Inhaltsverzeichnis

Vorwort *XV*

Liste der Abkürzungen *XVII*

1 Informationsmakromoleküle *1*
1.1 Informationsverarbeitung und Molekularbiologie *1*
1.1.1 Das zentrale Dogma *1*
1.1.2 Rekombinante DNA-Technologie *3*
1.2 Nukleinsäurestruktur und -funktion *5*
1.2.1 Basen *5*
1.2.2 Nukleoside *5*
1.2.3 Nukleotide *6*
1.2.4 Phosphodiesterbindungen *6*
1.2.5 DNA/RNA-Sequenz *7*
1.2.6 DNA-Doppelhelix *7*
1.2.7 A-, B- und Z-Helices *9*
1.2.8 RNA-Sekundärstruktur *11*
1.2.9 Modifizierte Nukleinsäuren *11*
1.2.10 Nukleinsäurefunktion *11*
1.3 Proteinstruktur und -funktion *14*
1.3.1 Aminosäurestruktur *14*
1.3.2 Proteingröße und -formen *16*
1.3.3 Primärstruktur *16*
1.3.4 Nichtkovalente Wechselwirkungen *17*
1.3.5 Sekundärstruktur *18*
1.3.6 Tertiärstruktur *19*
1.3.7 Quartärstruktur *20*
1.3.8 Prosthetische Gruppen *21*
1.3.9 Domänen, Motive, Familien und Evolution *21*
1.3.10 Proteinfunktion *23*

Bibliografische Informationen
http://d-nb.info/1034511130

digitalisiert durch DEUTSCHE NATIONAL BIBLIOTHEK

2 Eigenschaften von Nukleinsäuren und eukaryotische Chromosomenstruktur *29*
2.1 Chemische und physikalische Eigenschaften von Nukleinsäuren *29*
2.1.1 Stabilität von Nukleinsäuren *29*
2.1.2 Säureeffekt *30*
2.1.3 Alkalieffekt *30*
2.1.3.1 DNA *30*
2.1.3.2 RNA *30*
2.1.4 Chemische Denaturierung *32*
2.1.5 Viskosität *32*
2.1.6 Schwimmdichte *32*
2.2 Spektroskopische und thermische Eigenschaften von Nukleinsäuren *34*
2.2.1 UV-Absorption *34*
2.2.2 Extinktion und Struktur *34*
2.2.3 Mengenbestimmung der Nukleinsäuren *35*
2.2.4 Reinheit der DNA *35*
2.2.5 Wärmedenaturierung *36*
2.2.6 Hybridisierung *37*
2.3 DNA-Superspiralisierung *38*
2.3.1 Geschlossen-zirkuläre DNA *38*
2.3.2 Superspiralisierung *38*
2.3.3 Topoisomer *39*
2.3.4 Helikale und superhelikale Windungszahl *39*
2.3.5 Interkalatoren *40*
2.3.6 Superspiralisierungsenergie *41*
2.3.7 Topoisomerasen *41*
2.4 Chromatinstruktur *44*
2.4.1 Chromatin *44*
2.4.2 Histone *44*
2.4.3 Nukleosomen *45*
2.4.4 Die Rolle von H1 *46*
2.4.5 Linker-DNA *47*
2.4.6 Die 30 nm-Faser *48*
2.4.7 Höher geordnete Struktur *48*
2.5 Eukaryotische Chromosomenstruktur *50*
2.5.1 Das Mitosechromosom *50*
2.5.2 Das Centromer *51*
2.5.3 Telomere *51*
2.5.4 Interphasechromosomen *51*
2.5.5 Heterochromatin *52*
2.5.6 Euchromatin *52*
2.5.7 DNase-I-Überempfindlichkeit *52*
2.5.8 CpG-Methylierung *52*
2.5.9 Histonvarianten und -modifikation *54*

3 DNA-Replikation *59*
3.1 DNA-Replikation: eine Übersicht *59*
3.1.1 Semikonservativer Mechanismus *59*
3.1.2 Replikons, Ursprünge und Termini *61*
3.1.3 Semidiskontinuierliche Replikation *62*
3.1.4 RNA-Primer *63*
3.2 Bakterielle DNA-Replikation *64*
3.2.1 Experimentelle Systeme *64*
3.2.2 Initiation *65*
3.2.3 Strangentwindung *67*
3.2.4 Elongation *67*
3.2.5 Termination und Aufteilung *69*
3.3 Eukaryotische DNA-Replikation *70*
3.3.1 Experimentelle Systeme *70*
3.3.2 Ursprünge und Initiation *70*
3.3.3 Replikationsgabeln *71*
3.3.4 Kernmatrix *72*
3.3.5 Telomerreplikation *72*

4 DNA-Schäden, -Reparatur und -Rekombination *77*
4.1 DNA-Schäden *77*
4.1.1 DNA-Defekte *77*
4.1.2 Oxidative Schäden *78*
4.1.3 Alkylierung *79*
4.1.4 Sperrige Addukte *79*
4.2 Mutagenese *81*
4.2.1 Mutation *81*
4.2.2 Replikationsgenauigkeit *82*
4.2.3 Physikalische Mutagene *83*
4.2.4 Chemische Mutagene *83*
4.2.5 Direkte Mutagenese *83*
4.2.6 Indirekte Mutagenese und Transläsions-DNA-Synthese *84*
4.3 DNA-Reparatur *87*
4.3.1 Photoreaktivierung *87*
4.3.2 Alkyltransferase *87*
4.3.3 Reparatur von Strangbrüchen *87*
4.3.4 Exzisionsreparatur *88*
4.3.5 Fehlpaarungsreparatur *90*
4.3.6 Erbliche Reparaturdefekte *90*

5 Transkription in Bakterien *95*
5.1 Grundlagen der Transkription *95*
5.1.1 Transkription: eine Übersicht *95*
5.1.2 Initiation *95*
5.1.3 Elongation *97*

5.1.4 Termination *97*
5.2 *Escherichia coli*-RNA-Polymerase *99*
5.2.1 RNA-Polymerase-Holoenzym von *E. coli* *99*
5.2.2 α-Untereinheit *99*
5.2.3 β-Untereinheit *99*
5.2.4 β'-Untereinheit *100*
5.2.5 σ-Faktor *100*
5.3 Der σ^{70}-Promotor von *E. coli* *101*
5.3.1 Promotorsequenzen *101*
5.3.2 Promotorgröße *102*
5.3.3 –10-Sequenz *102*
5.3.4 –35-Sequenz *102*
5.3.5 Promotoreffizienz *103*
5.4 Transkriptionsinitiation, -elongation und -termination *104*
5.4.1 Promotorbindung *104*
5.4.2 DNA-Entwindung *105*
5.4.3 Initiation der RNA-Kette *105*
5.4.4 Elongation der RNA-Kette *105*
5.4.5 Termination der RNA-Kette *106*
5.4.6 Rho-abhängige Termination *108*

6 Regulation der Transkription in Bakterien *113*
6.1 Das *lac*-Operon *113*
6.1.1 Das Operon *113*
6.1.2 Das Lactose(*lac*)-Operon *113*
6.1.3 Der Lac-Repressor *114*
6.1.4 Induktion *115*
6.1.5 Katabolit-Aktivatorprotein *116*
6.2 Das *trp*-Operon *117*
6.2.1 Das Tryptophan(*trp*)-Operon *117*
6.2.2 Der Trp-Repressor *118*
6.2.3 Der Attenuator *118*
6.2.4 Struktur der RNA-Leitsequenz *119*
6.2.5 Das Leitpeptid *119*
6.2.6 Attenuation *119*
6.2.7 Die Bedeutung der Attenuation *121*

7 Transkription in Eukaryoten und Regulation der eukaryotischen Transkription *125*
7.1 Die drei RNA-Polymerasen: Charakterisierung und Funktion *125*
7.1.1 Eukaryotische RNA-Polymerasen *125*
7.1.2 RNA-Polymerase-Untereinheiten *126*
7.1.3 Aktivitäten eukaryotischer RNA-Polymerasen *126*
7.1.4 Die CTD der RNA-Pol II *126*

7.2 RNA-Pol-I-Gene: die ribosomale Wiederholung *128*
7.2.1 Ribosomale RNA-Gene *128*
7.2.2 Die Rolle des Nukleolus *128*
7.2.3 RNA-Pol-I-Promotoren *129*
7.2.4 *Upstream binding factor* *129*
7.2.5 Selektivitätsfaktor 1 *129*
7.2.6 TBP und TAF_Is *131*
7.3 RNA-Pol-III-Gene: 5S- und tRNA-Transkription *132*
7.3.1 RNA-Polymerase III *132*
7.3.2 tRNA-Gene *132*
7.3.3 5S-rRNA-Gene *133*
7.3.4 Alternative RNA-Pol-III-Promotoren *135*
7.3.5 RNA-Pol-III-Termination *135*
7.4 RNA-Pol-II-Gene: Promotoren und Enhancer *136*
7.4.1 RNA-Polymerase II 136
7.4.2 Promotoren *137*
7.4.3 Stromaufwärtige Regulationselemente (URE) *137*
7.4.4 Verstärkerelemente (*Enhancer*) *138*
7.5 Allgemeine Transkriptionsfaktoren und RNA-Pol-II-Initiation *139*
7.5.1 Basale RNA-Pol-II-Transkriptionsfaktoren *139*
7.5.2 TFIID *139*
7.5.3 TBP *141*
7.5.4 TFIIA *141*
7.5.5 TFIIB- und RNA-Polymerasebindung *141*
7.5.6 Nach der RNA-Polymerase bindende Faktoren *141*
7.5.7 CTD-Phosphorylierung durch TFIIH *142*
7.5.8 Der Initiatortranskriptionskomplex *142*
7.6 Eukaryotische Transkriptionsfaktoren *143*
7.6.1 Transkriptionsfaktordomänenstruktur *143*
7.6.2 DNA-Bindungsdomänen *144*
7.6.2.1 Die Helix-Kehre-Helix-Domäne *144*
7.6.2.2 Die Zinkfingerdomäne *145*
7.6.2.3 Die basische Domäne *146*
7.6.3 Dimerisierungsdomänen *146*
7.6.3.1 Leucin-Zipper *146*
7.6.3.2 Die Helix-Schleife-Helix-Domäne *147*
7.6.4 Transkriptionsaktivierungsdomänen *147*
7.6.4.1 Saure Aktivierungsdomänen *147*
7.6.4.2 Glutaminreiche Domänen *147*
7.6.4.3 Prolinreiche Domänen *147*
7.6.5 Repressordomänen *148*
7.6.6 Ziele von Transkriptionsregulatoren *148*
7.6.7 Chromatinmodifikation *149*

8 **Der genetische Code und tRNA** *155*
8.1 Der genetische Code *155*
8.1.1 Grundlagen *155*
8.1.2 Entschlüsselung *156*
8.1.3 Degeneriertheit, Universalität und Doppeldeutigkeit *156*
8.1.4 Mutationswirkung *158*
8.1.5 Offene Leseraster (ORFs) *159*
8.1.6 Überlappende Gene *159*
8.2 tRNA-Struktur und -funktion *161*
8.2.1 tRNA-Primärstruktur *161*
8.2.2 tRNA-Sekundärstruktur *161*
8.2.3 tRNA-Tertiärstruktur *163*
8.2.4 tRNA-Funktion *163*
8.2.5 Aminoacylierung der tRNAs *164*
8.2.6 Aminoacyl-tRNA-Synthetasen *164*
8.2.7 Korrekturlesen *166*

9 **Proteinsynthese** *169*
9.1 Aspekte der Proteinsynthese *169*
9.1.1 Codon-Anticodon-Wechselwirkung *169*
9.1.2 Wobble *169*
9.1.3 Ribosomenbindungsstelle *171*
9.1.4 Initiator-tRNA *171*
9.1.5 Polysomen *171*
9.2 Proteinsynthesemechanismus *173*
9.2.1 Übersicht *173*
9.2.2 Initiation *174*
9.2.3 Elongation *178*
9.2.4 Termination *179*
9.3 Initiation in Eukaryoten *181*
9.3.1 Übersicht *181*
9.3.2 Abtasten *182*
9.3.3 Initiation *182*
9.3.4 Elongation *184*
9.3.5 Termination *185*
9.4 Translationskontrolle und posttranslationale Ereignisse *186*
9.4.1 Translationskontrolle in Bakterien *186*
9.4.2 Translationskontrolle in Eukaryoten *187*
9.4.3 Polyproteine *189*
9.4.4 Protein-Targeting *189*
9.4.5 Proteinfaltung und -modifikation *191*
9.4.6 Proteinabbau *192*

10 Genmanipulation *197*
10.1 DNA-Klonierung: eine Übersicht *197*
10.1.1 DNA-Klonierung *197*
10.1.2 Wirte und Vektoren *198*
10.1.3 Subklonierung *199*
10.1.4 DNA-Bibliotheken *200*
10.1.5 Durchsuchen von Bibliotheken *200*
10.1.6 Analyse eines Klons *201*
10.2 Präparation von DNA-Plasmiden *203*
10.2.1 Plasmide als Vektoren *203*
10.2.2 Plasmid-Minipräparation *203*
10.2.3 Alkalische Lyse *203*
10.2.4 Plasmidreinigung *205*
10.2.5 Ethanolfällung *205*
10.2.6 Cäsiumchlorid-Gradient *205*
10.3 Restriktionsenzyme und Elektrophorese *207*
10.3.1 Restriktionsendonukleasen *207*
10.3.2 Erkennungssequenzen *207*
10.3.3 Kohäsive Enden *208*
10.3.4 Restriktionsverdau *209*
10.3.5 Agarose-Gelelektrophorese *210*
10.3.6 Isolierung der Fragmente *212*
10.4 Ligation, Transformation und Analyse von Rekombinanten *213*
10.4.1 DNA-Ligation *213*
10.4.2 Rekombinante DNA-Moleküle *214*
10.4.3 Alkalische Phosphatase *215*
10.4.4 Transformation *216*
10.4.5 Selektion *217*
10.4.6 Transformationseffizienz *217*
10.4.7 Überprüfung auf Transformanten *217*
10.4.8 Wachstum und Aufbewahrung der Transformanten *218*
10.4.9 Gelanalyse *218*
10.4.10 Fragmentausrichtung *218*
10.4.11 Neue Subklonierungsmethoden *219*

11 Klonierungsvektoren *223*
11.1 Plasmidvektor-Design *223*
11.1.1 Ligationsprodukte *223*
11.1.2 Blau-weiß-Screening *223*
11.1.3 Mehrfachklonierungsstellen *224*
11.1.4 Transkription klonierter eingefügter Abschnitte *225*
11.1.5 Expressionsvektoren *225*
11.1.6 Gateway® – Subklonierung durch Rekombination *226*
11.2 Bakteriophagen, Cosmide, YACs und BACs *229*
11.2.1 Bakteriophage λ *229*

11.2.2 λ-Ersatzvektoren *230*
11.2.3 Verpackung und Infektion *231*
11.2.4 Plaquebildung *232*
11.2.5 λ-Lysogene *232*
11.2.6 M13-Phage-Vektoren *233*
11.2.7 Klonierung großer DNA-Fragmente *233*
11.2.8 Cosmidvektoren *234*
11.2.9 YAC-Vektoren *234*
11.2.10 Selektion in Hefe *236*
11.2.11 BAC-Vektoren *237*
11.3 Eukaryotische Vektoren *239*
11.3.1 Klonierung in Eukaryoten *239*
11.3.2 Transfektion eukaryotischer Zellen *239*
11.3.3 Pendelvektoren *240*
11.3.4 Episomale Hefeplasmide *240*
11.3.5 Ti-Plasmid von *Agrobacterium tumefaciens* *241*
11.3.6 Virale Transduktion *242*
11.3.7 Baculoviren *243*

12 Analyse und Verwendung klonierter DNA *247*
12.1 Charakterisierung von Klonen *247*
12.1.1 Charakterisierung *247*
12.1.2 Restriktionskartierung *248*
12.1.3 Markierung von Nukleinsäuren *249*
12.1.4 Southern und Northern Blot *250*
12.2 Nukleinsäuresequenzierung *252*
12.2.1 DNA-Sequenzierung nach Sanger *252*
12.2.2 Schrotschusssequenzierung *254*
12.2.3 Emulsion-PCR *255*
12.2.4 Reversible Fluoreszenz-Abbruchsequenzierung *255*
12.2.5 Pyrosequenzierung *256*
12.2.6 Sequenzierung durch Ligation und andere Methoden *257*
12.2.7 RNA-Sequenzierung *257*
12.3 Polymerase-Kettenreaktion *259*
12.3.1 PCR *259*
12.3.2 Der PCR-Zyklus *259*
12.3.3 Matrize und Primer *261*
12.3.4 Enzyme *262*
12.3.5 PCR-Optimierung *263*
12.3.6 RT-PCR und RACE *263*
12.3.7 Echtzeit- und quantitative PCR *264*
12.4 Analyse klonierter Gene *266*
12.4.1 Sequenzorganisation *266*
12.4.2 S1-Nuklease-Kartierung *267*
12.4.3 Primer-Verlängerung *268*

12.4.4 Gelverzögerung *268*
12.4.5 DNase-I-Fußabdruck *269*
12.4.6 Reportergene *269*
12.5 Mutagenese klonierter Gene *271*
12.5.1 Mutagenesearten *271*
12.5.2 Ortsgerichtete Mutagenese *271*
12.5.3 Insertions-/Deletionsmutagenese *272*
12.5.4 Zufallsmutagenese durch PCR *273*

13 Funktionelle Genomik und die neuen Technologien *277*
13.1 Einführung in die 'Omik-Wissenschaften *277*
13.1.1 Genomik *277*
13.1.2 Transkriptomik *278*
13.1.3 Proteomik *279*
13.1.4 Metabolomik *280*
13.1.5 Andere 'Omik-Wissenschaften *280*
13.2 Allgemeine Genexpressionsanalyse *282*
13.2.1 Genomweite Analyse *282*
13.2.2 DNA-Mikroarrays *283*
13.2.3 Chromatinimmunpräzipitation *285*
13.2.4 Gen-Knockouts *286*
13.2.5 RNA-Knockdown *288*
13.3 Proteomik *290*
13.3.1 Proteomik *290*
13.3.2 Protein-Protein-Wechselwirkungen *292*
13.3.3 Zwei-Hybrid-Analyse *293*
13.3.4 Protein-Arrays *295*
13.4 Zelluläre und molekulare Bildgebung *296*
13.4.1 Zelluläre Bildgebung *296*
13.4.2 Bildgebung biologischer Moleküle in fixierten Zellen *296*
13.4.3 Detektion von Molekülen in lebenden Zellen und Geweben *298*
13.4.4 Fluoreszierende Proteine und Reportergene *299*
13.5 Transgene und Stammzelltechnologie *301*
13.5.1 Genetisch veränderte und transgene Organismen *301*
13.5.2 Stammzellen *302*
13.5.3 Induzierte pluripotente Stammzellen *303*
13.5.4 Gen- und Zelltherapie *304*
13.6 Bioinformatik *306*
13.6.1 Definition und Anwendungsbereich *306*
13.6.2 Anwendungen der Bioinformatik *307*
13.6.3 Suche nach Sequenzähnlichkeiten *309*
13.6.4 Mehrfachsequenzvergleich *312*
13.6.5 Phylogenetische Bäume *313*
13.6.6 Strukturelle Bioinformatik *314*
13.7 System- und synthetische Biologie *318*

13.7.1 Systembiologie *318*
13.7.2 Netzwerkbiologie *319*
13.7.3 Netzwerkmotive *319*
13.7.4 Quantitative Biologie *320*
13.7.5 Quantitative mathematische Modelle *321*
13.7.6 Integration über biologische Größenordnungen hinweg *321*
13.7.7 Synthetische Biologie *322*

Richtig gelöst ... *327*

Mehr zum Thema *331*

Stichwortverzeichnis *337*