

# Inhaltsverzeichnis

Teil I	Grundlagen der Molekularbiologie .....	9
<b>1</b>	<b>Aufbau und Eigenschaften von Nukleinsäuren.....</b>	<b>10</b>
1.1	Nukleotide als Bausteine von Nukleinsäuren .....	10
1.2	Bestandteile und Struktur der DNA .....	12
1.3	Verpackung der DNA in Chromosomen .....	15
1.4	Bestandteile, Struktur und Formen der RNA .....	17
<b>2</b>	<b>Prinzipien der Informationsweitergabe .....</b>	<b>18</b>
2.1	Zellzyklus und Ablauf der Mitose .....	18
2.2	Replikation der DNA .....	20
2.3	Replikationsfehler und ihre Korrektur .....	23
<b>3</b>	<b>Vom Gen zum Merkmal: Die Genexpression .....</b>	<b>24</b>
3.1	Transkription .....	24
3.1.1	mRNA-Reifung bei Eukaryonten .....	26
3.2	Der genetische Code .....	27
3.3	Translation .....	29
3.4	Modifikation und Transport der neusynthetisierten Proteine.....	33
3.5	Regulation der Genexpression .....	34
Teil II	Gentechnische Methoden und ihre Anwendung .....	37
<b>4</b>	<b>Das Enzymrepertoire der Gentechnik .....</b>	<b>38</b>
4.1	Nukleasen .....	38
4.2	Restriktionsendonukleasen .....	40
4.3	Ligasen .....	44

4.4	Polymerasen .....	46
<b>5</b>	<b>Methoden zur Isolierung von Nukleinsäuren .....</b>	<b>50</b>
5.1	Isolierung von genomischer DNA .....	50
5.2	Isolierung von Plasmid- und Phagen-DNA .....	53
5.3	Isolierung von RNA und mRNA .....	55
5.4	Reverse Transkription (cDNA-Synthese) .....	58
5.5	Bestimmung der Nukleinsäure-Konzentration ....	60
<b>6</b>	<b>Gelelektrophoresen .....</b>	<b>62</b>
6.1	Trägerstoffe für Gelelektrophoresen .....	64
6.1.1	Agarosegele .....	64
6.1.2	Polyacrylamidgele .....	65
6.2	Nachweis der Nukleinsäuren in einem Gel .....	65
6.3	Isolierung von DNA-Fragmenten aus Gelen .....	66
6.4	Gelelektrophoretische Auftrennung von RNA ....	68
<b>7</b>	<b>Prinzipien und Methoden der DNA-Klonierung .....</b>	<b>70</b>
7.1	Vektoren: Vehikel für den Gentransfer .....	71
7.1.1	Plasmide .....	71
7.1.2	Bakteriophagen .....	74
7.1.3	Cosmide und YACs .....	77
7.2	Durchführung einer Klonierung mit einem Plasmidvektor .....	79
7.2.1	Herstellung rekombinanter DNA .....	80
7.2.2	Erzeugung kompetenter Bakterienzellen .....	81
7.2.3	Transformation von <i>E.-coli</i> -Zellen mit einem rekombinanten Plasmid .....	82
7.2.4	Selektion rekombinanter Bakterienzellen .....	82
7.2.5	Vermehrung des gewünschten Klons und Isolierung rekombinanter Plasmid-DNA .....	85
7.3	Herstellung von DNA-Banken .....	85
	Zusammenfassung DNA-Klonierung .....	89
<b>8</b>	<b>PCR: Vermehrung von DNA ohne Klonierung .....</b>	<b>90</b>
8.1	Grundprinzipien der PCR .....	90
8.2	Anwendungen der PCR .....	97
8.2.1	PCR mit degenerierten Primern .....	97
8.2.2	RT-PCR .....	99

8.2.3	Quantitative Real-time PCR .....	101
8.2.4	Herstellung genetischer Fingerabdrücke .....	105
<b>9</b>	<b>Sequenzierung von DNA .....</b>	<b>108</b>
9.1	Methoden zur DNA-Sequenzierung .....	108
9.1.1	Sanger-Coulson-Methode (Kettenabbruch- methode) .....	108
9.1.2	Maxam-Gilbert-Methode .....	110
9.2	Markierung und Detektion der im Ketten- abbruchverfahren entstandenen Fragmente .....	112
9.2.1	Radioaktive Markierung und Detektion über Autoradiographie .....	113
9.2.2	Nichtradioaktive Markierung mit Fluores- zenzfarbstoffen und Detektion mittels Laser .....	114
<b>10</b>	<b>Blotting und Hybridisieren .....</b>	<b>116</b>
10.1	Methoden des Blottings .....	116
10.1.1	Southern Blot .....	117
10.1.2	Northern Blot .....	119
10.1.3	Screening von cDNA- und genomischen Genbanken .....	120
10.2	Herstellung der Sonden, Markierung von DNA ..	121
10.2.1	Markierung der Sonden über Nick-Translation ..	122
10.2.2	Markierung der Sonden über Oligolabelling oder PCR .....	122
10.3	Hybridisieren und Detektion .....	123
10.3.1	Nachweis der gebundenen Sonde über Autoradiographie .....	124
10.3.2	Immunologischer Nachweis nicht-radioaktiv markierter Sonden .....	124
	Zusammenfassung Blotting, Hybridisieren und Detektion .....	125
<b>11</b>	<b>Analyse der Genexpression mit Hilfe von Microarrays (Gen-Chips) .....</b>	<b>128</b>
	Literatur.....	132
	Bildquellen .....	133
	Glossar und Abkürzungsverzeichnis .....	134
	Stichwortverzeichnis .....	140