

# Inhaltsverzeichnis

## Teil I: Grundlagen

<b>Proteine</b> . . . . .	1
1. Primärstruktur: Aminosäure-Sequenz . . . . .	1
Faltung der Aminosäure-Ketten . . . . .	4
Disulfid-Brücken . . . . .	4
Wasserstoff-Brückenbindungen . . . . .	4
2. Sekundärstruktur: $\alpha$ -Helix und Faltblattstruktur . . . . .	5
3. Faltung globulärer Proteine . . . . .	7
Aminosäure-Sequenz und Aminosäure-Faltung . . . . .	9
4. Untereinheiten . . . . .	10
5. Evolution der Proteine . . . . .	12
6. Variationen der Globin-Kettenstruktur . . . . .	14
7. Wie man Proteine untersucht . . . . .	16
Aminosäure-Sequenzen . . . . .	16
Elektrophorese-Techniken . . . . .	18

**Kapitel 1**

<b>Träger genetischer Information</b> . . . . .	23
---	----

**Kapitel 2**

1. Das Bakterium <i>Escherichia coli</i> und seine Phagen . . . . .	23
2. Klassische Experimente der molekularen Genetik: DNA als Träger der genetischen Information . . . . .	30
3. Bausteine von Nucleinsäuren . . . . .	31
4. Die Doppelhelix . . . . .	33
5. DNA-Helices: flexible DNA-Strukturen . . . . .	35
6. Denaturierung von DNA . . . . .	37
7. Die Länge und Form natürlicher DNA-Moleküle . . . . .	38
DNA-Länge und Zahl der Gene . . . . .	39
Form von DNA-Molekülen . . . . .	40
Größe von Eukaryonten-DNA . . . . .	43
8. Wie man DNA untersucht . . . . .	49
Zentrifugation . . . . .	50
Elektronenmikroskopie . . . . .	56

Elektrophorese . . . . . 57  
 Enzyme als Hilfsmittel: Desoxyribonucleasen . . . . . 59

**Transkription, Translation und der genetische Code . . . . . 65**

**Kapitel 3**

1. Ribonucleinsäure: Bausteine und Struktur . . . . . 65  
 Ein interessanter Sonderfall: ringförmige RNA . . . . . 66

2. Synthese von RNA: Transkription . . . . . 67  
 Das grundlegende Schema . . . . . 67  
 Bakterielle RNA-Polymerase . . . . . 68  
 Der Gen-Anfang: Promotor . . . . . 69  
 Termination: Ende der RNA-Synthese . . . . . 72  
 Stabile und nicht-stabile RNA . . . . . 73

3. Transfer-RNA und die Aktivierung von Aminosäuren . . . . . 74  
 Struktur der tRNA . . . . . 75  
 Beladung der tRNA . . . . . 78

4. Ribosomen . . . . . 79  
 Polysomen . . . . . 82  
 Proteinsynthese *in vitro* . . . . . 82  
 Phagen-Genom als mRNA . . . . . 83  
 Initiations-tRNA in Bakterien . . . . . 83  
 Initiations-tRNA auch in Eukaryonten-Zellen . . . . . 85  
 Initiation der Proteinsynthese . . . . . 85  
 Initiationskomplex . . . . . 85  
 Kettenverlängerung: Elongation . . . . . 87  
 Termination . . . . . 89  
 Geschwindigkeit und Genauigkeit . . . . . 90

5. Der genetische Code . . . . . 91  
 Ein grundlegendes Experiment . . . . . 92  
 Experimente mit künstlichen Triplets . . . . . 92  
 Experimente mit künstlicher mRNA . . . . . 93  
 Degeneriertheit des genetischen Codes:  
 Synonyme Codons . . . . . 94  
 „Wobble“ bei der Wechselwirkung von Anticodon  
 und Codon . . . . . 95  
 Initiationscodons . . . . . 95  
 Der genetische Code *in vivo* . . . . . 97  
 Der genetische Code ist „universell“ . . . . . 97  
 Selenocystein: Ein Sonderfall . . . . . 98  
 Über die Verwendung von Codewörtern . . . . . 99

6. Wie Nucleotidsequenzen von RNA-Molekülen  
 bestimmt werden . . . . . 100  
 RNA-Fingerprints als molekulare Erkennungsmarke . . . . . 102  
 Sequenzanalyse von RNA . . . . . 103

**Escherichia coli als genetisches System:  
 Gene und Gen-Expression . . . . . 107**

**Kapitel 4**

1. Organisation des Genoms . . . . . 107  
 Nucleoid . . . . . 107  
 Einzelkopie-DNA und Palindrom-Elemente . . . . . 108

2. Gen-Karte und Gen-Kartierung . . . . .	110
Begriffe . . . . .	110
Austausch von Gen-Material . . . . .	112
F-Plasmid . . . . .	113
F'-Plasmide . . . . .	115
Konjugation . . . . .	115
Gen-Kartierung durch „Unterbrechung der Paarung“ . . . . .	116
Transduktion . . . . .	120
3. Regulation der Gen-Aktivität . . . . .	121
Hitzeschock-Reaktion . . . . .	122
Stringente Kontrolle . . . . .	124
Das Bezugssystem: Lac-Operon . . . . .	131
Komplexe Regulation des Arabinose-Operons . . . . .	142
Organisation des Tryptophan-Operons . . . . .	145
Gen-Regulation durch Attenuation . . . . .	146
Eine zusammenfassende Anmerkung . . . . .	150
4. Regulation der genetischen Aktivität des Bakteriophagen	
Lambda . . . . .	151
Das Lambda-Genom . . . . .	151
Frühe Transkription . . . . .	154
Induktion und lytischer Infektionsweg . . . . .	158
Am Ende des lytischen Infektionsweges . . . . .	162

## **DNA im Zellkern: Chromatin und Chromosomen . . . . .**

## **Kapitel 5**

1. Zellkern . . . . .	164
2. Chromatin . . . . .	166
Histone . . . . .	166
Nucleosomen . . . . .	168
Anordnung von Nucleosomen . . . . .	170
Modifikation von Histonen . . . . .	171
Einige Nicht-Histon-Chromatin-Proteine . . . . .	172
Chromatin-Schleifen . . . . .	172
3. Mitose: Verteilung replizierter DNA auf Nachkommen-Zellen . . . . .	173
4. Metaphase-Chromosomen . . . . .	177
Chromosomen beim Menschen . . . . .	178
Heterochromatin . . . . .	182
Polytaene Chromosomen: Ein experimentell wichtiger Sonderfall . . . . .	183

## **Teil II: Reaktionen der DNA**

<b>DNA-Replikation: Weitergabe der genetischen Information . . . . .</b>	<b>185</b>
--	------------

## **Kapitel 6**

1. Grundlagen . . . . .	185
2. DNA-Polymerasen . . . . .	187
Domänen der DNA-Polymerase . . . . .	190

3. Diskontinuierliche DNA-Synthese und RNA als „primer“	191
4. Bestandteile des DNA-Replikationsapparates	193
Genetische Analyse	193
Ablauf der Replikation des Bakterien-Genoms	194
Biochemische Analysen	195
5. Replikationsgabel	198
Topoisomerasen	200
Einleitung der Replikation bei Bakterien	201
Termination	205
6. Replikation der DNA im Zellkern von Eukaryonten	205
Zellzyklus	206
Grundlagen: viele Startpunkte und bidirektionale Replikation	207
Geschwindigkeit und Chromatin-Zusammenbau	208
Eukaryontische DNA-Polymerasen	210
7. Erforschung der eukaryontischen DNA-Replikation	210
8. Noch einmal: Termination, Telomere und Telomerase	215
9. Noch einmal: Abläufe der Replikation	217
10. Besonderheiten	218
1. Synchrone Aktivierung von Replikationsabschnitten	218
2. Neuintiationen: Amplifikation	219
3. Vermehrung von rDNA-Genen in Oocyten	222

## **Rekombination und Transposition** . . . . . 223

1. Meiose. Ein Schema zur Einführung	223
2. Prophase der Meiose	224
3. Rekombination	226
4. Folgerungen	227
5. Rekombination. Grundlegende Begriffe	228
6. Molekularbiologie der Rekombination	232
Voraussetzungen	232
Rekombinationsenzyme	235
Konsequenzen der Heteroduplex-Region: „Gen-Konversion“	239
7. Illegitime Rekombination: Transposition und „springende Gene“ bei Bakterien	241
Über Veränderungen in der Genom-Organisation, über Transposition und „springende Gene“ von Bakterien	242
Replikative oder konservative Transposition	250
8. Bewegliche Gene in Pflanzen	250
Transponierbare genetische Elemente bei Mais	250
Bakterien-Gene im Pflanzen-Genom	253
9. Bewegliche genetische Elemente im Genom von Tieren	256
Beispiel: <i>Drosophila melanogaster</i>	256
10. Retroviren bei Vertebraten	258
Retroviren: Einführung	259
Struktur und Vermehrungsweg	259
Transduktion durch Retroviren	262
11. Retroposon	267

## **Kapitel 7**

## Mutationen: Nachweis, Entstehung, Reparatur und Suppression . . . . . 271

## Kapitel 8

1. Arten der Mutation: Ein Überblick . . . . .	272
Nucleotidaustausch . . . . .	272
Leseraster-Mutationen . . . . .	274
2. Untersuchung von Mutationen bei Bakterien . . . . .	275
3. Mutation als Adaptation? . . . . .	277
4. Untersuchungen von Mutationen beim Menschen . . . . .	279
5. Mutationsraten, anders gesehen . . . . .	282
6. Entstehung von Mutationen . . . . .	284
„Spontane“ Mutationen durch Falscheinbauten bei der Replikation . . . . .	284
Reparatur von Mismatches . . . . .	285
Mutationen durch spontanen „Zerfall“ der DNA . . . . .	286
„Hot spots“ spontaner Mutationen . . . . .	288
Entstehung von Leseraster-Mutationen . . . . .	290
Chemikalien als Mutagene . . . . .	291
7. Reparatur von DNA-Schäden durch Entfernen ungewöhnlicher Nucleotide . . . . .	295
DNA-Glykosylasen und AP-Endonucleasen . . . . .	295
O <sup>6</sup> -Methylguanin-DNA-Transferase . . . . .	297
8. Ultraviolettes Licht und DNA-Schäden . . . . .	298
Grundlegende Beobachtungen . . . . .	299
Reparatur von UV-Schäden . . . . .	300
9. Das SOS-System . . . . .	302
10. Auswirkungen ionisierender Strahlen auf die DNA . . . . .	304
Experimente an Zellkultur-Systemen . . . . .	310
11. Praktische Konsequenzen der Mutationsforschung: Zum Nachweis von Mutagenen in der natürlichen und industriellen Umwelt . . . . .	310
Tierexperimentelles Verfahren zum Nachweis von Mutagenen . . . . .	312
Bakteriologischer Schnelltest zur Identifizierung mutagener bzw. kanzerogener Verbindungen . . . . .	313
12. Suppression . . . . .	316
Suppression von T4-Mutanten . . . . .	317
Unsinn-Triplets in Suppressor-positiven (su <sup>+</sup> -)Bakterien . . . . .	317
Mechanismus der Suppression von Unsinn-Mutationen . . . . .	319
Suppression von Leseraster-Mutationen . . . . .	321
13. Anhang: Ortsspezifisch gerichtete Mutagenese . . . . .	321
Herstellen von Deletionen . . . . .	322
Mutationen durch Insertionen . . . . .	323
Nucleotid-Austausch-Mutationen . . . . .	324

**Teil III: Gene****Wie untersucht man die Gene von Tier- und Pflanzenzellen? . . . . . 325**

Kapitel 9

*K. P. Schäfer*

1. Biochemische DNA-Rekombination . . . . . 326
  - DNA-Klonieren: Das methodische Prinzip . . . . . 327
  - Vektoren: Plasmide und Bakteriophagen . . . . . 328
  - In vitro*-Verpackung und Cosmide . . . . . 331
  - M13-Vektoren . . . . . 332
  - Gen-Banken oder Gen-Bibliotheken . . . . . 334
  - cDNA-Bibliotheken . . . . . 336
  - Ligationstechniken . . . . . 338
  - Anreicherung und Auffindung spezifischer Klone („Screening“) . . . . . 339
  - Einbringen von klonierter DNA in Säugetierzellen . . . . . 342
  - Sicherheitsproblem . . . . . 343
2. Radioaktive Markierungsmethoden . . . . . 344
  - DNA-Sequenziermethoden . . . . . 346
  - Dimethylsulfat/Hydrazin-Spaltung nach Maxam und Gilbert . . . . . 346
  - Didesoxy-Methode von Sanger . . . . . 349
3. Transfer-Techniken . . . . . 351
  - Transfer von DNA-Fragmenten . . . . . 351
  - Transfer von RNA-Fragmenten . . . . . 353
4. Polymerase-Kettenreaktion („polymerase chain reaction, PCR“) . . . . . 353
5. Oligonucleotid-Synthese . . . . . 354

**Struktur eukaryontischer Gene: Exons und Introns . 357**

Kapitel 10

1. Entdeckung . . . . . 357
2. Aufbau von Globin-Genen . . . . . 359
3. Fragen . . . . . 362
4. Ein Gen für ein wichtiges Stoffwechsel-Enzym . . . . . 363
5. Struktur des Kollagen-Gens . . . . . 366
6. Konsequenzen . . . . . 368
7. Pseudogene . . . . . 369

**Eukaryontische RNA-Polymerasen und die Transkription von rRNA-Genen . . . . . 373**

Kapitel 11

1. Eukaryontische RNA-Polymerasen . . . . . 373
  - Struktur . . . . . 374
  - Biochemische Funktion . . . . . 376
2. Transkription durch RNA-Polymerase I und die Gene für ribosomale RNA (rRNA) . . . . . 376

RNA-Reifung . . . . .	378
Promotor . . . . .	378
Transkriptionsfaktoren . . . . .	380
Termination und Promotion im Spacer . . . . .	381
Nucleolus . . . . .	383
3. Transkription von 5S-rRNA- und tRNA-Genen . . . . .	386
<i>E. Fanning</i>	
Struktur der Transkriptionseinheit . . . . .	386
Transkriptionsmaschinerie . . . . .	387
Organisation der 5S-DNA . . . . .	388
Regulation der 5S-Gen-Transkription in der Frosch-Entwicklung . . . . .	388

## **Die Expression von Genen, die für Proteine kodieren . . . . . 391**

## **Kapitel 12**

1. Identifizierung von Promotor-Sequenzen . . . . .	393
Beispiel: Globin-Gene . . . . .	396
Gene für Haushaltsproteine . . . . .	401
2. Enhancer: Erkenntnisse durch DNA-Viren . . . . .	402
3. Eukaryontische Promotoren: Eine Zusammenfassung . . . . .	404
4. Transkription und Transkriptionsfaktoren . . . . .	408
Aktivierung des Promotors . . . . .	409
Einleitung der Transkription . . . . .	413
Allgemeine Transkriptionsfaktoren . . . . .	415
Andere trans-aktivierende Faktoren: Der SV40-Promotor . . . . .	417
5. Zelltyp-spezifische Transkriptionsfaktoren. Beispiel: Die POU-Proteine . . . . .	422
6. Regulation induzierbarer Gene . . . . .	425
Proliferationssignale . . . . .	426
Funktionen des <i>c-fos</i> -Proteins . . . . .	431
7. Induktion der Transkription durch Steroidhormone . . . . .	432
Glucocorticoid-Rezeptor . . . . .	433
Zusammenwirken des Glucocorticoid-Rezeptors und des „Hormone Responsive Elements“ . . . . .	436
8. Gen-Expression und Chromatin-Struktur . . . . .	439
Nachweis von DNase-I-hypersensitiven Stellen . . . . .	440
Zelltyp- und entwicklungspezifische DHS . . . . .	441
DHS in induzierbaren Genen . . . . .	442
Wie entstehen DHS? . . . . .	443
9. Die Rolle von DNA-Methylierung . . . . .	445

## **Spleißen und Prozessieren . . . . . 447**

## **Kapitel 13**

1. Zwei-Schritt-Prozeß . . . . .	448
hnRNP . . . . .	450
snRNPs . . . . .	451
2. Spleiß-osom . . . . .	452

3. Selbst-Spleißen . . . . . 454  
4. Alternatives Spleißen . . . . . 457  
5. Noch eine Variation zum Thema: Trans-Spleißen . . . . . 461  
6. Das Ende der Botschaft: RNA-Prozessieren am 3'-Ende . . . 462

**Messenger-RNA im Cytoplasma . . . . . 467**

**Kapitel 14**

1. Stabilität der mRNA . . . . . 467  
2. Proteinsynthese in Eukaryonten: Initiation, Elongation und  
Regulation der Translation . . . . . 470  
Initiation und Initiationsfaktoren . . . . . 471  
Elongation: Kettenverlängerung bei der Proteinsynthese . 474  
Regulation der Translation durch Modifikation  
von Initiationsfaktoren . . . . . 475  
Regulation über Komponenten des CBP-Komplexes . . . 476  
3. Zurechtschneiden neugebildeter Polypeptid-Ketten . . . . . 477  
Veränderungen am N-Terminus . . . . . 477  
Prozessieren durch endoproteolytische Spaltung . . . . . 479  
Signal-Sequenzen . . . . . 480

**Reorganisation im Genom als Grundlage  
für die Differenzierung: Molekulare Genetik  
des Immunsystems . . . . . 483**

**Kapitel 15**

*E. Fanning*

1. Antigen-induzierte Selektion von Zellklonen . . . . . 484  
2. Struktur von Immunglobulinen . . . . . 485  
3. Zwei Gene - ein Protein . . . . . 488  
4. Entstehung aktiver Immunglobulin-Gene durch  
Kombination getrennter DNA-Abschnitte, genetische  
Grundlage der Antikörper-Vielfalt . . . . . 488  
Gene für die L-Ketten . . . . . 489  
Gene für die H-Ketten . . . . . 491  
DNA-Strukturen in der Umgebung der V-Gen-Elemente  
und ein möglicher Mechanismus der Gen-Verknüpfung . 493  
5. Differentielles Spleißen: Die Entstehung von H-Ketten im  
ruhenden B-Lymphozyten . . . . . 494  
6. Klassenwechsel: Änderung des genetischen Programms im  
aktivierten B-Lymphozyten . . . . . 495  
7. Die Immun-Gene der T-Lymphozyten . . . . . 495  
8. Gen-Duplikation, Evolution und die Immunglobulin-  
Superfamilie . . . . . 496



## Teil IV: Komplexe genetische Systeme

<b>Gene in Mitochondrien und Chloroplasten</b> . . . . .	499	<b>Kapitel 16</b>
1. Mitochondriale DNA . . . . .	499	
Genetische Organisation der mitochondrialen DNA aus menschlichen Zellen . . . . .	501	
Replikation . . . . .	502	
Transkription . . . . .	503	
Formen mitochondrialer DNA . . . . .	504	
Translation in Mitochondrien . . . . .	505	
Der genetische Code und RNA-Editionen . . . . .	506	
Cytoplasmatische Vererbung mitochondrialer DNA . . . . .	509	
2. Chloroplasten-DNA . . . . .	510	
Allgemeine Strukturmerkmale . . . . .	510	
Chloroplasten-Gene: Anordnung und Funktion . . . . .	511	
Transkription und Gen-Expression . . . . .	514	
3. Fragen zur Evolution . . . . .	515	
<b>Hefe als genetisches System</b> . . . . .	517	<b>Kapitel 17</b>
<i>P. Philippsen</i>		
1. Das Genom von <i>S. cerevisiae</i> . . . . .	518	
2. Genetische Transformation von Hefe . . . . .	522	
Replikative Transformation . . . . .	522	
Integrative Transformation . . . . .	525	
Substitutive Transformation . . . . .	528	
3. Genetische Analyse des Zellzyklus . . . . .	529	
Suche nach Zellzyklus-Mutanten . . . . .	530	
Mutanten in der G1-Phase . . . . .	531	
Mutanten mit einem Block in der S-Phase oder Kernteilung . . . . .	532	
Knospungs- und Cytokinese-Mutanten . . . . .	534	
Regulation von Zellzyklus-Genen . . . . .	535	
Andere Wege zur Isolierung von Zellzyklus-Genen . . . . .	536	
4. Einfache Differenzierungsprogramme von <i>S. cerevisiae</i> -Zellen und ihre genetische Kontrolle . . . . .	536	
Fusion haploider Zellen . . . . .	537	
Meiose diploider $a/\alpha$ -Zellen . . . . .	539	
Kontrollfunktionen des Paarungstyp-Locus MAT . . . . .	540	
Zellautonomer Paarungstypwechsel . . . . .	542	
5. DNA-Elemente für Replikation und Segregation von Chromosomen in <i>S. cerevisiae</i> . . . . .	545	
Autonom replizierende Sequenzen (ARS) . . . . .	545	
DNA-Sequenzen von Telomeren (TEL) . . . . .	547	
DNA-Sequenzen in Centromeren (CEN) . . . . .	549	
Künstliche Chromosomen . . . . .	553	

**Eine Einführung in die molekulare Humangenetik . . . 555****Kapitel 18**

1. Genetische Beratung . . . . .	557
2. Gen-Kartierung . . . . .	558
Zell-Fusion: Genetik somatischer Zellen . . . . .	559
In situ-Hybridisierung . . . . .	562
Sortieren von Chromosomen . . . . .	563
3. Gen-Karte . . . . .	565
4. Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP) . . . . .	568
5. Kopplungskarten . . . . .	575
6. Von der biologischen zur molekularen Gen-Karte . . . . .	576
7. Molekulare Pathologie . . . . .	579
Thalassaemien . . . . .	579
Hämophilie A . . . . .	584
Mutationen im Kollagen-Gen: Osteogenesis imperfecta . . . . .	585
Duchenne-Muskeldystrophie . . . . .	587
Folgerungen . . . . .	589
Polymerase-Ketten-Reaktion . . . . .	590
8. Hypervariable Minisatelliten und individueller DNA-Polymorphismus . . . . .	590
Das Human-Genom-Projekt . . . . .	592
<b>Literatur . . . . .</b>	<b>599</b>
<b>Sachverzeichnis . . . . .</b>	<b>601</b>