

Michael T. Madigan
John M. Martinko
David A. Stahl
David P. Clark

Brock Mikrobiologie

13., aktualisierte Auflage

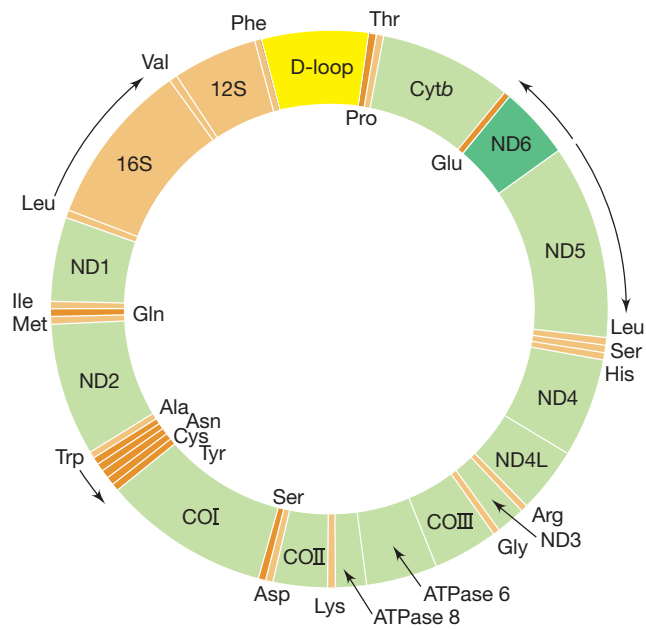


Abbildung 12.8: Karte des Mitochondriumgenoms des Menschen. Das ringförmige Genom des menschlichen Mitochondriums enthält 16.569 bp. Das Genom kodiert die 16S und die 12S rRNA (die den prokaryotischen 23S und 16S rRNAs entsprechen) sowie 22 tRNAs. Diese Gene werden gegen den Uhrzeigersinn transkribiert und sind dunkelorange unterlegt; die Gene, die im Uhrzeigersinn transkribiert werden, sind hellorange unterlegt. Die Aminosäurezuordnungen für die tRNA-Gene sind für die gegen den Uhrzeigersinn transkribierten Gene außerhalb, für die im Uhrzeigersinn transkribierten innerhalb des farbigen Rings angegeben. Die 13 proteinkodierenden Gene sind grün unterlegt (dunkelgrün transkribiert gegen den Uhrzeigersinn, hellgrün im Uhrzeigersinn). Cytb, Cytochrom b; ND1-6, Komponenten des NADH-Dehydrogenasekomplexes; ATPase 6 und 8, Polypeptide des mitochondrialen ATPase-Komplexes. Die beiden Promotoren liegen in einer Region mit der Bezeichnung D-Loop, einer Region, die ebenfalls an der Replikation der DNA beteiligt ist.

gen sie nur ungefähr 50 Gene und enthalten große Mengen nichtkodierender DNA.

Während sich Chloroplasten des „universellen“ genetischen Codes bedienen, verwenden Mitochondrien einen leicht abgewandelten, einfacheren genetischen Code (siehe Abschnitt 6.5.2). Dies scheint das Ergebnis von Selektionsdruck hin zu kleineren Genomen zu sein. So reichen die 22 tRNAs, die Mitochondrien bilden, nicht aus, um den universellen genetischen Code zu lesen, selbst wenn man die Wobblepaarung berücksichtigt. Die Basenpaarung zwischen dem Codon und dem Anticodon ist daher in den Ribosomen der Mitochondrien noch flexibler als in den Zellen.

Anders als im Fall der Chloroplastengenome, deren Genome sämtlich einzelne, ringförmige DNA-Moleküle sind, zeigen die Genome der Mitochondrien eine recht große Vielfalt. So sind beispielsweise einige Mitochondriengenome linear, dazu gehören einige der Spezies der Algen, der Protozoen und der Pilze. In anderen Fällen wie dem der Hefe *S. cerevisiae* scheint die Mehrzahl der Mitochondriengenome physikalisch linear zu sein, obwohl genetische Analysen darauf hinweisen, dass das Mitochondriengenom ringförmig ist. (Denken Sie an den Bakteriophagen T4, der ein ringförmiges Genom besitzt, obwohl es physikalisch linear ist, siehe Abschnitt 9.3.2). Schließlich möchten wir noch darauf hinweisen, dass es mehrere Organismen gibt, in deren Mitochondrien kleine Plasmide vorkommen, wodurch die Analyse des Mitochondriumgenoms erschwert wird.

Die RNA-Editierung

Bei der **RNA-Editierung** wird *nach* der Transkription die Basensequenz einer Messenger-RNA verändert. Es gibt zwei Formen der RNA-Editierung. Bei der einen werden die Nucleotide entweder eingefügt oder entfernt. Bei der anderen wird eine Base so chemisch verändert, dass sie eine andere Identität erhält. In beiden Fällen kann die RNA-Editierung zur Veränderung der Kodierungssequenz einer mRNA führen, so dass die Aminosäuresequenz des neu gebildeten Peptids sich von der unterscheidet, die sich aus der Gensequenz ergeben hätte.

Bei den meisten Organismen kommt RNA-Editierung sehr selten vor, besonders bei den Tieren. Bei den Mitochondrien und den Chloroplasten der Pflanzen ist sie allerdings weitverbreitet. An bestimmten Stellen einiger mRNAs wird gezielt durch oxidative Desaminierung ein C in ein U umgewandelt. Es gibt in den Chloroplasten der Maispflanze mindestens 25 solcher C/U-Umwandlungsstellen. Abhängig von der Position der Basenumwandlung kann unter Umständen ein neues Codon entstehen, das zu einer Abänderung der Proteinsequenz führt.

Die Editierung von mRNA durch Insertion oder Deletion von Nucleotiden findet bei bestimmten Protozoen statt, vor allem bei den Trypanosomen und ihren Verwandten, zudem öfter in Mitochondriengenomen als in Zellkerngenomen. Bei der Editierung einiger mitochondrialer Transkripte werden

große Mengen (in manchen Fällen sind es Hunderte) von Uridinen angefügt, seltener jedoch werden sie deletiert. Die RNA-Editierung wird exakt von kurzen Sequenzen in der mRNA kontrolliert, die die editierenden Enzyme „leiten“. Während des Einfügens werden die mRNA-Sequenzen von kurzen leitenden RNA-Molekülen erkannt, die zur mRNA komplementär sind, aber ein zusätzliches A besitzen. Die U-Reste werden in der mRNA an der Stelle eingefügt, die der Stelle des zusätzlichen A auf der Leit-RNA gegenüberliegt. Augenscheinlich muss dieser Vorgang genauestens kontrolliert werden. Die Zufügung von zu vielen oder zu wenigen Basen würde zu einer Verschiebung des Leserahmens führen, wodurch funktionsunfähige Proteine entstünden.

Organellen und das Zellkerngenom

Chloroplasten und Mitochondrien benötigen weit mehr Proteine als sie selbst kodieren. So werden beispielsweise wesentlich mehr Proteine für die Translation in Organellen benötigt, als das Genom der Organelle kodiert. Aus diesem Grund werden viele Funktionen der Organellen von Zellkerngenen kodiert.

Man hat geschätzt, dass das Mitochondrium der Hefe mehr als 4000 unterschiedliche Proteine enthält, von denen allerdings lediglich acht vom Mitochondriumgenom der Hefe kodiert werden. Die verbleibenden Proteine werden vom Genom des Zellkerns kodiert. Obwohl man davon ausgehen könnte, dass die Proteine, die bei bestimmten Abläufen im Zellkern und im Cytoplasma der Eukaryoten ihre Funktion erfüllen, diesen Aufgaben auch in den Organellen nachgehen könnten, trifft dies aber nicht zu. Zwar liegen die Gene für viele Organellenproteine im Zellkern, wo sie transkribiert werden, sie werden allerdings an den 80S Ribosomen im eukaryotischen Cytoplasma translatiert. Da die Proteine aber spezifisch von den Organellen genutzt werden, müssen sie in diese transportiert werden.

Die vom Zellkern kodierten Proteine, die zur Translation und Energiegewinnung bei den Mitochondrien notwendig sind, sind eng mit ihren Gegenstücken bei den *Bacteria* verwandt und weniger mit denen im eukaryotischen Cytoplasma. Es schien also anfänglich so als wären die meisten Gene, die mitochondriale Proteine kodieren, in den Genomen der Symbionten gewesen und wären dann nach und nach während der späteren Phasen der Endosymbiose vom Mitochondrium in den Zellkern gewandert. Was von Nöten war, um

diese Hypothese zu stützen, waren die Genomsequenzen des Zellkerns und des Mitochondriums eines Eukaryoten, die Genomsequenz einer Spezies von *Bacteria*, die phylogenetisch mit dem Mitochondriumgenom eng verwandt sein musste, sowie die Genomsequenzen weiterer *Bacteria* für vergleichende Untersuchungen. All diesen Anforderungen wurden die Hefe *S. cerevisiae* sowie bestimmte *Bacteria* gerecht. Die Analyse erwies sich als sehr aufschlussreich.

Von den 400 zellkernständigen Genen zur Kodierung mitochondrialer Proteine waren überraschenderweise nur etwa 50 eng verwandt mit der phylogenetischen Linie der *Bacteria*, die zu den Mitochondrien führte (die *Alphaproteobacteria*, siehe Abschnitt 17.1.1). Weitere 150 wiesen eindeutig Verwandtschaft mit den Proteinen der *Bacteria* auf, aber nicht notwendigerweise mit den *Alphaproteobacteria*. Diese bakteriell erscheinenden Proteine waren höchst wahrscheinlich an der Energieumwandlung, der Translation und der Biosynthese beteiligt. Die ungefähr verbleibenden 200 mitochondrialen Proteine wurden von Genen kodiert, die keine nachweisbaren Homologien zu bekannten *Bacteria* erkennen lassen. Diese Proteine werden größtenteils für die Membranen, die Regulation und den Transport benötigt. Obwohl also das Mitochondrium viele Hinweise darauf gibt, dass es einen endosymbiontischen Ursprung in sich trägt (siehe Abschnitt 16.1.4), haben Genomanalysen erwiesen, dass seine genetische Historie komplizierter ist als man ursprünglich annahm.

Mini-Quiz

- Was ist an den Genen der Hefe ungewöhnlich, die die mitochondrialen Funktionen kodieren?
- Welches Verhältnis besteht zwischen der Genomgröße und dem Gengehalt bei der Hefe und dem menschlichen Mitochondrium?
- Was versteht man unter RNA-Editierung? Inwiefern unterscheidet sie sich von der RNA-Prozessierung?

12.1.5 Die Genome der eukaryotischen Mikroorganismen

Mittlerweile wurden die Genome mehrerer mikrobieller sowie höherer Eukaryoten sequenziert (► Tabelle 12.3). Die Genome der Säugetiere, darunter Mensch, Maus und Ratte, enthalten ungefähr 25.000 Gene – etwa doppelt so viel wie die der Insekten und vier Mal so viel wie das der Hefe. Die

Tabelle 12.3: Einige eukaryotische Zellkerngenome^a

Organismus	Kommentar	Organismus/ Zelltyp ^b	Genom- größe (Mbp)	Chromo- somenzahl (haploid)	Protein- kodierende Gene ^c
Nukleomorph von <i>Bigelowiella natans</i>	Degenerierter endosymbiontischer Zellkern	E	0,37	3	331
<i>Encephalitozoon cuniculi</i>	Kleinstes bekanntes eukaryotisches Genom, menschliches Pathogen	P	2,9	11	2.000
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Parasitischer Protozoe	P	9,1	8	3.800
<i>Plasmodium falciparum</i>	Bösartige Malaria	P	23	14	5.300
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Hefe, ein Modelleukaryot	FL	12,1	16	5.800
<i>Ostreococcus tauri</i>	Grüne Meeresalge, kleinster frei lebender Eukaryot	FL	12,6	20	8.200
<i>Aspergillus nidulans</i>	Filamentöser Pilz	FL	30	8	9.500
<i>Giardia lamblia</i>	Begeißelte Protozoe, verursacht akute Gastroenteritis	P	12	5	9.700
<i>Dictyostelium discoideum</i>	Soziale Amöbe	FL	34	6	12.500
<i>Drosophila melanogaster</i>	Fruchtfliege, Modellorganismus für genetische Untersuchungen	FL	180	4	13.600
<i>Caenorhabditis elegans</i>	Fadenwurm, Modellorganismus für Tierentwicklung	FL	97	6	19.100
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Modellpflanze für genetische Untersuchungen	FL	125	5	26.000
<i>Mus musculus</i>	Maus, Modellsäugetier	FL	2500	23	25.000
<i>Homo sapiens</i>	Mensch	FL	2850	23	25.000
<i>Oryza sativa</i>	Reis, die wichtigste landwirtschaftliche Nutzpflanze der Welt	FL	390	12	38.000
<i>Paramecium tetraurelia</i>	Zilientragende Protozoe	FL	72	>50	40.000
<i>Populus trichocarpa</i>	Westliche Balsam-Pappel, ein Baum	FL	500	19	45.000
<i>Trichomonas vaginalis</i>	Begeißelter Protozoe, menschliches Pathogen	P	160	6	60.000

^a Alle Daten beziehen sich auf die haploiden Zellkerngenome dieser Organismen.

^b E, Endosymbiont; P, Parasit; FL, frei lebend.

^c Die Zahl der proteinkodierenden Gene ist in allen Fällen eine Schätzung auf der Grundlage der schon bekannten Gene und von Sequenzen, die wahrscheinlich funktionale Proteine kodieren.

Genome der höheren Pflanzen, wie zum Beispiel Reis und die Schwarzpappel, enthalten sogar noch mehr Gene, fast das Doppelte des Menschen. Man nimmt an, dass die derzeit stattfindende Sequenzierung von Mais und anderen höheren Pflanzengenomen uns sogar noch größere Genzahlen liefern wird.

Interessanterweise verfügen bestimmte Einzeller unter den Protozoen, darunter *Paramecium* (40.000

Gene) und *Trichomonas* (60.000 Gene) über wesentlich mehr Gene als der Mensch (Tabelle 12.3). Tatsächlich ist *Trichomonas* im Hinblick auf die Genzahl der Rekordhalter unter den Organismen. Das ist ganz erstaunlich, denn *Trichomonas* ist ein Parasit des Menschen und, wie wir gesehen haben, haben solche Organismen im Allgemeinen im Vergleich zu frei lebenden Organismen relativ kleine Genome.

Von allen einzelligen Eukaryoten wird die Hefe *Saccharomyces cerevisiae* am häufigsten als Modellorganismus eingesetzt und ist auch in der Industrie von großem Nutzen. Daher werden wir uns im Folgenden mit ihr beschäftigen.

Das Hefegenom

Das haploide Genom der Hefe besteht aus 16 Chromosomen, die in ihrer Größe von 220 kbp bis zu etwa 2352 kbp reichen. Das gesamte Zellkerngenom der Hefe (ausschließlich der Mitochondrien und einiger Plasmide sowie virusähnlicher genetischer Elemente) umfasst ungefähr 13.392 kbp. Warum werden Begriffe wie „etwa“ und „ungefähr“ verwendet, um dieses Genom zu beschreiben, obwohl es vollständig sequenziert wurde? Hefe enthält, ebenso wie viele andere Eukaryoten, eine große Menge repetitiver DNA (siehe Abschnitt 7.2.1). Als das Hefegenom 1997 veröffentlicht wurde, waren noch nicht alle „identischen“ Wiederholungen sequenziert. Es ist schwierig, eine sehr lange Folge identischer oder beinahe identischer Folgen zu sequenzieren und dann die erhaltenen Daten in einen kohärenten Rahmen einzufügen. So enthält beispielsweise das Chromosom Nr. XII der Hefe einen Abschnitt von ungefähr 1260 kbp, in dem sich 100–200 Wiederholungen von rRNA-Genen finden. Eine weitere wiederholte Sequenz folgt auf diese lange Reihe von rRNA-Gen-Wiederholungen. Auf Grund solcher identischer Wiederholungen sind die Größenangaben der eukaryotischen Genome unweigerlich nur gute Schätzungen.

Zusätzlich zu den Vielfachkopien der rRNA-Gene findet man im Zellkerngenom ungefähr 300 Gene für tRNAs (von denen nur wenige identisch sind) und fast 100 Gene für andere Typen nichtkodierender RNA. Ebenso wie bei anderen eukaryotischen Genomen hat sich die Anzahl der vermuteten ORFs in der Hefe auch etwas geändert, da die Sequenzanalyse immer genauere Angaben liefert. Bis zum Jahr 2006 wurden etwa 5800 ORFs und weitere 800 mögliche ORFs im Hefegenom identifiziert. Das ist weniger als die Genzahl mancher Prokaryotengenome (Tabelle 12.1 und Tabelle 12.3). Von den ORFs der Hefe kodieren ungefähr 3500 Proteine, deren Funktion uns nicht bekannt ist. Die große Vielfalt an genetischen und biochemischen Methoden, die für die Untersuchung dieses Organismus zur Verfügung stehen, hat unser Verständnis der Funktion dieser übrig bleibenden Proteine erheblich vertieft (siehe Abschnitt 12.2.2).

Die minimale Genausstattung der Hefe

Wie viele der uns bekannten Hefegene sind wirklich lebensnotwendig? Die Antwort auf diese Frage kann man erhalten, indem man systematisch jedes Gen mit Knockout-Mutationen inaktiviert (Mutationen, durch die ein Gen nicht mehr funktionsfähig ist, siehe Abschnitt 11.1.4). Solche Knockout-Mutationen können normalerweise nicht in Genen durchgeführt werden, die für das Überleben der Zelle unabdingbar sind. Die Hefe kann jedoch sowohl im diploiden Zustand als auch im haploiden Zustand wachsen (siehe Abschnitt 20.4.5). Durch Setzung solcher Knockout-Mutationen in diploiden Zellen mit nachfolgender Untersuchung, ob die Mutation in haploiden Zellen fortbestehen kann, kann man ermitteln, ob ein bestimmtes Gen für das Überleben der Zelle wichtig ist oder nicht.

Mit Hilfe von Knockout-Mutationen vermochte man den Nachweis zu erbringen, dass mindestens 877 ORFs der Hefe lebensnotwendig sind, während dies auf 3121 eindeutig nicht zutrifft. Man beachte, dass die Anzahl essenzieller Gene wesentlich größer ist als die ungefähre Zahl von 300 Genen (siehe Abschnitt 12.1.3), von denen man annimmt, dass sie für die Existenz prokaryotischer Lebewesen notwendig sind. Da Eukaryoten aber komplexere Lebewesen sind als Prokaryoten, ist ein größerer minimaler Gensatz zu erwarten.

Hefeintrons

Die Hefe ist ein Eukaryot und enthält Introns (siehe Abschnitt 7.2.1). Die Gesamtzahl aller proteinkodierender Gene, die ein Intron enthalten, liegt lediglich bei 225. Die meisten Hefegene mit Introns weisen ein einzelnes, kleines Intron nahe am 5'-Ende des Gens auf. Dieses Verhältnis unterscheidet sich grundlegend von dem in komplexeren eukaryotischen Genomen. Beim Fadenwurm *Caenorhabditis elegans* enthält beispielsweise jedes Gen im Durchschnitt fünf Introns. Die Gene für die Taufliege *Drosophila* weisen im Durchschnitt vier Introns auf. Introns kommen in den Pflanzengenomen sehr häufig vor. So enthält die Pflanze *Arabidopsis* durchschnittlich fünf Introns pro Gen und mehr als 75 % der Gene von *Arabidopsis* weisen Introns auf. Beim Menschen besitzen fast alle proteinkodierenden Gene Introns, und es ist nicht ungewöhnlich, dass ein einzelnes Gen zehn oder mehr Introns besitzt. Exons machen nur etwa 1 % des menschlichen Genoms aus, während Introns 24 % des Genoms ausmachen.

Weitere eukaryotische Mikroorganismen

Man hat die Genome verschiedener anderer bedeutsamer eukaryotischer Mikroorganismen, vor allem die von medizinischer Relevanz, sequenziert. Das kleinste uns bekannte eukaryotische Zellgenom gehört *Encephalitozoon cuniculi*, einem intrazellulären Pathogenen des Menschen und anderer Säugetiere, der Lungeninfektionen verursacht. *E. cuniculi* fehlen die Mitochondrien. Obwohl sein haploides Genom elf Chromosomen umfasst, liegt die Genomgröße bei nur 2,9 Mbp mit ungefähr 2000 Genen (Tabelle 12.3). Damit ist es kleiner als das vieler Prokaryoten (Tabelle 12.1). Was für die Prokaryoten gilt, gilt auch für das kleinste eukaryotische Genom, denn es gehört zu den Endosymbionten (Tabelle 12.3). Hinter der Bezeichnung *nucleomorph* verbergen sich die degenerierten Überreste eines eukaryotischen Endosymbionten, der in bestimmten grünen Algen vorkommt, die durch sekundäre Endosymbiose zur Photosynthese fähig wurden (siehe Abschnitt 20.5.2). Die Größe nucleomorpher Genome reicht von ungefähr 0,04 bis 0,85 Mbp.

Wie bereits zuvor erwähnt, besitzt *Trichomonas* mit ungefähr 60.000 Genen das größte eukaryotische Genom, obwohl es sich um einen Parasiten handelt (Tabelle 12.3). Der frei lebende Ciliat *Paramecium* weist etwa 40.000 Gene auf und die frei lebende, soziale Amöbe, *Dictyostelium* circa 12.500 (bitte beachten Sie aber, dass *Dictyostelium* in seinem Lebenszyklus sowohl einzellige als auch vielzellige Phasen durchläuft, siehe Abschnitt 20.3.6). Zum Vergleich, die pathogene Amöbe *Entamoeba histolytica*, der Erreger der Amöbenruhr, besitzt etwa 10.000 Gene.

Abgesehen von dem seltsamen Fall von *Trichomonas* enthalten die Genome parasitischer eukaryotischer Mikroorganismen 10–30 Mbp DNA und zwischen 4000 und 11.000 Genen. Das Genom des Trypanosomen *Trypanosoma brucei*, des Erregers der Afrikanischen Schlafkrankheit, enthält zum Beispiel elf Chromosomen, 35 Mbp DNA und fast 11.000 Gene. Der wichtigste eukaryotische Parasit ist Plasmodium, der Erreger der Malaria (siehe Abschnitt 34.2.3). Das 25-Mbp-Genom von *Plasmodium falciparum* besteht aus 14 Chromosomen, deren Größe zwischen 0,7 und bis zu 3,4 Mbp liegt. Man schätzt die Zahl der Gene von *P. falciparum*, der Menschen infiziert, auf 5300. Die Zahl der Gene der verwandten Spezies *Plasmodium yoelii*, der Nagetiere infiziert, liegt schätzungsweise bei 5900.

Mini-Quiz

- Wie kann man nachweisen, dass ein Gen essenziell ist?
- Was ist an dem Genom des Eukaryoten *Encephalitozoon* ungewöhnlich?

12.1.6 Metagenomik

In mikrobiellen Gemeinschaften leben Spezies der *Bacteria* und der *Archaea*, von denen die meisten noch nicht kultiviert oder formal erfasst wurden. Das Gebiet der **Metagenomik**, auch Umweltgenomik genannt, analysiert Gesamt-DNA oder Gesamt-RNA aus einer Umweltprobe, die Organismen enthält, die noch nicht isoliert und identifiziert wurden (siehe Abschnitt 22.2.4). So wie der gesamte Gengehalt eines Organismus sein Genom ausmacht, bildet die Gesamtheit aller Gengehalte der Organismen, die in einem Lebensraum leben, dessen **Metagenom**.

Es sind mehrere Lebensräume durch groß angelegte Metagenom-Sequenzierungsprojekte erfasst worden. Extreme Lebensräume, wie saure Abwässer von Bergwerken, weisen tendenziell nur eine geringe Vielfalt an Spezies auf. Bislang vermochte man deren DNA-Gemeinschaft zu isolieren und einen Großteil davon zu individuellen Genomen zusammenzusetzen. Im Gegensatz dazu ergeben komplexe Lebensräume wie zum Beispiel fruchtbare Böden zu viele Sequenzdaten, die man heute noch nicht zusammensetzen kann.

Man kann aber, abgesehen von Metagenomanalysen auf Grundlage der DNA-Sequenzierung, auf Analysen auf der Grundlage von RNA oder Proteinen zurückgreifen, um die Muster der Genexpression in natürlichen mikrobiellen Gemeinschaften zu untersuchen. In Kapitel 22 werden wir genauer auf dieses Thema eingehen (siehe vor allem Abschnitt 22.3.3).

Ein ganz überraschender neuer Befund ist, dass der größte Teil der in natürlichen Habitaten vorkommenden DNA nicht DNA lebender Zellen ist. Bei ungefähr 50 bis 60 % der DNA in den Ozeanen handelt es sich um extrazelluläre DNA aus tiefen Schichten des Meeressediments. Diese DNA wird dort abgelagert, wenn tote Organismen aus den höher gelegenen Schichten des Ozeans auf den Boden sinken und sich dort zersetzen. Da Nucleinsäuren Phosphat speichern, stellt diese DNA den wichtigsten Lieferanten für den globalen Phosphorkreislauf dar.

Mini-Quiz

- Was ist ein Metagenom?
- Wie wird ein Metagenom analysiert?

Genomfunktion und Regulation

12.2

Obwohl man sehr viel Arbeit darauf verwenden muss, um eine annotierte Genomsequenz zu erstellen, so bleibt das Ergebnis, das man schließlich erhält, doch im Grund nur eine „Liste von Einzelteilen“. Um wirklich zu verstehen, wie eine Zelle funktioniert, müssen wir mehr wissen als nur, welche Gene enthalten sind. Wir müssen sowohl die Genexpression (Transkription) als auch die Funktion des Genprodukts untersuchen. Im Folgenden werden wir uns mit der Genexpression beschäftigen. Analog zu dem Begriff „Genom“ bezeichnet man alle Bestandteile der RNA, die unter bestimmten Bedingungen gebildet werden, als das **Transkriptom**.

12.2.1 Microarrays und Transkriptome

Wenn man die Bedingungen kennt, unter denen ein Gen transkribiert wird, dann kann man daraus möglicherweise Rückschlüsse auf die Genfunktion ziehen. Wir haben bereits besprochen, wie die Nucleinsäurehybridisierung Rückschlüsse auf die Position von Genen auf spezifischen DNA-Fragmenten erlaubt (siehe Abschnitt 11.1.2). Man kann Hybridisierungstechniken auch dazu einsetzen, in Verbindung mit Genomsequenzierungsdaten die Expression von Genen durch die Hybridisierung der mRNA an spezifischen Fragmenten zu messen. Diese Technik ist mittlerweile in Folge der Entwicklung von Microarrays radikal vorangetrieben worden.

Microarrays und der DNA-Siliziumchip

Die in der Genomik eingesetzten *Microarrays* sind kleine, feste Unterlagen, auf denen Gene, öfter aber Teile von Genen in geordneter Weise verankert und räumlich voneinander getrennt aufgereiht werden. Sie werden oftmals als **Genchips** bezeichnet. Die Gen-Segmente werden durch die Polymerasekettenreaktion erzeugt (PCR; siehe Abschnitt 6.3.4). Alternativ kann man auch für jedes Gen Oli-

gonucleotide auf der Grundlage der Genomdaten erstellen. Nachdem sie auf dem festen Trägermaterial angebracht wurden, können die DNA-Teilstücke mit mRNAs aus Zellen, die unter bestimmten Bedingungen angezogen wurden, hybridisiert werden und anschließend vom Computer abgetastet und analysiert werden. Die Hybridisierung einer spezifischer mRNA und eines DNA-Teilstücks belegt, dass das Gen transkribiert wurde.

In der Praxis kommt die mRNA in geringen Mengen vor, die für den direkten Gebrauch nicht ausreichen. Daher müssen die mRNA-Sequenzen zuerst amplifiziert werden. Man nutzt die Reverse Transkriptase (RT), um aus der mRNA eine komplementäre DNA (cDNA) zu erstellen. Die cDNA kann dann mit der PCR amplifiziert werden (diese beiden Schritte bilden das so genannte RT-PCR-Verfahren). Alternativ kann man die cDNA auch als Matrice für die T7-RNA-Polymerase einsetzen. So erhält man viele RNA-Kopien, die so genannte *cRNA*. Die cDNA oder cRNA wird dann mit dem Microarray hybridisiert.

Eine Methode zur Erstellung und Anwendung von Microarrays ist in ► Abbildung 12.9 dargestellt. Die Photolithographie ist ein Vorgang zur Herstellung von Computerchips. Dieser wurde so verändert, dass man Siliziummicroarraychips von ein bis zwei Zentimetern Größe herstellen kann, auf denen man Tausende verschiedener DNA-Fragmente unterbringt. In der Praxis kommt jedes Gen oft mehr als nur einmal in dem Microarray vor, um so eine größere Zuverlässigkeit zu erreichen. Microarrays des gesamten Genoms enthalten DNA-Fragmente, die das gesamte Genom eines Organismus umfassen. Es gibt zum Beispiel einen Chip, der das gesamte Genom des Menschen enthält (► Abbildung 12.10a). Dieser einzelne Chip ermöglicht die Analyse von mehr als 47.000 Transkripten des Menschen und bietet zur Anwendung in der klinischen Diagnostik Platz für 6500 zusätzliche Oligonucleotide.

Abbildung 12.10b zeigt einen Teil eines Chips, der verwendet wird, um die Expression des Genoms von *Saccharomyces cerevisiae* zu messen. Das Speichervermögen dieses Chips reicht bei weitem aus, um die 5800 proteinkodierenden Genen von *S. cerevisiae* unterzubringen (siehe Abschnitt 12.1.5), so dass man in der Lage ist, die gesamte Genexpression dieses Organismus in einem einzigen Experiment zu untersuchen. Um dieses Experiment durchzuführen, wird der Chip mit cRNA oder cDNA hybridisiert, die man aus mRNA von Hefezellen gewonnen hat, die unter ganz bestimmten Bedingungen angezüchtet wur-

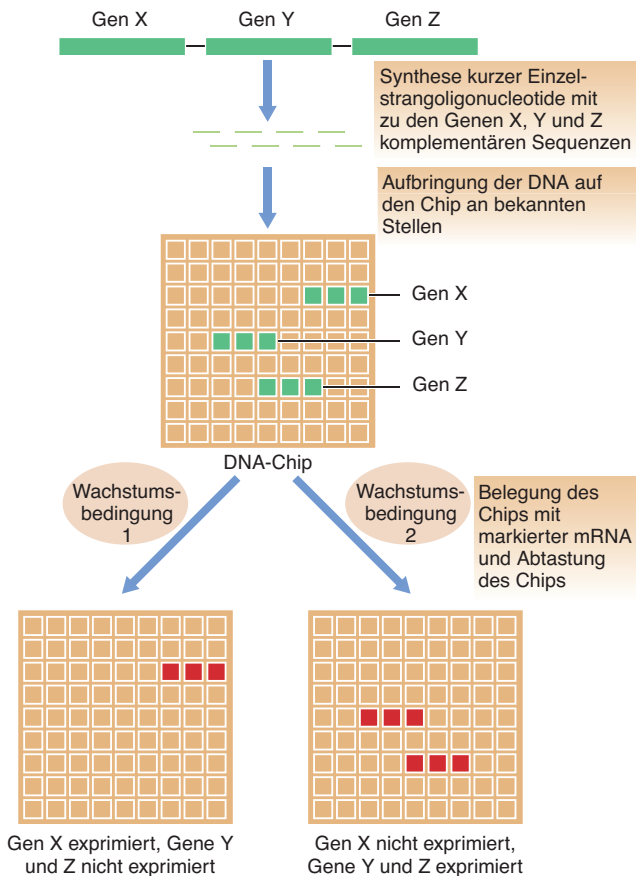


Abbildung 12.9: Herstellung und Anwendung von DNA-Chips. Kurze, einzelsträngige Oligonucleotide, die allen Genen eines Organismus entsprechen, werden einzeln synthetisiert und an bekannten Stellen eines Genchips (Microarray) dauerhaft befestigt. Der Genchip wird durch Hybridisierung mit DNA-Sonden auf dem Chip mit fluoreszenzmarkierter mRNA von Zellen, die man unter einer bestimmten Bedingung kultiviert hat, getestet. Dann wird der Chip mit einem Laser abgetastet.

den. Jede cRNA/cDNA bindet nur an die DNA auf dem Chip, die zu ihrer eigenen Sequenz komplementär ist. Um das Ausmaß der Hybridisierung sichtbar zu machen, wird die cRNA/cDNA mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert und dann wird der Chip mit einem Laser abgetastet und die Signale werden vom Computer analysiert. Man erhält ein typisches Hybridisierungsmuster, das davon abhängt, welche DNA-Sequenzen den mRNAs entsprechen (Abbildung 12.9 und Abbildung 12.10b). Die Intensität der Fluoreszenz ermöglicht eine mengenmäßige Erfassung der Genexpression (Abbildung 12.10b). Dann kann der Computer eine Liste der exprimierten Gene und der Expressionsstärken erstellen. Durch den Einsatz von Genchips lässt sich somit das Transkriptom des zu untersuchenden Organismus, der unter bestimmten Bedingungen angezüchtet wurde, entsprechend dem Muster und der Intensität der fluoreszierenden Flecken, die sich gebildet haben, erfassen.

Anwendung der Genchips: Die Genexpression

Mit den Genchips kann man abhängig von den auf dem Chip aufgebrauchten Genen viele verschiedene Untersuchungen durchführen. Die globale Genexpression wird untersucht, indem man eine Reihe von Oligonucleotiden einsetzt, die zu jedem Gen in dem Genom komplementär sind, und indem man die Gesamt-mRNA als Sonde verwendet (Abbildung 12.10b). Alternativ zu dieser Vorgehensweise kann man die Expression spezifischer Gengruppen unter verschiedenen Wachstumsbedingungen vergleichen. Die Fähigkeit, die gleichzeitige Expression von Tausenden von Genen zu analysieren, bietet ein enormes Potenzial, die Komplexitäten des Metabolismus und der Regulation zu erfassen. Dies trifft sowohl auf „einfache“ Organismen zu, wie Bakterien, als auch auf höhere Eukaryoten.

Der Genchip von *S. cerevisiae* (Abbildung 12.10b) wurde dazu benutzt, die Stoffwechselkontrolle dieses für die Industrie wichtigen Organismus zu untersuchen. Hefen können mittels Fermentation oder durch Atmung wachsen. Unter Einsatz der Transkriptomanalyse kann man ermitteln, welche

Gene an- und welche abgeschaltet werden, wenn die *Hefezelle* vom fermentativen (anaeroben) zum respiratorischen (aeroben) Stoffwechsel übergeht und umgekehrt. Transkriptomanalysen der Genexpression zeigen, dass die Hefe, wenn sie von der anaeroben zu aeroben Lebensweise überwechselt, eine wesentliche „Umprogrammierung“ ihres Stoffwechsels durchmacht. Eine Reihe von Genen, die die Ethanolbildung (das wichtigste Gärungsprodukt) kontrollieren, werden stark reprimiert, während die Gene für den Citratzyklus (notwendig für das aerobe Wachstum) durch den Umschaltvorgang stark aktiviert werden. Insgesamt werden während des Übergangs von einem metabolischen Zustand in den anderen mehr als 700 Gene an- und mehr als 1000 Gene abgeschaltet. Darüber hinaus konnte während des Übergangs von der Gärung zur Atmung unter Einsatz von Microarrays das Expressionsmuster vieler Hefegene mit noch unbekannter Funktion verfolgt werden, woraus man Schlüsse auf ihre mögliche Funktion ziehen konnte. Gegenwärtig gibt es keine zweite Methode, die so viele Informationen über die Genexpression liefert wie die Microarraytechnik.

Ein weiteres wichtiges Einsatzgebiet der DNA-Microarrays ist der Vergleich von Genen eng verwandter Organismen. Mit Hilfe dieser Technik konnte man nachvollziehen, wie pathogene Bakterien aus ihren harmlosen Verwandten hervorgingen. In der Humanmedizin werden Microarrays eingesetzt, um den Genverlust oder die Genverdopplung in Krebszellen zu beobachten.

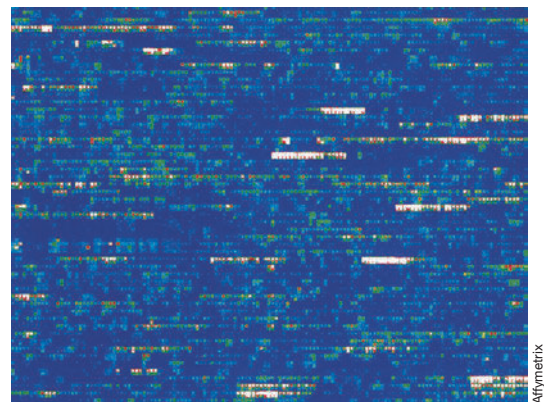
Anwendungen bei der Identifizierung

Neben ihrer Anwendung bei der Untersuchung der Genexpression können Microarrays auch zur Identifizierung von Mikroorganismen verwendet werden. Bei dieser Vorgehensweise enthält das Microarray eine Reihe charakteristischer DNA-Sequenzen vieler Organismen oder Viren. So kann man die Hybridisierungsmuster zwischen eng verwandten Stämmen unterscheiden. Dies erlaubt die sehr schnelle Identifizierung pathogener Viren oder Bakterien in klinischem Probenmaterial oder den Nachweis dieser Organismen in verschiedenen anderen Substanzen, wie zum Beispiel Lebensmitteln. So wurden solche Chips beispielsweise in der Nahrungsmittelindustrie eingesetzt, um spezielle Pathogene wie *Escherichia coli* O157:H7 nachzuweisen.

In der Umweltmikrobiologie dienen Microarrays dazu, die mikrobielle Vielfalt einzuschätzen. Die so genannten Phylochips enthalten Oligonuc-



(a)



(b)

Abbildung 12.10: Nutzung von Genchips zur Messung der Genexpression. (a) Der Humangenomchip, der über 40.000 Genfragmente enthält. (b) Ein Chip nach erfolgter Hybridisierung. Das Foto zeigt Fragmente, die ein Viertel des gesamten Genoms der Bäckerhefe *Saccharomyces cerevisiae* abdecken, verankert auf der Oberfläche eines Genchips. Von jedem Gen gibt es mehrere Kopien. Jedes Gen wurde mit Sonden mit fluoreszenzmarkierter mRNA in Kontakt gebracht. Die mRNA wurde aus Hefezellen, die unter bestimmten Bedingungen angezüchtet wurden, gewonnen. Der Hintergrund des Chips ist blau. Stellen, an denen es zur Hybridisierung von cDNA gekommen ist, werden durch eine Abstufung von Farben wiedergegeben. Die maximale Hybridisierungsstärke wird durch die Farbe Weiß angezeigt. Da die Position der unterschiedlichen Gene auf dem Chip bekannt ist, gibt der Chip nach Abtastung die in dieser Situation von der Zelle exprimierten Gene zu erkennen.

leotide, die zu den 16S-rRNA-Sequenzen verschiedener bakterieller Spezies komplementär sind. Nachdem man eine große Menge DNA oder RNA aus dem Lebensraum entnommen hat, kann man das Auftreten von Lebewesen oder deren Fehlen in dem Lebensraum durch Hybridisierung oder Nichthybridisierung auf dem Chip nachweisen.

DNA-Chips dienen aber auch der Identifizierung höherer Lebewesen. Ein im Handel erhältlicher Chip mit der Bezeichnung FoodExpert-ID ent-

hält 88.000 Genfragmente von Wirbeltieren und wird in der Nahrungsmittelindustrie eingesetzt, um sicherzustellen, dass die Lebensmittel nicht kontaminiert sind. So kann mit diesem Chip überprüft werden, ob das auf dem Etikett angegebene Fleisch tatsächlich enthalten ist. Man kann auch den Zusatz von anderem Fleisch, das dem Lebensmittel zusätzlich beigegeben wurde, oder Ersatzstoffe nachweisen. Diese Arbeiten haben immer zum Ziel, für jedes Lebensmittelprodukt einen „Identitätsnachweis“ zu erstellen, auf dem all die tierischen Spezies aufgeführt werden, die man in dem Lebensmittelprodukt nachweisen konnte. Damit möchte man das Vertrauen der Verbraucher in die Unversehrtheit der von ihnen gekauften Lebensmittel gewinnen. Der FoodExpert-ID kann auch dazu eingesetzt werden, Nebenprodukte von Wirbeltieren in Tiernahrung nachzuweisen, was in zunehmendem Maße zu großer Sorge Anlass gibt, seitdem von Prionen übertragene Krankheiten wie zum Beispiel Rinderwahn aufgetreten sind (siehe Abschnitt 9.4.3).

Mini-Quiz

- Was leisten Microarrays im Hinblick auf die Analyse der Genexpression, was im Vergleich der Test eines einzelnen, bestimmten Enzyms nicht leisten kann?
- Warum kann es nützlich sein, zu wissen, wie die Genexpression des gesamten Genoms sich als Reaktion auf eine bestimmte Bedingung in der Umwelt verändert?

12.2.2 Proteomik und das Interaktom

Welche Gene werden exprimiert und ergeben tatsächlich Proteinprodukte und welche Funktion erfüllen diese Proteine? Die genomweite Untersuchung der Struktur, Funktion und der Regulation der Proteine eines Organismus wird als **Proteomik** bezeichnet.

Die Anzahl und die Arten von Proteinen, die in einer Zelle vorliegen, ändern sich als Reaktion eines Lebewesens auf seine Umwelt und andere Faktoren, wie Entwicklungsprozesse. Daher wurde der Begriff **Proteom** leider zweideutig. Im weiteren Sinn bezieht sich der Begriff Proteom auf *alle* Proteine, die das Genom eines Organismus kodiert. Im engeren Sinn bezieht sich der Begriff Proteom auf diejenigen Proteine, die zu *einem bestimmten Zeitpunkt* in einer Zelle enthalten sind.

Methoden der Proteomik

Das erste wichtige Verfahren der Proteomik wurde vor Jahrzehnten entwickelt. Es handelt sich um die Anwendung der *zweidimensionalen* (2D) *Polyacrylamidgelelektrophorese*. Mit dieser Technik kann man alle Proteine, die in einer Zellprobe enthalten sind, trennen, identifizieren und quantifizieren. In ► Abbildung 12.11 sehen Sie ein 2-D-Gel, in dem Proteine von *Escherichia coli* aufgetrennt wurden. In der ersten Dimension (der horizontalen Trennrichtung in der Abbildung) werden die Proteine nach ihrem isoelektrischen Punkt, dem pH-Wert, bei dem die Nettoladung des betreffenden Proteins Null wird, voneinander getrennt. In der zweiten Dimension werden die Proteine so denaturiert, dass jedem Aminosäurerest eine festgelegte elektrische Ladung zufällt. Anschließend werden die Proteine entsprechend ihrer Größe getrennt (in vergleichbarer Weise, wie dies bei DNA-Molekülen geschieht; siehe Abschnitt 11.1.1).

Bei Untersuchungen mit *E. coli* und einigen anderen Organismen wurden Hunderte von Proteinen, die durch 2-D-Elektrophorese aufgetrennt wurden, durch biochemische oder genetische Methoden identifiziert und ihre Regulation unter verschiedenen Bedingungen untersucht. Mittels der 2-D-Gel-Methode kann das Auftauchen oder Verschwinden eines bestimmten Proteins unter verschiedenen Wachstumsbedingungen untersucht und mit Signalen aus der Umwelt in Beziehung gesetzt werden. Eine Methode, um ein unbekanntes Protein mit einem bestimmten Gen mit der 2-D-Gel-Methode in Verbindung zu bringen, besteht darin, das Protein aus dem Gel zu isolieren und einen Teil davon zu sequenzieren, im Allgemeinen den N-Terminus. In jüngster Zeit hat man aus dem Gel gereinigte Proteine mit Hilfe der *Massenspektrometrie* identifiziert (siehe Abschnitt 12.2.3), im Allgemeinen nach vorherigem Abbau, um eine charakteristische Reihe von Peptiden zu erhalten. Diese Sequenzinformation reicht meistens aus, um das Protein vollständig zu identifizieren. Alternativ können Teile der Sequenzdaten dazu verwendet werden, Oligonucleotidsonden oder Primer zu konstruieren, um das Gen, das das Protein kodiert, in genomischer DNA durch Hybridisierung oder PCR zu lokalisieren. Nach erfolgter Sequenzierung der DNA kann das Gen identifiziert werden.

Heutzutage arbeitet man zur Trennung von Proteinmischungen in zunehmendem Maße mit der Flüssigkeitschromatographie. Bei der Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie (HPLC) wird die

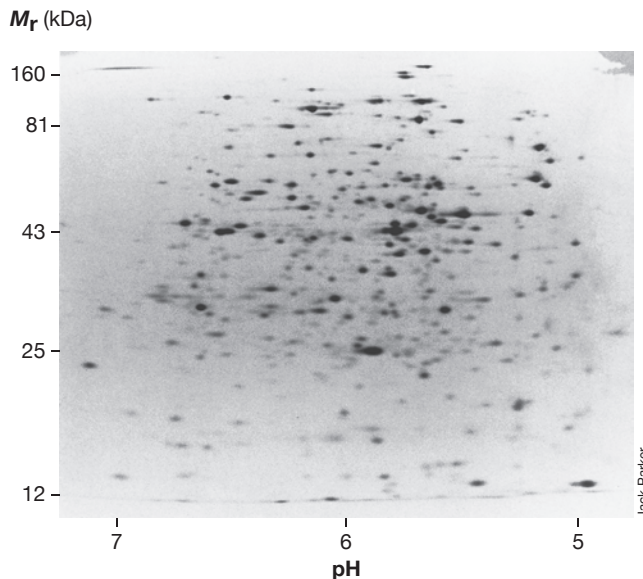


Abbildung 12.11: Zweidimensionale Polyacrylamidgelelektrophorese von Proteinen. Autoradiogramm der Proteine von Zellen von *Escherichia coli*. Jeder Fleck auf dem Abbild des Gels repräsentiert ein anderes Protein. Die Proteine werden radioaktiv markiert, um sie sichtbar zu machen und zu quantifizieren. Die Proteine wurden in der ersten Dimension (X-Richtung) unter denaturierenden Bedingungen durch isoelektrische Fokussierung aufgetrennt. In der zweiten Dimension (Y-Richtung) wurden die denaturierten Proteine nach ihrer Masse aufgetrennt (M_r ; in Kilodalton). Die größten Proteine liegen im oberen Bereich des Gels.

Probe in einer geeigneten Flüssigkeit aufgelöst und unter Druck durch eine Säule geleitet, in der sich ein Material mit einer stationären Phase befindet, das die Proteine entsprechend ihrer chemischen Eigenschaften trennt, zum Beispiel nach ihrer Größe, Ionenladung oder Hydrophobizität. Während die Mischung durch die Säule läuft, wird sie durch Wechselwirkung der Proteine mit der stationären Phase getrennt. Am Ende der Säulen werden die Fraktionen aufgefangen. Proteasen bauen die Proteine jeder Fraktion ab, so dass die Peptide anschließend mit Hilfe der Massenspektrometrie identifiziert werden können.

Vergleichende Genomik und Proteomik

Obwohl die Proteomik oft mit intensiver experimenteller Arbeit verbunden ist, können *In-silico*-Techniken ebenfalls recht fruchtbar sein. Nach der Sequenzierung des Genoms eines Organismus kann das Genom mit dem anderer Organismen verglichen werden, um Gene zu identifizieren, die bereits bekannten Genen ähnlich sind. Hierbei ist die Aminosäuresequenz der kodierten Proteine die wichtigste Sequenz. Auf Grund der Entartung des genetischen Codes (siehe Abschnitt 6.5.2) führen Unterschiede in der DNA-Sequenz nicht notwendigerweise zu Unterschieden in der Aminosäuresequenz (► Abbildung 12.12).

Proteine mit mehr als 50 % Sequenzidentität haben häufig ähnliche Funktionen. Proteine mit mehr als 70 % Sequenzidentität zueinander haben sehr sicher ähnliche physiologische Funktionen. Viele Proteine bestehen aus unterschiedlichen

strukturellen Modulen, den so genannten Proteindomänen, von denen jede charakteristische Funktionen übernimmt. Zu diesen Funktionsbereichen gehören beispielsweise Metall- und Nucleotidbindungsdomänen oder Domänen für bestimmte Klassen von Enzymaktivität, wie die Helikase oder die Nuclease. Die Identifizierung von Domänen mit bekannter Funktion innerhalb eines Proteins kann viel Aufschluss über dessen Funktion liefern, sogar wenn keine vollständige Sequenzhomologie vorliegt.

Die strukturelle Proteomik befasst sich mit der Bestimmung der dreidimensionalen (3D) Struktur von Proteinen im gesamten Proteom. Zur Zeit ist es noch nicht möglich, die 3D-Struktur von Protei-

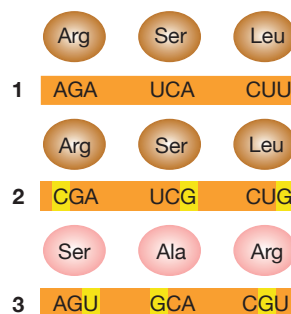


Abbildung 12.12: Vergleich der Ähnlichkeiten von Nucleinsäure- und Aminosäuresequenz. In der Abbildung sehen Sie drei verschiedene Nucleotidsequenzen (aus praktischen Gründen sind RNA-Sequenzen abgebildet). Sowohl Sequenz Nr. 2 als auch Nr. 3 weichen von Sequenz Nr. 1 nur in drei Positionen ab. Die von 1 und 2 kodierten Aminosäurefolgen sind identisch, während die von 3 kodierte Aminosäuresequenz mit den anderen beiden nicht verwandt ist.

nen direkt aus ihren Aminosäuresequenz zu ermitteln. Man ist allerdings in der Lage, die Strukturen unbekannter Proteine zu modellieren, wenn für ein Protein eine 3D-Struktur zur Verfügung steht, deren Identität zu mindestens 30 % der Identität der Aminosäuresequenz entspricht.

Die Verknüpfung von Proteomik und Genomik liefert wichtige neue Hinweise darauf, wie in unterschiedlichen Organismen die Genexpression mit Einflüssen aus der Umwelt in Beziehung steht. Solche Informationen haben nicht nur große Bedeutung für die Grundlagenforschung, sondern auch für mögliche Anwendungen. Zu diesen zählen Fortschritte in der Medizin, dem Umweltschutz und der Landwirtschaft. Auf all diesen Gebieten könnte ein besseres Verständnis, wie das Genom und das Proteom miteinander verknüpft sind und wie sie reguliert werden, dem Menschen nie zuvor dagewesene Möglichkeiten geben, Krankheiten und Umweltverschmutzung zu bekämpfen, aber auch die landwirtschaftliche Produktivität zu steigern.

Das Interaktom

Analog zu den Begriffen „Genom“ und „Proteom“ bezieht sich der Begriff „**Interaktom**“ auf alle Wechselwirkungen zwischen den Makromolekülen in einer Zelle. Ursprünglich bezog man sich mit dem Begriff Interaktom auf die Wechselwirkungen zwischen Proteinen, die Komplexe bilden. Man kann jedoch auch die Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Klassen von Molekülen untersuchen, wie zum Beispiel das Protein-RNA-Interaktom.

Die Daten von Interaktomen werden in Form von Netzwerkdiagrammen dargestellt, wobei jeder Knotenpunkt ein Protein darstellt und die Verbindungslinien zwischen diesen Punkten die Wechselwirkungen. Die Diagramme ganzer Interaktome sind außerordentlich komplex und höchst schwierig zu interpretieren. Teile von Interaktomen haben sich als nützlicher erwiesen, wie das Netzwerk der Proteine für die Beweglichkeit von *Campylobacter jejuni* (► Abbildung 12.13). In Abbildung 12.13a sind die wichtigsten Wechselwirkungen zwischen gut bekannten Bestandteilen des chemotaktischen Systems dargestellt (siehe Abschnitt 8.3.2) und Abbildung 12.13b stellt alle anderen Proteine dar, die mit diesen interagieren. Gegenwärtig sind die meisten größeren Interaktome noch unzureichend ausgewertet, wobei man mit verschiedenen Methoden einander sich widersprechende Ergebnisse erzielt.

Mini-Quiz

- Warum ist der Begriff „Proteom“ mehrdeutig, aber der Begriff „Genom“ nicht?
- Welches sind die am häufigsten verwendeten Methoden, um das Proteom experimentell zu untersuchen?
- Was ist das Interaktom?

12.2.3 Metabolomik

Das **Metabolom** ist die Gesamtheit aller metabolischen Zwischenprodukte sowie weiterer kleiner Moleküle, die in einem Organismus gebildet werden. Die Metabolomik stand vor allem wegen der sehr großen chemischen Vielfalt kleiner Metabolite im Schatten der anderen „omiks“. Diese Tatsache stellt an eine systematische Durchmusterung große technische Anforderungen. Die ersten Analysen erfolgten mit der Nuklearmagnetresonanzmethode (NMR), bei der Zellextrakte mit ^{13}C -Glucose markiert wurden. Diese Methode ist leider nur von begrenzter Sensitivität und die Anzahl von Verbindungen, die gleichzeitig in einer Mischung identifiziert werden können, reicht nicht aus, um ganze Zellextrakte aufzulösen.

Die erst in jüngster Zeit entwickelte Variante der Massenspektrometrie ist in der Metabolomik der vielversprechendste Ansatz. Bei diesem Verfahren beschränkt man sich nicht auf eine bestimmte Klasse von Molekülen; zudem zeichnet es sich durch besondere Sensitivität aus. Die Masse des C_{12} -Kohlenstoffs ist genau als die 12 molekularen Masseeinheiten definiert (Daltons). Die Massen anderer Atome, wie zum Beispiel Stickstoff-14 und Sauerstoff-16, sind nicht genau ganze Zahlen. Mit Hilfe der Massenspektrometrie und extrem hoher Massenauflösung, die nun dank sehr guter Geräte möglich ist, kann man die molekulare Formel eines jeden kleinen Moleküls eindeutig bestimmen. Sicherlich haben Isomere die gleiche molekulare Formel, man kann sie aber entsprechend ihres Brechungsmusters bei der Massenspektrometrie voneinander unterscheiden. Mittels dieses Verfahrens werden bei der Proteomanalyse Peptidfragmente abgebauter Proteine identifiziert (siehe Abschnitt 12.2.2). In diesem Fall kann man nach dem Identifizieren mehrerer Oligopeptide auf die Identität des Elternproteins schließen, vorausgesetzt, dass die Aminosäuresequenz bekannt ist.

Bei der MALDI-Version (*matrix-assisted laser desorption ionization*) der Massenspektrometrie

Copyright

Daten, Texte, Design und Grafiken dieses eBooks, sowie die eventuell angebotenen eBook-Zusatzdaten sind urheberrechtlich geschützt. Dieses eBook stellen wir lediglich als **persönliche Einzelplatz-Lizenz** zur Verfügung!

Jede andere Verwendung dieses eBooks oder zugehöriger Materialien und Informationen, einschließlich

- der Reproduktion,
- der Weitergabe,
- des Weitervertriebs,
- der Platzierung im Internet, in Intranets, in Extranets,
- der Veränderung,
- des Weiterverkaufs und
- der Veröffentlichung

bedarf der **schriftlichen Genehmigung** des Verlags. Insbesondere ist die Entfernung oder Änderung des vom Verlag vergebenen Passwortschutzes ausdrücklich untersagt!

Bei Fragen zu diesem Thema wenden Sie sich bitte an: info@pearson.de

Zusatzdaten

Möglicherweise liegt dem gedruckten Buch eine CD-ROM mit Zusatzdaten bei. Die Zurverfügungstellung dieser Daten auf unseren Websites ist eine freiwillige Leistung des Verlags. **Der Rechtsweg ist ausgeschlossen.**

Hinweis

Dieses und viele weitere eBooks können Sie rund um die Uhr und legal auf unserer Website herunterladen:

<http://ebooks.pearson.de>