

Tom Strachan und Andrew P. Read

Molekulare Humangenetik

Aus dem Englischen übersetzt von Kurt Beginnen,
Ingrid Haüßer-Siller und Lothar Seidler

Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg · Berlin · Oxford

E 16 e / 17



96/282

M
WH

Originaltitel: Human Molecular Genetics

Aus dem Englischen übersetzt von Kurt Beginnen, Ingrid Haußer-Siller und Lothar Seidler

Englische Originalausgabe BIOS Scientific Publishers Limited.

© 1996

CIP

Die Deutsche Bibliothek – CIP-Einheitsaufnahme

Strachan, Tom:

Molekulare Humangenetik / Tom Strachan und Andrew P. Read.

Aus dem Engl. übers. von Kurt Beginnen . . . – Heidelberg ; Berlin ; Oxford : Spektrum, Akad. Verl., 1996

Einheitssacht.: Human molecular genetics <dt.>

ISBN 3-8274-0039-2 kart.

ISBN 3-8274-0037-6 Gb.

NE: Read, Andrew P.:

© 1996 Spektrum Akademischer Verlag GmbH Heidelberg · Berlin · Oxford

Alle Rechte, insbesondere die der Übersetzung in fremde Sprachen, sind vorbehalten. Kein Teil dieses Buches darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages photokopiert oder in irgendeiner anderen Form reproduziert oder in eine von Maschinen verwendbare Sprache übertragen oder übersetzt werden.

Es konnten nicht sämtliche Rechteinhaber von Abbildungen ermittelt werden. Sollte dem Verlag gegenüber der Nachweis der Rechteinhaberschaft geführt werden, wird das branchenübliche Honorar nachträglich gezahlt.

Lektorat: Ursula Loos, Marion Handgrätiger (Ass.)

Redaktion: Ingrid Glomp, Kurt Beginnen

Produktion: Susanne Tochtermann

Reihengestaltung: Zemsch' Werkstatt, München

Einbandgestaltung: Kurt Bitsch, Birkenau

Satz: Hagedornsatz, Viernheim

Druck und Verarbeitung: Druckhaus Beltz, Hemsbach

Inhaltsverzeichnis

Vorwort zur deutschen Ausgabe XXVII

Vorwort zur englischen Ausgabe XXXIII

Danksagung XXXV

Abkürzungen XXXVII

- 1. Struktur und Funktion der DNA** 1
- 1.1 **DNA, RNA und Polypeptide sind große Polymere mit einer linearen Folge einfacher, sich wiederholender Einheiten** 1
- 1.2 **Struktur und Replikation der DNA** 5
 - 1.2.1 Die DNA hat die Struktur einer antiparallelen Doppelhelix 5
 - 1.2.2 Die DNA-Replikation ist semikonservativ, und die Synthese der DNA-Stränge erfolgt diskontinuierlich 7
- 1.3 **RNA-Transkription und Genexpression** 10
 - 1.3.1 Die genetische Information fließt fast nur in einer Richtung: DNA → RNA → Protein 10
 - 1.3.2 Bei höheren Organismen wird nur ein geringer Teil der DNA in Protein oder RNA umgesetzt 11
 - 1.3.3 Den Vorgang, bei dem die genetische Information bestimmter DNA-Abschnitte (Gene) als Vorlage für die RNA-Synthese dient, bezeichnet man als Transkription 12
 - 1.3.4 Bei der Transkription eukaryotischer Gene müssen *cis*-aktive Transkriptionselemente und *trans*-aktive Transkriptionsfaktoren zusammenwirken 14
 - 1.3.5 Bei der gewebespezifischen Genexpression werden bestimmte Gene selektiv aktiviert, und Chromatinbereiche, die transkribiert werden, nehmen eine offene Konformation an 16
 - 1.3.6 In Wirbeltiergenomen kennzeichnen häufig unmethylierte CpG-Inseln die Position von Genen, die transkribiert werden 16
- 1.4 **Weiterverarbeitung der RNA nach der Transkription** 18
 - 1.4.1 Beim RNA-Spleißen werden aus dem Primärtranskript die Introns herausgeschnitten und die Exons in der RNA verbunden 18
 - 1.4.2 Bei den meisten RNA-Polymerase-II-Transkripten werden an die 5'- und 3'-Enden spezielle Nucleotide angehängt 21
- 1.5 **Translation, posttranslationelle Weiterverarbeitung und Proteinstruktur** 23
 - 1.5.1 Bei der Translation wird die mRNA auf den Ribosomen entschlüsselt und steuert damit die Polypeptidsynthese 23

- 1.5.2 Häufig werden die Proteine nach der Translation noch modifiziert, zum Beispiel durch Anhängen spezieller chemischer Gruppen an bestimmte Aminosäuren oder das Spalten des Primärtranskripts 27
- 1.5.3 Für die Sekretion von Proteinen sowie ihren Export an bestimmte Stellen innerhalb der Zelle muß der Code spezielle Lokalisierungssignale enthalten 28
- 1.5.4 Die Proteinstruktur ist vielfältig und komplex und läßt sich nicht leicht aus der Aminosäuresequenz ableiten 31
- 1.6 Mutation und DNA-Reparatur 33**
- 1.6.1 Mutationen in der DNA sind der erste Anstoß für evolutionäre Neuerungen, können jedoch auch Krankheiten auslösen 33
- 1.6.2 Bei der DNA-Reparatur wird der überwiegende Teil der veränderten Basen sofort erkannt und repariert 34
- Weiterführende Literatur 36

2. Struktur und Funktion der Chromosomen 37

- 2.1 Struktur und Organisation der Chromosomen 37**
- 2.1.1 Bei eukaryotischen Zellen unterscheiden sich die Chromosomenzahl sowie der DNA-Gehalt nicht nur von Spezies zu Spezies, sondern sogar bei Zellen eines einzelnen Organismus 37
- 2.1.2 Das Verpacken der DNA in Chromosomen erfordert eine Hierarchie von DNA-Faltungen 39
- 2.1.3 Aufgrund von Chromosomenbandenmustern kann man die Chromosomenstruktur bestimmen und Chromosomen unterscheiden 41
- 2.2 Die beiden Arten der Zellteilung: Mitose und Meiose 43**
- 2.2.1 Die normale Art der Zellteilung ist die Mitose 43
- 2.2.2 Die Meiose ist eine Sonderform der Zellteilung – durch sie entstehen Spermien und Eizellen 45
- 2.3 Die Funktion der Chromosomen sowie die Beziehung zwischen Transkriptionsaktivität und Chromosomenstruktur 50**
- 2.3.1 Die Funktion der Chromosomen ist von drei Arten von Elementen abhängig: den Centromeren, den Telomeren und den Replikationsursprüngen 51
- 2.3.2 Die Transkriptionsaktivität ist abhängig von der Chromosomenstruktur 55
- 2.3.3 Unterschiede zwischen den X- und Y-Chromosomen der Säuger führen dazu, daß sie sich während der Meiose nur begrenzt paaren können und daß spezielle Mechanismen erforderlich sind, um für eine korrekte Genexpression zu sorgen 56
- 2.4 Chromosomenanomalien 57**
- 2.4.1 Verschiedene Typen von Chromosomenanomalien 57
- 2.4.2 Bei numerischen Chromosomenanomalien ist die Chromosomenzahl verändert, ohne daß Chromosomenbrüche auftreten 59
- 2.4.3 Strukturelle Chromosomenanomalien entwickeln sich aufgrund von Chromosomenbrüchen 61
- 2.4.4 Uniparentale Diploidie und uniparentale Disomie 66
- Weiterführende Literatur 67

- 3. Gene in Stammbäumen** 69
- 3.1 Mendelsche Vererbungsmuster** 69
- 3.1.1 Dominanz und Rezessivität sind Eigenschaften von Merkmalen, nicht von Genen 69
- 3.1.2 OMIM ist die Standarddatenbank für mendelnde Merkmale 70
- 3.1.3 Mendelnde Stammbäume zeigen fünf Grundmuster 70
- 3.1.4 Aus einem Stammbaum läßt sich die Art der Vererbung nur selten eindeutig bestimmen 71
- 3.1.5 Ein mendelnder Phänotyp muß nicht exakt einer codierenden DNA-Sequenz entsprechen 73
- 3.1.6 In Mitochondrien findet man ein matrilineares Vererbungsmuster, das nicht den Mendelschen Regeln folgt 74
- 3.2 Abwandlungen der grundlegenden Vererbungsmuster** 76
- 3.2.1 Das Unvermögen einer dominanten Krankheit, sich zu manifestieren, bezeichnet man als unvollständige Penetranz 76
- 3.2.2 Bei vielen Krankheiten ist die Expression variabel 79
- 3.2.3 Antizipation – eine Spezialform variabler Expression 79
- 3.2.4 Bei geprägten Genen entscheidet die elterliche Herkunft über die Expression 80
- 3.2.5 Neue Mutationen erschweren oft die Interpretation von Stammbäumen 83
- 3.2.6 Die Sterblichkeit männlicher Nachkommen sowie die Inaktivierung des X-Chromosoms können eine Interpretation X-gekoppelter Stammbäume erschweren 83
- 3.3 Mosaik und Chimären** 85
- 3.3.1 Mosaik und Chimären bestehen aus zwei oder mehr genetisch unterschiedlichen Zelllinien 85
- 3.3.2 Keimbahnmosaik erschweren die Interpretation von Stammbäumen 85
- 3.4 Faktoren, die beeinflussen können, wie häufig ein Gen auftritt** 88
- 3.4.1 Es kann eine einfache Beziehung zwischen der Häufigkeit eines Gens und der eines entsprechenden Genotyps geben 88
- 3.4.2 Genotypfrequenzen lassen sich (unter Vorbehalt) zur Berechnung von Mutationsraten verwenden 90
- 3.4.3 Die Vorteile einer heterozygoten Konstellation können sehr viel mehr dazu beitragen, daß Krankheitsgene auf Dauer erhalten bleiben, als eine hohe Mutationsrate 92
- 3.5 Merkmale, die nicht den Mendelschen Gesetzen gehorchen** 93
- 3.5.1 Die Erforschung einfacher und komplexer Krankheitsmechanismen hat lange zwei verschiedene Traditionen innerhalb der Humangenetik definiert 93
- 3.5.2 Nichtmendelnde Merkmale können polygen, oligogen oder multifaktoriell sein 95
- 3.5.3 Bei der Beratung im Hinblick auf nichtmendelnde Krankheiten stützt man sich auf Erfahrungswerte 96
- Weiterführende Literatur 97
- Zitierte Literatur 97

- 4. DNA-Klonierung auf Zellbasis** 99
 - 4.1 Prinzipien der DNA-Klonierung** 99
 - 4.2 Prinzipien der DNA-Klonierung auf Zellbasis** 100
 - 4.2.1 Für die zellabhängige DNA-Klonierung müssen DNA-Fragmente *in vitro* mit gereinigten Replikons verbunden und anschließend in geeigneten Wirtszellen vermehrt werden 100
 - 4.2.2 Restriktionsendonucleasen schneiden die Ziel-DNA so zurecht, daß sie leicht mit gleichartig geschnittenen Vektormolekülen ligiert werden können 103
 - 4.2.3 Schleust man rekombinierte DNA in Empfängerzellen ein, so kann man eine heterogene Ausgangspopulation von DNA-Molekülen fraktionieren 107
 - 4.2.4 DNA-Banken bestehen aus einer großen Zahl von DNA-Klonen, die eine komplexe Ausgangs-DNA-Population repräsentieren 110
 - 4.2.5 Rekombinante lassen sich häufig über die Insertionsinaktivierung eines Markergens nachweisen 112
 - 4.2.6 Zur ersten Charakterisierung von Klonen mit rekombinierter DNA gehört eine Restriktionskartierung 115
 - 4.3 Vektorsysteme für die Klonierung von DNA-Fragmenten unterschiedlicher Größe** 115
 - 4.3.1 Kleine DNA-Fragmente lassen sich mittels Plasmidvektoren einfach und problemlos in Bakterien oder einfachen Eukaryonten klonieren 116
 - 4.3.2 Lambda- und Cosmidvektoren stellen ein effizientes Klonierungssystem dar, um mittellange DNA-Fragmente in Bakterien zu klonieren 117
 - 4.3.3 Um große DNA-Fragmente in Bakterien zu klonieren, kann man Vektoren verwenden, die auf dem Bakteriophagen P1 und auf F-Faktoren basieren 121
 - 4.3.4 In künstlichen Hefechromosomen (YACs) kann man Fragmente von Megabasen-Länge klonieren 123
 - 4.4 Expressionsklonierung** 124
 - Weiterführende Literatur 127
 - Zitierte Literatur 127
- 5. DNA-Hybridisierungen** 129
 - 5.1 Nucleinsäuresonden** 129
 - 5.1.1 Nucleinsäuresonden werden normalerweise konstruiert, indem man DNA kloniert oder sie chemisch synthetisiert 129
 - 5.1.2 Um DNA und RNA *in vitro* zu markieren, baut man Nucleotide oder Nucleotidkomponenten in sie ein, die ein markiertes Atom oder eine markierte chemische Gruppe enthalten 130
 - 5.1.3 Radioaktive und nichtradioaktive Markierung von Nucleinsäuren 134
 - 5.2 Prinzipien der molekularen Hybridisierung** 138
 - 5.2.1 Die molekulare Hybridisierung ermöglicht es, Nucleinsäuremoleküle zu finden, deren Basenfolge mit der einer markierten Nucleinsäuresonde nahe verwandt ist 138
 - 5.2.2 DNA-Reassoziationskinetiken sind als Produkt aus DNA-Konzentration und Zeit (C_0t) definiert 141
 - 5.3 Methoden und Anwendungen der molekularen Hybridisierung** 142
 - 5.3.1 Der Dot-Blot und der Slot-Blot bieten sich an, um in einer unfraktionierten Nucleinsäureprobe bestimmte Sequenzen zu identifizieren 142

- 5.3.2 Mit Hilfe einer allelspezifischen Oligonucleotid(ASO)-Hybridisierung kann man Allele unterscheiden, die nur in einer einzigen Base differieren 143
- 5.3.3 Mit Hilfe von Southern- und Northern-Blots weist man Ziel-DNA- und Ziel-RNA-Fragmente nach, die vorher durch eine Gelelektrophorese ihrer Größe nach aufgetrennt wurden 143
- 5.3.4 Mit Hilfe der Southern-Blot-Hybridisierung ist es möglich, die DNA auf RFLPs und auf Mutationen relativ kleinen Umfangs hin zu untersuchen sowie Familien verwandter DNA-Sequenzen nachzuweisen 145
- 5.3.5 Nachdem man Bakterien mit Bakteriophagen infiziert hat, kann man einzelne Bakterienkolonien beziehungsweise Plaques mit Hilfe eines Kolonie-Blots oder einer Plaquehybridisierung ausfindig machen 149
- 5.3.6 Bei der *in situ*-Hybridisierung lagert sich normalerweise eine Nucleinsäuresonde an die denaturierte DNA einer Chromosomenpräparation an oder an die RNA eines Gewebeschnitts, der auf einem Objektträger fixiert wurde 150

Weiterführende Literatur 152

Zitierte Literatur 152

6. DNA-Klonierung und DNA-Analyse mit Hilfe der PCR 153

6.1 Prinzipien der PCR 153

- 6.1.1 Die PCR ist eine zellunabhängige Art der DNA-Klonierung 153
- 6.1.2 Die PCR als Klonierungsmethode bietet drei Vorteile: Sie ist schnell, empfindlich und robust 155
- 6.1.3 Die drei wesentlichen Nachteile der PCR sind, daß man von der Ziel-Sequenz vorher Information benötigt, daß man nur kurze Produkte erhält und daß die DNA-Replikation ungenau ist 156

6.2 Anwendungsmöglichkeiten der PCR 159

- 6.2.1 Die PCR wird häufig eingesetzt, um Polymorphismen und pathogene Mutationen aufzuspüren 160
- 6.2.2 Eine PCR mit degenerierten Oligonucleotid-Primern ermöglicht eine rasche Klonierung von cDNA und von uncharakterisierten Mitgliedern einer DNA-Familie 163
- 6.2.3 Mit einer PCR kann man beliebige DNA-Sequenzen aus einer winzigen Menge Ausgangsmaterial vermehren 165
- 6.2.4 Man kann die PCR benutzen, um unbekannte DNA-Bereiche zu klonieren, die sich neben einer vorher charakterisierten Region befinden 166
- 6.2.5 Für eine DNA-Sequenzierung verwendet man häufig PCR-amplifizierte Produkte 169
- 6.2.6 Man kann die PCR nutzen, um in DNA-Sequenzen gezielt Mutationen einzufügen 170

Weiterführende Literatur 171

Zitierte Literatur 171

- 7. Organisation und Expression des menschlichen Genoms 173**
- 7.1 Aufbau des menschlichen Genoms 173**
- 7.1.1 Das mitochondrielle Genom besteht aus einem einzigen DNA-Doppelstrang, der dicht mit genetischer Information bepackt ist 174
- 7.1.2 Das Kerngenom umfaßt 24 verschiedene DNA-Doppelstränge, deren Basenzusammensetzung und Gendichte in verschiedenen Bereichen erheblich variieren 178
- 7.1.3 Das Kerngenom enthält die überwiegende Mehrheit der menschlichen Gene, deren Gesamtzahl augenblicklich auf etwa 65 000 bis 80 000 geschätzt wird 182
- 7.2 Organisation der menschlichen Gene 183**
- 7.2.1 Gene mit ähnlichen Funktionen sind im menschlichen Genom gelegentlich in einem Cluster angehäuft, häufiger sind sie jedoch auf verschiedene Chromosomen verteilt 183
- 7.2.2 Menschliche Gene sind in bezug auf ihre Größe und interne Organisation außerordentlich variabel 184
- 7.2.3 Im menschlichen Genom kennt man nur wenige überlappende Gene und selten Gene innerhalb von Genen 188
- 7.3 Die Expression menschlicher Gene 189**
- 7.3.1 Menschliche Gene enthalten komplexe Sätze *cis*-aktiver transkriptioneller Kontrollelemente 190
- 7.3.2 Transkriptionsfaktoren enthalten häufig konservierte Struktur motive, mit denen sie an die DNA binden können 193
- 7.3.3 Aus einem einzigen Gen oder einer einzigen Transkriptionseinheit können verschiedene Genprodukte entstehen 196
- 7.3.4 Bei einigen menschlichen Genen wird die Expression hauptsächlich auf der Translationsebene kontrolliert 199
- 7.3.5 Bei einigen menschlichen Genen wird selektiv nur eines der beiden elterlichen Allele exprimiert 200
- 7.3.6 Bei der genomischen Prägung werden väterliche und mütterliche Allele bestimmter autosomaler Säugetiergene unterschiedlich exprimiert 201
- 7.3.7 Zweck der Inaktivierung eines X-Chromosoms bei Säugern ist es, die Unterschiede im Verhältnis X-gekoppelter und autosomaler Gene in männlichen und weiblichen Zellen auszugleichen 204
- 7.3.8 Die Chromatinstruktur kann die Genexpression möglicherweise über weite Strecken hinweg kontrollieren 206
- 7.3.9 In Zellen von Säugetierembryonen führen höchstwahrscheinlich Signale, die von Zelle zu Zelle ausgetauscht werden und nur eine kurze Reichweite haben, zu einer selektiven Genexpression 208
- 7.4 Die besondere Organisation und Expression der Ig- und TCR-Gene 208**
- 7.4.1 Die Organisation der Ig- und TCR-Gene ist einzigartig: Mehrere unterschiedliche Bereiche des Polypeptids können jeweils von multiplen Genabschnitten codiert werden 209
- 7.4.2 Während der Reifung der B- und T-Lymphocyten kommt es zu programmierten DNA-Umarrangements in den Ig- beziehungsweise TCR-Loci 211

- 7.4.3 V und J sowie V, D und J werden oft aufgrund von Deletionen innerhalb der Chromatiden aneinandergeschlüsselt, V und J auch aufgrund von Inversionen in der Größenordnung von Megabasen 213
- 7.4.4 Beim Klassenwechsel der schweren Ketten wird eine einzige VDJ-Einheit an verschiedene DNA-Abschnitte für die konstanten Domänen geschlüsselt 214
- Weiterführende Literatur 216
- Zitierte Literatur 216

8. Multigenfamilien und repetitive DNA beim Menschen 217

- 8.1 Prinzipien von repetitiver DNA und Multigenfamilien 217**
 - 8.1.1 Reassoziationskinetiken menschlicher DNA sprechen für drei Klassen von DNA-Sequenzen 217
 - 8.1.2 Man kann die Mitglieder der DNA-Sequenzfamilien mit verschiedenen Verfahren identifizieren 218
- 8.2 Multigenfamilien 219**
 - 8.2.1 Menschliche Genfamilien variieren darin, inwieweit die Sequenzen der verschiedenen Familienmitglieder insgesamt miteinander verwandt sind und in welchem Ausmaß die Familie durch bestimmte konservierte Teilsequenzen definiert wird 219
 - 8.2.2 Menschliche Genfamilien können an speziellen Stellen eines Chromosoms gehäuft auftreten oder über das gesamte Genom verteilt sein 221
 - 8.2.3 RNA-codierende Genfamilien haben oft zahlreiche Mitglieder 223
 - 8.2.4 Menschliche Gencluster enthalten oft konventionelle Pseudogene, verkürzte Gene oder Genfragmente 224
 - 8.2.5 Die Expression einzelner Gene in Genclustern wird unter Umständen von einem gemeinsamen Locuskontrollbereich aus koordiniert 225
 - 8.2.6 Verstreute menschliche Genfamilien enthalten oft zahlreiche weiterverarbeitete Pseudogene 228
- 8.3 Extragene repetitive DNA-Sequenzen und transponierbare Elemente 229**
 - 8.3.1 Die Satelliten-DNA besteht aus sehr langen Folgen direkter Sequenzwiederholungen, die von der Gesamt-DNA mit Hilfe einer Schwebeschichtgradientenzentrifugation abgetrennt werden können 230
 - 8.3.2 Die Minisatelliten-DNA ist aus mittelgroßen Folgen direkter Sequenzwiederholungen zusammengesetzt, die oft an den Telomeren oder in deren Nähe lokalisiert sind 233
 - 8.3.3 Die Mikrosatelliten-DNA enthält kurze Folgen einfacher direkt repetitiver Einheiten, die über das gesamte menschliche Genom verstreut sind 234
 - 8.3.4 Hochrepetitive verstreute DNA-Familien enthalten einen geringen Prozentsatz an aktiven DNA-Transposons 234
 - 8.3.5 Unter den *Alu*-Wiederholungen, die etwa alle 4 kb einmal im Genom vorkommen, befinden sich auch solche, die transkribiert werden 236
 - 8.3.6 In der *L1(Kpn)*-Familie, die im menschlichen Genom alle 50 kb einmal vorkommt, gibt es anscheinend Mitglieder, die eine Reverse Transkriptase codieren 238
- Weiterführende Literatur 240
- Zitierte Literatur 240

- 9. Spuren der Evolution** 241
- 9.1 Die Evolution des Genoms der menschlichen Mitochondrien** 241
- 9.1.1 Das Genom der menschlichen Mitochondrien entstand wahrscheinlich nach der Endocytose eines aeroben Eubakteriums, auf die eine umfassende Verlagerung der Gene in das Kerngenom folgte 241
- 9.1.2 Der genetische Code der Mitochondrien hat sich aller Wahrscheinlichkeit nach als Folge eines verminderten Selektionsdruckes entwickelt, der wiederum eine Folge der stark verringerten Codierungskapazität ist 242
- 9.2 Die Evolution des menschlichen Genoms im Zellkern: Genomduplikationen und umfassende Veränderungen der Chromosomen** 244
- 9.2.1 Während der Evolution des menschlichen Genoms kam es wahrscheinlich zu Duplikationen in der Vorzeit, was sich jedoch aufgrund nachfolgender Umlagerungen der Chromosomen und der DNA nur schwer nachweisen läßt 244
- 9.2.2 Während der Evolution des Säugetiergenoms kam es zu zahlreichen größeren Umlagerungen der Chromosomen 248
- 9.3 Die Evolution der menschlichen Geschlechtschromosomen** 250
- 9.3.1 Trotz deutlicher struktureller Unterschiede deuten Sequenzhomologien in wichtigen Bereichen darauf hin, daß das X- und das Y-Chromosom des Menschen einen gemeinsamen Ursprung besitzen 250
- 9.3.2 Die Evolution des X-Chromosoms der Säugetiere hat sowohl bei der Organisation der chromosomalen DNA als auch beim Inaktivierungsmuster des X-Chromosoms zu grundlegenden Unterschieden zwischen den einzelnen Spezies geführt 253
- 9.3.3 Genvergleiche zwischen entfernt verwandten Säugetieren deuten darauf hin, daß ein großer Teil des kurzen Arms vom menschlichen X-Chromosom erst spät in der Evolution durch eine Translokation zwischen dem X-Chromosom und einem Autosom entstanden ist 256
- 9.3.4 Das menschliche Y-Chromosom hat mit großer Wahrscheinlichkeit den größten Teil seiner Codierungskapazität verloren, da aufgrund des Selektionsdruckes Rekombinationen unterblieben 258
- 9.4 Die Evolution menschlicher DNA-Sequenzfamilien und der Organisationsstruktur der DNA** 260
- 9.4.1 Genduplikationen können zur Auseinanderentwicklung von Funktionen führen – ein Mechanismus, der in der Evolution der Säugetiere häufig vorkommt 260
- 9.4.2 Eine konzertierte Evolution ist das Ergebnis eines mehrfachen Austausches von Sequenzen in einer DNA-Sequenzfamilie, und zwar innerhalb desselben Genoms oder derselben Spezies 261
- 9.4.3 Einige Genfamilien zeigen keine besonderen Hinweise auf eine gemeinsame Evolution: Die Homologien zwischen orthologen Sequenzen können größer sein als zwischen verschiedenen Mitgliedern derselben Genfamilie innerhalb einer Spezies 263
- 9.5 Die Evolution der Genstruktur** 265
- 9.5.1 Komplexe Gene können durch Duplikationen innerhalb des Gens entstehen, häufig durch Exonverdopplung 265

- 9.5.2 Die Exonverschiebung, bei der vielleicht transponierbare Elemente eine Rolle spielen, ermöglicht zahlreiche verschiedene Kombinationen struktureller und funktioneller Module 266
- 9.5.3 Die meisten Exons codieren keine vollständigen strukturellen oder funktionellen Proteinmodule und sind von Introns flankiert, die offensichtlich erst in einer relativ späten Phase der Evolution an der entsprechenden Position eingefügt wurden 270
- 9.6 Was macht uns zu Menschen? Vergleich der Organisation und Evolution der Säugetiergenome 272**
- 9.6.1 Was unterscheidet uns von Mäusen? 273
- 9.6.2 Was unterscheidet uns von den Menschenaffen? 278
- Weiterführende Literatur 283
- Zitierte Literatur 283
- 10. Mutationen und Instabilität der menschlichen DNA 285**
- 10.1 Mutationen und Polymorphismen 285**
- 10.2 Einfache Mutationen 286**
- 10.2.1 Mutationen entstehen häufig durch Fehler bei der DNA-Replikation und bei der DNA-Reparatur 286
- 10.2.2 Die einzelnen Basensubstitutionen sind nicht statistisch verteilt 287
- 10.2.3 Codierende DNA zeigt eine andere Mutationshäufigkeit und andere Arten von Mutationen als nichtcodierende DNA 288
- 10.2.4 Basensubstitutionen treten in der codierenden DNA nicht an beliebigen Positionen auf 290
- 10.2.5 Die Häufigkeit nichtsynonymer Substitutionen kann bei proteincodierenden Genen stark variieren 293
- 10.2.6 Die molekulare Uhr geht bei jedem Gen und in jeder Evolutionslinie anders 294
- 10.2.7 Die höhere Mutationsrate bei männlichen Lebewesen ist wahrscheinlich eine Folge der größeren Anzahl von Keimzellteilungen 298
- 10.3 Genetische Mechanismen, die zu einem Sequenzaustausch zwischen repetitiven DNA-Sequenzen führen 298**
- 10.3.1 Fehlpaarungen durch Strangverschiebungen können bei kurzen repetitiven Tandemsequenzen (Mikrosatelliten-DNAs) zu VNTR-Polymorphismen führen 300
- 10.3.2 Aufgrund möglicher ungleicher Crossing-over oder ungleicher Austausche zwischen Schwesterchromatiden sind große Einheiten repetitiver Tandemsequenzen anfällig für Insertionen und Deletionen 300
- 10.3.3 Bei repetitiver Tandem-DNA sind Genkonversionen relativ häufig 303
- 10.4 Pathogene Mutationen 306**
- 10.4.1 Pathogene Mutationen treten bevorzugt bei bestimmten DNA-Sequenztypen in Genen auf 306
- 10.4.2 Viele verschiedene Faktoren beeinflussen die Expression einer pathogenen Mutation 308
- 10.4.3 Die meisten Spleißmutationen betreffen konservierte Sequenzen, die für einen normalen Spleißvorgang notwendig sind, einige treten jedoch auch in Sequenzen auf, die dabei normalerweise keine Rolle spielen 308
- 10.4.4 Nonsense-Mutationen können sich phänotypisch auf mindestens drei Arten auswirken 311
- 10.5 Das pathogene Potential repetitiver DNA-Sequenzen 313**

- 10.5.1 Die Fehlpaarung gegeneinander verschobener DNA-Stränge bei kurzen tandemförmigen Wiederholungen begünstigt pathogene Deletionen und die Insertion von DNA-Fragmenten, die zu Verschiebungen des Leserasters führen 314
- 10.5.2 Eine schnelle, umfangreiche Ausdehnung von repetitiven Triplettssequenzen innerhalb eines Gens kann verschiedene Krankheiten verursachen 314
- 10.5.3 Direkt wiederholte Sequenzen und Genfamilien, die in Clustern angeordnet sind, sind möglicherweise anfällig für pathogene ungleiche Crossing-over und für genkonversionsähnliche Ereignisse 318
- 10.5.4 Verstreute repetitive Sequenzen begünstigen häufig umfangreiche Deletionen und Duplikationen 320
- 10.5.5 Innerhalb eines Chromatids kann es durch die Rekombination zwischen entgegengesetzten repetitiven Sequenzen zu pathogenen Inversionen kommen 321
- 10.5.6 Die Transposition von DNA-Sequenzen ist nicht ungewöhnlich und kann Krankheiten hervorrufen 323
- Weiterführende Literatur 323
- Zitierte Literatur 323

11. Die physikalische Kartierung 325

11.1 Die physikalische Kartierung mit niedriger Auflösung 325

- 11.1.1 Klonreihen somatischer Hybridzellen erlauben die Zuordnung jeder DNA-Sequenz zu einem bestimmten menschlichen Chromosom 325
- 11.1.2 Die chromosomale Zuordnung von menschlichen DNA-Klonen läßt sich mit Hilfe einer Reihe monochromosomaler Hybridzellen aus Mikrozellfusionen direkt und schnell durchführen 327
- 11.1.3 Die subchromosomale Kartierung mit Hilfe von Hybridzellen, die Fragmente von menschlichen Chromosomen enthalten 328
- 11.1.4 Die chromosomale *in situ*-Hybridisierung wurde durch die Fluoreszenztechnik grundlegend verändert 332
- 11.1.5 Die Durchflußcytometrie ermöglicht ein Sortieren einzelner Chromosomen sowie die Herstellung chromosomenspezifischer DNA-Banken 334

11.2 Hoचाuflösende physikalische Kartierung: FISH-Kartierung an Chromatin- oder DNA-Fasern und Restriktionskartierung 335

- 11.2.1 Eine FISH-Kartierung mit sehr hoher Auflösung erhält man durch Hybridisierung von DNA-Sonden mit ausgestreckten Chromosomen beziehungsweise mit künstlich entspiralisierten Chromatin- oder DNA-Fasern 336
- 11.2.2 Die Restriktionskartierung großer DNA-Bereiche erfordert Endonucleasen, die die DNA nur selten schneiden, sowie die Auftrennung großer Restriktionsfragmente mit Hilfe der Pulsfeldgelelektrophorese 337

11.3 Das Zusammensetzen von Klon-Contigs 339

- 11.3.1 Ein primäres Ziel einer physikalischen Kartierung ist die Erzeugung sich ergänzender DNA-Klone mit überlappenden Insertionsfragmenten (Klon-Contigs) 339
- 11.3.2 Für eine Chromosomenwanderung erzeugt man Klon-Contigs, die an definierten Startpunkten beginnen 340
- 11.3.3 Die Chromosomenwanderung mit Hilfe von YAC-Klonen erfolgt häufig durch eine Genbank-Analyse auf PCR-Basis 343

- 11.3.4 Für große genomische Abschnitte kann man Klon-Contigs schnell durch „DNA-Fingerabdrücke von Zufallsklonen“ erzeugen 343
- 11.3.5 Die Klonrasterung und verstärkte Automatisierung ermöglichen eine physikalische Kartierung im großen Maßstab 346
- 11.4 Die Erstellung von Transkriptkarten und die Identifizierung von Genen in klonierter DNA 347**
- 11.4.1 Für die Identifizierung von Genen in klonierter DNA stehen zahlreiche verschiedene Verfahren zur Verfügung 347
- 11.4.2 Gene lassen sich durch Hybridisierung von DNA-Klonen mit Northern-Blots, cDNA-Genbanken, Zoo-Blots und Southern-Blots genomischer DNA, die mit selten schneidenden Restriktionsendonucleasen gespalten wurde, leicht identifizieren 348
- 11.4.3 Durch die gezielte Isolierung und Amplifizierung von Exons mit Hilfe künstlicher RNA-Spleiß-Systeme lassen sich exprimierte Sequenzen identifizieren 352
- 11.4.4 Gene in komplexen DNA-Klonen, beispielsweise in YACs, lassen sich durch die Ausbildung von Heteroduplex-Strukturen mit cDNAs sowie durch PCR-Verfahren zur Amplifizierung von CpG-Insel-Sequenzen identifizieren 354
- 11.4.5 Transkriptkarten lassen sich durch die physikalische Kartierung von exprimierten sequenzmarkierten Stellen anfertigen, die auf zufällige Weise erzeugt werden 356
- 11.4.6 In klonierter DNA lassen sich Gene durch eine computergestützte Sequenzanalyse identifizieren 357
- 11.5 DNA-Sequenzierung: die Erstellung der endgültigen physikalischen Karte 358**
- 11.5.1 Die DNA-Sequenzierung erfolgt normalerweise mit Hilfe einer enzymatischen DNA-Synthese in Gegenwart basenspezifischer Didesoxynucleotide, die einen Kettenabbruch bewirken 358
- 11.5.2 Bei der DNA-Sequenzierung verwendet man immer häufiger Fluoreszenzmarkierungsverfahren und automatisierte Nachweissysteme 360
- 11.5.3 Einzelsträngige DNA-Klone, die sich für eine Sequenzierung eignen, kann man mit Hilfe von M13- und Phagemid-Vektoren herstellen 361
- 11.5.4 Für die Sequenzierung ursprünglich doppelsträngiger DNA-Matrizen verwendet man häufig ein zyklisches Verfahren 364
- 11.5.5 Bei Sequenzierungen im großen Maßstab werden „Schrotschuß-Klonierungen“ für die Herstellung von DNA-Matrizen verwendet 364
- Weiterführende Literatur 366
- Zitierte Literatur 366

12. Die genetische Kartierung 367

- 12.1 Rekombinanten und Nichtrekombinanten 367**
- 12.2 Abstände auf genetischen und physikalischen Genkarten 368**
- 12.2.1 Die Rekombinationshäufigkeit ist ein Maß für den genetischen Abstand 368
- 12.2.2 Die Rekombinationshäufigkeit ist nie größer 50 Prozent, unabhängig von der Länge des physikalischen Abstands 369
- 12.2.3 Kartierungsfunktionen definieren die Beziehung zwischen der Rekombinationshäufigkeit und dem genetischen Abstand 370

- 12.2.4 Das Verhältnis zwischen physikalischen und genetischen Abständen ist nicht konstant 370
- 12.3 Genetische Marker 371**
- 12.3.1 Die genetische Kartierung des Menschen erforderte die Entwicklung entsprechender Marker 371
- 12.3.2 Der Informationsgehalt eines Polymorphismus gibt an, wie informativ ein Marker ist 373
- 12.4 Die Zwei-Marker-Kartierung 376**
- 12.4.1 Lod-Werte sind das statistische Maß für das Vorhandensein einer Kopplung 376
- 12.4.2 Die Lod-Werte +3 und -2 sind die Kriterien für eine Kopplung oder deren Ausschluß 379
- 12.5 Die Multimarker-Kartierung 382**
- 12.5.1 Die Multimarker-Kartierung ermöglicht es, die Position eines Krankheitslocus innerhalb eines Satzes von Markern zu bestimmen 382
- 12.5.2 Die Kopplung mehrerer Marker ist eine Grundlage für die Erstellung von Marker-Markerkarten 384
- 12.6 Probleme bei der Standardanalyse von Lod-Werten 386**
- 12.6.1 Die Ermittlung von Marker-Marker-Kopplungen durch die Untersuchung von Spermien 388
- 12.6.2 Kopplungsanalysen ohne die Verwendung von Modellen 388
- 12.6.3 Betroffene Geschwisterpaare ermöglichen modellfreie Analysen in Kernfamilien 389
- 12.6.4 Die Homozygotie-(Autozygotie-)Kartierung ist für die Erfassung rezessiver Merkmale bei weitläufigen Familien gut geeignet 391
- 12.6.5 Wenn die meisten krankheitsspezifischen Mutationen in einer Bevölkerungsgruppe auf wenige Vorfahren zurückzuführen sind, kann sich eine allele Assoziation feststellen lassen 391
- Weiterführende Literatur 393
- Zitierte Literatur 393

13. Das Human Genome Project 395

- 13.1 Geschichte, Organisation und Ziele des Genomprojekts 395**
- 13.1.1 Das Human Genome Project entstand aus der Notwendigkeit heraus, neue Methoden zur Ermittlung von Mutationen in großem Umfang zu entwickeln 395
- 13.1.2 Die Organisation des Human Genome Project 396
- 13.1.3 Die vollständige Ermittlung der Nucleotidsequenz des menschlichen Genoms ist nur eines der Ziele des Human Genome Project 397
- 13.2 Genetische Karten des Menschen 399**
- 13.2.1 Die erste genetische Karte des Menschen basiert auf RFLP-Markern und wurde 1987 veröffentlicht 399
- 13.2.2 Insbesondere durch die Verwendung von Mikrosatellitenmarkern konnte man vor kurzem genetische Karten des Menschen erstellen, die eine hohe Auflösung besitzen 400
- 13.3 Physikalische Karten des menschlichen Genoms 402**
- 13.3.1 Zur Zeit arbeitet man an der Erstellung verschiedener physikalischer Karten des menschlichen Genoms 402
- 13.3.2 Bei der Herstellung vollständiger Klon-Contigs von menschlichen Chromosomen gab es beachtliche Fortschritte 404

- 13.3.3 Mit Hilfe des „Zufallsklon-Fingerabdruck“-Verfahrens konstruiert man physikalische Karten des menschlichen Gesamtgenoms 406
- 13.3.4 EST-Projekte bieten die Möglichkeit, die meisten Gene im menschlichen Genom schnell zu identifizieren und zu kartieren 407
- 13.3.5 Die EST-Kartierung und die Charakterisierung vollständiger Transkripte werden bald die Entwicklung einer umfassenden Genkarte des Menschen ermöglichen 410
- 13.4 Ergänzende Projekte: Genomkarten von Modellorganismen und das Human Genome Diversity Project 410**
 - 13.4.1 Genomprojekte einer Reihe verschiedener Modellorganismen sollen dazu beitragen, die menschlichen Genfunktionen besser zu verstehen und als Pilotprojekte für die Sequenzierung des menschlichen Genoms dienen 411
 - 13.4.2 Bei der Kartierung einiger Modellorganismen gab es rasche Fortschritte 411
 - 13.4.3 Das Human Genome Diversity Project hat zum Ziel, DNA-Sequenzdaten aus verschiedenen menschlichen Populationen zu sammeln und zu untersuchen 416
- 13.5 Das Speichern und die Verfügbarkeit der Daten des Human Genome Project 417**
 - 13.5.1 Die Flut von Kartierungsdaten aus den Genomprojekten wird in leicht zugängliche elektronische Datenbanken gelenkt 417
- 13.6 Das Human Genome Project: Freund oder Feind? 424**
 - 13.6.1 Was bedeutet es, wenn man eine Sequenz kennt, und was das Ergebnis den Aufwand wert? 424
 - 13.6.2 Auf den medizinischen und wissenschaftlichen Nutzen des Human Genome Project richten sich hohe Erwartungen 426
 - 13.6.3 Das Human Genome Project sieht sich wachsender Kritik ausgesetzt 427
 - 13.6.4 Ohne geeignete Vorsichtsmaßnahmen kann das Human Genome Project zur Diskriminierung von Trägern von Krankheitsgenen und zu einem Wiederaufleben der Eugenik führen 429
- Weiterführende Literatur 430
- Zitierte Literatur 430

14. Die Identifizierung von menschlichen Krankheitsgenen 433

- 14.1 Prinzipien und Strategien für die Identifizierung von Krankheitsgenen 433**
 - 14.1.1 Für die Identifizierung von Krankheitsgenen gibt es vier generelle Strategien 434
 - 14.1.2 Kandidatengene müssen daraufhin getestet werden, ob sie mit der untersuchten Krankheit in Zusammenhang stehen 435
- 14.2 Funktionelle Klonierung 436**
 - 14.2.1 Die teilweise Aufreinigung des Genprodukts ermöglicht die Herstellung genspezifischer Oligonucleotide oder spezifischer Antikörper, die sich für eine Identifizierung des Gens eignen 436
 - 14.2.2 Einige Krankheitsgene ließen sich durch einen Funktions-Komplementationstest identifizieren 439
- 14.3 Positionelle Klonierung 439**

- 14.3.2 Die genauere Eingrenzung einer Kandidatenregion erfordert das Vorhandensein von Klonen und Markern 440
- 14.3.3 Die genetische Analyse ist die wesentliche Methode, um die Position eines Krankheitsgens einzugrenzen 443
- 14.3.4 Mutationen, die bei erkrankten Personen auftreten und größere DNA-Abschnitte betreffen, geben wichtige Hinweise für die physikalische Lokalisierung des Krankheitsgens 445
- 14.4 Die Identifizierung von Genen in einer bestimmten Region 449**
- 14.5 Drei „klassische“ Beispiele für eine erfolgreiche positionelle Klonierung 450**
- 14.5.1 Die Klonierung des Dystrophingens geschah mit Hilfe zweier chromosomaler Anomalien 450
- 14.5.2 Das Gen für die Neurofibromatose Typ 1 ließ sich durch die Kartierung von Translokationen identifizieren, die mit der Krankheit zusammenhängen 453
- 14.5.3 Die Klonierung des Gens für die Cystische Fibrose gelang ohne die Hilfe umfangreicher Mutationen, aber anhand eines Kopplungsungleichgewichts 454
- 14.6 Methoden, die auf Kandidatengenen beruhen 458**
- 14.6.1 Die Pathogenese sowie die strukturelle und funktionelle Verwandtschaft mit anderen Genen, die als Loci für ähnliche krankheitsbedingte Phänotypen bekannt sind, können Hinweise auf Kandidatengene geben 459
- 14.6.2 Gene, die in derselben chromosomalen Region lokalisiert sind wie das Krankheitsgen, sind die stärksten Kandidaten 460
- 14.6.3 Homologien zwischen Mensch und Maus können die Identifizierung von Krankheitsgenen erleichtern 461
- 14.7 Die Suche nach Mutationen: wie man ein Kandidatengen bestätigt 466**
- 14.7.1 Die Grundlagen der Mutationensuche 466
- 14.7.2 Es gibt zahlreiche Methoden, um bei Patienten nach Mutationen in einem bestimmten Gen zu suchen 467
- Weiterführende Literatur 473
- Zitierte Literatur 473

15. Molekulare Pathologie 475

15.1 Nomenklatur und Datenbanken für Mutationen 476

- 15.1.1 Die Klassifizierung von Mutationen: Funktionsverlust im Gegensatz zu Funktionsgewinn 477
- 15.1.2 Veränderungen können quantitativ oder qualitativ sein 477
- 15.1.3 Wenn Punktmutationen und Deletionen dieselbe pathologische Veränderung bewirken, ist wahrscheinlich ein Funktionsverlust die Ursache der Krankheit 478
- 15.1.4 Führt nur eine spezifische Mutation in einem Gen zu einer bestimmten Pathologie, handelt es sich wahrscheinlich um einen Funktionsgewinn 478

15.2 Funktionsverlustmutationen 479

- 15.2.1 Mutationen, die das Fehlen eines bestimmten Proteins hervorrufen, befinden sich nicht zwangsläufig in dem Gen, das dieses Protein codiert 480

- 15.2.2 Viele verschiedene Veränderungen können die Funktion eines Gens zerstören 480
- 15.2.3 Die Funktion eines Gens kann nicht nur durch eine Mutation im Gen beeinträchtigt werden 483
- 15.2.4 Funktionsverlustmutationen können durch eine Haploinsuffizienz oder dominant-negative Effekte einen dominanten Phänotyp hervorbringen 486
- 15.2.5 Kleine Deletionen auf dem X-Chromosom führen bei männlichen Personen zu übergreifenden Gensyndromen 487
- 15.2.6 Mitochondriell bedingte Krankheiten können aufgrund von Funktionsverlustmutationen in der mtDNA entstehen; die Zusammenhänge zwischen Genotyp und Phänotyp sind jedoch kompliziert 488
- 15.3 Funktionsgewinnmutationen 489**
 - 15.3.1 Bei Erbkrankheiten kommt es nur selten zum Auftreten einer neuen Funktion, bei Krebs hingegen sehr häufig 490
 - 15.3.2 Die Überexpression eines normalen Genprodukts kann pathogene Folgen haben 490
 - 15.3.3 Qualitative Veränderungen eines Genprodukts können zu einem Funktionsgewinn führen 491
 - 15.3.4 Mutationen in Untereinheiten von multimeren Proteinkomplexen können dominant-negative Auswirkungen haben 493
- 15.4 Gendosiseffekte 493**
 - 15.4.1 Chromosomale Aneuploidien belegen die Bedeutung einer korrekten Gendosis 495
 - 15.4.2 Wenn ein Genprodukt mit anderen Proteinen oder DNA-Sequenzen in Wechselwirkung tritt, können Dosiseffekte eine Rolle spielen 496
- 15.5 Der Zusammenhang zwischen Mutationen und Syndromen 498**
 - 15.5.1 Bei Syndromen, die aufgrund der Störung eines komplexen Stoffwechselweges entstehen, liegt häufig eine Heterogenität der Loci vor 498
 - 15.5.2 Mutationen betreffen häufig nur eine bestimmte Untergruppe der Gewebe, in denen das Gen exprimiert wird 499
 - 15.5.3 An Kollagendefekten läßt sich der komplizierte Zusammenhang zwischen gewebespezifischen Syndromen und gewebespezifischen Genen verdeutlichen 500
 - 15.5.4 Allelreihen: Verschiedene Mutationen in demselben Gen können zu unterschiedlichen Krankheiten führen 503
- Weiterführende Literatur 506
- Zitierte Literatur 506

16. Genetische Tests bei Einzelpersonen und bei Populationen 509

- 16.1 Klinische Diagnosen und Labortests 509**
- 16.2 Direkte und indirekte DNA-Testverfahren 510**
- 16.3 Direkte Testverfahren 511**
 - 16.3.1 Die Suche nach bekannten oder unbekanntem Mutationen in einem Gen bringt verschiedene Probleme mit sich und erfordert unterschiedliche Methoden 512
 - 16.3.2 Für einen einfachen Nachweis spezifischer DNA-Mutationen stehen verschiedene Verfahren zur Verfügung 515

- 16.3.3 Direkte Testverfahren für bekannte Mutationen ermöglichen bei verhältnismäßig homogenen Krankheiten eine einfache Diagnose 517
- 16.3.4 Bei Krankheiten mit starker alleler Heterogenität lassen sich Mutationen nur schwer direkt nachweisen 523
- 16.4 Indirekte Testverfahren: Ermittlung von Vererbungslinien 525**
- 16.4.1 Die Bestimmung von Vererbungslinien erfolgt in drei logischen Schritten 525
- 16.4.2 Rekombinationen bedeuten eine grundsätzliche Einschränkung der Genauigkeit ermittelter Vererbungslinien 527
- 16.4.3 Die Verwendung flankierender Marker verringert die rekombinationsbedingte Fehlerrate 528
- 16.4.4 Die Bestimmung von Vererbungslinien läßt sich auch auf autosomal gekoppelte Krankheiten anwenden 529
- 16.4.5 Risikoberechnung bei der Bestimmung von Vererbungslinien 531
- 16.5 DNA-Tests für die Identifizierung von Personen und Verwandtschaftsbeziehungen 534**
- 16.5.1 DNA-Profile eignen sich für die Identifizierung von Personen und die Bestimmung von Verwandtschaftsbeziehungen 534
- 16.5.2 DNA-Profile sind geeignet, eine mögliche Vaterschaft zu widerlegen oder zu bestätigen 537
- 16.5.3 DNA-Profile sind ein wichtiges Hilfsmittel bei gerichtsmedizinischen Untersuchungen 537
- 16.6 Reihenuntersuchungen von Bevölkerungsgruppen 539**
- 16.6.1 Reihenuntersuchungen und diagnostische Tests unterscheiden sich häufig 539
- 16.6.2 Sinnvolle Programme für Reihenuntersuchungen müssen bestimmte Kriterien erfüllen 540
- 16.6.3 Die Spezifität und die Empfindlichkeit eines Tests bestimmen seine Leistungsfähigkeit 541
- 16.6.4 Die Organisation eines Programms für genetische Reihenuntersuchungen 543
- Weiterführende Literatur 545
- Zitierte Literatur 545
- 17. Somatische Mutationen und Krebs 547**
- 17.1 Krebs: natürliche Selektion unter den somatischen Zellen eines Organismus 547**
- 17.2 Onkogene 549**
- 17.2.1 Tierische Tumorstoffe lieferten den ersten Hinweis auf Onkogene 549
- 17.2.2 Ein *in vitro*-Transfektionsversuch bestätigte, daß Krebszellen aktivierte Onkogene enthalten 551
- 17.2.3 Onkogene sind mutierte Versionen von Genen, die an einer Reihe normaler Zellfunktionen beteiligt sind 552
- 17.3 Die Aktivierung von Protoonkogenen 553**
- 17.3.1 Einige Onkogene werden durch Amplifikation aktiviert 553
- 17.3.2 Andere Onkogene werden durch Punktmutationen aktiviert 554
- 17.3.3 Chromosomale Translokationen können neuartige chimäre Gene schaffen 555
- 17.3.4 Onkogene können durch Transposition in eine aktive Chromatindomäne aktiviert werden 557

- 17.4 Tumorsuppressorgene** 558
- 17.4.1 Das Retinoblastom ist das Beispiel für Knudsons Two-Hit-Modell 558
- 17.4.2 Seltene familiäre Krebsformen erlauben die Identifizierung vieler TS-Gene 558
- 17.4.3 Tests auf einen Verlust der Heterozygotie hin identifizieren die Position von TS-Genen 559
- 17.4.4 Die Funktion von TS-Genen 562
- 17.5 Mutatorgene** 564
- 17.5.1 Dickdarmkrebs 565
- 17.5.2 Ataxia teleangiectatica 566
- 17.6 Die schrittweise Entstehung von Krebs** 567
- 17.7 Somatische Mutationen bei nichtkrebsartigen Krankheiten** 569
- 17.7.1 Ausgeprägte Mosaik können klinisch auffällig sein 569
- 17.7.2 Weniger ausgeprägte somatische Mosaik könnten eine Ursache für normale Variation sein 570
- 17.7.3 Two-Hit-Mechanismen erklären möglicherweise ungleichmäßige mendelnde Phänotypen 570
- Weiterführende Literatur 571
- Zitierte Literatur 571
- 18. Komplexe Krankheiten** 573
- 18.1 Wie entscheidet man, ob ein nichtmendelndes Merkmal genetisch ist: die Bedeutung von Familien-, Zwillings- und Adoptionsstudien** 573
- 18.1.1 Die Bedeutung einer gemeinsamen familiären Umgebung 574
- 18.1.2 Zwillingsstudien leiden unter vielen Einschränkungen 574
- 18.1.3 Mit Hilfe von Adoptionsstudien lassen sich genetische und umweltbedingte Faktoren am besten auseinanderdividieren 576
- 18.2 Die Polygentheorie quantitativer Merkmale** 577
- 18.2.1 Phänotypen, bei denen Verwandte einige, aber nicht alle Determinanten gemeinsam haben, zeigen eine Regression zum Mittelwert, unabhängig davon, ob die Determinanten nun genetisch oder umweltbedingt sind 578
- 18.2.2 Erblichkeit ist der Anteil an Varianz aufgrund additiver genetischer Effekte 579
- 18.3 Die Polygentheorie diskontinuierlicher Merkmale** 581
- 18.3.1 Die polygene Schwellentheorie kann dichotome nichtmendelnde Merkmale erklären 582
- 18.3.2 Für Krankheiten, deren Auftreten Geschlechtsunterschiede zeigt, postuliert man geschlechtsspezifische Schwellen 584
- 18.4 Alternativen zu Mendelschen und polygenen Modellen** 585
- 18.4.1 Viele Merkmale sind weder polygen noch werden sie gemäß den Mendelschen Regeln vererbt 585
- 18.4.2 Eine Segregationsanalyse schätzt ab, wie die genetischen Faktoren in den gesammelten Familiendaten zusammengesetzt sind 587
- 18.5 Die Verwendung der Lod-Wert-Analyse für die Kartierung von Anfälligkeitsgenen** 590
- 18.5.1 Das *BRCA1*-Gen zeigt, wie sich Anfälligkeitsgene durch eine Segregationsanalyse mit einer anschließenden Kopplungsanalyse und positionellen Klonierung identifizieren lassen 591
- 18.5.2 Die Lod-Wert-Analyse lieferte bei Schizophrenie ein falsch positives Ergebnis 592

- 18.5.3 Eine Lod-Wert-Analyse ist möglicherweise für nichtmendelnde Merkmale ungeeignet 593
- 18.6 Die Analyse betroffener Geschwisterpaare zur Kartierung von Anfälligkeitsgenen: das Beispiel Diabetes 594**
 - 18.6.1 Der Begriff Diabetes beschreibt zwei verschiedene häufige Krankheiten und eine oder mehr andere seltene Erkrankungen 594
 - 18.6.2 Die Nicht-HLA-Anfälligkeitsloci für Diabetes Typ 1 werden zur Zeit in Geschwisterpaarstudien kartiert 595
 - 18.6.3 Anfälligkeitsgene in Regionen zu identifizieren, die sich aus Geschwisterpaarstudien ergeben, ist möglicherweise nicht ganz einfach 596
- 18.7 Assoziationsstudien in der Bevölkerung zur Kartierung von Anfälligkeitsloci 597**
 - 18.7.1 Eine Assoziation von Krankheiten und Markern auf der Bevölkerungsebene kann verschiedene Gründe haben 597
 - 18.7.2 Aufgrund statistischer Probleme kamen Fall-Kontroll-Studien über Assoziationen von Markern und Krankheiten auf Populationsbasis in Verruf 598
 - 18.7.3 Assoziationsstudien mit internen Kontrollen überwinden viele Probleme klassischer Assoziationsstudien von Krankheiten und Markern 598
 - 18.7.4 Wahrscheinlichkeiten, die aus Assoziationsstudien errechnet wurden, müssen im Hinblick auf die Anzahl der Fragen korrigiert werden 600
 - 18.7.5 Ein Kopplungsungleichgewicht wirkt über Entfernungen von weniger als 1 cM 600
- 18.8 Die Identifizierung von Anfälligkeitsgenen 602**
 - 18.8.1 Die Entdeckung von Loci für die Anfälligkeit für eine Krankheit ist ein Schritt zur Identifizierung ihrer genetischen und umweltbedingten Ursachen 603
- Weiterführende Literatur 604
- Zitierte Literatur 604

19. Die Untersuchung von Genstruktur und Genfunktion beim Menschen und die Konstruktion von Tiermodellen für bestimmte Krankheiten 607

- 19.1 Die Herstellung von menschlichen Genklonen 607**
 - 19.1.1 Klone menschlicher Gene lassen sich auf verschiedene Arten isolieren 607
- 19.2 Untersuchungen zur Genstruktur und Transkriptkartierung 612**
 - 19.2.1 Vollständige cDNA-Sequenzen erhält man durch das Zusammensetzen überlappender cDNA-Klone und durch die RACE-PCR-Methode 612
 - 19.2.2 Startstellen der Transkription lassen sich durch S1-Nuclease-Schutz und durch Primerverlängerung kartieren 615
 - 19.2.3 Exon/Intron-Grenzen lassen sich durch eine Reihe verschiedener Methoden kartieren 615
 - 19.2.4 Computergestützte Programme zur Sequenzanalyse und Datenbankrecherchen können Aufschluß über einige Aspekte der Struktur, Funktion und Evolution von Genen geben 617
- 19.3 Die Untersuchung der Genexpression und Genregulation auf Nucleinsäureniveau mit Hilfe von Zellkulturen oder Zellextrakten 620**
 - 19.3.1 Um die Expressionsmuster eines Gens zu untersuchen, verwendet man oft genspezifische Nucleinsäure- oder Oligonucleotidsonden 620

- 19.3.2 RT-PCR und differentieller mRNA-Display sind Methoden auf PCR-Basis zur Untersuchung der Genexpression in Zellen 621
- 19.3.3 Einen ersten Schritt zur Identifizierung regulatorischer Gensequenzen bilden Reportergene und Deletionsanalysen 622
- 19.3.4 Gel-Retentionsanalyse, DNase-Footprinting und Methylierungsinterferenz-Tests können Proteinbindungsstellen auf einem DNA-Molekül identifizieren 623
- 19.4 Die Untersuchung der Genexpression und Genfunktion auf Proteinniveau mit Hilfe von Zellkulturen oder Zellextrakten 628**
- 19.4.1 Menschliche Genprodukte lassen sich mit Hilfe von Antikörpern erkennen, die man durch Immunisierung von Tieren oder mit gentechnologischen Methoden herstellt 628
- 19.4.2 Die *in vitro*-Mutagenese ist eine wirkungsvolle Methode zur Untersuchung der Genfunktion und zur Produktion neuer Proteine 631
- 19.4.3 Die Phagen-Display-Technik ist sehr hilfreich bei der Konstruktion von Proteinen 633
- 19.4.4 Methoden zur Identifizierung und Untersuchung von Protein-Protein-Wechselwirkungen 634
- 19.4.5 Das Zwei-Hybridsystem von Hefe 635
- 19.5 Die Untersuchung der Genexpression und Genfunktion mit Hilfe transgener Verfahren und des *gene Targeting* 636**
- 19.5.1 Transgene Mäuse können nach dem Transfer von klonierter DNA in befruchtete Eizellen, Embryos oder embryonale Stammzellen entstehen 637
- 19.5.2 Die Verwendung von induzierbaren und gewebespezifischen Promotoren und von YAC-Transgenen hat die Möglichkeiten der Untersuchung von Genexpression und Genfunktion in transgenen Tieren enorm erweitert 641
- 19.5.3 *Gene Targeting* durch homologe Rekombination in ES-Zellen kann zur Konstruktion von Mäusen mit einer Mutation in einem vorher festgelegten Gen dienen 643
- 19.5.4 Sequenzspezifische Rekombinationssysteme, besonders das Cre-*loxP*-System, erweitern die Anwendungsmöglichkeiten für das *gene Targeting* 646
- 19.6 Die Konstruktion von Tiermodellen für Krankheiten mit Hilfe transgener Methoden und des *gene Targeting* 648**
- 19.6.1 Tiermodelle für Krankheiten, die spontan oder als Folge chemischer Mutagenen oder von Bestrahlung entstehen, können schwierig zu identifizieren sein 649
- 19.6.2 Nagetiere, besonders Mäuse, sind häufig als Tiermodelle für menschliche Krankheiten verwendet worden 650
- 19.6.3 Transgene Methoden und *gene Targeting* ermöglichen die künstliche Herstellung spezifischer, vorher festgelegter Tiermodelle für menschliche Krankheiten 651
- 19.6.4 Gute Modelle für Einzelgenkrankheiten lassen sich bei Mäusen durch *gene Targeting* (Funktionsverlustmutationen) oder durch den Einbau mutierter Gene (Funktionsgewinnmutationen) herstellen 651
- 19.6.5 Zur Zeit verwendet man viel Mühe auf die Konstruktion von Mausmodellen für Krebsformen und andere komplexe genetische Krankheiten 654

- 19.6.6 Aufgrund einer Reihe von Unterschieden zwischen Mensch und Maus kann sich die Herstellung von Mausmodellen für menschliche Krankheiten schwierig erweisen 656
- Weiterführende Literatur 657
- Zitierte Literatur 657

20. Gentherapie und andere molekulargenetische Therapieansätze 661

20.1 Prinzipien molekulargenetischer Therapieansätze 661

- 20.1.1 Aus klonierten menschlichen Genen lassen sich medizinisch wichtige Produkte herstellen 662
- 20.1.2 Die Gentechnik hat es ermöglicht, humanisierte Antikörper oder vollkommen menschliche Antikörper herzustellen 663
- 20.1.3 Gentechnisch hergestellte Impfstoffe sind für die Therapie sehr vielversprechend 666

20.2 Verschiedene Formen der Gentherapie 667

20.3 Die Methoden der klassischen Gentherapie 667

- 20.3.1 Man kann Gene direkt und indirekt in die Zellen eines Patienten einbringen, und diese können dann in die Chromosomen integriert werden oder extrachromosomal bleiben 669
- 20.3.2 Bei den meisten Gentherapieverfahren verwendet man virale Vektoren für Säugerzellen, da sie Gene hocheffizient übertragen 673
- 20.3.3 Bedenken wegen der Sicherheit gentechnisch veränderter Viren haben ein verstärktes Interesse an nichtviralen Vektorsystemen für die Gentherapie ausgelöst 675

20.4 Therapien, die auf einer gezielten Blockade der Genexpression und der *in vivo*-Korrektur einer Mutation beruhen 678

- 20.4.1 Prinzipien und Anwendungsmöglichkeiten einer Therapie, die auf einer gezielten Blockade der Genexpression *in vivo* beruht 678
- 20.4.2 Tripelhelix-Therapeutika beruhen auf der Bindung genspezifischer Oligonucleotide an die große Furche der Doppelhelix 680
- 20.4.3 Gegensinn-Oligonucleotide oder -Polynucleotide können spezifisch an eine mRNA binden und so ihre Translation blockieren sowie in einigen Fällen zu ihrem Abbau führen 682
- 20.4.4 Künstlich konstruierte intrazelluläre Antikörper (Intrakörper), Oligonucleotide (Aptamere) und mutierte Proteine können die Funktion eines bestimmten Polypeptids blockieren 685
- 20.4.5 Prinzipiell ist es möglich, eine pathogene Mutation künstlich *in vivo* zu korrigieren; dieser Ansatz ist jedoch sehr ineffektiv und die klinische Anwendung nicht einfach 686

20.5 Die Gentherapie von Erbkrankheiten 688

- 20.5.1 Im Prinzip lassen sich für rezessive Erbkrankheiten am leichtesten gentherapeutische Ansätze finden 688
- 20.5.2 Die erste anscheinend erfolgreiche Gentherapie wurde 1990 begonnen mit dem Ziel, einen Adenosindesaminasemangel zu beseitigen 689
- 20.5.3 Seit der wegweisenden Behandlung des ADA-Mangels wurden für einige Erbkrankheiten gentherapeutische Behandlungen in Angriff genommen 692

20.6 Gentherapie für Krebserkrankungen und Infektionskrankheiten 694

- 20.6.1 Allgemeine Prinzipien 694

- 20.6.2 Bei der *ex vivo*-Gentherapie versucht man häufig, Zellen mit Zellen des Immunsystems heranzuziehen, um den Tumor zu zerstören 696
- 20.6.3 Bei einigen Formen von Krebs ist vielleicht eine *in vivo*-Gentherapie der einzige machbare Ansatz 699
- 20.6.4 Bei Infektionskrankheiten zielt die Gentherapie häufig darauf ab, selektiv in den Lebenszyklus des Erregers einzugreifen 699
- 20.7 Ethische Fragen der Gentherapie beim Menschen 702**
- 20.7.1 Aufgrund ethischer Bedenken und methodischer Probleme gab es bisher keine gentherapeutischen Eingriffe in die menschliche Keimbahn 703
- Weiterführende Literatur 705
- Zitierte Literatur 705

Index 729