

Inhaltsverzeichnis

Vorwort	V
----------------------	---

1 Einführung

1.1 Die biologische Revolution . . .	3
1.1.1 Die Vorgeschichte zur Gentechnik	3
1.1.2 Die Geschichte der Gentechnik . .	4
1.1.3 Kommerzialisierung der Molekular- biologie	5
Zusammenfassung	7

2 Prinzipien der Gentechnik

2.1 Die DNA	15
2.1.1 Bau der DNA	15
2.1.2 Denaturierung von DNA	18
2.1.3 Molekülgröße und Form der DNA	19
2.1.4 Superhelikale DNA	20
Zusammenfassung	22
Methoden 1: Elektrophorese	23
2.2 Modifizieren von DNA	25
2.2.1 Fragmentierung von DNA	25
2.2.2 Restriktionsendonukleasen	25
Methoden 2:	
Physikalische Kartierung	31
2.2.3 Enzymatische Modifikation von DNA-Molekülen	33
2.2.4 Verknüpfen von DNA-Fragmenten	38
Zusammenfassung	39
2.3 Polymerase-Kettenreaktion (PCR)	40
2.3.1 Prinzip der PCR-Technik	41
2.3.2 Limitation und Effizienz	43
Methoden 3: DNA-Synthese	48
2.3.3 Modifikationen	47

1.2	Biotechnik vs. Gentechnik . . .	8
1.2.1	Biotechnik	8
1.2.2	Gentechnik	9
1.2.3	Molekularbiologie, eine interdisziplinäre Wissenschaft	10
	Zusammenfassung	11

2.3.3.1	„Nested PCR“	47
2.3.3.2	„Touch down PCR“	51
2.3.3.3	Warmstart-PCR	51
2.3.3.4	Verankerte-PCR	52
2.3.3.5	Inverse-PCR	52
2.3.3.6	Reverse-PCR	53
2.3.3.7	Immuno-PCR	54
2.3.4	Anwendungen	55
2.3.4.1	Sequenzieren	56
2.3.4.2	Einführen von Mutationen	58
2.3.4.3	Verbinden zweier DNA-Fragmente: „Splicing by overlap extension“	60
2.3.4.4	Ungerichtete Mutationen durch Polymerase-Kettenreaktion	60
2.3.4.5	Amplifikationen analoger DNA-Bereiche	61
2.3.4.6	Diagnostik	64
	Zusammenfassung	64
	Methoden 4: Sequenzieren von DNA nach Sanger	65
2.4	Klonieren in Escherichia coli	68
2.4.1	DNA-Transfersysteme für <i>E. coli</i>	68
2.4.2	Vektoren für die <i>E.-coli</i> -Transformation	69
2.4.2.1	Plasmidvektoren	69

2.4.2.2	Phagenvektoren	74
2.4.2.3	Beispiele für gängige Lambda- Vektoren	76
2.4.2.4	M13-Phagen	79
2.4.2.5	Cosmid-Vektoren	80
2.4.2.6	„ <i>Bacterial artificial chromosomes</i> “ (BACs)	82
2.4.2.7	Bakteriophagen-P1-Vektoren (PACs)	83
2.4.3	Konstruktion von Genbanken ...	85

3

Mikrobielle Systeme

3.1	Genexpression in Prokaryonten	107
3.1.1	Bakterielle Promotoren	107
3.1.2	Das Operon	109
3.1.3	Die „ <i>Shine-Dalgarno-Sequenz</i> “ ..	109
3.1.4	Die Translation	110
3.1.5	Regulierbare Promotoren	113
3.1.6	Optimierung der Translations- Effizienz	118
3.1.7	Sekretions-Systeme	119
3.1.8	Fusionssysteme zur effizienten Produktreinigung	121
3.1.9	Plasmidstabilisierung	122
3.1.10	Möglichkeiten, rekombinante Stämme zu stabilisieren	123
	Zusammenfassung	125
	Methoden 6: Elektrophorese von Proteinen	126

4

Klonierung in höheren Systemen

4.1	Genexpression in Zell-Linien aus Säugetieren	153
4.1.1	Heterologe Genexpression in Säugerzellen	156
4.1.1.1	Transiente Expression	156
4.1.1.2	Stabile Expression	159
4.1.2	Zell-Linien aus Säugetieren	159
4.1.3	Selektions-Marker	160
4.1.4	Genamplifikation	162
4.1.5	Co- und posttranslationale Modi- fikationen	163
	Zusammenfassung	168
	Methoden 8: Autoradiographie ..	169

2.4.3.1	Genomische Genbanken	85
2.4.3.2	cDNA-Banken	87
2.4.4	Klonierung chemisch synthetisierter Gene	90
2.4.5	Identifizierung spezifischer Gene	90
2.4.6	Punktmutagenese mit Hilfe synthetischer Oligonukleotide	96
	Zusammenfassung	99
	Methode 5: Zentrifugationsmethoden	100

107

3.2	Klonieren in Hefe	129
3.2.1	Vektoren in Hefe	131
3.2.1.1	Selektions-Marker	131
3.2.1.2	Integrierende Vektoren (YIp)	133
3.2.1.3	Episomale Plasmide (YEp)	136
3.2.1.4	Autonom replizierende Plasmide (YRp)	136
3.2.1.5	Zentromere Vektoren (YCp)	137
3.2.1.6	Artifizielle Chromosomen (YAC)	137
3.2.2	Hefe-Transformation	139
3.2.3	Homologe Rekombination	140
3.2.4	Genersatz (<i>gene replacement</i>)	141
3.2.5	Expression heterologer Proteine	142
3.2.6	Proteinmodifikation in Hefe	146
3.2.7	Andere Hefe-Expressions-Systeme	148
	Zusammenfassung	149
	Methoden 7: Protein-Blotting	150

153

4.2	Expressions-Vektoren für Tierzell-Systeme	171
4.2.1	Transkriptions-Kontrollelemente höherer Eukaryonten	171
4.2.1.1	Promotoren	171
4.2.1.2	„ <i>Enhancer</i> “ bzw. „ <i>Silencer</i> “	172
4.2.1.3	Transkriptions-Terminatoren	177
4.2.1.4	Spezialelemente	177
4.2.2	Das SV40-COS-Expressions-System	177
4.2.3	BPV-Vektoren	178
4.2.4	Das Vaccinia-System	179
4.2.5	Das Baculo-Virus-System	180
4.2.5.1	Baculo-Virus Transfer-Vektoren	181
	Zusammenfassung	182
	Methoden 9: Der ELISA	183

4.3	Transgenesis	185
4.3.1	Methodenspektrum	186
4.3.1.1	Gentransfer mittels retroviraler Vektoren	186
4.3.1.2	DNA-Mikroinjektionsmethode ..	190
4.3.1.3	Transfektion embryonaler Stamm- zellen	191
4.3.2	Transgene Ratten	193
4.3.3	Mikroinjektionstechniken bei anderen Tieren	193
4.3.4	Auswirkungen fremden geneti- schen Materials auf den Wirts- organismus	194
4.3.5	Konstitutive Expression fremder genetischer Information	194
4.3.6	Regulierte Expression fremder genetischer Information	195
4.3.7	Zerstörung der Genfunktion	195
4.3.8	Gezielte Zerstörung von Zellen durch fremde genetische Infor- mation	199
	Zusammenfassung	199
4.4	Gentherapie	202
4.4.1	Die erste gentherapeutische Studie	202
4.4.2	Die Gentherapie als Spezialform der Arzneimitteltherapie	203
4.4.3	Gentherapeutisch behandelbare Krankheiten	204
4.4.4	Gentherapeutische Konzepte ...	205
4.4.4.1	Genersatztherapie	205
4.4.4.2	Tumor-Vakzinierung	205
4.4.4.3	Sensibilisierung von Zellen für eine Sekundärtherapie	206

5

Zellkultur und Fermentation

5.1	Biologische Wirkstoff- produktion	235
5.1.1	Einleitung	235
5.1.2	Biotechnik/Fermentationstechnik	235
5.1.3	Kulturverfahren	237
5.1.4	Der Fermentationsprozeß	243
5.1.5	Chymosin und Käseherstellung ..	244
5.1.6	Shikonin-Produktion durch Pflan- zenzellkulturen	247
5.1.7	Synthese von L-Ascorbinsäure ...	247

4.4.5	Möglichkeiten der Aufnahme von DNA in Zellen	207
4.4.5.1	Direkte Aufnahme nackter DNA	207
4.4.5.2	Ca-Phosphat-vermittelte-Transfektion	208
4.4.5.3	Elektroporation	208
4.4.5.4	Liposomen	209
4.4.5.5	Rezeptor-vermittelte Aufnahme von Adenovirus-Polylysin-DNA-Komplexen	209
4.4.5.6	Biolistik	210
4.4.5.7	Virus-vermittelter Gentransfer	211
4.4.6	Kritische Fragen und zu lösende Probleme	211
	Zusammenfassung	212
4.5	Pflanzen-Gentechnik	213
4.5.1	Der Beginn der Pflanzen-Gentechnik	213
4.5.2	<i>Agrobacterium</i>	213
4.5.3	Ti- und Ri-Plasmide	214
4.5.4	Vektoren für die Pflanzenzell-Transformation	216
4.5.5	Transformation von Pflanzenzellen	217
4.5.6	Monokotyle vs. dikotyle Pflanzen	217
4.5.7	Regulierte Genexpression in Pflanzen	218
4.5.8	Was wird verändert?	219
4.5.9	Männliche Sterilität	222
4.5.10	Verbesserung der Pflanzenqualität	224
4.5.11	Gentechnisch veränderte Organismen und Allergien	229
4.5.12	Akzeptanzprobleme	231
	Zusammenfassung	232

5.1.8	Tryptophan-Produktion durch rekombinante <i>E.-coli</i> -Zellen	250
5.1.8.1	Biosynthese von Tryptophan in <i>E. coli</i>	251
5.1.8.2	Inaktivierung von Regulationsmechanismen	252
5.1.8.3	Plasmidstabilität	253
5.1.8.4	Verbesserung der Plasmidstabilität	254
5.1.8.5	Überproduktion von Tryptophan durch rekombinante <i>E.-coli</i> -Zellen	255
	Zusammenfassung	256

5.2	Bioreaktoren	258
5.2.1	Kultivierung höherer Zellen	260
5.2.2	Feste Mikrocarrier	260
5.2.3	Makroporöse Mikrocarrier	261
5.2.4	Aggregatkulturen	261
5.2.5	Zelleinschluß	262
5.2.6	Bioreaktoren für Säugerkulturen	262
5.2.6.1	<i>Roller bottles</i>	262
5.2.6.2	Reaktoren mit mechanischen Rührern	262
5.2.6.3	<i>Airlift</i> -Reaktoren	263
5.2.6.4	Flüssigbett-Reaktoren	264
5.2.6.5	Hohlfaser-Bioreaktoren	264
5.2.6.6	Festbett-Reaktoren	264
	Zusammenfassung	265
5.3	Biotransformationen und Enzymreaktoren	267
5.3.1	Immobilisierung von Enzymen und Zellen	268
5.3.2	Biotransformationen in Enzym- reaktoren	268
5.3.2.1	Oxidoreduktasen	271
5.3.2.2	Hydrolasen	273
5.3.2.3	Lyasen	276
5.3.2.4	Isomerasen	279
5.3.2.5	Mikroorganismen bei der Auf- bereitung von Erzen.	280
	Zusammenfassung	284
5.4	Isolierung und Aufschluß von Zellen	285
5.4.1	Zellernte	285
5.4.2	Zellaufschluß	287
	Zusammenfassung	288

6

Rekombinante Wirkstoffe

6.1	Die Anforderungen des Euro- päischen Arzneibuchs an gen- technisch hergestellte Produkte	317
6.1.1	Definition	317
6.1.2	Herstellung	317
6.1.3	Nachweis der Eignung eines Wirt- vektor-Systems zur Herstellung DNA-rekombinanter Produkte	318

5.5	Isolierung biologischer Wirkstoffe	289
5.5.1	Extraktion/Fällung	289
5.5.2	Reinigung	290
5.5.2.1	Primäraufarbeitung	291
5.5.2.2	Feinreinigung	291
5.5.2.3	Endreinigung	292
	Zusammenfassung	293
5.6	Renaturierung von Proteinen .	294
5.6.1	Die Ausbildung von „ <i>inclusion bodies</i> “	296
5.6.2	<i>In-vitro</i> -Neufaltung von Proteinen (Renaturierung)	297
	Zusammenfassung	300
	Methoden 10: Protein-Sequenzieren	301
5.7	Monoklonale Antikörper	303
5.7.1	Das Problem	304
5.7.2	Die Herstellung monoklonaler Antikörper	304
5.7.2.1	Immunisierung	305
5.7.2.2	Fusion der Milz-Zellen mit Myelom-Zellen	306
5.7.2.3	Selektion fusionierter „Hybridom-Zellen“	306
5.7.2.4	Primäres <i>Screening</i> antikörperproduzierender Hybridom-Zellen .	310
5.7.2.5	Klonierung der vorselektionierten Zellen	310
5.7.2.6	Identifizierung antikörperproduzierender Klone	311
5.7.2.7	Charakterisierung der produzierten Antikörper	311
5.7.3	Rekombinante Antikörper	311
	Zusammenfassung	313

317

5.1.3.1	Charakterisierung der Wirtszelle einschließlich der Herkunft, des Phänotyps und des Genotyps sowie der Zellkulturmedien	318
5.1.3.2	Dokumentation der Klonierungsstrategie für das Gen und Charakterisierung des rekombinanten Vektors	319

6.1.3.3	Charakterisierung des Wirt-Vektor-Systems	320
6.1.4	Zellbanksysteme: Validierung und Kontrolle	320
6.1.5	Validierung des Herstellungsprozesses	322
6.1.5.1	Extraktion und Reinigung	322
6.1.5.2	Charakterisierung des Bulkprodukts und Gleichförmigkeit der Produktion	323
6.1.6	Identitätsprüfung	323
6.1.7	Reinheitsprüfung	324
6.1.7.1	Chemische Reinheit	324
6.1.7.2	Von Wirtszellen stammende Proteine	324
6.1.7.3	Aus Wirtszelle oder Vektor stammende DNA	324
6.1.8	Gehalt und Wirksamkeit	325
6.2.1	Struktur	326
6.2	Biotechnische und gentechnische Herstellung von Insulin	326
6.2.2	Insuline aus verschiedenen Tierpezies	326
6.2.3	Umwandlung von Schweine-Insulin in Human-Insulin der Firma Hoechst	328
6.2.4	Die Alternative: Gentechnisch hergestelltes Insulin	328
6.2.5	Insulin-Biosynthese	329
6.2.6	Drei Ansätze zur gentechnischen Insulinherstellung	330
6.2.6.1	Expression der beiden Insulinketten in unterschiedlichen <i>E.-coli</i> -Stämmen	330
6.2.6.2	Expression von Proinsulin in <i>E. coli</i>	331
6.2.6.3	Expression von Mini-Proinsulin in <i>S. cerevisiae</i>	332
6.2.7	Insulinvarianten als Alternative herkömmlicher Depotzubereitungen	333
6.2.8	Das erste zugelassene Insulin-Mutein	335
	Zusammenfassung	337
6.3	Gentechnisch hergestellte Fibrinolytika und Antikoagulanzen	338
6.3.1	Fibrinolytika	338
6.3.1.1	Streptokinase	340
6.3.1.2	Urokinase	341
6.3.1.3	Der Gewebe-Plasminogen-Aktivator	345

	Zusammenfassung/Schluß- bemerkung	345
6.3.1.4	r-PA (Retepase), ein gentechnisch hergestelltes Derivat des Gewebe- Plasminogen-Aktivators	352
6.3.2	Antikoagulanzen	356
6.4	Blutgerinnungsfaktoren	359
6.4.1	Gentechnisch hergestellte Faktor- VIII-Präparate	359
	Zusammenfassung/Schluß- bemerkung	374
6.4.2	Gentechnisch hergestellte Faktor- VII-Präparate	374
	Zusammenfassung/Schluß- bemerkung	377
6.5	Gentechnisch hergestellte Erythropoetin-Präparate	378
6.6	Rekombinante Hypophysen- hormon-Präparate	387
6.6.1	Somatropin	387
	Zusammenfassung	402
6.6.2	Präparate mit Follikel-stimulieren- dem Hormon (FSH)	403
	Zusammenfassung/Schluß- bemerkung Gonal-F®	410
6.7	Desoxyribonuklease	411
	Zusammenfassung/Schluß- bemerkung Pulmozyme®	414
6.8	Gentechnisch hergestellte β- Glucocerebrosidase zur Behand- lung der Gaucher-Krankheit	415
	Zusammenfassung/Schluß- bemerkung Cerezyme®	422
6.9	Zytokine	424
6.9.1	Interleukine	425
	Zusammenfassung/Schluß- bemerkung Proleukin®	429
6.9.2	Interferone	430
6.9.2.1	Alpha-Interferone	430
	Zusammenfassung/Schluß- bemerkung Roferon A®	435

	Zusammenfassung/Schluß- bemerkung Intron A®	436
6.9.2.2	Beta-Interferon zur Behandlung der Multiplen Sklerose	437
	Zusammenfassung/Schluß- bemerkung Avonex®	441
6.9.2.3	Gamma-Interferon	441
	Zusammenfassung/Schluß- bemerkung Imukin®	444
6.9.3	Hämatopoetische Wachstums- faktoren	444
	Zusammenfassung/Schluß- bemerkung Leucomax®	446
	Zusammenfassung/Schluß- bemerkung Neupogen®	449
	Zusammenfassung/Schluß- bemerkung Granocyte®	451
6.10	Monoklonale und rekombi- nante Antikörper	452
6.10.1	Orthoclone® OKT3, ein muriner monoklonaler Antikörper	452
6.10.1.1	Transplantations-Immunologie und Ansatz der immunsuppressiven Therapie	452
6.10.1.2	Das HLA-System („ <i>human leuco- cyte antigens</i> “)	453
6.10.1.3	T-Zellaktivierung und Abstoßung	455
6.10.1.4	Drei Phasen der Abstoßungs- reaktion	457
6.10.1.5	Monoklonale Antikörper bei der Organtransplantation	457
	Zusammenfassung/Schluß- bemerkung OKT3®	460

7

Molekulare Diagnostik

7.1	Restriktionsfragment-Längen- polymorphismus	487
	Zusammenfassung	489
7.2	Kartierung des menschlichen Genoms	490
7.2.1	<i>In-situ</i> -Hybridisation	490
7.2.2	Somatische Zellhybride	491
7.2.3	Physikalische Kartierung mit Hilfe von Restriktionsenzymen	493

6.10.2	Panorex® – ein monoklonaler Antikörper zur Behandlung von Kolon-/Rektalkarzinomen	460
6.10.2.1	Adjuvante und palliative Therapie-schemata zur Behandlung kolorek-taler Karzinome	460
6.10.2.2	Der Antikörper MoAb17-1A	462
6.10.3	ReoPro® (abciximab) – ein mono-klonaler Antikörper zur Ver-meidung ischämischer Komplika-tionen	465
6.10.3.1	Biologie der Thrombozyten	466
6.10.3.2	Der GPIIb/IIIa-Rezeptor	467
6.10.3.3	Aktuelle medikamentöse Therapie zur Verhütung thrombotischer Komplikationen der PTCA und ihre Grenzen	468
6.10.3.4	ReoPro® zur Prävention der Thrombosen	469
	Zusammenfassung/Schluß-bemerkung ReoPro®	472
6.11	Inhibierende Nukleinsäuren	473
6.11.1	Interaktion von Nukleinsäuren mit Proteinen	473
6.11.2	Inhibierende Nukleinsäuren	474
6.11.3	<i>Antisense</i> -Oligonukleotide	474
6.11.4	Katalytische RNA	477
6.11.5	Tripelhelix-Bildung	478
6.11.6	Stabilisierung von Nukleinsäuren	480
6.11.7	PNA	481
6.11.8	Bioverfügbarkeit	481
	Zusammenfassung	483

487

7.2.4	Überlappende Klonierung	494
	Zusammenfassung	497
	Methoden 11: Pulsfeld-Gel-Elektrophorese	498
7.3	Identifizierung von Genen, die Erbkrankheiten verursachen	501
7.3.1	Experimentelle Strategien zur Identifizierung krankheitsrelevanter Gene	501

7.3.2	Funktionelles Klonieren	502
7.3.2.1	Funktionelles Klonieren mit Hilfe des isolierten Genprodukts	503
7.3.2.2	Funktionelles Klonieren auf der Basis eines funktionellen Gentests	503
7.3.3	Positionelles Klonieren	504
7.3.3.1	Isolierung des Dystrophin-Gens . .	506
7.3.3.2	Isolierung des NF1-Gens	508
7.3.3.3	Isolierung des CF-Gens	509
7.3.4	Positionsunabhängiges Klonieren eines Kandidaten-Gens	510
7.3.5	Positionelles Klonieren eines Kandidaten-Gens	511
7.3.5.1	Das Rhodopsin-Gen als Kandi- daten-Gen für die <i>Retinitis pig- mentosa</i>	511
7.3.5.2	Verschiedene Fibrillin-Gene als Kandidaten-Gene für verschiedene Formen des Marfan-Syndroms . .	511
7.3.5.3	Entdeckung eines Kandidaten- Gens für das Waardenburg- Syndrom über eine Homologie zwischen Mensch und Maus	511
	Zusammenfassung	513
	Methoden 12: Automatisches DNA-Sequenzieren	514
7.4	Genetische Erkrankungen	516
7.4.1	Autosomal dominante Krank- heiten	518
7.4.2	Autosomal rezessive Krankheiten	521
7.4.3	X-gekoppelte Krankheiten	523
	Zusammenfassung	524
	Methoden 13: Sequenzautomaten	525
7.5	Molekulare Krebsdiagnostik . .	527
7.5.1	Zytologische Verfahren	527
7.5.2	„Tumormarker“	528
7.5.3	Immunologische Verfahren zur CD-Typisierung	529
7.5.4	<i>In-situ</i> -Immunverfahren zum Nach- weis von Onkogenprodukten . . .	535
7.5.5	Zytogenetische Analysen zum Nachweis von Aneuploidie und Onkogen-Amplifikationen	536

7.5.6	Nukleinsäurediagnostik	536
7.5.7	DNA-Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus (RFLP)	537
7.5.8	Nachweis von Punktmutationen durch RNase-Spaltung	539
7.5.9	Nachweis von Punktmutationen durch Einzelstrang-Konformationspolymorphismus-Analyse (SSCP)	539
7.5.10	Nachweis eines Tumor-Risikos durch Verlust einer Heterozygotie	540
7.5.11	Analyse der RNA	541
7.5.12	Expressionsanalyse durch <i>Dot-Blot</i> -Verfahren	542
	Zusammenfassung	542
	Methoden 14: Durchflußzytometrie	543
7.6	Diagnose von Infektionskrankheiten	544
7.6.1	Virale Infektionen	544
7.6.1.1	Humanes Papillomavirus (HPV)	544
7.6.1.2	Herpes-Viren	544
7.6.1.3	Hepatitis-Viren	545
7.6.1.4	Humanes Immundefizienzvirus (HIV)	545
7.6.1.5	Humanes T-lymphozytotropes Virus (HTLV)	546
7.6.2	Bakterielle Infektionen	546
7.6.2.1	Infektionen durch Mycobakterium	546
7.6.2.2	Infektionen mit <i>Borrelia burgdorferi</i>	547
7.6.2.3	Bakterien des Gastrointestinaltraktes	547
7.6.2.4	Infektionen des Nervensystems	547
	Zusammenfassung	548
7.7	DNA-Charakterisierung in den forensischen Wissenschaften	549
7.7.1	DNA-Fingerprinting	549
7.7.2	Die Methode	551
7.7.3	Interpretation der Daten	552
7.7.4	Datenstatistik	552
7.7.5	Die Polymerase-Kettenreaktion	553
	Zusammenfassung	553

8

Molekularbiologische Ansätze zur Wirkstoff-Findung

557

- | | | | | | |
|---------|---|-----|---------|---|-----|
| 8.1 | Das Hybrid-Vektorsystem aus Hefe | 557 | 8.2.1.3 | Transformation des rekombinanten Phagenvektors in <i>E.-coli</i> -Zellen .. | 571 |
| 8.1.1 | Suche nach DNA-Bindeproteinen | 558 | 8.2.1.4 | Klonieren von Fab-Fragmenten .. | 573 |
| 8.1.2 | Suche nach Inhibitoren für DNA-bindende Proteine | 559 | 8.2.2 | <i>In-vitro</i> -Mutation durch fehlerhafte PCR | 575 |
| 8.1.3 | Suche nach Proteinen, die mit anderen Proteinen wechselwirken .. | 561 | 8.2.3 | „Phagen-Panning“: Selektion optimierter Antikörperfragmente | 576 |
| 8.1.4 | Suche nach Inhibitoren, die mit Protein/Protein-Wechselwirkungen interferieren | 562 | 8.2.4 | Konstruktion und Selektion wirksamer Peptide | 578 |
| | Zusammenfassung | 564 | 8.2.5 | Konstruktion und Selektion funktioneller Nukleinsäuren | 580 |
| | | | | Zusammenfassung | 581 |
| 8.2 | <i>In-vitro</i>-Evolution: Konstruktion neuer Wirkstoffe nach dem Zufallsprinzip | 565 | 8.3 | Molekularbiologische Kombinatorik | 582 |
| 8.2.1 | Rekombinante Antikörperfragmente („Phagen-Display“) | 565 | 8.3.1 | Herstellung neuer Peptidantibiotika durch „Domänen-shuffling“ | 582 |
| 8.2.1.1 | PCR-Amplifikation der cDNA-Bereiche für die variablen Regionen | 568 | 8.3.2 | Herstellung neuer Polyketide durch „Domänen-shuffling“ oder Precursor-Zufütterung | 584 |
| 8.2.1.2 | Klonierung der gebildeten Amplimere in einen Phagenvektor | 570 | | Zusammenfassung | 588 |

9

Sicherheitsaspekte

591

- | | | | | | |
|-------|--|-----|--------|--|-----|
| 9.1 | Das Gentechnikgesetz und die Regulierung gentechnischer Arbeiten in Deutschland | 591 | 9.1.6 | Überwachungs-, Auskunfts- und Duldungspflichten | 593 |
| 9.1.1 | Verordnungen zum Gentechnikgesetz | 591 | 9.1.7 | Haftungsregelungen | 593 |
| 9.1.2 | Gentechnische Arbeiten in gentechnischen Anlagen | 592 | 9.1.8 | Sicherheitskonzept für gentechnische Arbeiten in gentechnischen Anlagen | 594 |
| 9.1.3 | Genehmigungs- bzw. anmeldepflichtige Tatbestände | 592 | 9.1.9 | Die Maßnahmen zur Verwirklichung der Schutzziele | 594 |
| 9.1.4 | Verfahrensablauf | 592 | 9.1.10 | Beschreibung der Sicherheitsstufen | 594 |
| 9.1.5 | Freisetzungen und Inverkehrbringen | 593 | 9.1.11 | Sicherheitsmaßnahmen | 594 |
| | | | 9.1.12 | Anmelde- und Genehmigungsverfahren von gentechnischen Anlagen und Arbeiten | 595 |
| | | | 9.1.13 | Freisetzung und Inverkehrbringen | 595 |