

Reverse Transkription

Vor Jahren wurde eine Gruppe von Viren entdeckt, die in Umkehrung des normalen Vorgangs RNA in DNA umschreiben. Inzwischen hat es den Anschein, daß dieses Rückschreiben auch bei anderen Viren und in vielen höheren Lebewesen vorkommt.

Von Harold Varmus

Das Erbmateriale praktisch aller Lebewesen besteht aus zwei zu einer Doppelhelix umeinander geschlungenen DNA-Strängen. Über zwei Prozesse steuern die in der Doppelhelix verschlüsselten Gene die Zellaktivität: die Transkription, bei der DNA-Abschnitte in RNA-Moleküle umgeschrieben werden, und die anschließende Translation, bei der die RNA-Moleküle nach dem in ihnen verschlüsselten Bauplan die Synthese von Proteinen veranlassen. Dieser Informationsfluß von der DNA über die RNA zum Protein ist die nahezu universelle Regel.

Wie bei jeder Regel gibt es auch hier jedoch Ausnahmen. Bei manchen Virusarten liegt das Erbmateriale nicht als DNA, sondern als RNA vor. Das Genom dieser Viren, die bei Pflanzen, Tieren und Bakterien vorkommen, kann aus Einzel- oder Doppelsträngen bestehen. Weil die Art der Informationsspeicherung und -übermittlung bei DNA und RNA im wesentlichen gleich ist, unterscheiden sich die Lebenszyklen von RNA- und DNA-Viren nur wenig voneinander; meist wird einfach die nicht benötigte Transkription von DNA in RNA ausgelassen.

Eine Untergruppe von RNA-Viren weicht allerdings noch etwas stärker von der obigen Regel ab: Die sogenannten Retroviren können RNA in DNA umschreiben. Tatsächlich besteht sogar die erste Aktion eines Retrovirus nach dem Eindringen in eine Zelle darin, eine DNA-Kopie seines RNA-Genoms anzufertigen (Bild 2). Dieses virale DNA-Molekül mischt sich dann unter die DNA der Zelle und setzt die Produktion neuer Viren in Gang.

Retroviren sind in der Natur weit verbreitet und können sehr unterschiedliche Erkrankungen hervorrufen – von Leukämie bei Mäusen und Hühnern bis zu Aids beim Menschen. Das charakteristische Merkmal dieser Viren – ihre Fähigkeit, RNA in DNA umzuschreiben – bezeichnet man als reverse Transkription.

Dieser gegenüber dem üblichen umgekehrte Prozeß wurde bereits vor 17 Jahren entdeckt. Etwa zehn Jahre lang hielt man ihn für eine Besonderheit der Retroviren und hat ihn daher nur bei diesen und den von ihnen befallenen Zellen untersucht. In jüngster Zeit aber haben Befunde aus vielen Forschungsgebieten deutlich gemacht, daß auch andere Viren eine reverse Transkription veranlassen können und daß dieser Vorgang sogar in normalen Zellen von Hefe, Insekten und Säugetieren auftritt. Dies mag viele bislang rätselhafte Beobachtungen erklären helfen, wirft zugleich aber viele neue Fragen auf.

Entdeckung bei Retroviren

Wie alle Viren dringen Retroviren in eine Zelle ein und veranlassen sie, die viralen Gene zu kopieren und zu exprimieren, so daß neue Viruspartikel mit RNA-Kernen und Proteinhüllen gebildet werden. Die meisten gewöhnlichen RNA-Viren vermehren sich nur kurze Zeit in einer infizierten Zelle, ehe diese abstirbt. Die Infektion durch ein Retrovirus ist dagegen dauerhafter und weniger schädlich für die Zelle. Daher werden oft große Mengen von Retroviren produziert, ohne daß die Zelle zugrunde geht.

Im Jahre 1970 fanden Howard M. Temin an der Universität von Wisconsin und David Baltimore am Massachusetts Institute of Technology (MIT) unabhängig voneinander ein bislang unbekanntes Enzym in bestimmten RNA-Viren, die nach einzelsträngigen RNA-Vorlägen doppelsträngige DNA-Moleküle aufbauen können. Das Enzym erhielt den Namen reverse Transkriptase, und die Viren, die darüber verfügen, wurden Retroviren genannt.

Bereits einige Jahre vorher hatte Temin die Auffassung vertreten, daß es sich bei der stabilen Form retroviraler Gene in einer infizierten Zelle nicht um RNA, sondern um DNA handle. Damals war jedoch noch kein Enzym bekannt, das RNA in DNA umzuschreiben vermochte. Die Entdeckung der reversen Transkriptase bestätigte Temins früheren Verdacht.

Anschließende Untersuchungen zeigten, daß die DNA-Abschrift der Retrovirus-Gene in die Chromosomen der Wirtszelle eingebaut wird. Von ihrem Platz im Wirtsgenom aus gibt sie – als sogenanntes Provirus – dann Anweisungen für die Produktion neuer Viren.

Diese ersten Ergebnisse weckten beträchtliches Interesse an dem merkwürdigen neuen Enzym. Inzwischen weiß man, wie es sich biochemisch verhält, unter welchen Bedingungen es aktiv ist und wie es auf eine Reihe von Substanzen reagiert. Beispielsweise zeigte sich, daß die reverse Transkriptase kurze RNA-Stücke als sogenannte Starter (*primer*) braucht, damit sie mit dem Umschreiben beginnen kann, und daß sie einige dieser Starter gewinnt, indem sie längere virale RNA-Stücke zerschneidet.

Diese frühen Untersuchungen lieferten indes noch keinerlei Anhaltspunkt dafür, daß die reverse Transkriptase auch über den Bereich der Retroviren hinaus von Bedeutung sein könnte. Die ersten Hinweise auf einen weiteren Wirkungskreis ergaben biochemische

Untersuchungen der von ihr synthetisierten retroviralen DNA in den späten siebziger Jahren. Damals wurde in dem Labor, in dem ich zusammen mit J. Michael Bishop an der medizinischen Fakultät der Universität von Kalifornien in San Francisco arbeitete, und im La-

bor von John M. Taylor am Institut für Krebsforschung in Philadelphia die Struktur dieser DNA nach und nach aufgeklärt.

Das Ergebnis war ziemlich unerwartet. Danach hatte die retrovirale DNA in ihrer gestreckten, doppelsträngigen

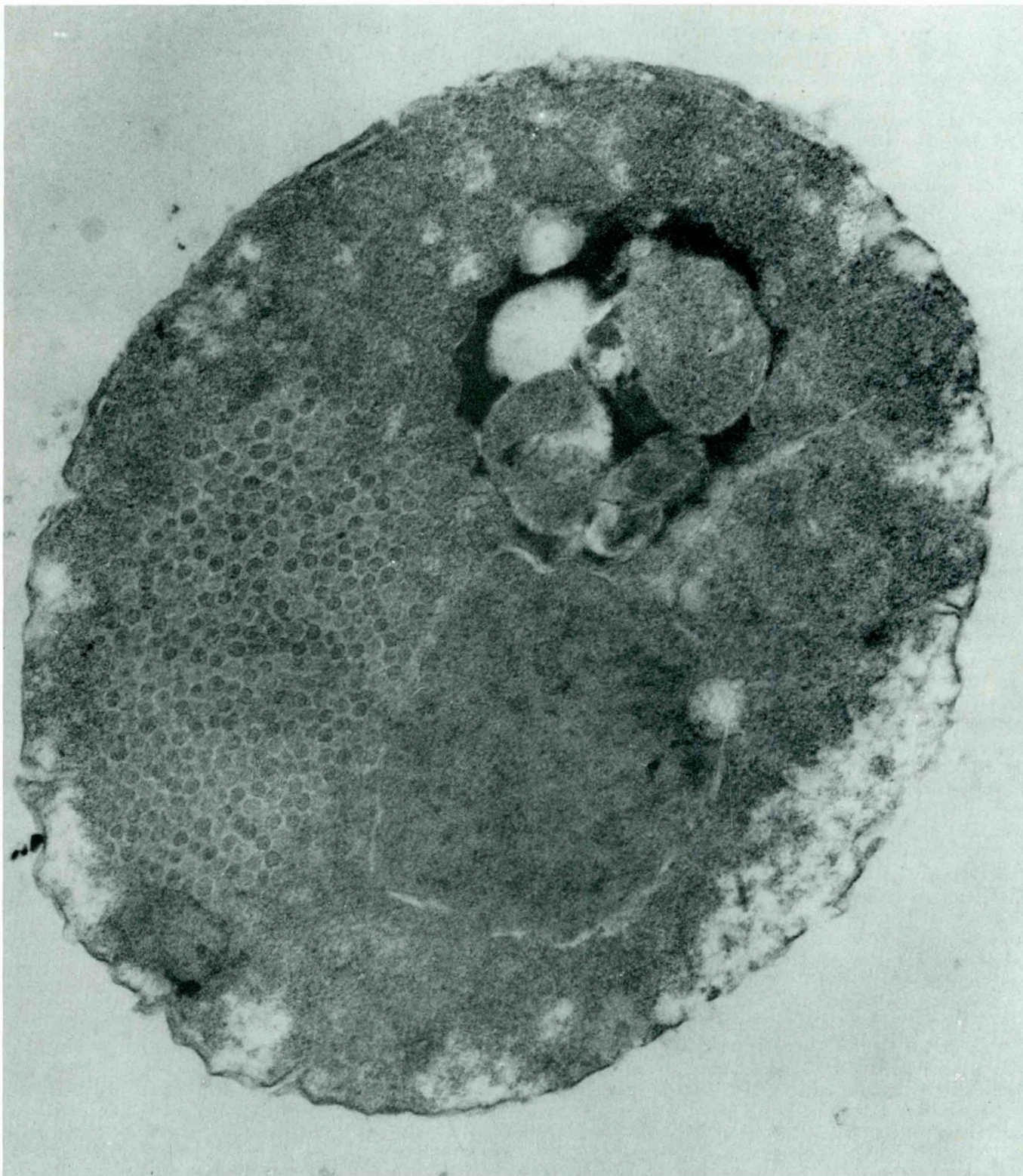


Bild 1: Kleine Körperchen in einer Hefezelle sind die Stellen, an denen eine reverse Transkription stattfindet: eine Rückschreibung von RNA in DNA. (Bei normaler Transkription wird DNA in RNA umgeschrieben.) Die

Körperchen (links) ähneln zwar Retrovirus-Partikeln, werden aber von genetischen Elementen in den Chromosomen der Zelle selbst erzeugt. Die neugebildete DNA wird ihrerseits wieder in die Chromosomen eingefügt.

Form an beiden Enden die gleichen Sequenzen: Die Abfolge der Nucleotide, der Glieder der DNA-Kette, war dort über einen mehrere hundert Nucleotide langen Bereich hinweg identisch. Diese Bereiche werden heute als LTRs bezeichnet, nach englisch *long terminal repeats* (lange sich wiederholende Endsequenzen).

Verräterische Endstücke

Die ersten Beschreibungen dieser Endstücke beruhten auf einer relativ groben Kartierung der wenigen aus infizierten Zellen isolierten viralen DNA-Kopien. Später führten mehrere Laboratorien, darunter auch mein eigenes, genaue Bestimmungen durch. Diese bestätigten, daß die langen sich wiederholenden Sequenzen an den beiden Enden eines DNA-Abschnittes wirklich Nucleotid für Nucleotid übereinstimmen. Zugleich zeigte sich, daß auch die beiden Enden eines einzelnen LTR über einige Nucleotide hinweg identisch sind, wenn man sie in entgegengesetzter Richtung liest. Sie werden daher als gegenläufige Wiederholungen (*inverted repeats*) bezeichnet.

Aus weiteren Sequenz-Bestimmungen ging hervor, daß die LTRs der integrierten DNA auch von zwei identischen kurzen Abschnitten der Wirts-DNA flankiert werden. Offensichtlich verdoppeln sich die Nucleotide des Wirts-Chromosoms an der Integrationsstelle beim Einfügen der viralen DNA, wobei die Originalsequenz dann an der einen und das Doppel an der anderen Seite der Virus-DNA sitzt.

Obwohl die Entdeckung der LTRs, gegenläufigen Wiederholungen und Verdoppelungen von Wirts-DNA wichtig für das Verständnis des Lebenszyklus von Retroviren war, hatte sie einen noch interessanteren Nebenaspekt. Die Analysen ergaben nämlich auffallende Ähnlichkeiten zwischen retroviraler DNA und bestimmten genetischen Elementen, die ein dauerhafter, aber beweglicher Bestandteil der Chromosomen aller oder der meisten Lebewesen sind und transponierbare Elemente, Transposons oder auch springende Gene genannt werden.

Man hat solche Transposons in Bakterien, Hefe, Pflanzen, Insekten und Wirbeltieren entdeckt und wegen ihrer bemerkenswerten Neigung, den Platz im Genom der Zelle zu wechseln, eingehend untersucht. Auch transponierbare Elemente haben gewöhnlich besondere Enden; bei vielen findet man LTRs, gegenläufige Wiederholungen und kurze Sequenzverdoppelungen an der Integrationsstelle.

Die so zutage getretene Verwandtschaft zwischen Proviren und transponierbaren Elementen legte den Verdacht nahe, daß die reverse Transkription Teil des Springmechanismus zumindest einiger Transposons ist. Darauf deuteten auch andere Indizien. In den Transposons von Hefe und Fliegen stimmen die gegenläufigen Wiederholungen sowie die Nucleotidsequenzen am Innenrand der LTRs weitgehend mit den entsprechenden Abschnitten in Proviren überein (Bild 5). Die Sequenzen an diesen Randabschnitten sind besonders wichtig, weil hier in der retroviralen DNA die Transkription beginnt und der Einbau in das Wirts-Chromosom stattfindet. Außerdem haben Computeranalysen der in Transposons verschlüsselten Proteine eine bemerkenswerte Ähnlichkeit zwischen diesen Genprodukten und den retroviralen Proteinen aufgedeckt, die für die reverse Transkription der Virus-RNA, die Integration der zugehörigen DNA in Chromosomen und die Weiterverarbeitung der frisch erzeugten viralen Proteine verantwortlich sind (Bild 6).

Retrotransposons

Das waren zwar aufregende Beobachtungen, aber noch fehlten überzeugende Beweise. Auf der Suche danach konzentrierten sich einige Wissenschaftler auf ein transponierbares Element namens *copia*, das in kultivierten Zellen von Fruchtfliegen vorliegt. 1981 fanden Andrew Flavell und David Ish-Horowicz vom Imperial Cancer Research Fund in London ein Verfahren, um nicht integrierte *copia*-DNA nachzuweisen.

Bei ihren Untersuchungen entdeckten sie, daß nicht integrierte *copia*-DNA ziemlich genauso aussieht wie nicht integrierte Retrovirus-DNA in frisch infizierten Zellen. Freilich mußte die freie *copia*-DNA nicht unbedingt durch reverse Transkription entstanden sein. Einen überzeugenderen Hinweis darauf, daß die reverse Transkription bei ihrer Bildung eine Rolle spielt, lieferten Untersuchungen zur Funktion eines transponierbaren Elementes der Hefe namens *Ty* (Bild 3).

Diese Experimente – sie wurden von Jef D. Boeke, David J. Garfinkel und

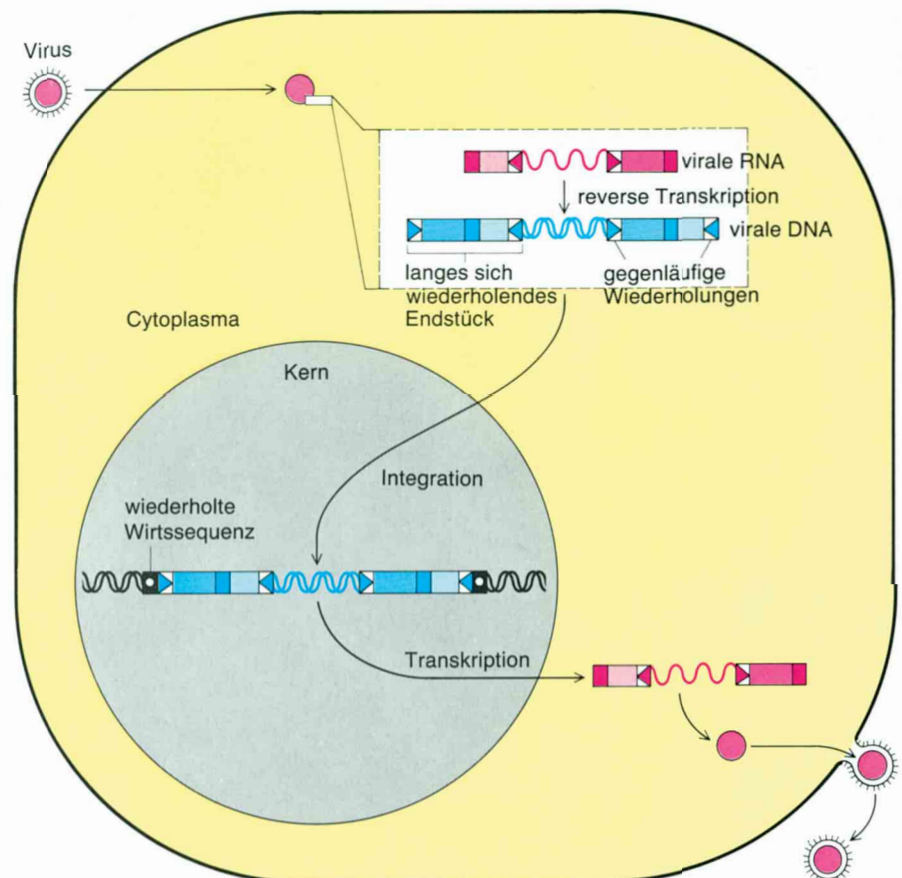


Bild 2: Der Infektionszyklus eines Retrovirus ist dadurch gekennzeichnet, daß zu Beginn RNA (rot) in DNA (blau) rückgeschrieben wird. Die dabei erzeugte DNA, die Gene für mehrere Proteine enthält, wird von identischen Abschnitten flankiert: sogenannten langen sich wiederholenden Endstücken (*long terminal repeats*). Diese sind ihrerseits von sogenannten gegenläufigen Wiederholungen (*inverted repeats*) eingeschlossen. Beim Einbau der Retrovirus-Gene in die Wirts-DNA verdoppelt sich auch die DNA-Sequenz des Wirtsgenoms an der Einfügestelle (grau). Nur ein Teil der Wiederholungen erscheint in der transkribierten RNA, die schließlich in eine Hülle aus viralen Proteinen verpackt wird.

nenannten gegenläufigen Wiederholungen (*inverted repeats*) eingeschlossen. Beim Einbau der Retrovirus-Gene in die Wirts-DNA verdoppelt sich auch die DNA-Sequenz des Wirtsgenoms an der Einfügestelle (grau). Nur ein Teil der Wiederholungen erscheint in der transkribierten RNA, die schließlich in eine Hülle aus viralen Proteinen verpackt wird.

Cora A. Styles in Gerald R. Finks Laboratorium am MIT durchgeführt – machten sich die Eigenschaften bestimmter genetischer Elemente zunutze, die man als Promotoren und Introns bezeichnet. Promotoren sind DNA-Sequenzen, welche die Expression benachbarter codierender Bereiche regulieren. Boeke, Garfinkel und Styles hängten an das Ty-Transposon einen Promotor an, der dessen Transkription verstärkte, wenn die Hefezellen mit einem Zucker namens Galaktose gefüttert wurden. Dadurch konnte über den Gehalt des Wachstumsmediums an Galaktose die Transkription von Ty gesteuert werden: Mit mehr Galaktose bildete sich mehr Ty-RNA und umgekehrt.

Boeke und seine Mitarbeiter veränderten nun den Galaktosegehalt im Medium der Hefe und prüften die modifizierten Zellen auf Anzeichen von Transpositionen. Dabei zeigte sich, daß die Häufigkeit eines Platzwechsels von der zugegebenen Galaktosemenge und somit von der Menge an erzeugter Ty-RNA abhängt. Offenbar also erforderte die Transposition von Ty-DNA ein RNA-Zwischenprodukt.

Dieser Schluß wurde durch Experimente erhärtet, bei denen die MIT-Forscher ein Intron in das umgebaute Ty-Element einfügten. Introns sind Abschnitte aus nichtcodierender DNA, mit denen die Gene höherer Organismen mehr oder weniger wahllos durchsetzt sind. Nach der Transkription eines Gens in RNA werden die von Introns abgeleiteten RNA-Abschnitte herausgeschnitten („gespleißt“), wobei ein zusammenhängender Strang aus „prozessierter“ Boten-RNA entsteht.

Boeke und seine Mitarbeiter stellten nun fest, daß das von ihnen in das Ty-Element eingefügte Intron in den transponierten Ty-DNA-Kopien fehlte. Irgendwann während des Platzwechsels mußte es also verlorengegangen sein. Die Spleiß-Enzyme, die Introns herauszuschneiden, können nur RNA und keine DNA spalten. Demnach mußte die transponierte Ty-DNA aus prozessierter RNA statt aus DNA hervorgegangen sein. Auf Grund der so nachgewiesenen Ähnlichkeit zwischen Proviren und transponierbaren Elementen wie dem Hefe-Ty wurde ein neuer Name für diese Elemente geprägt: Retrotransposons.

Endogene Proviren

Proviren haben auch in anderen Organismen ihre Visitenkarte hinterlassen. Beispielsweise enthalten die meisten normalen Wirbeltierzellen retrovirale Gene; bei bestimmten Arten,

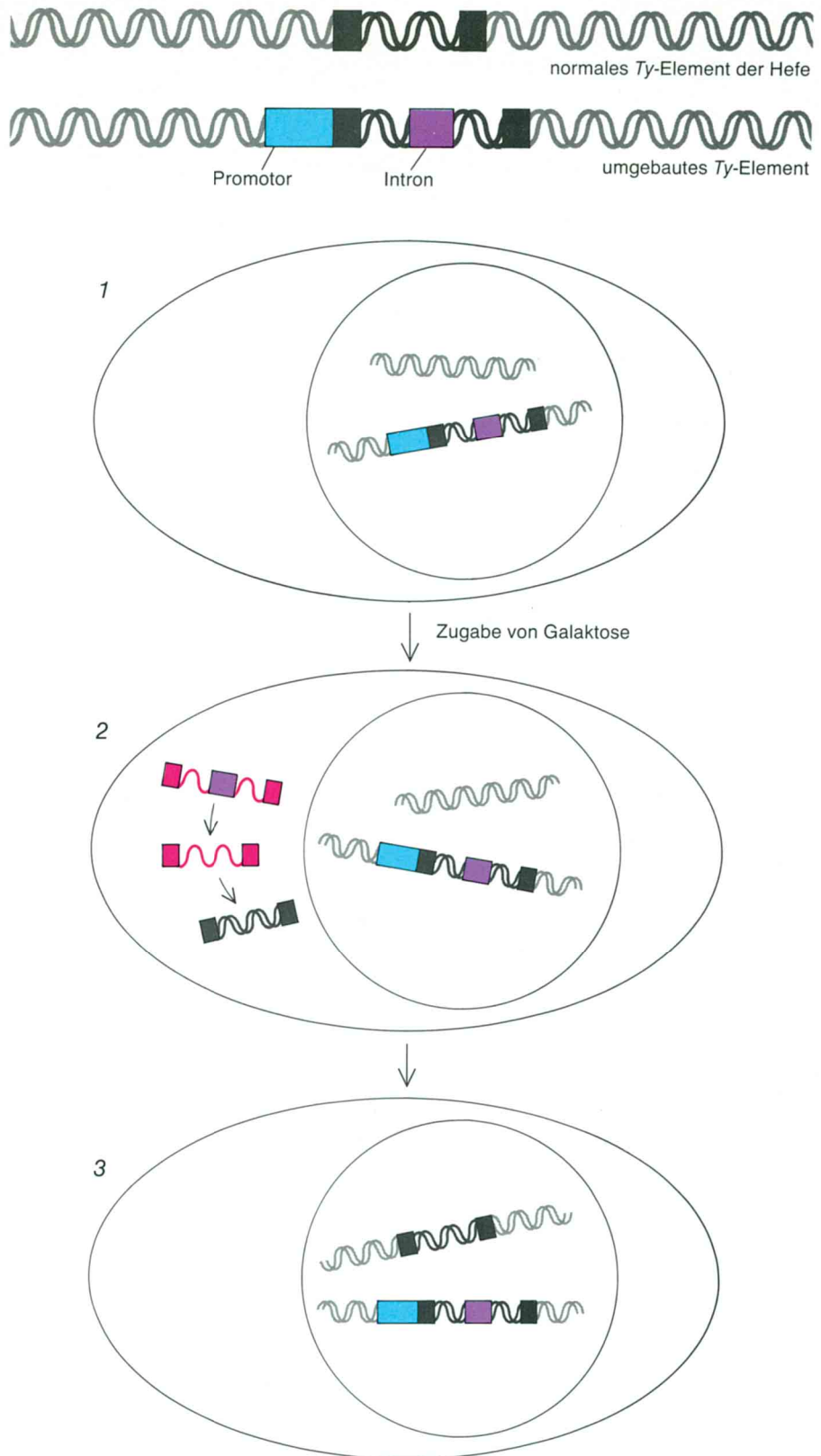


Bild 3: Untersuchungen an einem springenden Gen (Transposon) der Hefe namens Ty (dunkelgrau) haben gezeigt, daß bei seiner Transposition (dem „Springen“) von einem Chromosom zum anderen eine reverse Transkription stattfindet. Zunächst wurde Ty künstlich mit einem Galaktose-Promotor versehen, der bewirkt, daß die Transkription vom Galaktosegehalt im Kulturmedium abhängt. Dann wurde eine nicht codierende DNA-Sequenz (violett) eingesetzt: ein sogenanntes Intron, das bei der auf die Transkription folgenden Prozessierung

von der Zelle aus der transkribierten RNA herausgeschnitten wird. Schließlich wurden Hefezellen, die dieses umgebaute Ty enthielten, mit Galaktose gefüttert (1). Bei der anschließenden Suche nach transponierten Kopien des Ty-Elementes zeigte sich, daß ihre Zahl von der zugegebenen Galaktosemenge abhing und daß das Intron fehlte. Demnach muß das Element zunächst in RNA transkribiert und diese dann prozessiert und anschließend in DNA rückgeschrieben worden sein (2), bevor letztere in ein anderes Chromosom eingefügt wurde (3).

zu denen auch Maus und Mensch gehören, hat man sie in Hunderten oder gar Tausenden von Kopien gefunden.

Die Herkunft dieser endogenen Proviren ist unbekannt. Die meisten können keine infektiösen Viruspartikel bilden, und viele scheinen überhaupt kein funktionierendes Gen zu enthalten. Einige jedoch lassen Proteine mit Reverse-Transkriptase-Aktivität entstehen, und diese erstellen genau wie die Genprodukte der Retrotransposons von Hefe und Insekten neue DNA-Abschriften von RNA-Molekülen und fügen sie aufs Geratewohl in die Wirts-Chromosomen ein.

Dieser wahllose Einbau von DNA stellt für die betroffene Zelle eine ernste Bedrohung dar, weil dadurch oft entweder ein Gen auseinandergerissen und somit zerstört oder seine Expression beziehungsweise Aktivität geändert wird. Tatsächlich erzeugen viele Retroviren Tumoren, weil ihr Einbau in ein Chromosom ein normales zelluläres Gen übermäßig aktiviert und es dadurch in ein Onkogen, also ein Krebsgen, verwandelt.

Daß potentiell gefährliche fremde genetische Elemente in einem Genom existieren können, ist ziemlich merkwürdig. Warum werden sie nicht eliminiert? Und warum sind sie so zahlreich? Verschaffen sie dem Wirt irgendeinen Selektionsvorteil, oder überleben sie nur dadurch, daß sie normalerweise keine schädlichen Mutationen verursachen? Oder verfügt der Wirt vielleicht über einen Schutzmechanismus, mit dem er die Auswirkungen solcher Mutationen abfängt? Dies sind faszinierende Fragen, aber sie lassen sich experimentell nur sehr schwer angehen.

Während Wissenschaftler weiter daran arbeiten, haben Forschungen in den letzten fünf Jahren gezeigt, daß die Bedeutung der reversen Transkription noch größer ist als bisher angenommen. So wird inzwischen auch eine Reihe ungewöhnlicher Eigenschaften von DNA-Viren und Genen höherer Organismen mit ihr in Verbindung gebracht. Zwar weisen die Sequenzen dieser Viren und Zellen nicht alle wesentlichen Merkmale von Proviren auf; dennoch gibt es überzeugende Hinweise, daß auch hier eine reverse Transkription stattfindet.

Reverse Transkription bei DNA-Viren

Im Jahre 1982 wiesen William S. Mason und Jesse Summers vom Institut für Krebsforschung in Philadelphia nach, daß sich auch Hepatitis-B-Viren mittels reverser Transkription replizieren. Diese Viren, von denen eines ein

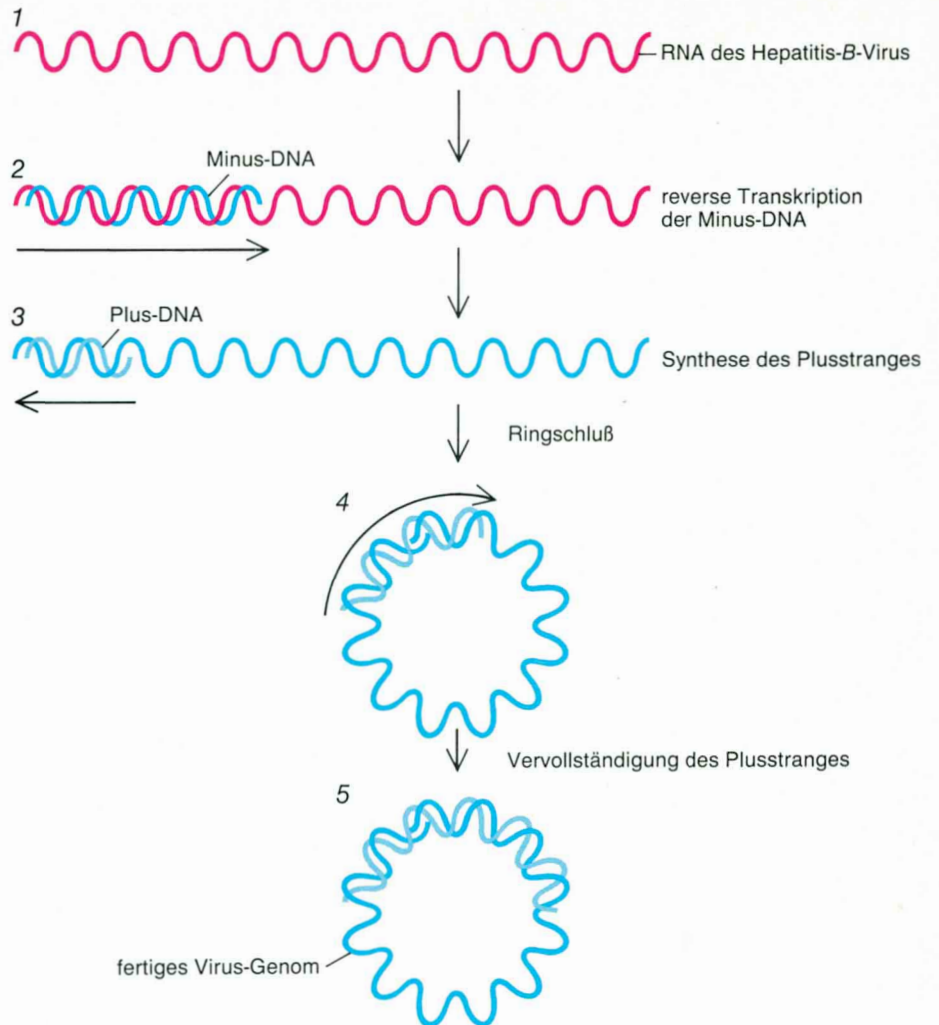


Bild 4: Wie die Synthese des Hepatitis-B-Virusgenoms zeigt, kann eine reverse Transkription auch im Infektionszyklus eines DNA-Virus auftreten. Das ringförmige Genom dieses Virus besteht aus zwei DNA-Strängen, die als Plus- (hellblau) und Minusstrang (dunkelblau) bezeichnet werden. Der längere Minusstrang

wird aus viraler RNA (rot) rückgeschrieben (1, 2). Danach beginnt nahe einem Ende des Minusstranges die Synthese des Plusstranges (3) und wird nach dem Ringschluß fortgesetzt (4). Im fertigen Hepatitis-B-Virusgenom (5) ist der Plusstrang unvollständig, während sich die Enden des Minusstranges überlappen.

gefürchteter Krankheitserreger beim Menschen ist, scheinen auf den ersten Blick nichts mit Retroviren gemein zu haben. Es handelt sich nicht einmal um RNA-Viren, vielmehr besteht ihr Genom aus einem ringförmigen DNA-Doppelstrang. Nun enthalten alle Zellen DNA-Polymerasen – Enzyme zum Kopieren von DNA –, die das Hepatitis-B-Virus für seine Replikation benutzen könnte. Warum sollte es den Umweg über ein RNA-Zwischenprodukt gehen?

Einen ersten Hinweis auf die Antwort gab die Struktur des Hepatitis-B-Genoms, dessen DNA-Ring sich als recht ungewöhnlich herausstellte. Keiner der beiden DNA-Stränge ist nämlich für sich allein zum Ring geschlossen, und der eine, der sogenannte Plusstrang, ist kürzer als der Minusstrang (Bild 4). An seinem einen Ende hängt ein RNA-Stück, während der Minusstrang in ei-

nem kurzen Proteinabschnitt endet. Ferner liegen, wie Mason und seine Mitarbeiter feststellten, in den vom Virus infizierten Leberzellen wesentlich mehr Minus- als Plusstränge vor.

Diese ungleiche Verteilung paßt nicht in das übliche Bild der DNA-Replikation, demzufolge die beiden Stränge der Doppelhelix gleichzeitig und im selben Verhältnis verdoppelt werden. Die reverse Transkription dagegen erlaubt eine Ungleichverteilung, weil die DNA-Stränge hier nacheinander entstehen: Der erste wird an einer einzelsträngigen RNA-Matrize hergestellt und der zweite dann vom ersten abgeschrieben.

Wenn sich das DNA-Genom des Hepatitis-B-Virus durch reverse Transkription verdoppeln soll, muß es natürlich zunächst in RNA transkribiert werden. Dies angenommen, fügen sich alle Stücke des Puzzles plötzlich zusam-

men. In der unterschiedlichen Struktur der beiden DNA-Stränge könnten sich die unterschiedlichen Matrizen widerspiegeln, nach deren Vorlage jeder einzelne Strang aufgebaut wird; und mit einer Verzögerung oder vorzeitigen Beendigung der Synthese ließe sich das Übergewicht des ersten gegenüber dem zweiten Strang erklären.

Der direkte Beweis für die Beteiligung einer reversen Transkription an der Replikation des Hepatitis-B-Virus war nicht leicht zu führen. Bis vor ganz kurzer Zeit ließen sich die Viren nämlich nicht in Zellkultur züchten, was herkömmliche Untersuchungen stark erschwerte. Aus diesem Grund isolierten Mason und Summers in ihrer entscheidenden Arbeit aus dem Jahre 1982 die Viruspartikel – genauer: unreife Partikel des Enten-Hepatitis-B-Virus – unmittelbar aus infiziertem Gewebe, nämlich Entenleber. Anschließend inkubierten sie die Partikel mit radioaktiv markierten DNA-Bausteinen. Diese wurden in jede von den Partikeln synthetisierte DNA eingebaut, so daß sich frisch gebildete DNA-Doppelstränge und RNA-DNA-Hybridstränge leicht anhand ihrer Radioaktivität erkennen ließen.

Wie Mason und Summers gehofft hatten, produzierten die isolierten Viruspartikel unter normalen Bedingungen sowohl Plus- als auch Minusstränge. Dann fügten die beiden Wissenschaftler Actinomycin D zu, ein Antibiotikum, das die Synthese an DNA-Matrizen blockiert. In seiner Gegenwart hörte die Bildung von Plussträngen auf, während die von Minussträngen jedoch weiterging. Offenbar wurden die Minusstränge also an einer RNA- und nicht an einer DNA-Matrize aufgebaut. Für diese Annahme sprach auch, daß neugebildete Minus-DNA-Stränge mit RNA gepaart waren (was aus ihrer Dichte hervorging, die gleich dem Mittelwert aus der Dichte von reiner DNA und reiner RNA war).

Eine weitere Bestätigung dafür, daß bei der Replikation des Hepatitis-B-Virus eine reverse Transkription stattfindet, erbrachten computer-unterstützte Analysen von Hepatitis-B- und retroviralen Proteinen, die Takashi Miyata und seine Mitarbeiter an der Kiuschu-Universität in Fukuoka durchführten. Dabei zeigten sich auffallende Ähnlichkeiten zwischen den retroviralen Enzymen und einem Protein bislang unbekannter Funktion, das von einem Gen des Hepatitis-B-Virus codiert wird.

Die meisten Virologen nehmen inzwischen an, daß es sich bei diesem Protein um eine reverse Transkriptase handelt, die allerdings etwas anders zu funktionieren scheint als das entspre-

chende Enzym aus Retroviren. Beispielsweise statet es die DNA nicht mit langen sich wiederholenden Enden aus, die es retroviraler DNA ermöglichen, sich in Wirts-Chromosomen zu integrieren.

Bald nach diesen revolutionären neuen Erkenntnissen über Hepatitis-B-Viren tauchten Anzeichen für eine reverse Transkription bei einem noch fernerem System auf: einem Pflanzenvirus namens Blumenkohl-Mosaikvirus (abgekürzt CaMV nach englisch *cauliflower mosaic virus*). Die Indizien sind hier nicht so lückenlos, aber dennoch überzeugend.

Wie das Genom des Hepatitis-B-Virus besteht auch das des Blumenkohl-Virus aus einem doppelsträngigen DNA-Ring. Bemerkenswerterweise ähneln die Sequenzen nahe der Initiationsstelle für die DNA-Synthese den analogen Stellen in den Genomen von Retroviren, an denen sich die Starter anheften. Außerdem erinnert ein großes Protein des Blumenkohl-Virus stark an die reversen Transkriptasen von Retro- und Hepatitis-B-Viren. Des weiteren konnten Roger Hull und Simon N. Covey vom John-Innes-Institut in Norwich (England) Zwischenprodukte der CaMV-Replikation charakterisieren, die den bei Retrovirus-Infektionen gefundenen entsprechen. Andere Wissen-

schaftler schließlich berichten über Reverse-Transkriptase-Aktivität in Verbindung mit CaMV-Partikeln.

Pseudogene

In den bisher erwähnten Beispielen scheint die reverse Transkription das Werk eines Enzyms zu sein, das von dem eindringenden Virus oder den von ihm beeinflussten genetischen Elementen stammt. Inzwischen aber sieht es so aus, daß auch andere, weniger spezialisierte Elemente von Säuger-Chromosomen auf eine reverse Transkription durch Enzyme ungewisser Herkunft zurückgehen. Diese überraschende Entdeckung ergab sich als Nebenprodukt von Versuchen, in Maus-Chromosomen jene Gene zu katalogisieren, in denen der Bauplan von bestimmten Blutproteinen – den Globinen – verschlüsselt ist.

Bei Wirbeltieren liegen die Globin-Gene gewöhnlich in mehreren Gruppen auf zwei Chromosomen, und die codierenden Bereiche sind jeweils durch zwei Introns unterbrochen. Als Aya und Philip Leder am National Institute of Child and Human Development der USA sowie Elio F. Vanin und Oliver Smithies an der Universität von Wisconsin in Madison mit Molekül-Sonden nach diesen Genen zu fahnden began-

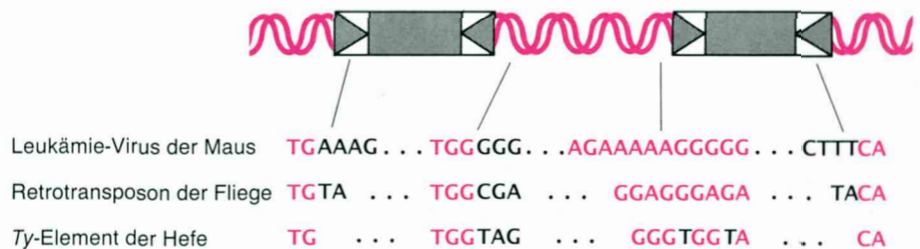


Bild 5: Die hier dargestellten Ähnlichkeiten in den DNA-Sequenzen eines Leukämie-Virus, eines Retrotransposons der Fliege und des Ty-Elementes der Hefe deuten auf einen gemeinsamen Ursprung hin. Die Buchstaben stehen für die vier in DNA enthaltenen Basen Adenin, Thymin, Guanin und Cytosin. Identische Basen in den gegenläufigen Wiederholungen

und in benachbarten Regionen sind rot dargestellt. Farblich sind auch Bereiche hervorgehoben, die praktisch nur die beiden strukturell ähnlichen Basen Adenin und Guanin enthalten. Die gegenläufige Wiederholung (TG...CA) läßt sich als solche nur schlecht erkennen, weil jeweils lediglich ein Strang gezeigt ist; der andere hat die DNA-Sequenz AC...GT.

Leukämie-Virus der Maus	P Q G F K N S P . . . FR . . . Y V D D L L L . . . KK . . . Y L G
Retrotransposon der Fliege	P F G L K N A P . . . LR . . . Y L D D I I V . . . DK . . . FL G
Ty-Element der Hefe	L Y E L K Q S G . . . VR . . . F V D D M V L . . . E K . . . N L G
Hepatitis-B-Virus	P M G V G L S P . . . VR . . . Y M D D V V L . . . N K . . . F M G
Blumenkohl-Mosaikvirus	P F G L K Q A P . . . FR . . . Y V D D I L V . . . KK . . . FL G

Bild 6: Auch die Aminosäuresequenzen eines Proteins des in Bild 5 erwähnten Retrovirus, der Retrotransposons von Fliege und Hefe sowie zweier DNA-Viren ähneln sich. Hier steht jeder Buchstabe für eine der 20 Aminosäuren,

aus denen Proteine aufgebaut sind. Übereinstimmende Aminosäuren sind rot, funktionell ähnliche hellrot dargestellt. Die Sequenzen wurden aus einem Gen abgeleitet, in dem das Enzym reverse Transkriptase verschlüsselt ist.

nen, entdeckten sie eine seltsame DNA-Sequenz, die zwar einem Globin-Gen ähnelte, aber einige wichtige Besonderheiten aufwies. So enthielt sie keine Introns und war durch Mutationen entsteht, die eine normale Translation in ein Protein unmöglich machten. Schließlich befand sie sich nicht auf einem der beiden Chromosomen, denen man die Globin-Gene zugeordnet hatte.

Eines der Modelle, die zur Erklärung dieses überraschenden Befundes vorgeschlagen wurden, beinhaltet eine reverse Transkription (Bild 7). Danach wäre prozessierte Globin-RNA zurückgeschrieben und die entstandene DNA-Kopie (in der die Introns fehlten) wahllos in das Mäuse-Genom eingefügt worden. Da diesem Gen der Promotor fehlte, der am richtigen Genort erst die Expression ermöglicht, wurde es auch nicht transkribiert. Ein nicht exprimiertes Gen aber unterliegt auch keinem Selektionsdruck, der die Verfälschung durch Mutationen verhindert.

Dieses Modell hat sich in den folgenden Jahren zunehmend erhärtet, als nach und nach weitere Beispiele von „prozessierten“ oder „Retropseudogenen“ auftauchten. Dabei fand man noch überzeugendere Indizien für eine reverse Transkription. So enthalten einige der Globin-Retropseudogene an einem Ende einen DNA-Abschnitt, in dem ein bestimmtes Nucleotid – das Adenosinmonophosphat – ständig wiederholt wird. In der Globin-DNA gibt es keine solche gleichförmige Sequenz, aber auf der Globin-Boten-RNA taucht sie als „Poly-A-Schwanz“ auf, der bei der Prozessierung angehängt wird. Dieser Schwanz im Retropseudogen ist somit ein besonders deutlicher Hinweis auf eine RNA als Vorläufer. Einige Retropseudogene weisen auch jene Verdoppelungen eines kurzen Wirts-DNA-Abschnitts auf, die für Proviren und Retrotransposons charakteristisch sind.

Eine Spur zu den ersten Lebensformen

Aus dem Nachweis der Retropseudogene ergab sich eine Reihe von Kriterien, anhand derer sich auch andere Produkte einer reversen Transkription erkennen lassen. In den vergangenen fünf Jahren wurden bei mehreren Klassen originärer DNA-Sequenzen von Säugerzellen Poly-A-Schwänze, Verdoppelungen von Wirtssequenzen und eine zufällige Anordnung auf den Chromosomen gefunden – alles Merkmale einer Rückschreibung aus RNA. Anders als das Globin-Retropseudogen enthalten die meisten dieser neuen „verstreuten Elemente“ allerdings kei-

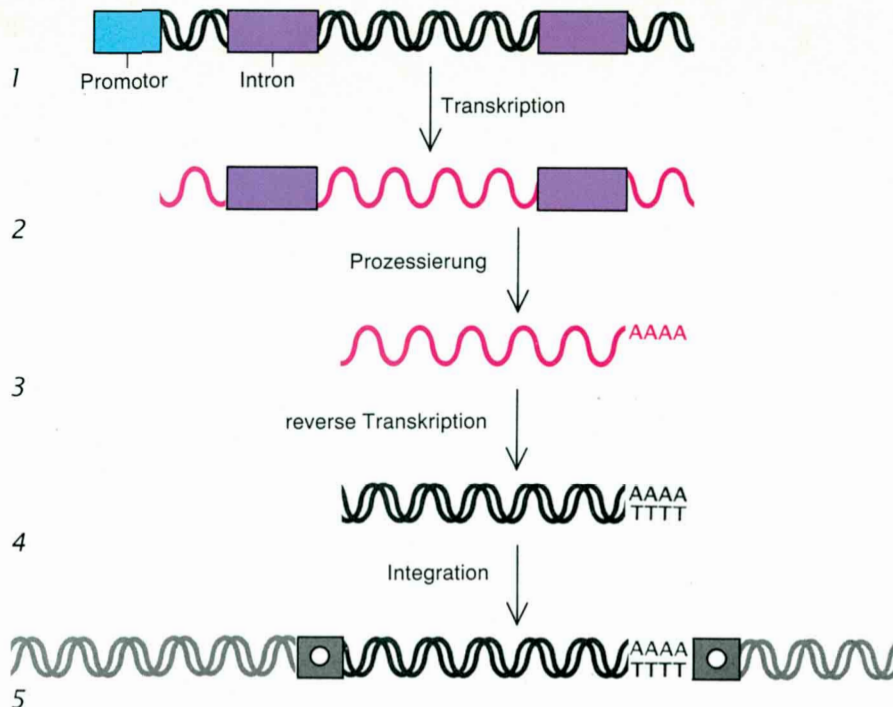


Bild 7: Ein Modell für die Transposition eines Globin-Gens soll das Auftreten anomaler Versionen jener Gene erklären, die den Bauplan für ein Blutprotein namens Globin enthalten. Bei Mäusen können diese Pseudo-Globin-Gene nicht exprimiert werden, weil ihnen ein Promotor fehlt; außerdem enthalten sie keine Introns und liegen verstreut auf verschiedenen Chromosomen. Normale Globin-Gene (1) werden zunächst in RNA transkribiert (2); aus

dieser werden bei der Prozessierung dann die Introns herausgeschnitten, und sie erhält einen „Schwanz“ aus mehreren Adenin-Molekülen (3). Das Transpositionsmodell erklärt die anomalen Globin-Gene mit der Annahme, daß die prozessierte RNA in DNA rückgeschrieben und diese dann aufs Geratewohl in das Mäuse-Genom integriert wird (5). Dafür spricht auch, daß Pseudo-Globin-Gene oft einen Adenin-Thymin-Schwanz aufweisen.

nen bekannten codierenden Bereich; auf einigen scheint jedoch das Enzym reverse Transkriptase ganz oder teilweise codiert zu sein.

Auf einem einzelnen Genom können Hunderte oder Tausende solcher Sequenzen liegen. Beim Menschen machen die Produkte der reversen Transkription – Retrotransposonen, endogene Proviren, Retropseudogene und andere verstreute Elemente – zusammen vielleicht bis zu zehn Prozent des Genoms aus.

Wenn der reversen Transkription bei der Bildung von Säugerzell-Genen tatsächlich eine so große Bedeutung zukommt, erheben sich viele Fragen. Woher stammt die reverse Transkriptase, die Retropseudogene und verstreute Elemente entstehen läßt? Welche Enzyme sind es, die bestimmte zelluläre RNA-Moleküle für die reverse Transkription auswählen und zurichten, und welche Enzyme sorgen für die Integration der neuen DNA ins Genom? Wie oft findet eine reverse Transkription in einer Zelle statt? Und warum schließlich zählt sie überhaupt zu deren normalem Funktionsrepertoire?

Die letzte Frage berührt den vielleicht spekulativsten Aspekt der For-

schungen über die reverse Transkription: die Suche nach dem evolutionären Ursprung der genetischen Information. Einige Biologen sind der Überzeugung, daß die RNA das erste Erbmateriale bildete und die DNA erst später die Informationsspeicherung übernahm (siehe „RNA“ von James E. Darnell jr. in Spektrum der Wissenschaft, Dezember 1985). Die Vielseitigkeit der RNA spricht jedenfalls für diese Auffassung: RNA kann Information speichern und wird ganz ähnlich wie DNA repliziert; anders als diese kann sie zudem direkt Proteine synthetisieren und sogar selbst als Enzym wirken (siehe „Die RNA als Enzym“ von Thomas R. Cech in Spektrum der Wissenschaft, Januar 1987).

Wenn die RNA irgendwann in der Geschichte des Lebens ihre Vorrangstellung an die DNA abgetreten hat, so muß es sozusagen einen Urmechanismus zur Informationsübertragung von RNA auf DNA gegeben haben. Die reverse Transkription könnte dieser Mechanismus sein. Was einst als exotische Besonderheit einer kleinen Gruppe abartiger Viren erschien, hilft also nun vielleicht, den Entwicklungsweg zu den heutigen DNA-dominierten Lebensformen zurückzuverfolgen.