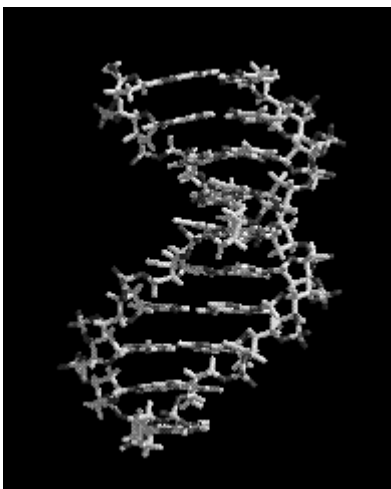


DNA

Chemische Struktur der Erbanlagen



Inhalt:

1. Einleitung
2. Bestandteile der Nucleinsäuren
3. DNA / Struktur und genetische Spezifität

1. Einleitung

Die Frage nach der Struktur, an die die Vererbungserscheinungen geknüpft sind, hat schon bald nach der Wiederentdeckung der Vererbungsgesetze im Jahre 1900 (Correns, Tschermak, de Vries) die Aufmerksamkeit auf die Chromosomen gelenkt (Sutton 1903; Boveri 1904).

In der Folgezeit gelang es zu beweisen, dass die Chromosomen entscheidende Strukturen im Erbgeschehen darstellen und dass in den Chromosomen die Erbanlagen lokalisiert sind, die man als GENE bezeichnet.

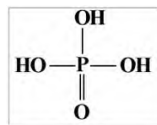
Lange Zeit blieb aber unbekannt, woraus sie bestehen, und die Frage „Was ist ein Gen?“ hat daher die Vererbungsforschung immer aufs neue angeregt. Ein wesentlicher Fortschritt wurde erreicht, als es gelang, die DESOXYRIBONUKLEINSÄURE = DNS (...acid = DNA) und die RIBONUKLEINSÄURE = RNS (bzw. RNA) zu finden.

Diese Nucleinsäuren (Kernsäuren) sind das chemische Äquivalent der Vererbung; sie erfüllen, wie später ausführlich dargestellt werden wird, alle Anforderungen, die an einen Erbträger gestellt werden müssen. Sie besitzen die Fähigkeit zur identischen Verdopplung, steuern die Merkmalsausbildung, ihre Veränderung führt zur Mutation, und durch Austausch von Nucleinsäureteilen kommt es zur Rekombination. Im folgenden werden die Bestandteile der Nucleinsäuren aufgeführt und ihr Aufbau und die für die Genetik wesentlichen Eigenschaften kurz dargestellt.

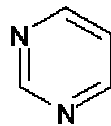
2. Bestandteile der Nucleinsäuren

DNA und RNA sind hochmolekulare Verbindungen, die aus

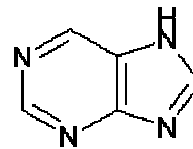
1. Phosphorsäurerest



2. Zucker (siehe Kasten) und



Pyrimidin



Purin

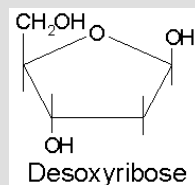
3. stickstoffhaltigen organischen Basen

bestehen.

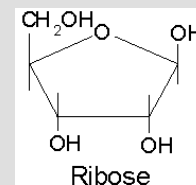
Unterschiede :

Zucker :

DNA



RNA



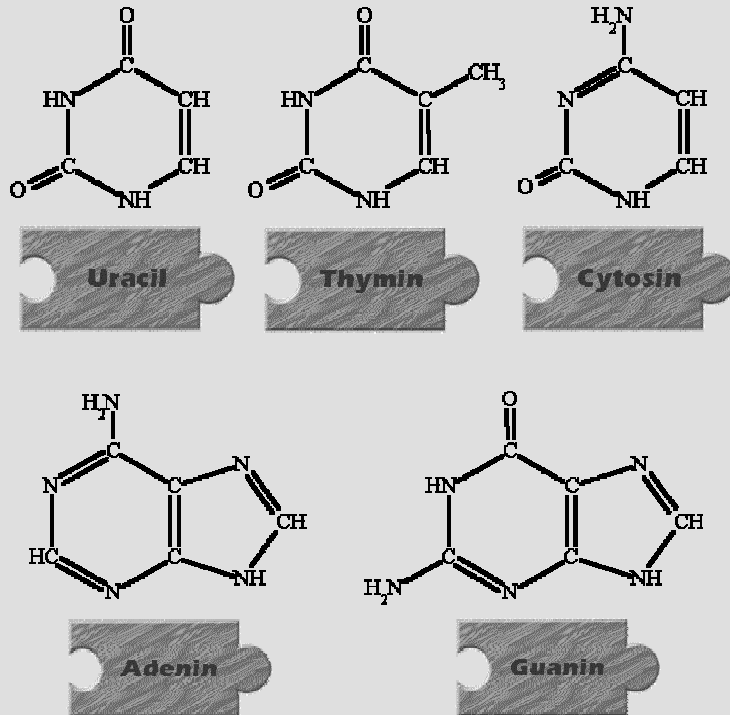
Basen :

Die für die Vererbung wichtigen Nucleinsäuren enthalten jeweils 4 verschiedene Basen:

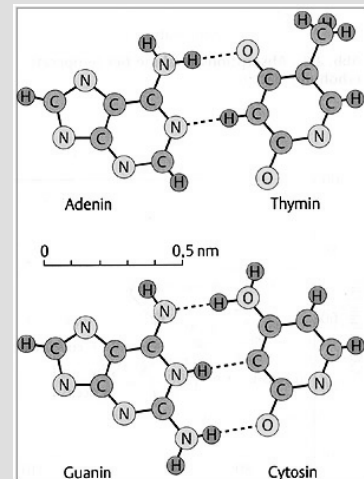
(Pyrimidine) Cytosin, Thymin
(Purine) Guanin, Adenin

Cytosin, Uracil
Guanin, Adenin

Basenstrukturen:



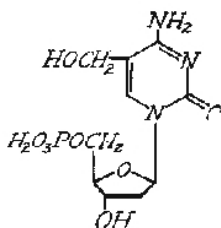
Basenpaarungen



Bei der Synthese der Nukleinsäure werden zunächst diese Basen verwendet. In der so synthetisierten Polynukleotidkette kann anschließend ein kleiner Teil der Basen durch spezifische Enzyme verändert werden. In der DNA von Pflanzen und Tieren findet man bis zu 6% 5-Methylcytosin. Außerdem sind mono- und dimethyliertes Adenin, Guanin und Uracil gefunden worden.

Methylgruppendonor ist das SAM (S-Adenosylmethionin)

5-Hydroxymethylcytosin tritt in den Phagen T2, T4 und T6 an der Stelle von Cytosin auf.

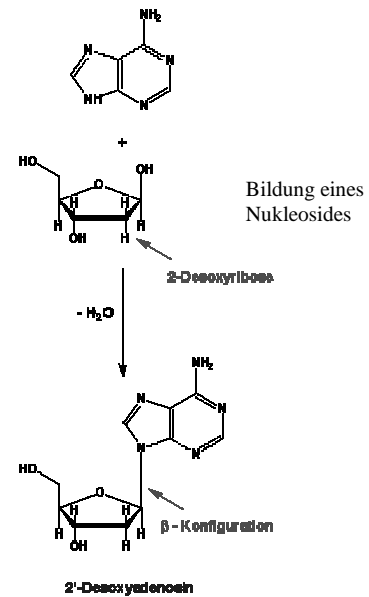
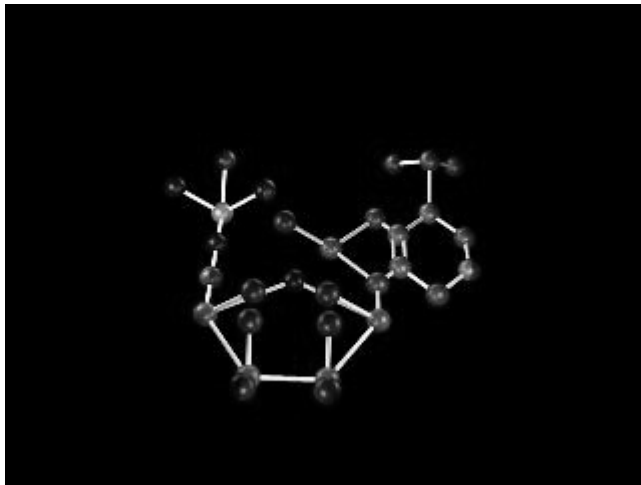


Weitere seltene Basen sind:

- Thio- und Acetylpyrimidine,
- Dihydrouracil und
- desaminierte Basen wie das Hypoxanthin, die Base des Nucleosids Inosin.

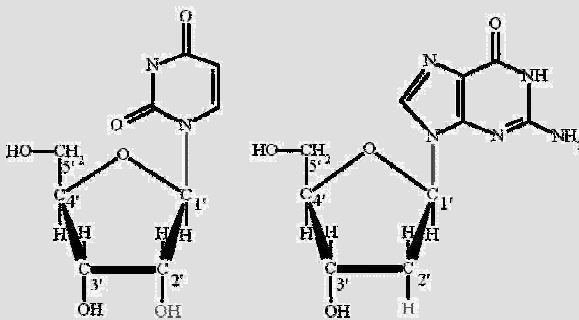
→ reich an seltenen Basen ist die tRNA

Die monomeren Bestandteile der DNA und RNA sind **Nukleotide**



Nukleoside

Ein Molekül aus **Pentose** und **Purin- bzw. Pyrimidinbase**.

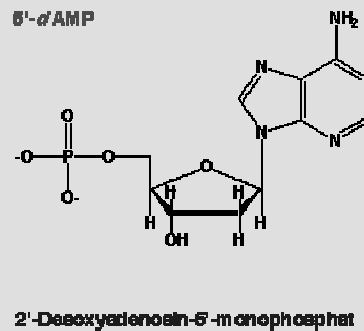


bei den Pyrimidinbasen erfolgt die Bindung am **N1** der Basen

Purine sind glykosidisch über **N9** der Basen am **C1** der Zucker gebunden

Nukleotide

Phosphorsäureester der Nucleoside



Bei den für die Vererbung wichtigen Nucleotiden liegen 5'-Monophosphate der Nucleoside vor (**Sauerstoff-Atom am C5' der Pentose** ist mit der Phosphorsäure verestert)

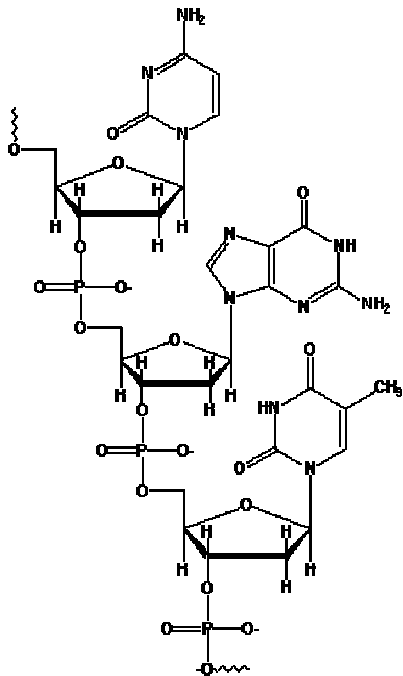
Polynukleotide

Die Polynukleotide werden aus Nucleosidtriphosphaten (dNTP oder rNTP) durch Bindung zwischen Phosphorsäurerest des einen Nucleotids und der OH-Gruppe des C3'-Zuckers des anderen Nucleotids unter Abspaltung von Phosphat synthetisiert.

Werden einige Nucleotide verbunden, entstehen **Oligonucleotide**, bei Polymerisation vieler Nucleotide **Polynucleotide**.

DNA und RNA sind solche Polynucleotide; sie werden auch als Nucleinsäuren bezeichnet.

Die Aufeinanderfolge der Nucleotide in der Polynucleotidkette ist die Nucleotidsequenz, die Primärstruktur. Die Reihenfolge der Nucleotide wird in 5'-3'-Richtung geschrieben, z.B. 5' T-G-C-C-A-...



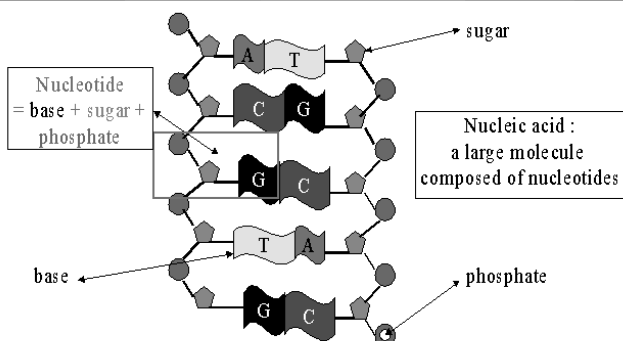
Bindung über **Phosphorsäurerest** des einen Nucleotids und **OH-Gruppe des Zucker-C3's** des anderen Nucleotids

3. DNA

Struktur der DNA

Bei den Organismen und dem größten Teil der Phagen bildet die DNA ein charakteristisches Molekül, das aus zwei Polynucleotidsträngen besteht: **DOPPELSTRANG-DNA (dsDNA)**.

Structure of DNA



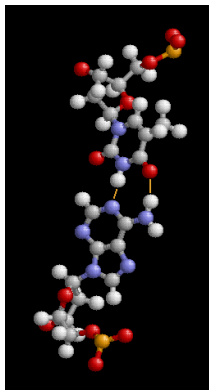
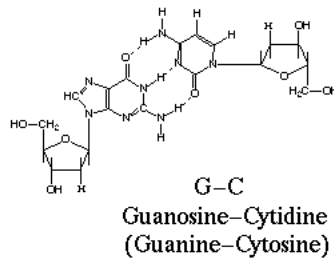
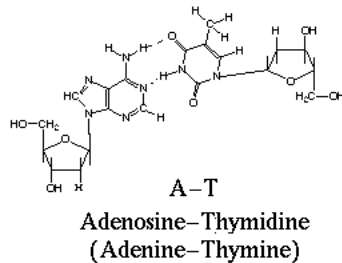
- Die beiden Polynucleotide verlaufen in **gegenseitiger Richtung antiparallel** und



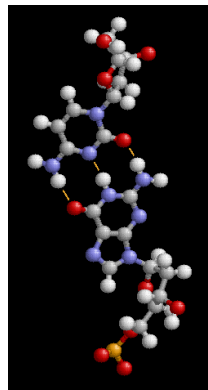
- sind zwischen den Basen zwischen den Basen durch **Wasserstoffbrückenbindungen** (Nebenvalenzbindungen) verbunden.

Aus stereochemischen Gründen erfolgt nur die Paarung zwischen einer Purin- und einer Pyrimidinbase, und zwar zwischen **C und G** oder **A und T**.

DNA Basepairs



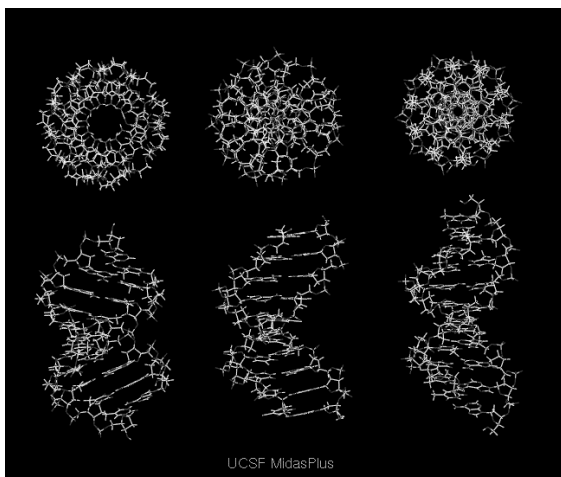
Das Nucleosidpaar A:T wird durch **2 Wasserstoffbrücken**...



Das Nucleosidpaar C:G durch **3 Wasserstoffbrücken** verbunden.

Die beiden (über Wasserstoffbrücken verbundenen) Polynukleotide sind plektonemisch umeinander gedreht, so dass sie eine langgestreckte Doppelschraube (Doppelhelix) bilden.

Als plektonemisch bezeichnet man eine Verdrehung von zwei Strängen, bei der beide Stränge ohne Aufdrehen nicht getrennt werden können.



Dieses Watson-Crick-Modell der DNA (1953) wurde auf der Grundlage folgender Befunde entwickelt:

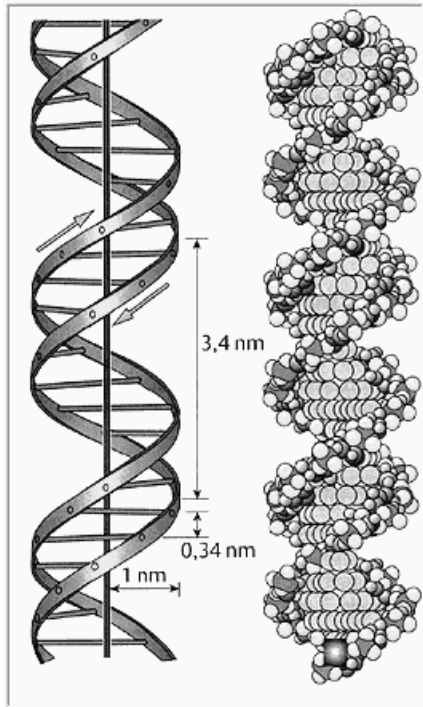
- CHARGAFF (1950) hatte festgestellt, dass das Verhältnis A:T = 1 und C:G ebenfalls = 1 ist.

Daraus leiteten Watson und Crick ab, dass komplementäre Basen gepaart vorliegen (A:T und C:G).

- Von WILKINS und ROSALIND FRANKLIN lagen Röntgenstrukturanalysen der DNA vor.

Die **DNA-Doppelhelix** ist die **Sekundärstruktur** der DNA.

Die DNA kann in verschiedenen Strukturisomeren vorliegen. Bei den Organismen mit einem Wassergehalt von >90% liegt meistens die B-Konformation vor. Die B-Konformation ist durch folgende Parameter gekennzeichnet:



- in vivo
- der Abstand zwischen den einzelnen Nukleotiden beträgt 0,34 nm
- die Ganghöhe 3,4 nm
- 10 Nukleotidpaare gehören zu einer Wendel und das 1. und 11. Basenpaar (bp) stehen somit übereinander
- der Helix-Durchmesser beträgt 2 nm (Radius 1nm)
- rechtshändig gewundene Schraube

Unterschiede der anderen Konformere:

- A-Konformer:
- nach exp. Dehydratisierung der B-DNA
 - in vivo: DNA-RNA-Doppelhelices
 - 11 Basenpaare bilden eine Wendel

- Z-Konformer: (Z=Zickzack)
- v.a. in G-C-reichen Sequenzen
 - linkshändig gewunden
 - 12 BP pro Wendelgang (4,56 nm)

In welcher Form die DNA vorliegt, hängt von der Nukleotidsequenz und der Aktivität der DNA ab.

DNA-Gehalt des Menschen: 4-8 pg/Zelle (0,02-2%) (ca. 1000 x E.coli)
Konturlänge = 1,8m/Zelle

Die in der Doppelhelix vorliegenden DNA-Stränge unterscheiden sich häufig in ihrem Puringehalt. Der Strang mit dem **größten Anteil an Pyrimidinen** wird als **H (heavy)-Strang** bezeichnet, der andere als L (light)-Strang.

Die durchschnittliche Molekularmasse beträgt 660 Dalton.

Doppelstrang-DNA in der B-Konfiguration (Na^+) aus 3×10^3 Nukleotidpaaren ist $1 \mu\text{m}$ lang und hat eine Molekularmasse von 2×10^6 .

1 pg (1×10^{-12} g) Doppelstrang-DNA **enthält $9,1 \times 10^8$ Nukleotidpaare** und hat eine **Länge von 30,9 cm**.

D.h. DNA: $1 \mu\text{m}$ Länge = 2 Megadalton = 3kb (Kilobasenpaare)

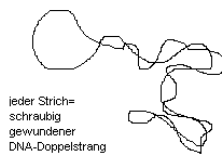
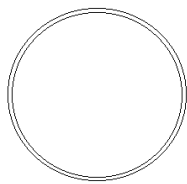
Die DNA liegt in der Natur meistens weiter geschraubt vor, sie bildet ein **Supercoil (Superknäuel)**.

- bei **positivem Supercoiling** erfolgt die weitere Windung gleichsinnig mit der DNA,
- bei **negativem Supercoiling** entgegen dem üblichen Windungssinn.

Veränderungen in der Struktur der DNA werden in wachsendem Maße eine Bedeutung für die Reaktion der DNA-Bereiche untereinander und mit spezifischen Proteinen beigemessen.

Eine solche Veränderung der DNA ist das **Krümmen (Bending)** der DNA, durch das verschiedene Bereiche der DNA in Kontakt gebracht werden können. Das Krümmen erfolgt durch spezifische Proteine, die an die DNA binden, wie z.B. das CAP-Protein oder das IHF-Protein.

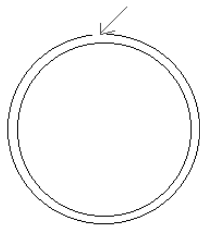
Die ringförmigen Doppelstrang-DNA-Moleküle der Plasmide und vieler Viren knäueln sich so innerhalb des Ringes, dass **CC-DNA** (=CCC-DNA: covalently closed circular DNA) vorliegt.



Diese CC-DNA ist ein negatives Supercoil.

(auf 15 Doppelhelixwindungen kommt etwa ein Supercoil).

Liegt in einem der beiden Ringe ein Einzelstrangbruch vor, entsteht **OC (open circular)-DNA**:



Auch die Loops, die das Bakterienchromosom bildet, sind Supercoils. Die große Menge DNA, die in Eukaryoten-Chromosomen vorliegt, ist linkshändig um Histone gebunden und bildet ein negatives Supercoil.

DNA kommt als Träger der genetischen Informationen in den Chromosomen der Eukaryoten, im Genom der Prokaryoten, Zellorganellen des Plasmas, wie Plastiden und Mitochondrien, in Plasmiden und in Viren vor.

Bei allen Organismen bildet die DNA eine Doppelhelix; nur in einigen Viren, wie z.B. ϕ X174 und S13, liegt die DNA in Einzelstrangform (ss-DNA) vor und bildet ausschließlich für die Replikation einen Doppelstrang.

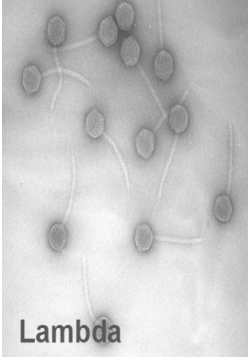
Als lineare Doppelschraube findet man die DNA in den Chromosomen der Eukaryoten und in einigen Viren, wie z.B. T2 und T7.

Als ringförmige Doppelschraube liegt die DNA im Bakteriengenom, in den Plasmiden, in der Mitochondrien-DNA, Chloroplasten-DNA und bei einigen Viren sowie der replikativen Form von Phagen mit ss-DNA vor.

Der Erbrägercharakter der DNA wurde durch die Transformationsexperimente von GRIFFITH 1928 und von AVERY u.a. 1944 sowie durch den HERSHEY- und CHASE-Versuch 1952 nachgewiesen.

Doppelstrang-DNA-Moleküle können Einzelstrangenden mit zueinander komplementären Basen besitzen. Solche **kohäsiven Enden** ermöglichen ein Aneinanderkoppeln von 2 DNA-Molekülen oder den Ringschluß eines DNA-Doppelstrangmoleküls über Wasserstoffbrücken.

Bei λ -Phagen z.B. haben die 5'-Enden die Sequenz



..... CCCGCCGCTGGAp5'

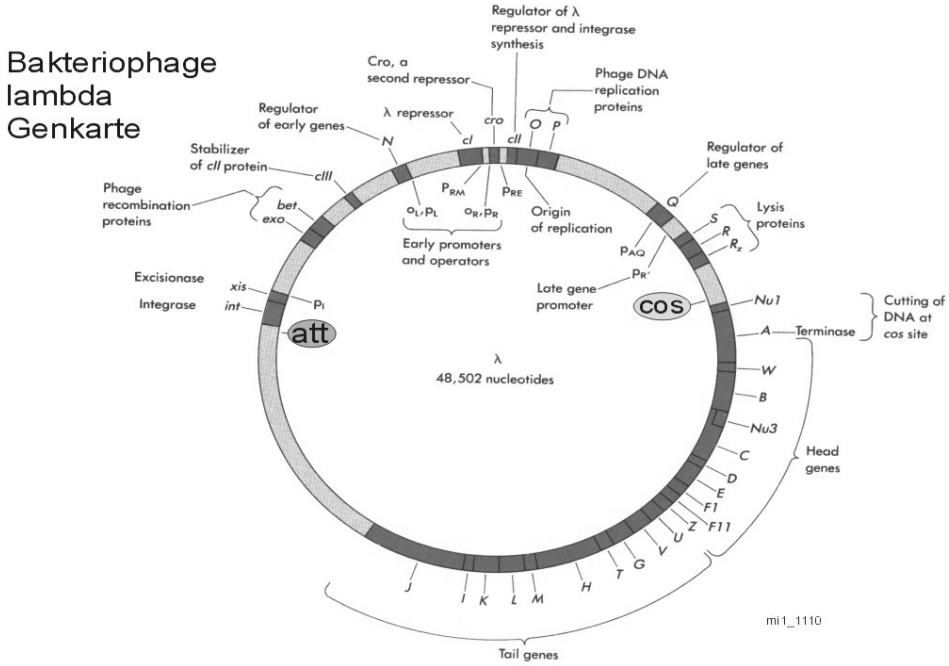
5'pGGGCGGCGACCT

Durch Ringschluß über Wasserstoffbrücken entsteht daraus das DNA-Doppelstrang-Molekül:

..... CCCGCCGCTGGA

..... GGGCGGCGACCT

Die Lücken werden durch Ligase geschlossen.



Das Genom von λ besteht aus 48 kb, in denen die Information für etwa 50 Gene enthalten ist. Abschnitte ohne bekannte Funktion sind kaum vorhanden.

Die Paarung komplementärer Basen ist nicht nur für den Aufbau des Moleküls von Bedeutung, sondern spielt zugleich eine wichtige Rolle bei den Vererbungsprozessen (Replikation und Abgabe der Informationen bei der Proteinbiosynthese).

Gentische Spezifität der DNA

Reihenfolge und Anzahl der Nukleotide sind entscheidend für den Informationsgehalt der DNA. Die Vielfalt der Organismen und Merkmale hängt von der sinnvollen Aneinanderreihung der 4 verschiedenen Nukleotide zu Polynukleotiden ab.

Die Nukleotidsequenz der DNA läßt sich mit mehreren Methoden (Sequenzanalysen) bestimmen, so dass der Zusammenhang zwischen DNA-Sequenz und Funktion ermittelt werden kann.

Die Molekulargenetik nutzt diese Möglichkeiten für die Erforschung der verschiedenen Gebiete.

Mit steigender Organisationshöhe ist eine Zunahme des DNA-Gehaltes und damit eine Steigerung der Nukleotidanzahl zu verzeichnen.

Hier einige charakteristische Werte:

(nach KORNBERG 1974 und BRITTEN / KOHNE 1970)

Genomträger	Anzahl der Nukleotidpaare (in kb)	Struktur
Viren	$10^0 - 10^2$	Einzel- bzw. Doppelstrang-DNA
Bakterien	$10^3 - 10^4$	Doppelstrang-DNA
Hefe	$1,4 \times 10^4$	17 Chromosomen (pro Chromosomensatz)
Taufliege	$1,65 \times 10^5$	4 Chromosomen (pro Chromosomensatz)
Mensch	$2,9 \times 10^6$	23 Chromosomen (pro Chromosomensatz)
Säuger	Etwa 5×10^6	
Amphibien	$10^6 - 10^8$	z.B. Salamander: 14 Chromosomen (pro Chromosomensatz)
Algen	$10^5 - 10^8$	
Mais	$4,5 \times 10^6$	10 Chromosomen (pro Chromosomensatz)

Wie die Tabelle zeigt, bedingt aber die Zunahme des an Nukleotidpaaren noch nicht in jedem Fall eine höhere Organisation. Neben der Anzahl der Nukleotide bestimmt die Basenzusammensetzung die Spezifität der DNA.

Da in der Doppelschraube der DNA immer eine Purinbase mit einer Pyrimidinbase über Wasserstoffbrücken verbunden ist, bedingt die Basensequenz der einen Kette zwangsläufig die Basenfolge der gegenläufigen Kette.

Das Verhältnis A:T und C:G ist infolge der Basenpaarung immer 1.

Der G+C – Anteil beträgt bei vielen Bakterien (Beispiel: Escherichia coli) 50%.

Es gibt aber auch sehr extreme Basenverhältnisse, z.B. Micrococcus lysodeicitus mit 72% G+C bzw. Clostridium perfringens mit nur 27% G+C.

Höhere Organismen haben weniger unterschiedliche Basenanteile: Tiere weisen einen G+C – Anteil von etwa 40% , Pflanzen von 40-50% auf.

Die Unterschiedliche Aneinanderreihung der 4 verschiedenen Basen führt zu sehr vielen Möglichkeiten für verschiedene Basensequenzen.

Für die 4 verschiedenen Basen der DNA bestehen bei einer Kettenlänge (Nukleotidenanzahl) von 3 bereits $4^3 = 64$ Möglichkeiten. Setzen wir die in der Tabelle angegebenen Nukleotidenanzahlen ein, kommen wir für einfache Viren zu etwa 4^{5000} Möglichkeiten (ϕ X174).

Die realisierte Nukleotidsequenz ist eine von 4^{5000} möglichen Permutationen, die sich im Laufe der Evolution herausgebildet hat.

In diese Berechnung sind aber auch Anordnungen einbezogen, die nur aus einer Komponente bestehen, wie z.B. die Sequenz 1-1-1. Die realisierbaren Möglichkeiten sind wesentlich geringer, da eine Sequenz mit sinnvoller Information notwendig ist.

ANHANG

Codierungstabelle:

