



„Nähezu alle klassischen Probleme der Molekularbiologie sind entweder gelöst oder werden in den nächsten zehn Jahren gelöst“, schrieb Sydney Brenner 1963 in einem Brief an seinen Chef Max Perutz, den damaligen Leiter des *Laboratory of Molecular Biology* im englischen Cambridge. Und er führte weiter aus: „Ich denke, die Zukunft der Molekularbiologie liegt in der Ausweitung der Forschung auf andere Gebiete, vor allem das der Entwicklungsbiologie.“

Forscher ahnten, dass dieser ein Millimeter große Winzling Antworten auf grundsätzliche Fragen zur Entwicklung eines Organismus geben konnte – möglicherweise auch zu der des Menschen.

1969 stieß John Sulston zur Forschungsgruppe von Sydney Brenner. Zusammen mit dem Amerikaner Robert Horvitz verbrachte er Stunden am Mikroskop, um Hunderten von Würmern beim Heranwachsen zuzuschauen.

Im Menschen ist der Wurm drin – was ein kleiner Nematode über unsere Gene verrät

Die wesentlichen Arbeiten zur DNA-Verdopplung (Replikation) und ihrer Abschrift in die entsprechende Boten-RNA (Transkription) waren in den 1950er-Jahren an Bakterien und Viren durchgeführt worden. Brenner war auf der Suche nach einem Untersuchungsobjekt, das sich ebenso einfach handhaben lässt. Dabei stößt der damals 35-Jährige auf den **Fadenwurm *Caenorhabditis elegans***: „Wir benötigen einen vielzelligen Organismus, der eine kurze Generationszeit besitzt, sich einfach halten lässt und klein genug ist, damit man ihn in großer Zahl züchten kann wie einen Mikroorganismus. Er sollte relativ wenige Zellen besitzen, sodass man eingehende Untersuchungen zu **Zelllinien** und Teilungsmuster machen kann, und für genetische Analysen zugänglich sein.“

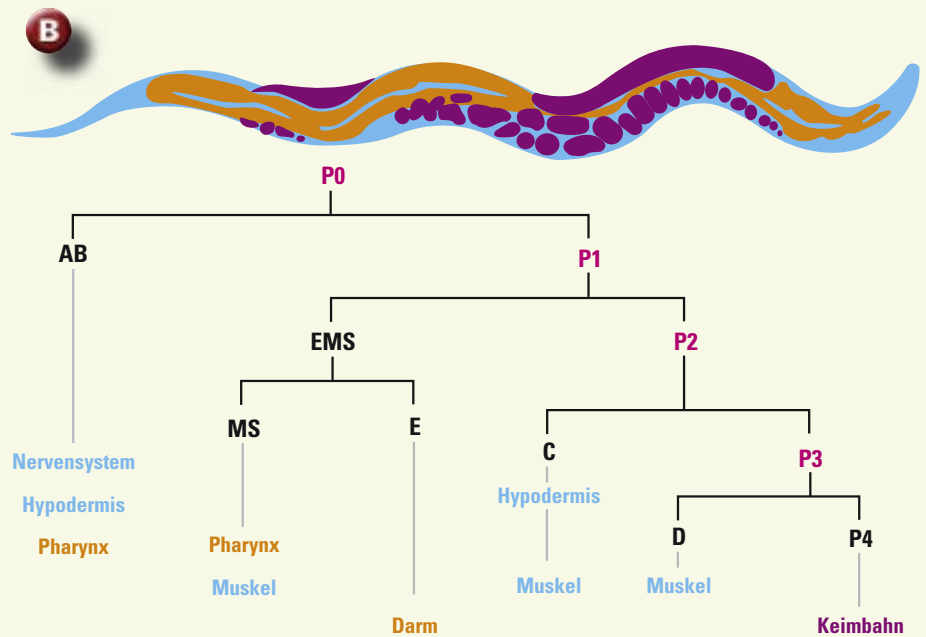
Tatsächlich besitzt der erwachsene *C. elegans* übersichtliche 959 Zellen. Er lebt normalerweise im Boden und ernährt sich dort von Mikroorganismen. Im Labor züchten ihn die Forscher auf einer mit *E. coli*-Bakterien besäten Agarplatte. Der sich selbst befruchtende Zwitter legt im Laufe seines Lebens, das nur zwei bis drei Wochen währt, an die 400 Eier. Es dauert knapp einen halben Tag (bei 25°C), bis sich aus einem befruchteten Ei eine Larve entwickelt hat und dann noch einmal weitere 40 Stunden, bis das Tier ausgewachsen ist. Da Eier und Larven durchsichtig sind, kann man jede einzelne Zelle und deren Teilungen live unter dem Mikroskop mitverfolgen. Die

In mühevoller Kleinarbeit dokumentierten die beiden Wissenschaftler in Handzeichnungen jede einzelne Zelllinie (heutzutage werden die Zellteilungen am 4D-Mikroskop mit einer computergesteuerten Kamera aufgenommen und die Zelllinien mit entsprechender Software halbautomatisch erfasst). Heraus kam schließlich ein Stammbaum, der die Herkunft jeder einzelnen Zelle des Wurms



► Der Fadenwurm *Caenorhabditis elegans* – hier eine elektronenmikroskopische Aufnahme des 1 mm großen Bodennematoden.

► Der frühe Zelllinienstammbaum von *C. elegans*. Während der ersten vier Zellteilungsrunden bilden die stammzellartigen P-Zellen die somatischen Gründerzellen, aus denen dann die unterschiedlichen Gewebe des Embryos entstehen.



→ beschreibt. Die Zellentwicklung ist derart festgelegt, dass man schon nach den ersten **Zellteilungen** sagen kann, aus welcher der Verdauungstrakt oder die Fortpflanzungsorgane entwickeln werden. Entwicklungsbiologen bezeichnen dieses Phänomen als **Zellkonstanz**.

Die **Embryogenese (Abb. B)** beginnt mit einer asymmetrischen Teilung der befruchteten Eizelle, der Zygote (P0). Dabei entsteht die sogenannte Gründerzelle (AB), aus der sich später Hautzellen, Nervenzellen und Teile des Verdauungstraktes ableiten. Die stammzellartigen P-Zellen (P1, P2, P3) formen dann in weiteren asymmetrischen Teilungen die Gründerzellen für Muskeln und Schlund (MS), den Darm (E) sowie Haut und Muskel (C und D). Die P4-Zelle, die letzte der P-Zellen, ist der Vorläufer der Keimbahn. In diesem Stadium hat der Embryo 24 Zellen und die Gastrulation beginnt. Die Zellen teilen sich

weiter, sodass die schlüpfende Larve genau 558 Zellen besitzt (**Abb. C**). Beim ausgewachsenen Wurm bilden schließlich 330 Zellen einen Haut- und Muskelschlauch, in dem sich an die 300 Nervenzellen, etwa 140 Zellen des Verdauungstraktes und weitere 140 Zellen der Geschlechtsorgane befinden.

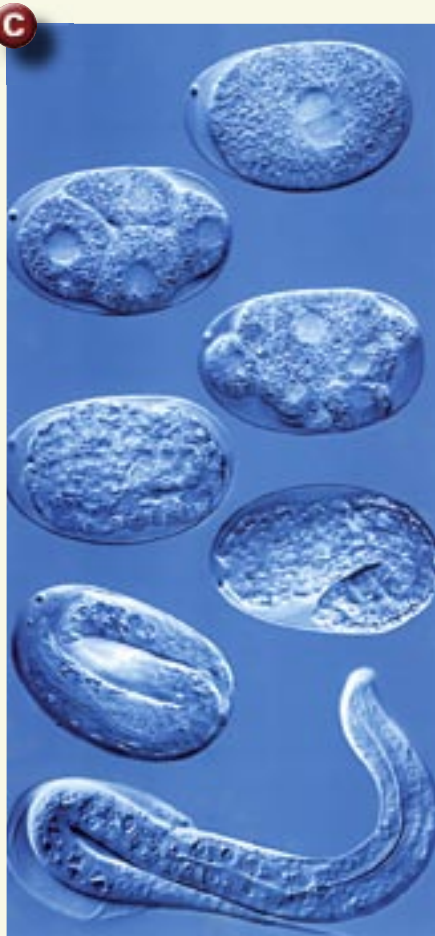
ZELLEN AUSGESCHALTET

Im Verlauf dieser Entwicklung sind weitere 131 Zellen durch ein genetisch gesteuertes Selbstmordprogramm, den **programmierten Zelltod** (Apoptose) wieder aus dem Embryo entfernt worden. Die aus dem Griechischen stammende Bezeichnung „Apoptose“ steht für das Fallen der Blätter im Herbst – sie passt besonders gut, beschreibt sie doch das Absterben einzelner Zellen zum Wohle des Gesamtorganismus. Dieser erstmals im Fadenwurm beschriebene Mechanismus ist auch beim Menschen gegenwärtig: Denn um ein Gleichgewicht zwischen den Milliarden von neuen Zellen zu schaffen, die täglich in unserem Körper gebildet werden, müssen andere Zellen ständig reguliert absterben. Tun sie das nicht, findet unkontrolliertes, nicht balanciertes Zellwachstum statt – Krebs entsteht. Der programmierte Zelltod sorgt ebenso dafür, dass Zellen des Immunsystems nur eine begrenzte Haltbarkeit haben, sonst

würden Abwehrzellen, die etwa eine Grippe bekämpfen, auch nach der Infektion weiter ihre Abwehrgifte produzieren. Der Zelltod stellt sicher, dass mit der Krankheit auch die Aufrüstung beendet wird.

Die zentrale Frage, die sich die Wissenschaftler stellten, war jedoch: Welche Gene kontrollieren das Zellteilungsprogramm eines Lebewesens? Warum entsteht aus einer einzigen Zelle, der Eizelle, in dem einen Fall ein Wurm mit 959 Zellen, im anderen ein Mensch mit 100.000.000.000.000 (sprich hundert Billionen) Zellen? 1998 gelang es der Arbeitsgruppe von John Sulston, das Erbgut von *C. elegans* aufzuklären. Damit hielten die Forscher zum ersten Mal den vollständigen genetischen Bauplan eines Tieres in den Händen. Die Entschlüsselung der hundert Millionen Buchstaben des Wurm-Genoms war gleichzeitig auch der Probelauf für die Entschlüsselung des 30-mal größeren menschlichen Erbguts. Brenner, Sulston und Horvitz erhielten für ihre Arbeiten 2002 den Medizin-Nobelpreis. „Wie Gene die komplexen Strukturen in höheren Organismen festlegen, ist ein ungelöstes Problem der Biologie“, hatte Sydney Brenner 1974 in einer Abhandlung zur „Genetik von *Caenorhabditis elegans*“ geschrieben. In seinem Festvortrag anlässlich der Verleihung des Nobelpreises stellte er fest, dass dies auch fast 30 Jahre später noch der Fall ist.

◀ **Lichtmikroskopische Darstellung der Embryogenese von *C. elegans*.** Gezeigt sind sieben Stadien von der Zygote (oben) über das 4-Zell- und 12-Zellstadium, das Bohnenstadium (Mitte), in dem alle 558 Zellen des Embryos vorhanden sind, bis hin zur Morphogenese (Gestaltbildung). Die Larve schlüpft aus dem Ei, das etwa ein zwanzigstel Millimeter lang ist.

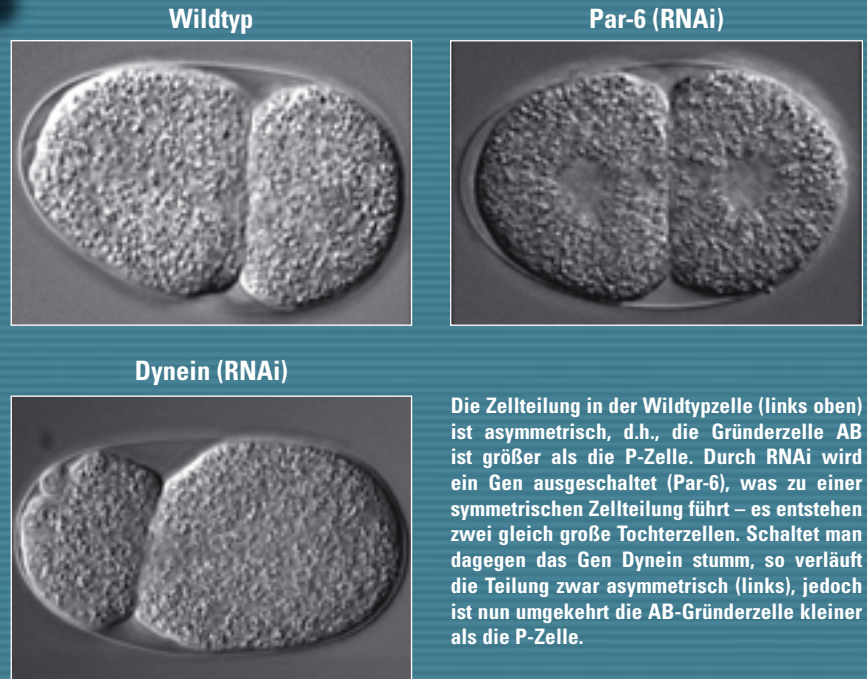


wurm-Spezialisten. Anthony Hyman ist einer von ihnen. Der Direktor am Max-Planck-Institut für molekulare Zellbiologie und Genetik in Dresden möchte herausfinden, was in den ersten Momenten des Lebens passiert, wenn ein mehrzelliger Organismus entsteht. „Die große Herausforderung des postgenomischen Zeitalters ist es, die Aufgaben einzelner Gene zu bestimmen und deren komplexe Zusammenhänge aufzuzeigen“, erklärt der Zellbiologe. Denn mit dem Genom allein ist wenig anzufangen, „wir können es zwar in Form von Buchstaben abdrucken, aber noch verstehen wir die Grammatik dieses riesigen Textes nicht“.

GENE STUMM GESCHALTET

Welche der etwas mehr als 19.000 Gene steuern die ersten Zyklen der Zellteilung bei *C. elegans*? Um das herauszufinden, müssen letztlich alle Gene auf ihren möglichen Beitrag zu den ersten zwei Zellteilungen nach der Befruchtung getestet werden. Also beschlossen Hyman und seine Mitarbeiter, in 19.000 Einzelexperimenten jeweils ein Gen auszuschalten und dann die Entwicklung des Embryos mit einer an das Mikroskop angeschlossenen Kamera aufzuzeichnen – und zwar solange, bis er etwa eine halbe Stunde später das Vierzellstadium erreicht hatte. Da für jedes Gen mehrere Embryonen untersucht wurden, entstanden insgesamt 40.000 Filmaufnahmen, die die Wissenschaftler nach bestimmten Kriterien analysierten: Dazu gehörten Ei-Größe und -Form, der Zytoplasmafluss, die Zahl und Wanderung der Vorkerne (Pronuclei), der Aufbau der Zellteilungsspindel und ihre Positionierung, die Anordnung der Spindelpole, die Bildung der Zellteilungsfurche, Größe und Form der Zellkerne in den Tochterzellen und so weiter – insgesamt 45 verschiedene Kriterien umfasste der Katalog der Wissenschaftler (<http://www.worm.mpi-cbg.de/phenobank2/cgi-bin/DefectMapPage.py>).

D

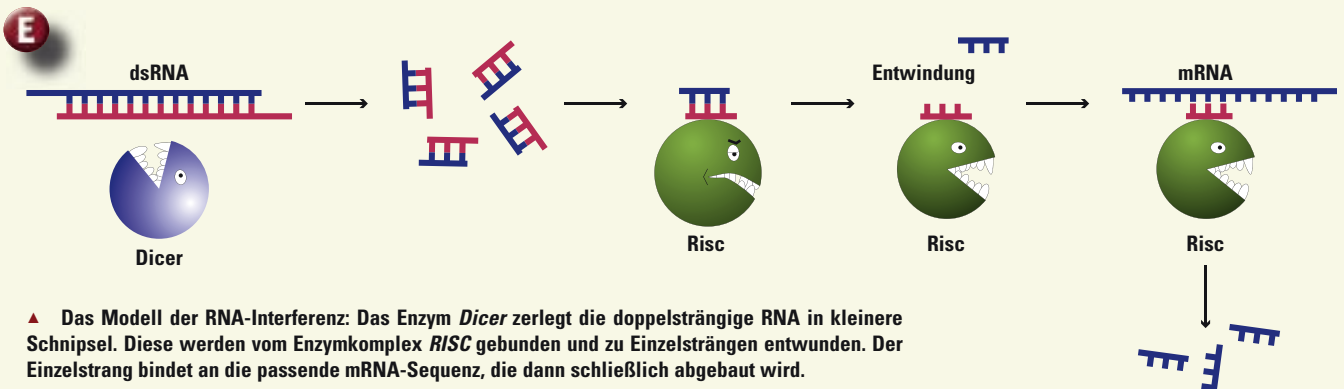


Die Zellteilung in der Wildtypzelle (links oben) ist asymmetrisch, d.h., die Gründerzelle AB ist größer als die P-Zelle. Durch RNAi wird ein Gen ausgeschaltet (Par-6), was zu einer symmetrischen Zellteilung führt – es entstehen zwei gleich große Tochterzellen. Schaltet man dagegen das Gen Dynein stumm, so verläuft die Teilung zwar asymmetrisch (links), jedoch ist nun umgekehrt die AB-Gründerzelle kleiner als die P-Zelle.

Doch wie können die Zellbiologen überhaupt einzelne Gene gezielt ausschalten? Normalerweise wird im Zellkern, wenn ein bestimmtes Protein hergestellt werden soll, zunächst eine Abschrift des entsprechenden Gens angefertigt. Man bezeichnet diesen Prozess als Transkription. Dabei entsteht eine einzelsträngige **Boten- oder mRNA**, mit der entgegengesetzten homologen Basenabfolge. Die mRNA wandert zu den Proteinfabriken der Zelle, den Ribosomen, wo sie abgelesen wird und ihrer Bauanleitung folgend die Proteine entstehen. Schon Ende der 1980er-Jahre hatte man bei Pflanzen beobachtet, dass die mRNA – noch ganz kurz vor dem Ablesen – durch ein homologes RNA-Stückchen abgefangen werden kann: Diese einzelsträngige *antisense-RNA* paart sich dabei mit der passenden mRNA zu einem funktionslosen Doppelstrang. Das Protein

kann nicht mehr hergestellt werden, das Gen wird quasi stumm geschaltet. Forscher sprechen deshalb auch vom *gene silencing*.

Die beiden Amerikaner Andrew Fire und Craig Mello fanden heraus, dass es sich beim *gene silencing*, auch „**RNA-Interferenz**“ (RNAi) genannt, nicht um eine Absonderlichkeit im Stoffwechsel pflanzlicher Zellen handelt, sondern um einen grundlegenden Mechanismus der Gen-Regulation. 2006 wurden sie dafür mit dem Nobelpreis für Medizin ausgezeichnet. Und wieder war es der kleine Laborwurm *C. elegans*, der den Forschern weiterhalf: An ihm konnten Craig und Mello zeigen, dass nicht einzelsträngige, sondern doppelsträngige RNA-Schnipsel die sequenzgleiche Boten-RNA in den Wurmezellen blockieren (**Abb. E**). Ein zellulärer Häcksler, das Enzym *Dicer*, zerlegt diese **doppel-** →



▲ Das Modell der RNA-Interferenz: Das Enzym *Dicer* zerlegt die doppelsträngige RNA in kleinere Schnipsel. Diese werden vom Enzymkomplex *RISC* gebunden und zu Einzelsträngen entwunden. Der Einzelstrang bindet an die passende mRNA-Sequenz, die dann schließlich abgebaut wird.

WAS GIBT ES NEUES ÜBER RNA?

Orientiert man sich an der Trefferzahl in Google ist DNA gut viermal bedeutender als RNA. Das könnte sich aber in Zukunft ändern. 1,5 Prozent der drei Milliarden Buchstaben des menschlichen Genoms kodieren für Proteinstrukturen, die restlichen 98,5 Prozent wurden bisher als Schrott-DNA bezeichnet, da sie vermeintlich funktionslos waren. Niemand wusste, was diese Buchstaben bedeuten. Jüngste Forschungsarbeiten weisen jedoch darauf hin, dass diese DNA-Abschnitte für RNA-Moleküle kodieren, die vielfältige regulatorische Aufgaben erfüllen. Es könnte an eben diesem

Netzwerk von RNA-Signalen liegen, dass der Mensch eine weitaus größere strukturelle Komplexität erreicht als beispielsweise der Fadenwurm – denn mit geschätzten 20.000 bis 25.000 Genen besitzen wir tatsächlich nicht viel mehr Gene als *Caenorhabditis elegans*. Dagegen wächst genau der Anteil der Sequenzen, die nicht für Proteine kodieren, mit der Komplexität der Organismen. In diesen Sequenzen müssen die Architekturinformationen stecken, die dafür sorgen, dass aus einer befruchteten Eizelle kein Wurm, sondern eben ein Kerl wie Arnold Schwarzenegger wird.

→ **strängigen RNA-Moleküle** in kleinere Schnipsel aus etwa 20 Nukleotidbausteinen. Diese Schnipsel werden dann von einem Komplex aus verschiedenen Enzymen (*RISC*) aufgenommen, in Einzelstränge zerlegt und mit der entsprechenden Boten-RNA gepaart. Der funktionslose Doppelstrang wird schließlich von der Zelle abgebaut.

Um RNA-Interferenz auszulösen, genügen schon einige wenige RNA-Moleküle. Jedes Mal, wenn der Enzymkomplex eine neue RNA spaltet, wird er nämlich mit einem kurzen RNA-Molekül regeneriert, sodass ein am Anfang doppelsträngiges RNA-Molekül katalytisch viele komplementäre RNAs zerstören kann. Außerdem können die bei der Spaltung erzeugten RNA-Schnipsel durch andere Enzyme in der Zelle verdoppelt werden. Diese Vermehrung stellt sicher, dass die RNA-Interferenz, einmal gestartet, auch dann weiter wirken kann, wenn die auslösende RNA abgebaut wurde. So können etwa Tochterzellen die RNA-Interferenz weiterführen, die in der Mutterzelle eingeleitet wurde.

Als Instrument der Forschung ist die RNAi-Technik ein durchschlagender Erfolg: Mit ihr können Wissenschaftler die Expression jedes beliebigen Gens in so unterschiedlichen Modellorganismen wie Pflanzen, Würmern oder Fliegen unterdrücken und so Informationen über seine Funktion gewinnen. Anthony Hyman und seine Mitarbeiter mussten also nur für jedes der 19.000 Gene des Fadenwurms die entsprechende doppelsträngige RNA herstellen und diese in die Keimzellen des erwachsenen Wurms injizieren. Die aus der Befruchtung resultierenden Embryonen untersuchten die Forscher dann am Mikroskop mit einer speziellen optischen Anordnung (*Differential Interference Contrast*, DIC), die eine räumliche Darstellung der Zellen ermög-

licht – so kann man die Wurmembryonen sehr genau bei den ersten Zellteilungen beobachten (**Abb. D**).

Das Ergebnis der Untersuchungen: 661 der 19.000 Gene beeinflussen die Entwicklung des frühen Embryos bei *Caenorhabditis elegans*. Etwa die Hälfte dieser Gene ist an Zellteilungsprozessen beteiligt wie der Verteilung der Chromosomen oder der Zytokinese; die andere Hälfte wird benötigt, um grundlegende Lebensprozesse der Zelle aufrechtzuerhalten, etwa die Translation, also die Übersetzung der mRNA-Transkripte in eine bestimmte Abfolge von Aminosäuren, oder die Arbeit der Mitochondrien. Die Forscher haben auch bisher unbekannt Genen des Fadenwurms eine Aufgabe zugeordnet können: Sieben dieser Gene steuern die Funktion der Chromosomen, drei Gene strukturieren die Zellkernhülle, vier Gene treiben den Zellteilungszyklus voran und elf Gene koordinieren den Zellstoffwechsel mit dem Treibstoff ATP. Für 17 der neuen Gene konnten die Molekularbiologen zudem auch schon die gleiche Funktion beim Menschen bestätigen.

TESTFALL FADENWURM

Und genau Letzteres ist auch der Grund, warum Forscher sich überhaupt mit einem kleinen Fadenwurm beschäftigen: Die zellulären Signalwege bei Wurm und Mensch sind – mit wenigen Ausnahmen – nämlich extrem ähnlich. Für über 60 Prozent der heute bekannten menschlichen **Krankheitsgene** sind homologe Gene im Genom von *C. elegans* bekannt. So wurden praktisch alle in den vergangenen Jahren gefundenen Gene, für die ein ursächlicher Zusammenhang zur Alzheimer-Krankheit besteht, zunächst beim Fadenwurm identifiziert. Bei einem Ausfall der Gene, die beim Menschen eine Veran-

lagung für Alzheimer bedingen, verliert *C. elegans* die Fähigkeit, seine Eier abzulegen. Führt man die wurmeigenen Gene wieder ein, so lässt sich dieser Defekt beheben – was nicht weiter überrascht. Überraschend ist aber die Beobachtung, dass der Defekt auch durch Einsetzen der menschlichen Genvarianten beseitigt werden kann. Diese sind also im Wurm-Genom ebenfalls voll funktionsstüchtig, obwohl es über 200 Millionen Jahre her ist, dass Mensch und Wurm einen gemeinsamen Vorfahren hatten. Offenbar bleiben bestimmte Gene in ihrer Funktion über Jahrmillionen hinweg erhalten, wenn sie für die Aufrechterhaltung des Lebens wichtig sind.

Das Studium der Entwicklung von **Modellorganismen** ist ein vielversprechender Ansatz bei der Suche nach Medikamenten gegen bestimmte Krankheiten. Die Forscher um Anthony Hyman arbeiten deshalb eng mit der in Dresden ansässigen Biotechnologiefirma Cenix BioScience zusammen. Sie hoffen, durch systematisches *RNAi-Silencing* Gene aufzuspüren, die in bestimmten Krebszellen unbedingt aktiv sein müssen, in normalen Zellen dagegen nicht (Gene, die an Zellteilungsprozessen beteiligt sind, interessieren dabei besonders). Damit bestünde die Möglichkeit, einen Wirkstoff zu entwickeln, der die Funktion des entsprechenden Proteins hemmt und sich somit als Krebsmedikament eignen könnte. Möglicherweise lässt sich auch die RNA-Interferenz selbst bereits dazu einsetzen – ihr therapeutisches Potenzial wird zumindest hoch eingeschätzt. Allerdings kann es, trotz ermutigender Befunde aus einigen Labors, noch dauern, bis Behandlungen auf RNAi-Basis tatsächlich beim Menschen zum Einsatz kommen.

Schlagwörter: Fadenwurm, *C. elegans*, Zellteilung, Zellkonstanz, Zelllinie, Embryogenese, programmierter Zelltod, mRNA, doppelsträngige RNA, Krankheitsgene, Modellorganismen

Link-Tipps: <http://www.wormclassroom.org/>
<http://www.bio.unc.edu/faculty/goldstein/lab/movies.html#ND>

http://wormbook.sanger.ac.uk/toc_complete.html

Lesempfehlung: Spektrum der Wissenschaft, Dossier 1/06, Das neue Genom

DIE „MAX“-REIHE

auch unter www.max-wissen.de – der Link zur Forschung für Schüler und Lehrer

Hier finden Sie Hintergrundinformationen und didaktisches Material zu den jeweils zweimal im Jahr erscheinenden Ausgaben von BIOMAX, GEOMAX und TECHMAX. Weitere Exemplare können Sie kostenlos bestellen bei: