

T. A. Brown

# Gentechnologie für Einsteiger

3. Auflage

Aus dem Englischen übersetzt  
von Sebastian Vogel

Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg • Berlin

# Inhalt

<b>Vorwort</b>	<b>IX</b>
Vorwort zur dritten englischen Auflage	X
Vorwort zur zweiten englischen Auflage	XI
Vorwort zur ersten englischen Auflage	XIII
<b>I. Grundprinzipien der Klonierung und DNA-Analyse</b>	<b>1</b>
<b>1. Warum sind Klonierung und DNA-Analyse so wichtig?</b>	<b>3</b>
1.1 Frühe Entwicklungen in der Genetik	3
1.2 Die Entwicklung der DNA-Klonierung und die Polymerasekettenreaktion	4
1.3 Was ist DNA-Klonierung?	5
1.4 Was ist PCR?	5
1.5 Warum sind DNA-Klonierung und PCR so wichtig?	8
1.6 Ein Wegweiser durch dieses Buch	13
Literatur	14
<b>2. Klonierungsvektoren: Plasmide und Bakteriophagen</b>	<b>15</b>
2.1 Plasmide	15
2.2 Bakteriophagen	21
Literatur	30
<b>3. Die Reinigung von DNA aus lebenden Zellen</b>	<b>31</b>
3.1 Die Präparation der gesamten Zell-DNA	31
3.2 Die Präparation von Plasmid-DNA	42
3.3 Die Präparation von Bakteriophagen-DNA	49
Literatur	56
<b>4. Die Manipulation der gereinigten DNA</b>	<b>57</b>
4.1 Das Spektrum der Enzyme zur DNA-Manipulation	58
4.2 Enzyme zum Schneiden der DNA: Restriktionsendonucleasen	65
4.3 Ligation: Das Verbinden von DNA-Molekülen	83
Literatur	92

<b>5. Das Einführen von DNA in lebende Zellen</b>	<b>93</b>
5.1 Transformation: Die Aufnahme von DNA durch Bakterienzellen	96
5.2 Die Identifizierung von Rekombinanten	100
5.3 Das Einführen von Phagen-DNA in Bakterienzellen	106
5.4 Die Identifizierung rekombinierter Phagen	109
5.5 Transformation eukaryotischer Zellen	111
Literatur	114
<b>6. Klonierungsvektoren für <i>E. coli</i></b>	<b>115</b>
6.1 Klonierungsvektoren auf der Grundlage von <i>E. coli</i> -Plasmiden	116
6.2 Klonierungsvektoren auf der Grundlage des Bakteriophagen M13	123
6.3 Klonierungsvektoren auf der Grundlage des Bakteriophagen <i>X</i>	131
6.4 Mit <i>X</i> - und anderen Vektoren mit hoher Kapazität kann man genomische Bibliotheken konstruieren	140
6.5 Vektoren für andere Bakterien	141
Literatur	142
<b>7. Klonierungsvektoren für Eukaryoten</b>	<b>143</b>
7.1 Vektoren für Hefe und andere Pilze	143
7.2 Klonierungsvektoren für höhere Pflanzen	153
7.3 Klonierungsvektoren für Tiere	164
Literatur	170
<b>8. Die Gewinnung eines Klons von einem bestimmten Gen</b>	<b>173</b>
8.1 Das Problem der Selektion	173
8.2 Direkte Selektion	175
8.3 Die Suche nach Klonen in einer Genbibliothek	179
8.4 Methoden zur Identifizierung von Klonen	182
Literatur	197
<b>9. Die Polymerasekettenreaktion (PCR)</b>	<b>199</b>
9.1 Die Polymerasekettenreaktion im Überblick	199
9.2 Die PCR: einige Einzelheiten	202
9.3 Probleme mit der Fehlerhäufigkeit der $Taq$ -Polymerase	213
Literatur	214

<b>II. Die Anwendung der Klonierung und DNA-Analyse in der Forschung</b>	<b>215</b>
<b>10. Untersuchungen der Lage und Struktur von Genen</b>	<b>217</b>
10.1 Die Bestimmung der Lage eines klonierten Gens	217
10.2 DNA-Sequenzierung: Die Feinanalyse der Genstruktur	225
Literatur	238
<b>11. Die Untersuchung der Genexpression und Genfunktion</b>	<b>239</b>
11.1 Die Analyse der Transkripte klonierter Gene	240
11.2 Die Untersuchung der Expressionsregulation von Genen	248
11.3 Nachweis und Untersuchung des Translationsprodukts eines klonierten Gens	258
Literatur	269
<b>12. Genomanalyse</b>	<b>271</b>
12.1 Genomik: wie man ein Genom sequenziert	272
12.2 Postgenomik: der Versuch, die Sequenz eines Genoms zu verstehen	285
12.3 Analyse von Transkriptom und Proteom	290
Literatur	295
<b>III. Anwendungen der Klonierung und DNA-Analyse in der Biotechnologie</b>	<b>297</b>
<b>13. Die Proteinproduktion mit klonierten Genen</b>	<b>299</b>
13.1 Spezielle Vektoren für die Expression fremder Gene in <i>E. coli</i>	302
13.2 Allgemeine Probleme mit der gentechnischen Proteinproduktion in <i>E. coli</i>	311
13.3 Gentechnische Proteinproduktion mit Eukaryotenzellen	314
Literatur	320
<b>14. Klonierung und DNA-Analyse in der Medizin</b>	<b>323</b>
14.1 Gentechnische Arzneimittelproduktion	323
14.2 Identifizierung krankheitserzeugender Gene beim Menschen	335
14.3 Gentherapie	340
Literatur	344
<b>15. Klonierung und DNA-Analyse in der Landwirtschaft</b>	<b>345</b>
15.1 Das Hinzufügen von Genen bei Pflanzen	346
15.2 Inaktivierung von Genen	352

## Inhalt

15.3 Probleme mit gentechnisch veränderten Pflanzen	358
Literatur	361
<b>16. Klonierung und DNA-Analyse in Kriminalistik und Gerichtsmedizin</b>	<b>363</b>
16.1 DNA-Analyse zur Identifizierung Tatverdächtiger	363
16.2 Verwandtschaftsnachweis durch DNA-Typisierung	367
16.3 Geschlechtsbestimmung durch DNA-Analyse	370
Literatur	374
<b>Glossar</b>	<b>375</b>
<b>Index</b>	<b>397</b>