

Inhaltsverzeichnis

Teil I: Grundlagen

1. Proteine: Eine Einführung ... 2

Primärstruktur: Sequenz der Aminosäuren ... 2

Aminosäuren ... 3

Peptid-Bindung ... 3

Wechselwirkungen zwischen Aminosäure-Seitenketten ... 3

Sekundärstrukturen: α -Helix und β -Blatt ... 6

α -Helix ... 6

β -Blatt ... 7

Tertiärstrukturen: Von der Aminosäure-Sequenz zum gefalteten Protein ... 8

Protein-Domänen ... 11

Untereinheiten ... 12

Faltungen ... 12

Literatur ... 13

2. DNA: Träger genetischer Information ... 15

Klassische Experimente der molekularen Genetik ... 15

Transformation von Bakterien ... 15

Infektion mit Bakteriophagen ... 16

Bausteine von Nucleinsäuren ... 17

Zahlenverhältnis der Nucleotide ... 18

Die Doppelhelix ... 18

Denaturierung und Renaturierung der DNA ... 20

DNA-Helices: Flexible DNA-Strukturen ... 22

Die B-Form ... 22

Die A-Form ... 23

Die Z-Form ... 24

Variationen der B-Form ... 24

Gebogene DNA ... 24

Kreuzförmige DNA an Palindromen ... 25

Intramolekulare Triplex-Struktur ... 27

Helix und Superhelix ... 27

Größe natürlicher DNA-Moleküle ... 29

Wie man DNA untersucht ... 32

Zentrifugation ... 32

Differentielle Sedimentation ... 34

Zonensedimentation ... 34

S-Wert und Bestimmung der relativen Molmasse ... 35

Isopyknische Zentrifugation	... 36
Anwendungen	... 36
Elektronenmikroskopie	... 37
Elektrophorese	... 38
Enzyme als Hilfsmittel: Deoxyribonuclease	... 39
Endonucleasen, Exonucleasen	... 39
Restriktions-Nucleasen	... 41
Literatur	... 43

3. Transkription, Translation und der genetische Code ... 45

Bausteine und Struktur der RNA	... 45
Ein interessanter Sonderfall: Ringförmige RNA	... 46
Transkription oder die Synthese von RNA	... 47
Das grundlegende Schema	... 47
RNA-Polymerase in Bakterien	... 48
Gen-Anfang: Der Promotor	... 49
Ereignisse am Promotor	... 50
Elongation: Verlängerung der RNA-Kette	... 52
Termination	... 54
Stabile und nichtstabile RNA	... 55
Transfer-RNA und die Aktivierung von Aminosäuren	... 56
Struktur der tRNA	... 56
Beladung der tRNA	... 59
Translation: Ribosomen und Protein-Synthese	... 62
Ribosomen: Eine kurze Beschreibung	... 63
Protein-Synthese: Genauigkeit des Starts	... 65
Initiations-tRNA auch in Eukaryoten-Zellen	... 68
Initiation der Translation	... 68
Elongation: Die programmierte Verknüpfung von Aminosäuren	... 69
Termination	... 71
Geschwindigkeit und Genauigkeit	... 72
Besonderheiten bei Bakterien	... 73
Der genetische Code	... 74
Experimente mit künstlicher mRNA	... 75
Degeneriertheit des genetischen Codes: Synonyme Codons	... 76
„Wobble“ bei der Wechselwirkung von Anticodon und Codon	... 77
Der genetische Code in der Zelle	... 78
Selenocystein: Ein Sonderfall	... 79
Über die Verwendung von Codewörtern	... 80
Literatur	... 80

4. Das Bakterium *Escherichia coli* als genetisches System: Gene und Gen-Expression ... 83

Ein Überblick	... 83
Die Bakteriophagen von <i>E. coli</i>	... 85
Das Nucleoid von <i>E. coli</i>	... 86
Gen-Karten	... 87
Genetische Organisation	... 89

Die genetische Karte ... 91

Austausch von Gen-Material ... 93

F-Plasmid ... 94

F'-Plasmide ... 95

Konjugation ... 95

Gen-Kartierung durch „Unterbrechung der Paarung“ ... 96

Transduktion ... 100

Mechanismen bakterieller Gen-Regulation ... 101

Regulons: Gen-Gruppen unter der Kontrolle eines
gemeinsamen Transkriptions-Faktors ... 101

Beispiel: Hitzeschock-Gene ... 102

Alternative Sigma-Faktoren ... 104

Stringente Antwort ... 105

Negative und positive Kontrolle: Das *lac*-Operon als Bezugssystem ... 111

Die Gen-Produkte ... 111

Mutanten mit veränderter Gen-Regulation ... 112

Das Modell ... 114

Der Lac-Repressor ... 115

Positive Kontrolle: Das CAP-Protein ... 118

Regulation durch Attenuation ... 120

Zusammenfassende Anmerkungen ... 124

Regulation von Genen des Bakteriophagen Lambda ... 124

Das Lambda-Genom ... 125

Kontrollelemente ... 126

Integration und Exzision ... 126

Frühe Transkription ... 127

Die Entscheidung: Lyse oder Lysogenie ... 127

Der Lambda-Repressor ... 129

Transkription des *int*-Gens ... 131

Induktion und lytischer Infektionsweg ... 132

Wege der Lambda-Replikation ... 133

Entstehung der Phagen-Partikel ... 133

Am Ende des lytischen Infektionsweges ... 135

Literatur ... 136

5. DNA im Zellkern: Chromatin und Chromosomen ... 139

Zellkern ... 140

Kern-Hülle ... 140

Kern-Innenraum ... 141

Chromatin ... 142

Histone ... 142

Nucleosomen ... 144

Anordnung von Nucleosomen ... 145

Einige Nicht-Histon-Chromatin-Proteine ... 146

Chromosomen ... 147

Mitose: Von der Prophase zur Metaphase ... 147

Mitose: Von der Anaphase zur Telophase ... 150

Heterochromatin ... 151

Metaphase-Chromosomen ... 151

Chromosomen des Menschen ... 153

Chromosomensätze ... 155

Polytäre Chromosomen ... 157

Literatur ... 159

Teil II: Allgemeine genetische Prozesse

6. DNA-Replikation: Weitergabe der genetischen Information ... 162

Ein klassisches Experiment ... 163

DNA-Polymerasen ... 164

Polymerisation von Deoxynucleotiden ... 164

DNA-Polymerasen von *Escherichia coli* ... 166

DNA-Polymerase I ... 166

DNA-Polymerase II ... 168

DNA-Polymerase III ... 168

Primase ... 170

Eukaryotische DNA-Polymerasen ... 171

DNA-Entwindung ... 172

DNA-Helikasen ... 172

DNA-Topoisomerasen ... 173

Topoisomerase I ... 174

Topoisomerase II ... 175

DNA-Ligase ... 176

Ereignisse an der Replikationsgabel ... 177

Ablauf der Replikation des Bakterien-Genoms ... 180

Ablauf der Replikation in Eukaryoten ... 184

Zellzyklus ... 184

Regulation des Zellzyklus durch Proteinkinasen ... 186

Cyclinabhängige Kinasen und ihre Inhibitoren ... 187

Einleitung der Replikation ... 188

Ende der Replikation ... 191

Literatur ... 193

7. Rekombination und Transposition ... 195

Homologe Rekombination ... 195

Meiose ... 195

Reduktion des diploiden auf den haploiden

Chromosomensatz ... 195

Prophase der Meiose ... 196

Folgerungen aus dem Meiose-Schema ... 197

Rekombination: Grundbegriffe aus der klassischen Genetik ... 199

Molekulare Biologie der allgemeinen Rekombination ... 202

Voraussetzungen ... 202

Enzyme der Rekombination ... 204

Strang-Austausch und das Rec A-Protein ... 204

Einzelstrang-Bereiche und das Rec BCD-Protein ... 206

Branch Migration und das Ruv AB-Protein ... 207

Auflösung der Holliday-Struktur und das Ruv C-Protein ... 207

Gen-Konversion: Ereignisse im Heteroduplex-Bereich ... 208

Transposition und integrative Rekombination ... 209

Bewegliche genetische Elemente bei Bakterien ... 209

Insertions-Sequenzen (IS-Elemente) ... 209

Transposons ... 210

Transponierbare Bakteriophagen ... 212

Mechanismen der Transposition ...	212
Konsequenzen der Transposition: Umstrukturierung im Genom ...	214
Bewegliche genetische Elemente in Pflanzen ...	214
Das Beispiel <i>Drosophila melanogaster</i> ...	215
<i>Copia</i> -Elemente: Retroposons ...	216
Retroviren: Ein Überblick ...	217
Struktur und Vermehrungsweg ...	218
Transduktion durch Retroviren ...	220
Noch einmal: Retroposons ...	223
Literatur ...	224

8. Mutationen: DNA-Schäden und Reparaturen ... 227

Arten der Mutation: Ein Überblick ...	227
Nucleotid-Austausch ...	228
Leseraster-Mutationen ...	229
Untersuchung von Mutationen bei Bakterien ...	230
Untersuchung von Mutationen bei Eukaryoten ...	232
Spontane Mutationen ...	235
Falscheinbauten ...	235
Postreplikative oder Mismatch-Reparatur ...	236
AP-Stellen als Ursache für Mutationen ...	237
Oxidative Schäden an der DNA ...	238
Entstehung spontaner Leseraster-Mutationen ...	241
<i>Hot Spots</i> spontaner Mutationen ...	242
Induktion von Mutationen ...	245
Chemische Mutagenese ...	245
DNA-Alkylierung ...	245
Reparatur von alkylierten DNA-Basen und die adaptive Antwort ...	247
Polycyclische Kohlenwasserstoffe ...	248
DNA-Schäden durch ultraviolettes Licht und die Exzisionsreparatur ...	249
Photoreaktivierung ...	250
Exzisionsreparatur ...	250
Rekombinative Reparatur ...	251
Exzisionsreparatur in Säugetier-Zellen und die Lehren aus dem Studium von <i>Xeroderma pigmentosum</i> ...	252
DNA-Schäden durch ionisierende Strahlen ...	254
Die SOS-Antwort und der SOS-Reparaturweg ...	254
Extragenische Suppression von Mutationen ...	256
Literatur ...	258

Teil III: Gene und Genome

9. Wie man Gene untersucht ... 262

Genom-Bibliotheken ... 263

Zerlegen der DNA ... 263

Plasmide als Vektoren ... 264

Lambda-DNA als Vektor ... 266

Cosmide als Vektoren ... 269

Künstliche Hefe-Chromosomen ... 269

cDNA-Bibliotheken ... 270

Benutzung der Bibliotheken ... 274

Sequenzen ... 275

Ortsspezifische, biochemische Mutagenese ... 280

Künstlich eingeführte Nucleotid-Austausch-Mutationen ... 281

Deletionen und Insertionen ... 281

Literatur ... 282

10. Struktur eukaryotischer Gene: Exons und Introns ... 283

Entdeckung ... 283

Aufbau von Globin-Genen ... 285

Fragen ... 287

Ein Gen für ein Stoffwechsel-Enzym ... 289

Struktur eines Kollagen-Gens ... 291

Konsequenzen ... 293

Pseudogene ... 294

Literatur ... 296

11. RNA-Polymerasen und die Grundlagen der Transkription von Eukaryoten-Genen ... 299

Eukaryotische RNA-Polymerasen ... 299

Struktur ... 300

Anmerkungen zur biochemischen Funktion ... 301

Promotoren in proteinkodierenden Genen ... 302

Zum Nachweis der Promotor-Funktion ... 304

Versuche mit dem Promotor des β -Globin-Gens ... 305

Zum Vergleich: Der Promotor des TK-Gens ... 306

Promotoren in Haushalts-Genen ... 308

Zusammenfassung und Ausblick ... 309

Ereignisse am Promotor ... 310

Band-Shift-Assay ... 311

DNA-Schutz-Experimente ... 312

Einleitung der Transkription ... 313

Die besondere Funktion von TFIID ... 313

Zusammenbau des Initiations-Komplexes ... 315

Die RNA-Polymerase II wird auf den Weg geschickt ... 315

Proteine für die Promotor-Grundelemente ... 315

Sp1: Das GC-Box-Protein ... 316

CCAAT-Binde-Proteine ... 317

RNA-Polymerase I und die Transkription von rRNA-Genen	... 318
rRNA-Gene	... 318
Promotor und Transkriptions-Faktoren	... 320
RNA-Reifung	... 322
Nucleolus	... 322
Transkription von 5S rRNA- und tRNA-Genen	... 324
Aufbau des Transkriptions-Komplexes	... 325
Die zentrale Funktion von TBP	... 326
Literatur	... 327

12. Regulation proteinkodierender Gene ... 329

Phosphorylierung als Signal	... 329
Genetische Antworten nach Zugabe von Serum zu ruhenden Zellen	... 329
Gen-Aktivierung durch Phosphorylierung:	
Der Promotor des <i>c-Fos</i> -Gens	... 332
Eine Rolle für das Retinoblastom-Gen-Produkt	... 335
Phosphorylierung und die Aktivierung von NF- κ B	... 337
DNA-Bindemotive in Transkriptions-Faktoren	... 340
Das bZIP-Motiv: Fos, Jun und AP1	... 340
Das bHLH-Motiv: Zelltypspezifische Gen-Expression	... 343
Regulation	... 345
Embryogenese	... 346
bHLH-Proteine in Nicht-Muskelzellen	... 347
Max und Myc: bHLH-ZIP-Proteine	... 348
Struktur	... 349
Helix-Turn-Helix-Motiv in der Homöobox und anderswo	... 350
Molekularbiologie	... 352
Die Homöobox in besonderer Umgebung	... 353
Octamer-Bindeproteine	... 353
POU-Proteine	... 355
Die Familie der nuklearen Hormon-Rezeptoren	... 356
Steroidhormon-Rezeptoren	... 356
Bindung an den Promotor/Enhancer	... 357
Besonderheiten: RAR und RXR	... 360
Hinweise auf negative Gen-Regulation	... 362
Chromatin-Struktur und Gen-Regulation	... 364
Globin-Gene	... 364
Grundlagen	... 364
Genetik	... 365
Locus-Control-Region	... 367
DNase-I-sensitives Chromatin und DNase-I-hypersensitive Stellen	... 369
Bedeutung der DHS	... 371
DNA-Methylierung	... 373
Zusammenfassung	... 375
Literatur	... 375

13. Spleißen und Prozessieren ... 379

Grundlagen: Der Zwei-Schritt-Prozeß ... 379

Komponenten des Spleißapparates ... 382

snRNPs ... 382

Zusammenbau des Spleißosoms ... 385

Spleißfaktoren: RNA-bindende Proteine ... 387

Selbstspleißen ... 388

Alternatives Spleißen ... 391

Erstes Beispiel: Exons können übersprungen werden ... 392

Zweites Beispiel: Spleißen entfernt entweder das eine
oder das andere Exon ... 392

Drittes Beispiel: Zelltypspezifisches Spleißen ... 394

Faktoren für alternatives Spleißen: Geschlechtsbestimmung
bei *Drosophila* ... 395

Noch eine Variation zum Thema: Trans-Spleißen ... 396

Das Ende der Botschaft: RNA-Prozessieren am 3'-Ende ... 397

Literatur ... 401

14. Messenger-RNA im Cytoplasma ... 403

Stabilität der mRNA ... 404

Destabilisierungs-Sequenzen ... 405

Regulations-Proteine: Bindung an RNA-Schleifen ... 406

Stabilitätswechsel im Zellzyklus ... 408

Einleitung der Translation ... 409

Initiationen ohne Kappe ... 412

Regulationen ... 415

Sequenzen ... 415

Regulation an Kappen ... 415

Regulation an der 5'-Nichtkodierungs-Region ... 416

Regulation über das Protein eIF-2 ... 416

Peptid-Synthese und darüber hinaus ... 417

Literatur ... 418

Teil IV: Genetische Systeme

15. Untersuchungen an komplexen Genomen: Gene des Menschen ... 420

Gene auf Chromosomen ... 422

In-situ-Hybridisierung ... 424

Zellfusion oder die Genetik somatischer Zellen ... 426

Polymerase-Ketten-Reaktion ... 428

Biologische Gen-Karten ... 429

Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP) ... 431

Mikrosatelliten-Polymorphismus ... 432

Weibliche/männliche Gen-Karten ... 432

Positionelles Klonieren ... 434

Physikalische Gen-Karten	... 437
Selten schneidende Restriktions-Nucleasen	... 438
Ordnung klonierter DNA	... 439
Regionalkarten: Contigs in den Genen für Immunglobuline	... 441
Besonderheiten an X und Y	... 445
Y und Geschlechtsdifferenzierung	... 446
X-Inaktivierung	... 448
Genomische Prägung	... 450
Molekulare Pathologie	... 453
Keimbahn-Mutationen: Deletionen, Inversionen und Trinucleotid-Expansionen	... 453
Deletionen: Die Duchenne-Muskeldystrophie	... 453
Inversionen: Hämophilie A	... 455
Trinucleotid-Expansion: Fragiles X-Syndrom und andere Krankheiten	... 457
Körperzell-Mutationen: Viele Gene bewirken den Phänotyp Krebs	... 459
Folgen von Mutationen	... 460
Mutationen in RAS-Genen	... 461
Mutationen im p53-Gen	... 462
Körperzell-Mutationen: Translokationen und Krebs	... 464
Translokation und Gen-Aktivierung	... 464
Translokation und die Bildung zusammengesetzter Proteine	... 465
Literatur	... 467

16. Gene in Mitochondrien und Chloroplasten ... 471

DNA in Mitochondrien	... 471
mtDNA des Menschen	... 473
Expression mitochondrialer Gene	... 474
Replikation	... 476
Cytoplasmatische Vererbung	... 478
Formen mitochondrialer DNA	... 478
Der genetische Code in Mitochondrien	... 481
RNA-Edition	... 481
Cytosin-nach-Uracil-Austausch in mitochondrialer DNA	... 481
Einfügen von Nucleotiden: RNA-Edition in Mitochondrien von Trypanosomen	... 482
DNA in Chloroplasten	... 485
Allgemeine Strukturmerkmale	... 485
Gene: Anordnung und Funktion	... 486
Expression von ct-Genen	... 488
Anmerkungen zur Evolution	... 489
Literatur	... 491

Sachverzeichnis ... 493