



Gene und Transgene

>...|

Liebe Kolleginnen, liebe Kollegen!

„Das sind die Gene.“ Diese Bemerkung passt auf viele menschliche Eigenschaften, ob nun die Hautfarbe, die Augenfarbe, die Körpergröße, das Körpergewicht, der Intellekt, besondere Begabungen und bestimmte – gute wie weniger gute – Charaktereigenschaften gemeint sind. Das gilt auch für viele Krankheiten. Hierzu zählen z.B. psychische Erkrankungen oder Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems. Eine ganz spannende Frage ist daher, welches Gen für welche Eigenschaft bzw. welche Erkrankung verantwortlich ist. Wie Sie sicher wissen, wurde im Februar dieses Jahres die Sequenz des menschlichen Genoms bekannt gegeben. Zwei konkurrierende Gruppen, die Firma von Craig Venter und das internationale Human Genom Project kamen unabhängig voneinander der „Sequenz auf die Spur“ und publizierten ihre Ergebnisse im Februar diesen Jahres in renommierten wissenschaftlichen Zeitungen. Nach der Politik des Human Genome Project sind alle Sequenzdaten frei verfügbar gemacht worden. Das gilt auch für die ausführliche Publikation der Ergebnisse des Projektes (Initial sequencing and analysis of the human genome. International Human Genome Sequencing Consortium, Nature 409: 860-921, 2001, <http://www.nature.com/genomics/human/papers/articles.html>).

Ein bisschen Methodisches

Wie schafft man es, eine solch riesige Aufgabe wie die Sequenzierung des menschlichen Genoms zu bewältigen? Ein Blick in den Anhang des Originalartikels verrät dann, wieviele Mitarbeiter in den 20 Labors aus verschiedenen Ländern wie USA, England, Japan, Frankreich, Deutschland und China daran mitgearbeitet haben. Die Strategie der Entschlüsselung beruht im Wesentlichen auf einem Verfahren, das schon 20 Jahre bekannt ist. Es handelt sich dabei um die so genannte „shotgun sequencing strategy“, also eine Schrottschussmethode (Abbildung 2). Schrottschuss heißt hier aber nicht „ungefähr“ oder „viel Munition, wenig Treffer“. Es bedeutet, dass die riesige Sequenz zweimal mittels verschiedener Verfahren in kleinere Segmente fragmentiert wird. Im ersten Schritt wird aus genomischer DNA eine so genannte „Bacterial Artificial Chromosome (BAC) library“ erstellt. Hierzu werden die DNA-Fragmente in Klone

eingbracht, die bis zu 2–4 Millionen Basenpaare groß sein können. Da diese DNA-Fragmente immer noch zu groß für eine direkte Sequenzierung sind, erfolgt eine weitere Fragmentierung. Wieder werden die entstandenen, nur diesmal deutlich kleineren DNA-Sequenzen in Plasmide inkliniert (Schrottschuss Klone). Nun kann die eigentliche Sequenzierung erfolgen. Hierfür stehen Automaten zur Verfügung, die die aufwendige manuelle Sequenzierung ganz erheblich erleichtern. Ist die Sequenz der einzelnen Klone bekannt, kommt ein Computerprogramm zum Einsatz, welches die überlappenden Sequenzen der einzelnen DNA-Fragmente übereinanderlegt. Auf diese Weise lässt sich herausfinden, in welcher Reihenfolge die sequenzierten DNA-Fragmente zusammen gehören. Die so sequenzierten BAC Klone werden dann mit ganz ähnlichen Verfahren zum gesamten Genom zusammengesetzt.

Viel weniger Gene als vermutet!

Obwohl das humane Genom als entschlüsselt gilt, weist die bekannte Sequenz noch eine Reihe von Lücken auf, zusammen genommen etwa 100.000. Insgesamt sind von den etwa 3,2 Milliarden Basen bislang etwas 91 % entschlüsselt. Die Genauigkeit liegt bei einem Fehler pro 10.000 Basen. Damit ist das menschliche Erbgut das größte bisher entschlüsselte Genom, etwa 25-mal größer als irgendein anderes sequenziertes Genom. Würde man das gesamte Genom auseinanderziehen käme man auf eine Länge von 1,80 m. Außerdem ist es das erste komplett sequenzierte Vertebratengenom und um ein Zitat anzufügen: „Uniquely, it is the genome of our own species“. Eine der überraschendsten Botschaften der Veröffentlichung der Sequenzdaten ist die Anzahl der Gene. Nach Schätzungen auf der Basis der bereits identifizierten Gene sind es nicht mehr als 30.000–40.000. Eigentlich hatte man mit 100.000–150.000 Genen gerechnet. Vergleicht man diese Zahl mit der Zahl der Gene des Nematodenwurms *Caenorhabditis elegans* (19.099 Gene), der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* (13.601 Gene) und dem Senfkraut *Arabidopsis thaliana* (25.498 Gene) so zeigt sich, dass Homo sapiens, die „Krone der Schöpfung“, seine Vormachtstellung im Reich der Vertebraten sicher nicht der Anzahl seiner Gene zu verdanken hat. Das ist



EIN BERICHT
AUS DER
PHARMAZEUTISCHEN
WISSENSCHAFT

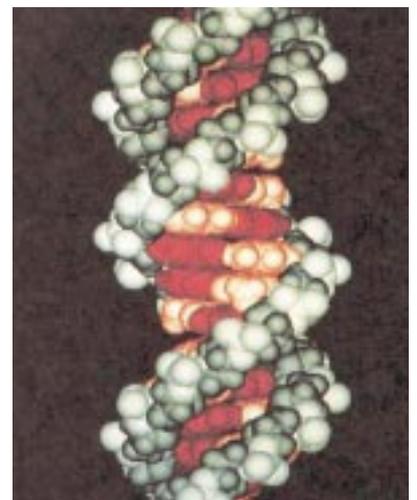


Abbildung 1: Modell der Doppelhelix der DNA (aus Lewin, B.: GENES V. Oxford Press. 1995)



schon erstaunlich, war man doch bis dato davon ausgegangen, dass Individualität, Fähigkeiten und Vielfalt menschlicher Existenz auf der Basis einer großen Zahl von Genen entstanden ist. Würde das wirklich zutreffen, hätten wir nur etwa doppelt soviel Individualität und Fähigkeiten wie Würmer und Fliegen. Den Vergleich mit dem Kraut mag man da gar nicht mehr anstellen. Wie also sind die offensichtlichen Unterschiede zwischen Kräutern, Würmern und Menschen dann zu erklären?

Das Schlagwort Proteom

Das Geheimnis der Evolution bis zum Menschen verbirgt sich wohl eher hinter den Möglichkeiten, die vorhandene genetische Information bestmöglich zu nutzen. DNA alleine macht noch kein Leben bzw. Lebewesen, sondern es sind die Proteine bzw. das Proteom (Gesamtheit der Proteine), die nach den codierten Informationen hergestellt werden können. Und genau da liegt „der Hund begraben“. Würde **eine** kodierende Sequenz beim Menschen „nur“ in **eine** Art von Protein umgesetzt, so wären wir wahrscheinlich wirklich nicht weit entfernt von Würmern und Fliegen. Zählt man aber die aus der Information des menschlichen Genoms hergestellten Proteine zusammen, kommt man auf die stattliche Zahl von 250.000! Das bedeutet, dass eben nicht ein Gen für ein Protein kodiert, sondern dass die kodierten Informationen verschiedener Gene sinnvoll gemischt werden. So wissen wir, dass etwa 40% unserer Gene alternativ gespleißt werden, d.h. dass es nach dem 1:1 Ablesen der DNA zur RNA zum Herausschneiden oder Einfügen von kodierenden Sequenzen kommen kann. Die dann entstandene Boten-RNA (mRNA), die als Matritze für die Proteinsynthese dient, hat also auf einmal eine andere Sequenz als die ursprüngliche DNA-Matritze und es entstehen daraus auch andere Proteine. „Typisch Natur“, könnte man sagen. Statt Neues sozusagen vom Start zu entwickeln, wird vorhandenes Material neu und sinnvoll kombiniert. Überspitzt ausgedrückt könnte man die Gene also als eine Art Informationsbausteine betrachten.

Transgene im humanen Genom

Als Transgen bezeichnet man im Allgemeinen ein in ein Genom transportiertes Gen. In diesem Sinne könnte jeder viral bedingte Schnupfen als eine, wenn auch vorübergehende transgene Modifikation des Genoms bezeichnet werden. Schließlich vermehren sich die Viren nur deshalb, weil sie ihr Erbmaterial in das des Wirtsgenoms einschleusen und die Wirtszelle dadurch dazu bringen, Virus-DNA und -proteine herzustellen. Einerseits stirbt die betroffene Zelle zwar ab, andererseits wird so auch die Erbinformation des Virus nicht in die Keimbahn und dadurch dauerhaft in das Wirtsgenom eingeschleust. Auch bei den bislang möglichen und praktizierten Formen der Gentherapie handelt es sich um vorübergehende Modifikationen des Wirtszellgenoms. So wird – wie z.B. bei cystischer Fibrose – versucht mittels entschärfter Viren genetische Informationen in Körperzellen einzubringen und diese dadurch zu befähigen, gerade jene Proteine zu produzieren, die ihnen aufgrund genetischer Defekte fehlen. Wie Sie alle wissen, gab und gibt es eine verständliche und intensiv geführte öffentliche Diskussion um die Eingriffe in das menschliche Genom, auch wenn diese nur vorübergehender Natur sind.

Betrachtet man aber nun das menschliche Genom genau, so stellt sich heraus, dass, lange bevor wir Menschen waren, immer wieder Viren in das menschliche Genom eingedrungen sind und ihre Erbinformation dort verankert und oft vervielfältigt haben. Etwa

Schrotschuss-Sequenzierung

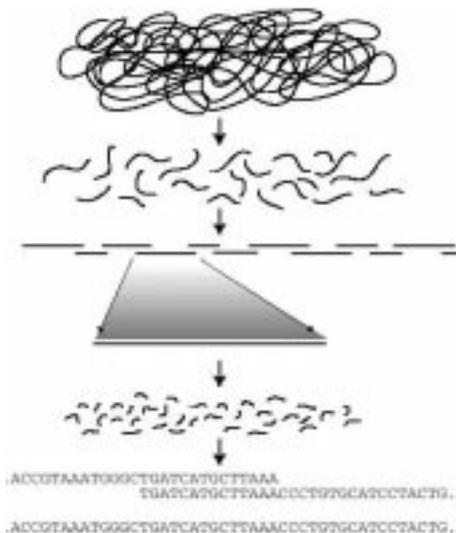


Abbildung 2: Strategie zur Sequenzierung des humanen Genoms. Zuerst wird aus dem Genom eine Sammlung von großen Klonen angelegt (BAC Library), die dann wieder in kleinere Teilkclone zerlegt und sequenziert werden. Nähere Erläuterungen siehe Abschnitt „Methodisches“ (aus Nature 409:860-921, 2001).

45% des gesamten menschlichen Genoms besteht aus solchen „stillliegenden“ Sequenzen. Auch urzeitliche Bakterien haben ihre Erbinformation in das menschliche Genom eingeschleust. So fanden sich über 200 aktive Gene bakteriellen Ursprungs, darunter auch das Gen für die Monoaminoxidase (MAO), welches in unserem heutigen Organismus eine Schlüsselfunktion im Stoffwechsel von Neurotransmittern wie Serotonin, Noradrenalin und Dopamin einnimmt.

Wir sind schon länger in der Lage, den Trick der Viren nachzuahmen und gezielt DNA-Sequenzen ins Genom verschiedener Organismen einzubauen. Auf diese Weise werden u.a. schädlingsresistente Nutzpflanzen hergestellt. Auch in der Forschung spielt diese Methode schon länger eine große Rolle. Im Hauptartikel dieser Ausgabe finden Sie einen Bericht über die Generierung einer transgenen Maus, die unsere Erkenntnisse zum Nutzen des körperlichen Trainings und zur Pathophysiologie des vaskulären oxidativen Stresses, der als wichtiger Faktor bei der Entwicklung von Herz-Kreislauf-Erkrankungen gilt, erweitern soll.

Herzlichst
Ihr

