

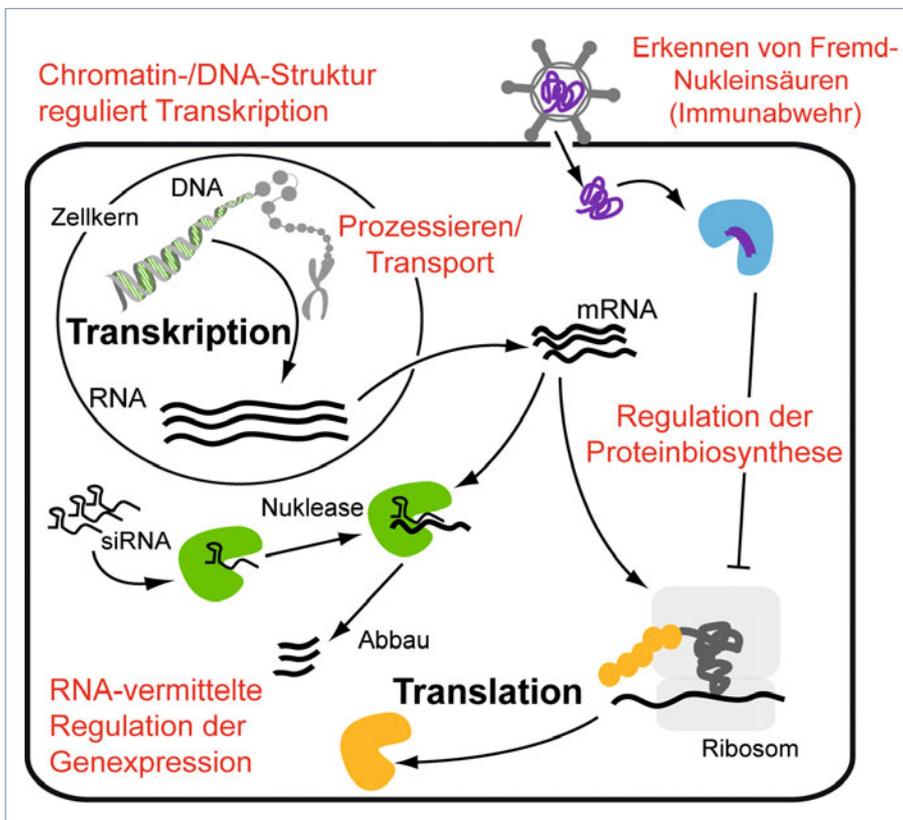
Nukleinsäuren

DNA und RNA – mehr als nur Träger der genetischen Information

SABINE SCHNEIDER
DEPARTMENT CHEMIE, TU MÜNCHEN

DNA and RNA – the nucleic acids within our cells – are more than information carrier in the flow of genetic information within biological systems. They fulfil very diverse functions in numerous cellular processes, such as the regulation of gene expression and cell signalling, they mediate protein interactions, control enzyme activity, can catalyse chemical reactions and are crucial for cellular immunity. Here, I discuss their multifaceted roles from a nucleic acids perspective.

DOI: 10.1007/s12268-018-0930-9
© Springer-Verlag 2018



▲ **Abb. 1:** Nukleinsäuren regulieren auf allen Ebenen den genetischen Informationsfluss (Replikation, Transkription und Translation). Sie kontrollieren die Chromatinstruktur, Prozessierung, Lokalisierung, RNA-Stabilität, Aktivität von Nukleasen und die Proteinbiosynthese. Nukleinsäuren von Pathogenen werden erkannt und Signalkaskaden für die Immunabwehr aktiviert. mRNA: messenger-RNA; siRNAs: kleine interferierende RNAs.

■ Das zentrale Dogma der Molekularbiologie geht zurück auf Francis Crick und beschreibt den gerichteten Fluss der genetischen Information von DNA über RNA zum Protein mittels Transkription und Translation. Methodische Entwicklungen im Bereich der Sequenzanalyse und Forschungsarbeiten der letzten Jahrzehnte verdeutlichen, dass die Nukleinsäuren in unseren Zellen aber weit mehr als passive Träger der genetischen Information sind und nicht nur als infrastrukturelle Komponenten dienen. Durch ihre Struktur und Interaktionen spielen sie eine essenzielle Rolle auf allen Ebenen zellulärer Funktionen und sind maßgeblich an dem Erhalt der Integrität des Erbguts, der Genregulation, der Genomreparatur sowie der Abwehr von Viren beteiligt (**Abb. 1**).

Was macht Nukleinsäuren als direkte Regulatoren und Effektoren zellulärer Prozesse so attraktiv? Zum einen können durch die direkte Steuerung der Genexpression auf DNA-Ebene die Energie und Bausteine für die Transkription und Translation eingespart werden. Zum anderen können RNAs schnell synthetisiert und prozessiert und ebenso direkt und rapide wieder abgebaut werden. Diese Eigenschaften erlauben eine unvermittelte Reaktion auf Änderungen des zellulären Status oder der Umwelt. Im Vergleich zu Proteinen, zu deren Biosynthese 20 Aminosäuren zur Verfügung stehen, sind Nukleinsäuren jeweils nur aus vier Grundbausteinen, Adenin, Cytosin, Guanin und Thymin/Uracil, aufgebaut. Allerdings können sie – wie Proteine – unterschiedlichste Sekundär- und Tertiärstrukturen einnehmen und so ihre diversen Funktionen ausüben.

Nukleinsäurestruktur und direkte Regulation der Genexpression

Die spezifische Interaktion zwischen Nukleinsäuren und Proteinen ist essenziell für viele biologische Prozesse. Zusätzlich zum genetischen Code, der DNA-Sequenz, beeinflusst die intrinsische und variable Flexibilität des Nukleinsäurepolymers die Thermodynamik der Wechselwirkungen mit Proteinen. Bei-

spielsweise bestimmen die Interaktionen zwischen DNA und Histonen die Struktur des Chromatins und damit, wie zugänglich einzelne Bereiche für die Transkriptionsmaschinerie sind. Hierbei spielen auch chemische Modifikationen, wie z. B. die Methylierung von Cytosin am C5, eine entscheidende Rolle, da diese sowohl die Flexibilität als auch die chemischen Eigenschaften der Interaktionsfläche modulieren. Zusätzlich zur spezifischen Interaktion mit den DNA-Basen (*base readout*) nutzen Transkriptionsfaktoren auch die Struktur (*shape readout*) der DNA als Signatur, um ihre Zielsequenzen zu erkennen [1]. Die Sequenz und Struktur der mRNA (*messenger-RNA*) reguliert ebenso die Genexpression: In der bakteriellen mRNA sind Struktur motive zu finden, die Riboschalter, die die Genexpression an die Bioverfügbarkeit und Biosynthese von Metaboliten (z. B. Vitamine) koppeln. Durch direkte Interaktion zwischen Riboschalter und Stoffwechselprodukt kommt es zur Konformationsänderung und damit zur Modulation der Wechselwirkung mit der RNA-Polymerase oder dem Ribosom und zur Adaption der Genexpression.

Regulatorische, nicht-codierende RNAs

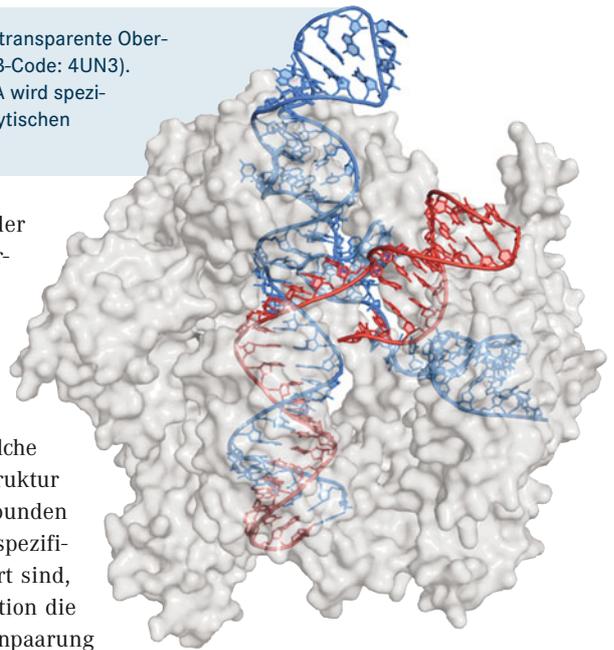
RNA-Moleküle können nicht nur ihre eigene Expression und Prozessierung beeinflussen (*cis*-Regulation), sondern auch mittels Basenpaarung die von anderen RNAs (*trans*-Regulation). Inzwischen sind viele nicht-codierende RNAs (ncRNAs) bekannt, die kein Template für die Proteinbiosynthese sind und in Vorkommen, Länge und Struktur variieren (ca. 20–40.000 Basen, Einzel- oder Doppelstrang etc.) [2]. Kleine RNAs (sRNAs, *small RNAs*) in Bakterien, die zwischen 30 und 300 Nukleotide lang sind, können unter anderem die Translation modulieren, indem sie die Bindung des Ribosoms verhin-

dern oder durch Stabilisieren von Sekundärstrukturen unterstützen. Ebenfalls können sRNAs Proteine rekrutieren, wie beispielsweise RNasen, und so für die Degradation der mRNA sorgen. Auf der anderen Seite kann die Bindung der sRNA an mRNA diese auch vor RNasen schützen [3]. Eukaryoten nutzen ebenfalls klei-

ne, ca. 22 Basen lange RNAs, um die Genexpression zu kontrollieren. Diese Mikro-RNAs (miRNAs) und *small interfering*-RNAs (siRNAs) werden durch RNA-modifizierende Enzyme und Endonukleasen gebunden. Durch komplementäre Basenpaarung zwischen siRNA und mRNA werden die Enzyme an die mRNA rekru-

tiert. So wird die mRNA abgebaut und die Genexpression inhibiert (RNA-Interferenz) [4]. Eine weitere Klasse bilden zirkuläre RNAs (circRNAs): Durch die kovalente Verknüpfung des 3'- und 5'-Endes sind diese RNAs gegen den Abbau durch RNasen geschützt. Sie sind nicht nur ein Nebenprodukt der Spleißreaktion in höhe-

► **Abb. 2:** Struktur der Cas9-Endonuklease aus *Streptococcus pyogenes* (graue, semitransparente Oberfläche) im Komplex mit der *single guide*-RNA (sgRNA; rot) und Phagen-DNA (blau) (PDB-Code: 4UN3). Die Bindung der strukturierten sgRNA führt zur Aktivierung von Cas9. Die Phagen-DNA wird spezifisch durch komplementäre Basenpaarung mit der sgRNA erkannt und durch die katalytischen Aminosäurereste gespalten.



ren Eukaryoten, sondern haben eine essenzielle Funktion in der Regulation der Genexpression. Sie fungieren als „Schwamm“ für miRNAs, induzieren alternatives Spleißen und dienen als Gerüst für die Assemblierung von Proteinkomplexen. Möglicherweise könnten Änderungen der zellulären Konzentration bestimmter circRNAs zukünftig sogar als Biomarker bei krankhaften Zuständen, wie z. B. Krebs, herangezogen werden [5].

RNA-Prozessierung und Lokalisation

Die Prä-mRNA wird in eukaryotischen Zellen posttranskriptional prozessiert (Spleißen, 5'-m7-Guanosintriphosphat-Kappe, 3'-Polyadenylierung), bevor sie aus dem Zellkern in das Cytosol, dem Ort der Proteinsynthese, transportiert wird. Die Lokalisation der mRNA – und somit eine exakte räumlich und zeitlich koordinierte Proteinbiosynthese – ist oftmals für die Zellfunktion essenziell. Unsere Nervenzellen müssen z. B. in der Lage sein, lokal ihr Proteom zu verändern, um schnell auf Umweltreize zu reagieren. Für den streng regulierten Transport und die korrekte Lokalisation der mRNAs sind Proteine verantwortlich, die spezifische Sequenz- und Struktur motive der mRNA erkennen. Fehler in dieser Maschinerie sind unter anderem mit neurodegenerativen Krankheiten assoziiert [6].

Nukleinsäure-vermittelte Immunität

Auch in der Abwehr von Pathogenen spielen Nukleinsäuren eine entscheidende Rolle. Beispielsweise sind Viren auf die Ressourcen des Wirtsorganismus für die Synthese viraler Proteine und Nukleinsäuren, und somit ihre Vermehrung, angewiesen. Um sich gegen virale Nukleinsäuren zu verteidigen, benutzen Bakterien Endonukleasen. Die seit den frühen 1950er-Jahren bekannten Restriktionsendonukleasen schneiden die DNA an bestimmten Sequenzmotiven, wobei die eigene DNA durch zellspezifische Modifikation (Methylierung), die die chemische Struktur ändern, geschützt wird [7]. Die Entdeckung, dass Bakterien über ein immunologisches Gedächtnis zurückliegender Infektionen verfügen, die CRISPR-Cas-Systeme (CRISPR: *clustered regulatory interspaced palindromic repeat*; Cas: *CRISPR associated gene*), hat in der letzten

Dekade das Forschungsfeld der Biologie revolutioniert. Hier werden Sequenzabschnitte von Phagen-Nukleinsäuren im bakteriellen Erbgut, dem CRISPR-Locus, gespeichert. Dieser wird zur crRNA (CRISPR-RNA) transkribiert, welche durch ihre spezifische Tertiärstruktur von der Cas-Endonuklease gebunden wird. Da in der crRNA phagenspezifische Sequenzabschnitte codiert sind, kann bei einer erneuten Infektion die Cas-Endonuklease durch Basenpaarung zwischen crRNA und Phagen-Nukleinsäuren diese gezielt erkennen und zerstören (Abb. 2, [8]).

Das höchstentwickelte Immunsystem ist das von Säugetieren, wobei hier zwischen angeborener und adaptiver Immunität unterschieden wird. Die angeborene Immunität basiert auf der Erkennung von Pathogen-assoziierten molekularen Mustern (PAMPs), die im Wirt nicht vorhanden sind, und bildet die erste Verteidigungslinie. Hierzu gehört beispielsweise die Erkennung von viraler RNA und cytosolischer DNA durch unterschiedliche Proteine, die in der Folge Signalkaskaden aktivieren (z. B. RIG-I-ähnliche Rezeptoren, zyklische GMP-AMP-Synthetase) und so, unter anderem durch die Biosynthese und Freisetzung von Interferon- γ , die systemische antivirale Antwort einleiten. Auch werden in Anwesenheit von doppelsträngiger RNA (dsRNA), ein Kennzeichen vieler Viren, die 2'-5'-Oligoadenylat-synthetase und die dsRNA-aktivierte Proteinkinase (PKR) tätig. Dies resultiert durch die Synthese von 2'-5'-Oligoadenylaten und die Phosphorylierung des Elongationsfaktors eIF2 α sowohl in einer Degradation der RNA durch RNasen als auch in einer Inhibition der Proteinbiosynthese. Wie wird zwischen den eigenen und fremden Nukleinsäuren unterschieden? Hier spielen sowohl posttranslationale Proteinmodifikationen als auch die Struktur der Nukleinsäuren entscheidende Rollen: Zum einen kommen lange dsRNAs in der gesunden Zelle nicht vor, und zum anderen sind zelluläre mRNAs chemisch modifiziert (5'-Kappe, 2'-O-Methylierung). Des Weiteren werden doppelsträngi-

ge Bereiche in der mRNA durch Umwandeln von Adenin zu Inosin destabilisiert [9]. Es ist deswegen nicht überraschend, dass Defekte in diesen Nukleinsäure-gesteuerten Erkennungssystemen oftmals mit Autoimmunerkrankungen, wie z. B. systemischer Lupus erythematosus und Typ-I-Interferonopathie, assoziiert sind.

Katalyse durch Nukleinsäuren

Die Entdeckung der RNA-katalysierten Spaltung der Phosphodiesterbindung in den 1980er-Jahren führte zur Zerschlagung des Paradigmas, dass alle biologischen Katalysatoren Proteine sind, und läutete ein neues Zeitalter der RNA-Biologie ein. Natürliche RNA-Enzyme (Ribozyme) katalysieren Phosphoryl- und Aminoacyltransferreaktionen. Durch *in vitro*-Selektion konnten ein Diels-Alderase-Ribozym, das Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindungen bilden kann, und DNA-basierte Enzyme hergestellt werden. Einige natürlich vorkommende Ribozyme, wie das Hepatitis-Delta-Virus(HDV)-Ribozym oder Gruppe-I-Introns, spalten sich autokatalytisch. Andere bilden Ribonukleoproteinkomplexe, wobei die Proteine eine strukturelle Steuerungsfunktion haben, die Reaktionen aber durch Nukleobasen katalysiert werden. Besonders beeindruckende Beispiele hierfür sind das Spleißosom und das Ribosom: Bei beiden handelt es sich um Megadalton-große Ribonukleoprotein-Maschinen, die verantwortlich für das Spleißen der mRNA bzw. die Knüpfung der Peptidbindung in der Proteinbiosynthese sind [10, 11].

Fazit

Nukleinsäuren sind weit mehr als nur genetische Informationsträger und erfüllen essenzielle Funktionen in allen zellulären Prozessen. Durch ihre 3D-Strukturen übernehmen sie einen aktiven Part in der Interaktion mit Proteinen. Die Proteine können einerseits als Gerüst und Modulator der RNA-Funktion dienen, oder die Nukleinsäuren können wiederum die Lokalisation und Aktivität der Proteine direkt regulieren. Die methodischen Entwicklungen der letzten Jahre haben erste Einblicke in die Rolle von Nukleinsäuren in den vielschichtigen Regulationsebenen zellulärer Prozesse ermöglicht und so Türen in einem spannenden Forschungsfeld geöffnet. ■

Literatur

- [1] Harteis S, Schneider S (2014) Making the bend: DNA tertiary structure and protein-DNA interactions. *Int J Mol Sci* 15:12335–12363
- [2] Cech TR, Steitz JA (2014) The noncoding RNA revolution – trashing old rules to forge new ones. *Cell* 157:77–94
- [3] Storz G, Vogel J, Wassarman KM (2011) Regulation by small RNAs in bacteria: expanding frontiers. *Mol Cell* 43:880–891

- [4] Wilson RC, Doudna JA (2013) Molecular mechanisms of RNA interference. *Annu Rev Biophys* 42:217–239
- [5] Wang M, Yu F, Wu W et al. (2017) Circular RNAs: a novel type of non-coding RNA and their potential implications in antiviral immunity. *Int J Biol Sci* 13:1497–1506
- [6] Martin KC, Ephrussi A (2009) mRNA localization: gene expression in the spatial dimension. *Cell* 136:719–730
- [7] Loenen WA, Dryden DT, Raleigh EA et al. (2014) Highlights of the DNA cutters: a short history of the restriction enzymes. *Nucleic Acids Res* 42:3–19
- [8] Westra ER, Swarts DC, Staals RH et al. (2012) The CRISPRs, they are a-changin': how prokaryotes generate adaptive immunity. *Annu Rev Genet* 46:311–339
- [9] Hartmann G (2017) Nucleic acid immunity. *Adv Immunol* 133:121–169
- [10] Shi Y (2017) The spliceosome: a protein-directed metal-lobozyme. *J Mol Biol* 429:2640–2653
- [11] Jenni S, Ban N (2003) The chemistry of protein synthesis and voyage through the ribosomal tunnel. *Curr Opin Struct Biol* 13:212–219

Korrespondenzadresse:

Dr. Sabine Schneider
Technische Universität München
Fakultät für Chemie
Lichtenbergstraße 4
D-85748 Garching
Tel.: 089-289-13336
Fax: 089-289-13363
sabine.schneider@mytum.de
www.biochemie.ch.tum.de/index.php?id=927&L=0

AUTORIN



Sabine Schneider

2007 Promotion an der University of Nottingham, UK. 2007–2010 Postdoktorandin an der LMU München. Seit 2010 unabhängige Forschungsgruppenleiterin an der TU München.