

Inhalt

I. Theoretischer Teil:

Alterung in höheren Eukaryonten

		Seite
1.	Einleitung	1
2.	Alterungstheorien	2
2.1.	Theorien des programmierten Alterns	2
2.2.	Theorien des stochastischen Alterns	3
3.	Mitochondriale Schädigungen	6
3.1.	Entstehung mitochondrialer Schäden	6
3.2.	Mechanismen zur Schadensverhinderung	8
3.3.	Mechanismen zur Schadensbeseitigung	9
3.4.	Schadensakkumulation	10
4.	Altersabhängige Veränderungen der Mitochondrien	12
4.1.	Histologische und biochemische Veränderungen	12
4.2.	Schädigungen durch kovalente Modifikationen der mtDNA	14
4.3.	Mutationen der mtDNA	15
4.3.1.	Punktmutationen	17
4.3.2.	Rekombinationen der mtDNA	20
5.	Einfluß des Zellkernes auf Mitochondrien und Alterung	22
6.	Ausblick	23

II. Praktischer Teil:

Die Replikation des mobilen Introns (plDNA) in den Mitochondrien von *Podospora anserina*: Mechanismus und Auswirkungen auf die Alterung des Pilzes

1.	Problemstellung	26
1.1.	Nukleare Beeinflussung der Alterung von <i>Podospora</i>	26
1.2.	Cytoplasmatische Beeinflussung der Alterung von <i>Podospora</i>	27
1.3.	Altersabhängige Veränderungen der mtDNA	28
1.4.	Rejuvenalisierung gealterter Stämme	30
1.5.	Beeinflussung der Alterung durch die Respiration	31
1.6.	Zielsetzung	32
2.	Material und Methoden	34
2.1.	Stämme	34
2.2.	Nährmedien	34
2.3.	Kultivierungsbedingungen	34
2.4.	Chemikalien und Geräte	35
2.5.	Proteinbestimmung	35
2.6.	Mitochondrienpräparation	35
2.7.	<i>in organello</i> -Replikation	36
2.8.	mtDNA-Präparationen	36
2.8.1.	mtDNA-Präparation zur Southern-Analyse	36

2.8.2.	mtDNA-Präparation zur 2D-Gelelektrophorese	37
2.9.	Gelelektrophorese	37
2.9.1.	Eindimensionale Gelelektrophorese	37
2.9.2.	Zweidimensionale Gelelektrophorese zum Nachweis von Replikationsintermediaten	37
2.9.2.1.	Prinzip der 2D-Elektrophorese	38
2.9.2.2.	Durchführung der 2D-Elektrophorese	40
2.10.	Southern-Analyse gelelektrophoretisch aufgetrennter mtDNA	40
2.11.	Herstellung markierter Sonden für die Southern-Analyse	40
2.12.	Isolierung von DNA aus Agarosegelen	41
2.13.	Puffer und Lösungen	41
3.	Ergebnisse	42
3.1.	Nachweis der autonomen Replikation der pDNA	42
3.2.	Die <i>in organello</i> -Replikation der mtDNA von <i>P. anserina</i>	45
3.2.1.	Systemcharakterisierung	45
3.2.2.	Analyse der pDNA-Replikation im Wildtyp <i>s1</i>	48
3.2.2.1.	pDNA-Vermehrung in verschieden alten Myzelien	48
3.2.2.2.	pDNA-Vermehrung in Abhängigkeit vom Kreuzungstyp	52
3.2.2.3.	pDNA-Vermehrung in Abhängigkeit von der Glucosekonzentration	54
3.2.2.4.	pDNA-Vermehrung bei Hemmung der Cytochrom c-Oxidase bzw. der Alternativen Oxidase	55
4.	Diskussion	58
4.1.	Replikationsfähigkeit der pDNA	58
4.2.	Daten der <i>in organello</i> -Replikation der pDNA	62
4.2.1.	Systemcharakterisierung	63
4.2.2.	Die Vermehrung der pDNA im Stamm <i>s1</i>	63
4.3.	Alterungsmodell für <i>Podospira anserina</i>	66
4.4.	Folgerungen	70
4.4.1.	Wachstum des Pilzes in Beziehung zur pDNA-Anreicherung	70
4.4.2.	Infektiosität der Seneszenz	71
4.5.	Einfluß von radikalinduzierten Schäden auf die Alterung von <i>Podospira</i>	71
5.	Zusammenfassung	74
6.	Literaturverzeichnis	75
7.	Anhang	92