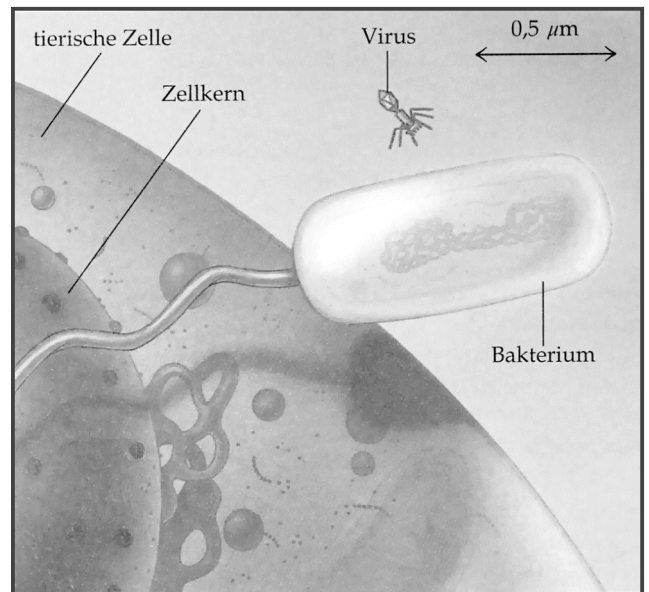


Mikroben als Modellsysteme: Die Genetik der Bakterien

1. Die kurze Generationszeit der Bakterien erleichtert ihre evolutionäre Anpassung an wechselnde Umweltbedingungen

Bakterien sind äußerst anpassungsfähig, sowohl im evolutionären Sinn der Anpassung durch natürliche Selektion als auch im physiologischen Sinne der Anpassung individueller Zellen an eine wechselnde Umwelt. Die folgenden Abschnitte über die Genetik der Bakterien sollen erklären, warum diese Mikroben so formbar sind.

Die Hauptkomponente des Bakteriengenoms ist ein doppelsträngiges, ringförmiges DNA-Molekül. Obwohl diese Struktur als bakterielles Chromosom bezeichnet wird, unterscheidet es sich sehr von den eukaryotischen Chromosomen, die aus linearen DNA-Molekülen bestehen und mit einer großen Anzahl von Proteinen vergesellschaftet sind. Im Falle des weitverbreiteten Darmbakteriums *E. coli* besteht das Chromosom aus ungefähr 4 Millionen Basenpaaren, die rund 3 000 Gene repräsentieren. Dies ist etwa 100mal mehr DNA als in einem typischen Virus, aber nur etwa ein Tausendstel der DNA einer durchschnittlichen eukaryotischen Zelle. Trotzdem ist es eine Menge DNA, die in einen so kleinen Behälter verpackt werden muss. Ausgestreckt hätte die DNA einer *E. coli*-Zelle eine Länge von einem Millimeter, sie wäre also rund 500mal länger als die Zelle. Im Bakterium ist das Chromosom jedoch so dicht gepackt, dass es nicht einmal die Zelle vollständig ausfüllt, sondern an die Struktur eines dichten Garnknäuels erinnert. Diese dichte Region, in der die DNA zusammengepackt ist, wird als Nucleoid bezeichnet-, ein Nucleoid ist nicht wie der Zellkern einer eukaryotischen Zelle mit einer Membran umgeben. Zusätzlich zu ihrem Chromosom besitzen manche Bakterien Plasmide - das sind kleinere DNA-Ringe. Jedes Plasmid trägt nur



relativ wenige Gene, maximal rund zwei Dutzend. Sie werden über die Struktur und Funktion von Plasmiden im nächsten Abschnitt hören.

Bakterien können sich unter guten Wachstumsbedingungen sehr schnell vermehren, sowohl an natürlichen Standorten als auch im Labor. Wird *E. coli* unter optimalen Bedingungen gezogen, so teilt sich jede Zelle alle 20 Minuten. Eine Kultur, die mit einer einzelnen Zelle beginnt, kann über Nacht (12 Stunden) eine Kolonie von 10^7 bis 10^8 Zellen produzieren. Auch die Vermehrungsraten im natürlichen Habitat, dem Darm der Säuger, sind beeindruckend. Im menschlichen Darm vermehrt sich *E. coli* so rasch, dass es täglich 2×10^{10} Nachkommen nachliefert, die mit dem Kot verloren gehen.

Da die Zweiteilung ein asexueller Vorgang ist - die Nachkommen entstehen aus einer einzigen Zelle - sind die meisten Bakterien einer Kolonie genetisch identisch mit ihren Eltern. Durch Mutationen unterscheiden sich einige Nachkommen allerdings doch etwas im Genotyp. Für ein Gen von *E. coli* ist die Wahrscheinlichkeit einer Mutation etwa 1×10^{-7} pro Zellteilung. Aber da täglich 2×10^{10} neue *E. coli*-Zellen im menschlichen Darm produziert werden, führen Mutationen zu 2 000 *E. coli* Mutanten für jedes Gen pro Tag. Betrachtet man alle 3000

E. coli-Gene, so beträgt die Gesamtzahl der mutierten Gene etwa sechs Millionen (3 000 x 2 000) pro Tag. Nun ist zwar jede neue Mutation für sich genommen sehr selten, aber sie leisten dennoch einen signifikanten Beitrag zur genetischen Diversität, weil die Vermehrungsraten wegen der kurzen Generationszeiten sehr groß sind. Diese Diversität wiederum beeinflusst die Evolution bakterieller Populationen: Individuelle Bakterien, die genetisch für eine bestimmte Umweltsituation gut ausgestattet sind, können sich schneller vermehren als solche, die weniger gut angepasst sind.

Fragen:

1. Bakterien sind wahrscheinlich die ersten Organismen, welche die Erde besiedelten. Sie gelten als die "primitivsten" Lebewesen.

Weshalb werden Bakterien auch als Prokaryonten bezeichnet? Warum sind sie immer noch auf dieser Erde anzutreffen, währenddessen andere Organismen schon längst ausgestorben sind?

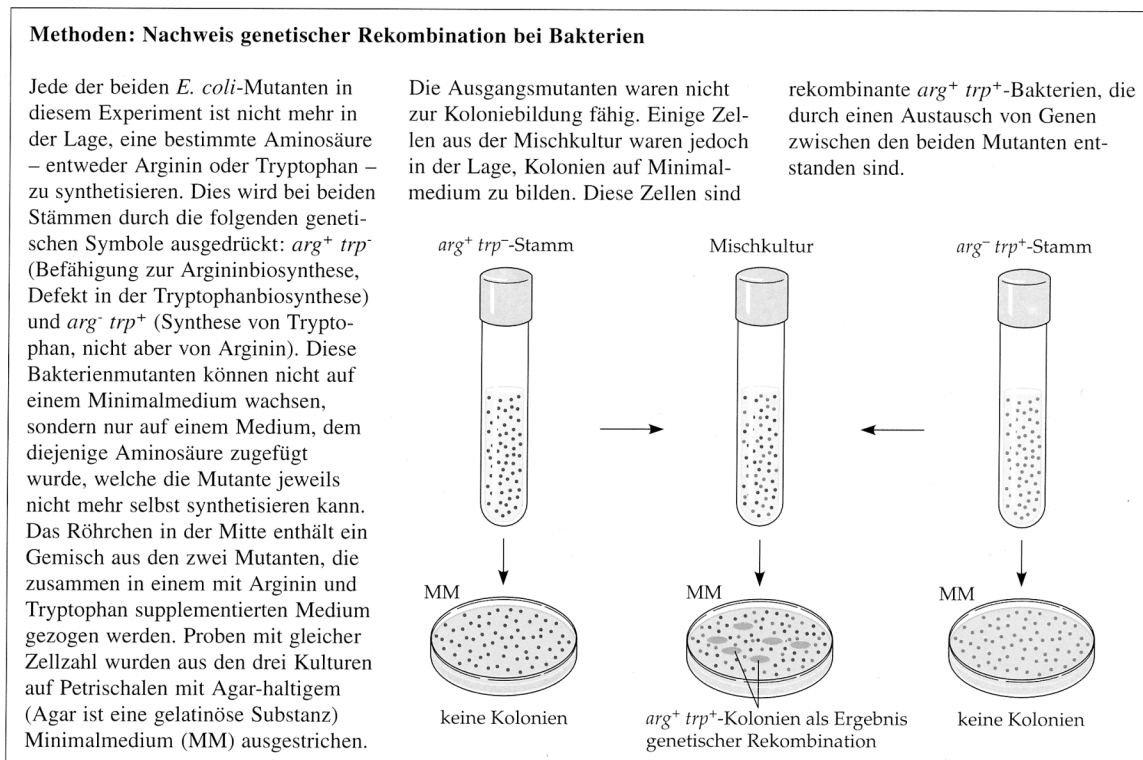
2. Durch Rekombination entstehen neue Bakterienstämme

Die natürliche Selektion hängt von der erblichen Variation der Individuen einer Population ab. Neben der Mutation trägt genetische Rekombination zur Diversität bakterieller Populationen bei. Wir wollen hier "Rekombination" als die Kombination genetischen Materials von zwei Individuen im Genom eines einzelnen Individuums definieren.

Fragen:

1. Studieren Sie die unten aufgeführten Methoden zum Nachweis genetischer Rekombination bei Bakterien.
Was wurde mit diesen Versuchen nachgewiesen?
2. *Wie hat der Austausch der Gene wahrscheinlich stattgefunden?*
3. *Worin unterscheidet sich der Vorgang der Rekombination der Bakterien von uns Menschen?*

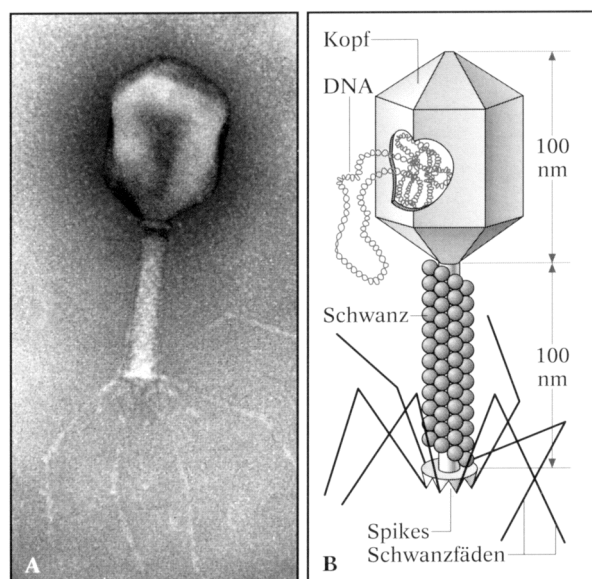
2.1 Transformation



Transformation ist die Veränderung des Genotyps einer Bakterienzelle durch die Aufnahme fremder, nackter DNA aus der Umgebung. Wie Sie früher gehört haben, können harmlose Bakterien der Art *Streptococcus pneumoniae*, die keine Schleimkapsel besitzen, durch Aufnahme nackter DNA aus einem Medium, welches tote Zellen des infektiösen Stammes mit Kapsel enthielt, zu Individuen transformiert werden, die Lungenentzündung hervorrufen. Diese Transformation ereignet sich, wenn lebende Zellen ohne Kapsel ein Stück DNA absorbieren, das zufälligerweise das Gen für die Produktion der schützenden Kapsel trägt. Das fremde Allel wird in das Bakterienchromosom eingebaut und ersetzt das dort befindliche Allel (für die kapselfreie Version) durch einen DNA-Austausch, der dem Crossing-over in der Meiose der Eukaryoten ähnelt. Die transformierte Zelle besitzt nun ein Chromosom, das DNA einer anderen Zelle enthält: dies entspricht unserer Definition von genetischer Rekombination.

2.2 Transduktion

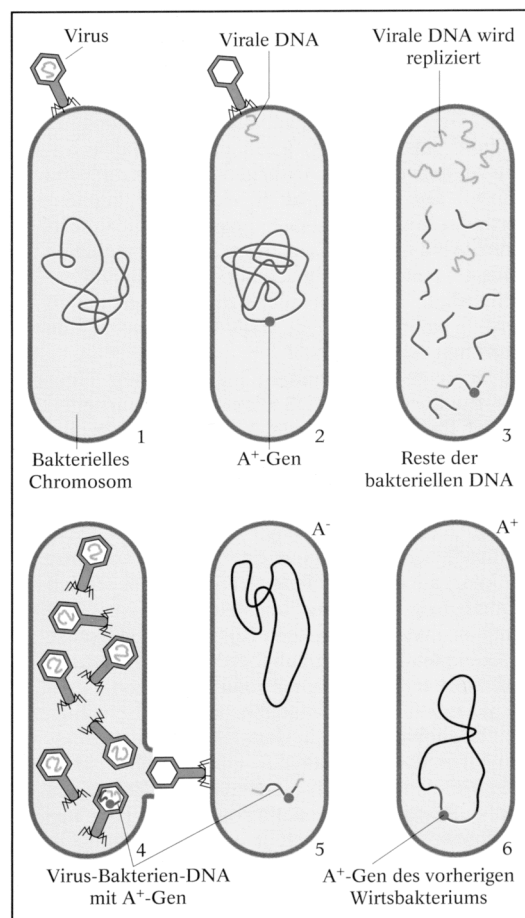
Eine Gruppe von Viren, die *Bakteriophagen* (kurz *Phagen* genannt) befällt Bakterien. Bringt man Phagen und Bakterien zusammen, so heften sich die Phagen an bestimmten Stellen der Zellwand an. Durch die Endplatte des



T-Phage. A EM-Aufnahme; B Schema

Schwanzstücks wird örtlich die Bakterienwand aufgelöst und durch das entstandene Loch die Nucleinsäure des Virus in die Bakterienzelle injiziert.

Bei dem als *Transduktion* bekannten Rekombinationsmechanismus transferieren Bakteriophagen Gene von einer Wirtszelle auf eine andere. Das Genom von Viren kann aus ein- oder doppelsträngiger DNA oder RNA bestehen. Bei den Bakteriophagen besteht es aus DNA. Hat ein Phage ein Bakterium infiziert, so muss er zur Erzeugung von Nachkommen seine DNA replizieren. Da das bakterielle Chromosom bei diesen Vorgängen in Bruchstücke zerfällt, kommt es vor, dass Teile davon in die virale DNA eingebaut werden. Ein Virus kann dadurch in den Besitz eines Bakteriengens kommen. Infiziert ein solches Virus dann eine andere Wirtszelle, wird das mitgenommene Bakteriengens in den neuen Wirt übertragen und zusammen mit der Prophagen-DNA ins Bakterienchromosom integriert. Dadurch werden Gene von einem Bakterium auf ein anderes übertragen. Eine solche Genübertragung wird



Prinzip der Transduktion

als Transduktion bezeichnet.

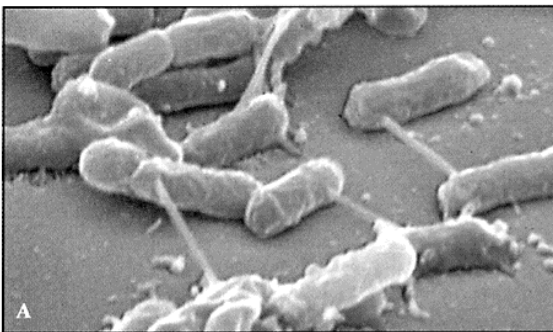
Man unterscheidet *allgemein transduzierende Phagen*, die jeden beliebigen DNA-Abschnitt des Bakterienchromosoms weitergeben können, von *spezialisiert transduzierenden Phagen*, die nur ganz bestimmte Chromosomenabschnitte des Wirtsbakteriums mitnehmen.

Fragen:

1. *Weshalb können Viren nicht als Lebewesen bezeichnet werden?*
2. *Welche Bedeutung könnten Viren in der Gentechnologie haben?*
3. *Wodurch unterscheidet sich das AIDS-Virus von einem Bakteriophagen?*

2.3 Konjugation und Plasmide

Konjugation ist der direkte Transfer genetischen Materials zwischen zwei Bakterienzellen, die sich vorübergehend verbunden haben. Der Mechanismus der genetischen Rekombination, die bakterielle Version von Sexualität, ist bei *E. coli* am genauesten erforscht. Der DNA-Transfer verläuft gerichtet: eine Zelle fungiert als Spender (Donor) der DNA und ihr "Partner" als Empfänger. Der DNA-Donor, als "männlicher" Partner bezeichnet, besitzt Zellfortsätze, die so-



genannten Sexpili (Singular Sexpilus) mit denen er den "weiblichen" Partner bindet. Dann bildet sich eine temporäre Cytoplasmabrücke zwischen den beiden Zellen aus, die für den DNA-Transfer genutzt wird. "Männlichkeit", die Befähigung Sexpili auszubilden und bei der Konjugation DNA zu spenden, hängt von der Anwesenheit eines speziellen Plasmids ab, das als "F-Plasmid" bezeichnet wird. Dies ist eines der verschiedenen Typen

von Plasmiden, die man in Bakterien entdeckt hat. Bevor wir uns näher mit der speziellen Aufgabe des F-Plasmids bei der Konjugation auseinandersetzen, sollten Sie über Plasmide im Allgemeinen informiert sein.

Fragen:

1. *Welche Unterschiede stellen Sie zwischen der "Sexualität" von Bakterien und derjenigen des Menschen fest?*
2. *Sie haben in den vorhergehenden Abschnitten drei Möglichkeiten der Rekombination bei Bakterien kennengelernt. Fassen Sie diese Möglichkeiten zusammen.*

Ein *Plasmid* ist ein kleines ringförmiges, vom Chromosom unabhängiges DNA-Molekül. Plasmide replizieren sich unabhängig, aber doch in etwa synchron mit dem Chromosom. Andere Plasmide replizieren nach ihrem eigenen Programm, und dies kann die Plasmidzahl in der Zelle zeitweise ändern.

Bestimmte Plasmide zeigen ein anderes interessantes Verhalten: Sie können sich reversibel in das Chromosom der Zelle einbauen. Solch ein genetisches Element, das sich wahlweise als extrachromosomales Molekül replizieren oder Teil des Hauptchromosoms sein kann, wird Episom genannt.

Jedes Plasmid trägt nur wenige Gene, und diese werden unter normalen Bedingungen nicht für das Überleben oder die Reproduktion des Bakteriums benötigt. Doch können die Plasmidgene von Vorteil sein, wenn die Bakterien in ungünstige Umweltbedingungen geraten. Das F-Plasmid ermöglicht Rekombination, die von Vorteil sein kann, wenn wechselnde Umweltbedingungen die existierenden Bakterienstämme einer Population nicht länger fördern.

Das F-Plasmid (F steht für Fertilität) enthält rund 25 Gene, die überwiegend für die Herstellung der Sexpili benötigt werden. Genetiker benutzen das Symbol F^+ für eine Zelle, die ein F-Plasmid enthält (eine "männliche" Zelle). Der F^+ -Zustand ist erblich: Das F-Plasmid repliziert sich synchron mit der chromosoma-

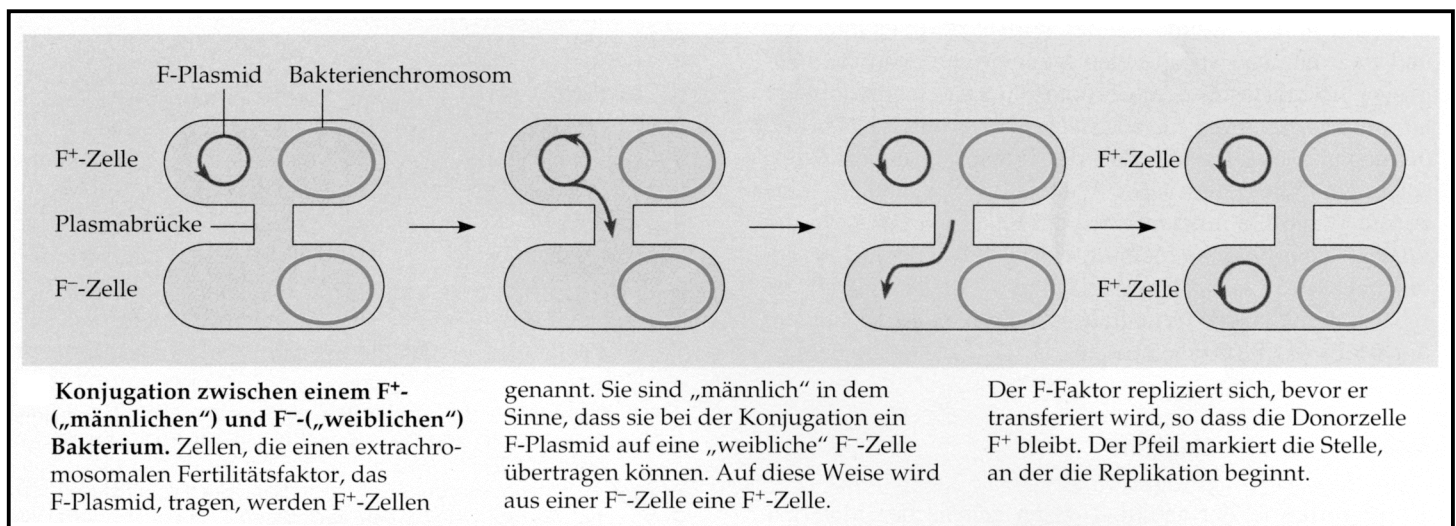
len DNA, und bei der Zellteilung einer F⁻-Zelle entstehen zwei Tochterzellen, die beide F⁻ sind. Zellen ohne F-Plasmid werden als F⁻ bezeichnet und fungieren bei der Konjugation als DNA-Empfänger ("weiblich"). Der F-Zustand ist in dem Sinne "ansteckend", dass eine F⁻-Zelle eine F⁻-Zelle in den F⁺-Zustand umwandeln kann, wenn die beiden Zellen konjugieren. Das F⁺-Plasmid repliziert sich in der "männlichen" Zelle, und eine Kopie des Plasmids wird durch die Konjugationsbrücke zwischen den beiden Zellen in die "weibliche" Zelle hinüberschoben (siehe Abbildung). In solch einer F⁺ x F⁻-Paarung wird ein F-Plasmid übertragen.

3. Antibiotika-Resistenz

R-Plasmide und Antibiotika-Resistenz
 In den Fünfziger Jahren bemerkten japanische Ärzte, dass einige Krankenhauspatienten an einer bakteriellen Dysenterie litten, die von schweren Durchfällen begleitet war und nicht durch Antibiotika geheilt werden konnte, die normalerweise bei dieser Art von Infektion wirksam waren. Anscheinend hatten bestimmte Stämme von Shigella, einem Pathogen, das bakterielle Dysenterie hervorruft, eine Resistenz gegen diese Antibiotika entwickelt. Viele Jahre später begannen Forscher die spezifischen Gene zu untersuchen, die nicht nur bei Shigella, sondern auch bei vielen anderen pathogenen Bakterien zur Antibiotika-Resistenz führen. Einige dieser Gene codieren Enzyme, die bestimmte Antibiotika selektiv zerstören, wie zum Beispiel Tetracyclin

oder Ampicillin. Die Gene für diese Resistenzen liegen jedoch nicht auf dem Chromosom, sondern auf einer speziellen Klasse von Plasmiden, die man als R-Plasmide bezeichnet (R steht für Resistenz).

Wird eine Bakterienpopulation mit einem bestimmten Antibiotikum behandelt - sei es nun im Labor oder innerhalb eines Wirts, zum Beispiel eines Menschen - so werden die gegenüber Antibiotika sensitiven Bakterien abgetötet, nicht aber diejenigen, welche ein R-Plasmid enthalten, das dieses Antibiotikum unschädlich machen kann. Nach der Evolutionstheorie sollte unter diesen Umständen eine zunehmende Zahl von Bakterien die Gene für Antibiotika-Resistenz besitzen, und genau dies passiert tatsächlich. Die medizinischen Konsequenzen sind ebenfalls vorhersagbar: Resistente pathogene Stämme verbreiten sich immer mehr und machen dadurch die Behandlung bestimmter bakterieller Infektionen immer schwieriger. Das Problem wird noch erschwert, indem die R-Plasmide, ähnlich den F-Plasmiden, über Konjugation von einer Zelle auf die andere übertragen werden können. Was dieses Problem aber wirklich brisant macht, ist die Tatsache, dass manche Plasmide bis zu zehn verschiedene Resistenzgene für verschiedene Antibiotika tragen können.



Fragen:

1. Gehen Sie in eine Apotheke und informieren Sie sich über die Wirkungsweise von Antibiotika. Weshalb sind diese Stoffe für uns Menschen in der Regel unschädlich?
2. Weshalb sind Antibiotikaresistenzen in Spitälern sehr häufig?
3. Weshalb darf eine Antibiotikumbehandlung nicht frühzeitig abgebrochen werden?

Neue Zürcher Zeitung

FORSCHUNG UND TECHNIK

Mittwoch, 04.02.1998

Antibiotikaresistente Keime

Alarmierende Studie aus Japan

Die Zahl der antibiotikaresistenten Bakterien ist in den letzten Jahren stark angestiegen. Waren in den USA 1975 gerade 2 Prozent der *Staphylococcus aureus*-Bakterien gegenüber dem Standard-Antibiotikum Methicillin resistent, sind es heute bereits 35 Prozent. Immerhin lassen sich solche resistenten Keime aber noch mit dem Breitspektrum-Antibiotikum Vancomycin erfolgreich behandeln. Im vergangenen Jahr trat dann aber das ein, was man schon lange befürchtet hatte: In einem japanischen Spital entdeckte man bei einem Knaben einen *S. aureus*-Stamm, der auf keines der heute verfügbaren Antibiotika mehr reagierte. Ähnliche Fälle sind unterdessen auch aus den USA gemeldet worden.

Ein Forscherteam hat sich jetzt die Mühe gemacht, die Verbreitung der Vancomycin-Resistenz in rund 200 japanischen Spitälern zu ermitteln. *S. aureus*-Stämme, die gegenüber sämtlichen Antibiotika unempfindlich waren, liessen sich keine auffinden. Doch als die Wissenschaftler die Kolonien der Methicillin-resistenten Stämme näher untersuchten, entdeckten sie, dass etwa jedes millionste Bakterium auf Vancomycin nicht mehr ansprach. In der Universitätsklinik in Tokio liessen sich solche «heteroresistenten» Keime in 20 Prozent der untersuchten Fälle nachweisen, in sieben anderen Universitätskliniken in etwa 9 Prozent der Fälle. In anderen Kliniken lag die Zahl bei etwa einem Prozent. Die Autoren der Studie vermuten, dass diese unterschwellige Resistenz die Vorstufe zur Totalresistenz darstellt: Werden diese Patienten nur lange genug mit Vancomycin behandelt, so dürften unempfindliche Keime selektioniert werden. Die Wissenschaftler plädieren dafür, den Einsatz von Vancomycin strikter zu regulieren. Gleichzeitig müssten aber auch Methoden entwickelt werden, mit denen sich solche resistenten Stämme möglichst rasch aufspüren lassen.

Quelle: The Lancet 350, 1644; 1670–1674 (1997).