

Inhaltsverzeichnis

Über die Autorin	9
<i>Einführung</i>	21
Über dieses Buch	21
Konventionen in diesem Buch	22
Was Sie nicht lesen müssen	22
Törichte Annahmen über den Leser	23
Wie dieses Buch aufgebaut ist	23
Teil I: Molekularbiologisches Grundwissen	23
Teil II: Das Werkzeug des Molekularbiologen	23
Teil III: Genomik–die Arbeit mit genetischem Material	24
Teil IV: Proteomik–die Arbeit mit den Genprodukten	24
Teil V: Molekularbiologie im Alltag	24
Teil VI: Der Top-Ten-Teil	24
Symbole, die in diesem Buch verwendet werden	25
Wie Sie dieses Buch lesen können	25
<i>Teil I</i>	
<i>Molekularbiologisches Grundwissen</i>	27
<i>Kapitel 1</i>	
<i>Was Molekularbiologie überhaupt ist</i>	29
Was geht uns Molekularbiologie an?	29
Genetik + Biochemie = Molekularbiologie	29
Molekularbiologie im »engen« Sinne: Nukleinsäuren und Proteine	33
Die DNA: Molekül der Vererbung	34
Die RNA: Kleine Schwester der DNA	35
Die Proteine: Perlenketten aus Aminosäuren	35
Molekularbiologie im »weiten« Sinne: Weitere Moleküle	36
<i>Kapitel 2</i>	
<i>Grundlagen der Molekularbiologie</i>	37
Aufbau der Zelle in Kürze	37
DNA-Verstecke in der eukaryotischen Zelle	39
RNA geht ihren eigenen Weg	41
Chromosomen sind Träger der Gene	42
Gene und Genstruktur	44
Der Fluss genetischer Information	45
Ein Gen – ein Protein – eine Eigenschaft	46
Die DNA als Träger genetischer Information	47
RNA als Übersetzerin genetischer Information	47
Proteine bestimmen die Vielfalt des Lebens	48

Kapitel 3

DNA – das Molekül des Lebens

51

DNA-Chemie oder warum eine (Nuklein-)Säure aus Basen aufgebaut ist	51
Grundbaustein Nummer eins: Die Basen	53
Grundbaustein Nummer 2: Der Zucker	54
Grundbaustein Nummer 3: Der Phosphatrest	56
Die Hälfte des DNA-Moleküls: Der Einzelstrang	57
Die Doppelhelix und etwas DNA-Physik	59
DNA-Wendeltreppe mit großen und kleinen Furchen	61
Chemische und physikalische Eigenschaften – oder was die DNA für ein Typ ist	62
Von Ränkespielen und Intrigen – oder wie man die DNA entdeckte	64

Kapitel 4

RNA – Transportunternehmen für genetische Information

67

Nur ein kleines bisschen anders als DNA	67
Ribose oder Sauerstoff macht aktiv	68
Uracil ist das Thymin der RNA	68
Einzelsträngigkeit macht RNA flexibel	69
Das RNA-Molekül ist vielseitig einsetzbar	70
Transkription: Aus DNA mach RNA	71
Ein bisschen anders als andere: Retroviren	74

Kapitel 5

Lebewesen sind aus Proteinen gemacht

77

Der genetische Code	77
Die Code-Sonne: Hilfsmittel zum Entschlüsseln	78
Degeneration ist halb so schlimm	80
Proteine sind Perlenketten aus Aminosäuren	81
Aminosäuren halten über Peptidbindungen zusammen	84
Nur gefaltet aktiv: Von der Primär- zur Quartärstruktur	85
Zu Besuch in einer Proteinfabrik	87
Die Translation: Aus RNA wird Protein	88
Genexpression: Alles unter Kontrolle hier!	89

Teil II

Das Werkzeug des Molekularbiologen

93

Kapitel 6

Die Hardware des Molekularbiologen

95

Die Grundausrüstung: Pipette & Co	95
Das Laborkarussell und andere Geräte	98
Keine Angst vor großen (und teuren) Geräten	103

Ordnung ist das halbe (Molekularbiologen-)Leben	105
Das Labor: Rumpelkammer oder Hochsicherheitstrakt?	107
Molekularbiologen arbeiten in Sicherheitsstufen	108
Weg damit: Wie man biologische Abfälle entsorgt	109
Alternativen zum Gift	110
Kapitel 7	
<i>Bakterien – die fleißigen Helfer des Molekularbiologen</i>	111
Wie man sich ein Bakterium hält	111
Das Medium macht's	113
Kuschelig muss es sein	114
Molekularbiologie–undenkbar ohne Helfer	115
Klonieren ist nicht Klonen, nur ein bisschen	115
Das Bakterium als Bioreaktor	118
Das Bakterium als Werkzeuglieferant	119
Welche Bakterien nehme ich?	120
Kapitel 8	
<i>Das Virus – der Kuckuck unter den Helfern</i>	123
Ein Virus ist kein lebender Helfer – oder doch?	124
Viren fangen mit sich allein nichts an	125
Was bei einer Infektion passiert	125
Wie der Molekularbiologe den Kuckuck nutzt	128
Klonieren – Das Wunsch-Gen isolieren	128
Gentherapie – Taxi in die Zelle, bitte!	129
Welches Virus nehme ich?	129
Kapitel 9	
<i>Enzyme – die Handwerker des Molekularbiologen</i>	133
Ohne Enzym läuft gar nichts	133
Handwerker und Werkzeug zugleich	134
Runter mit der Aktivierungsenergie	135
Manche mögen's heiß, andere überhaupt nicht	136
Des Molekularbiologen Lieblinge – ein Überblick	137
Die Schere	138
Der Klebstoff	143
Die Zerstörer	145
Das Arbeitstier	146
Ist teurer immer besser?	148
Kapitel 10	
<i>Vektoren – Die nützlichen Transporter</i>	149
Vektoren nehmen DNA-Moleküle mit	149
Plasmide – die Minis unter den Vektoren	150
Phagen – die Anhänger unter den Vektoren	152

Cosmide – die Kombis unter den Transportern	152
Künstliche Chromosomen – die Schwertransporter	153

Kapitel 11

Nukleinsäuren für alle Fälle: Synthetische Oligonukleotide 155

DNA und RNA auf Bestellung	155
So wird's gemacht	156
Oligos als Primer für PCR und Sequenzierung	156
Oligos als Sonden für Hybridisierungen	158
Mit Oligos die Herstellung krank machender Proteine blockieren	159

Kapitel 12

Lasst Roboter an die Bench: Laborautomation 163

Automation in der Molekularbiologie–wozu?	163
Automation für Arme	165
Laborautomatisierung für »Normalos«	167
Die Edelvariante der Laborautomatisierung	168
Zukunftsvision: mobile Roboterschwärme	169

Teil III

Genomik – die Arbeit mit genetischem Material 171

Kapitel 13

Molekularbiologische Standardmethoden: Die muss man können 173

Wie man Nukleinsäure aus Zellen isoliert	173
Die Extraktion genomischer DNA	174
DNA-Isolierung aus Plasmiden: Maxi- und Minipräp	176
Die Isolierung von Phagen-DNA	178
Die RNA-Isolierung	179
Wie Sie die Konzentration von Nukleinsäuren bestimmen	183
Wie man's macht: Doppelsträngige DNA	183
Wie man's macht: Oligos und RNA	185
Wie man's macht: Den »Schmutz« bestimmen	185
Nukleinsäure isoliert–und dann?	186
Wie man Nukleinsäuren manipuliert	186
Fang mich auf Membran: DNA und RNA blotten	188
Ab in den Süden: Der Southern Blot	189
Auf in den Norden: Der Northern Blot	191
Suche Partner für gemeinsame Bindung: Die Hybridisierung	192
Aus RNA mach cDNA: Die reverse Transkription	195

Kapitel 14	
Die Elektrophorese – Wettlauf der Nukleinsäuren	199
Wie die Nukleinsäure zum Pluspol wandert	199
Für Anfänger: Die Agarose-Gelelektrophorese	202
Einmal Farbe für die Nukleinsäure, bitte! (Teil 1)	206
Für Fortgeschrittene: Die Polyacrylamid-Gelelektrophorese	208
Farbe & Co. für die Nukleinsäure (Teil 2)	210
RNA – ein Spezialfall?	212
Nukleinsäuren getrennt – was dann?	212
Für Leute mit Geld, vielen Proben oder wenig Zeit:	
Die Kapillar-Gelelektrophorese	214
Kapitel 15	
Die Polymerase-Kettenreaktion PCR – Kopierer für Nukleinsäuren	217
(Fast) alles dreht sich um die PCR	217
Was man alles braucht: Oligos, Arbeitstiere und mehr	218
Wie es funktioniert: Trennen, binden und kopieren	222
PCR und dann?	226
PCR noch raffinierter	230
Verschachtelt: Die Nested-PCR	230
Mehrere auf einmal: Die Multiplex-PCR	231
Mit RNA gemacht: Die Reverse Transkriptase-PCR (RT-PCR)	231
Live dabei: Die Real-Time-PCR	232
Zufällig: RAPD & Kollegen	234
Kapitel 16	
Klonieren: 1x schneiden, kleben und vervielfältigen, bitte!	237
Massenhafte DNA-Vermehrung	237
Klonierung zum ersten: Die Kopiervorlage	239
Klonierung zum zweiten: Der Vektor	242
Klonierung zum dritten: Die Ligation	244
Klonierung zum vierten: Die Transformation	245
Klonierung zum fünften: Selektion und Vermehrung	246
Aufbewahrungsinstitut für Gene: Die Genbank	248
Das komplette Genom als Genbank	249
Mitten aus dem Leben: Die cDNA-Bank	249
Kapitel 17	
Sequenzanalyse: Den Nukleinsäure-Code übersetzen	251
Der direkte Weg: Die Sequenzierung	252
Die Sanger-Methode: Kettenabbruch macht's möglich	252
Die Maxam-Gilbert-Methode: Spaltung statt Abbruch	262

Next-Generation-Sequencing: Schneller, günstiger und mehr im Ultra-Hochdurchsatz	262
Der indirekte Weg: Unterschiede entdecken ohne Sequenzierung	265
RFLP: Der Schnitt macht den Unterschied	266
SSCP: Ja, wo laufen sie denn?	268
Repetitive DNA: Der Unterschied steckt im Müll	269
Snips: Klein, aber oho!	276
Alles Mini oder was: Wie man Snips untersucht	278
Die Genkarte: Eine Landkarte fürs Erbgut	280
Die genetische Kartierung: Zusammen oder getrennt?	281
Die physikalische Kartierung: Chromosom gesucht	285

Kapitel 18

Auf der Suche nach dem Sinn: Der Weg zur Genfunktion **289**

Genexpressionsstudien: Wie aktiv ist das Gen?	290
Das »Wie viel«: Quantitative Genexpressionsanalyse	290
Scharf auf Einzelstränge: Nuklease S1-Analyse und Ribonuclease Protection Assay	291
Das »Wo«: Qualitative Genexpressionsanalyse	293
Expressionsstudien auf Fingernagelgröße: Microarrays	294
Genexpression live untersuchen: Mach mir das Protein!	296
Transfektion: Wie das Gen in die Zelle kommt	298
Öfter mal was Neues: Die Mutagenese	298
So wird's gemacht: Das Erbgut verändern	299
Gen abgeschaltet: Knock-out-Mäuse	300
Fremdgegangen: Transgene Organismen	303
Laterne fürs Gen: Das Green Fluorescent Protein GFP	305
Tintenkiller fürs Gen: Genome Editing	306
Zinkfingernukleasen: Mutagenese per Designer-Enzym	306
Mit TALENs ganz einfach zum Wunsch-Gen	308
CRISPR-Cas9-System: Gene editieren für jedermann	310

Teil IV

Proteomik – die Arbeit mit den Genprodukten **315**

Kapitel 19

Mit den Genprodukten forschen: Proteine im Labor **317**

Proteomik – die Arbeit der Proteinfreunde	318
Proteinanalytik: Das grundlegende Handwerkszeug des Proteomikers	321
Die Proteinisolierung: Keine 08/15-Methode	322
Die Menge bestimmen: Darf's ein bisschen Farbe sein?	328
Riesenmoleküle handlich machen: Die Proteinspaltung	330
Wettlauf der Proteine: Die Elektrophorese	332
Proteinsequenzierung: Die Primärstruktur entschlüsseln	342
Massenspektrometrie: Auch Proteine können fliegen	345

Kapitel 20

Beziehungstests für Biomoleküle:

Protein-Protein-Interaktionen erforschen 349

Proteine – Freunde für's Leben?	350
Wie man Protein-Interaktionen untersucht	351
Klassiker für Beziehungskisten: Das Yeast-Two-Hybrid-System	351
Freunde machen Lichtsignale: Die FRET-Methode	354
Partnerschaftstests im Miniformat: Proteinchips	354

Teil V

Molekularbiologie im Alltag 357

Kapitel 21

Jedem das Seine: Personalisierte Medizin und Pharmakogenomik 359

Was Pharmakogenomik ist	360
Warum Menschen mit gleicher Krankheit verschieden auf gleiche Behandlungen reagieren	360
Personalisierte Medizin durch Genotypisierung	364

Kapitel 22

Genchips & Co: Das molekularbiologische Mini-Labor 367

Chips in verschiedenen Geschmacksrichtungen	368
Beim Genchip macht's die Wasserstoffbrücke	369
Beim Proteinchip macht's die Spezifität	371

Kapitel 23

Serviceunternehmen Zelle: Proteine auf Bestellung 373

Molekülproduktion mit Hilfestellung: Rekombinante Proteine	374
Insulinproduktion mit Bakterienhilfe	376
Muteine: Künstliche Proteinvarianten	378
Milliardenmarkt der rekombinanten Proteine	380

Kapitel 24

Molekularbiologie in Landwirtschaft und Ernährung 381

Warum will man Tiere klonen?	381
Gene Pharming: Medikamente aus Euter, Blatt & Co.	386
Transgene Tiere: Die Milch macht's	386
Transgene Pflanzen: Grüne Pharmafabriken	387
Xenotransplantationen: Tiere als Lebensretter für Schwerkranken?	388
Genfood: Auf dem Weg zur Designer-Nahrung	389
Functional Food und Gentechnik	390
Ist Genfood gefährlich?	391

Nutrigenomik: Ernährungsplan nach Genprofil	393
Bioethik: Was darf die Molekularbiologie?	397
Beispiel aus der Bioethik: Gentechnisch veränderte Lebewesen	398

Teil VI

Der Top-Ten-Teil 401

Kapitel 25

Die zehn plus vier wichtigsten Standard-Lösungen des Molekularbiologen 403

Puffer: Ausgleich für den pH-Wert	403
Ladepuffer für Elektrophoresegele	405
Lösungen für die Hybridisierung	406
Bakterienmedien: Nahrung für die Helfer	406

Kapitel 26

Zehn plus zwei nützliche Internetadressen für (angehende) Molekularbiologen 409

Die offizielle Nobelpreis-Seite	409
Deutsches Referenzzentrum für Ethik in den Biowissenschaften	410
Laborjournal online	410
Medizinische und molekularbiologische Datenbanken	410
Quiz mit Dr. Axolotl und mehr	410
Das Rezeptbuch für die Molekularbiologie	411
Die Enzymseite	411
Die European Molecular Biology Organisation	411
Das National Center for Biotechnology Information	411
Die wichtigste Protein-Datenbank	412
DNA from the Beginning	412
DNA Learning Center des Cold Spring Harbor Laboratory	412

Stichwortverzeichnis 413

Einführung

Sie finden, dass sich »Molekularbiologie« trocken anhört? »Moleküle« rufen in Ihnen Erinnerungen an den Chemieunterricht wach, als Sie sich mit Reaktionsgleichungen quälen mussten und man ihnen bestenfalls dazu noch Molekülmodelle chemischer Substanzen gezeigt hat? Und »Biologie« ist auch nicht gerade beliebt und erinnert Sie vielleicht eher an abstrakte Einzeller oder Pflanzensystematik als an spannende Experimente?

Nicht so »DIE MOLEKULARBIOLOGIE«, wie sie heute in Labors auf der ganzen Welt praktiziert wird. Diese moderne Wissenschaft ist eine richtig spannende Sache – kein bisschen trocken, sie geht jeden einzelnen von uns ganz persönlich an! Und ist deshalb wichtig, sehr wichtig sogar, denn sie beschäftigt sich mit dem Code des Lebens und wird oft auch »DIE LEBENSWISSENSCHAFT« genannt. Das behaupte ich nicht nur, weil ich ein Buch darüber geschrieben habe. Die Molekularbiologie geht den Geheimnissen des Lebens auf den Grund – wie Leben funktioniert und wie man es für Mensch und Umwelt möglichst lange (lebenswert) erhalten kann.

Molekularbiologen erforschen die Grundlagen des Lebens. Sie beschäftigen sich mit Nucleinsäuren und den Proteinen – den Molekülen also, auf denen jede Art von Leben gründet – ob das von uns Menschen, Tieren, Pflanzen oder Bakterien. Diese Moleküle sind dafür verantwortlich, wie wir aussehen und wie gut unser Körper funktioniert. Bereits als ich zum ersten Mal von Vererbung, DNA und RNA gehört hatte, packte mich die Faszination, die vom Geheimnis um den Code des Lebens ausgeht – ich erinnere mich noch genau daran. Von da an habe ich versucht, möglichst viel über die Moleküle des Lebens zu erfahren und zu lernen, wie man mit ihnen umgeht. Ich bin noch immer und immer wieder begeistert, welche Geheimnisse die Molekularbiologie zutage fördert. In diesem Buch habe ich versucht, Ihnen etwas von dieser Faszination weiterzugeben – es wäre schön, wenn es mir gelungen wäre. Außerdem ist es mir ein Anliegen, Sie mit dem nötigen Hintergrundwissen in die Lage zu versetzen, sich eine eigene Meinung zu bilden über den Sinn (und manchmal natürlich auch den Unsinn) der molekularbiologischen Forschungsergebnisse, die in den Labors produziert werden. Bei der Berichterstattung unserer Medien und angesichts mancher Wissenschaftler oder Mitmenschen, die laut ihre Meinung über alle Art von Molekularbiologie kundtun, ist das manchmal gar nicht so einfach – da muss man sich gut auskennen. Ich hoffe sehr, dass Sie dies nach der Lektüre der folgenden Kapitel tun!

Über dieses Buch

Molekularbiologie für Dummies möchte Ihnen einen umfassenden Überblick über die beiden großen Teilgebiete der Molekularbiologie – Genomik und Proteomik – geben. Dieses Buch wird Sie über theoretische Erkenntnisse informieren, die Molekularbiologen in den letzten Jahren gewonnen haben, Sie in die praktische Arbeit in einem molekularbiologischen Labor einführen und mit den wichtigsten Methoden bekannt machen, die zur täglichen Arbeit des Molekularbiologen gehören. Ich habe dabei versucht, den Text möglichst so zu gestalten, dass