

Inhaltsverzeichnis

1 Einführung	1
1.1 Klassifizierung von Plasmiden	2
1.2 Warum wird mit und über Plasmide geforscht?	4
Literatur	5
2 Wichtige Methoden beim Arbeiten mit Plasmiden	6
2.1 Nachweis eines Plasmids	6
Literatur	7
2.2 Präparative Isolierung von Plasmid-DNA	8
2.3 Charakterisierung eines Plasmids	8
2.4 Kurieren eines Plasmids	9
2.4.1 Interkalierende Farbstoffe	10
2.4.2 Coumermycin und Novobiocin	10
2.4.3 Rifampicin und Mitomycin	10
2.4.4 Natriumdodecylsulfat	11
2.4.5 Weitere Methoden	11
Literatur	11
2.5 Bestimmung der Kopienzahl eines Plasmids	11
2.5.1 CsCl-Ethidiumbromid-Zentrifugation radioaktiv markierter DNA	12
2.5.2 Agarosegel-Elektrophorese	13
2.5.3 Hybridisierung	13
2.5.4 Sandwich-Hybridisierung	13
Literatur	14
2.6 Isolierung von Plasmid-Mutanten mit veränderter Kopienzahl	15
2.7 Mutagenese von Plasmiden	15
2.7.1 Transposon-Mutagenese	15
2.7.2 In-vivo-Mutagenese mit Nitrosoguanadin	18
2.7.3 In-vitro-Mutagenese mit Hydroxylamin	18
2.7.4 Deletions- und Insertions-Mutagenese mit Hilfe von Restriktionsenzymen	19
2.7.5 Sequenzspezifische Mutagenese	19
2.8 Nachweis Plasmid-codierter Proteine	21
Literatur	22
3 Konjugation	23
3.1 Konjugation bei Gram-negativen Bakterien.....	23
3.1.1 F-Faktor-vermittelte Konjugation	23
3.1.1.1 Entdeckung des F-Faktors	24
3.1.1.2 Integration/Exzision des F-Faktors	27
3.1.1.3 Aufbau des F-Faktors	31
3.1.1.4 Die Transfer-Region	35

3.1.1.4.1 Genetische Regulation des tra-Operons	35
3.1.1.4.2 Biosynthese des F-Pilus	37
3.1.1.4.3 Stabilisierung der Paarungspartner	38
3.1.1.4.4 Oberflächen-Ausschluß	39
3.1.1.4.5 DNA-Transfer	40
Literatur	42
3.1.2 Weitere konjugative Plasmide bei Gram-negativen Bakterien	43
3.2 Konjugation bei Gram-positiven Bakterien	43
3.2.1 Konjugation bei Streptococcen	44
3.2.1.1 Plasmid-gekoppelter Transfer bei Streptococcus	44
Literatur	48
3.2.2 Konjugative Transposons	48
3.2.3 Konjugation bei Staphylococcus	49
3.2.4 Konjugation bei Streptomyceten	49
3.3 Genetischer Austausch zwischen Gram-negativen und Gram-positiven Bakterien	51
4 Mobilisierung	54
4.1 Mobilisierung des Plasmids ColE1	54
4.2 Mobilisierung des Plasmids pBR322	55
4.3 Mobilisierung des Plasmids pC221	56
4.4 Artifizielle Mobilisierungssysteme bei Gram-negativen Bakterien	56
5 Replikation	59
5.1 Kartierung und Isolierung eines ori	59
5.2 Replikation des Plasmids ColE1	61
5.2.1 Allgemeine Informationen zur Replikation von ColE1	61
5.2.2 Initiation der Replikation	63
5.2.3 Elongation der Replikation	64
5.2.4 Termination der Replikation	65
5.3 Replikation des Plasmids pSC101	65
5.4 Replikation des Plasmids R6K	68
5.5 Replikation des F-Faktors	70
5.5.1 RepFIA, das primäre Replicon	70
5.5.2 RepFIB, das sekundäre Replicon	71
5.5.3 RepFIC, ein defektes Replicon	71
5.6 Replikation von Staphylococcus-Plasmiden	72
Literatur	75
6 Kontrolle der Kopienzahl	76
6.1 Wird jedes Plasmid einmal pro Generation repliziert?	76
6.2 Inhibitor-Target-Strategie	78
6.2.1 Beispiel ColE1	78
6.2.2 Beispiel R1	80
6.2.3 Beispiel pT181	81

6.3 Iteron-Strategie	81
6.3.1 Beispiel F-Faktor	81
6.3.2 Beispiel R6K	82
Literatur	83
7 Mechanismen der stabilen Vererbung von Plasmiden	84
7.1 Der par-Locus bei pSC101	84
7.2 Stabilisierung des F-Faktors	85
7.3 Stabilisierung des R-Faktors R1	87
7.4 Stabilisierung des R-Faktors R100	87
8 Inkompatibilität	89
8.1 Modellvorstellungen zum Mechanismus der Inkompatibilität	89
8.2 Inkompatibilität bei Plasmiden, deren Kopienzahl nach der Inhibitor- Target-Strategie kontrolliert wird	90
8.3 Inkompatibilität bei Plasmiden, deren Kopienzahl nach der Iteron-Strategie kontrolliert wird	91
9 Plasmide mit weitem Wirtsbereich	92
9.1 Das Plasmid RP4	92
9.1.1 Der Wirtsbereich	92
9.1.2 Genetischer Aufbau	94
9.1.3 Analyse der Tra-Funktionen	96
9.1.4 Kontrolle der Replikation	97
Literatur	99
9.2 Das Plasmid RSF1010	99
Literatur	100
10 Lineare Plasmide	102
10.1 Isolierung linearer Plasmide	102
10.2 Charakterisierung der Plasmide	102
10.3 Charakterisierung der kovalenten Bindung zwischen Plasmid- DNA und Protein	103
Literatur	104
11 Weitere Plasmid-inhärente Eigenschaften	105
11.1 Stabilisierung von Plasmiden durch sequenzspezifische Rekombination	105
Literatur	106
11.2 Integrative Suppression	106
Literatur	107
11.3 Shufflons	107
11.4 Sequenzspezifische Integration konjugativer Streptomyces- Plasmide	109
11.5 Hemmung des konjugativen Transfers	110
Literatur	111

11.6 Hemmung der Aktivierung des RecA-Proteins	112
Literatur	113
11.7 Synthese linearer Plasmid-Multimere	113
Literatur	114
12 Bacteriocin-codierende Plasmide	115
12.1 Nachweis eines Bacteriocins	116
12.1.1 Qualitativer Nachweis	116
12.1.2 Quantitativer Nachweis	117
12.2 Verbreitung der Bacteriocine	117
12.3 Produktion und Freisetzung der Colicine	118
12.4 Interaktion der Colicine mit der Target-Zelle	120
12.5 Physiologische Wirkung der Colicine	120
12.6 Insensitivität gegenüber Colicinen	122
12.7 Organisation der Colicin-Immunitäts-Lyse-Region bei einigen colicinogenen Plasmiden	122
12.8 Microcine	123
Literatur	126
13 Ti-Plasmide	127
13.1 Entdeckung der Ti-Plasmide	127
13.2 Struktur der Ti-Plasmide	128
13.3 Aufbau der T-DNA	130
13.4 Die Virulenz-Gene	132
13.5 Transfer der T-DNA	134
13.5.1 Am Transfer beteiligte Komponenten	134
13.5.2 Mechanismus des Transfers	137
13.6 Ri-Plasmide	139
Literatur	140
14 Degradative Plasmide	141
14.1 Abbau von Aromaten	143
14.2 Abbau von heterocyclischen Verbindungen	145
14.3 Degradative Plasmide	146
14.3.1 TOL-Plasmide	146
14.3.2 NAH-Plasmide	148
14.3.3 2,4-D-Plasmide	150
Literatur	150
15 Medizinisch relevante Plasmide	152
15.1 Kolonisierungsfaktoren	152
15.2 Invasine	155
Literatur	155
15.3 Cytotoxine	156
15.4 Enterotoxine	158
15.5 Physiologische Faktoren	159
Literatur	161

16 Plasmid-codierte Antibiotika-Resistenzen	162
16.1 Transposons.....	162
16.2 Umstrukturierungen von R-Plasmiden	165
16.3 Strategien der Antibiotikum-Resistenz	165
16.3.1 Inaktivierung des Antibiotikums	166
16.3.1.1 Resistenz gegen β -Lactam-Antibiotika	166
16.3.1.2 Resistenz gegen Chloramphenicol	168
16.3.1.3 Resistenz gegen Aminoglycosid-Antibiotika	171
16.3.2 Änderung der Angriffsstelle des Antibiotikums	172
16.3.3 Herabgesetzte Akkumulierung des Antibiotikums	173
16.3.4 Bypass-Mechanismus	175
16.3.4.1 Resistenz gegen Sulfonamide	175
16.3.4.2 Resistenz gegen Trimethoprim	175
Literatur	176
17 Plasmid-codierte Schwermetall-Resistenzen	177
17.1 Resistenz gegen Quecksilber und organische Quecksilberverbindungen.....	177
17.2 Resistenz gegen Arsen und Antimon	180
17.3 Resistenz gegen Tellur	181
17.4 Resistenz gegen Cadmium	182
17.5 Resistenz gegen Kupfer	182
17.6 Resistenz gegen Silber	183
17.7 Weitere Schwermetall-Resistenzen	183
Literatur	184
18 Weitere Plasmid-codierte Eigenschaften	185
18.1 Sym-Plasmide bei Rhizobien.....	185
18.2 Restriktions- und Modifikationssysteme	187
18.3 Plasmid-codierte Resistenz gegen DNA-Schäden	187
18.4 BT-Toxine	189
Literatur	191
19 Evolution der Plasmide	192
19.1 Möglichkeiten der Entstehung autonom replizierender Plasmide	192
19.2 Das Problem der Stabilität	192
19.3 Horizontaler Transfer von Plasmiden	196
19.4 Phänotypische Funktionen	197
19.5 Verwandtschaft der Plasmide untereinander	198
20 Glossar	200
21 Anhang	
Liste der natürlich vorkommenden Plasmide, deren Totalsequenz ermittelt wurde	214
Namen- und Sachwortverzeichnis	216