

# Pharmazeutische Biologie

## Gentechnik

### Gene: Historischer Abriss und Darstellung der Diversität

- *Gregor Mendel:* „Merkmal“
  - Untersuchungen an der Wunderblume *Mirabilis jalapa*, *Nicotyanaceae*

- *Wilhelm Ludvig Johannsen:* „Gen“

- *Avery:* „DNA ist Erbinformationsträger“

- *Beadle, Tatum:* „Ein-Gen-ein-Protein“-Theorie



„Ein-Gen-ein-Polypeptid“-Theorie



„Exon, Intron, Splicing, alt. Splicing“

Durch alternatives Splicing erhält man unterschiedliche Kombinationen von Exons.



„Pseudogene“

Durch Mutation könne stille Gene, z.B. ein Gen eines Allels zu Pseudogenen werden.



„Transposons“

Transposons sind DNA-Abschnitte, die durch sog. LTR's, *long terminal repeats*, begrenzt werden. Die LTR's sind hierbei seitenverkehrt angeordnet und können von beiden Seiten gleich gelesen werden.

Bakterien-Transposons:

- a) haben nur das Transposase-Gen.
- b) haben zusätzliche Gene, die mitspringen.

Der Austausch von genetischer Information zwischen Bakterien erfolgt zum Beispiel durch Einbau eines Transposons in ein Plasmid und anschließende Konjugation.

Eukaryoten-Transposons:

- a) haben das Transposase-Gen und zusätzliche Gene.
- b) sind Retrotransposons.



„Immunoglobuline“

Die DNA-Abschnitte, die für IgG-Antikörper codieren, setzen sich aus einer unterschiedlichen Anzahl von Genabschnitten zusammen. Die einzelnen Komponenten werden bei der Reifung von B-Lymphocyten individuell zusammengestellt. Hierbei kommt es zu einer ungenauen Verknüpfung der V- und J-Sequenzen mit einer hohen Mutationsrate innerhalb des codierenden Exons.

Leader	viele
Variable	viele
Junction	5
Constant	1



„Cistron“

## Gentechnologie: Historischer Abriss und Darstellung der Diversität

- *Friedrich Miescher, 19. Jhd.*
  - DNA-Extraktion aus Salmonidensperma.
- *Horace Jutson, Ende 19. Jhd.*
  - Ironische Darstellung: Die DNA hat keine tiefere Bedeutung.
- Man erkennt einen Zusammenhang zwischen der DNA und dem Auftreten der Gicht, der jedoch als kausal mißinterpretiert wird.

*Die beim Purinabbau entstehende Harnsäure führt bei Stoffwechselstörungen zu Ablagerungen in den Gelenken und infolgedessen zu arthritischen Beschwerden.*

- *Avery*
  - Beobachtung eines Gentransfers zwischen zwei Bakterienspezies.
- *Watson, Crick, Franklin*
  - Strukturaufklärung der DNA durch Watson und Crick anhand der Röntgenkristallstrukturaufnahmen von Rosalind Franklin.
- *Arber*
  - Restriktionsendonukleasen
    - Restriktionsendonukleasen bauen fremde DNA beim Eindringen in eine Zelle ab – beispielsweise bei Injektion durch einen Bakteriophagen.
    - Typ I: schneiden neben der Erkennungssequenz
    - Typ II: schneiden an der Erkennungssequenz und sind daher von großem gentechnologischen Interesse. Hierbei unterscheidet man
      - stumpfe Schnittkanten
      - überlappende Schnittkanten, sogenanntesticky ends, die immer an Palindromen entstehen, das sind Nucleotidsequenzen, die vor- und rückwärts gelesen identisch sind.

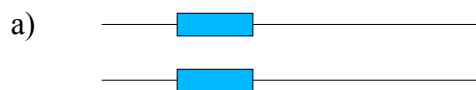
GAATTC  
CTTAAG

## Die molekularen Mechanismen der Evolution

- Mit der Entwicklung nimmt die Anzahl der Basenpaare der DNA zu. Natürlich gibt es auch hier Ausnahmen; so haben zum Beispiel bestimmte Amöben weit mehr Basenpaare in ihrer DNA als Menschen, eine Tatsache, die bis heute nicht erklärt werden kann.
- *Alu-Sequenzen*
  - sind circa 300 Basenpaare lang
  - wiederholen sich rund 300000mal
  - erhielten ihren Namen, da sie vom sogenannten Alu-Restriktionsenzym geschnitten werden

- *Isochore*
  - sind Strukturen von gut 300 Kilobasenpaaren Länge
  - haben einen konstanten GC-Gehalt von 30 – 60%
  - ein bislang unerklärtes Phänomen ist, dass Isochore mit höherem GC-Gehalt mehr Gene enthalten, als solche mit geringerem.
- *Polyploidisierung*
  - es entstehen **keine neuen** Gene
  - circa 47% der Angiospermen sind polyploid

- *Tandemmultiplikation*



Ungenaue Chromatidenpaarung während der Meiose.

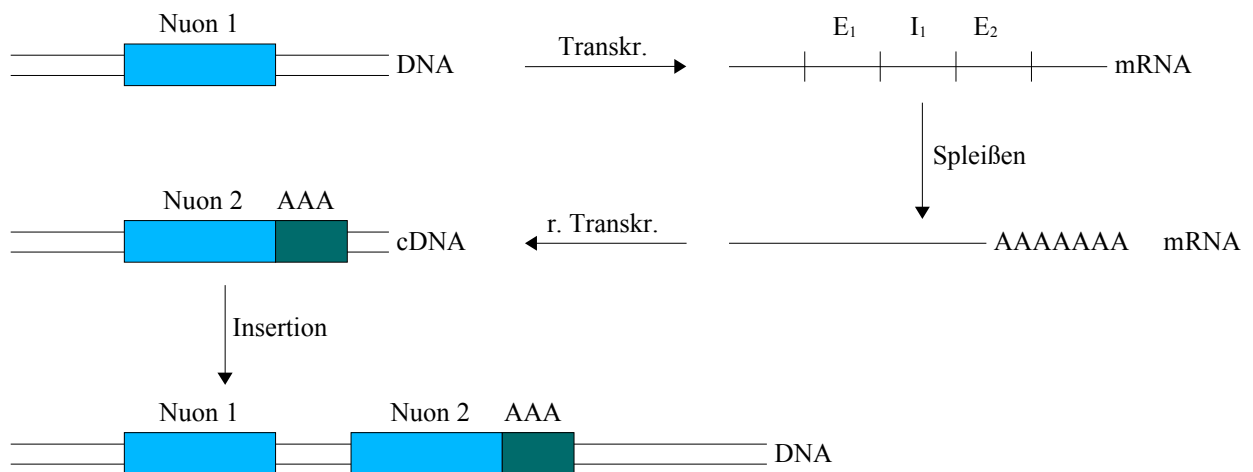


Crossover liefert ein Chromatid mit zwei Genen und eins mit keinem Gen.

- *Reverse Transkription*
  - Die Reverse Transkriptase ermöglicht die Erzeugung einer sogenannten cDNA anhand einer mRNA Matrize. Die so gewonnene cDNA kann nun in die bereits vorhandene DNA, die als Matrize der mRNA gedient hat, inseriert werden. Ursprünglich einfach vorhandene Gene liegen nun doppelt vor und es kann zu Mutationen dieser „stillen“ Gene kommen. Meist werden diese mutierten Doppelgene mit einer Halbwertszeit von ungefähr 7,3 Millionen Jahren eliminiert, nur selten übernehmen sie eine eigene Funktion.
- *Neuzusammenstellung von Genen*
  - Wie bereits erwähnt nutzt der Körper zur Bildung unterschiedlicher Antikörper die variable Zusammensetzung der L,V,J und C-Sequenzen.
- *Horizontaler Gentransfer*
  - Übertragung von Genen zwischen Arten
- *Mutatorgene*
  - Gene, die Mutationen propagieren
  - Mutatorgene stellen eine Möglichkeit dar das Genom an sich verändernde Umweltbedingungen anzupassen. (Lamarck'sche Theorie)

## Das menschliche Genom

- Das humane Genom besteht aus etwa 40.000 Genen, die bei etwa 100.000 Spleißvarianten und zusätzlichen Modifikationen wie Sulfatierung oder Glykosylierung für rund 500.000 Proteine codieren.
- Die mittlere Gendichte im menschlichen Genom beträgt hierbei circa 12 Gene pro Million Basenpaare, was im Vergleich mit *Arabidopsis*-Arten – 221 Gene pro Million Basenpaare – auf eine hohe Redundanz schließen läßt. Die höchste Gendichte im humanen Genom findet sich auf dem Chromosom 19, die niedrigste hingegen auf dem Chromosom 13 und dem Y-Chromosom.
- Für die Exondichte eines Gens findet man einen Wert von 8,8 und für die Introndichte einen von 7,8. Dies zeigt, dass jedes Intron an beiden Enden von einem Exon begrenzt wird.
- Im Durchschnitt besteht ein Gen aus 3140 Basenpaaren und codiert für 447 Aminosäuren. Das längste, bislang bekannte Gen ist etwa  $2,4 \cdot 10^6$  Basenpaare lang.
- Eine Erklärung für das Auftreten nicht codierender, repetitiver Sequenzen sind Retrotransposons, die nicht wie Transposons ihren Gen-Locus wechseln, sondern durch Transkription und reverse Transkription verdoppelt werden.



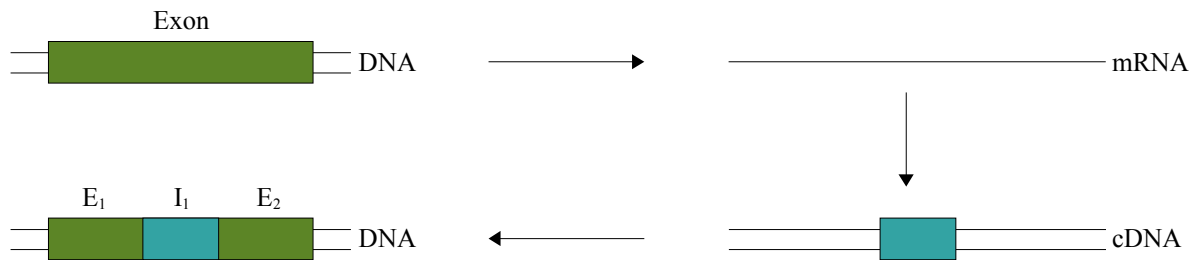
Erfolgt die Insertion der cDNA in Promotornähe, so kann es zur Expression des neuen Gens Nuon 2 kommen. Nuon 2 besteht aus den Exons des Nuon 1, da die Introns beim Spleißen der mRNA verloren gehen. Das Vorhandensein der reversen Transkriptase, die für den geschilderten Vorgang erforderlich ist, führt man auf einen Übergang von einer RNA- zu einer DNA-Welt vor circa 3 Milliarden Jahren zurück. Die mögliche Insertion von Retrotransposons in bestehende Gene kann zur Bildung neuer Introns führen und so die Anzahl der Spleißvarianten erhöhen.

## Exons, Introns und Ribozyme

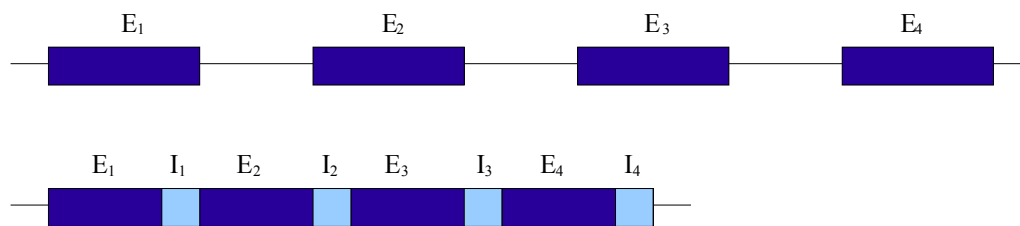
- Entgegen bisheriger Lehrmeinung haben sowohl Eukaryonten, als auch Prokaryonten Exon-Intron-Strukturen in Ihrer Erbsubstanz.
- Nicht alle Gene weisen jedoch Exon-Intron-Strukturen auf. So sind die Gene für Histone und Interferone äußerst konserviert und zeigen keinen Bedarf für alternatives Spleißen.
- Exons respektive Introns haben verschiedene Funktionen oder Vorteile. So können durch alternatives Spleißen aus ein und der selben Erbinformation viele unterschiedliche Proteine erschaffen werden. Dazukommt, dass durch das Vorhandensein eines Promotors für viele darauffolgende Exons und Introns die Genregulation enorm rationalisiert wird.

- Entstehung von Introns

- Retrotransposons können zu Introns werden, indem sie innerhalb eines bestehenden Exons inseriert werden.



- Unter Exon-Shuffling versteht man die Kombination von Exons wobei die Enden der Exons zu Introns werden.



- Beispiele für die Konservierung der Exon-Intron-Strukturen

- $\alpha$ ,  $\beta$ -Hämoglobin und Myoglobin haben nur 21 Aminosäuren gemeinsam bestehen aber immer aus drei Proteindomänen, die von drei Exons codiert werden.
- Die Triosephosphatisomerase wird in Pflanzen von acht Exons und in Tieren von sechs Exons codiert. Fünf dieser Exons sind in ihrer Position auf dem codierenden Gen identisch. Dies zeigt einerseits, dass der Spleißapparat sehr alt sein muss und gibt andererseits Anlass zu dem Verdacht, dass Pflanzen und Tiere aus einem gemeinsamen Vorfahr, möglicherweise einem Pilz, hervorgegangen sind.

- Unterteilung der Introns

- Introns der Gruppe I
- Introns der Gruppe II

*Diese Introns werden von Spleißosomen geschnitten.*

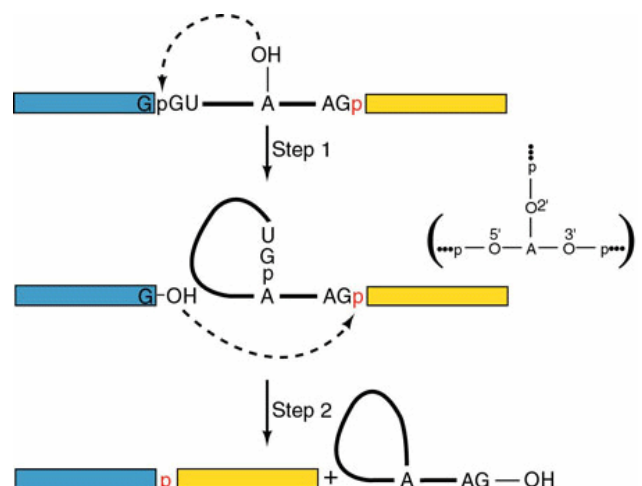
*Diese Introns schneiden sich selbst und werden als Ribozyme bezeichnet.*

- Ribozyme

Ribozyme sind katalytisch wirksame Nucleinsäuren auf RNA-Basis. Ein Beispiel ist die rRNA, deren Primärtranskript ein Intron enthält, das autokatalytisch herausgeschnitten wird.

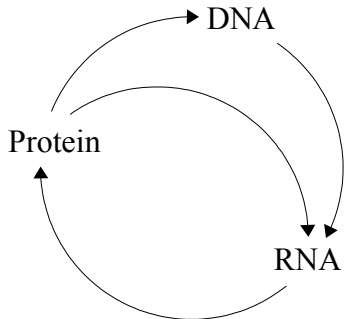
- Spleißosome

Spleißosome bestehen aus 50 Proteinen und 5 RNA's, von denen zwei den eigentlichen Spleißvorgang katalysieren. Der Spleißmechanismus gleicht dabei dem an Ribozymen.

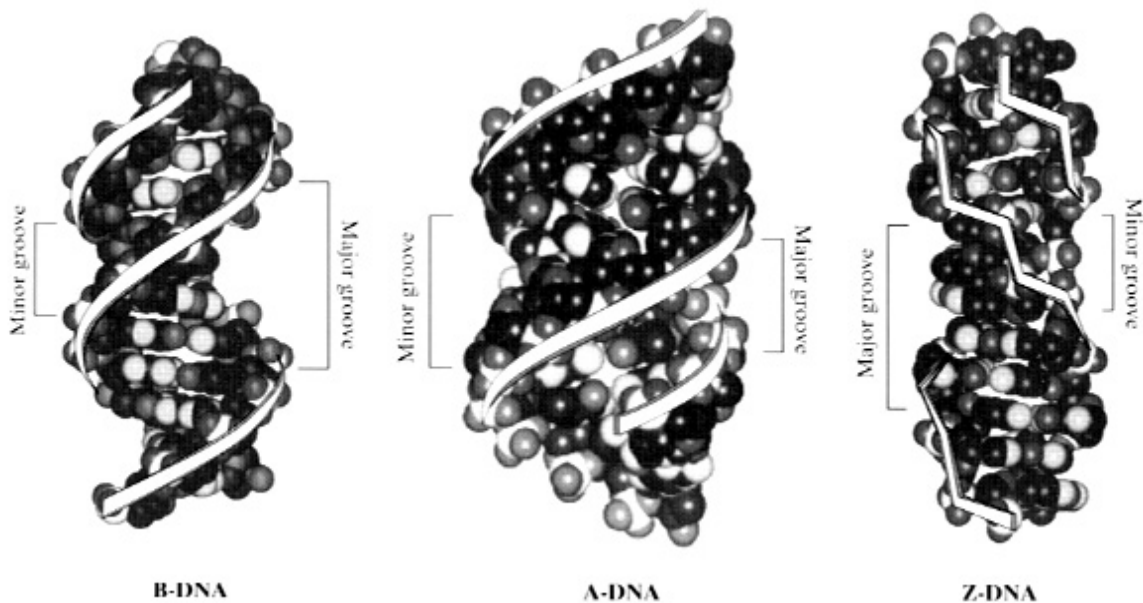


## Protein-DNA-Interaktionen

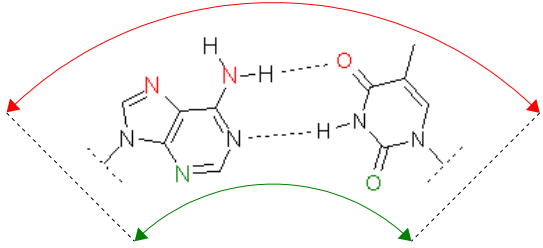
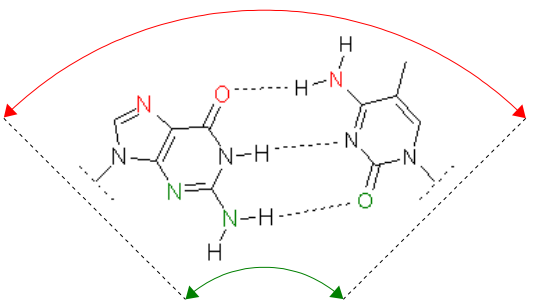
- Während die menschliche Umwelt meist auf lineare Prozesse setzt sind in der Natur fast ausschließlich cyclische Abläufe zu beobachten. Die cyclischen Prozesse haben den oft energieorientierten linearen Prozessen gegenüber den Vorteil, dass bei Fehlern innerhalb der Prozessabfolge diese jederzeit korrigiert respektive reguliert werden können.



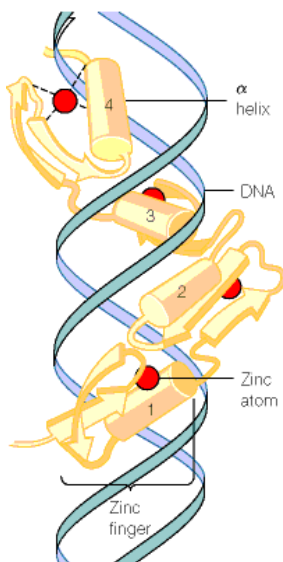
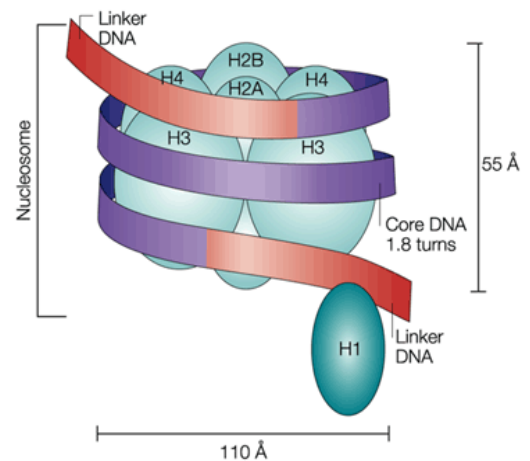
- Da es sich bei Regulationen immer um ganz bestimmte Regulationsstellen auf der DNA handelt kann es kein zufälliges Aufeinandertreffen zwischen regulativen Proteinen und der Ziel-DNA geben. Die Proteine binden vielmehr irgendwo an die DNA und laufen dann solange den Strang entlang bis sie ihr Ziel erreichen.
  - Die Struktur der Proteinbindungsstellen auf der DNA wird durch vielerlei Einflüsse geformt.
- Einen signifikanten Einfluß üben die Methylgruppen des Thymins und das dadurch festgelegte Methylierungsmuster der DNA aus.
  - Die Konformation der DNA infolge der teilweise freien Drehbarkeit um die Phosphoester- und Glykosidbindungen spielt ebenfalls eine bedeutsame Rolle. Man unterscheidet hier zwischen der A-Form, der aktiven Form der DNA, der B-Form, die eine Ruheform darstellt und als einzige eingelagertes Wasser enthält, und der Z-Form, die in repetitiven GC-Sequenzen vorliegt und bei der die Basen nach Außen gekehrt sind, was eine Erklärung für die häufigen Mutationen in diesen Sequenzen bietet.



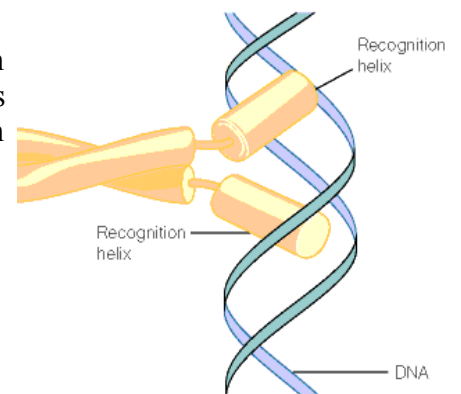
- Die A- und B-Form haben noch einen weiteren Unterschied, der sich in den Abständen der Phosphoribosid-Ketten der beiden DNA-Stränge manifestiert. Durch die Einlagerung von Wasser in die B-Form der DNA werden die intrahelikalen Wasserstoffbrückenbindungen beeinträchtigt und es kommt zu einer Verschiebung der Größenverhältnisse zwischen großer und kleiner Furche. Infolgedessen ändert sich auch der Winkel zwischen den Basenpaarebenen und der zentralen Achse, die in der B-Form rechtwinklig und in der A-Form leicht geneigt zueinander stehen.

AT-Basenpaarung		GC-Basenpaarung		
Große Furche		Große Furche		
				
Kleine Furche		Kleine Furche		
Verhältnis von Wasserstoffbrückenakzeptoren zu Wasserstoffbrückendonatoren				
	Große Furche		Kleine Furche	
AT	A	D	A	A
TA	A	D	A	A
GC	A	A	D	A
CG	D	A	A	A

- Auch die Anwesenheit von Nukleosomen als Teil der Superstruktur führen zu Beeinflussung von Proteinen, die an die DNA binden. Die Histone können entlang der DNA verschoben werden um die Entspiralisierung zu ermöglichen.
- Die Bindung regulativer Proteine an die DNA erfolgt häufig in Paaren gleicher Proteine. Dies hat zum Vorteil, dass zwei kleinere Proteine schneller an die DNA binden als ein großes und dass die codierende Erbsubstanz kürzer und die Mutationswahrscheinlichkeit dieser elementaren Proteine damit geringer ist.

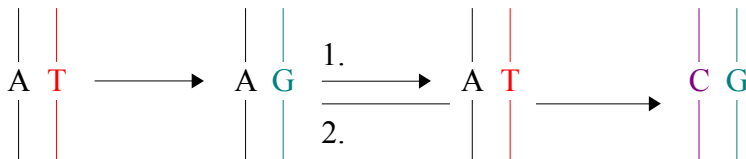


- Zink-Finger-Proteine haben eine lange Kette aus alternierenden Histidinen und Cysteinen. Diese komplexieren Zink und binden an die DNA.
- Helix-Turn-Helix-Proteine binden über zwei Helices, die beidseits eines Helixturns gelegen sind, an die DNA.



## Mutationen und DNA-Reparatur

- Man unterscheidet je nach betroffenem Zelltyp zwischen somatischen und generativen Mutationen.
- Mismatch-Mutation



- Um Falschreparaturen, wie in 2. dargestellt zu verhindern müssen die Reparaturenzyme zwischen dem alten und neuen Strang differenzieren können. Sie tun dies anhand des Methylierungsmusters des alten Stranges. Die Reparatur muß daher sehr rasch nach der Replikation erfolgen um eine Methylierung des neuen Stranges zu vermeiden, die eine Unterscheidung zwischen alt und neu unmöglich macht.
- Der zur Reparatur benötigte Stop des Zellzyklus wird durch den von p53 codierten Transkriptionsfaktor P53 eingeleitet, der die Synthese des von p21 codierten P21-Proteins aktiviert, das anschließend den Zellzyklus anhält. Die Mutation des p53- respektive p21-Gens führt häufig zu Krebs, da die Reparatur von Mismatch-Fehlern nicht mehr durchgeführt werden kann.
- Thymidin-Paarung durch UV-Licht
  - Typische Vertreter der durch Thymidin-Paarung ausgelösten Erkrankungen sind das *Cockayne-Syndrom* und *Xeroderma pigmentosum*.
  - Beide Krankheiten zeichnen sich durch eine Überempfindlichkeit gegenüber Licht aus, wobei die Störung der Reparaturmechanismen bei beiden Krankheitsbildern unterschiedlich ist. Der Nachweis, dass die Reparaturmechanismen unterschiedlich betroffen sind, wurde durch die Insertion des Chloramphenicol-Acetyl-Transferase-Gens über ein virales Plasmid erbracht. Nachdem das Plasmid vor der Insertion mit UV-Licht bestrahlt wurde, zeigten Fibroblasten beider Krankheitsbilder unterschiedliche CAT-Aktivitäten. Dies wird dadurch erklärt, dass je nach Erkrankung die Fibroblasten die durch die UV-Bestrahlung induzierten Mutationen unterschiedlich gut reparieren können.
    - *Cockayne-Syndrom* Um das entstandene Thymidindimer reparieren zu können muß zunächst die RNA-Synthase, die zur Entdeckung der Mutation geführt hat, von der DNA abgelöst werden. Dieser Ablösungsschritt ist hierbei nicht möglich und es kommt infolgedessen nicht zur Reparatur der DNA-Läsion.
    - *Xeroderma pigmentosum* Die DNA-Synthase der betroffenen Patienten ist nicht in der Lage das Thymidindimer zu überspringen und die Replikation ist daher nicht vollständig möglich. Bei gesunden Menschen kann die DNA-Synthase das Thymidindimer überspringen und dabei ein Adeninpaar an den Tochterstrang anheften.
- Die Folge der gestörten Reparaturmechanismen sind Zwergwuchs, Hautkrebs – besonders bei *Xeroderma pigmentosum* – und geistige Retardierung durch Apoptose von Neuronen – besonders beim *Cockayne-Syndrom*.



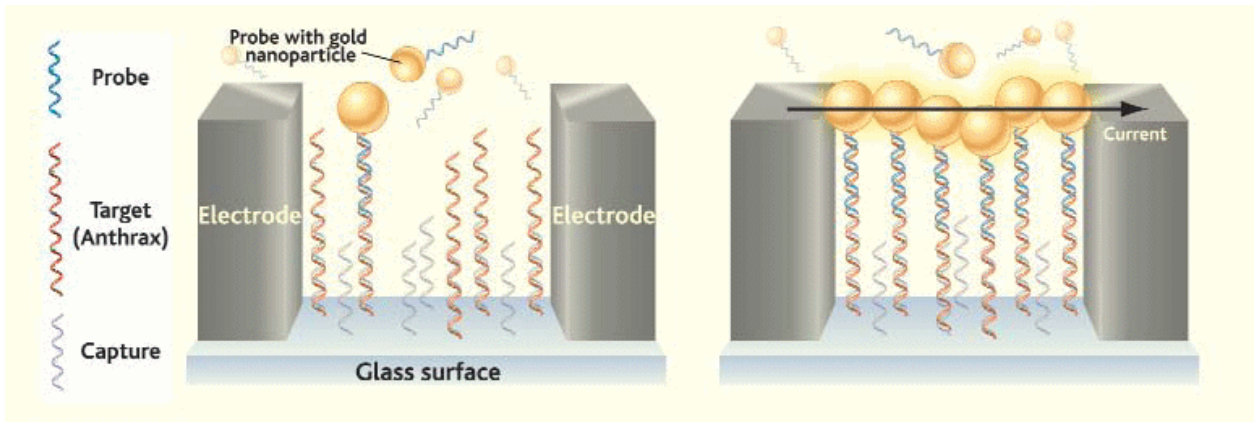
## Gentherapie

- In Deutschland ist nur die somale Gentherapie erlaubt. Die Gentherapie von Keimzellen ist verboten!
- Für die Einschleusung der gewünschten Gene nutzt man unterschiedliche Vektoren:
  - Bakterien
  - Viren
    - Adenoviren
    - Retroviren
  - Liposomen
- Typische Zielkrankheiten der Gentherapie sind:
  - Cystische Fibrose (Mukoviszidose)
  - Sichelzellanämie
  - Adenosindeaminase-Defizienz
  - Duchenne-Dystrophie
  - Bluterkrankheit
- Durch gentherapeutische Maßnahmen können nur monogenetische Krankheiten geheilt respektive behandelt werden. Polygenetische Krankheiten wie Krebs sind aufgrund der komplexen genetischen Ursachen nicht therapierbar.
- *Cystische Fibrose*
  - Die cystische Fibrose, auch Mukoviszidose genannt, ist die häufigste autosomal, rezessiv vererbte Krankheit.
  - Durch die Deletion eines Phenylalanins im CFTR-Gen (*cystic fibrosis transmembrane conductance receptor*) kommt es zu einer Fehlfunktion des Chloridtransporters in den Epithelzellen exokriner Drüsen. Das schwerwiegendste Symptom ist das Cor pulmonale infolge der durch den zähen Schleim hervorgerufenen rezidivierenden Lungenentzündungen.
  - Zur Gentherapie nutzt man bei der cystischen Fibrose meist Adenoviren, die normalerweise die menschlichen Schleimhäute befallen, zu Atemwegsinfekten führen und dem Körper damit hinlänglich „vertraut“ sind. Dennoch bleibt ein Restrisiko einer überschiessenden Immunantwort bestehen. Den als Vektor genutzten Adenoviren wird unter Excision der viralen Transkriptions- und Immunsuppressionssequenz das intakte CFTR-Gen inseriert.
  - Neben dem bereits erwähnten Problem einer allergischen Reaktion mit möglicherweise tödlichem Ausgang liegt ein Manko der Adenoviren darin, dass sie ihr Genom nicht in das der Wirtszelle integrieren und die genetische Information somit bei Teilung der Zelle verlorengelht.
  - Um den Verlust der genetischen Information bei der Zellteilung zu vermeiden kann man Retroviren einsetzen, die ihr Genom mithilfe von Restriktionsenzymen in das Wirtsgenom einbauen. Hierbei besteht jedoch die Gefahr, dass die Insertion bestehende Gensequenzen zerstört, was insbesondere bei Antikörpersequenzen schwerwiegende Folgen haben kann (Leukämie). Retroviren werden vor allem zur Therapie der Bluterkrankheit benutzt, wobei eine eingehende Risikobewertung gegenüber den üblichen Sera mit Gerinnungsfaktoren gemacht werden muss.
  - Liposomen bieten gegenüber Viren den Vorteil, dass die Größe der „verpackten“ DNA nicht limitiert ist – Adenoviren können maximal 8 Kilobasenpaare an genetischer Information aufnehmen. Allerdings liegt die Transfektionsrate bei Liposomen nur bei gut einem Prozent.

# Gendiagnostik

## Nanotechnologie

- Der Nachweis von *Bacillus anthracis* infolge der Anschläge vom 11.09.2001 erfolgt mit Methoden der Nanotechnologie.



- Die Glasplatte ist zunächst mit einsträngiger DNA beladen, die eine zu spezifischen DNA-Sequenzen von *Bacillus anthracis* komplementäre Endsequenz aufweist.
- Taucht man das Testsystem in eine Lösung in der man DNA von *Bacillus anthracis* vermutet, so wird die bakterielle DNA an die auf der Glasplatte fixierte DNA gebunden.
- Gibt man anschließend eine Lösung, die Nanopartikel aus Gold verknüpft mit DNA-Strängen, die eine zur Endsequenz der *Bacillus anthracis* DNA komplementäre Sequenz aufweisen, so binden diese an die DNA des Bakteriums, die bereits an die auf der Glasplatte fixierte DNA konjugiert ist.
- Infolgedessen kommt es zu einer stromleitenden Verknüpfung zwischen den beiden Elektroden, die 20  $\mu\text{m}$  voneinander entfernt sind, und der Nachweis der DNA von *Bacillus anthracis* ist erbracht.

## PCR – Polymerase Chain Reaction

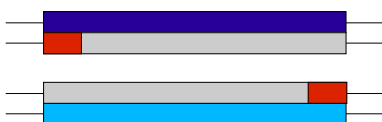
- Die PCR erlaubt es Genabschnitte, deren Sequenz man kennt, beliebig zu vervielfachen und so monogenetische Erkrankungen zu erkennen.



1. Die zu vervielfältigende DNA wird bei 90°C „geschmolzen“, d.h. die beiden komplementären Stränge werden durch Lösen der Wasserstoffbrückenbindungen voneinander getrennt.



2. Anschließend werden an die 3'-Enden der beiden DNA-Stränge Promotoren angelagert. Dies ist nur möglich, da man die Sequenz der DNA kennt.



3. Die DNA-Polymerase kann nun die beiden Einzelstränge zu Doppelsträngen ergänzen. Durch Wiederholung dieser drei Schritte läßt sich jede noch so geringe Menge DNA zu handhabbaren Größen vervielfältigen.

- Erkrankungen, die mittels PCR der betroffenen Genabschnitte nachgewiesen werden können sind
  - *Chorea Huntington (Veitstanz)* Dominant und somit bereits heterozygot evident.
  - *Mucoviscidose* Rezessiv und daher erst bei Homozygie evident.
  - *$\alpha_1$ -Antitrypsindefizienz* Rezessiv und daher erst bei Homozygie evident.
- $\alpha_1$ -Antitrypsin ist ein Antagonist der Elastase bei Entzündungen der Lunge. Lymphoblasten, die den Entzündungsherd in der Lunge umgeben produzieren Elastase und Sauerstoffradikale um die zerstörten Zellen abzubauen. Ein Eindringen der Elastase in das umliegende Gewebe verhindert das  $\alpha_1$ -Antitrypsin, eine Cysteinprotease. Diese wird jedoch im Bereich des Entzündungsherdes durch die Sauerstoffradikale zerstört, sodaß die Elastase hier ungestört ihrer Aufgabe nachgehen kann.
- Es ist äußerst wichtig zwischen individuellen und pathologischen Punktmutationen der untersuchten Gene zu unterscheiden um keine Fehldiagnose zu stellen. Folgende Daten illustrieren die natürliche Varianz eines Genabschnittes durch Punktmutationen:
 

• Wahrscheinlichkeit einer Punktmutation außerhalb eines Gens	1:470
• Wahrscheinlichkeit einer Punktmutation innerhalb eines Gens	1:2000
• Durchschnittliche Wahrscheinlichkeit einer Punktmutation	1:500
- Eine Möglichkeit diesen Unterschied zu erkennen liegt in der Expression des betroffenen Gens in Bakterien. Pathologische Punktmutation führen zur Verschiebung des Leserasters oder zu Stop-codons, infolgederer es zu sogenanntentruncated proteins kommt.
- Ein Beispiel für gendiagnostische Möglichkeiten bei der Krebsvorsorge sind die sogenannten „Brustkrebs-Gene“ BRCA1 und BRCA2 (obwohl es eigentliche brc1 und brc2 lauten müßte hat sich diese falsche Schreibweise eingebürgert). Diese Gene codieren für Transkriptionsfaktoren, die mit p53 interagieren und circa die Hälfte aller Krebsinzidenzen ist mit einer Fehlfunktion des Transkriptionsfaktors P53 verbunden. Mutationen innerhalb der BRCA1/2-Gene führen jedoch nur in 5% aller Fälle zu Brustkrebs.

		Gesamtlänge	Codierender Anteil	Genlocus	Proteinlänge
<b>BRCA1</b>	22 Exons	70 kbp	5,5 kbp	17q	1863 AS
<b>BRCA2</b>	27 Exons	70 kbp	10 kbp	13q	3418 AS

## Altern und Lebenserwartung

- Da das Altern erst im Anschluß an die reproduktive Phase des Lebens erfolgt, gibt es keine evolutionsbedingte Selektion von früh respektive spät Sterbenden.
- Die durchschnittliche Lebenserwartung eines Organismus ist eng mit seinem *metabolischen Potential* verknüpft. Das *metabolische Potential* ist die Menge Energie, ausgedrückt in kcal, die ein Organismus während seines Lebens insgesamt verbraucht. Verbraucht er also pro Zeiteinheit mehr Energie, so lebt er insgesamt kürzer.

Organismus	Fliege	Maus	Hund	Graugans	Elefant	Affe	Mensch
Lebenserwartung	100d	3a	30a	50a			100a
Metabolisches Potential	25	200			200	400	800

- Bakterien sterben nur aufgrund äußerer Einflüsse oder durch Apoptose.

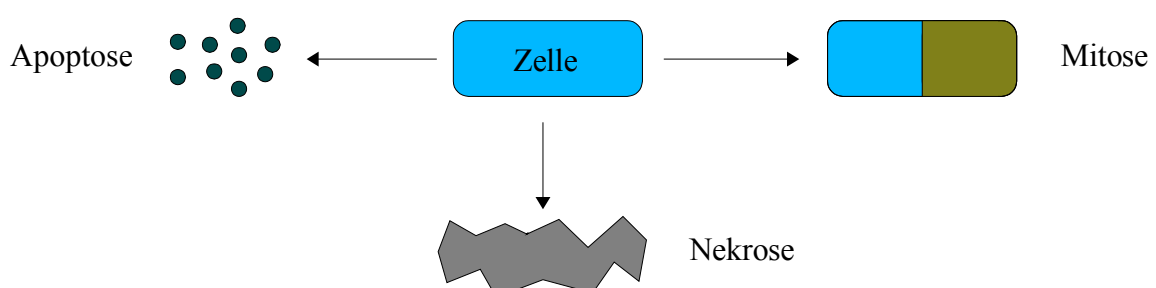
- Während des Alterns akkumulieren somatische Mutationen und das Krebsrisiko wächst mit der vierten Potenz des Alters.
- Das sogenannte „Klotho“-Gen codiert für spezielle Glucosidasen, die extrazelluläre Signaltransduktionswege und somit die Lebenserwartung kontrollieren.
- Telomere, die sich durch die repetitive Sequenz TTAGGG auszeichnen und am Ende von Chromosomen sitzen, verkürzen sich bei jeder Zellteilung, da die DNA-Polymerase nicht am äußersten Ende eines DNA-Strangs mit der Replikation beginnen kann. Sie dienen der korrekten Paarung homologer Chromosomen am Centrosom, weshalb sich die Zellen ab einer gewissen Länge der Telomere nicht mehr teilen können, was wiederum eine mögliche Erklärung für das frühe Sterben des Klonschafes *Dolly* ist, da es bereits gealterte Gene von seiner Mutter bekam. Einige Zellen, die von Natur aus einer hohen Zellteilung unterliegen können diesen Mechanismus allerdings umgehen: ein spezielles Enzym, die sogenannte *Telomerase*, ermöglicht es in den noch nicht differenzierten Zellen nach einer Teilung Telomere an die Chromosomen anzuheften. Zu diesen Zellen zählen insbesondere Spermatozyten sowie die Stammzellen des blutbildenden Systems.
- Wie ein Vergleich von Pro- und Eukaryonten zeigt ist die begrenzte Lebenserwartung der Preis für die hohe Differenzierung.

Prokaryonten	Eukaryonten
<ul style="list-style-type: none"> <li>• circuläre Chromosomen</li> <li>• Ø</li> <li>• Ø</li> <li>• Keine sexuelle Reproduktion im klassischen Sinn</li> <li>• Ø</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• lineare Chromosomen</li> <li>• Telomere</li> <li>• Meiose</li> <li>• Möglichkeit der sexuellen Reproduktion</li> <li>• Entwicklung zu hoch differenzierten Individuen</li> </ul>

- Wie die Alterspyramide der modernen Gesellschaft zeigt leben Frauen etwas länger als Männer. Der Grund dafür liegt in den Geschlechtschromosomen, genau genommen darin, dass Männer nur ein X-Chromosom besitzen, weshalb sich Fehler auf diesem direkt bemerkbar machen. Auch Vogelmännchen, die im Gegensatz zu den Weibchen über zwei X-Chromosomen verfügen, leben signifikant länger als diese. Homogenie macht sich also bezahlt.

## Apoptose

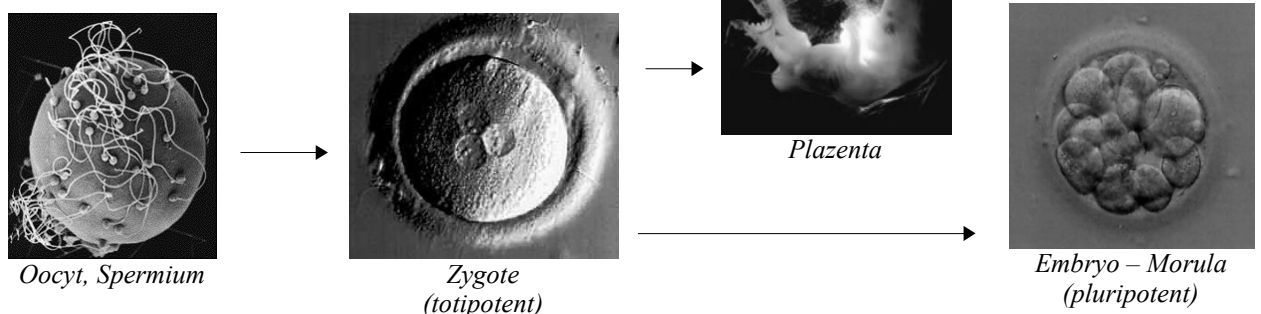
- Der Begriff Apoptose beschreibt den programmierten Zelltod von Eu- und Prokaryonten, während eine Nekrose die Folge eines chronischen Nährstoffmangels ist und entzündliche Begleiterscheinungen zeigt.
- Die Apoptose, die in einem gesunden Gewebe im Einklang mit der Mitose und damit der Neubildung von Gewebe steht, wird durch eine Hyperspiralisierung der DNA eingeleitet in deren Folge es zu einem Zerfall der Zelle in Vesikel kommt, die anschließend von Makrophagen aufgenommen werden.



- Die Erforschung apoptotischer Zusammenhänge wurde vorallem an *Coenorhabditis elegans*, einem Fadenwurm, durchgeführt. Von insgesamt 1000 embryonal veranlagten Zellen gehen 131 durch Apoptose verloren. 105 dieser 131 Zellen sind Nervenzellen, die anfangs eine Zahl von 463 bestritten.
- Beispiele von Apoptosen
  - Fingerbildung bei menschlichen Embryonen
  - Federbildung bei Vögeln
  - Die Müller'schen Gänge entwickeln sich bei ♀ zu Eileitern, während sie bei ♂ durch Apoptose verlorengehen.
  - Der menschliche Körper schützt sich vor Virusinfektionen und Autoimmunerkrankungen durch die gezielte Apoptose der betroffenen Zellen.
- Das in *Drosophila melanogaster* gefundene sogenannte *Hippo*-Gen regelt das Gleichgewicht von Apoptose und Mitose und verhindert auf diese Weise eine unkontrollierte Zellvermehrung.
- Kommt es zu einem Fehler während der DNA-Replikation so wird der Zellzyklus durch das vom Transkriptionsfaktor p53 freigesetzte Protein P21 für einen bestimmten Zeitraum gestoppt. Wird der Fehler während dieses Zeitraumes nicht behoben wird automatisch die Apoptose der Zelle eingeleitet. Von ced3 replektive ced4 codierte Cysteinproteasen, die auch Caspasen genannt werden und nach Asparagin schneiden, aktivieren DNAsen aus zymogenen Vorläuferproteinen, die anschließend intranukleosomale Stücke von 180 Basenpaaren Länge aus der DNA herausschneiden.
- Man unterscheidet jenachdem von wo der die Apoptose auslösende Reiz kommt zwischen einer *extrinsisch* und einer *intrinsisch* ausgelösten Apoptose.
  - Bei der extrinsisch ausgelösten Apoptose kommt es zunächst zu einer rezeptorvermittelten Aktivierung von Initiator- und Effektorcaspasen, die dann die Apoptose einleiten.
  - Die intrinsisch ausgelöste Apoptose erfolgt durch eine UV-induzierte Porenbildung in der Mitochondrienmembran, durch die intramitochondriales Cytochrom C in das Cytosol austritt, das sich dann mit einem speziellen Adaptorprotein zu dem die Apoptose auslösenden Apoptosom vereinigt.

## Stammzellen

- Stammzellen verfügen gegenüber normalen Körperzellen über ein hohes Entwicklungspotential, da sie wenig differenziert sind. Die Differenzierung einer Stammzelle zu einer somatischen Körperzelle ist induzierbar.
- Je nach Herkunft unterscheidet man nun zwischen sogenannten *embryonic germ eg* und *embryonic stemm es cells*.



- Während eine Zygote sich zu Zellen der Plazenta oder des Embryos differenzieren kann und daher als *totipotent* bezeichnet wird, können sich die Zellen des heranwachsenden Embryos nicht mehr zu Plazentazellen, sondern „nur“ noch zu Körperzellen differenzieren. Sie werden daher als *pluripotent* bezeichnet.
- Neben den embryonalen Stammzellen gibt es noch sogenannte adulte oder somatische Stammzellen, von denen man etwa 20 verschiedene Typen in ausgewachsenen Organen findet.
- Man kann embryonale Stammzellen entnehmen, verändern und anschließend wieder in den Embryo reimplantieren wo sie sich weiter vermehren.
  - So differenzieren sich embryonale Stammzellen unter Einwirkung von Retinonsäure zu Neuronen.
  - Murine, embryonale Stammzellen konnten zur Insulinbildung angeregt und als quasi-Langerhans'sche Inselzellen reimplantiert werden, wobei die krankhaft erhöhten Blutzuckerspiegel der betroffenen Mäuse gesenkt wurden.
  - Muskelstammzellen können in Stammzellen des blutbildenden Systems umgewandelt werden und vice versa.
  - Somatische Stammzellen aus dem Beckenboden konnten erfolgreich in die Herzkranzgefäße von Herzinfarktpatienten injiziert werden und nekrotisches Gewebe teilweise ersetzen.
- Der Begriff *therapeutisches Klonen* beschreibt die Entnahme von Zellkernen aus Zellen des Patienten, die dann in fremde, entkernte Oocyten verpflanzt und vermehrt werden. Auf diese Weise lassen sich Zellen unterschiedlichen Typs in großer Zahl gewinnen und dem Patienten bei bestehendem Mangel an entsprechenden Zellen injizieren. Die Frage nach dem Ursprung der Oocyten bringt ethische Gesichtspunkte mit sich, da bei der Verwendung tierischer Oocyten zwar das genetische Material des tierischen Zellkerns, nicht aber das der Mitochondrien verloren geht.
- Ein Problem des therapeutischen Klonens liegt in der häufig gestörten Funktion des Spindelapparates und der Genregulation, weshalb therapeutische Klonversuche in den meisten Fällen misslingen.