

## Warum haben einige Bakterien lineare Chromosomen und Plasmide?

Matthias Redenbach, Lehrstuhl für Genetik, Universität Kaiserslautern,  
und Josef Altenbucher, Institut für Industrielle Genetik, Universität Stuttgart

► Noch vor wenigen Jahren war man der Ansicht, dass alle Prokaryonten ein einzelnes zirkuläres Chromosom besitzen und eventuell noch ein oder mehrere autonom replizierende Plasmide oder Phagen, während Eukaryonten grundsätzlich mehrere lineare Chromosomen haben. Lediglich bei Mitochondrien und Chloroplasten von Eukaryonten fand man zirkuläre Genome, was als Beweis für den bakteriellen Ursprung der Organellen galt.

Die Aussagen über bakterielle Chromosomentopologie und Chromosomengröße beruhen meist auf Daten aus genetischer Kartierung, DNA-Renaturierungskinetik oder Sedimentationsverhalten. Einen Wendepunkt bildete die Entwicklung der Gentechnik, die zunächst die physikalische Kartierung weniger Gene ermöglichte und heute die gesamte Chromosomen. Von besonderer Bedeutung erwiesen sich die Entwicklung der Pulsed-Field-Gelelektrophorese (PFGE) zusammen mit der Entdeckung selten schneidender Restriktionsenzyme und die Automatisierung der DNA-Sequenzierung, mit der innerhalb weniger Wochen ein komplettes Bakteriengenom im „shotgun“-Verfahren sequenziert werden kann.

Diese Techniken führten zu einem differenzierteren Bild über bakterielle Genome. Auch wenn nach dem heutigen Kenntnisstand die meisten Bakterien ein einzelnes, zirkuläres Chromosom besitzen (Tabelle 1), so findet man heute zunehmend Bakterien mit einer ungewöhnlichen Genomstruktur

Bakterienstamm	Taxonomische Gruppierung	Chromosomengröße
<i>Aquifex aeolicus</i> VF5	Aquificales	1,55 Mb
<i>Bacillus subtilis</i> 168	Bacillus/Clostridien-Gruppe	4,21 Mb
<i>Campylobacter jejuni</i> NCTC11168	δ/ε-Proteobacteria	1,64 Mb
<i>Caulobacter crescentus</i> CB15	α-Proteobacteria	4,01 Mb
<i>Chlamydia pneumoniae</i> AR39	Chlamydiales	1,22 Mb
<i>Escherichia coli</i> K12	γ-Proteobacteria	4,63 Mb
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv	Aktinobacteria	4,41 Mb
<i>Neisseria meningitidis</i> MC58	β-Proteobacteria	2,27 Mb
<i>Synechocystis</i> sp.PCC6803	Cyanobakterien	3,57 Mb
<i>Thermotoga maritima</i> MSB8	Thermotogales	1,86 Mb
<i>Treponema pallidum</i>	Spirochätates	1,13 Mb

**Tabelle 1: Beispiele von Eubakterien aus taxonomisch unterschiedlichen Abteilungen bzw. Unterabteilungen mit einem einzigen, vollständig sequenzierten Chromosom. (Für Referenzen zur Genomgröße und Genomstruktur siehe [www.ncbi.nlm.nih.gov/Entrez/Genome/org.html](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Entrez/Genome/org.html); [www.sanger.ac.uk/Projects/Microbes/](http://www.sanger.ac.uk/Projects/Microbes/); [www.jgi.doe.gov/JGI\\_microbial/html/index.html](http://www.jgi.doe.gov/JGI_microbial/html/index.html), [www.tigr.org/tigr-scripts/CMR2/CMRHomePage.spl](http://www.tigr.org/tigr-scripts/CMR2/CMRHomePage.spl)).**

(Tabelle 2). So wurde 1989 mit Hilfe der PFGE zum ersten Mal ein lineares Bakterienchromosom in dem Spirochäten *Borrelia burgdorferi* nachgewiesen<sup>[1]</sup>. Überraschend war vier Jahre später die Entdeckung linearer Chromosomen in Streptomyceten<sup>[2]</sup>, speziell im genetisch intensiv untersuchten *S. coelicolor* A3(2), da alle Kreuzungsdaten auf ein zirkuläres Chromosom hinwiesen. Bemerkenswert ist auch die chromosomale Struktur von *Agrobacterium tumefaciens*: Hier wurden sowohl ein 3 Mb großes zirkuläres als auch ein 2,1 Mb großes lineares Chromosom gefunden sowie zwei zirkuläre Plasmide von 0,54 Mb und 0,21 Mb<sup>[3]</sup>.

Bakterien mit linearen Chromosomen haben meist auch lineare Plasmide. Seltener treten lineare Plasmide in Bakterien mit zirkulärem Chromosom auf, während Bakterien mit linearen Chromosomen häufig auch zirkuläre Plasmide enthalten, oft gleichzeitig mit linearen Plasmiden wie in *B. burgdorferi* oder *S. coelicolor* A3(2) (Tab. 2).

Interessanter Weise besitzen nur eine oder wenige Gattungen innerhalb einer Bakterienfamilie lineare Chromosomen. So haben bisher alle darauf hin untersuchten Spezies von *Borrelia* ein lineares Chromosom, während nahe verwandte und ebenfalls pathogene Spirochäten wie *Treponema pallidum*

Bakterienstamm	Taxonomische Gruppe	Chromosom	Größe	Topologie	Plasmide
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> C58	α-Proteobacteria	Chromosom I Chromosom II	2,84 Mb 2,07 Mb	zirkulär linear	Plasmid AT (zirkulär, 0,54 Mb) und TI (zirkulär, 0,21 Mb)
<i>Borrelia burgdorferi</i> B31	Spirochätates	Chromosom I	0,91 Mb	linear	9 zirkuläre Plasmide (9 kb – 30 kb), 12 lineare Plasmide (5,2 kb – 53,5 kb)
<i>Brucella melitensis</i> 16M	α-Proteobacteria	Chromosom I Chromosom II	2,11 Mb 1,17 Mb	zirkulär zirkulär	keine Plasmide
<i>Deinococcus radiodurans</i> R1	Thermus/Deinococcus- Gruppe	Chromosom I Chromosom II	2,64 Mb 0,41 Mb	zirkulär zirkulär	Plasmid MP1 (zirkulär, 0,17 Mb) und CP1 (zirkulär, 45 Kb)
<i>Sinorhizobium meliloti</i> 1021	α-Proteobacteria	Chromosom I	3,65 Mb	zirkulär	Plasmid pSymA (zirkulär, 1,35 Mb) und pSymB (zirkulär, 1,68 Mb)
<i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2)	Actinobacteria	Chromosom I	8,66 Mb	linear	Plasmid SCP1 (linear, 0,35 Mb) und Plasmid SCP2 (zirkulär, 31 Kb)
<i>Vibrio cholerae</i> El Tor N16961	γ-Proteobacteria	Chromosom I Chromosom II	2,96 Mb 1,07 Mb	zirkulär zirkulär	keine Plasmide

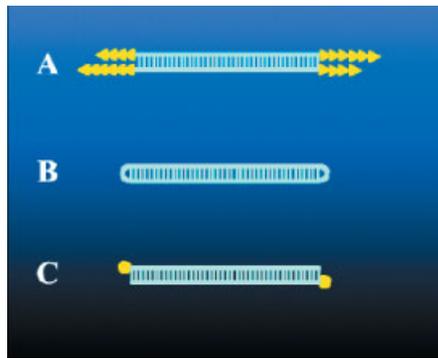
**Tabelle 2: Vollständig sequenzierte Bakteriengenome mit ungewöhnlicher Genomstruktur**

und *Leptospira interrogans* ein zirkuläres Genom besitzen. Streptomyceten gehören zu den G+C-reichen Gram-positiven Aktinomyzeten. Für wenigstens acht verschiedene Spezies wurde durch PFGE, Klonierung der Enden<sup>[4]</sup> oder bei *S. coelicolor* A3(2) und *S. avermitilis* durch Sequenzierung des kompletten Genoms die Linearität der Chromosomen gezeigt. Die nahe verwandten Aktinomyzeten *Saccharopolyspora erythraea*, *Actinoplanes philippinensis*, *Streptovorticillium abikoense*, *Nocardia asteroides* und *Micromonospora chalybeata* haben nach PFGE-Analyse<sup>[5]</sup> ebenfalls ein lineares Chromosom, während *Corynebacterium glutamicum* oder *Mycobacterium tuberculosis* und *M. leprae* den DNA-Sequenzdaten zufolge ein zirkuläres Chromosom tragen. Weiterhin weisen PFGE-Daten bei *Amycolatopsis orientalis* und *Rhodococcus opacus* ebenfalls auf ein zirkuläres Chromosom hin<sup>[5]</sup>.

Für viele andere Aktinomyzeten gibt es noch keine Daten. Es mag Zufall sein, dass bisher alle Mycel-bildenden Aktinomyzeten mit Genom-Größen von 8–10 Mb lineare Chromosomen haben, während die als einzelne Zellen wachsenden Aktinomyzeten mit Genomen von 3–8 Mb zirkuläre Chromosomen besitzen. *A. tumefaciens* ist bisher der einzige Vertreter aus der Gruppe der  $\alpha$ -Proteobakterien mit einem linearen Genom. Drei Verwandte wurden bisher sequenziert, von denen *Sinorhizobium meliloti* und *Brucella melitensis* durch Megaplasmide beziehungsweise ein bipartides Genom auf fallen (Tab. 2).

Die Probleme mit Enden von doppelsträngiger DNA, wie sie durch Doppelstrangbrüche nach intensiver  $\gamma$ -Strahlung in einer Zelle entstehen, sind einmal die Instabilität der Enden, in Prokaryonten bedingt durch Exonucleasen, die die DNA abbauen, und in Eukaryonten durch Fusionen mit anderen DNA-Enden. Zum anderen ist bisher keine DNA-Polymerase bekannt, die ohne eine Startersequenz oder Primer (gewöhnlich das 3'-OH-Ende eines RNA-Oligonucleotids) die DNA-Synthese an einer Matrize starten kann. Dies bedeutet, dass nach jeder Replikation die neu synthetisierten DNA-Stränge am 5'-Ende unvollständig sind, ein lineares DNA-Molekül also nach jeder Replikation kürzer wird. Daher mussten Zellen mit linearen DNA-Molekülen spezielle Enden (Telomere) und Mechanismen entwickeln, um die Enden zu stabilisieren und die Replikation zu vervollständigen. Abgesehen von einigen „exotischen“ Lösungen durch Viren und Bakteriophagen mit linearen Genomen können drei verschiedene Grundtypen unterschieden werden (Abb. 1).

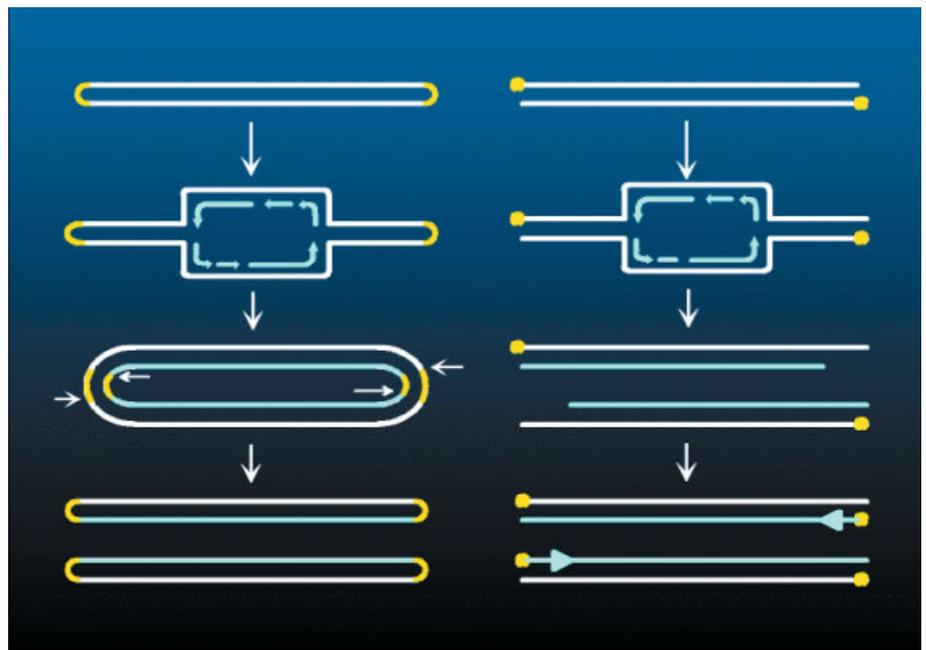
Bei eukaryontischen Chromosomen bestehen die Telomere aus einer kurzen Se-



**Abb. 1: Telomerstrukturen von (A) Eukaryontenchromosomen, bestehend aus kurzen, repetitiven Sequenzen (Pfeile), (B) bakteriellen linearen Chromosomen, Plasmiden und Phagen mit kovalent verbundenen Enden bzw. (C) mit kovalent an die 5'-Enden gebundenen Proteinen (gelbe Kreise).**

quenz, die häufig und in gleicher Orientierung hintereinander wiederholt wird und am äußersten Ende in einen 3'-überstehenden Einzelstrang ausläuft, welcher eine komplexe Struktur ausbildet. Zusammen mit hier gebundenen Proteinen, darunter Telomerase, wird verhindert, dass diese Enden abgebaut werden oder mit anderen Enden fusionieren. Erstaunlich ist, dass alle Eukaryonten von Hefen über Protozoen, Pflanzen bis hin zum Menschen sehr ähnliche Telomersequenzen haben<sup>[6]</sup>.

Dagegen findet man bei Prokaryonten zwei völlig verschiedene Telomerstrukturen.



**Abb. 2: Mechanismen der Replikation linearer DNA-Moleküle, links von DNA mit kovalent geschlossenen Enden wie beispielsweise bei dem Phagen N15 und rechts von Molekülen mit kovalent gebundenen Proteinen (gelbe Kreise), beispielsweise bei Streptomyceten-Chromosomen. Die weißen Pfeile links an den gelben Regionen symbolisieren die versetzten Einzelstrangbrüche der Telomer-Resolvase an den palindromen Erkennungssequenzen.**

Die linearen DNA-Moleküle von *Borrelia* sowie dem *E. coli*-Phagen N15 tragen Haarnadelstrukturen an den Enden, das heißt das 3'-OH eines DNA-Strangs ist über eine Phosphordiesterbrücke mit dem 5'-OH Ende des komplementären Strangs kovalent verknüpft. Kovalent geschlossene Enden findet man auch bei dem linearen Chromosom von *A. tumefaciens*<sup>[3]</sup>. Die Replikation der linearen *Borrelia*-DNA-Moleküle, bei N15 und im *A. tumefaciens*-Chromosom beginnt in oder nahe dem Zentrum und verläuft bidirektional nach außen. Es entsteht eine zirkuläre doppelsträngige DNA, die zwei Genome enthält, die in Kopf-Kopf- und Schwanz-Schwanz-Orientierung aneinander stoßen. Durch eine Telomer-Resolvase werden dann die beiden Genome durch versetzte Einzelstrangbrüche an den Übergängen getrennt. Die überstehenden kohäsiven Einzelstränge falten sich zurück zum Doppelstrang, und nach Ligation erhält man wieder die ursprünglichen Haarnadelstrukturen (Abb. 2). Das Gen für die Telomer-Resolvase wurde inzwischen für den Phagen N15 identifiziert und das Protein gereinigt<sup>[7]</sup>. Es zeigt eine geringe Homologie zu DNA-Integrasen von Phagen.

Charakteristisch für Streptomycetenchromosomen, aber auch für lineare Plasmide aus Streptomyceten und anderen Gram-positiven Bakterien, einigen Phagen, Adenoviren sowie einigen linearen Pilz- und pflanzlichen Plasmiden ist ein Protein, das kovalent an die beiden 5'-Enden des Dop-

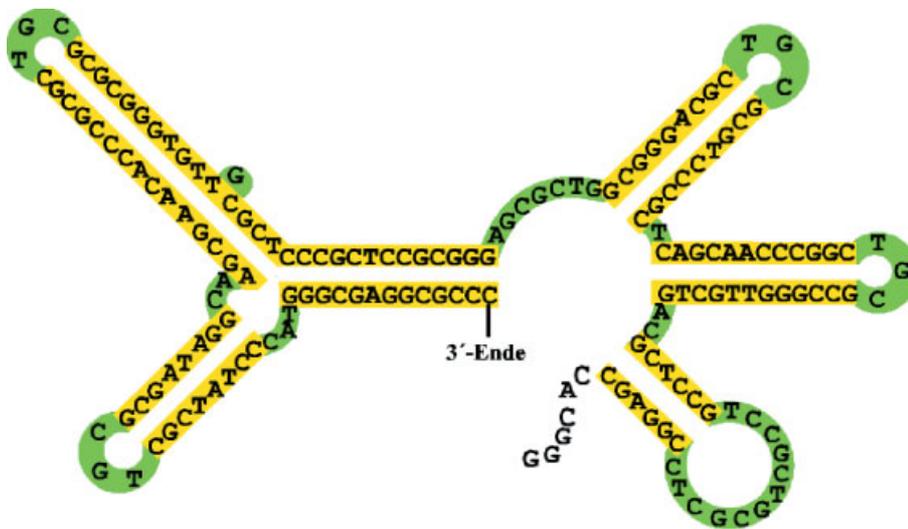


Abb. 3: Mögliche Faltung der Telomere des *S. lividans*-Chromosoms als Einzelstränge (3'-OH-Enden).

pelstrangs gebunden ist. Dieses dient anstelle eines RNA-Oligonukleotids als Primer für die DNA-Replikation. Bei Adenovirus und dem *Bacillus*-Phagen  $\phi 29$  beginnt die Replikation mit einem Heterodimer aus terminalen Protein und Virus-codierter DNA-Polymerase an den Enden des Genoms mit

einem als „strand displacement“ bezeichneten Replikationsmechanismus. Bei Streptomyceten sitzen die Proteine am Ende von langen, auf der anderen Seite die Moleküls invers wiederholten Sequenzen, die von zirka 160 bp bei *S. avermitilis* bis zu 550 Kb bei *S. rimosus* reichen. Deletionen in den

Telomeren des linearen Plasmids pSLA2 aus *S. rochei* zeigten, dass eine an den Molekülenden gelegene Sequenz von etwa 144 bp Länge essentiell ist, um dieses Plasmid in einer linearen Konfiguration zu vermehren<sup>[8]</sup>. Die Telomere enthalten bis zu elf palindromische Sequenzen von 13–25 bp Länge, von denen die zum Molekülende hin gelegenen ersten drei Palindrome innerhalb der linearen Streptomycetenreplikons am höchsten konserviert sind.

Wie bei den *Borrelia*-Plasmiden und bei N15 startet die Replikation bei Streptomyceten bidirektional vom Zentrum dieser Moleküle nach außen (Abb. 2). Damit unterscheidet sich diese Art der Replikation deutlich von der bei Adenoviren und  $\phi 29$ . Nach der Replikation endet der jeweils neu synthetisierte Strang etwa 150–200 bp vor dem eigentlichen Replikon-Ende. Der 3'-überstehende Einzelstrang bildet vermutlich an den palindromen Sequenzen Haarnadelstrukturen, die die Erkennungsstelle für das terminale Protein bilden könnten (Abb. 3).

Der genaue Mechanismus für das Auffüllen der Einzelstranglücke ist noch nicht bekannt. Kürzlich wurden aus *S. rochei* drei Gene für terminale Proteine (*tpgR1-tpgR3*) isoliert, eines aus dem Chromosom und zwei

aus linearen Plasmiden sowie jeweils eines aus den Chromosomen von *S. lividans* und *S. coelicolor*. Die Proteine sind zu über 60 Prozent identisch in der Aminosäuresequenz und funktionell austauschbar<sup>[9]</sup>. Interessant ist, dass die Proteine keine Homologie zu den terminalen Proteinen der Adenoviren oder von  $\phi 29$  zeigen, sondern zu Domänen bestimmter reverser Transkriptasen, die – wie beim Hepatitis B-Virus – die Synthese des viralen DNA-Minus-Strangs anhand einer RNA-Matrize katalysieren, indem sie das erste Nukleotid des beginnenden Strangs kovalent an sich selbst binden.

Lineare bakterielle Chromosomen werden wahrscheinlich auch zukünftig wesentlich seltener gefunden werden als zirkuläre Chromosomen. Das Auftreten von nur einer oder wenigen Gattungen mit linearen Chromosomen innerhalb einer Bakterienfamilie oder Ordnung sowie zwei völlig verschiedene Telomerstrukturen können als Indizien dafür genommen werden, dass Bakterienchromosomen ursprünglich ringförmig waren, und die lineare Topologie später angenommen wurde, etwa nach Integration eines linearen Phagen oder Plasmids. Die Vorteile einer solchen Anpassung lassen sich möglicherweise aus der Betrachtung der Fähigkeiten und Lebensweise der entsprechenden Bakterien ableiten.

*B. burgdorferi* und verwandte Species sind die Ursache der durch Zecken übertragenen Borreliose. Eine Infektion kann sich über Jahre hinziehen, da das Immunsystem den Erreger offensichtlich nur ineffektiv bekämpft. Ein Grund könnte in der Variabilität der Oberflächenproteine der Erreger liegen. Das A+T-reiche Genom von *Borrelia* ist wie bei vielen pathogenen Organismen reduziert, bei *B. burgdorferi* B31 MI hat das lineare Chromosom eine Länge von 910 kb. Ungewöhnlich sind die vielen linearen (12) und zirkulären Plasmide (9), die noch einmal 610 kb an DNA ergeben, sodass hier auch von einem gesplittetem Genom gesprochen wird. Bemerkenswert ist die Viel-

zahl homologer Sequenzen in den Plasmiden und einer Region am rechten Ende des Chromosoms. Diese sind bedingt durch ähnliche Telomersequenzen, vor allem aber durch eine hohe Redundanz von Genen, die meist für Oberflächen-Lipoproteine kodieren sowie für ähnliche plasmidische Replikations- und Partitionsproteine. Bemerkenswert ist ferner ein für Bakterien ungewöhnlich hoher Anteil an Pseudogenen in den Plasmiden<sup>[10]</sup>.

Ein Vorteil der Genomstruktur von *Borrelia* könnte in einem schnellen und einfachen Austausch der auf den Plasmiden lokalisierten Gene innerhalb der *Borrelia*-Stämme liegen. Homologe Rekombination zwischen den Plasmiden könnte zur Veränderung der Genexpression für Oberflächen- und Virulenzproteinen beziehungsweise zu Proteinen mit veränderten antigenen Eigenschaften führen. Dies sollte durch eine lineare Struktur der Plasmide und Chromosomen begünstigt werden, da hier Einzel-Crossover bereits ausreichen, um Gen- oder Plasmidfusionen zu erzeugen. Die Pseudogene und nicht-codierenden Regionen treten vor allem in einigen Plasmiden oder Plasmidregionen und am rechten Chromosomenende gehäuft auf. Offensichtlich sind dies Zwischenstufen bei dem Abbau oder Umbau nicht benötigter Funktionen und ein Indiz für dynamische, schnell evolvierende Genombereiche.

Die Gram-positiven Sporen bildenden Streptomyceten könnten zu den Gram-negativen *Borrelia*-Arten kaum unterschiedlicher sein. Sie sind apathogene Bodenbakterien; die Chromosomen gehören mit 8 Mb zu den größten Bakterienchromosomen überhaupt; sie besitzen den höchstmöglichen G+C-Gehalt von 72 Prozent und tragen selten mehr als drei Plasmide. Sie zeichnen sich vor allem aus durch den effizienten Abbau aller möglicher organischer Polymere wie Zellwände, Polysaccharide, Proteine sowie der Fähigkeit, eine unglaubliche Vielfalt an Sekundärmetaboliten wie Antibiotika zu synthetisieren.

Eine intensiv untersuchte Eigenschaft von Streptomyceten ist ihre enorm hohe genetische Instabilität. Etwa 0,5 Prozent aller Sporen weisen große, chromosomale Deletionen auf, die bis zu 25 Prozent des Genoms be-

tragen können. In der Regel treten diese Deletionen an den Enden der Chromosomen auf; sie führen zu einem Verlust der Telomere und einer Zirkularisierung des Chromosoms, die meist noch instabiler sind und weiter deletieren. Begleitet sind diese Deletionen oft von DNA-Amplifikationen, bei denen DNA-Abschnitte von 2 kb bis zu 100 kb teilweise mehrere hundert Mal tandemförmig wiederholt werden. Diese Rearrangements sind möglich aufgrund der ungewöhnlichen Genverteilung. Die Telomerregionen haben zwar eine ähnlich hohe Gen-dichte wie die Regionen um den zentralen Replikationsursprung, die „house keeping“-Gene konzentrieren sich aber im Chromosomenzentrum, während viele Gencluster für die Biosynthese von Sekundärmetaboliten, oft redundant vorhandene Gene zum Abbau von Polymeren sowie eine Vielzahl von Genen mit unbekannter Funktion an den Chromosomenenden sitzen. Die Telomerregionen können daher deletiert werden, da sie frei sind von Genen, die für das Wachstum essentiell sind. Weiterhin können die chromosomalen Telomerregionen durch Einzel-Crossover mit linearen Plasmiden rekombinieren und, da die Funktion der terminalen Proteine austauschbar ist, über Konjugation horizontal weitergegeben werden. Ebenso wurde gezeigt, dass das linke Ende eines Chromosoms mit dem rechten Ende eines zweiten identischen Chromosom über kurze zufällig vorhandene homologe Sequenzen rekombinieren können, was die sehr unterschiedlich langen inversen Sequenzwiederholungen der Enden erklärt<sup>[11]</sup>. Damit zeigen die Telomerbereiche eine ähnlich hohe Dynamik wie sie in dem Plasmid-system von *Borrelia* vermutet wird. Vermutlich dient dies zur Verbesserung von Abbauleistungen und der Synthese von neuen Sekundärmetaboliten, mit der neue Nahrungsquellen erschlossen und Nahrungskonkurrenten niedergehalten werden können.

Ein Vergleich der zirkulären Chromosomen von *A. tumefaciens* und *S. meliloti* zeigt eine Vielzahl orthologer Gene, die zudem in ihrer Anordnung hochkonserviert sind. Unter den meisten Genen des linearen Chromosoms von *A. tumefaciens* finden sich ebenfalls Orthologe in *S. meliloti*; die Verteilung dieser Gene auf die verschiedenen Replikons und ihre Anordnung ist aber nicht konserviert, sondern zeigt mosaikartige Strukturen<sup>[3]</sup>, die auf eine hohe Frequenz von DNA-Rearrangements nach Aufspaltung der beiden Organismen in zwei Arten hindeutet.

Der Vorteil der linearen Struktur von Chromosomen und Plasmide könnte also für Bakterien darin liegen, in Teilen des Gesamtgenoms eine hohe Plastizität und Flui-

dität zur schnellen Adaptation zu erreichen und in anderen Teilen wiederum eine hohe Konstanz zu bewahren.

#### Literatur

[1] **Ferdows M, Barbour A.** (1989) Megabase sized linear DNA in the bacterium *Borrelia burgdorferi*, the Lyme-disease agent. *Proc Natl Acad Sci USA* 86, 5969–5973.

[2] **Lin, Y.-S., Kieser, H.M., Hopwood, D.A., Chen, C.W.** (1993) The chromosomal DNA of *Streptomyces lividans* 66 is linear. *Mol. Microbiol* 10, 923–933.

[3] **Wood, D.E., Setubal, J.C., Kaul, R., Monks, D.E. et al.** (2001) The genome of the natural genetic engineer *Agrobacterium tumefaciens* C58. *Science* 294, 2317–2323.

[4] **Huang, C.-H., Lin, Y.-S., Yang, Y.-L., Huang, S., Chen, C.** (1998) The telomeres of *Streptomyces* chromosomes contain conserved palindromic sequences with potential to form complex secondary structures. *Mol Microbiol* 28, 905–916.

[5] **Redenbach, M., Scheel, J., Schmitt, U.** (2000) Chromosome topology and genome size of selected actinomycetes species. *Antonie van Leeuwenhoek* 78, 227–235.

[6] **Blackburn, E.H.** (2001) Switching and signaling at the telomere. *Cell* 106, 661–673.

[7] **Deneke, J., Ziegelin, G., Lurz, R., Lanka, E.** (2000) The protelomerase of temperate *Escherichia coli* N15 has cleaving-joining activity. *Proc Natl Acad Sci* 97, 7721–7726.

[8] **Quin, Z., Cohen, S.N.** (1998) Replication at the telomeres of the *Streptomyces* linear plasmid pSLA2. *Mol Microbiol* 28, 893–903.

[9] **Bao, K., Cohen, S.N.** (2001) Terminal proteins essential for the replication of linear plasmids and chromosomes in *Streptomyces*. *Genes & Dev* 15, 1518–1527.

[10] **Casjens, S., Palmer, N., van Vugt, R., Huang, W.M. et al.** (2000) A bacterial genome in flux: The twelve linear and nine circular extrachromosomal DNAs in an infectious isolate of the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi*. *Mol Microbiol* 35, 490–516.

[11] **Volff, J.-N., Altenbuchner, J.** (1998) Genetic instability of the *Streptomyces* chromosome. *Mol Microbiol* 27, 239–246.

#### Korrespondenzadressen:

**Dr. Josef Altenbuchner,  
Institut für Industrielle Genetik,  
Universität Stuttgart,  
Allmandring 31,  
70569 Stuttgart  
Tel. 0711 685 7591,  
Fax: 0711 685 6973,  
E-Mail: Josef.Altenbuchner@po.uni-stuttgart.de**

**Dr. Matthias Redenbach,  
Lehrstuhl für Genetik,  
Universität Kaiserslautern,  
Erwin-Schrödinger Str. 24,  
67653 Kaiserslautern**