

# Inhaltsverzeichnis

**Vorwort** XV

**Liste der Abkürzungen** XVII

<b>1</b>	<b>Informationsmakromoleküle</b>	<b>1</b>
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

VI | Inhaltsverzeichnis

<b>2</b>	<b>Eigenschaften von Nukleinsäuren und eukaryotische Chromosomenstruktur</b>	<b>29</b>
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

<b>3</b>	<b>DNA-Replikation</b>	<b>59</b>
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
<b>4</b>	<b>DNA-Schäden, -Reparatur und -Rekombination</b>	<b>77</b>
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
<b>5</b>	<b>Transkription in Bakterien</b>	<b>95</b>
5.1	Grundlagen der Transkription	95
5.1.1	Transkription: eine Übersicht	95
5.1.2	Initiation	95
5.1.3	Elongation	97

VIII | Inhaltsverzeichnis

5.1.4	Termination	97
5.2	<i>Escherichia coli</i> -RNA-Polymerase	99
5.2.1	RNA-Polymerase-Holoenzym von <i>E. coli</i>	99
5.2.2	$\alpha$ -Untereinheit	99
5.2.3	$\beta$ -Untereinheit	99
5.2.4	$\beta'$ -Untereinheit	100
5.2.5	$\sigma$ -Faktor	100
5.3	Der $\sigma^{70}$ -Promotor von <i>E. coli</i>	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
<b>6</b>	<b>Regulation der Transkription in Bakterien</b>	<b>113</b>
6.1	Das <i>lac</i> -Operon	113
6.1.1	Das Operon	113
6.1.2	Das Lactose( <i>lac</i> )-Operon	113
6.1.3	Der Lac-Repressor	114
6.1.4	Induktion	115
6.1.5	Katabolit-Aktivatorprotein	116
6.2	Das <i>trp</i> -Operon	117
6.2.1	Das Tryptophan( <i>trp</i> )-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
<b>7</b>	<b>Transkription in Eukaryoten und Regulation der eukaryotischen Transkription</b>	<b>125</b>
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	<i>Upstream binding factor</i>	129
7.2.5	Selektivitätsfaktor 1	129
7.2.6	TBP und TAF <sub>1s</sub>	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 ( <i>Enhancer</i> )	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

X | *Inhaltsverzeichnis*

<b>8</b>	<b>Der genetische Code und tRNA</b>	<b>155</b>
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
<b>9</b>	<b>Proteinsynthese</b>	<b>169</b>
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

<b>10</b>	<b>Genmanipulation</b>	<b>197</b>
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	Ethanol-fällung	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
<b>11</b>	<b>Klonierungsvektoren</b>	<b>223</b>
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 $\lambda$	229

XII | Inhaltsverzeichnis

11.2.2	λ-Ersatzvektoren	230
11.2.3	Verpackung und Infektion	231
11.2.4	Plaquetbildung	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 Hefepiasmide	240
11.3.5	Ti-Plasmid von <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	241
11.3.6	Virale Transduktion	242
11.3.7	Baculoviren	243
<b>12</b>	<b>Analyse und Verwendung klonierter DNA</b>	<b>247</b>
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	Schrotschussesequenzierung	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
<b>13</b>	<b>Funktionelle Genomik und die neuen Technologien</b>	<b>277</b>
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	Anderer '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

XIV | *Inhaltsverzeichnis*

13.7.1	Systembiologie	318
13.7.2	Netzwerkbiologie	319
13.7.3	Netzwerk motive	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