Inhalt

Vorwort des Autors zur deutschen Ausgabe	9
Vorwort zur zweiten englischen Auflage	10
Vorwort zur ersten englischen Auflage	12

I. Grundprinzipien der DNA-Klonierung

1. Die Bedeutung der DNA-Klonierung	15
1.1 Frühe Entwicklungen in der Genetik	15
1.2 Die Entwicklung der DNA-Klonierung	15
1.3 Was ist DNA-Klonierung?	16
1.4 Zur DNA-Klonierung sind spezielle Hilfsmittel und Methoden erforderlich	16
1.5 Warum ist die DNA-Klonierung so wichtig?	19
1.6 Die Bedeutung des Klonierens für Forschung und Biotechnologie	21
Literatur	22
2. Vektoren: Plasmide und Bakteriophagen	23
2.1 Plasmide	23
2.2 Bakteriophagen	28
Literatur	36
3. Die Reinigung von DNA aus lebenden Zellen	37
3.1 Die Präparation der gesamten Zell-DNA	37
3.2 Die Präparation von Plasmid-DNA	44
3.3 Die Präparation von Bakteriophagen-DNA	51
Literatur	57
4. Die Manipulation der gereinigten DNA	58
4.1 Das Spektrum der Enzyme zur DNA-Manipulation	59
4.2 Enzyme zum Schneiden der DNA: Restriktionsendonucleasen	65
4.3 Ligation: Das Verbinden von DNA-Molekülen	81
Literatur	89
5. Das Einführen von DNA in lebende Zellen	90
5.1 Transformation: Die Aufnahme von DNA durch Bakterienzellen	93
5.2 Die Selektion der Rekombinanten	96
5.3 Das Einführen von Phagen-DNA in Bakterienzellen	101
5.4 Die Selektion rekombinierter Phagen	104
5.5 Transformation eukaryotischer Zellen	106
Literatur	108

6. Klonierungsvektoren für <i>E. coli</i>	109
6.1 Klonierungsvektoren auf der Grundlage von <i>E. coli</i> -Plasmiden	109
6.2 Klonierungsvektoren auf der Grundlage des Bakteriophagen M13	114
6.3 Klonierungsvektoren auf der Grundlage des Bakteriophagen λ	123
6.4 Vektoren für andere Bakterien	132
Literatur	132
7. Klonierungsvektoren für andere Organismen als <i>E. coli</i>	134
7.1 Vektoren für Hefe und andere Pilze	134
7.2 Klonierungsvektoren für höhere Pflanzen	142
7.3 Klonierungsvektoren für Säugerzellen	152
Literatur	154

II. Die Anwendung der Klonierung bei der Untersuchung von Genen

8. Die Gewinnung eines Klons von einem bestimmten Gen	157
8.1 Das Problem der Selektion	157
8.2 Direkte Selektion	159
8.3 Die Suche nach Klonen in einer Genbibliothek	163
8.4 Methoden zur Identifizierung von Klonen	167
Literatur	180
9. Positions- und Strukturuntersuchungen von Genen	181
9.1 Die Bestimmung der Lage eines klonierten Gens	181
9.2 DNA-Sequenzierung: Die Feinanalyse der Genstruktur	190
9.3 Weitere Methoden zur Grobuntersuchung der Genstruktur	197
Literatur	202
10. Die Untersuchung der Genexpression	203
10.1 Die Analyse der Transkripte klonierter Gene	203
10.2 Die Untersuchung der Expressionsregulation von Genen	208
10.3 Nachweis und Untersuchung des Translationsprodukts eines klonierten Gens	216
Literatur	224

III. DNA-Klonierung in Forschung und Biotechnologie

11. Die Proteinproduktion mit klonierten Genen	227
11.1 Gene aus höheren Organismen werden in <i>E. coli</i> normalerweise nicht exprimiert	229
11.2 Expressionsvektoren	230
11.3 Kassettenvektoren liefern alle erforderlichen Expressionssignale	235

11.4 Allgemeine Probleme bei der gentechnischen Proteinproduktion in <i>E. coli</i>	238
11.5 Gentechnische Proteinproduktion mit Eukaryotenzellen	241
Literatur	246
12. DNA-Klonierung in der Medizin	247
12.1 Arzneimittelproduktion	247
12.2 Gentechnische Impfstoffherstellung	255
12.3 Die Suche nach Erbkrankheiten	259
12.4 Der Nachweis des Gens für Cystische Fibrose	262
Literatur	267
Weiterführende Literatur	268
Glossar	269
Index	281