

Rolf Knippers

Molekulare Genetik

8., neubearbeitete Auflage

592 farbige Abbildungen
66 Tabellen

Georg Thieme Verlag
Stuttgart • New York

Inhaltsverzeichnis

Teil I: Grundlagen

1. Lebensformen: Zellen mit und ohne Kern ... 3

Eukaryoten ... 4

Prokaryoten ... 6 *

Literatur ... 7

2. DNA: Träger der genetischen Information ... 9

Bausteine: Nucleotide ... 9

Doppelhelix ... 10

DNA-Helices: Flexibilität ... 12

Denaturierung und Renaturierung ... 15

Natürliche DNA-Moleküle ... 17

DNA-Ringe: Helix und Superhelix ... 21

Einige wichtige Methoden ... 23

Elektrophorese ... 23

Enzyme als Hilfsmittel: Deoxyribonucleasen ... 24

Endonucleasen, Exonucleasen ... 24

Restriktionsnucleasen ... 26

Zentrifugation ... 29

Differentielle Sedimentation ... 30

Zonensedimentation ... 30

S-Wert und Bestimmung der relativen Molmasse ... 31

Isopyknische oder Gleichgewichtszentrifugation ... 32

Elektronenmikroskopie ... 33

Literatur ... 35

3. Proteine: Ein Überblick in Stichwörtern ... 37

Primärstruktur: Sequenz der Aminosäuren ... 37

Aminosäuren ... 37

Peptid-Bindung ... 38

Wechselwirkungen zwischen Aminosäure-Seitenketten ... 40

Sekundärstrukturen: α -Helix und β -Blatt ... 41

α -Helix ... 41

β -Blatt ... 42

Tertiärstrukturen:

Von der Aminosäure-Sequenz zum gefalteten Protein ... 43

Protein-Domänen ... 46

Untereinheiten ... 46

Faltungen ... 47

Literatur ... 48

4. Transkription, Translation und der genetische Code •••

Transkription oder die Synthese von RNA •••5?

- RNA-Polymerase •••53
- Genanfang: Der Promotor ••• 54
- Ereignisse am Promotor ••• 56
- Elongation der RNA-Kette ••• 58
- Termination •••59
- Stabile und nichtstabile RNA ••• 59

Transfer-RNA und die Aktivierung von Aminosäuren •••60

- Struktur der tRNA •••60
- Beladung der tRNA •••64

Translation: Ribosomen und Proteinsynthese ••• 67

- Ribosomen: Eine kurze Beschreibung •••67
- Proteinsynthese: Genauigkeit des Starts ••• 71
- Initiation der Translation •••73
- Elongation: Die programmierte Verknüpfung von Aminosäuren ••• 74
- Termination ••• 77
 - Geschwindigkeit und Genauigkeit ••• 78
 - Besonderheiten bei Bakterien ••• 79

Der genetische Code •••79

- Rückblicke ••• 80
- Code-Wörter ••• 81
- „Wobble“ bei der Erkennung von Codon und Anticodon ••• 82
- Der genetische Code in der Zelle •••83
- Selenocystein: Ein Sonderfall ••• 84
- Verwendung von Code-Wörtern ••• 85

Literatur ••• 86

5. *Escherichia coli* und der Bakteriophage Lambda: Gene und Gen-Expression •••89

Vermehrung von Bakterien ••• 89

- Die DNA als Nucleoid ••• 91
- Die DNA als Genom •••92
- Die biologische Gen-Karte und das F-Plasmid — 95
- F'-Plasmide •••99
- Konjugation und Gen-Kartierung ••• 99

Mechanismen bakterieller Gen-Regulation ••• 102

- Regulons: Gen-Gruppen unter gemeinsamer Kontrolle ••• 102
 - Beispiel: Hitzeschock-Gene ••• 102
 - Alternative Sigma-Faktoren ••• 105
 - Stringente Kontrolle ••• 106
- Negative und positive Gen-Regulation: das lac-Operon als Beispielsystem ••• 112
 - Die Gen-Produkte ••• 113
 - Mutanten mit veränderter Gen-Regulation ••• 113
 - Das Modell ••• 116
 - Der Lac-Repressor ••• 117
- Positive Regulation: das CAP-Protein ••• 122

Zwischenstück: Bakteriophagen ••• 125

- M13 ••• 127
- MS2 ••• 127

Der Bakteriophage Lambda und seine Gene	••• 128
Das Genom	••• 128
Proteinkodierende Gene	••• 128
Kontrollelemente	••• 129
Integration und Exzision	••• 130
Frühe Transkription	••• 130
Entscheidung zwischen Lyse und Lysogenie	••• 131
Der Lambda-Repressor	••• 133
Transkription des inf-Gens	••• 135
Induktion und lytischer Infektionsweg	••• 135
Wege der Lambda-Replikation	••• 136
Entstehung der Phagenpartikel	••• 137
Am Ende des lytischen Infektionsweges	••• 137
Literatur	••• 140

9

6. DNA im Zellkern: Chromatin und Chromosomen ••• 143

Zellkern	- 143
Kern-Hülle	••• 143
Kern-Innenraum	••• 146
Chromatin	••• 147
Histone	••• 148
Nucleosomen	••• 149
Chromatin-Fasern	••• 151
Mitose und die Bildung von Chromosomen	••• 152
Von der Prophase zur Metaphase	••• 153
Von der Anaphase zur Telophase	••• 157
Heterochromatin	••• 158
Chromosomen	••• 158
Chromosomen des Menschen	••• 159
Chromosomensätze	••• 162
Polytäre Chromosomen	••• 163
Literatur	••• 165

Teil II: Allgemeine genetische Prozesse**7. DNA-Replikation:****Weitergabe der genetischen Information** ••• 169

Ein klassisches Experiment	••• 170
DNA-Polymerasen	••• 171
Polymerisation von Deoxynucleotiden	••• 171
DNA-Polymerasen von <i>Escherichia coli</i>	••• 173
DNA-Polymerase I	••• 173
DNA-Polymerase II	••• 175
DNA-Polymerase III	••• 175
Primase	••• 178
Eukaryotische DNA-Polymerasen	••• 180
DNA-Entwindung	••• 181
DNA-Helikasen	••• 181

DNA-Topoisomerasen	••• 182
Typ-I-DNA-Topoisomerasen	••• 184
Typ-II-DNA-Topoisomerasen	••• 184
DNA-Ligasen	•• 186
Ereignisse an der Replikationsgabel	••• 187
Einleitung der Replikation von Bakteriengenomenen	••• 189
Regulationen	•• 193
Ablauf der eukaryotischen Genom-Replikation	••• 194
Zellzyklus	••• 194
Regulation des Zellzyklus durch Protein-Kinasen	••• 195
Replikation eukaryotischer Genome	••• 799
Ereignisse am Origin	••• 201
Initiationen	••• 202
Probleme am Ende	••• 203
Telomere und Telomerasen	••• 203
Literatur	•• 206

8. Rekombinationen und Transpositionen -- 209

Homologe Rekombination	••• 209
Meiose	-- 210
Überblick: Reduktion des diploiden auf den haploiden Chromosomensatz	••• 270
Prophase	••• 211
Bedeutung und Folgerungen	•• 212
Rekombination und Gen-Karten	••• 214
Molekulare Biologie der allgemeinen Rekombination	••• 217
Voraussetzungen	••• 217
Enzyme der Rekombination	••• 219
Strangtausch und das RecA-Protein	••• 220
Einzelstrang-Bereiche und das RecBCD-Enzym	••• 221
Branch Migration und das RuvAB-Protein	••• 222
Auflösung der HolHday-Struktur und das RuvC-Protein	•
Genkonversion: Ereignisse im Heteroduplex-Bereich	••• 224
Transpositionen	•• 225
Bewegliche genetische Elemente bei Bakterien	••• 225
Insertionssequenzen (IS-Elemente)	••• 225
Transposons	••• 226
Transponierbare Bakteriophagen	••• 229
Ablauf der Transposition	••• 229
Konsequenzen der Transposition: Veränderungen im Genom	-- 230
Bewegliche genetische Elemente in Pflanzen	••• 230
Eine weitverbreitete Familie transponierbarer genetischer Elemente: Tel/mariner	-- 232
P-Elemente im <i>Drosophila</i> -Genom	••• 233
Retrotranspositionen	••• 233
Retroviren: ein Überblick	••• 234
Struktur und Vermehrungsweg	••• 236
Transduktion durch Retroviren	••• 237
Retrotransposons/Retroposons	••• 240
Literatur	••• 242

9. Mutationen. DNA-Schäden und DNA-Reparatur ••• 245**Arten der Mutation: Ein Überblick ••• 245**

Nucleotid-Austausch ••• 246

Leseraster-Mutationen ••• 247

Untersuchung von Mutationen bei Bakterien --• 250**Untersuchung von Mutationen bei Eukaryoten --• 251****Spontane Mutationen ••• 254**

Falscheinbauten ••• 254

Mismatch-Reparatur ••• 256

Fehlende Basen oder AP-Stellen ••• 258

Oxidative Schäden ••• 260

Entstehung spontaner Leseraster-Mutationen ••• 262

Hot Spots spontaner Mutationen ••• 263**Induktion von Mutationen durch Chemikalien ••• 266**

DNA-Alkylierung ••• 266

Reparaturen und die adaptive Antwort von Bakterien ••• 266

Polycyclische Kohlenwasserstoffe ••• 268

DNA-Schäden durch ultraviolettes Licht und die Nucleotid-Exzisions-Reparatur ••• 269

Photo-Reaktivierung ••• 270

Nucleotid-Exzision ••• 271

Rekombinative Reparatur ••• 272

Nucleotid-Exzision bei Eukaryoten ••• 272

Überschreitungen ohne Fehler und mit Fehlern ••• 273

Ionisierende Strahlen und die Reparatur von DNA-Strang-Brüchen --• 275

Ligasen, eine Anmerkung ••• 277

Allgemeine Reaktionen der Zelle auf Genom-Schäden ••• 277

SOS-Antwort von Bakterien ••• 277

Reaktionen in Eukaryoten ••• 278

Literatur ••• 282

Teil IM: Gene und Genome**10. Klonieren und Sequenzieren --• 287****Genombibliotheken --• 288**

Zerlegen der DNA ••• 288

Plasmide als Vektoren ••• 289

Lambda-DNA als Vektor ••• 293

Cosmide als Vektoren ••• 295

Künstliche Phagen-, Bakterien- und Hefe-„Chromosomen“ (PAC, BAC und YAC) — 295

Bibliotheken von cDNA-Sequenzen ••• 299

Benutzung von Bibliotheken --• 302

Sequenzieren ••• 304

Sequenziermaschinen ••• 307

Ortsspezifische, biochemische Mutagenese •• 310
 Künstlich eingeführte Nucleotid-Austausch-Mutationen 310
 Deletionen und Insertionen •• 311
Literatur •• 313

11. Exons und Introns. Struktur eukaryotischer Gene 315

Entdeckung •• 315
Aufbau von Globin-Genen •• 317
 Fragen •• 319
 Exons/Introns im Überblick •• 323
 Pseudogene •• 324
Literatur •• 327

12. RNA-Polymerasen und die Voraussetzungen für die Transkription von Eukaryotengen •• 329

Eukaryotische RNA-Polymerasen •• 329
 Struktur ••330
 Anmerkungen zur biochemischen Funktion •• 330
Promotoren in proteinkodierenden Genen •• 331
 Zum Nachweis der Promotor-Funktion •• 334
 Versuche mit dem Promotor des β -Globin-Gens •• 335
 Zusammenfassung und Ausblick •• 337
Ereignisse an den Promotoren proteinkodierender Gene •• 338
 Band-Shift-Assay •• 339
 DNA-Schutz-Experimente •• 340
 Die Bildung des Prä-Initiationskomplexes und die Einleitung der Transkription •• 341
 TFIIDals Basis ••341
 Vorbereitungen für den Start •• 344
 Spl: das GC-Box-Protein •• 345
 Auf den Weg gebracht •• 348
 Modifikationen an den 5'-Enden und an den 3'-Enden der primären Transkriptionsprodukte (prä-mRNAs) •• 348
 Capping •• 348
 Das Ende des Weges: Prozesse am 3'-Ende •• 349
RNA-Polymerase I und die Bildung von rRNA •• 350
 rRNA-Cene ••350
 Promotor und Faktoren •• 352
 Fertigstellen der rRNA — 354
 Nucleolus •• 356
RNA-Polymerase III: Gene und Faktoren 357
 Faktoren --358
 Rückblick: die Rolle von TBP •• 361
Literatur •• 362

13. Regulationen genetischer Aktivität 365

Eukaryotische RNA-Polymerasen - •• 365
CRE, CREB und CBP: der cAMP-Signaltransduktionsweg 366
 cAMP und Protein-Kinase A •• 366
 CRE, cAMP-Response-Element 367
 Aufbau von CREB - - 3 6 7
 CBP: ein Coaktivator •• 370

Myc und Partner: das DNA-Bindemotiv bHLH-Zip	•••371
Variationen	•• 373
Die Homöobox als DNA-Bindemotiv	•• 373
Nuclear Factor kappa B: Signalwege und DNA-Bindungen	•• 376
Nukleare Hormonrezeptoren	••• 380
Die DNA-Bindedomäne: ein besonderes Zink-Finger-Motiv	•• 381
Zwei Gruppen von nuklearen Rezeptoren	•• 381
Repression und Aktivierung	•• 384
Gen-Regulation und Chromatin-Struktur	•• 385
DNase-I-sensitives Chromatin und DNase-I-hypersensitive Stellen	•• 386
Histon-Acetyl-Transferasen	•• 386
Chromatin Remodeling	•• 390
DNA-Methylierung und die Inaktivierung genetischer Aktivität	•• 391
Epigenetik	•• 394
Literatur	•• 394

14. Spleißen, Prozessieren und Editionen •• 397

Grundlagen: Der Zwei-Schritt-Prozess	•• 397
Komponenten des Spleißapparates	•• 400
snRNPs	•• 400
Aufbau des Spleißosoms	•• 402
Selbstspleißen	•• 406
Koordinationen:	
Transkription und das Prozessieren von prä-mRNA	•• 409
Wie gelangen Spleißosomen an die richtigen Stellen?	•• 410
Alternatives Spleißen	•• 410
Erstes Beispiel: Exons können übersprungen werden	•• 411
Zweites Beispiel: Spleißen entfernt entweder das eine oder das andere Exon	•• 412
Drittes Beispiel: Zelltypspezifisches Spleißen	•• 412
Faktoren für alternatives Spleißen: Geschlechtsbestimmung bei <i>Drosophila</i>	•• 413
Noch eine Variation zum Thema: Trarcs-Spleißen	•• 414
RNA-Editionen: eine besondere Zubereitung von mRNAs	•• 415
Spleißen - ohne Spleißosom	•• 417
Literatur	•• 418

15. Messenger-RNA im Cytoplasma •• 421

Stichwort: post-transkriptionelle Gen-Regulation	•• 422
Exporte	•• 422
Stabilitäten	•• 423
Regulationen der mRNA-Stabilität und der mRNA-Nutzung	•• 425
Stabilitätswechsel im Zellzyklus	•• 425
RNA-Interferenz	•• 428
Einleitung der Translation: Ein Überblick	•• 430
Initiationen ohne Kappe	•• 433

Regulationen ... 435
 Sequenzen ... 435
 Regulation an der Kappe ... 436
 Regulationen über das Protein eIF2 ... 437
Peptid-Synthese und darüber hinaus - 438
Literatur ... 439

Teil IV: Genetische Systeme

16. Gene in Mitochondrien und Chloroplasten ... 443

DNA in Mitochondrien ... 443
 mtDNA des Menschen ... 445
 Expression mitochondrialer Gene ... 446
 Replikation ... 447
 Cytoplasmatische Vererbung ... 448
 Formen mitochondrialer DNA ... 450
 Der genetische Code in Mitochondrien ... 454
 RNA-Editierung ... 454
 Cytosin-nach-Uracil-Austausch
 in mitochondrialer DNA ... 454
 Einfügen von Nucleotiden:
 RNA-Editierung in Mitochondrien von *Trypanosomen* ... 455
 Rückblicke ... 457
DNA in Chloroplasten ... 459
 Allgemeine Strukturmerkmale ... 460
 Gene: Anordnung und Funktion ... 460
 Expression von ct-Genen ... 463
Literatur ... 464

17. Genomik: Forschungen über die Struktur und Expression komplexer Genome ... 465

Große Genome: Entschlüsselung über den Klon-für-Klon-Weg und über das Schrotschuss-Verfahren 465
Gene auf Chromosomen ... 470
 fn-riru-Hybridisierung ... 473
 Bestrahlungs-Hybridzellen ... 474
 Polymerase-Kettenreaktion (PCR) ... 475
 Kopplungsanalyse ... 476
 Restriktionsfragment-Längen-Polymorphismus (RFLP) ... 477
 Mikrosatelliten-Polymorphismus ... 479
 Biologische Gen-Karten ... 480
 Positionelles Klonieren ... 482
Physikalische oder molekulare Gen-Karten ... 485
 Selten schneidende Restriktionsnucleasen ... 485
 Ordnung klonierter DNA ... 486
 Sequenzen: fertige Gen-Karten ... 487
 Gen-Zahlen: Proteinkodierende Gene im Humangenom ... 491
 Einzel-Nucleotid-Polymorphismus ... 492

Was steht noch auf dem Programm der molekularen Humangenetik? •• 494

- Vergleiche •• 496
- Modellorganismen •• 498
- Knockout-Technologie •• 500

Über Genomik hinaus ••• 503

- Expression genetischer Aktivität in proliferierenden Zellen •• 509
- Proteomik •• 510

Literatur •• 513

18. Epigenetik und die Besonderheiten von X- und Y-Chromosomen •• 515

Besonderheiten an X- und Y-Chromosomen •• 515

- Über die Inaktivierung des X-Chromosoms •• 516
- Y-Chromosom: Geschlechtsdifferenzierung und mehr •• 519
 - Geschlechtsbestimmung •• 521
 - Spermatagenese •• 524
- Genomische Prägung •• 524
 - Genomische Prägung in der medizinischen Genetik •• 527

Literatur •• 531

19. Triplet-Wiederholungen: eine Grundlage menschlicher Krankheiten •• 533

Die besondere Genetik des Fragilen-X-Syndroms •• 533

- Triplet-Vernehrungen im *FMRI-Gen* •• 533
- Triplet-Vernehrungen in Kodierungsbereichen von Genen •• 535
 - Folgen von CAG-Triplets in offenen Leserastern •• 537

Literatur •• 540

20. Somatische Mutationen und die molekularen Grundlagen von Krebskrankheiten •• 541

Welche Gene sind in Tumorzellen verändert? •• 543

- Onkogene •• 543
- Tumor-Suppressorgene •• 543

Folgen von Mutationen bei der Entwicklung eines Carcinoms •• 544

Das APC-Protein im Wnt-Signalweg •• 547

RAS-Proteine in Tumorzellen •• 549

- Transformation von Zellen in Kultur •• 551

Translokationen - 552

- Translokation und Gen-Aktivierung •• 553

Translokation und Bildung zusammengesetzter Proteine •• 554

Ausblicke •• 556

- Adressen zum Cancer Genome Anatomy Project •• 557

Literatur •• 557

Sachverzeichnis •• 559