

Gene und Genome

Maxine Singer und Paul Berg

Aus dem Amerikanischen übersetzt von Ingrid Haüßer-Siller,
Dagmar Hörn, Ina Raschke und Sebastian Vogel

Mit einem Vorwort zur deutschen Ausgabe von Walter Doerfler

Inhaltsübersicht

Vorwort zur deutschen Ausgabe	XV
Vorwort der Autoren	XVII
Danksagung	XXII
I. Die molekulare Grundlage der Vererbung: Ein Überblick	1
Vorspann	2
1. Die genetischen Moleküle	31
2. Replikation, Reparatur und Rekombination des Genoms	65
3. Die Genexpression: Innere Logik und ausführendes Räderwerk	119
Literatur zu Teil I	204
II. DNA-Rekombination: Ein Durchbruch	211
Vorspann	212
4. Das Handwerkszeug: Enzyme	231
5. Das Handwerkszeug: Wirt-Vektor-Systeme	249
6. Die Mittel: Konstruktion, Klonierung und Selektion rekombinanter DNA	309
7. Die Produkte: Charakterisierung und Manipulation von Rekombinanten	357
Literatur zu Teil II	413
III. Molekularer Aufbau, Expression und Regulation eukaryotischer Gene	419
Vorspann	420
8. Struktur und Expressionsregulation eukaryotischer Gene	441
9. Die molekulare Anatomie eukaryotischer Genome	603
10. Umordnungen im Genom	695
Literatur zu Teil III	804
IV. Erforschung und Manipulation biologischer Systeme	839
Literatur zu Teil IV	880
Index	885

Inhalt

Vorwort zur deutschen Ausgabe	XV
\$>	
Vorwort der Autoren	XVII
Danksagung	XXII
I. Die molekulare Grundlage der Vererbung: Ein Überblick	1
Vorspann	2
1. Die genetischen Moleküle	31
1.1 Struktur und Verhalten von DNA	33
1.1.1 Bestandteile und chemische Bindungen der DNA	33
1.1.2 Die Doppelhelixstruktur der DNA	35
1.1.3 Alternative Konformationen der DNA-Doppelhelix	38
1.1.4 Größe von DNA-Molekülen	39
1.1.5 Variationen im Erscheinungsbild der DNA	39
1.1.6 DNA-Denaturierung und -Renaturierung	42
1.1.7 Verpackung der DNA in Chromosomen	42
1.2 Struktur und Verhalten von RNA	48
1.2.1 RNA-Typen und ihr Vorkommen	48
1.2.2 Bestandteile und chemische Bindungen der RNA	49
1.2.3 Struktur der RNA	49
1.2.4 RNA-Denaturierung und -Renaturierung	50
1.2.5 RNA-DNA-Hybridhelices	51
1.3 Struktur von Proteinen	53
1.3.1 Bestandteile und chemische Bindungen der Proteine	53
1.3.2 Größe und Gestalt von Proteinen	56
1.3.3 Faktoren, die Proteinstrukturen beeinflussen	58
2. Replikation, Reparatur und Rekombination des Genoms	65
2.1 DNA-Replikation	66
2.1.1 Die Matrizenfunktion der DNA während der Replikation	66
2.1.2 Die Replikation beginnt an genau definierten Stellen	67
2.1.3 Die DNA-Replikation ist semikonservativ	72
2.1.4 Die Bildung komplementärer Basenpaare, Addition von Desoxynucleotiden und Verknüpfung von DNA-Strängen im Verlauf der Replikation	76
2.1.5 Schlüsselenzyme der DNA-Synthese	77
2.1.6 Die Replikation erfordert das Entwinden der Helix	82
2.1.7 Der ReplikationsStart und die Verlängerung neuer DNA-Ketten an Replikationsgabeln	86
2.1.8 Das Ende der DNA-Replikation und das Ablösen der Tochterhelices	93
2.2 Reverse Transkription	95
2.2.1 Replikation retroviraler Genome	95
2.2.2 Reverse Transkription zur Replikation von DNA-Viren	97

2.3	DNA-Reparatur	
2.3.1	Reparaturen, bei denen Modifikationen einfach rückgängig gemacht werden	
2.3.2	Reparatur durch Ersatz der modifizierten Reste	
2.3.3	Die Bedeutung der DNA-Reparatur	
2.4	DNA-Rekombination	
2.4.1	Rekombinationstypen	
2.4.2	Allgemeine Rekombination zwischen homologen DNAs	
2.4.3	Enzyme, die zur allgemeinen Rekombination benötigt werden	
2.4.4	Sequenzspezifische Rekombination	
2.5	RNA-Replikation	
3.	Die Genexpression: Innere Logik und ausführendes Räderwerk	119
3.1	Ein Überblick über die Genexpression	121
3.1.1	Die Transkription der DNA in RNA	122
3.1.2	Die Beziehung zwischen Nucleotidtripletts und Aminosäuren	122
3.1.3	Die Identifizierung der Codons durch tRNAs	122
3.1.4	Die korrekte Initiation der Translation	123
3.1.5	Codonerkennung und Verknüpfung der Aminosäuren	123
3.1.6	Die Regulation der Genexpression in verschiedenen Stadien der RNA- und Proteinsynthese	124
3.2	Transkription: Übertragung der DNA-Information auf RNA	124
3.2.1	Das Umkopieren von DNA-Sequenzen in RNA	125
3.2.2	DNA-abhängige RNA-Polymerasen	128
3.2.3	Die Transkription beginnt an charakteristischen Nucleotidsequenzen	130
3.2.4	Transkriptionstermination und Freisetzung der RNA-Ketten	131
3.3	RNA-Processing bei Prokaryoten	134
3.3.1	Die Anordnung der rRNA- und tRNA-Gene im <i>E. coli</i> -Genom	135
3.3.2	Das Zurechtschneiden der rRNA-tRNA-Cotranskripte	135
3.3.3	Die Herstellung reifer tRNAs aus größeren Transkripten	136
3.4	Der genetische Code	139
3.4.1	Die Aminosäuresequenzen der Proteine entsprechen den Nucleotidsequenzen der Gene	139
3.4.2	Wie funktioniert der Decodierungsprozeß?	140
3.4.3	Die Entschlüsselung des genetischen Codes	141
3.4.4	Redundanz im genetischen Code	146
3.4.5	Der genetische Code ist universell	146
3.5	Der Translationsapparat	147
3.5.1	Die Bindung der Aminosäuren an die zugehörigen tRNAs	147
3.5.2	An den Ribosomen erfolgt die Bindung der Aminoacyl-tRNAs an die Codons und die Synthese der Proteine	152
3.6	Die mRNA-Translation bei Prokaryoten	156
3.6.1	Initiationsbedingungen	157
3.6.2	Die Elongation der Polypeptidketten	158
3.6.3	Die Termination der Polypeptidkettenverlängerung	159
3.7	Einige bemerkenswerte Eigenschaften des Translationsprozesses	163
3.7.1	Gleichzeitige Translation von mRNAs durch mehr als ein Ribosom	163
3.7.2	Die Translation bakterieller mRNAs kann während der Transkription einsetzen	164
3.7.3	Die Ribosomen werden nach der Translation einer codierenden Sequenz neu aufgebaut	164
3.7.4	Interaktion zwischen Codon und Anticodon	165

3.8	Die mRNA-Translation bei Eukaryoten	170
3.8.1	Besondere Modifikationen eukaryotischer mRNAs	170
3.8.2	Translationsinitiation durch die kleinen Ribosomen- untereinheiten an den Cap-tragenden 5'-Enden der mRNAs	171
3.8.3	Verlängerung der Polypeptidketten und Termination der Translation	172
3.9	Inhibitoren von Transkription und Translation	172
3.9.1	Inhibition der RNA-Polymerase	172
3.9.2	Inhibition der Translation	174
3.10	Das Schicksal der neusynthetisierten Proteine	176
3.10.1	Posttranslationale Modifikationen von Polypeptidketten	176
3.10.2	Die Steuerung eukaryotischer Proteine in Zellmembranen hinein und durch sie hindurch	177
3.10.3	Der Transport der Proteine zu den eukaryotischen Zellorganellen	181
3.10.4	Der Proteintransport bei Prokaryoten	183
3.11	Die Regulation der Genexpression	184
3.11.1	Die Regulation der RNA-Konzentrationen während der Biosynthese	186
3.11.2	Die koordinierte Regulation der prokaryotischen Genexpression	186
3.11.3	Die Expressionsregulation des Lactoseoperons	189
3.11.4	Die Expressionsregulation des Tryptophanoperons	192
3.11.5	Zeitliche Kontrolle der Genexpression im Lebenszyklus des Bakteriophagen X	196
3.11.6	Die translationale Expressionsregulation einiger Genprodukte	200
	Literatur zu Teil I	204
	II. DNA-Rekombination: Ein Durchbruch	211
	Vorspann	212
	4. Das Handwerkszeug: Enzyme	231
4.1	Nucleasen	232
4.1.1	Allgemeine Eigenschaften	232
4.1.2	Einzelstrangspezifische Nucleasen	233
4.1.3	Die Nuclease <i>Bai 31</i>	234
4.1.4	Die RNaseH	234
4.2	Restriktionsendonucleasen	235
4.2.1	Die drei Typen der Restriktionsendonucleasen	235
4.2.2	Eine typische Typ-II-Restriktionsendonuclease	236
4.2.3	Verschiedene Gruppen von Typ-II-Restriktions- endonucleasen	238
4.2.4	Die Kartierung von DNA-Abschnitten mit Hilfe von Typ-II-Restriktionsendonucleasen	239
4.2.5	Schutz durch Methylierung	240
4.3	Phosphomonoesterasen	242
4.4	Die Polynucleotidkinase	243
4.5	Die DNA-Ligase	243
4.6	Die DNA-Polymerase I	244
4.6.1	Ein vielseitig verwendbares Enzym	244
4.6.2	Die Nick-Translation	244
4.6.3	Das Auffüllen kohäsiver Enden	244
4.7	RNA-abhängige DNA-Polymerasen (Reverse Transkriptasen)	245

4.8	Die Terminale Desoxynucleotidyltransferase	
4.8.1	Polymerisierung ohne Matrize	
4.8.2	Die Synthese kohäsiver Enden	
4.9	Die Poly(A)-Polymerase	
5.	Das Handwerkszeug: Wirt-Vektor-Systeme	249
5.1	<i>E. coli</i> -Systeme: Die Wirtszellen	251
5.1.1	Ein vielseitiger Wirt	251
5.1.2	Ein gastfreundlicher Wirt	251
5.1.3	Ein zugänglicher Wirt	252
-	5.1.4 Einige Beispiele	252
5.2	<i>E. coli</i> -Systeme: Plasmidvektoren	254
5.2.1	Die Modulstruktur der Plasmide	254
5.2.2	Vektoren mit Selektionsmarkern	257
5.2.3	Ein Plasmidvektor: pBR322	260
5.2.4	Unterschiedliche Vektoren für unterschiedliche Zwecke	263
5.3	<i>E. coli</i> -Systeme: Bakteriophagenvektoren	264
5.3.1	Einige Unterschiede zwischen Plasmid- und Phagenvektoren	264
5.3.2	Der Phage A	264
5.3.3	X-Vektoren	266
5.3.4	Das Verpacken von X-Vektoren in Phagenpartikel	267
5.3.5	Der Phage M13	268
5.3.6	M13-Vektoren	271
5.4	<i>E. coli</i> -Systeme: Plasmid-Phagen-Kombinationsvektoren	274
5.4.1	Cosmide	274
5.4.2	Phasmide	275
5.5	Andere prokaryotische Wirt-Vektor-Systeme	276
5.5.1	Gram-negative Organismen	277
5.5.2	Gram-positive Organismen	277
5.5.3	Schaukelvektoren	279
5.6	Eukaryotische Wirt-Vektor-Systeme: Hefe	279
5.6.1	Vielseitigkeit und Eignung	279
5.6.2	In Hefezellen replizierende Vektoren	281
5.6.3	Dauerhafte Transformation durch Rekombination mit dem Hefegenom	
5.7	Eukaryotische Wirt-Vektor-Systeme: Tiere	
5.7.1	Die Transformation tierischer Zellen	
5.7.2	SV40-Vektoren	
5.7.3	Rinder-Papillom-Virus-Vektoren	
5.7.4	Retrovirusvektoren	
5.8	Eukaryotische Wirt-Vektor-Systeme: Pflanzen	
5.8.1	Allgemeine Betrachtungen	
5.8.2	Ti-Plasmide — tumorinduzierende Plasmide	
5.8.3	Die Entwicklung rekombinanter DNA-Vektoren mit Ti-Plasmiden	
6.	Die Mittel: Konstruktion, Klonierung und Selektion rekombinanter DNA	
6.1	Fremd-DNA	
6.1.1	Allgemeine Betrachtungen	
6.1.2	Fremd-DNA aus genomischer DNA	
6.1.3	Synthetische Fremd-DNA	
6.1.4	Das Kopieren von RNA in DNA (reverse Transkription)	
6.2	Ligation von Vektor und Fremd-DNA	
6.2.1	Verknüpfen der Enden	
6.2.2	Anhängen von kohäsiven Enden	

6.3	Infektion, Transfektion und Klonierung	328
6.3.1	Transfer rekombinanter Moleküle vom Reagenzglas in die Zelle	328
6.3.2	Klonierung	329
6.4	Durchmustern einer Population rekombinanter Klone (Screening)	330
6.4.1	Auffinden des richtigen Klons	330
6.4.2	Hybridisierung mit komplementären Polynucleotidsequenzen	330
6.4.3	Nachweis der Genexpression in der Zelle	336
6.5	Genbibliotheken #	341
6.5.1	Genomische Bibliotheken	342
6.5.2	cDNA-Bibliotheken	344
6.6	Einige Verfahren zur Klonierung von Genen und cDNAs	346
7.	Die Produkte: Charakterisierung und Manipulation von Rekombinanten	357
7.1	Die grobe Anatomie einer klonierten Fremd-DNA	358
7.1.1	Die Größe einer Fremd-DNA	358
7.1.2	Kartierung der Erkennungssequenzen von Restriktionsendonucleasen	359
7.1.3	Subklonierung	359
7.1.4	Lokalisierung eines bestimmten Abschnitts innerhalb der Fremd-DNA	360
7.2	Die Feinstruktur eines DNA-Segments — die primäre Nucleotidsequenz	361
7.2.1	Allgemeine Prinzipien	362
7.2.2	Chemische Sequenzierung (Maxam-Gilbert-Methode)	363
7.2.3	Sequenzierung durch enzymatisches Kopieren (Didesoxymethode nach Sanger)	368
7.3	Computeranalyse von DNA-Sequenzen	371
7.3.1	Speichern von primären Sequenzdaten	371
7.3.2	Strukturanalyse	371
7.3.3	Biologische Bedeutung	374
7.4	Lokalisierung klonierter Segmente in Genomen	376
7.4.1	Lokalisierung auf molekularer Ebene	376
7.4.2	Lokalisierung auf chromosomaler Ebene	378
7.4.3	Die Genauigkeit des Kloniervorgangs	382
7.5	Bestimmung der Kopienzahl einer DNA-Sequenz	383
7.5.1	Abschätzen der Kopienzahl durch DNA-Blotting	383
7.5.2	Abschätzen der Kopienzahl aus der Kinetik der DNA-Hybridisierung	383
7.5.3	Abschätzen der Kopienzahl durch Sättigungshybridisierung	387
7.6	Veränderung klonierter Segmente: Das Herstellen von Mutanten	388
7.6.1	Allgemeine Betrachtungen	388
7.6.2	Deletionsmutanten	388
7.6.3	Insertionsmutanten	390
7.6.4	Punktmutationen	391
7.7	Untersuchung der Funktion klonierter DNA-Segmente	395
7.7.1	Charakterisierung intrazellulärer Transkripte, die klonierten DNA-Segmenten entsprechen	395
7.7.2	Untersuchung klonierter DNAs auf ihre Funktion	399
7.8	Synthese von Polypeptiden, die in eukaryotischen DNA-Segmenten codiert sind	400
7.8.1	Die Wahl eines Expressionssystems	401
7.8.2	Expressionsvektoren für <i>E. coli</i>	402
7.8.3	Expressionsvektoren für Hefe	406
• 7.8.4	Expressionsvektoren für tierische Zellen	407

7.9 Enzymatische Vervielfältigung von DNA- und RNA-Segmenten	407
Literatur zu Teil II	413
III. Molekularer Aufbau, Expression und Regulation eukaryotischer Gene	419
Vorspann	420
8. Struktur und Expressionsregulation eukaryotischer Gene	
8\1 Struktureigenschaften pro- und eukaryotischer Gene im Vergleich	
8.1.1 Prokaryotengene	
8.1.2 Eukaryotengene	
8.2 Struktur und Expression von Genen der Klasse I	
8.2.1 Transkriptionseinheiten	
8.2.2 Der Transkriptionsapparat	
8.2.3 Steuerungsabschnitte für die Transkription der rDNA	
8.2.4 Termination der rDNA-Transkription	
8.2.5 Die Verbindung von Termination und Initiation der Transkription	
8.3 Struktur und Expression von Genen der Klasse II	
8.3.1 Allgemeine Betrachtungen	
8.3.2 Der Transkriptionsapparat	
8.3.3 Die Reifung von mRNA und U-RNA	
8.3.4 Regulierte Expression von Virusgenen	
8.3.5 Gewebe- und entwicklungsspezifische Genregulation	
8.3.6 Induzierbare und reprimierbare Transkription	
8.3.7 Regulation der Transkription während der Morphogenese	
8.3.8 Regulation der Transkription der U-RNA-Gene	
8.4 Struktur und Expression von Genen der Klasse III	
8.4.1 Allgemeine Merkmale	
8.4.2 Regulationssequenzen für die Initiation der Transkription	
8.4.3 Der Einfluß von Transkriptionsfaktoren auf die Transkriptionsinitiation durch RNA-Polymerase III	
8.4.4 Die Termination der Transkription durch RNA-Polymerase III	
8.4.5 Die Expressions Steuerung der Gene für die 5S-rRNA in der Entwicklung	
8.5 Introns	
8.5.1 Die Häufigkeit von Introns	
8.5.2 Intronotypen	
8.5.3 Autokatalytisches Spleißen von Introns	
8.5.4 Spleißen von Introns in der Prä-mRNA des Zellkernes	
8.5.5 Spleißen von tRNAs	
8.5.6 Alternatives Spleißen: Ein Gen — mehrere Proteine	
8.6 Neuentdeckte Struktur motive bei Transkriptionsfaktoren	
8.6.1 DNA-bindende Domänen	
8.6.2 Domänen zur Regulation der Transkription	
8.7 Allgemeine Einflüsse auf die Genexpression	
8.7.1 DNA-Verpackung	
8.7.2 Topologie und Konformation der DNA	
8.7.3 DNA-Methylierung	
8.7.4 Regulation der rRNA-Nutzung	
9. Die molekulare Anatomie eukaryotischer Genome	
9.1 Strukturelemente	
9.1.1 Mehrere Klassifikationen für DNA-Ab schnitte	

9.1.2 Die Wiederholung von DNA-Sequenzen	606
9.1.3 Die Bedeutung von Sequenzwiederholungen für die Evolution	609
9.2 Gene für RNA	613
9.2.1 Gene für die 18S-, 5,8S- und 28S-rRNA	613
9.2.2 Gene für die 5S-rRNA	618
9.2.3 Die Kopplung aller vier rRNA-Gene bei Hefe	619
9.2.4 Gene für tRNA	620
9.2.5 Gene für die kleinen RNAs in Zellkern und Cytoplasma	621
9.3 Gene für Polypeptide [^]	623
9.3.1 Einige allgemeine Überlegungen	623
9.3.2 Beispiele für Genfamilien	624
9.3.3 Histogene: Konservierte, aber unterschiedlich organisierte codierende Sequenzen	638
9.4 Tandemförmige Wiederholung von DNA-Sequenzen: Ein charakteristisches Merkmal eukaryotischer Genome	641
9.4.1 Gene aus tandemförmig wiederholten DNA-Abschnitten	641
9.4.2 Tandemförmige Wiederholungen außerhalb der codierenden Regionen	645
9.4.3 Tandemförmige Wiederholungen an Centromeren und Telomeren	647
9.4.4 Spekulationen über die Funktion der Tandemwiederholungen	653
9.4.5 Mechanismen für die Entstehung von Tandemwiederholungen in der Evolution	655
9.5 Über das Genom verstreute Sequenz Wiederholungen	657
9.5.1 Anordnung der verstreut liegenden Sequenz Wiederholungen	658
9.5.2 Verstreut liegende Sequenzwiederholungen bei Wirbellosen	661
9.5.3 Die sehr großen Familien verstreut liegender Sequenzwiederholungen in Säugergenomen	662
9.5.4 Die Funktion der verstreut liegenden Sequenzwiederholungen	666
9.5.5 Die bemerkenswerte Einheitlichkeit der verstreut liegenden Sequenzwiederholungen	669
9.6 Sequenzen an Centromeren und Telomeren	672
9.6.1 Sequenzen an Centromeren	672
9.6.2 Sequenzen an Telomeren	675
9.6.3 Künstliche Hefechromosomen	679
9.7 Genome in den Organellen der Eukaryoten: Die DNA der Mitochondrien und Chloroplasten	680
9.7.1 Mitochondriengenome	681
9.7.2 Die ungewöhnliche Mitochondrien-DNA der Trypanosomen	688
9.7.3 Die DNA der Chloroplasten	690
9.7.4 Die Herkunft der Organellen-DNA	692
10. Umordnungen im Genom	695
10.1 Allgemeine Eigenschaften der nicht programmierten Transposition	696
10.1.1 Verschiedene Typen beweglicher Elemente	697
10.1.2 Die Bildung von Zielstellenverdopplungen	698
10.1.3 Bewegliche Elemente als verstreut liegende Sequenzwiederholungen	699
10.2 Transponierbare Elemente	700
10.2.1 Transponierbare Elemente bei Prokaryoten	700
10.2.2 Die P-Elemente von <i>Drosophila</i>	709
10.2.3 Die Kontrollelemente beim Mais	715
10.3 Retrotransposons	723
10.3.1 Allgemeine Eigenschaften von Retrotransposons der Klasse I	723

- 10.3.2 Die Ty-Elemente der Hefe
- 10.3.3 Die copia-artigen Elemente von *Drosophila*
- 10.3.4 Die IAP-Sequenzen der Maus
- 10.3.5 Vergleich mit Retroviren
- 10.3.6 Retrotransposons der Klasse II
- 10.4 Retrogene
 - 10.4.1 Weiterverarbeitete Polypeptidpseudogene
 - 10.4.2 Weiterverarbeitete RNA-Pseudogene
- 10.5 Andere ungewöhnliche bewegliche Elemente
 - 10.5.1 Die *foldback-Elemente* von *Drosophila*
 - 10.5.2 Insertionen in der rDNA von *Drosophila*
- 10.6 Programmierte Umordnungen und die Steuerung der Genexpression
 - 10.6.1 Prokaryotische Modelle: Translokation durch Flip-Flop-Inversionen
 - 10.6.2 Die Paarungstypen der Hefe: Ein Kassettenmechanismus
 - 10.6.3 Gene für die Immunproteine der Wirbeltiere
 - 10.6.4 Die veränderlichen Oberflächenantigene der Trypanosomen
- 10.7 Programmierte Amplifikation und die Steuerung der Genexpression
 - 10.7.1 Ungleichmäßige Replikation der Choriongene von *Drosophila*
 - 10.7.2 Die rDNA von *Xenopus*: Amplifikation nach dem Mechanismus des rollenden Ringes
 - 10.7.3 Die Amplifikation der rDNA von *Tetrahymena* in Makronuclei
- 10.8 Nicht programmierte Tandemamplifikationen
 - 10.8.1 Amplifikation zum Ausgleich von Enzymdefekten
 - 10.8.2 Die Struktur amplifizierter Gene
 - 10.8.3 Der Amplifikationsmechanismus

Literatur zu Teil III

IV. Erforschung und Manipulation biologischer Systeme

Literatur zu Teil IV

Index