

Gene als Schmarotzer

Parasiten gibt es nicht nur im Pflanzen- und Tierreich, sie sind auch ein Teil von uns selbst. Unser Erbgut enthält Unmengen kleiner Abschnitte, die sich auf seine Kosten vervielfältigen. Diese sogenannten Transposons werden deshalb auch als parasitische DNA bezeichnet.

Oliver Weichenrieder vom **Max-Planck-Institut für Entwicklungsbiologie** in Tübingen will den Kopiervorgang der Transposons genauer verstehen. Nicht nur weil sie Krankheiten auslösen können, sondern auch weil sie möglicherweise ein wichtiger Motor der Evolution sind.

TEXT **TIM SCHRÖDER**

Die Essenz seiner Forschungsarbeit ist winzig und glitzert wie feiner Diamantenstaub. Oliver Weichenrieder schiebt eine Plastikplatte mit kleinen Vertiefungen unter dem Mikroskop hin und her. Er sucht ein Weilchen. „Ah, da sind einige drinnen. Hübsch, nicht wahr?“ Die kleinen Kristalle sind mit bloßem Auge nicht sichtbar, unter dem Mikroskop aber glitzert es violett, rosa und blau. „Es gehört ein wenig Glück dazu, dass sich die Kristalle bilden. Deshalb verwenden wir diese Platten mit den vielen kleinen Vertiefungen“, sagt Weichenrieder. Das erhöht die Trefferquote.

Kristall, das klingt nach Materialforschung, nach Glas und Keramik. Doch darum dreht es sich bei Oliver

Weichenrieder nicht. Er ist Biochemiker, und bei den Kristallen, die er am Tübinger Max-Planck-Institut züchtet, handelt es sich um Moleküle aus lebenden Zellen, genauer um Proteine oder Ribonukleinsäuren (RNAs). Weichenrieder will mithilfe der Kristalle die Struktur dieser Moleküle aufklären, um damit eines der großen Geheimnisse der Genetik zu lösen: das Rätsel um parasitische DNA, also Erbgutabschnitte, die sich unabhängig vom übrigen Erbgut selbst vermehren.

Parasitische DNA ist die plakative Beschreibung für die Erbgutsnipsel, wissenschaftlich werden sie als Transposons bezeichnet. Transposons sind kurze DNA-Abschnitte, die sich von allein immer wieder kopieren und an neuen Stellen der DNA ins Erbgut einbauen. Den

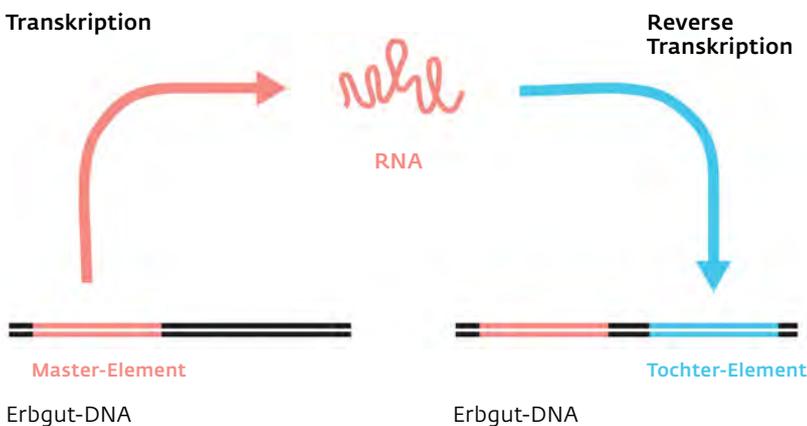
Begriff „transponieren“ kennt man aus der Musik. Er bedeutet, ein Musikstück in eine andere Tonart zu versetzen. Bei Transposons wird genetische Information vom einen zum anderen Ort des Erbguts verfrachtet. Dieses Ein- und Umlagern findet bei der Entwicklung von Geschlechtszellen statt, aber vor allem auch im frühen Embryo, wenn sich Zellen intensiv teilen.

SPRUNG INS GENOM

Dadurch wird die Abfolge der DNA jedes Mal aufgemischt – mit teils ernststen Folgen: „Es kann passieren, dass sich ein Transposon in einem Genabschnitt einnistet, der die Information für ein Protein enthält, das beispielsweise wichtig für den Stoffwechsel ist“, erklärt Weichen-



Die rund einen zehntel Millimeter großen Kristalle eines Transposon-Proteins. Durch die Analyse der Kristallstruktur haben Tübinger Forscher herausgefunden, wie das Protein die Transposon-RNA verpacken kann.



Oben Damit Retrotransposons Kopien ihrer selbst ins Erbgut einschleusen können, wird ihre DNA – das sogenannte Master-Element – zunächst in RNA umgeschrieben. Diese wird dann wieder in DNA zurückübersetzt (Reverse Transkription). Die so entstehende DNA-Kopie (Tochter-Element) wird dabei ins Genom integriert.

Rechts Oliver Weichenrieder kontrolliert Brutschränke für genetisch veränderte Bakterien. Die Mikroben produzieren Transposon-Proteine, die der Forscher und seine Kollegen zur Analyse der Proteinstruktur benötigen.

rieder. „Das Gen kann dann nicht mehr korrekt abgelesen werden.“ Das APC-Gen ist ein solcher Fall. Das Protein, das es kodiert, kann die Entstehung von Krebs verhindern. Ist es durch den Einbau eines Transposons gestört, kann Darmkrebs die Folge sein.

Das Erbgut benötigt Proteine, um die darin enthaltene Information von der DNA abzulesen, in RNA umzuschreiben und in neue Proteine zu übersetzen. Auch Transposons brauchen verschiedene Proteine für ihre Vervielfältigung und den Einbau der Kopie ins Erbgut. „Noch wissen wir nicht genau, wie die Transposons arbeiten“, sagt Weichenrieder. „Aber wenn wir die Struktur der Proteine aufklären,

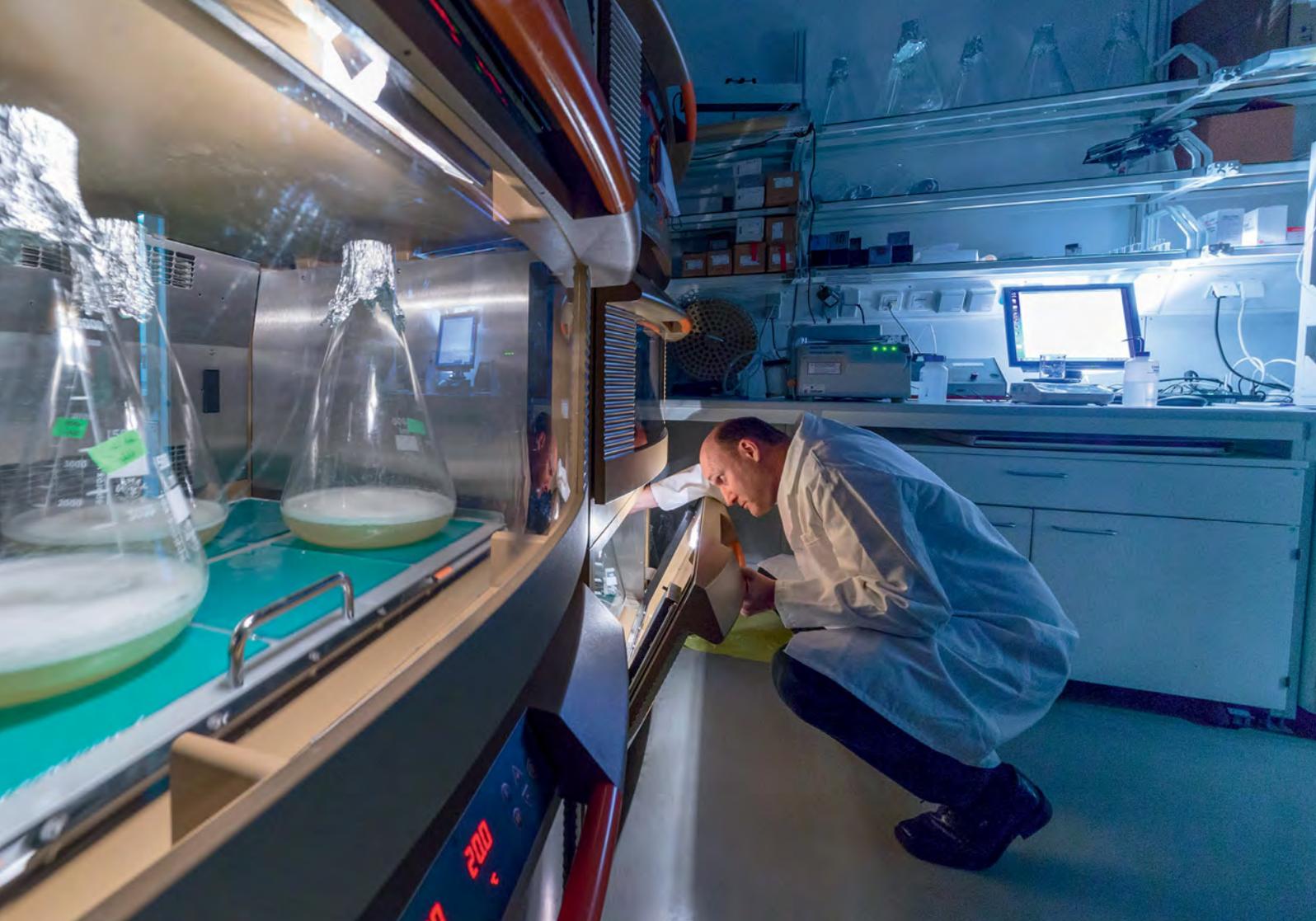
die an der Vervielfältigung der Transposons beteiligt sind, verstehen wir hoffentlich den ganzen Prozess.“

TRANSPOSON-FLUT IM ERBGUT

Oliver Weichenrieder und seine Kollegen haben sich vor allem der Struktur- aufklärung zweier wichtiger parasitärer DNA-Schnipsel verschrieben: des LINE-1- und des Alu-Retrotransposons, weil die beiden im Erbgut des Menschen extrem häufig vorkommen. Ein LINE-1-Abschnitt ist etwa 6000 DNA-Basenpaare lang – ungefähr so lang wie ein durchschnittliches Gen. Circa 500 000 Kopien und Fragmente gibt es im Erbgut. Damit macht das LINE-1-

Element allein schon 17 Prozent des Erbguts aus. „Diese ungeheure Zahl ist im Laufe der Evolution über Jahrtausende durch immer neue Kopien entstanden“, sagt Weichenrieder. Möglicherweise ist mehr als die Hälfte unseres Erbguts aus transponierbaren Elementen entstanden. Bei anderen Organismen kann der Anteil an Transposons noch höher sein: Bei Maispflanzen zum Beispiel gehen sogar 85 Prozent des gesamten Genoms auf Transposons zurück.

Freilich konnten diese Transpositionen nur dann weitervererbt werden, wenn sie das Individuum nicht töteten, etwa durch Krebs. „Nicht jede Transposition muss für den Betroffenen oder



dessen Nachkommen tödlich sein. Es kommt darauf an, in welchem Teil des Erbguts die LINE-1-Kopie eingebaut wird.“ Darüber hinaus werden viele im Laufe der Zeit durch Mutationen deaktiviert. So sind gegenwärtig nur etwa 100 der 500 000 LINE-1-Abschnitte im menschlichen Erbgut aktiv, also zu parasitärem Verhalten fähig, die übrigen funktionieren nicht mehr.

Besonders faszinierend sind für Weichenrieder die Alu-Retrotransposons, die ebenfalls über das ganze Genom verteilt sind. Nicht nur, weil auch sie mit mehr als einer Million Kopien in ungeheurer großer Zahl vorkommen und etwa zehn Prozent des Erbguts ausmachen, sondern weil sie in parasitischer Hinsicht noch eins draufsetzen: Sie sind Parasiten eines Parasiten, denn sie kapern die LINE-1-Maschinerie, um sie für die eigene Vermehrung zu missbrauchen. LINE-1 ist in der Lage, sich von ganz allein zu vervielfältigen. Alu hingegen benötigt dazu die Proteine von LINE-1 und nutzt sie für sich selbst.

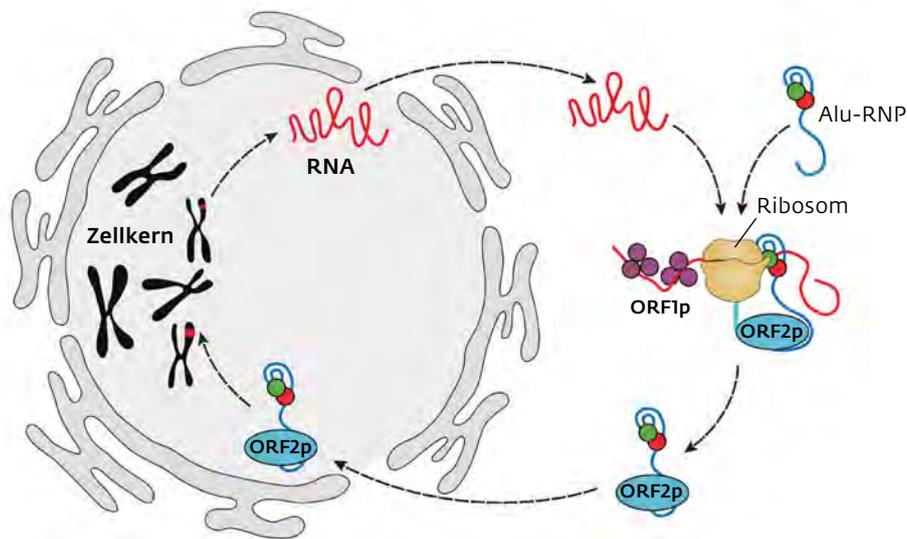
Die Transposons haben also nur die eigene Vermehrung im Blick. Der Organismus ist dafür nur Mittel zum Zweck, zu seinem Überleben scheinen sie nichts beizutragen. Auf den zweiten Blick kann er aber trotzdem von Transposons profitieren. Wenn Transposons nämlich ihre Kopien ins Erbgut einstreuen, mischen sie die DNA immer wieder neu und halten damit die Evolution am Laufen. „Das hält das Erbgut flexibel“, sagt Weichenrieder. „In Zeiten, in denen sich die Umwelt durch Klimawandel oder Naturkatastrophen stark verändert, kann sich der Organismus schneller anpassen.“ Tatsächlich konnte man für Pflanzen inzwischen nachweisen, dass Transposons besonders aktiv sind, wenn die Pflanzen unter Stress stehen – zum Beispiel bei großer Hitze.

Viele Transpositionen sind schädlich, manchmal verleihen sie einem Organismus aber auch neue, überlebenswichtige Eigenschaften. „Lange hat man geglaubt, dass die Evolution durch den Austausch einzelner Buchstaben

des genetischen Codes vorangetrieben wird, sogenannte Punktmutationen“, sagt Weichenrieder. Inzwischen aber gehen viele seiner Kollegen davon aus, dass die Transposons einen wichtigen Anteil daran haben, das Erbgut kräftig durchzumischen und so neue Variationen zu erzeugen.

PROTEINE FÜR SPRINGENDE GENE

Oliver Weichenrieder und seine Mitarbeiter sind in den vergangenen Jahren mithilfe der kleinen Proteinkristalle bis tief in die molekulare Struktur von LINE-1 und Alu vorgedrungen. In ihren Tübinger Labors stehen Apparate, mit denen die Forscher die Proteine extrahieren können, die für die Transposition von LINE-1 und Alu nötig sind. Diese Hochleistungsflüssigchromatografie-Anlagen trennen einen Mix unterschiedlicher Proteine in seine Bestandteile auf, sodass am Ende winzige Mengen eines reinen Proteins heraus-



tröpfeln. Diese werden dann in die Mikrotiterplatten mit verschiedensten Substanzen gemischt und aufkonzentriert in der Hoffnung, dass sich dabei die kleinen Kristalle bilden.

VON DER STRUKTUR ZUR FUNKTION

Und dann geht es auf die Reise: In Teilchenbeschleunigern in Zürich oder Hamburg beschließen die Wissenschaftler die Kristalle mit intensivem Röntgenlicht. Die Röntgenstrahlung wird an den Atomen der Proteine unterschiedlich abgelenkt, sodass ein charakteristisches Beugungsmuster entsteht. Computerprogramme ermitteln daraus die Elektronenverteilung im Kristall und zum Teil auch schon die chemische Struktur des Proteinmoleküls. „Dennoch gibt es für uns noch genug Handarbeit. Wir brauchen einiges an chemischem Wissen, um aus den Bruchstücken im Computer das ganze Protein zu rekonstruieren.“ Auf diese Weise haben die Tübinger Forscher die Struktur der LINE-1-Proteine und der Alu-RNA entschlüsselt.

LINE-1 benötigt vor allem zwei Proteine, um sich erfolgreich zu vervielfältigen: ORF1p und ORF2p – so viel war bekannt. Der Bauplan für diese Protei-

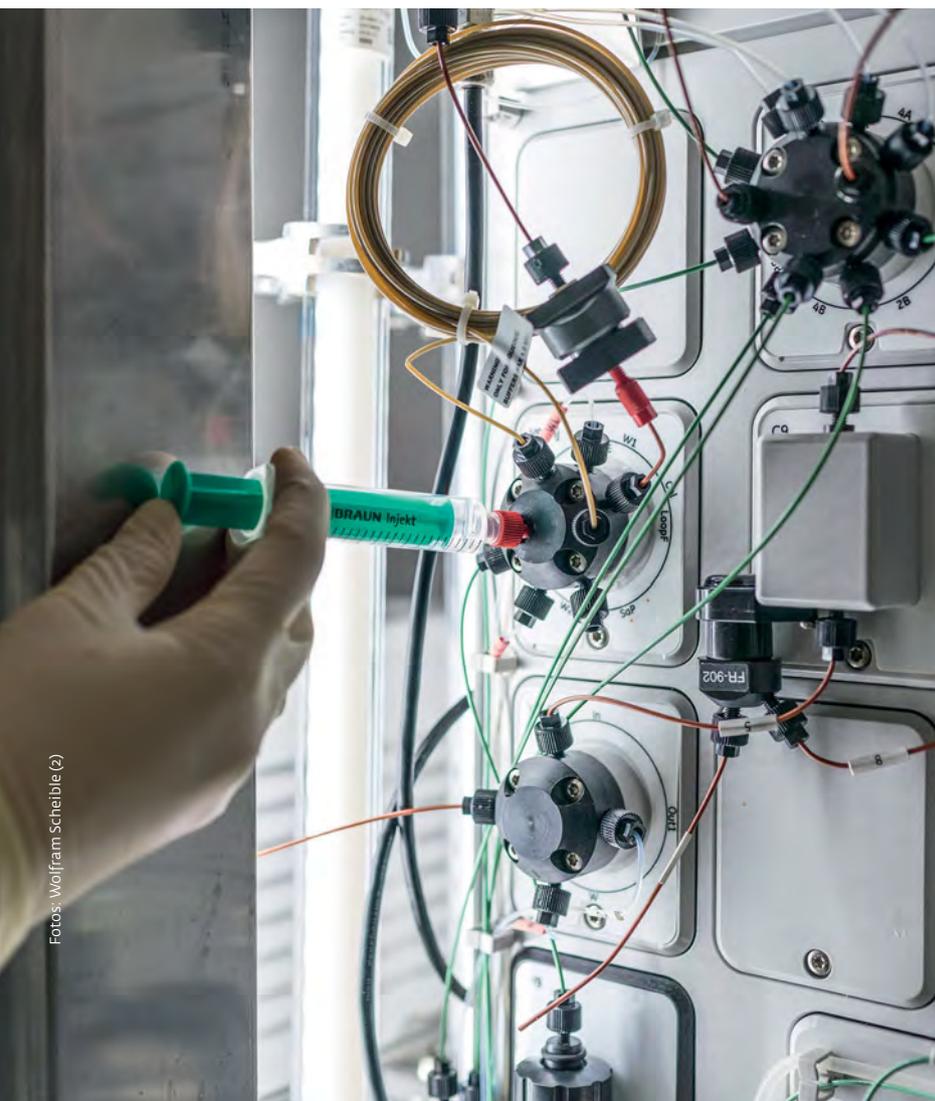
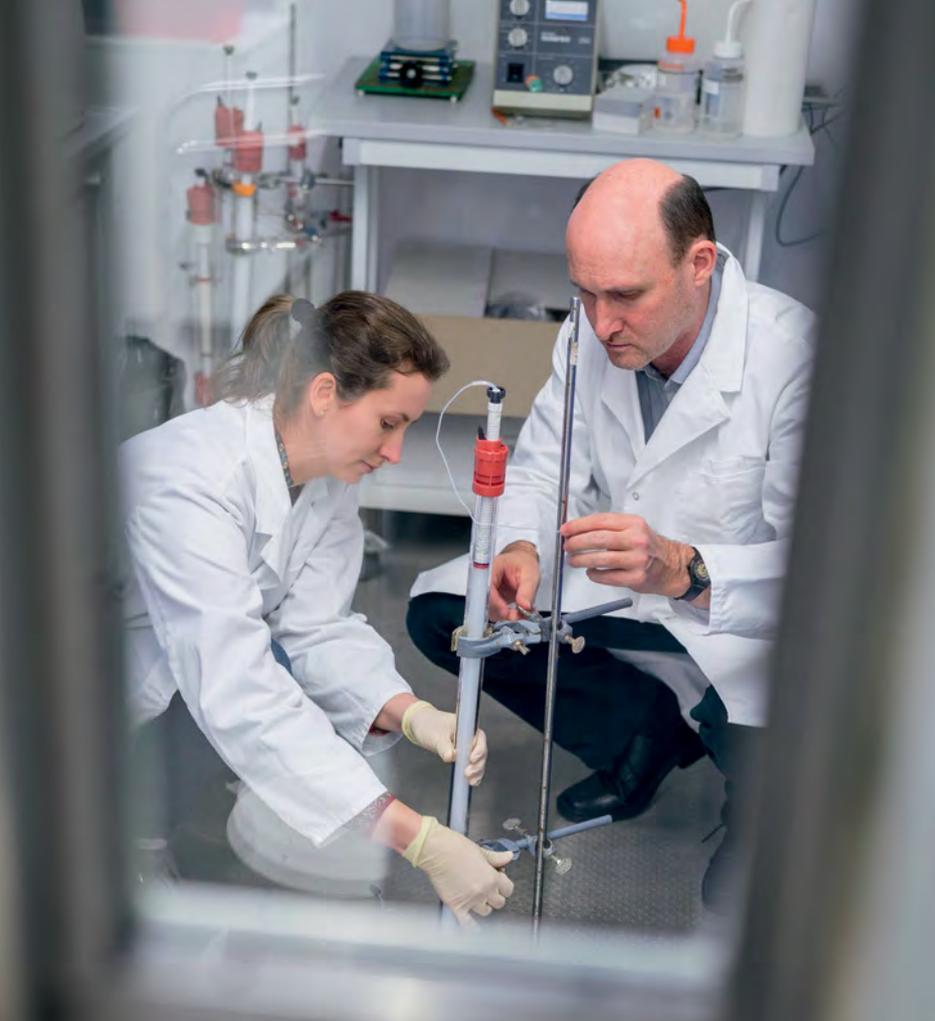
ne steht im LINE-1-Element. Wird LINE-1 aktiv, wird zuerst eine RNA-Kopie hergestellt. Diese wandert zur Proteinfabrik der Zelle, den Ribosomen, wo sie die Vorlage zur Bildung der Proteine liefert.

Lange Zeit war die Funktionsweise der beiden Proteine unbekannt. Die Aufklärung ihrer räumlichen Struktur durch die Tübinger Wissenschaftler aber brachte Klarheit: ORF1p setzt sich aus drei Untereinheiten zusammen, zwischen die sich die RNA schmiegen kann. Zudem treten stets drei ORF1-Proteine als Dreierbündel auf. „Es sieht ganz so auf, als würde sich die LINE-1-RNA an diesem Trio aufwickeln, damit sie vor den Abwehrwaffen der Zelle geschützt ist“, sagt Weichenrieder. Die Zelle ist einem Transposon nämlich keineswegs hilflos ausgeliefert. Sie kann den Kopiervorgang auf verschiedenen Wegen ausschalten, etwa durch Proteine, die die Transposon-RNA vernichten oder ORF1p angreifen. Das ORF1p-Protein schützt die LINE-1-RNA davor, die so weiter ORF2p produzieren kann.

ORF1p ähnelt zudem Proteinen, die das Verschmelzen von Zellmembranen ermöglichen. Entsprechend könnte ORF1p der LINE-1-RNA möglicherweise auch dabei helfen, die Membran des Zellkerns zu überwinden, damit sie

Oben Ein Parasit befällt einen Parasiten: Ein Komplex aus Alu-RNA und Proteinen (Alu-RNP) erkennt die Ribosomen, welche die RNA des parasitischen Line-1-Elements in ORF2p-Protein übersetzen. Der Alu-Komplex kapert das eigentlich zu Line-1 gehörende Protein und lässt sich mit diesem in den Zellkern (grau) transportieren. Dort übersetzt ORF2p die Alu-RNA und baut die resultierende DNA als neues Alu-Element ins Erbgut ein.

Rechte Seite Oliver Weichenrieder und Elena Khazina bereiten eine Chromatografie-Säule vor (oben). Sie injizieren einen vorgereinigten Zellextrakt in die Apparatur und trennen dann das Proteingemisch in seine Bestandteile auf (unten).



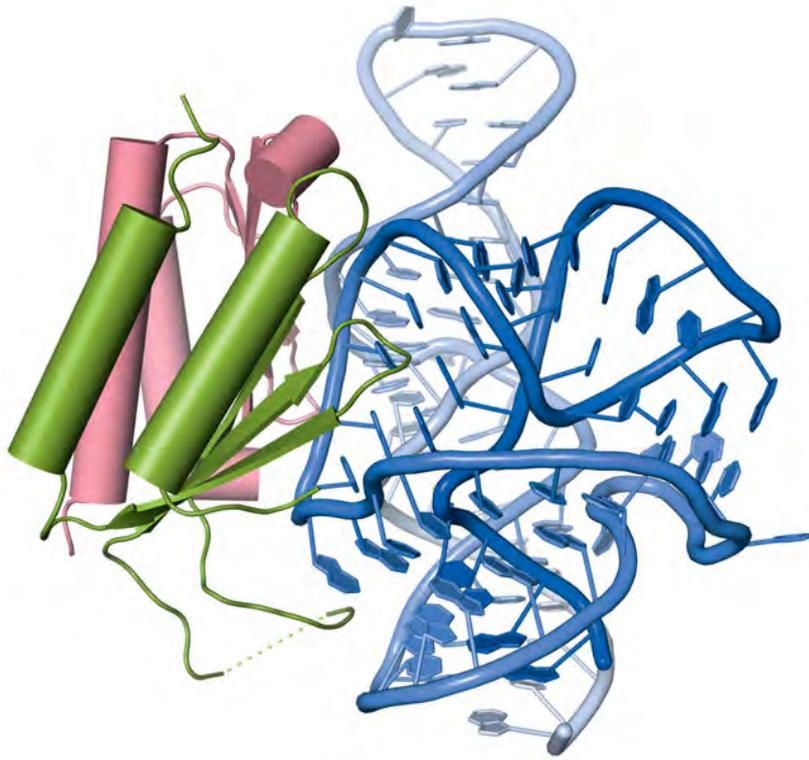
Fotos: Wolfram Scheible (2)

die DNA im Zellkern erreicht. Dorthin muss sie zurückkehren, um sich vervielfältigen zu können.

SCHNEIDEN UND UMSCHREIBEN

Zur Vermehrung benötigt sie ORF2p. Auch dessen räumliche Struktur kennen die Forscher nun genauer. Es besteht aus zwei Untereinheiten: einer Endonuklease und einer reversen Transkriptase. Die Endonuklease schneidet die DNA zunächst. Sie erkennt dabei auch spezielle DNA-Strukturen, wie sie bei der Duplikation der DNA oder kurz vor der Zellteilung auftreten. Damit wird der Weg zum Einbau der Retrotransposon-Sequenz frei: Die reverse Transkriptase wandelt dann die RNA zurück in DNA und baut diese ins Erbgut ein.

Die Ergebnisse der Forscher könnten dazu beitragen, Medikamente gegen Krebsformen zu entwickeln, bei denen Transposons das Erbgut schädigen. Solche Medikamente könnten die LINE-1-Proteine blockieren und die Transposition verhindern. Zunächst will Oliver Weichenrieder aber die Vorgänge grundsätzlich verstehen. Und dafür ist Alu als Parasit des Parasiten besonders geeignet. „Anscheinend identifiziert die Alu-



Kristallstruktur eines Alu-Ribonucleotidpartikels (RNP). Die Alu-RNA (blau) besteht aus Basen der Ribonucleinsäure (Adenin, Guanin, Cytosin und Uracil), die sich räumlich in eine fest definierte Struktur auffalten und dabei von zwei Proteinen, SRP9 (rot) und SRP14 (grün), stabilisiert werden. Der eigentliche molekulare Parasit ist also die RNA.

RNA Ribosomen, die gerade das ORF2p produzieren, ohne dabei das Protein direkt zu erkennen“, erklärt er. „Sobald das Ribosom ORF2p komplettiert hat, greift Alu zu und fischt es ab.“ Die Alu-RNA nutzt anschließend die geklaute Endonuklease und die reverse Transkriptase, um ihre eigene DNA ins Erbgut einzubauen. „Es kommt somit auch auf die Perspektive an“, sagt Weichenrieder, „denn streng genommen ist nicht die Transposon-DNA der eigentliche Parasit, sondern die daraus abgelesene Line-1- oder Alu-RNA.“

STOCKENDES FLIESSBAND

Man schätzt, dass nur etwa jedes zwanzigste Neugeborene eine neue Alu-Kopie in sich trägt und an seine Nachkommen weitergibt. Die Transposition ist deshalb nicht so häufig, weil Transposons dank der Verteidigungsmechanismen in den Zellen meist inaktiv sind. Auch die Transposition von LINE-1 findet eher selten statt. „Alu-RNA muss deshalb sehr genau wahrnehmen können, wo gerade ein LINE-1 aktiv ist und an einem Ribosom ORF2p synthetisiert“, sagt Weichenrieder – ähnlich einem Parasiten, der sein Opfer zielsicher aufspürt.

Seine Ergebnisse deuten darauf hin, dass Alu womöglich eine Art Stottern erkennt, das bei der Bildung von ORF2p am Ribosom auftritt: Einige der Aminosäuren, die bei der Produktion in das ORF2p-Protein eingebaut werden, sind Lysine. Diese gleiten nur sehr schwer durch den Produktionskanal des Ribosoms. Wenn sie gehäuft auftreten, kann das Fließband gewissermaßen ins Stocken geraten. Höchstwahrscheinlich erkennt Alu gerade dieses Stottern und ist dann rechtzeitig zur Stelle, um das fertige ORF2p abzugreifen.

Noch hat kein Forscher diesen Vorgang live beobachten können. Doch alle Indizien, die die Wissenschaftler mit ihrer Analyse der Proteinstrukturen zusammengetragen haben, deuten darauf hin. Zudem ist das Alu-Retrotransposon eng mit einem anderen Partikel verwandt, das am Ribosom die Produktion bestimmter Proteine reguliert – dem sogenannten Signalerkennerpartikel, SRP (*signal recognition particle*). Alu ist erst mit der Entwicklung der Primaten aus dem SRP entstanden, evolutionär gesehen also erst vor kurzer Zeit. Die Tübinger Forscher haben festgestellt, dass Alu-RNA wesentliche Teile der SRP-Struktur beibe-



halten hat und auch zwei kleine SRP-Proteine binden muss, damit es sich als Retrotransposon überhaupt erfolgreich vervielfältigen kann.

Für Weichenrieder sind Transposons an sich weder gut noch böse. Trotzdem fasziniert ihn die Vorstellung eines molekularen Parasiten: „Alu ist so einfach gebaut: eine kurze RNA, zwei kleine SRP-Proteine, die die Alu-RNA falten. Alles andere, was es benötigt, stiehlt es sich. Im Vergleich dazu sind schon Viren mit ihrer Informationsfülle für den Bau von Proteinen ungeheuer komplex.“

Da stellt sich die Frage, wie klein und simpel ein Parasit eigentlich sein kann, um noch zu funktionieren. Weichenrieder testet deshalb Alu-Varianten, ob sie sich noch vervielfältigen können. Dafür verkleinert er sie immer weiter und reduziert die Anzahl der beteiligten Proteine Stück für Stück. So hofft er, sein Ziel zu erreichen und den „ultimativen Parasiten“ zu finden: ein auf das Allernotwendigste reduziertes Stück RNA, das sich über das Erbgut eines Organismus erfolgreich auf dessen Kosten vermehren kann. ◀

Drei Wissenschaftler, ein Ziel: Gabriele Wagner, Oliver Weichenrieder und Elena Khazina (von links) wollen mithilfe der Analyse der Transposon-Proteine verstehen, wie sich parasitische DNA im Erbgut ausbreiten kann.

AUF DEN PUNKT GEBRACHT

- **Parasitische DNA-Moleküle sind Abschnitte, die sich eigenständig auf Kosten des Organismus vervielfältigen. Im Fall von Line-1 und Alu sind dabei aber die entsprechenden RNA-Moleküle die eigentlichen molekularen Parasiten.**
- **Große Teile des Erbguts sind aus solchen Transposons hervorgegangen – bei manchen Pflanzen machen sie mehr als 80 Prozent aus. Die meisten davon sind allerdings nicht mehr aktiv.**
- **Manche RNA-Moleküle wie die Alu-RNA nutzen die Kopiermaschinerie anderer Transposons. Sie sind also Parasiten von Parasiten.**

GLOSSAR

Reverse Transkriptase: Enzym, das RNA in die entsprechende DNA-Sequenz umschreibt. Retrotransposons benötigen das Enzym, um von ihrer RNA eine DNA-Abschrift anzufertigen, die wieder ins Erbgut eingebaut wird. Entdeckt wurde das Enzym zuerst in Retroviren. Diese Viren besitzen ein Erbgut aus RNA. Damit es in das Wirtsgenom eingebaut werden kann, muss die reverse Transkriptase eine DNA-Version anfertigen.

Transposons: DNA-Abschnitte, die ihre Position im Erbgut verändern können. Man spricht deshalb auch von „springenden Genen“. Vollständige Transposons enthalten jedoch oft mehrere Gene. Transposons, deren aus der DNA abgelesene RNA nicht nur für die Produktion von Proteinen genutzt wird, sondern auch als Vorlage für die Bildung eines neuen DNA-Moleküls dient, werden als Retrotransposons bezeichnet. Die Retrotransposons sind wohl auch der Ursprung der Retroviren, die sich ebenfalls in das Erbgut des Wirts einbauen, aber diesen als kompletter Virus auch verlassen können.