

Inhaltsverzeichnis

Vorwort des Autors	VII
Vorwort des Übersetzers	XI
Einführung	1
1 Die wichtigsten Elemente des Schalters und ihre Funktion	13
1.1 Elemente des Schalters	16
DNA	16
RNA-Polymerase	17
Repressor	18
Cro-Protein	20
1.2 Wirkungsweise von Repressor und Cro-Protein	20
Negative Regulation	21
Positive Regulation	21
Kooperativer Effekt bei der Bindung des Repressors	23
1.3 Induktion: der Schalter springt um	25
1.4 Kooperativität: die Empfindlichkeit des genetischen Schalters	29
1.5 Autoregulation	31
1.6 Andere Beispiele	32
2 Regulation der Genexpression durch DNA-bindende Proteine	35
2.1 Operatoren	35
2.2 Repressor	38
2.3 Cro-Protein	42
2.4 Wechselwirkungen zwischen Aminosäuren und Basenpaaren	43
2.5 Promotoren	47
2.6 Genregulation	48

3 Schalter und Regelkreise	51
3.1 Kurzer Überblick über den Vermehrungszyklus von λ	52
Genkarte von λ	52
Zirkularisierung	53
Genexpression	53
Integration	55
3.2 Regulation der Transkription	56
Sehr frühe Ereignisse	56
Frühe Ereignisse	57
Späte Ereignisse im lytischen Programm	59
Späte Ereignisse im lysogenen Programm	59
3.3 Der Entscheidungsprozeß	61
3.4 Regulation von Integration und Exzision	62
Fall 1: Etablierung des lysogenen Zustandes	63
Fall 2: Lytische Vermehrung	63
Fall 3: Induktion	64
3.5 Andere Phagen	65
3.6 SOS-Antwort	65
3.7 λ als Modell für die Zelldifferenzierung	67
Regulatorgene	67
Genetische Schalter	69
Genexpression und Musterbildung	70
Mechanismen	71
4 Woher wir das alles wissen: die entscheidenden Experimente	73
4.1 Die Repressoridee	73
λ clear- und λ vir-Mutanten	73
Immunität und Heteroimmunität	75
Bakterienkreuzung mit einem lysogenen Partner	76
4.2 Das Repressorproblem in den frühen 60er Jahren	77
4.3 Isolierung des Repressors und Untersuchung seiner DNA-Bindung	79
4.4 Isolierung des Repressors im präparativen Maßstab	81
4.5 Die wesentlichen Aussagen aus Kap. 1 und 2	82
Der Repressor besteht aus 2 globulären Domänen, verbunden durch eine Proteinbrücke von 39 Aminosäuren	82
Der Repressor bildet Dimere, die v.a. durch Wechselwirkungskräfte zwischen den Carboxyldomänen zusammengehalten werden	84
Ein Repressordimer bindet mit seinen Aminodomänen an ein 17 Basenpaare langes Operatorelement	85
Pro Operatorelement kann nur 1 Repressordimer binden	85

Das Repressordimer bildet sich vor der Bindung an die DNA	88
Die Aminodomänen stellen den Kontakt zur DNA her	89
Im Bereich des rechten Operators gibt es 3 Bindungsstellen von 17 Basenpaaren Länge. Die Bindung des Repressors und des Cro-Proteins an diese Stellen findet auf derselben Seite der Doppelhelix statt	92
Chemische Untersuchungsmethoden	92
Mutationen in der Operator-DNA	92
Bindung des Repressors an ringförmige und an lineare DNA	93
Der Repressor bindet an die 3 o_R -Operatorelemente mit alternativ paariger Kooperativität. Dieser kooperative Effekt kommt durch Wechselwirkungen zwischen den Carboxyldomänen benachbarter Dimere zustande	94
In einem lysogenen Bakterium sind die Bindungsplätze o_R1 und o_R2 normalerweise vollständig mit Repressor besetzt. Das Protein schaltet dadurch die rechtsgerichtete Transkription des <i>cro</i> -Gens ab und stimuliert zugleich die linksgerichtete Transkription des <i>cl</i> -Gens. Wenn seine Konzentration steigt, bindet der Repressor zusätzlich an o_R3 und schaltet seine eigene Transkription ab	95
Cro bindet zuerst an o_R3 , dann an o_R1 bzw. o_R2 und schaltet dadurch nacheinander p_{RM} und p_R ab	100
Entdeckung von Cro, dem λ -Antirepressor	100
Cro-Protein in vivo	102
Cro-Protein in vitro	103
RecA spaltet den Repressor und löst damit die Induktion des Phagen aus	103
Bindung des Cro-Proteins an o_R3 lässt den Genschalter in die andere Stellung springen	104
Wie Repressor und Cro-Protein an den Operator binden, ist in Abb. 2.6, 2.8 und 2.10 dargestellt	104
Kristallographische Untersuchungen	104
Austausch von Erkennungshelix-Segmenten zweier unterschiedlicher Repressorproteine	105
Der Arm des λ -Repressors	107
Spezifische Kontakte zwischen Aminosäuren und Basenpaaren	108
Der Repressor aktiviert die Transkription von <i>cl</i> , indem er an o_R2 bindet und mit seiner Aminodomäne Kontakt zur Polymerase herstellt	109
Repressormutanten mit einem Defekt in der positiven Genregulation	109
Positive Regulation in vitro	112
4.6 Schlußbemerkung	113
Anhang 1: Konstruktion eines wirksamen DNA-bindenden Proteins	117
Übersicht	117
Spezifische und unspezifische Bindung	117

Steigerung der Spezifität	120
Erhöhung der Proteinkonzentration	120
Direkte Erhöhung der Spezifität	120
Ausnutzen der Kooperativität	122
DNA-Protein-Wechselwirkung in Eukaryoten	123
Anhang 2: Starke und schwache Wechselwirkungen	125
Anhang 3: Regulation der Transkription in Eukaryoten und Prokaryoten: ein gemeinsamer Mechanismus	127
Sachverzeichnis	135