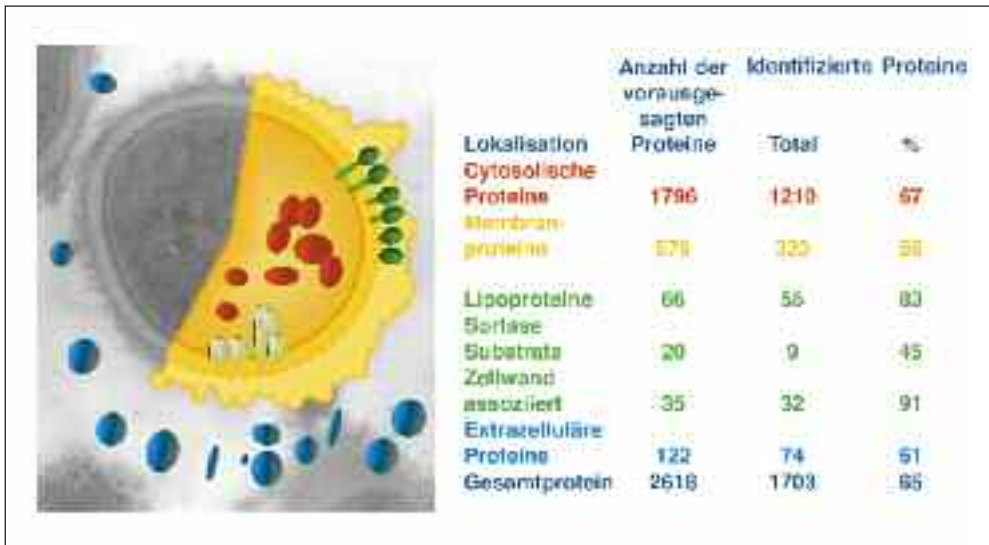


Abb. 15 Summe aller identifizierten Proteine aus *Staphylococcus aureus*. Aus vier Fraktionen (Zytoplasma, Membran, Zelloberfläche und extrazellulärem Überstand) wurden Proteine identifiziert, um ein Gesamtproteom-Profil zu erstellen. Mit insgesamt 1700 Proteinen (davon 1450 quantifiziert) wurden 75 % der in dem Organismus exprimierten Proteine erfasst. Mit diesem Durchbruch ist ein Weg zum Verständnis der Pathogenität dieses Krankheitserregers eröffnet (BECHER et al. 2009).

Die Genomstudien generieren eine Fülle von Daten, die es gilt nach rationalen Kriterien leicht nachvollziehbar und anschaulich zusammenzufügen, um daraus schließlich Aussagen über das Gesamtsystem einer Zelle ableiten zu können. Nach einem neuen computergestützten Konzept (*TreeMap*) werden die Proteine in ein netzartiges Schema gefügt, wie dies am Beispiel des Gram-positiven Sporenbildenden Modellbakteriums *Bacillus subtilis* veranschaulicht ist (Abb. 16). Durch unterschiedliche Farbgebungen können somit Stoffwechselbereiche und dazugehörige Proteinfunktionen voneinander abgegrenzt werden. Diese Auftrennung gestaltet sich immer filigraner, stellt schließlich individuelle Reaktionskreisläufe dar, z. B. die Glykolyse, den Stofftransport oder die Replikation. Schließlich kann jedes Segment einem individuellen Protein zugeordnet werden (OTTO et al. 2010). Wie sich dieses Netzwerk dynamisch ändert, ist in einer abschließenden Animation dargestellt, die mir freundlicherweise von der Arbeitsgruppe von Michael HECKER, Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald, zur Verfügung gestellt wurde. Sie zeigt den Weg vom genetischen Bauplan bis hin zur Proteinausstattung einer Zelle und verdeutlicht das Zusammenspiel großer Proteinkonvolute. Diese Interaktionen sind von dem Kollegen HECKER treffend als „Tanz der Proteine“ bezeichnet worden.<sup>1</sup> In diesem Bild offenbaren sich eindrucksvoll die molekularen Ereignisse in der Zelle, auf denen Leben basiert.

Ob es je gelingen wird und ob es erstrebenswert ist, dieses Leben künstlich zu reproduzieren, bleibt eine offene Frage. Ob wir das, was Leben ausmacht, in Gänze verstehen werden, ist ebenso zweifelhaft. Ich möchte schließen mit einem Zitat von Alexander VON HUMBOLDT (1769–1859)

<sup>1</sup> 120313\_ZEIT\_Wwgi\_Greifswald\_1-2\_quer.pdf>.



„Jedes Naturgesetz, das sich dem Beobachter offenbart, lässt auf ein höheres, noch unbekanntes schliessen, denn die Natur ist, wie Carus<sup>2</sup> so trefflich bemerkt ‚das ewig Wachsende, ewig im Bilden und Entfalten Begriffene‘ :“<sup>3</sup>

## Dank

Ich danke Thomas EITINGER für die Unterstützung bei der Auswahl der Videopräsentationen, Michael HECKER und Mitarbeitern für inhaltliche Diskussionen und die Überlassung von Abbildungen sowie Lars RIENOW für die Hilfe bei der Zusammenfügung der Power-Point-Präsentation.

## Literatur

- Acatech*, DFG, *Leopoldina*: Synthetische Biologie. Synthetic Biology. Stellungnahme/Statement. Standpunkte/Positions. Weinheim: WILEY-VCH 2009
- ARIGONI, F., TALABOT, F., PEITSCH, M., EDGERTON, M. D., MELDRUM, E., ALLET, E., FISH, R., JAMOTTE, T., CURCHOD, M.-L., and LOFERER, H.: A genome-based approach for the identification of essential bacterial genes. *Nature Biotech.* 16, 851–856 (1998)
- Atlas zu Alexander v. Humboldt's Kosmos in zweiundvierzig Tafeln mit erläuterndem Text. Hrsg. von T. BROMME. Stuttgart: Kraus & Hoffmann 1851
- AVERY, O. T., MACLEOD, C. M., and MCCARTHY, M.: Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types: Induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from *Pneumococcus* type III. *J. Exp. Med.* 79, 137–158 (1944)
- BECHER, D., HEMPEL, K., SIEVERS, S., ZÜHLKE, D., PANÉ-FARRÉ, J., OTTO, A., FUCHS, S., ALBRECHT, D., BERNHARDT, J., ENGELMANN, S., VÖLKER, U., VAN DIJL, J. M., and HECKER, M.: A proteomic view of an important human pathogen – towards the quantification of the entire *Staphylococcus aureus* proteome. *PLoS ONE* 4, e8176 (2009)
- BOYER, P. D.: The ATPsynthase – a splendid molecular machine. *Annu. Rev. Biochem.* 66, 717–749 (1997)
- BROCK, T. D.: *Brock Biology of Microorganisms*. Boston u. a.: Pearson 2012
- CALLAHANA, M. C., SMITH, K. E., CLEAVES II, H. J., RUZICKA, J., STERN, J. C., GLAVIN, D. P., HOUSE, C. H., and DWORKIN, J. P.: Carbonaceous meteorites contain a wide range of extraterrestrial nucleobases. *Proc. Natl. Akad. Sci. USA* 108/34, 13995–13998 (2012)
- CANO, R. J., and BORUCKI, M. K.: Revival and identification of bacterial spores in 25- to 40 million-year-old Dominican amber. *Science* 19, 1060–1064 (1995)
- CELLO, J., PAUL, A. V., and WIMMER, E.: Chemical synthesis of poliovirus cDNA: generation of infectious virus in the absence of natural template. *Science* 297, 1016–1018 (2002)

- 
- 2 HUMBOLDT bezieht sich hier auf Carl Gustav CARUS (Präsident der Leopoldina von 1862 bis 1869) und sein Werk *Von den Urtheilen des Knochen- und Schalengerüstes*.
  - 3 Das Zitat findet sich in der Einleitung zum *Atlas zu Alexander v. Humboldt's Kosmos* (1851), S. 3.

---

Abb. 16 Mit dem Gram-positiven Sporen bildenden Modellorganismus *Bacillus subtilis* wurden durch funktionelle Genomikanalysen Einblicke in die Gesamtphysiologie des Organismus gewonnen, der einem Nährstoffmangel ausgesetzt worden war. Die temporären Veränderungen im Transkript-, Protein- und Metabolitmuster wurden in sogenannte *TreeMaps* übertragen. Ungefähr 52% der vorausgesagten Proteine konnten identifiziert werden. Jedes Segment in der graphischen Reproduktion zeigt auf unterschiedlichen Hierarchieebenen funktionelle Gruppen von Proteinen. Der obere Teil der Abbildung (A) gibt umfassende Kategorien wieder, zum Beispiel Kohlenstoff-Metabolismus, der im unteren Teil (B) weiter aufgeschlüsselt wird, zum Beispiel in Glykolyse und Gluconeogenese. Durch unterschiedliche Farbcodierungen können die Veränderungen im Proteom sichtbar gemacht werden (nach OTTO et al. 2010).

- CHARGAFF, E., VISCHER, E., DONIGER, R., GREEN, C., and MISANI, F.: The composition of the desoxyribose nucleic acids of thymus and spleen. *J. Biol. Chem.* 177, 405–416 (1949)
- COUZIN, J.: Active poliovirus baked from scratch. *Science* 297/5579, 174–175 (2002)
- EGNER, A., and HELL, S. W.: Fluorescence microscopy with super-resolved optical sections. *Trends Cell Biol.* 15, 207–215 (2005)
- EIGEN, M.: Molekulare Selbstorganisation und Evolution (self organization of matter and the evolution of biological macro molecules). *Naturwissenschaften* 58, 465–523 (1971)
- FRANKLIN, R., and GOSLING, R.: Molecular configuration in sodium thymonucleate. *Nature* 171, 740–741 (1953)
- GIBSON, D. G., BENDERS, G. A., ANDREWS-PFANNKUCH, C., DENISOVA, E. A., BADEN-TILLSON, H., ZAVERI, J., STOCKWELL, T. B., BROWNLEY, A., THOMAS, D. W., ALGIRE, M. A., MERRYMAN, C., YOUNG, L., NOSKOV, V. N., GLASS, J. I., VENTER, J. C., HUTCHISON, C. A. 3<sup>rd</sup>, and SMITH, H. O.: Complete chemical synthesis, assembly, and cloning of a *Mycoplasma genitalium* genome. *Science* 319, 1215–1220 (2008)
- GIBSON, D. G., GLASS, J. I., LARTIGUE, C., NOSKOV, V. N., CHUANG, R.-Y., ALGIRE, M. A., BENDERS, G. A., MONTAGUE, M. G., MA, L., MOODIE, M. M., MERRYMAN, C., VASHEE, S., KRISHNAKUMAR, R., ASSAD-GARCIA, N., ANDREWS-PFANNKUCH, C., DENISOVA, E. A., YOUNG, L., QI, Z.-Q., SEGALL-SHAPIRO, T. H., CALVEY, C. H., PARMAR, P. P., HUTCHISON, C. A. 3<sup>rd</sup>, SMITH, H. O., and VENTER, J. C.: Creation of a bacterial cell controlled by chemically synthesized genome. *Science* 329, 52–56 (2010)
- GREGORY, T. R.: Animal genome size database. <http://www.genomesize.com>. (2006)
- GRIFFITH, F.: The significance of pneumococcal types. *Journal of Hygiene* 27, 113–159 (1928)
- INAGAKI, F., NUNOURA, T., NAKAGAWA, S., TESKE, A., LEVER, M., LAUER, A., SUZUKI, M., TAKAI, K., DELWICHE, M., COLWELL, F. S., NEALSON, K. H., HORIKOSHI, K., D'HONDT, S., and JØRGENSEN, B. B.: Biogeographical distribution and diversity of microbes in methane hydrate-bearing deep marine sediments on the pacific ocean margin. *Proc. Natl. Akad. Sci. USA* 103/8, 2815–2820 (2006)
- KNIGHT, T.: Idempotent Vector Design for Standard Assembly of Biobricks. MIT Synthetic Biology Working Group (2003)
- KNIPPERS, R.: Molekulare Genetik. 9. Aufl. Stuttgart u. a.: Thieme 2006
- LEEWENHOECK [VAN LEEUWENHOEK], A., and GRAAF, R. DE: A specimen of some observations made by a microscope, contrived by M. Leewenhoek in Holland, lately communicated by Dr. Regnerus de Graaf. *Phil. Trans.* 8, 6037–6038 (1673)
- LIPMANN, F.: Wandering of a Biochemist. New York: Wiley-Interscience 1971
- MADIGAN, M. T., MARTINKO, J. M., and PARKER, J.: Brock Biology of Microorganisms. 13<sup>th</sup> edition. San Francisco: Benjamin / Cummings Pub. Co 2010
- MATTICK, J. S.: RNA regulation: a new genetics? *Nature Rev. Genet.* 5, 316–323 (2004)
- MITCHELL, P.: Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemi-osmotic type of mechanism. *Nature* 191, 144–148 (1961)
- MISTELLI, T.: Das Innenleben des Genoms. *Spektrum der Wissenschaften* 7, 28–35 (2011)
- MULLER, H. J.: Variation due to change in the individual gene. *The American Naturalist* 56, 32–50 (1922)
- NEUMANN, H., WANG, K., DAVIS, L., GARCIA-ALAI, M., and CHIN, J. W.: Encoding multiple unnatural amino acids via evolution of a quadruplet-decoding ribosome. *Nature* 464, 441–444 (2010)
- O'FARRELL, P. H.: High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *J. Biol. Chem.* 250, 4007–4021 (1975)
- OTTO, A., BERNHARDT, J., MEYER, H., SCHAFFER, M., HERBST, F.-A., SIEBOURG, J., MÄDER, U., LALK, M., HECKER, M., and BECHER, D.: Systems-wide temporal proteomic profiling in glucose-starved *Bacillus subtilis*. *Nature Commun.* 1:137 doi: 10.1038/ncomms1137 (2010)
- OSIEWACZ, H.: Was ein Pilz über das Altern verrät: *Podospora anserina* – ein altes Modell mit neuen Perspektiven. *Biologie in unserer Zeit* 37, 164–172 (2007)
- PÓSFAL, G., PLUNKETT, G. 3<sup>rd</sup>, FEHÉR, T., FRISCH, D., KEIL, G. M., UMENHOFFER, K., KOLISNYCHENKO, V., STAHL, B., SHARMA, S. S., ARRUDA, M. DE, BURLAND, V., HARCUM, S. W., and BLATTNER, F. R.: Emergent properties of reduced-genome *Escherichia coli*. *Science* 312, 1044 (2006)
- RUSKA, E., und KNOLL, M.: Die magnetische Sammelspule für schnelle Elektronenstrahlen. *Z. techn. Physik* 12, 389–400 (1931).
- RYAN, F.: Virology. London: Collins 2009
- SALLON, S., SOLOWEG, E., COHEN, Y., KORCHINSKY, R., EGLI, M., WOODHATCH, I., SIMCHONI, O., and KISTEV, M.: Germination, genetics, and growth of an ancient seed. *Science* 320, 1464 (2008)
- SCHARFEN, C., LU, H. H., NEUENBURG, J. K., ALLEN, E. A., LI, G.-C., KLOPSTOCK, T., COWAN, T. M., ENNS, M., and DAVIS, R. W.: Mapping gene associations in human mitochondria using clinical disease phenotypes. *PLoS Comput. Biol.* 5, PMC2668170 (2009)

- SCHIDLÓWSKI, M., EICHMANN, R., and JUNGE, C. E.: Evolution des irdischen Sauerstoff-Budgets und Entwicklung der Erdatmosphäre. *Umschau* 74, 703–707 (1974)
- SCHIMPER, A. F. W.: Über die Entwicklung der Chlorophyllkörner und Farbkörper. *Botanische Zeitung* 41, 105–120, 126–131 und 137–160 (1883)
- SCHOPF, J. W.: Solution to Darwin's dilemma: Discovery of the missing Precambrian record of life. *Proc. Natl. Akad. Sci. USA* 97/13, 6947–6953 (2000)
- SCHRÖDINGER, E.: *What is Life?* Cambridge, London, New York, Melbourne: Cambridge University Press 1944
- SCHWARTZ, E., VOIGT, B., ZÜHLKE, D., POHLMANN, A., LENZ, O., ALBRECHT, D., SCHWARZE, A., KOHLMANN, Y., KRAUSE, C., HECKER, M., and FRIEDRICH, B.: A proteomic view of the facultatively chemolithoautotrophic lifestyle of *Ralstonia eutropha* H16. *Proteomics* 9, 5132–5142 (2009)
- Statistisches Bundesamt Wiesbaden 2010 (<https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/.../Sterblichkeit.html>)
- WACEY, D., KILBURN, M. R., SAUNDERS, M., CLIFF, J., and BRASIER, M. O.: Microfossils of sulphur-metabolizing cells in 3.4-billion-year-old rocks of Western Australia. *Nature Geoscience* 4, 698–702 (2011)
- WATSON, J. D., and CRICK, F. H. C.: Molecular structure of nucleic acids. A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* 171/4356, 737–738 (1953)
- WILKINS, M. H., SEEDS, W. E., STOKES, A. R., and WILSON, H. R.: Helical structure of crystalline deoxypentose nucleic acid. *Nature* 172/4382, 759–762 (1953)
- WOESE, C. R.: Bacterial evolution. *Microbiol. Rev.* 51, 221–271 (1987)
- WOESE, C. R., KANDLER, O., and WHEELIS, M. L.: Towards a natural system of organisms: Proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87, 4576–4579 (1990)
- WOMACK, A. M., BOHANNAN, B. J. M., and GREEN, J. L.: Biodiversity and biogeography of the atmosphere. *Phil. Trans. R. Soc. Biol. Sci.* 365, 3645–3653 (2010)

Prof. Dr. Bärbel FRIEDRICH  
Institut für Biologie  
Humboldt-Universität zu Berlin  
Chausseestraße 117  
10115 Berlin  
Bundesrepublik Deutschland  
Tel.: +49 30 20938100  
Fax: +49 30 20938102  
E-Mail: baerbel.friedrich@cms.hu-berlin.de