

# Inhaltsverzeichnis

<b>1 Einführung</b>	1
1.1 Klassifizierung von Plasmiden	2
1.2 Warum wird mit und über Plasmide geforscht?	4
Literatur	5
<b>2 Wichtige Methoden beim Arbeiten mit Plasmiden</b>	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 Nitrosoguanidin	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
<b>3 Konjugation</b>	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
<b>4</b>	<b>Mobilisierung</b> .....	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
<b>5</b>	<b>Replikation</b> .....	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
<b>6</b>	<b>Kontrolle der Kopienzahl</b> .....	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
<b>7 Mechanismen der stabilen Vererbung von Plasmiden .....</b>	<b>84</b>
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
<b>8 Inkompatibilität .....</b>	<b>89</b>
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
<b>9 Plasmide mit weitem Wirtsbereich .....</b>	<b>92</b>
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
<b>10 Lineare Plasmide .....</b>	<b>102</b>
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
<b>11 Weitere Plasmid-inhärente Eigenschaften .....</b>	<b>105</b>
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
<b>12 Bacteriocin-codierende Plasmide .....</b>	<b>115</b>
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
<b>13 Ti-Plasmide .....</b>	<b>127</b>
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
<b>14 Degradative Plasmide .....</b>	<b>141</b>
14.1 Abbau von Aromaten .....	143
14.2 Abbau von heterocyklischen 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
<b>15 Medizinisch relevante Plasmide .....</b>	<b>152</b>
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

<b>16 Plasmid-codierte Antibiotika-Resistenzen</b>	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 $\beta$ -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
<b>17 Plasmid-codierte Schwermetall-Resistenzen</b>	177
17.1 Resistenz gegen Quecksilber und organische Quecksilbverbindungen	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
<b>18 Weitere Plasmid-codierte Eigenschaften</b>	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
<b>19 Evolution der Plasmide</b>	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
<b>20 Glossar</b>	200
<b>21 Anhang</b>	
Liste der natürlich vorkommenden Plasmide, deren Totalsequenz ermittelt wurde	214
<b>Namen- und Sachwortverzeichnis</b>	216