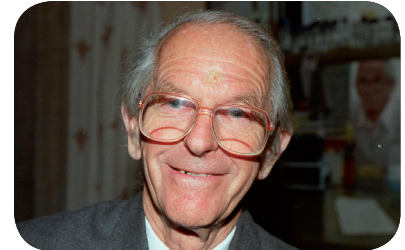


Wenn die Welt an einem Strang zieht: Das **HUMANGENOMPROJEKT (HGP)** – Teil 1

» Mitte der achtziger Jahre schien die Zeit gekommen für ein Projekt, dessen Ausmaß alles in den Schatten stellen sollte, was es bis dahin auf dem Gebiet der Biowissenschaften gegeben hatte: die Kartierung der gesamten genetischen Information des Menschen, um schließlich alle Gene auf dem etwa 3,2 Milliarden Basenpaaren langen DNA-Faden der 23 Chromosomen identifizieren zu können. Vergleichbar war dieses Vorhaben mit den Anstrengungen der Amerikaner und Sowjets, den ersten Menschen auf dem Mond landen zu lassen. In den dabei siegreichen USA nahm auch die „Mondfahrt der Biologie“ ihren Anfang – und wie damals wurde das Vorhaben zu einem Wettlauf der Systeme.

Der Molekularbiologe Robert Sinsheimer, Kanzler der Universität von Kalifornien in Santa Cruz und als solcher gewohnt, für die Physik und Astronomie große Summen einzuwerben, hatte den Stein 1985 ins Rollen gebracht: Die Biologen dachten jetzt „groß“. 1988 wurde zunächst die Human Genome Organisation (HUGO) gegründet – als unabhängiger Verein aus Wissenschaftlern und Genomforschungseinrichtungen. HUGOs Aufgabe: Koordinierung der in aller Welt verteilten Arbeitsgruppen. Das eigentliche Humangenomprojekt (HGP) nahm 1990 als ein öffentliches, vorwiegend amerikanisches Großforschungsprojekt seine Arbeit auf. Schnell wurde daraus ein loser Verbund nationaler Genomforschungsprojekte aus circa 50 verschiedenen Ländern. Rund 60 Prozent der Arbeit übernahmen verschiedene Sequenzierzentren in den USA. Auf das britische Sanger-Zentrum entfiel ein Viertel der Aufgabe. An die verbleibenden Sequenzen machten sich vornehmlich Genomforscher aus Frankreich, Japan, China und Deutschland. Bis 2005 sollte die Arbeit erledigt werden, so der Plan. Die Gesamtkosten dafür: rund 3 Milliarden Dollar – also einer pro Basenpaar!

Den Glauben, dass ein solches Vorhaben überhaupt in einem überschaubaren Zeitraum von 15 Jahren bewältigt werden kann, befeuerten neue Arbeitsmethoden, die seit den siebziger Jahren die Genetik zur Gentechnologie gewandelt hatten: Dank molekularer DNA-Scheren wie der Restriktionsenzyme waren Genetiker in der Lage, das Riesenmolekül DNA gezielt in handhabbare Fragmente zu zerlegen. Vorher verknäuelte sich der Erbsubstanzfaden bei der Laborarbeit so, dass er nicht mehr zu gebrauchen war. Oder die DNA zerfiel den Wissenschaftlern förmlich unter den Händen. Restriktionsenzyme – und Ligasen als DNA-Kitt – ermöglichten die Technik der künstlichen Rekombination. So hatten Genetiker zum ersten Mal ein Instrument in der Hand, DNA-Fragmente in Bakterien einzuschleusen. Die Technik des Klonierens war geboren. Die Fragmente konnten auf diese Weise gezielt für weitere Untersuchungen vervielfältigt oder in Genbibliotheken – auch Genbanken genannt – gespeichert werden. Hinzu kam die 1983 erfundene Polymerase-Kettenreaktion (PCR) mit der DNA-Abschnitte nach dem Prinzip der Replikation sogar maschinell kopiert werden können.



Frederick Sanger
Foto: picture-alliance/Photoshot

GENie: Der Brite **Frederick Sanger hat zwei Nobelpreise**. Er ist DER Sequenzierexperte der Wissenschaftsgeschichte: 1977 erfand er mit dem Kettenabbruchverfahren eine leistungsfähige Methode zur Bestimmung der Basenfolge von DNA. Bereits 1955 hatte er Pionierarbeit geleistet und als Erster überhaupt die Aminosäuresequenz eines Proteins – Insulin – sequenziert. Für beide Arbeiten bekam er den Chemie-Nobelpreis: den ersten 1958, den zweiten – zusammen mit Walter Gilbert und Paul Berg – 1980.

GENial: Sie ist die Druckerstraße für DNA: die **Polymerase-Kettenreaktion (PCR)**.

Aus dem in heißen Quellen lebenden Bakterium *Thermus aquaticus* stammt die Polymerase (Taq), die bei der PCR (engl.: Polymerase Chain Reaction) DNA-Abschnitte im Reaktionsgefäß vervielfältigt. Die beiden Stränge des betreffenden DNA-Abschnitts werden zunächst bei 95 Grad Celsius getrennt: Die DNA wird geschmolzen. Dann wird die Temperatur auf 72 Grad Celsius gesenkt, sodass sich Primer an die Einzelstränge anlagern können. Schließlich vervollständigt die Taq-Polymerase wie bei der Replikation in einer Zelle den komplementären Strang. Aus zwei Strängen werden vier, dann acht, 16, Nach einer Stunde haben moderne PCR-Maschinen – Thermocycler genannt – aus zwei Strängen mehr als eine Milliarde Kopien gemacht. Im Slang der Wissenschaftler heißt das: die DNA wurde amplifiziert (vervielfältigt). Für diese Erfindung gab es selbstverständlich einen Nobelpreis: **Kary Mullis** bekam ihn 1993 in der Sparte Chemie.

Der Brite Frederick Sanger ersann 1977 schließlich ein Sequenzierverfahren für die DNA. Der Clou der Methode waren Nukleotidbausteine, die so verändert waren, dass nach ihrem Einbau in die DNA keine weiteren Nukleotide mehr angehängt werden konnten: Die Kette brach ab. Sanger verteilte die zu sequenzierende einzelsträngige DNA zusammen mit DNA-Polymerase und einem Primermolekül auf vier Reaktionsansätze. Diese enthielten neben allen vier normalen Nukleotidbausteinen T, C, A und G aber auch jeweils ein Abbruchnukleotid – und zwar in jedem Ansatz ein anderes. Als Ergebnis erhielt Sanger in jedem Ansatz ein Gemisch unterschiedlich langer DNA-Stränge, von denen er jeweils das letzte Nukleotid kannte: das Abbruchnukleotid mit der Base A, T, C oder G. Werden die DNA-Stränge jedes Ansatzes nun durch Elektrophorese der Länge nach getrennt, lässt sich die Basenfolge direkt ablesen. Mit dem Sequenzierverfahren von Sanger lassen sich DNA-Fragmente sequenzieren die maximal 600 bis 900 Basenpaare lang sind. Sanger ermittelte auf diese Weise das 5.386 Basenpaare lange Genom eines Bakteriophagen.

GENial: Bakterien sind die lebenden Safes einer **Genbank**. Sie sind die Träger-Organismen, die in ihrem Inneren auch kurze DNA-Fragmente des Menschen beherbergen können. Vermehren sie sich, geben sie die eingeschleuste Fremd-DNA an die Tochterzellen weiter.

AUFGABEN:

1. Beantworten Sie die folgenden Fragen zur Polymerase-Kettenreaktion (PCR). Kreuzen Sie die richtige Lösung an.

a) Was gehört nicht in einen PCR-Ansatz?

- tRNA
- Primer
- dNTPs

b) Welche ist die optimale Synthese-Temperatur der Taq-Polymerase?

- 62 °C
- 72 °C
- 82 °C
- 92 °C

c) Was wird für die PCR nicht benötigt?

- Taq-Polymerase
- Primer
- Nukleotide
- RNA

d) Entscheiden Sie, wo die Schritte der PCR in der richtigen Reihenfolge angegeben sind?

- Primer-Bindung, Denaturierung der DNA, Synthese durch Taq-Polymerase
- Denaturierung der DNA, Synthese durch Taq-Polymerase, Primer-Bindung
- Denaturierung der DNA, Primer-Bindung, Synthese durch Taq-Polymerase
- Synthese durch Taq-Polymerase, Primer-Bindung, Denaturierung der DNA

e) Wählen Sie die Primer für die Vervielfältigung folgender DNA aus:

5'AGGTA.....TTGAT3'
3'TCCAT.....AACTA5'

- 5'AGGTA3' und 5'TTGAT3'
- 5'AGGTA3' und 5'ATCAA3'
- 5'AGGTA3' und 5'TACCT3'
- 5'TACCT3' und 5'TTGAT3'

f) Wie viele optimal verlaufende Zyklen werden benötigt, um mithilfe der PCR aus einem DNA-Doppelstrang 16 Doppelstränge zu erhalten?

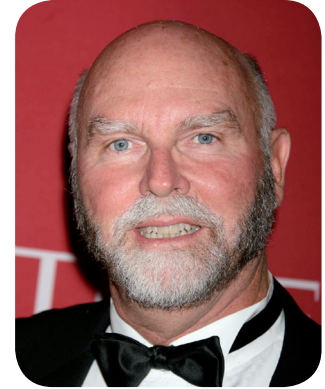
- Es werden 2 benötigt
- Es werden 4 benötigt
- Es werden 6 benötigt
- Es werden 8 benötigt

2. Sie wurden zum Leiter des HGP berufen. Benutzen Sie die im Text vorgestellten gentechnischen Verfahren und entwerfen Sie eine Strategie, wie das gesamte Genom (ca. 3,2 Milliarden Basenpaare) des Menschen sequenziert werden könnte. Bedenken Sie, dass nur relativ kurze Abschnitte der DNA sequenziert werden können.

Wenn die Welt an einem Strang zieht: Das **HUMANGENOMPROJEKT (HGP)** – Teil 2

» „Teile und herrsche“, hieß das Motto der HGP-Forscher, um das 3,2 Milliarden Basenpaare große Genom in den Griff zu bekommen. Um die Aufgabe bewältigen zu können, waren im Wesentlichen die drei folgenden Schritte notwendig: Schneiden, Sequenzieren und Zusammensetzen (Assemblierung). Die HGP-Forscher zerlegten zunächst das Genom mit Restriktionsenzymen in Fragmente definierter Größe. Anschließend vermehrten sie diese DNA-Bruchstücke in Bakterien – sie klonierten die menschlichen DNA-Stücke und legten eine Genbank an. Die in den Bakterien „gelagerte“ Human-DNA wurde schließlich erneut zerteilt, bis die Stücke die für die Sequenzierung erforderliche Länge hatten. Um die in den Genbanken gelagerten DNA-Fragmente wieder in der richtigen Reihenfolge zusammensetzen zu können, nutzten die HGP-Forscher Chromosomenkarten. Darin war die Lage der Fragmente mithilfe von Markern verzeichnet. Der zusammengesetzte DNA-Abschnitt wird als Sequenz-Contig bezeichnet. Das Verfahren war jedoch zeitraubend. Bis 1998 wurden auf diese Weise gerade mal drei Prozent des Genoms sequenziert.

Zu diesem Zeitpunkt kündigte Craig Venter an, mit seiner Firma Celera Genomics das komplette menschliche Genom bis 2001 im Alleingang zu entschlüsseln. Dadurch legten auch die Forscher des HGP einen Zahn zu: Zeitgleich mit Venter sollten sie später über die Ziellinie gehen. Venter bevorzugte ein anderes, weniger elegantes, aber schnelleres Verfahren, um an die Sequenz der DNA zu kommen: Es ging als Schrotschuss-Methode in die Wissenschaftsgeschichte ein. Er setzte auf größtmögliche Automatisierung und die geballte Rechenkraft seiner Computer: Nicht mit Schneideenzymen sondern mit mechanischer Gewalt (Ultraschall) wollte er die DNA zerlegen – in zufällig entstehende Fragmente, die klein genug sind, um komplett oder an ihren beiden Enden sequenziert zu werden. Den Zusammenbau des Sequenz-Contigs sollten die Rechner übernehmen. Auf die mühevollen Kartierung glaubte er verzichten zu können – ein Irrtum, wie sich inzwischen herausgestellt hat. Was bei Fliegen und Bakterien funktioniert hatte, führte beim Menschen nicht zum Ziel. Der Grund: Hochrepetitive – sich ständig wiederholende – DNA-Abschnitte machen 40 Prozent des Humangenoms aus. Ohne die Karten des HGP verloren Venters Rechner die Orientierung. Beide Seiten arbeiteten daraufhin teilweise zusammen. Mit Erfolg: Bereits im Juni 2000 wurde die „Arbeitsversion“ des Humangenoms angekündigt. Am 12. Februar 2001 wurde sie veröffentlicht – die Biologen waren auf dem Mond gelandet.



Craig Venter
Foto: picture-alliance/dpq

GENi e : Craig Venter hatte den TIGR im Tank – und verlieh der Genomforschung Flügel. Über seine Leistung streiten sich zwar die Experten. Auf jeden Fall hat der unkonventionelle Wissenschaftler die Genomforschung beschleunigt. Nachdem der Gründer des privaten „The Institute of Genomic Research“ (TIGR) 1998 die Firma Celera aus der Taufe gehoben hatte, kündigte er an, das Genom des Menschen sequenzieren zu wollen. Venter widmet sich inzwischen der Synthetischen Biologie. Sein Ziel: das erste künstliche Bakterium zum Leben zu erwecken.

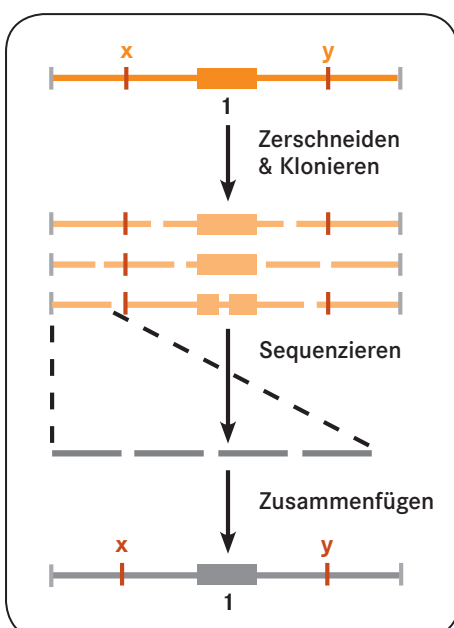


Abbildung 1: Das vom Humangenomprojekt angewendete „Klon-für-Klon-Verfahren“ zur Sequenzierung des Humangenoms basiert auf drei Arbeitsschritten. Zuerst wird die DNA eines Chromosoms mit Restriktionsenzymen zerschnitten. Die Fragmente werden anschließend kloniert und später weiter zerschnitten. Sequenziert werden schließlich DNA-Fragmente, die rund 500 Basenpaare lang sind. Der dritte Schritt ist die Assemblierung: das Zusammensetzen der Chromosomen-DNA aus den Einzelteilen. Dies gelingt mithilfe der überlappenden Bereiche an den Enden der Fragmente und dank Markern (x und y), deren Positionen auf dem Chromosom bekannt sind.

Grundla GEN: Innerhalb von 24 Stunden mussten HGP-Wissenschaftler ihre Ergebnisse der Öffentlichkeit zur Verfügung stellen und im Internet publizieren. Das legte die sogenannte **Bermuda-Konvention** fest. Die Ergebnisse sollten dadurch von allen interessierten Unternehmen und Forschergruppen sofort genutzt werden können. Konkurrent Celera lies sich dagegen nicht in die Karten schauen: Die Sequenzen sollten Geld bringen und lukrative Gene patentiert werden.

AUFGABEN:

- 3. Diskutieren Sie die Unterschiede sowie die Vor- und Nachteile der Sequenziermethoden des HGP und von Venter/Celera.
- 4. Ergänzen Sie mithilfe des Textes und durch eigene Recherche die rechte Spalte der nachfolgenden Tabelle:

Frage	Antwort
Anzahl der Nukleotide des menschlichen Genoms:	
Gesamtlänge der DNA:	
Anzahl der Gene des Menschen:	
Anzahl der Gene der Fruchtfliege:	
Anzahl der Länder, die sich an der Sequenzierung des menschlichen Genoms beteiligten:	
Kosten der Sequenzierung:	
Sequenziergeschwindigkeit (Basenpaare pro Tag) zu Beginn des Humangenomprojekts:	
Durchschnittlicher prozentualer Unterschied zwischen dem Erbgut zweier Menschen:	
Durchschnittlicher prozentualer Unterschied zwischen dem Erbgut von Menschen und Schimpanse:	