

Mitochondriale Genomveränderungen und Altern

Struktur und Funktion eines linearen Plasmides einer langlebigen Mutante von *Podospora anserina*

Seite

I. Mitochondriale Genomveränderungen und Altern	
A. Einleitung	1
B. Veränderungen der mitochondrialen DNA und Seneszenz bei Hyphenpilzen	2
1. Seneszenz bei <u><i>Podospora anserina</i></u>	2
a) Extrachromosomale Mutanten	4
b) Chromosomale Mutanten	5
2. Seneszenz bei <u><i>Neurospora crassa</i></u> und <u><i>N. intermedia</i></u>	7
a) "Stopper"-Mutanten	8
b) Sterbliche Stämme	11
C. Neuromuskuläre Erkrankungen und Altern bei Säugetieren	12
1. Spontane und autosomal vererbte mitochondriale Myopathien	13
a) CPEO	14
b) Das Kearns-Sayre Syndrom	15
c) Das Pearson-Syndrom	16
2. Mütterlich vererbte neuromuskuläre Erkrankungen	16
a) LHON	16
b) MERRF	17
c) MELAS	18
3. Die Parkinsonsche Krankheit	19
4. Veränderungen der mitochondrialen DNA und Altern beim Menschen	20
D. Zusammenfassung und Schlußfolgerungen	23
II. Struktur und Funktion eines linearen Plasmides einer langlebigen Mutante von <u><i>Podospora anserina</i></u>	
A. Einleitung und Problemstellung	24
B. Material und Methoden	27
C. Ergebnisse	34
1. Verzögerte Amplifizierung der plDNA in der Mutante AL2	34
2. Strukturanalyse einer zusätzlichen DNA-Spezies in der Mutante AL2	35
3. Lokalisation von pAL2-1	36
4. Klonierung und Sequenzierung von pAL2-1	37
5. Kodierungskapazität von pAL2-1	43

a) Das potentielle ORF1-kodierte Polypeptid zeigt Ähnlichkeiten zu DNA-Polymerasen des Typs D.	43
b) Das potentielle ORF2-kodierte Polypeptid zeigt Ähnlichkeiten zu viralen und plasmidkodierten RNA-Polymerasen.	45
6. Homologien von pAL2-1 zur mtDNA von AL2 und A	46
a) Identifizierung einer mitochondrial lokalisierten Region beim Wildstamm A, die für eine RNA-Polymerase kodieren könnte.	46
b) Integration von pAL2-1 in die mtDNA der Mutante AL2	49
7. Transkriptanalyse	52
a) Transkriptnachweis durch reverse Polymerasekettenreaktion	52
b) Kartierung der Transkriptionsstartpunkte der pAL2-1 kodierten Leserahmen	54
8. Umorganisationen der mtDNA der Mutante AL2	56
D. Diskussion	59
1. pAL2-1 ist ein lineares Plasmid	59
2. pAL2-1 ist ein mitochondriales Element	62
3. pAL2-1 kodiert für eine DNA-Polymerase	64
4. Der aminoterminal Teil des ORF1 kodiert möglicherweise für das terminale Protein	66
5. pAL2-1 kodiert für eine RNA-Polymerase	68
6. Transkriptanalyse	69
a) Die beiden offenen Leserahmen ORF1 und ORF2 werden transkribiert	69
b) Die Transkription der offenen Leserahmen von pAL2-1 startet an mehreren Punkten	69
7. Die Integration von pAL2-1 in die mtDNA der Mutante AL2	73
a) Das dritte Intron des Cytb-Gens ist Zielort der pAL2-1-Integration	73
b) Die Übergangsregion zwischen mtDNA und pAL2-1 besteht aus einer Fremdsequenz, die andeutet, daß reverse Transkription am Integrationsvorgang beteiligt ist	74
8. Reste einer mitochondrial kodierten RNA-Polymerase	77
9. Die Amplifizierung der pDNA ist verzögert	80
10. Die mitochondrialen ORF's P', Q' und 11 sind in AL2 deletiert	80
11. Die Langlebigkeit der Mutante AL2	81
E. Zusammenfassung	85
F. Literatur	87