

Molekulare Genetik

Alfred Nordheim
Rolf Knippers †

unter Mitarbeit von
Peter Dröge
Gunter Meister
Elmar Schiebel
Martin Vingron
Jörn Walter

11., unveränderte Auflage

 Online-Version



 Thieme

Molekulare Genetik

Herausgegeben von Alfred Nordheim und
Rolf Knippers †

Mit Beiträgen von Alfred Nordheim, Rolf Knippers,
Peter Dröge, Gunter Meister, Elmar Schiebel,
Martin Vingron, Jörn Walter

11., unveränderte Auflage

620 Abbildungen

Georg Thieme Verlag
Stuttgart • New York

Impressum

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Ihre Meinung ist uns wichtig! Bitte schreiben Sie uns unter:
www.thieme.de/service/feedback.html

- 1. Auflage 1971
- 2. Auflage 1974
- 3. Auflage 1982
- 4. Auflage 1985
- 5. Auflage 1990
- 6. Auflage 1995
- 7. Auflage 1997
- 8. Auflage 2001
- 9. Auflage 2006
- 10. Auflage 2015
- 1. japanische Auflage 1976
- 1. spanische Auflage 1976
- 1. italienische Auflage 1998

Legende zum Titelbild: Strukturmodell des RNA Polymerase II Elongationskomplexes während der Transkription eines Gens der Hefe *S. cerevisiae*. Die aus 12 Untereinheiten bestehende RNA Polymerase II ist grau dargestellt, der Elongationsfaktor Spt4/5 ist in gelb hervorgehoben. Das wachsende RNA Transkript (rot) wird am katalytischen Zentrum verlängert, unter Nutzung der Information des Matrizenstranges (dunkelblau) im entwundenen Bereich der DNA Doppelhelix. Das katalytische Magnesium Ion (violett) und die Brückenhelix (grün) sind hervorgehoben. Die wachsende RNA verlässt den Komplex durch den sogenannten 'Exit'-Kanal (nach: Cheung, A.C.M and P. Cramer, 2012, A movie of RNA polymerase II transcription, Cell 149, 1431-1437).

© 2018 Georg Thieme Verlag KG
Rüdigerstr. 14
70469 Stuttgart
Deutschland
www.thieme.de

Printed in Germany

Zeichnungen: Ruth Hammelehle, Kirchheim/Teck; BITmap, Mannheim
Umschlaggestaltung: Thieme Gruppe
Umschlagfoto: A. Cheung, S. Sainsbury und P. Cramer (Max-Planck-Institut für Biophysikalische Chemie, Göttingen)
Satz: Druckhaus Götz GmbH, Ludwigsburg
Druck: Aprinta Druck GmbH, Wemding

DOI 10.1055/b-006-149922

ISBN 978-3-13-242637-5

1 2 3 4 5 6

Auch erhältlich als E-Book:
eISBN (PDF) 978-3-13-242638-2
eISBN (epub) 978-3-13-242639-9

Das Werk, einschließlich aller seiner Teile, ist urheberrechtlich geschützt. Jede Verwendung außerhalb der engen Grenzen des Urheberrechtsgesetzes ist ohne Zustimmung des Verlages unzulässig und strafbar. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen oder die Einspeicherung und Verarbeitung in elektronischen Systemen.

Vorwort der Herausgeber

Das Wissenschaftsgebiet **Molekulare Genetik** gewinnt weiterhin ständig an Bedeutung. Mit zunehmender Genauigkeit und immer tiefer gehendem Verständnis der mechanistischen Details erforscht die Molekulare Genetik die Grundlagen allen Lebens auf der Erde.

Neue methodische Entwicklungen, vor allem die parallelisierte Nucleinsäure-Sequenzierung (*next generation sequencing*, NGS), und die verstärkte Einbeziehung neuer Wissenschaftsdisziplinen, speziell die Bioinformatik, haben in den vergangenen 10 Jahren die Molekulare Genetik revolutioniert. Dies wird besonders deutlich an den überraschenden Einblicken in die unerwartete funktionelle Vielfalt von RNA-Molekülen oder die verblüffende Komplexität epigenetischer Regulationsprozesse.

Die vorliegende 10. Auflage des Lehrbuches Molekulare Genetik trägt diesen neueren Entwicklungen Rechnung. Während alle bisherigen Auflagen dieses Lehrbuches seit dem Jahre 1971, d.h. über den Zeitraum von mehr als 40 Jahren, meist von einem Autor verfasst wurden, so wird die neue Version jetzt von einem Sieben-Autoren-Team vertreten. Wir haben uns gemeinsam der Aufgabe gewidmet, die Molekulare Genetik – unter Einbeziehung historischer Entwicklungen – in ihrem aktuellen Kenntnisstand zu präsentieren. Obwohl die aktuelle 10. Auflage weitgehend auf der vorangegangenen 9. Auflage aufbaut, wurden doch sehr wesentliche Veränderungen vorgenommen: Neue Kapitel wurden formuliert und alle früheren Texte und Abbildungen wurden umfassend bearbeitet, aktualisiert und in neue didaktische Zuordnungen gebracht. Trotz der hohen Komplexität der Materie haben wir uns – entsprechend der Tradition dieses Lehrbuches – um eine verständliche Darstellung bemüht. Wir vermitteln die Prinzipien molekulargenetischer Prozesse hauptsächlich an mikrobiellen und tierischen Systemen, inklusive des Menschen als besonderem und vielfach interessantem „Modellorganismus“. Für genetische Systeme der

Pflanzen, aber auch für Spezialbereiche wie Neuro- und Immunogenetik von Mensch und Tier, verweisen wir auf einschlägige Lehrbücher.

Vermutlich hat sich das Spektrum interessierter Leser dieses Lehrbuches gegenüber früheren Auflagen erweitert. Denn molekulargenetisches Wissen ist unerlässlich für das Verständnis aller Lebensprozesse. Bereits in gymnasialen Leistungsfächern wird Molekulare Genetik vermittelt. Im Besonderen gewinnt die Molekulare Genetik auch weiterhin zunehmenden Einfluss in der Medizin. Zu einem großen Teil basiert das Verstehen von Krankheit bei Mensch und Tier, sowie die Entwicklung neuer molekülbezogener Therapien, auf Erkenntnissen der Molekulargenetik. Somit gilt eine fundierte Kenntnis der Molekularen Genetik als Schlüsselqualifikation zum erfolgreichen Studium der Fachrichtungen Biologie und Medizin, besonders auch spezieller Ausrichtungen wie Biochemie, Bioinformatik, Biophysik, Biotechnologie, Evolutionsbiologie, Molekularmedizin, Nano-Technologie und Pharmazie.

Im Namen des Autorenteam wünsch wir allen Lesern ein gewinnbringendes, kreatives und freudvolles Studium der molekularen Genetik. Wir erhoffen uns, dass dieser Text zu eigenständigem Nachdenken und selbständiger forschender Tätigkeit ermuntert.

Als Herausgeber bedanken wir uns für die überaus wertvolle Unterstützung durch den Thieme Verlag, Stuttgart, speziell durch Frau Dr. K. Hauser, Frau Dr. B. Jarosch, Frau M. Mauch und Herrn M. Lehnert.

Wir bitten die Leser um Kommentare zu dieser 10. Auflage, vor allem um Hinweise auf potenzielle Fehler, sowie Anregungen zur Verbesserung von Text und Bild.

Alfred Nordheim, Tübingen, Dezember 2014

Rolf Knippers, Konstanz, Dezember 2014

Anschriften

Herausgeber

Prof. em. Dr. Rolf **Knippers**
Universität Konstanz
Fakultät für Biologie
Universitätsstraße 10
78457 Konstanz
Deutschland

Prof. Dr. Alfred **Nordheim**
Universität Tübingen
Fachbereich Biologie
Auf der Morgenstelle 15
72076 Tübingen
Deutschland

Autoren

Prof. Dr. Peter **Dröge**
Nanyang Technical University
60 Nanyang Drive, SBS-02n-49
Singapore 637 551
Singapore

Prof. em. Dr. Rolf **Knippers**
Universität Konstanz
Fakultät für Biologie
Universitätsstraße 10
78457 Konstanz
Deutschland

Prof. Dr. Gunter **Meister**
Universität Regensburg
Fakultät für Biologie und Vorklinische Medizin
Universitätsstraße 31
93053 Regensburg
Deutschland

Prof. Dr. Alfred **Nordheim**
Universität Tübingen
Fachbereich Biologie
Auf der Morgenstelle 15
72076 Tübingen
Deutschland

Prof. Dr. Elmar **Schiebel**
Universität Heidelberg
DKFZ - ZMBH Alliance
Im Neuenheimer Feld 282
69120 Heidelberg
Deutschland

Prof. Dr. Martin **Vingron**
Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik
Abteilung Bioinformatik
Ihnestr. 63-73
14195 Berlin
Deutschland

Prof. Dr. Jörn **Walter**
Universität des Saarlandes
Fachrichtung Biowissenschaften
Campus Saarbrücken
66123 Saarbrücken
Deutschland

Autorenvorstellung

Prof. Dr. Peter Dröge

Peter Dröge studierte Biologie an der Universität Konstanz und promovierte dort 1986 am Lehrstuhl für Molekulare Genetik (Prof. Rolf Knippers) zum Dr. rer. nat. Es folgte ein dreijähriger Forschungsaufenthalt an der University of California (Berkeley, USA) in der Arbeitsgruppe von Nicholas R. Cozzarelli. Er war anschließend als Postdoc für ein Jahr am Institut für Molekularbiologie der Medizinischen Hochschule Hannover tätig, bevor er an der Universität Konstanz eigenständig forschte und dort 1995 im Fach Molekulare Genetik habilitierte. Als Heisenberg Stipendiat der DFG wechselte er 1996 an das Institut für Genetik in Köln. Er nahm im Jahre 2002 einen Ruf auf eine Professur an der Nanyang Technological University in Singapur an, wo er als Gründungsmitglied an der Gestaltung der Fakultät für Biologie beteiligt war. In seinen Forschungsschwerpunkten realisiert Peter Dröge Studien zur Topologie und Sekundärstruktur von DNA, Untersuchungen zu DNA Transaktionen in humanen embryonalen Stammzellen, sowie Arbeiten zur Stabilität und kontrollierten Veränderung eukaryotischer Genome.

Prof. em. Dr. Rolf Knippers

Rolf Knippers studierte Medizin, aber beschäftigte sich schon bald nach Beendigung des Studiums mit Molekularer Biologie. Er arbeitete in den Jahren 1966 bis 1969 am California Institute of Technology, Pasadena, USA, und von 1970 bis 1973 am Friedrich-Miescher-Laboratorium der Max-Planck-Gesellschaft in Tübingen. Von 1974 bis zu seiner Emeritierung im Jahre 2004 war er Professor für Molekulare Genetik an der Universität Konstanz. Rolf Knippers hat in zahlreichen nationalen und internationalen Wissenschaftsgremien und Beiräten mitgewirkt und wurde 1986 zum Mitglied der European Molecular Biology Organization (EMBO) gewählt. Er war in den Jahren 1998–2002 Präsident der Gesellschaft für Genetik (GfG) und wurde 2009 von der GfG zum Ehrenmitglied ernannt. Er erhielt 2005 die Mendel-Medaille der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina. Rolf Knippers begründete im Jahre 1971 dieses Lehrbuch für Molekulare Genetik in seiner 1. Auflage und verfasste seither alle weiteren Auflagen.

Prof. Dr. Gunter Meister

Gunter Meister studierte Biologie an der Universität Bayreuth und promovierte im Jahre 2002 zum Dr. rer. nat. in der Arbeitsgruppe von Prof. Utz Fischer am Max-Planck-Institut für Biochemie und der Ludwig Maximilians Universität München. Er war anschließend als Postdoc an der Rockefeller University (New York, USA) in der Arbeitsgruppe von Prof. Thomas Tuschl tätig. Von 2005–2010 war er selbständiger Nachwuchsgruppenleiter am Max-Planck-Institut für Biochemie in Martinsried. Er wurde im Jahre 2009 auf den Lehrstuhl für Biochemie der Universität Regensburg berufen an der er seitdem lehrt. 2008 wurde ihm der Forschungspreis der Peter und Traudl Engelhorn Stiftung und 2011 der Young Investigator Award der Schering Stiftung verliehen.

Prof. Dr. Alfred Nordheim

Alfred Nordheim studierte Biologie an der Freien Universität Berlin und dem University College of North Wales (Bangor, UK) und promovierte 1979 in Berlin zum Dr. rer. nat., unter Betreuung von Prof. Kenneth Timmis. Er war für vier Jahre als Postdoc am Massachusetts Institute of Technology (Cambridge, USA) tätig, in der Arbeitsgruppe von Alexander Rich. Als selbständiger Gruppenleiter forschte er dann am ZMBH der Universität Heidelberg (1984–1989) und nahm nachfolgend als Gründungsdirektor des Instituts für Molekularbiologie eine Professur an der Medizinischen Hochschule Hannover an (1989–1996). Seit 1996 leitet Alfred Nordheim den Lehrstuhl für Molekularbiologie am Interfakultären Institut für Zellbiologie der Eberhard Karls Universität Tübingen. Er ist universitärer Sprecher der Tübinger internationalen Graduiertenschule IMPRS „From Molecules to Organisms“. Er war Präsident der Gesellschaft für Genetik (GfG) (2005–2009) und der International Genetics Federation (IGF; Melbourne, Australien) (2008–2013). Alfred Nordheim erhielt 1992 den Max-Planck-Forschungspreis zusammen mit Robert A. Weinberg und ist seit 1991 Mitglied der European Molecular Biology Organization (EMBO).

Prof. Dr. Elmar Schiebel

Elmar Schiebel studierte Biochemie in Tübingen und London und promovierte 1989 in Tübingen am Lehrstuhl für Mikrobiologie (Prof. Volkmar Braun). Anschließend erfolgte ein Postdoc-Aufenthalt an der University of California, Los Angeles im Labor von Prof. B. Wickner. Von 1991 bis 1997 war er selbständiger Nachwuchsgruppenleiter am Max-Planck-Institut für Biochemie in Martinsried. Er wechselte dann als Gruppenleiter und später „Senior“-Gruppenleiter an das Beatson Institute for Cancer Research in Glasgow, UK, und das Paterson Institute for Cancer Research in Manchester, UK. Seit 2005 ist Elmar Schiebel Professor für Molekulare Biologie am Zentrum für Molekulare Biologie der Universität Heidelberg (ZMBH). Er ist Leiter der „Hartmut Hoffmann-Berling International Graduate School of Molecular and Cellular Biology“ (HBIGS) der Universität Heidelberg.

Prof. Dr. Martin Vingron

Martin Vingron studierte Mathematik in Wien und promovierte 1991 an der Universität Heidelberg und dem EMBL, unter der Betreuung von Prof. Willi Jäger und Dr. Patrick Argos. Es schlossen sich zwei Postdoc-Aufenthalte an, zuerst an der University of Southern California in Los Angeles (USA) und dann an der GMD – Forschungszentrum Informatik – in Bonn. Von 1995 bis 2000 war er Leiter der Abteilung Theoretische Bioinformatik am Deutschen Krebsforschungszentrum (DKFZ) in Heidelberg, bevor er einem Ruf als Direktor an das Max-Planck-Institut für molekulare Genetik in Berlin folgte. Dort leitet er seither die Abteilung Bioinformatik. Martin Vingron erhielt 2004 den Max-Planck-Forschungspreis für Bioinformatik gemeinsam mit Gene Myers. Er ist Fellow der International Society for Computational Biology und ist Mitglied der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina, sowie der Academia Europaea.

Prof. Dr. Jörn Walter

Jörn Walter studierte Biologie an der TH Darmstadt und der Freien Universität Berlin und promovierte 1990 zum Dr. rer. nat., unter der Betreuung von Prof. Thomas Trautner (MPI Berlin). Er war zwei Jahre als Postdoctoral Fellow am BBSRC Cambridge (UK) tätig, in der Arbeitsgruppe von Wolf Reik. Er leitete danach eine selbständige Arbeitsgruppe am Max-Planck-Institut für molekulare Genetik, Berlin-Dahlem. Seit 2000 ist er Professor für Genetik an der Universität des Saarlandes. Er initiierte mehrere nationale und internationale Forschungsinitiativen im Bereich der Epigenetik. Seit 2012 koordiniert er das Deutsche Epigenom Programm DEEP und ist Mitglied der Leitungsgruppe in der Internationalen Humanen Epigenom Initiative (IHEC).

Inhaltsverzeichnis

Teil 1 Grundlagen

1	Lebensformen: Zellen mit und ohne Kern	23			
	<i>Rolf Knippers</i>				
1.1	Einleitung	23	1.3	Prokaryoten	26
1.2	Eukaryoten	24	1.3.1	Literatur	27
2	DNA: Träger der genetischen Information	29			
	<i>Rolf Knippers</i>				
2.1	Einleitung	29	2.8	Einige wichtige Methoden zur Untersuchung von DNA	41
2.2	Bausteine: Nucleotide	29	2.8.1	Elektrophorese	41
2.3	DNA-Doppelhelix	30	2.8.2	Zentrifugation	42
2.4	DNA-Helices: Flexibilität	32		Der Sedimentationskoeffizient oder S-Wert. . . .	44
2.5	Denaturierung und Renaturierung	34	2.8.3	Isopyknische oder Gleichgewichtszentrifugation	44
2.6	Natürliche DNA-Moleküle	37	2.8.4	Elektronenmikroskopie	45
2.7	DNA-Ringe: Helix und Superhelix	39		Enzyme als Hilfsmittel: Deoxyribo- nucleasen	46
				Endonucleasen, Exonucleasen	46
				Restriktionsendonucleasen	46
				Literatur	49
3	RNA: Überträger und Regulator der genetischen Information	51			
	<i>Gunter Meister</i>				
3.1	Einleitung	51	3.4	Zelluläre Funktionen von RNAs	54
3.2	Aufbau und räumliche Faltung von RNA-Molekülen	52	3.4.1	Literatur	55
3.3	RNA-Klassen	52			
4	Proteine: Funktionsträger der Zelle	57			
	<i>Rolf Knippers</i>				
4.1	Einleitung	57	4.4	Tertiärstruktur: komplexere Faltung der Aminosäurekette	62
4.2	Primärstruktur: Sequenz der Aminosäuren	57	4.4.1	Proteindomänen	64
4.2.1	Aminosäuren	57	4.5	Quartärstruktur: Aufbau aus Unter-einheiten	66
4.2.2	Peptidbindung	58	4.6	Proteinfaltung	66
4.2.3	Wechselwirkungen zwischen Aminosäureseitenketten	59	4.6.1	Literatur	67
4.3	Sekundärstruktur: α-Helix und β-Faltblatt	60			
4.3.1	α -Helix	61			
4.3.2	β -Faltblatt	61			

5	Transkription, Translation und der genetische Code	69		
	<i>Rolf Knippers</i>			
5.1	Einleitung	69	5.4.1	Ribosomen: eine kurze Beschreibung
5.2	Transkription: die Synthese von RNA ..	69	5.4.2	Proteinsynthese: Genauigkeit des Starts ..
5.2.1	RNA-Polymerase	69	5.4.3	Initiation der Translation
5.2.2	Genanfang: der Promotor	71	5.4.4	Elongation: die programmierte Verknüpfung von Aminosäuren
5.2.3	Ereignisse am Promotor	72	5.4.5	Termination der Translation
5.2.4	Elongation der RNA-Kette	73	5.4.6	Geschwindigkeit und Genauigkeit der Translation
5.2.5	Termination	74	5.4.7	Besonderheiten der Translation bei Bakterien
5.2.6	Stabile und nicht stabile RNA	75		
5.3	Transfer-RNA (tRNA) und die Aktivierung von Aminosäuren	75	5.5	Der genetische Code
5.3.1	Struktur der tRNA	76	5.5.1	Rückblicke
5.3.2	Beladung der tRNA	77	5.5.2	Codewörter
5.4	Translation: Ribosomen und Proteinsynthese	80	5.5.3	„Wobble“ bei der Erkennung von Codon und Anticodon
			5.5.4	Der genetische Code in der Zelle
			5.5.5	Selenocystein und Pyrrolysin
			5.5.6	Verwendung von Codewörtern
				Literatur
6	Escherichia coli und der Bakteriophage Lambda: Gene und Genexpression	99		
	<i>Rolf Knippers</i>			
6.1	Einleitung	99	6.4	Exkurs: Bakteriophagen
6.2	Vermehrung von Bakterien	100	6.4.1	Ausblick
6.2.1	Die DNA als Nucleoid	101	6.5	Der Bakteriophage Lambda und seine Gene
	Nucleoidassoziierte Proteine	101	6.5.1	Das Lambda-Genom
	Organisation bakterieller DNA	102		Proteincodierende Gene
6.2.2	Das Genom	102		Kontrollelemente
6.2.3	Die biologische Genkarte und das F-Plasmid	105		Integration und Exzision
6.2.4	F'-Plasmide	108	6.5.2	Expression der Lambda-Gene
6.2.5	Konjugation und Genkartierung	108		Frühe Transkription
6.3	Grundlagen bakterieller Genregulation	110		Entscheidung zwischen Lyse und Lysogenie
6.3.1	Regulons: Gengruppen unter gemeinsamer Kontrolle	111		Der CII-Aktivator
	Beispiel: Hitzeschock-Gene	111		Der Lambda-Repressor
	Alternative σ -Faktoren	113		Transkription des <i>int</i> -Gens
	Stringente Kontrolle	113	6.5.3	Induktion und lytischer Infektionsweg
6.3.2	Negative und positive Genregulation: das lac -Operon als Bezugssystem	118	6.5.4	Wege der Lambda-Replikation
	Die Genprodukte	118	6.5.5	Das Ende des lytischen Infektionswegs
	Mutanten mit veränderter Genregulation	119		Entstehung der Phagenpartikel
	Das Jacob-Monod-Modell	120		Am Ende des lytischen Infektionswegs
	Der Lac-Repressor	121		Literatur
6.3.3	Positive Regulation: das CRP-Protein	124		

7	DNA im Zellkern: Chromatin und Chromosomen	141		
	<i>Elmar Schiebel</i>			
7.1	Einleitung	141	7.3.3	Modifikation von Histonen
				151
7.2	Der Zellkern	141		Posttranslationale Modifikation von Histonen ..
				151
7.2.1	Die Kernhülle	141	7.3.4	Veränderungen des Chromatins durch Histon-
7.2.2	Der Innenraum des Zellkerns	145		modifikationen
				152
7.3	Das Chromatin	146	7.3.5	Einige wichtige Nicht-Histonproteine
				152
7.3.1	Histone	146		Chromatinfasern
	Haupthistone	146		153
	Histonsubtypen	147	7.4	Chromosomen
7.3.2	Nucleosomen	148		154
			7.4.1	Chromosomen des Menschen
				155
				Chromosomensätze
			7.4.2	157
				Polytäre Chromosomen
				158
				Literatur
				159

Teil 2 Molekulare Dynamik chromosomaler DNA

8	DNA-Replikation: Verdopplung der genetischen Information	163		
	<i>Peter Dröge</i>			
8.1	Einleitung	163	8.3.5	Topologische Probleme während der Re-
				plikation
8.2	Molekulare Grundlagen der	163		181
	Replikation			Topoisomerasen
				181
8.2.1	Erste Hinweise auf semikonservative	164		Typ-I-DNA-Topoisomerasen
	Replikation			183
8.2.2	Allgemeine Polymerisationsreaktion von	165		Typ-II-DNA-Topoisomerasen
	Deoxynucleotiden			184
8.2.3	Prokaryotische DNA-Polymerasen und	166		Topologische Probleme während der Initiation
	wichtige replikative Hilfsproteine			und der Elongation
	DNA-Polymerase I	166		185
	DNA-Polymerase II	168	8.3.6	Topologische Probleme während der
	DNA-Polymerase III	169		Termination
	Primase	171		187
	DNA-Ligasen	172		8.3.6
8.2.4	DNA-Helikasen	173		Andere Probleme während der DNA-
8.2.5	Eukaryotische DNA-Polymerasen	174		Replikation
8.2.6	Drei Phasen der DNA-Replikation	175		187
8.3	Replikation des bakteriellen Genoms ..	175	8.4	Replikation des eukaryotischen
				Genoms
8.3.1	Die Initiation bakterieller DNA-	175		188
	Replikation		8.4.1	Replikationsstartpunkte
8.3.2	Elongationsphase bakterieller DNA-	177		188
	Replikation			Aktivität von Replikationsstartpunkten
8.3.3	Beendigung (Termination) der bakteriel-	179		190
	len DNA-Replikation			Replikation und Strukturen des Zellkerns.
8.3.4	Regulation der Initiation bakterieller	180		190
	Replikation			Nucleotidsequenzen von Replikationsstartpunk-
				ten
				190
			8.4.2	Initiation eukaryotischer Replikation
				190
			8.4.3	Elongationsphase eukaryotischer Replika-
				tion
				192
			8.4.4	Termination eukaryotischer Replikation ..
				193
				Telomere
				193
				Telomerasen
				194
			8.4.5	Replikation im Chromatin
				196
			8.4.6	Schwer zu replizierende Genomabschnitte
				197
				Literatur
				197

9	Segregation der Chromosomen: Zellzyklus, Mitose und Meiose	199		
	<i>Elmar Schiebel</i>			
9.1	Einleitung	199		Der Eintritt in die Mitose
9.2	Zellzyklus	199		Kontrollpunkte des Zellzyklus
9.2.1	Zellzyklusphasen	199		Zusammenbau der mitotischen Spindel
	Die G ₁ -Phase	201		Der Übergang von Metaphase zur Anaphase
	Die S-Phase	201		Der Spindelkontrollpunkt (<i>spindle assembly checkpoint</i> , SAC)
	Die G ₂ -Phase	201	9.2.3	Cytokinese
	Die Mitose	202		Defekte bei Chromosomentrennung und Cytokinese
9.2.2	Molekulares Verständnis des Zellzyklus ..	204	9.3	Meiose
	Zellzyklusgene	204		Zellzyklusregulation der Meiose
	G ₁ /S-Übergang	206	9.3.1	Meiose I
	Lizenzierung der DNA-Replikation in der Telo- phase/G ₁ -Phase	207	9.3.2	Meiose II
	Regulation der DNA-Replikation	207	9.3.3	Literatur
	Der Cohesinkomplex	207		
	Der Condensinkomplex	208		
10	Rekombination der DNA	220		
	<i>Peter Dröge</i>			
10.1	Einleitung	220	10.4	Illegitime Rekombination
10.2	Homologe Rekombination	220	10.4.1	Bewegliche genetische Elemente bei Bak- terien
10.2.1	Grundlagen der homologen Rekombinati- on	221		Insertionssequenzen (IS-Elemente)
10.2.2	Homologe Rekombination in prokaryoti- schen Zellen	222		Transposons
	Das RecA-Protein und der DNA-Strangaustausch	222		Transponierbare Bakteriophagen
	Das RecBCD-Enzym	225		Ablauf der Transposition
	Bewegliche Holliday-Strukturen und Genkonver- sion	226	10.4.2	Konsequenzen der Transposition: Veränderun- gen im Genom
10.2.3	Homologe Rekombination in eukaryoti- schen Zellen	227		Bewegliche genetische Elemente bei Euka- ryoten
	Meiotische Rekombination	228		<i>Ac/Ds</i> -Transpositionen in Pflanzen
	Genkonversionen in Eukaryoten	229		<i>Tc1/mariner</i> -Transpositionen
10.3	Ortsspezifische Rekombination	230		P-Element Transpositionen im <i>Drosophila</i> -Ge- nom
10.3.1	Grundlagen der ortsspezifischen Rekombi- nation	230	10.4.3	Ortsspezifische Transpositionen in Immunzellen
10.3.2	Ortsspezifische Rekombination in pro- karyotischen Zellen	230		Retrotranspositionen
				Retroviren: ein Überblick
				Retroviren: Struktur und Vermehrung
				Retroviren: Integration
				Retrotransposons
				Literatur
11	Mutationen, DNA-Schädigungen und DNA-Reparatur	250		
	<i>Peter Dröge</i>			
11.1	Einleitung	250	11.2.1	Arten von Mutationen
11.2	Allgemeine Grundlagen	250		Chromosomen-Mutationen
				Punktmutationen

Insertionen und Deletionen	253	11.4.2	Alkylierte DNA-Basen und Reparatur	267
Reversionen und Suppressionen	254		Alkylierung von Basen	267
11.2.2 Mutationen in eukaryotischen Zellen	254		Reparatur der Basenalkylierung	267
Mutationen in Körper- und Keimzellen	254	11.4.3	Oxidative Basenschäden und Reparatur	269
Rezessive und dominante Mutationen	255	11.4.4	Unförmige Anheftungen an DNA	271
Komplementationstests	255	11.4.5	DNA-Schäden durch ultraviolettes Licht und ihre Reparatur	271
11.2.3 Häufigkeiten von Mutationen	256		Photoreaktivierung	272
11.2.4 Spontan auftretende Mutationen	257		Nucleotid-Exzisionsreparatur bei Bakterien	272
11.2.5 Hot Spots spontaner Mutationen	257		Reparatur durch Rekombination bei Bakterien	274
			Nucleotid-Exzisionsreparatur bei Eukaryoten	274
11.3 Entstehung und Vermeidung von Mutationen bei der DNA-Synthese	260		Überschreitungen ohne Fehler und mit Fehlern	276
11.3.1 Falscheinbauten von Deoxyribonucleoti- den	260	11.5 Induktion und Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen	277	
11.3.2 Korrekturlesen	260	11.5.1	DNA-Schäden durch Strahlen	277
11.3.3 Falscheinbau von Ribonucleotiden in die DNA	260	11.5.2	DNA-Schäden durch gebremste Replika- tionsgabeln	278
11.3.4 Mismatch-Reparatur	261	11.5.3	Reparatur von Doppelstrangbrüchen	278
11.3.5 Entstehung von Indels	263	11.6 Zusammenfassung	280	
11.4 Mutationen durch Schäden von DNA-Basen	264	11.6.1	Literatur	282
11.4.1 AP-Stellen und Reparatur	264			
Translasionssynthese	265			
Basenexzisionsreparatur	265			

Teil 3 Gene und Genprodukte

12 Struktur eukaryotischer Gene	285			
<i>Alfred Nordheim</i>				
12.1 Einleitung	285	12.5 Pol-III-transkribierte Gene	294	
12.2 Definition des Genbegriffs	286	12.5.1	Struktur von Pol-III-Genen	294
12.3 Pol-I-transkribierte Gene	288	12.5.2	Promotoren für die RNA-Polymerase III	294
12.3.1 Struktur der Pol-I-transkribierten Gene: rRNA-Gene	288	12.6 Exons und Introns	295	
12.3.2 Promotoren für die RNA-Polymerase I	289	12.6.1	Exon-Intron-Struktur proteincodierender Gene am Beispiel von Globin-Genen	295
12.4 Pol-II-transkribierte Gene	290	12.6.2	Eigenschaften von Exons und Introns	298
12.4.1 Struktur der proteincodierenden Pol-II- transkribierten Gene	290	12.6.3	Vorkommen von Introns in eukaryoti- schen Genen	298
12.4.2 Promotoren für die RNA-Polymerase II	291	12.6.4	Bedeutung von Introns	298
12.4.3 Regulatorische Elemente der Pol-II-Gene: Enhancer, Silencer	292	12.7 CpG-Inseln	299	
Proximale regulatorische Elemente	293	12.8 Pseudogene	300	
Distale regulatorische Elemente	293	12.9 Repetitive DNA-Elemente	302	
12.4.4 Nicht-proteincodierende Pol-II-transkri- bierte Gene	294	12.9.1	Literatur	303

13	Eukaryotische Transkription: Funktion und Regulation der RNA-Polymerasen ..	305	
	<i>Alfred Nordheim</i>		
13.1	Einleitung	305	
13.2	Allgemeine Prinzipien der eukaryotischen Transkription	305	
13.2.1	RNA-Polymerasen	305	
	Funktion der RNA-Polymerasen	305	
	Struktur der RNA-Polymerasen	306	
13.2.2	Drei Phasen der Transkription	309	
13.2.3	Generelle und regulatorische Transkriptionsfaktoren	310	
13.3	Das Transkriptionssystem der RNA-Polymerase I	312	
13.3.1	Generelle Transkriptionsfaktoren der Pol I	312	
13.3.2	Regulation der Pol-I-vermittelten Transkription	313	
13.4	Das Transkriptionssystem der RNA-Polymerase II	315	
13.4.1	Generelle Transkriptionsfaktoren der Pol II	315	
	TFIID	315	
	TFIIA und TFIIB	318	
	TFIIE und TFIIF	318	
	TFIIH	318	
	TFIIS	320	
13.4.2	Interaktion von Transkriptionsfaktoren während der unterschiedlichen Phasen der Transkription	320	
	Zusammenbau des Präinitiationskomplexes (PIC)	320	
	Initiation der Transkription	320	
	Elongationsphase der Transkription	321	
	Terminierung der Transkription	323	
13.4.3	Regulation der Pol-II-vermittelten Transkription	323	
13.5	Das Transkriptionssystem der RNA-Polymerase III	324	
13.5.1	Zusammenbau des Präinitiationskomplexes	325	
13.5.2	Regulation der Pol-III-vermittelten Transkription	326	
13.6	Regulation eukaryotischer Transkription durch die Struktur des Chromatins	326	
13.7	Struktur motive von DNA-bindenden Proteinen	328	
13.7.1	Homöodomäne	328	
13.7.2	Basische Helix-Loop-Helix-Domäne (bHLH-Domäne)	329	
13.7.3	Basische Leucin-Zipper-Domäne (bZip-Domäne)	330	
13.7.4	Zinkfingermotiv	331	
13.7.5	Schleifenmotiv	332	
13.8	Das Transkriptom der eukaryotischen Zelle	332	
13.8.1	Literatur	334	
14	Signalgesteuerte Genregulation	336	
	<i>Alfred Nordheim</i>		
14.1	Einleitung	336	
14.2	Prinzipien der intrazellulären Signalübertragung	336	
14.3	MAPK-Signalkaskade: Genaktivierung innerhalb von Sekunden	337	
14.4	cAMP-Signalgebung: CREB als Effektor des sekundären Botenstoffs cAMP	339	
14.5	Aktindynamik: Kommunikation zwischen Cytoskelett und Genom durch MRTF/SRF	342	
14.6	Cytokinsignalgebung	343	
14.6.1	JAK/STAT-Signalkaskade	343	
14.6.2	Aktivierung von NF- κ B	344	
14.7	TGFβ-Signalgebung: SMADs als regulatorische Transkriptionsfaktoren	346	
14.8	Wnt-Signalkaskade: β-Catenin als Transkriptionsfaktor	347	
14.9	Sauerstoff: HIF als Sensor und Transkriptionsfaktor	349	
14.10	Steroide: nucleäre Hormonrezeptoren regulieren die Genexpression	350	
14.11	Signalgebung durch Abbau von Proteinen im Proteasom	355	
14.11.1	Literatur	356	

15	RNA-Prozessierung	358		
	<i>Alfred Nordheim</i>			
15.1	Einleitung	358	15.3.3	Polyadenylierung am 3'-Ende
15.2	Prozessierung von prä-rRNA	358	15.3.4	mRNA-Editing
15.3	Prozessierung von prä-mRNA	359	15.3.5	Koordination von Transkription und mRNA-Prozessierung
15.3.1	Capping am 5'-Ende	359	15.3.6	mRNA-Stabilität und Abbau.....
15.3.2	Spleißen	360		mRNA-Abbau durch destabilisierende Sequenzen
	Grundlagen zum Spleißmechanismus	361		Qualitätskontrolle und Eliminierung geschädigter mRNA
	Komponenten des Spleißapparats: das Spleißosom, ein komplexer snRNP	363	15.3.7	mRNA-Export aus dem Zellkern
	Aufbau des Spleißosoms und Ablauf des Spleißens	364	15.4	Prozessierung von prä-tRNA
	Selbstspleißen	367	15.4.1	Literatur
	Alternatives Spleißen	371		
	<i>trans</i> -Spleißen	374		
	Regulation des Spleißens	375		
16	Translation: Proteinsynthese in Eukaryoten	390		
	<i>Gunter Meister</i>			
16.1	Einleitung	390	16.3.1	Initiation der Translation in Eukaryoten ..
16.2	Das eukaryotische Ribosom	390	16.3.2	Elongation, Termination und Ribosomenrecycling
16.2.1	Aufbau des eukaryotischen Ribosoms ...	390	16.3.3	Peptidsynthese
16.2.2	Biogenese des eukaryotischen Ribosoms..	391		Literatur
16.2.3	snoRNAs (<i>small nucleolar RNAs</i>)	391		
16.3	Ablauf der eukaryotischen Translation ..	392		
17	Regulation der eukaryotischen Translation	398		
	<i>Gunter Meister</i>			
17.1	Einleitung	398	17.4	Translation von sezernierten oder membranständigen Proteinen
17.2	Regulation der eukaryotischen Translationsinitiation	398	17.4.1	Komponenten der Proteintranslokationsmaschinerie
17.2.1	Regulation auf der Ebene der mRNA-Sequenz	398	17.4.2	Proteintranslokation
17.2.2	Regulation von eIF4E	399	17.5	Nonsense-vermittelter mRNA-Abbau (NMD)
17.2.3	Regulation von eIF2	400	17.5.1	NMD-Komponenten
17.3	IRES – Initiation ohne Cap-Struktur	401	17.5.2	Identifizierung eines PTCs und der Mechanismus des NMDs
			17.5.3	NMD in der Hefe
				Literatur

18	Regulatorische RNAs	409	
	<i>Gunter Meister</i>		
18.1	Einleitung	409	18.5
18.2	RNA-Interferenz (RNAi)	409	Das CRISPR-System: eine Verteidigungslinie von Bakterien gegen Phagen
18.2.1	siRNAs (<i>short interfering RNAs</i>)	410	18.5.1
18.2.2	Mechanismen der RNA-Interferenz	410	Genomische Organisation eines CRISPR-Locus
18.3	Genregulation durch mikroRNAs	411	18.5.2
18.3.1	MikroRNA-Gene	411	CRISPR-Aktivität und Phagenabwehr
18.3.2	Biogenese von mikroRNAs	412	18.6
	Regulation der miRNA-Biogenese	413	Lange, nicht-codierende RNAs (lncRNAs)
18.3.3	Funktion von miRNAs	413	18.6.1
18.3.4	Virale miRNAs	416	lncRNA-Gene
18.4	piRNAs	416	18.6.2
			Dosiskompensation und lncRNAs
			18.6.3
			Genomische Prägung (<i>Imprinting</i>) und lncRNAs
			18.6.4
			HOTAIR und lncRNAs
			Literatur
19	Gene in Mitochondrien und Chloroplasten	422	
	<i>Rolf Knippers</i>		
19.1	Einleitung	422	Einfügen von Nucleotiden: RNA-Editing in Mitochondrien von Trypanosomen
19.2	DNA in Mitochondrien	422	19.2.10
19.2.1	Mütterliche Vererbung	424	Evolution von Eukaryoten und Endosymbiosen
19.2.2	mtDNA des Menschen	424	19.3
19.2.3	Expression mitochondrialer Gene	426	DNA in Chloroplasten
19.2.4	Der genetische Code in Mitochondrien	427	19.3.1
19.2.5	Replikation mitochondrialer DNA	427	Allgemeine Merkmale der Chloroplasten-DNA
19.2.6	Mitochondriale Krankheiten	428	19.3.2
19.2.7	Sequenzunterschiede mitochondrialer Genome	429	Anordnung und Funktion der Gene auf der ctDNA
19.2.8	Formen mitochondrialer DNA	429	19.3.3
19.2.9	RNA-Editing in Mitochondrien	431	Expression von Genen auf der ctDNA
	C→U-Austausch in mitochondrialer RNA	431	Literatur
Teil 4	Epigenetik		
20	Epigenetische Mechanismen	443	
	<i>Jörn Walter</i>		
20.1	Einleitung	443	20.3.2
20.2	Molekulare Grundlagen: Modifikation chromosomaler DNA und Proteine	443	Histonmodifikationen und Genomstruktur
20.3	Histonmodifikationen und epigenetische Prozesse	444	20.3.3
20.3.1	Histonmodifikationen als epigenetisches Gedächtnis	446	Modelle der Vererbbarkeit von Histonmodifikationen
			20.3.4
			Epigenetische Steuerung der Entwicklung durch PRC-Komplexe
			20.3.5
			Etablierung von ortsspezifischem Heterochromatin durch histonmodifizierende Enzyme

20.4	Regulatorische RNAs und epigenetische Prozesse	450	20.5.5	Einfluss der DNA-Methylierung auf die genetische Information	456
20.5	DNA-Methylierung	451	20.5.6	Methylierung der „richtigen“ DNA-Sequenzen	457
20.5.1	Vorkommen und allgemeine Prinzipien ..	451	20.5.7	RNA-abhängige DNA-Methylierung	458
20.5.2	Oxidierete Modifikationsformen von 5-Methylcytosin	453	20.6	Epigenomforschung: ein Ausblick	458
20.5.3	Auswirkung der DNA-Methylierung im Genom	453	20.6.1	Literatur	458
20.5.4	Welche Enzyme kontrollieren die DNA-Methylierung?	455			
21	Epigenetische Kontrolle biologischer Prozesse	460			
	<i>Jörn Walter</i>				
21.1	Einleitung	460	21.3	Epigenetische Kontrolle der X-chromosomalen Gendosis	464
21.2	Genomweite epigenetische Reprogrammierung und Entwicklungsprozesse in Säugetieren	460	21.4	Genomische Prägung	467
21.2.1	Epigenetische Reprogrammierung im frühen Embryo	460	21.4.1	Genomische Prägung in der medizinischen Genetik	470
21.2.2	Reprogrammierung in der Keimbahn	463		Literatur	471
Teil 5	Genomik				
22	Von der Genkarte zur Genomsequenz	475			
	<i>Martin Vingron/Rolf Knippers</i>				
22.1	Einleitung	475	22.3	Sequenzierung von Genomen	484
22.2	Organisation von Genomen	475	22.3.1	Schrotschuss-Sequenzierung	484
22.2.1	Biologische Genkarten	475	22.3.2	Hochdurchsatz-Sequenzierung	486
22.2.2	Biologische Genkarte des Menschen	477	22.4	Annotierung sequenzierter Genome	487
22.2.3	Von der biologischen zur physikalischen Genkarte	480	22.4.1	Beispiele für Genomannotierungen	487
			22.4.2	Evolution von Genomen	490
			22.4.3	Ausblick	491
				Literatur	492
23	Funktionelle Genomik	494			
	<i>Martin Vingron</i>				
23.1	Einleitung	494	23.2.2	Proteomik	499
23.2	Expressionsanalytik	494		Massenspektrometrie	499
23.2.1	Transkriptomik	494	23.3	Funktionelle Analytik	499
	Chip-Technologie	495	23.3.1	Yeast two hybrid -System	499
	Tiling-Arrays	497	23.3.2	Bestimmung der Bindungsstellen von Proteinen im Chromatin	501
	Analyse der Genexpression durch RNA-Sequenzierung	498	23.3.3	Systematischer Knock-down von Genen ..	502
	RNA-Analytik über quantitative RT-PCR	498		Literatur	504
	Computergestützte Analyse von Genexpressionsdaten	498			

24	Variabilität des Genoms	506		
	<i>Rolf Knippers</i>			
24.1	Einleitung	506	24.4	Mikrosatelliten-Polymorphismen
24.2	Einzelnucleotid-Polymorphismen (SNPs)	506	24.4.1	Mikrosatelliten-DNA zur Identifizierung von Personen
24.2.1	SNPs als DNA-Marker	508	24.4.2	Mikrosatelliten in Genen: Trinucleotidfolgen
24.2.2	Haplotypen	510	24.5	Retrotransposon-Insertionspolymorphismen (RIPs)
24.2.3	DNA-Chips	510	24.5.1	Literatur
24.2.4	Genotypisierung	511		
24.3	Kopienzahl-Varianten (CNVs)	513		
Teil 6	Schlüsseltechnologien			
25	Bioinformatik	523		
	<i>Martin Vingron</i>			
25.1	Einleitung	523	25.6	Sequenzierung und Genom-Assemblierung
25.2	Sequenzvergleich	523	25.7	Genvorhersage
25.2.1	Dotplot und Alignment	523	25.8	Proteinstrukturvorhersage und Homologiemodellierung
25.2.2	Datenbank-Recherche	525	25.9	Molekulare Evolution und phylogenetische Stammbäume
25.3	Hochdurchsatz-Sequenzierung und die Kartierung der Teilsequenzen	525	25.9.1	Literatur
25.4	Information in Genfamilien	526		
25.5	Regulatorische DNA-Elemente	526		
26	DNA-Analysen	531		
	<i>Rolf Knippers</i>			
26.1	Einleitung	531	26.4	DNA-Sequenzierung
26.2	Polymerasekettenreaktion (PCR)	531	26.4.1	DNA-Sequenzierung nach der Kettenabbruch- oder Dideoxymethode
26.3	Gentechnik oder das Klonieren von DNA-Fragmenten	531	26.4.2	Sequenziermethoden der nächsten Generation
26.3.1	Traditionelles Klonieren und Herstellung von Genombibliotheken	532	26.5	Expressionsanalytik durch RNA-Seq ...
26.3.2	cDNA-Klonieren	535	26.5.1	Literatur
26.3.3	PCR-Klonieren	536		

27	Funktionelle Genomanalysen	543		
27.1	Einleitung	543	27.4	Induzierte pluripotente Stammzellen (iPS-Zellen)
				<i>Jörn Walter</i>
27.2	RNA-Interferenz: siRNA/shRNA-Screens	543		
	<i>Gunter Meister</i>		27.5	Proteomanalyse
				<i>Alfred Nordheim</i>
27.3	Knock-out-Technologie: homologe Rekombination im Genom der Maus ..	545	27.5.1	Literatur
	<i>Alfred Nordheim</i>			550
	Glossar einiger Begriffe aus der klassischen Genetik	552		
	Sachverzeichnis	554		





© AM Design – Fotolia.com

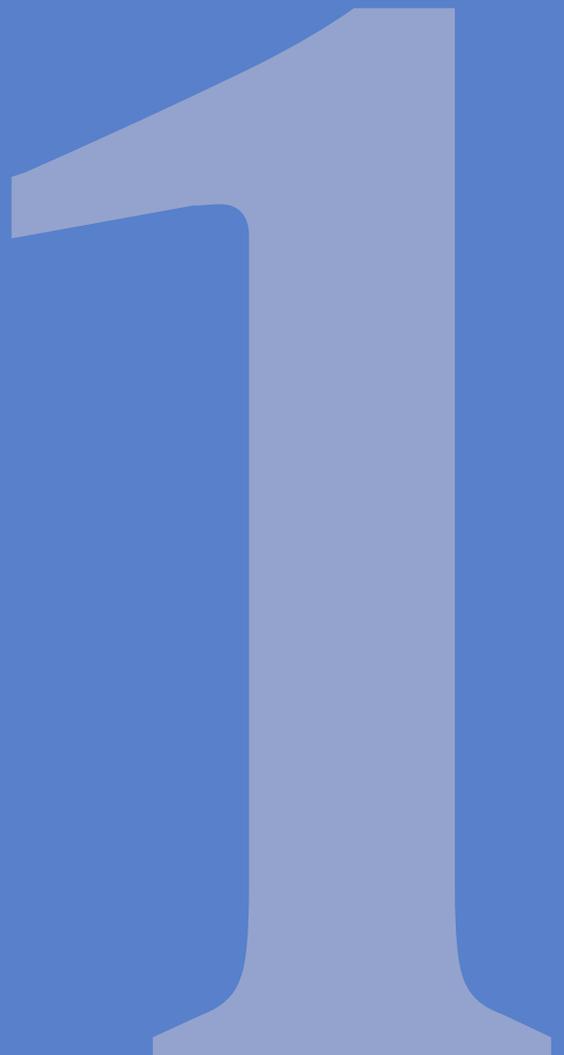
Teil 1 Grundlagen

1	Lebensformen: Zellen mit und ohne Kern	23
2	DNA: Träger der genetischen Information	29
3	RNA: Überträger und Regulator der genetischen Information	51
4	Proteine: Funktionsträger der Zelle	57
5	Transkription, Translation und der genetische Code	69
6	<i>Escherichia coli</i> und der Bakteriophage Lambda: Gene und Genexpression	99
7	DNA im Zellkern: Chromatin und Chromosomen	141

Kapitel 1

Lebensformen: Zellen mit und ohne Kern

1.1	Einleitung	23
1.2	Eukaryoten	24
1.3	Prokaryoten	26



1 Lebensformen: Zellen mit und ohne Kern

Rolf Knippers

1.1 Einleitung

Seit einigen Jahrzehnten wird die Genetik geprägt durch Informationen über die molekulare Struktur des Erbguts (des Genoms) von immer mehr und immer komplexeren Organismen. Genauer gesagt, geht es um die Reihenfolgen („Sequenzen“) der Bausteine („Basen oder Nucleotide“) in den fadenförmigen DNA-Molekülen, die die Träger der Gene sind. Die DNA ist der universelle Träger der genetischen Information aller Organismen auf der Erde. Jeder Organismus besitzt ein Genom. Als **Genom** bezeichnet man die Gesamtheit der genetischen Information eines Organismus.

Wir werden später lernen, wie die Informationen in den Sequenzen der Nucleinsäurebasen aussehen, wie sie gedeutet werden und welche Methoden man dabei einsetzt.

An dieser Stelle ist das folgende Ergebnis wichtig: Ein Vergleich von DNA-Sequenzen zeigt, dass sich die Lebewesen auf der Erde in **drei große Reiche oder Domänen** ordnen lassen:

- Bakterien (Bacteria)
- Archaeen (Archaea)
- Eukaryoten (Eukarya)

Zu den Eukaryoten gehören alle Pflanzen und Tiere, dazu Hefen, Protozoen und andere einzellige Protisten.

Mithilfe computergestützter Analysen können die Vergleiche von Genomsequenzen unterschiedlicher Organismen in der Form eines Baumes dargestellt werden (► Abb. 1.1). Das Bild deutet die **Verwandtschaftsverhältnisse** an: Je ähnlicher die DNA-Sequenzen sind, desto enger müssen die untersuchten Organismen verwandt sein, und umgekehrt.

Die Darstellung der ► Abb. 1.1 ist eine Vereinfachung, die wir uns hier gestatten, um eine erste Ordnung in die Welt des Lebendigen zu bringen. In der Wirklichkeit der Evolution hat es einen Austausch von Genen zwischen den verschiedenen Zweigen des Stammbaums gegeben, vor allem zwischen den verschiedenen Zweigen des Bakterienastes, zudem zwischen Bakterienästen und Archaeenästen.

Die Erkenntnis, dass die lebende Welt aus drei Reichen oder Domänen besteht, hat sich erst seit den späten 1970er-Jahren in der Wissenschaft durchgesetzt. Vorher verließ man sich weitgehend auf eine einfache Betrachtung mit dem Mikroskop. Dies zeigt, dass Eukaryotenzellen größer sind als Bakterien und Archaeen (► Abb. 1.2) und vor allem dass sie ein vielgestaltetes Inneres haben mit einem auffälligen, meist kugelförmigen Gebilde, dem (Zell-)Kern.

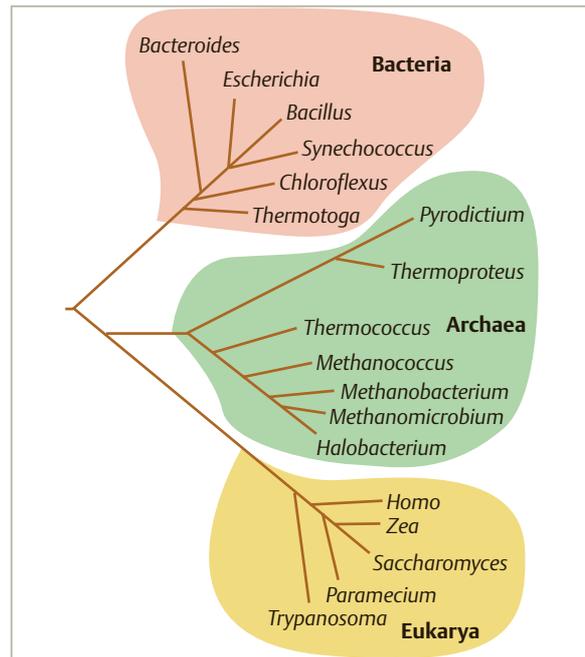


Abb. 1.1 Lebensformen. Die ursprünglichen Daten, die dieser Konstruktion der Verwandtschaftsverhältnisse zugrunde liegen, stammen aus den Vergleichen eines bestimmten und allgemein verbreiteten DNA-Abschnitts, nämlich eines Gens für ribosomale RNA [1]. Ribosomale RNA ist ein Bestandteil von Ribosomen (S. 80), den kompliziert zusammengesetzten molekularen Maschinen, die den Bau von Proteinen durchführen. Die Berücksichtigung nur eines einzigen Gens ist eine starke Einschränkung, doch Vergleiche der Sequenzen vieler Gene bei vielen Organismen, oder gar Vergleiche kompletter Genomsequenzen verschiedener Organismen, kommen zu ähnlichen Ergebnissen [2]. (nach Olsen GJ, Woese CR (1997) Archaeal genomics: an overview. Cell 89: 991–994)

Daher stammt ihre Bezeichnung. **Eukaryot** heißt: mit einem echten oder richtigen Kern ausgestattet (von *eu*, griech. echt; und *karyos*, griech. Kern). Bakterien und Archaeen besitzen keinen Kern. Deswegen fasst man sie unter der Bezeichnung **Prokaryoten** zusammen.

Betrachtungen mit dem Elektronenmikroskop oder Analysen mit den Methoden der Zell- und Molekularbiologie ergeben eine Vielzahl von Unterschieden zwischen Eukaryoten und Prokaryoten – und bei den Prokaryoten dann wieder zwischen Bakterien und Archaeen. Für die Zwecke dieses Buches ist von Interesse, dass sich die drei großen Reiche des irdischen Lebens in grundlegenden genetischen Strukturen und Funktionen unterscheiden.

Definition

Als **Genom** bezeichnet man die Gesamtheit der genetischen Information eines Organismus.

1.2 Eukaryoten

Wir betrachten die einfache Skizze (► Abb. 1.2) und daneben die elektronenmikroskopische Aufnahme einer Säugtierzelle (► Abb. 1.3). Wie gesagt, ist das auffälligste Gebilde im Innern der Zelle der **Kern**. In der englischen Wissenschaftssprache wird das lateinische Wort für Kern, *Nucleus*, verwendet. Daraus leitet sich das Adjektiv ab, das auch in diesem Buch oft benutzt wird: nucleäre DNA, nucleäre RNA, oder nucleäre Proteine.

Die Funktion des Zellkerns ist die **Aufbewahrung der DNA**. Mit diesem Satz bringen wir etwas zum Ausdruck, was alles andere als trivial ist, wie einem leicht klar wird, wenn man sich die Dimensionen vor Augen führt.

Kerne in den meisten menschlichen Zellen haben einen Durchmesser zwischen 5 und 20 Mikrometer (10^{-6} m; μm) (► Tab. 1.1). Sie umschließen DNA-Fäden mit einem Durchmesser von etwa 2 Nanometern (10^{-9} m; nm) und einer Gesamtlänge von 2 Metern. Um sich die Verhältnisse vorstellen zu können, multiplizieren wir die wirklichen Dimensionen mit dem Faktor von einer Million. Die DNA würde dann einer kräftigen Angelschnur mit einer Länge von 2000 km entsprechen. Die Schnur reichte also von

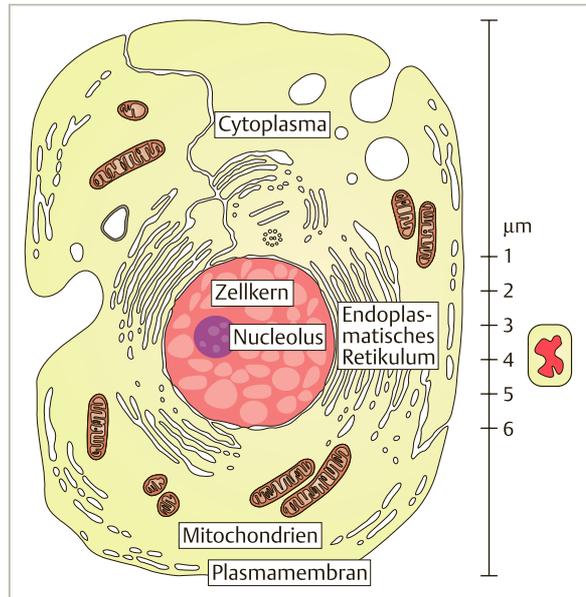


Abb. 1.2 Größenvergleiche. Das Schema einer tierischen Zelle mit dem Kern als dem prominenten Bestandteil und mit zahlreichen anderen Strukturen. Daneben ein Bakterium, etwa von der Art *Escherichia coli*, die in der molekularen Genetik eine wichtige Rolle spielt.

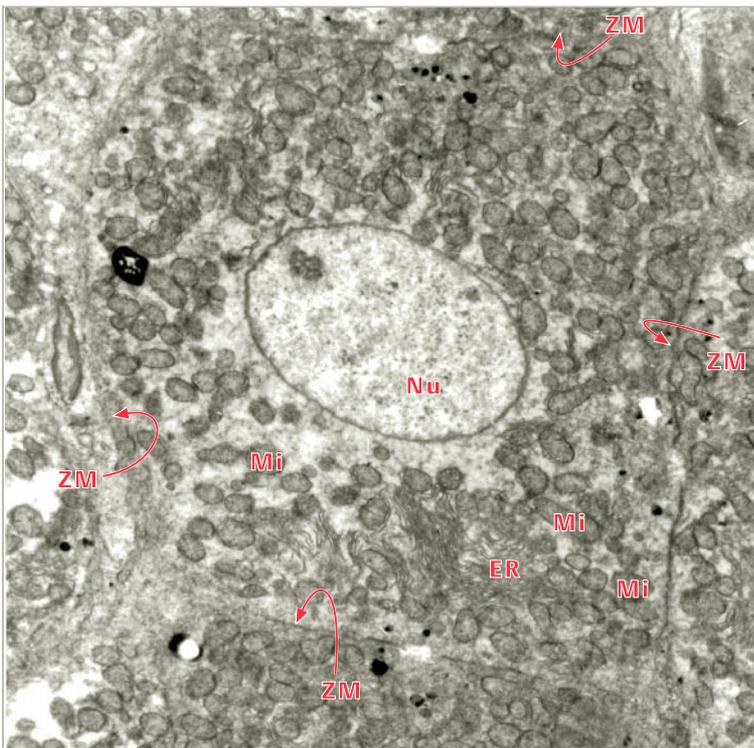


Abb. 1.3 Querschnitt durch eine tierische Zelle. Leberzelle der Ratte. Vergrößerung ca. 5 000 \times . Beachte die dichte Packung der mehr als 1000 Mitochondrien einer Leberzelle. Eine weitere Besonderheit von Leberzellen sind die schwarzen Partikel, von Fachleuten als *peribiliary dense bodies* bezeichnet. Sie befinden sich in der Nähe von Gallenkapillaren und stellen Lysosomen dar, gefüllt mit Abbauprodukten von Lipiden. Nu = Zellkern (Nucleus), ER = endoplasmatisches Retikulum, Mi = Mitochondrien; ZM = Zellmembran. (Aufnahme: H. Plattner, Konstanz)

Tab. 1.1 Größenordnungen/Zehnerpotenzen.

Bezeichnung	Umrechnung	Beispiele für eine Verwendung in genetischen Zusammenhängen
G = giga	10^9	Größe der menschlichen DNA: 3 Milliarden Basenpaare oder 3 Gb (Gigabasen)
M = mega	10^6	Größe der DNA mancher Bakterien: 4 Millionen Basenpaare oder 4 Mb (Megabasen)
k = kilo	10^3	Viele menschliche Gene sind größer als 100 000 Basenpaare oder 100 kb (Kilobasen)
m = milli	10^{-3}	Eine menschliche Eizelle hat einen Durchmesser von 0,15 mm (Millimeter)
μ = mikro	10^{-6}	Die Bakterienart <i>Escherichia coli</i> hat die Form eines stumpfen Stäbchens mit einer Länge von etwa $2\ \mu\text{m}$ (Mikrometer)
n = nano	10^{-9}	Der Durchmesser einer DNA beträgt 2 nm (Nanometer). Viele Biologen, insbesondere Strukturforscher, benutzen die Maßeinheit Å (Ångström): 1 Å entspricht 0,1 nm. Sie sagen deswegen: Der Durchmesser einer DNA beträgt 20 Å.

Konstanz nach Rostock und zurück und müsste zu einer Kugel mit dem Durchmesser von 5 m geknäuelt, gefaltet oder gestaucht werden.

Ein großer Teil des Kap. 7 wird darstellen, wie die strukturelle Organisation der DNA-Fäden in der Zelle realisiert ist. Dort werden wir auch lesen, dass der Zellkern von einer doppelten Lipidhülle umgeben ist, von denen die äußere in das komplexe cytoplasmatische Membransystem des endoplasmatischen Retikulums (ER) außerhalb des Kerns übergeht.

Der Raum der Zelle außerhalb des Kerns ist das **Cytoplasma**. Das Cytoplasma ist von einem komplexen, vernetzten Membransystem durchsetzt, dem **Endomembransystem**, zu dem u. a. das ER gehört. Weiterhin ist das Cytoplasma von netzwerkähnlichen Gerüststrukturen langkettiger Proteinmoleküle durchzogen, dem **Cytoskelett**. Eine Gruppe dieser Proteinmoleküle bestimmt als **Aktinmikrofilament** Form und Beweglichkeit der Zelle, andere Proteinmoleküle bilden das **Intermediärfilament** und verleihen der Zelle Stabilität.

Das Cytoplasma enthält mehrere Arten von kompliziert aufgebauten, membranumschlossenen Körperchen, den Organellen. Dazu gehören z. B. die Lysosomen und Peroxisomen. Das auffälligste der Organellen ist das **Mitochondrium**. Die meisten Eukaryotenzellen haben mehrere, bis über 1000 Mitochondrien, die zum Teil schlauchförmig verbunden sind. Ihre Aufgabe ist die Verwendung von Sauerstoff für die Produktion des universellen biologischen Energieträgers, **Adenosinriphosphat**, kurz **ATP**, aus Nährstoffen, die von außen in die Zelle transportiert werden. Für die Genetik ist wichtig: **Mitochondrien enthalten DNA** als Träger von Genen mit der Information zur Herstellung einiger mitochondrialer Proteine. Mitochondriale DNA macht meist weniger als 0,1% der Gesamtmenge der DNA einer Zelle aus. Aber die mitochondriale DNA ist notwendig für das Leben der Zelle. Im Kap. 19 werden die Struktur und die Aufgaben der DNA in Mitochondrien ausführlich beschrieben.

Pflanzenzellen besitzen außer den Mitochondrien noch eine zweite Gruppe DNA-tragender Organellen, **Chloroplasten** (► Abb. 1.4). Das sind die Orte der Photosynthese, in denen das CO_2 der Luft fixiert wird und die Synthese von Kohlenhydraten erfolgt. Auch über die DNA

von pflanzlichen Chloroplasten werden wir im Kap. 19 Genauer erfahren.

Pflanzenzellen unterscheiden sich von Tierzellen noch durch mindestens zwei andere typische Merkmale (► Abb. 1.4):

- Anders als Tierzellen, die von einer Cytoplasmamembran in Form einer Lipiddoppelschicht mit vielen eingelagerten Proteinen umgeben sind, besitzen Pflanzenzellen zusätzlich eine starre **Zellwand** mit Cellulose als Grundgerüst, das der Cytoplasmamembran von außen aufliegt.
- Pflanzenzellen enthalten oft große, flüssigkeitsgefüllte **Vakuolen**, die den Zellkern gegen die starre Zellwand drängen und dabei dessen Form verändern können.

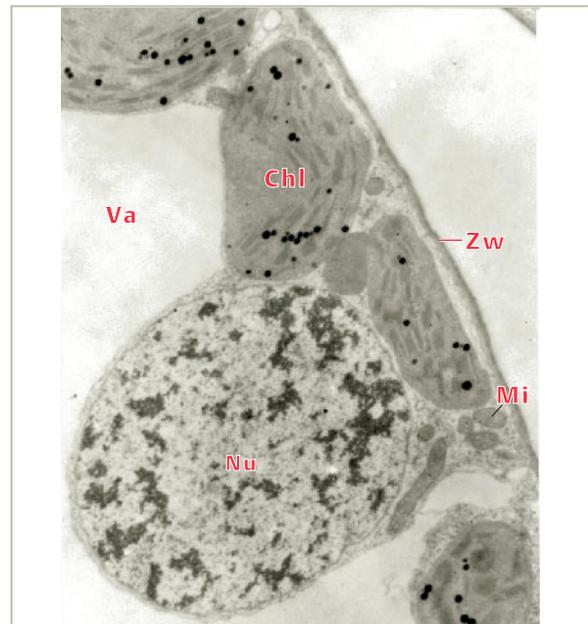


Abb. 1.4 Querschnitt durch eine Pflanzenzelle (Ausschnitt). Vergleiche die schematische Zeichnung einer Pflanzenzelle in der ► Abb. 19.12. Nu = Zellkern (Nucleus), Mi = Mitochondrien, Chl = Chloroplasten, Zw = Zellwand, Va = Vakuole. (Aufnahme: K. Mendgen, Konstanz)

Merke

Tierzellen haben zwei genetische Systeme, eines im Zellkern und ein weiteres in Mitochondrien.

Pflanzenzellen haben dazu noch ein drittes genetisches System in Chloroplasten.

1.3 Prokaryoten

Im Gegensatz zu den Eukaryoten besitzen Prokaryoten, also **Bakterien** und **Archaeen**, keine Organellen. Ihre DNA ist nicht von Membranen umgeben, sondern liegt als freies Knäuel im Zellinnern (► Abb. 1.5). Das Cytoplasma ist nicht durch ein Membransystem oder ein Cytoskelett organisiert. Es ist nach außen von einer Cytoplasmamembran begrenzt, in der u. a. auch energieliefernde Prozesse ablaufen, vergleichbar den Prozessen, die sich bei Eukaryoten in den Mitochondrien abspielen. Bei den meisten Bakterien liegt zusätzlich eine feste Zellwand außen auf der bakteriellen Cytoplasmamembran.

Im Laufe der Evolution hat sich eine bis heute noch nicht überschaubare Zahl an Bakterienarten entwickelt, die sich an viele, oft extreme ökologische Bedingungen angeglichen haben und deswegen ungewöhnliche Stoffwechselleistungen bringen müssen. Das zeigt sich nicht zuletzt daran, dass viele Bakterienarten mit oder ohne Sauerstoff und unter extrem heißen oder sauren Bedingungen leben und sich vermehren können.

In den Labors der Molekulargenetiker werden meist nur wenige Bakterienarten untersucht. Besonders popu-

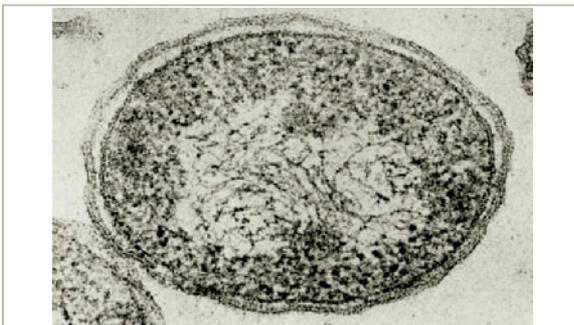


Abb. 1.5 Schnitt durch eine Bakterienzelle. Endvergrößerung ca. 200 000 ×. Beachte das zentral gelegene hantelförmige DNA-Knäuel (hell) und die drei Schichten der Zellhülle: erstens die als Doppellinie sichtbare äußere Membran, zusammengesetzt aus Lipopolysacchariden, Phospholipiden und porenbildenden Proteinen, die die Passage kleiner Moleküle wie Zucker und Aminosäuren erlauben, aber große Moleküle wie Proteine zurückhalten, zweitens die dicht darunter als Einzellinie erkennbare starre Peptidoglykanschicht und drittens die Cytoplasmamembran, eine Lipiddoppelschicht, in der viele verschiedene Proteinarten eingelagert sind, darunter solche, die den Transport von Nährstoffen und Salzen steuern. (Aufnahme: H. Frank, Tübingen, 1975)

lär ist die Bakterienart **Escherichia coli** (*E. coli*). Arbeiten über *E. coli* haben das Fundament der heutigen Molekulargenetik gelegt. Deswegen wird dessen Genetik im Kap. 6 gesondert zur Sprache kommen.

In eng abgegrenzten biologischen Räumen (Biotopen) finden sich charakteristische Mischungen (Populationen) verschiedener Bakterienarten. Solche biotopspezifischen Populationen unterschiedlicher mikrobieller Organismen werden als **Mikrobiome** bezeichnet. Beispielhaft genannt seien die Mikrobiome des Erdbodens in der Umgebung pflanzlicher Wurzeln, das Mikrobiom des menschlichen Dickdarms oder das Mikrobiom eines Korallenriffs. Da die einzelnen Bakterienarten eines Mikrobioms oft nicht unter experimentellen Kulturbedingungen gezüchtet werden können, ermöglicht die effiziente Sequenzierung der DNA-Nucleotide der vollständigen Genome von Mikrobiomen eine molekulargenetische Beschreibung der Vielfalt mikrobieller Populationen.

Definition

Unter dem **Mikrobiom** versteht man die Mischpopulation vieler mikrobieller Arten, die gemeinsam ein spezifisches Biotop bevölkern.

Archaeen (oder Archaea, Einzahl: Archaeon, griech. der/das Alte) vereinigen Eigenschaften von Bakterien, insbesondere, was ihre Stoffwechselleistungen angeht, mit Eigenschaften von Eukaryoten, vor allem in der Art, wie ihre Gene aufgebaut sind, wie die Information der Gene genutzt wird und wie Gene von Generation zu Generation weitergegeben werden.

Eine Existenz in extremen Umwelten ist das besondere Merkmal der Archaeen. Dazu gehören

- die Methanobacteria, die CO₂ zu Methan reduzieren können,
- die Halobacteria, die sich in gesättigten Salzlösungen vermehren, und
- die Thermokokken mit Temperaturoptima von bis zu 100 °C oder darüber sowie Organismen mit Vorlieben für extrem alkalische oder extrem saure Umgebungen.

Mikrobiologen untersuchen diese Lebensformen mit viel Aufmerksamkeit. Ein Grund dafür ist ihre Bedeutung für die Biotechnologie. Zum Beispiel liefern thermophile Organismen nützliche temperaturresistente Enzyme und acidophile Organismen können bei der Extraktion wertvoller Metalle aus komplexen Mineralien hilfreich sein.

Ein zweiter Grund ist ihre Bedeutung für alle Überlegungen zur Entstehung des Lebens. Denn die „extremophilen“ Prokaryoten vermehren sich unter Bedingungen, die vermutlich vor drei oder vier Milliarden Jahren auf der Erde geherrscht haben, also zu der Zeit, als sich erstes zelluläres Leben zu entwickeln begann.

Forscher haben mögliche und plausible Szenarien zur Entstehung und frühen Evolution des Lebens auf der Erde entworfen. Davon wird einiges an anderen Stellen des Buches anklingen, aber eine angemessene Beschreibung würde viele Seiten in Anspruch nehmen und den Rahmen dieses Buches überschreiten.

Merke



Alle Organismen auf der Erde enthalten DNA als universellen Träger der genetischen Information. Das ist ein starkes Argument dafür, dass die Evolution der belebten Natur von einer Urzelle mit DNA als genetischem Material ausging.

1.3.1 Literatur

► Zitierte Literatur

- [1] Olsen GJ, Woese CR (1997) Archaeal genomics: an overview. *Cell* 89: 991–994
- [2] Blair Hedges S (2002) The origin and evolution of model organisms. *Nat Rev Genet* 3: 838–849

► Weiterführende Literatur

- [3] Kutschera U (2008) *Evolutionsbiologie*. 3. Aufl. Uni-Taschenbuch, Stuttgart
- [4] Storch V, Welsch U, Wink M (2013) *Evolutionsbiologie*. 3. Aufl. Springer-Spektrum, Heidelberg

Kapitel 2

DNA: Träger der genetischen Information

2.1	Einleitung	29
2.2	Bausteine: Nucleotide	29
2.3	DNA-Doppelhelix	30
2.4	DNA-Helices: Flexibilität	32
2.5	Denaturierung und Renaturierung	34
2.6	Natürliche DNA-Moleküle	37
2.7	DNA-Ringe: Helix und Superhelix	39
2.8	Einige wichtige Methoden zur Untersuchung von DNA	41

2 DNA: Träger der genetischen Information

Rolf Knippers

2.1 Einleitung

Der Schweizer Forscher **Friedrich Miescher** (1844–1895) hat während seiner Tätigkeit am Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Tübingen als Erster die Substanz „Nuclein“ aus menschlichen Zellen isoliert und später in wissenschaftlichen Aufsätzen beschrieben (1871). Heute weiß man, dass „Nuclein“ ein Gemisch der Nucleinsäuren DNA und RNA war. Miescher legte die Grundlage für die Arbeiten der Chemiker nach ihm, die im Laufe mehrerer Jahrzehnte schließlich die Struktur der DNA- und RNA-Bausteine aufklärten. Hier geht es erst einmal um DNA.

Oswald T. Avery (1877–1955) und seine Mitarbeiter an der Rockefeller-Universität (damals: Rockefeller Institute) in New York haben erstmals und eindeutig nachgewiesen, dass DNA der Träger von genetischer Information ist (1944). Ihr Nachweis bestand, vereinfacht zusammengefasst, in der Übertragung vererbbarer Eigenschaften, nämlich Zellwandformationen und Virulenz, von einem Pneumokokken-Stamm auf einen anderen. Die Forscher fanden, dass die Übertragung durch eine „transformierende Substanz“ vermittelt wird und dass diese „Substanz“ nichts anderes als DNA ist.

Anders als man heute im Rückblick vielleicht erwarten würde, hatte die wichtige Entdeckung von Avery zunächst kein besonders großes Echo in der wissenschaftlichen Welt gefunden und Lehrbücher behaupteten noch im Jahr 1950, dass „mit großer Sicherheit gesagt werden kann: Die Erbfaktoren sind große Eiweißmoleküle“, so die Genetikerin Anna-Elise Stubbe in ihrem Buch „Das Rätsel der Vererbung“. Wobei wir zur Erläuterung hinzufügen, dass „Erbfaktor“ das alte Wort für Gen und „Eiweiß“ eine auch heute noch gelegentlich verwendete, aber veraltete deutschsprachige Bezeichnung für Protein ist.

Die Situation änderte sich schnell, als **James D. Watson** und **Francis H. C. Crick** im Jahr 1953 – basierend auf Röntgenbeugungsanalysen von Rosalind Franklin – die Aufklärung der dreidimensionalen Doppelhelixstruktur der DNA veröffentlichten. Denn die Struktur zeigte unmittelbar auf, wie genetische Information gespeichert ist, wie sie von Generation zu Generation weitergegeben und auf welche Weise sie gelegentlich durch Mutationen verändert werden kann.

2.2 Bausteine: Nucleotide

Der Träger der Geninformation ist ein Makromolekül mit der Bezeichnung **Deoxyribonucleinsäure**, kurz: DNS oder – gebräuchlicher – DNA (nach der englischen Bezeichnung *deoxyribonucleic acid*).

Als Makromolekül ist die DNA aus Einzelbausteinen zusammengesetzt, den **Nucleotiden**. Das gilt auch für die zweite Art von Nucleinsäuren, nämlich für Ribonucleinsäure oder **RNA** (*ribonucleic acid*), über die ausführlicher im Kap. 3 berichtet wird. Auch RNA ist aus Nucleotiden aufgebaut, die allerdings in einigen Merkmalen von den Nucleotiden in der DNA abweichen.

- Jedes Nucleotid hat drei Komponenten (► Abb. 2.1):
- eine Purin- oder eine Pyrimidinbase, die über eine N-glykosidische Bindung an das C1'-Atom einer Zuckerkomponente gebunden ist; die DNA enthält zwei **Purinbasen**, Adenin und Guanin, und zwei **Pyrimidinbasen**, Cytosin und Thymin; in RNA kommt anstelle von Thymin die Pyrimidinbase Uracil vor;
 - einen C₅-Zucker: Deoxyribose in der DNA, Ribose in der RNA;
 - einen Phosphatrest, der mit dem C5'-Atom des Zuckers über eine Esterbindung verknüpft ist.

Merke

Komponenten der DNA:

- Pyrimidinbasen: Cytosin, Thymin; Purinbasen: Adenin, Guanin
- Zucker: Deoxyribose
- Phosphatrest

Komponenten der RNA:

- Pyrimidinbasen: Cytosin, Uracil; Purinbasen: Adenin, Guanin
- Zucker: Ribose
- Phosphatrest

Die DNA enthält zwei **Purinbasen**, Adenin und Guanin, und zwei **Pyrimidinbasen**, Cytosin und Thymin. In RNA kommt die Pyrimidinbase Uracil (S.52) anstelle von Thymin vor. Einige Prozent der Cytosinbausteine in der DNA von Tieren und Pflanzen tragen eine Methylgruppe: 5-Methylcytosin. Ein Teil davon trägt eine Hydroxygruppe: 5-Hydroxymethylcytosin. Wir werden später sehen, dass die Methylierung und die Hydroxymethylierung der Cytosine wichtige genetische Konsequenzen haben (Kap. 12 und 20). Die „modifizierte“ Base 5-Methylcytosin findet man auch in der DNA von Bakterien. Überdies kann in der Bakterien-DNA auch ein kleiner Anteil der Adeninreste methyliert sein: 6-Methylaminopurin.

Die Verbindungen von den Purin- oder Pyrimidinbasen mit dem Zucker nennt man **Deoxynucleoside** (in DNA) oder einfach **Nucleoside** (in RNA), die Verbindungen von Nucleosiden und Phosphatresten heißen **Deoxynucleotide** (in DNA) oder einfach **Nucleotide** (in RNA) (s. ► Abb. 2.1).