

1 Modellorganismen

Wesentliche biologische Erkenntnisse der letzten Jahrzehnte wurden an Modellorganismen gewonnen. Sie sind dadurch gekennzeichnet, dass sie für die Laborarbeit genetisch angepasst wurden und viele Mutanten dieser Organismen bekannt sind. Diese dienen als genetische Marker und können zusammen mit Daten der Genomsequenzierung zur Beantwortung von entwicklungsbiologischen, physiologischen oder morphologischen Fragestellungen genutzt werden.

Typische Beispiele für Modellorganismen sind die Bakterien *Escherichia coli* und *Bacillus subtilis*, die Bäckerhefe *Saccharomyces cerevisiae*, die Schimmelpilze *Neurospora crassa* und *Sordaria macrospora*, die Grünalge *Chlamydomonas reinhardtii*, die Acker-Schmalwand *Arabidopsis thaliana* sowie die Taufliege *Drosophila melanogaster*, die im Folgenden vorgestellt werden.

Neben der Angabe der systematischen Einteilung, der Genomdaten und einer Zeittafel werden folgende Themen, die mit dem Modellorganismus in Zusammenhang stehen, angesprochen: historisch wichtige Ergebnisse, der Lebenszyklus, wesentliche technische Entwicklungen, generelle biologische Fragestellungen und genetische Ressourcen.

1.1 *Escherichia coli*

«*Tout ce qui est vrai pour le Colibacille est vrai pour l'éléphant.*»

Jacques Monod, 1972

Die Klassifizierung von Bakterien berücksichtigt heutzutage — wie auch für Pflanzen und Tiere — weitgehend die natürlichen Abstammungs- und Verwandtschaftsverhältnisse. Eines der ältesten, aber heute noch gebräuchlichen, Einteilungskriterien ist die Gramfärbung. Sie basiert auf Unterschieden in der Zellwandstruktur (Abb. 1.1.1). Grampositive Bakterien behalten bei Anfärbung mit Kristallviolett/Jod den blauschwarzen Farbstoffkomplex nach

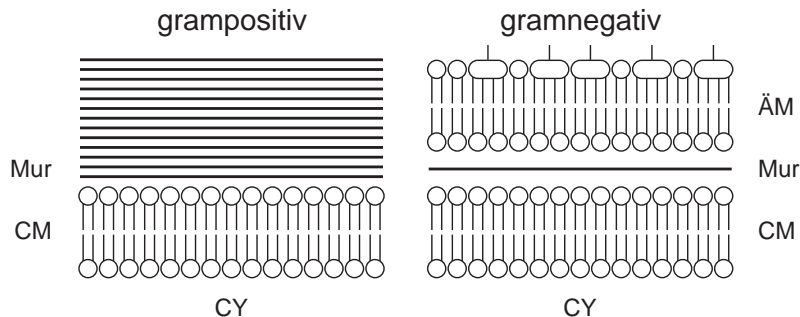


Abb. 1.1.1. Schematische Darstellung des Zellwandaufbaus bei Bakterien. Bakterien lassen sich durch die Gramfärbung in grampositiv und gramnegativ differenzieren. Grampositive Zellhüllen bestehen aus einer Cytoplasmamembran (CM) die das Cytoplasma (CY) umgibt und einem vielschichtigen Mureinsacculus (Mur). Gramnegative Zellhüllen besitzen sowohl eine Cytoplasmamembran (CM) als auch eine äußere Membran mit Lipopolysacchariden (ÄM), zwischen denen sich der periplasmatische Raum mit einer einschichtigen (maximal zweischichtigen) Mureinschicht (Mur) befindet

Behandlung mit Ethanol, während gramnegative Bakterien entfärbt werden. Typische und genetisch sehr gut charakterisierte Vertreter dieser phylogenetisch sehr divergenten Gruppen sind das gramnegative Darmbakterium *Escherichia coli* und das grampositive Bodenbakterium *Bacillus subtilis*.

E.-coli-Bakterien, Vertreter der Enterobacteriaceae, sind gramnegative, kurze, stumpfe Stäbchen (ca. $0,6 \times 1-2 \mu\text{m}$) mit peritricher Begeißelung, die zur aeroben Atmung und anaeroben Fermentation (fakultativ anaerob) befähigt sind. Sie kommen in der normalen intestinalen Flora des Menschen, anderer Säuger und von Vögeln vor, machen in aller Regel jedoch nur etwa 1 % der mikrobiellen Population aus. Im Erdreich oder Wasser können sie nur kurze Zeit überleben. Neben dem harmlosen *E.-coli*-K12-Stamm und seinen Derivaten, zu denen in aller Regel heutige Laborstämme zählen, existieren jedoch auch pathogene Stämme.

Die Popularität und Eignung als Modellorganismus beruht weniger auf herausragenden Fähigkeiten oder Charakteristika von *E. coli*, sondern vielmehr auf zweckmäßigen Eigenschaften wie einfacher Handhabung, guter Kultivierbarkeit, geringer Virulenz sowie der historischen Bedeutung. Durch die Entdeckung des Austausches von genetischer Information bei *E. coli* (Konjugation) wurde auch der methodische Grundstein für weitere genetische Untersuchungen gelegt. In einem selbstverstärkenden Prozess dienten die erhaltenen Ergebnisse und neu entwickelten Methoden wiederum als Ansporn für neue Forschungen, so dass *E. coli* bis heute als eines der bedeutendsten Modellsysteme der molekularen Biologie und Biotechnologie gilt.

SYSTEMATISCHE EINTEILUNG

Domäne: Bacteria
Phylum: Proteobacteria
Klasse: Gammaproteobacteria
Ordnung: Enterobacteriales
Familie: Enterobacteriaceae
Gattung: *Escherichia*

GENOMSTECKBRIEF

- zirkuläres Genom (Bakterienchromosom, Nukleoid)
- Genomgröße bei *Escherichia coli* K12: 4,64 Mb
- Anzahl der ORFs: 4491
- Gesamtzahl tRNA-Gene: 86, zusätzlich 1 Selenocystein tRNA-Gen und 1 potentielles Pseudogen
- Gesamtzahl rRNA-Gene: 22 in 7 Operons
- G+C-Gehalt: 50,8 %
- Plasmide möglich: episomale DNA, zirkulär, kovalent geschlossen

1.1.1 Historisches

- | | |
|------|--|
| 1885 | Entdeckung durch Theodor Escherich (<i>Bacterium coli commune</i>) |
| 1919 | Umbenennung in <i>Escherichia coli</i> |
| 1925 | Kreuzungsversuche mit Ernährungsmutanten, Veröffentlichung jedoch erst 1937 |
| 1943 | „Fluktuationstest“: Mutationen treten zufällig auf |
| 1946 | erstmalige Beschreibung von parasexuellen Vorgängen bei Bakterien: Konjugation von Auxotrophiemutanten |
| 1947 | Erstellung einer ersten Genkarte durch Kreuzungen und Komplementation |
| 1951 | Entdeckung des Phagen Lambda und der Transduktion |
| 1953 | Identifikation des F-Faktors |
| 1953 | Charakterisierung eines Hfr-Donors |
| 1955 | Erstellung einer Genkarte durch Konjugation und unterbrochene Paarung |

1961	Untersuchung der Regulation des <i>lac</i> -Operons (Operonmodell)
1963	zirkuläres Bakterienchromosom
1973	Herstellung des ersten gentechnisch veränderten Organismus
1982	der pathogene Stamm <i>E. coli</i> O157:H7 tritt erstmals in Erscheinung (Diarrhö und letale Nierenschäden)
1987	komplette Restriktionskarte des <i>E.-coli</i> -Chromosoms
1997	Abschluss der Genomsequenzierung
Dezember 2002	Abschluss der fünften und bisher letzten Genomsequenzierung (<i>E. coli</i> CFT073)

Der Kinderarzt und Bakteriologe Theodor Escherich isolierte und beschrieb im Jahre 1885 erstmals ein von ihm *Bacterium coli commune* genanntes Bakterium, welches 1919 durch A. Castellani und A.J. Chalmers in *Escherichia coli* umbenannt wurde. Erst 1943 begann jedoch mit dem von E. Luria und M. Delbrück durchgeführten Fluktuationstest, welcher die Auffassung von Mutation als einem ungerichteten, vom selektierenden Agens unabhängigen Prozess belegte, die Ära der Bakteriengenetik.

Erste Versuche zur Kreuzung von *E.-coli*-Ernährungsmutanten, die sich in einem Merkmal unterschieden, wurden durch Sherman und Wing 1925 durchgeführt und 1937 veröffentlicht, 1946 konnten dann in stabilen, doppelt auxotrophen *E.-coli*-Mutanten parasexuelle Prozesse gezeigt werden (E.L. Tatum und J. Lederberg). Die Konjugation stellte im Folgenden einen entscheidenden Faktor für die Entwicklung der Bakteriengenetik und Molekularbiologie dar, da sich hierdurch die Möglichkeit zur Genkartierung und gezielten, genetischen Manipulation ergab. Der Austausch genetischen Materials durch Bakteriophagen konnte ebenfalls 1946 durch A. Hershey und M. Delbrück gezeigt werden. Ein Jahr später, 1947, gelang es J. Lederberg und Cavalli und Heslot auf Basis von Kreuzung und Komplementation eine erste, überraschend genaue genetische Karte von *E. coli* (K12) zu erstellen.

Im Rahmen der Untersuchungen zur Mutagenese konnte 1949 von Kelner an UV-Abtötungskurven gezeigt werden, dass Bakterien in der Lage sind, Schäden, die durch UV-Licht hervorgerufen werden, bei Bestrahlung mit sichtbarem Licht zu überleben (Photoreparatur), was 1950 durch Dulbecco bestätigt werden konnte.

Im Jahr 1951 entdeckte Esther Lederberg den temperenten Bakteriophagen Lambda in *E. coli* und J. Lederberg und N. D. Zinder das Phänomen der DNA-Übertragung durch Bakteriophagen (Transduktion). Im Jahr 1952 prägte J. Lederberg den Begriff „Plasmid“. Er charakterisierte Plasmide anhand ihrer

Eigenschaften als episomale, ringförmig geschlossene und autonom replizierende DNA-Moleküle.

Obwohl parasexuelle Prozesse seit 1946 belegt waren, konnte der verantwortliche F-Faktor (*fertility*) erst im Jahr 1953 (Joshua Lederberg, Luigi Cavalli-Sforza und Esther Lederberg) identifiziert und hochfrequent rekombinierende Donorstämme (HFr, *high frequency of recombination*) charakterisiert werden (W. Hayes). Das Wissen um die Fähigkeit von Hfr-Stämmen, Teile ihres Genoms auf die Empfängerzelle zu übertragen, ermöglichte 1955 die Erstellung einer Genkarte für *E. coli* auf Basis der „unterbrochenen Paarung“ (E. L. Wollman und F. Jacob). Zur Erkenntnis, dass *E. coli* ein zirkuläres Bakterienchromosom besitzt, kam man jedoch erst acht Jahre später (J. Cairns 1963). 1961 zeigte T. Watanabe, dass Plasmide als übertragbare Resistenzträger fungieren können und F. Jacob und J. Monod erläuterten erstmals das heute als Paradigma für Regulationsprozesse bekannte *lac*-Operon.

Weitere Untersuchungen der Wirt-Virus-Interaktion an *E. coli* und Lambda führten zur Entdeckung der wirtskontrollierten Modifikation und Restriktion von DNA. Die Entdeckung von Restriktionsenzymen und ihrer Anwendungsmöglichkeiten (Arber 1969) sowie die Beschreibung spezifischer Restriktionsenzyme (H. O. Smith 1970) legten den Grundstein für die 1972 beginnende DNA-Rekombinationstechnik. Fast 20 Jahre waren bis dato seit der erstmaligen Beschreibung des Phänomens der Restriktion 1953 (Bertani und Weigle) vergangen. 1972–73 gelang H. W. Boyer und S. N. Cohen die Herstellung des ersten gentechnisch veränderten Organismus: Funktionelle Plasmide mit Fremd-DNA wurden *in vitro* kombiniert, diese in *E. coli* übertragen und die genetische Information in der Empfängerzelle ausgeprägt.

Die komplette Restriktionskarte des *E.-coli*-Genoms wurde 1987 veröffentlicht, zehn Jahre später konnte das Genom-Sequenzierprojekt der University of Wisconsin und der Nara Universität, Japan, abgeschlossen werden (Blattner et al. 1997), und bis zum Dezember 2002 lagen die Daten von insgesamt fünf *Escherichia coli* Gesamtgenomen vor.

Pathogene

Human- und tierpathogene Vertreter sind:

DAEC:	Diffus adherierende <i>E. coli</i>
EAggEC:	Enteraggregative <i>E. coli</i>
EHEC:	Enterohaemorrhagische <i>E. coli</i>
EIEC:	Enteroinvasive <i>E. coli</i>
EPEC:	Enteropathogene <i>E. coli</i>

Praktikum der Molekulargenetik

Kück, U. (Hrsg.)

2005, XVI, 432 S., Hardcover

ISBN: 978-3-540-21166-2