

Auf einen Blick

| | |
|---|------------|
| Über die Autorin | 9 |
| Einführung | 21 |
| Teil I: Molekularbiologisches Grundwissen | 27 |
| Kapitel 1: Was Molekularbiologie überhaupt ist | 29 |
| Kapitel 2: Grundlagen der Molekularbiologie | 39 |
| Kapitel 3: DNA – das Molekül des Lebens | 53 |
| Kapitel 4: RNA – Transportunternehmen für genetische Information | 69 |
| Kapitel 5: Lebewesen sind aus Proteinen gemacht | 79 |
| Teil II: Das Werkzeug des Molekularbiologen | 95 |
| Kapitel 6: Die Hardware des Molekularbiologen | 97 |
| Kapitel 7: Bakterien – die fleißigen Helfer des Molekularbiologen | 115 |
| Kapitel 8: Das Virus – der Kuckuck unter den Helfern | 127 |
| Kapitel 9: Enzyme – die Handwerker des Molekularbiologen | 139 |
| Kapitel 10: Vektoren – die nützlichen Transporter | 155 |
| Kapitel 11: Nukleinsäuren für alle Fälle: Synthetische Oligonukleotide | 161 |
| Kapitel 12: Lasst Roboter an die Bench: Laborautomation | 169 |
| Teil III: Genomik – die Arbeit mit genetischem Material | 177 |
| Kapitel 13: Molekularbiologische Standardmethoden: Die muss man können | 179 |
| Kapitel 14: Die Elektrophorese – Wettlauf der Nukleinsäuren | 205 |
| Kapitel 15: Die Polymerase-Kettenreaktion PCR – Kopierer für Nukleinsäuren | 223 |
| Kapitel 16: Klonieren: Einmal schneiden, kleben und vervielfältigen, bitte! | 243 |
| Kapitel 17: Sequenzanalyse: Den Nukleinsäure-Code übersetzen | 257 |
| Kapitel 18: Auf der Suche nach dem Sinn: Der Weg zur Genfunktion | 293 |
| Kapitel 19: Tintenkiler fürs Gen: Genome Editing | 311 |
| Teil IV: Proteomik – die Arbeit mit den Genprodukten | 325 |
| Kapitel 20: Mit den Genprodukten forschen: Proteine im Labor | 327 |
| Kapitel 21: Beziehungstests für Biomoleküle: Protein-Protein-Interaktionen erforschen | 359 |
| Teil V: Molekularbiologie im Alltag | 367 |
| Kapitel 22: Jedem das Seine: Personalisierte Medizin und Pharmakogenomik | 369 |
| Kapitel 23: Genchips und Co: Das molekularbiologische Minilabor | 377 |

12 Auf einen Blick

Kapitel 24: Serviceunternehmen Zelle: Proteine auf Bestellung 383

Kapitel 25: Molekularbiologie in Landwirtschaft und Ernährung 393

Teil VI: Der Top-Ten-Teil **413**

Kapitel 26: Die zehn (plus vier) wichtigsten Standardlösungen des
Molekularbiologen 415

Kapitel 27: Zehn plus zwei nützliche Internetadressen für (angehende)
Molekularbiologen 421

Stichwortverzeichnis **427**

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|-----------|
| Über die Autorin | 9 |
| Über die Fachkorrektorin | 9 |
| Einführung | 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 | 24 |
| 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 es weitergeht | 25 |

TEIL I **MOLEKULARBIOLOGISCHES GRUNDWISSEN**

| | |
|--|-----------|
| Kapitel 1 Was Molekularbiologie überhaupt ist | 29 |
| Was geht uns Molekularbiologie an? | 29 |
| Genetik + Biochemie = Molekularbiologie | 30 |
| Molekularbiologie im »engen« Sinne: Nukleinsäuren und Proteine | 34 |
| 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 |

| | |
|---|-----------|
| Kapitel 2 Grundlagen der Molekularbiologie | 39 |
| Aufbau der Zelle in Kürze | 39 |
| DNA-Verstecke in der eukaryotischen Zelle | 42 |
| RNA geht ihren eigenen Weg | 43 |
| Chromosomen sind Träger der Gene | 44 |
| Gene und Genstruktur | 46 |
| Der Fluss genetischer Information | 47 |
| Ein Gen – ein Protein – eine Eigenschaft | 48 |
| Die DNA als Träger genetischer Information | 49 |
| RNA als Übersetzerin genetischer Information | 49 |
| Proteine bestimmen die Vielfalt des Lebens | 50 |

Kapitel 3**DNA – das Molekül des Lebens 53**

| | |
|--|----|
| DNA-Chemie oder warum eine (Nuklein-)Säure aus Basen aufgebaut ist | 53 |
| Grundbaustein Nummer eins: Die Basen..... | 55 |
| Grundbaustein Nummer zwei: Der Zucker | 56 |
| Grundbaustein Nummer drei: Der Phosphatrest | 58 |
| Die Hälfte des DNA-Moleküls: Der Einzelstrang | 59 |
| Die Doppelhelix und etwas DNA-Physik..... | 60 |
| DNA-Wendeltreppe mit großen und kleinen Furchen | 62 |
| Chemische und physikalische Eigenschaften – oder was die DNA für ein Typ ist..... | 63 |
| Von Ränkespielen und Intrigen – oder wie man die DNA entdeckte | 65 |

Kapitel 4**RNA – Transportunternehmen für genetische Information..... 69**

| | |
|---|----|
| Nur ein kleines bisschen anders als DNA..... | 69 |
| Ribose oder Sauerstoff macht aktiv | 70 |
| Uracil ist das Thymin der RNA | 70 |
| Einzelsträngigkeit macht RNA flexibel..... | 71 |
| Das RNA-Molekül ist vielseitig einsetzbar | 71 |
| Transkription: Aus DNA mach RNA..... | 73 |
| Ein bisschen anders als andere: Retroviren..... | 76 |

Kapitel 5**Lebewesen sind aus Proteinen gemacht 79**

| | |
|---|----|
| Der genetische Code..... | 79 |
| Die Code-Sonne: Hilfsmittel zum Entschlüsseln | 81 |
| Degeneration ist halb so schlimm | 82 |
| Proteine sind Perlenketten aus Aminosäuren..... | 83 |
| Aminosäuren halten über Peptidbindungen zusammen..... | 86 |
| Nur gefaltet aktiv: Von der Primär- zur Quartärstruktur | 87 |
| Zu Besuch in einer Proteinfabrik..... | 88 |
| Die Translation: Aus RNA wird Protein | 89 |
| Genexpression: Alles unter Kontrolle! | 91 |

TEIL II**DAS WERKZEUG DES MOLEKULARBIOLOGEN 95****Kapitel 6****Die Hardware des Molekularbiologen..... 97**

| | |
|---|-----|
| Die Grundausrüstung: Pipette und Co..... | 97 |
| Das Laborkarussell und andere Geräte | 100 |
| Keine Angst vor großen (und teuren) Geräten | 105 |
| Ordnung ist das halbe (Molekularbiologen-)Leben | 107 |
| Das Labor: Rumpelkammer oder Hochsicherheitstrakt?..... | 110 |
| Molekularbiologen arbeiten in Sicherheitsstufen..... | 111 |
| Weg damit: Wie man biologische Abfälle entsorgt | 112 |

Alternativen zum Gift. 112
 Biohacking: Das Labor in der eigenen Garage. 113

Kapitel 7
Bakterien – die fleißigen Helfer des Molekularbiologen. 115

Wie man sich ein Bakterium hält. 116
 Das Medium macht's. 117
 Kuschelig muss es sein 118
 Molekularbiologie – undenkbar ohne Helfer. 119
 Klonieren ist nicht Klonen, nur ein bisschen 120
 Das Bakterium als Bioreaktor. 122
 Das Bakterium als Werkzeuglieferant. 123
 Welche Bakterien nehme ich? 124

Kapitel 8
Das Virus – der Kuckuck unter den Helfern 127

Ein Virus ist kein lebender Helfer, oder? 128
 Viren fangen mit sich allein nichts an 128
 Was bei einer Infektion passiert. 129
 Wie der Molekularbiologe den Kuckuck nutzt. 132
 Klonieren – das Wunsch-Gen isolieren. 132
 Gentherapie – Taxi in die Zelle, bitte! 133
 Welches Virus nehme ich? 134

Kapitel 9
Enzyme – die Handwerker des Molekularbiologen 139

Ohne Enzym läuft gar nichts 139
 Handwerker und Werkzeug zugleich 140
 Runter mit der Aktivierungsenergie 141
 Manche mögen's heiß, andere überhaupt nicht 142
 Des Molekularbiologen Lieblinge – ein Überblick. 143
 Die Schere. 144
 Der Klebstoff. 149
 Die Zerstörer. 151
 Das Arbeitstier 152
 Ist teurer immer besser?. 154

Kapitel 10
Vektoren – die nützlichen Transporter. 155

Vektoren nehmen DNA-Moleküle mit. 155
 Plasmide – die Minis unter den Vektoren. 156
 Phagen – die Anhänger unter den Vektoren 158
 Cosmide – die Kombis unter den Transportern 158
 Künstliche Chromosomen – die Schwertransporter. 159

| | |
|--|------------|
| Kapitel 11 | |
| Nukleinsäuren für alle Fälle: | |
| Synthetische Oligonukleotide | 161 |
| DNA und RNA auf Bestellung. | 161 |
| So wird's gemacht | 162 |
| Oligos als Primer für PCR und Sequenzierung | 163 |
| Oligos als Sonden für Hybridisierungen. | 165 |
| Mit Oligos die Herstellung krank machender Proteine blockieren | 165 |
| Kapitel 12 | |
| Lasst Roboter an die Bench: Laborautomation | 169 |
| Automation in der Molekularbiologie – wozu? | 170 |
| Automation für Arme | 171 |
| Laborautomatisierung für »Normalos« | 173 |
| Die Edelvariante der Laborautomatisierung | 174 |
| Zukunftsvision: Mobile Roboterschwärme. | 176 |
| TEIL III | |
| GENOMIK – DIE ARBEIT MIT GENETISCHEM MATERIAL | 177 |
| Kapitel 13 | |
| Molekularbiologische Standardmethoden: | |
| Die muss man können | 179 |
| Wie man Nukleinsäure aus Zellen isoliert | 179 |
| Die Extraktion genomischer DNA | 181 |
| DNA-Isolierung aus Plasmiden: Maxi- und Minipräp | 182 |
| Die Isolierung von Phagen-DNA. | 184 |
| Die RNA-Isolierung. | 186 |
| Wie Sie die Konzentration von Nukleinsäuren bestimmen. | 189 |
| Wie man's macht: Doppelsträngige DNA | 189 |
| Wie man's macht: Oligos und RNA | 191 |
| Wie man's macht: Den »Schmutz« bestimmen | 191 |
| Nukleinsäure isoliert – und dann? | 192 |
| Wie man Nukleinsäuren manipuliert | 192 |
| Fang mich auf, Membran: DNA und RNA blotten. | 194 |
| Ab in den Süden: Der Southern Blot | 195 |
| Auf in den Norden: Der Northern Blot | 197 |
| Suche Partner für gemeinsame Bindung: Die Hybridisierung | 198 |
| Aus RNA mach cDNA: Die reverse Transkription | 201 |
| Kapitel 14 | |
| Die Elektrophorese – Wettlauf der Nukleinsäuren | 205 |
| Wie die Nukleinsäure zum Pluspol wandert | 206 |
| Für Anfänger: Die Agarose-Gelelektrophorese | 208 |
| Einmal Farbe für die Nukleinsäure, bitte! (Teil 1) | 211 |
| Für Fortgeschrittene: Die Polyacrylamid-Gelelektrophorese (PAGE) | 214 |

| | |
|---|-----|
| Farbe und Co für die Nukleinsäure (Teil 2) | 217 |
| RNA – ein Spezialfall? | 218 |
| Nukleinsäuren getrennt – was dann? | 218 |
| Für Leute mit Geld, vielen Proben oder wenig Zeit: Die Kapillar- Gelelektrophorese | 220 |
| Noch winziger für Leute mit noch weniger Zeit: Die Mikrochip- Elektrophorese | 222 |

Kapitel 15
Die Polymerase-Kettenreaktion PCR –
Kopierer für Nukleinsäuren 223

| | |
|---|-----|
| (Fast) Alles dreht sich um die PCR | 223 |
| Was man alles braucht: Oligos, Arbeitstiere und mehr | 224 |
| Wie es funktioniert: Trennen, binden und kopieren | 228 |
| PCR und dann? | 232 |
| PCR noch raffinierter | 236 |
| Verschachtelt: Die nested PCR | 236 |
| Mehrere auf einmal: Die Multiplex-PCR | 236 |
| Mit RNA gemacht: Die reverse Transkriptase-PCR (RT-PCR) | 237 |
| Live dabei: Die Real-Time-PCR | 238 |
| Zufällig: RAPD und Kollegen | 240 |

Kapitel 16
Klonieren: Einmal schneiden,
kleben und vervielfältigen, bitte! 243

| | |
|--|-----|
| Massenhafte DNA-Vermehrung | 244 |
| Klonierung zum Ersten: Die Kopiervorlage | 245 |
| Klonierung zum Zweiten: Der Vektor | 248 |
| Klonierung zum Dritten: Die Ligation | 250 |
| Klonierung zum Vierten: Die Transformation | 251 |
| Klonierung zum Fünften: Selektion und Vermehrung | 252 |
| Aufbewahrungsinstitut für Gene: Die Genbank | 254 |
| Das komplette Genom als Genbank | 255 |
| Mitten aus dem Leben: Die cDNA-Bank | 255 |

Kapitel 17
Sequenzanalyse: Den Nukleinsäure-Code übersetzen 257

| | |
|--|-----|
| Der direkte Weg: Die Sequenzierung | 258 |
| Die Sanger-Methode: Kettenabbruch macht's möglich | 258 |
| Die Maxam-Gilbert-Methode: Spaltung statt Abbruch | 268 |
| Next Generation Sequencing: Schneller, günstiger und mehr im Ultrahochdurchsatz | 268 |
| Der indirekte Weg: Unterschiede entdecken ohne Sequenzierung | 271 |
| RFLP: Der Schnitt macht den Unterschied | 271 |
| SSCP: Ja, wo laufen sie denn? | 273 |
| Repetitive DNA: Der Unterschied steckt im Müll | 275 |
| Snips: Klein, aber oho! | 282 |
| Alles mini oder was: Wie man Snips untersucht | 283 |

18 Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|-----|
| Die Genkarte: Eine Landkarte fürs Erbgut | 285 |
| Die genetische Kartierung: Zusammen oder getrennt? | 286 |
| Die physikalische Kartierung: Chromosom gesucht | 290 |

Kapitel 18

Auf der Suche nach dem Sinn: Der Weg zur Genfunktion 293

| | |
|---|-----|
| Genexpressionsstudien: Wie aktiv ist das Gen? | 294 |
| Das »Wie viel«: Quantitative Genexpressionsanalyse. | 294 |
| Scharf auf Einzelstränge: Nuklease-S1-Analyse und Ribonuclease Protection Assay. | 295 |
| Das »Wo«: Qualitative Genexpressionsanalyse. | 297 |
| Expressionsstudien auf Fingernagelgröße: Microarrays | 298 |
| Genexpression live untersuchen: Mach mir das Protein! | 300 |
| Transfektion: Wie das Gen in die Zelle kommt | 301 |
| Öfter mal was Neues: Die Mutagenese. | 302 |
| So wird's gemacht: Das Erbgut verändern | 303 |
| Gen abgeschaltet: Knock-out-Mäuse | 304 |
| Fremdgegangen: Transgene Organismen | 307 |
| Laterne fürs Gen: Das Green Fluorescent Protein GFP | 308 |

Kapitel 19

Tintenkiller fürs Gen: Genome Editing 311

| | |
|--|-----|
| Zinkfingernukleasen: Mutagenese per Designerenzym | 312 |
| Mit TALENs ganz einfach zum Wunsch-Gen | 313 |
| CRISPR-Cas9-System: Gene editieren für jedermann. | 315 |
| CRISPR als Bakterienwaffe | 317 |
| So funktioniert's: Genome Editing mit dem CRISPR-Cas9-System | 319 |
| Scheren in unterschiedlichen Varianten. | 321 |
| Mögliche Anwendungen der Genschere. | 321 |
| Korrektur der kleinen Schwester: RNA-Editierung | 323 |

TEIL IV

PROTEOMIK – DIE ARBEIT MIT DEN GENPRODUKTEN 325

Kapitel 20

Mit den Genprodukten forschen: Proteine im Labor 327

| | |
|---|-----|
| Proteomik – die Arbeit der Proteinfreunde | 328 |
| Proteinanalytik: Das grundlegende Handwerkszeug des Proteomikers. | 331 |
| Die Proteinisolierung: Keine 08/15-Methode. | 332 |
| Die Menge bestimmen: Darf's ein bisschen Farbe sein? | 338 |
| Riesenmoleküle handlich machen: Die Proteinspaltung | 340 |
| Wettkampf der Proteine: Die Elektrophorese | 341 |
| Proteinsequenzierung: Die Primärstruktur entschlüsseln. | 352 |
| Massenspektrometrie: Auch Proteine können fliegen. | 355 |

| | |
|---|------------|
| Kapitel 21 | |
| Beziehungstests für Biomoleküle: | |
| Protein-Protein-Interaktionen erforschen | 359 |
| Proteine – Freunde fürs Leben? | 360 |
| Wie man Protein-Interaktionen untersucht | 361 |
| Klassiker für Beziehungskisten: Das Yeast-Two-Hybrid-System | 361 |
| Freunde machen Lichtsignale: Die FRET-Methode | 364 |
| Partnerschaftstests im Miniformat: Proteinchips | 365 |
| TEIL V | |
| MOLEKULARBIOLOGIE IM ALLTAG | 367 |
| Kapitel 22 | |
| Jedem das Seine: Personalisierte Medizin und | |
| Pharmakogenomik | 369 |
| Was Pharmakogenomik ist | 370 |
| Warum Menschen mit gleicher Krankheit verschieden | |
| auf gleiche Behandlungen reagieren | 370 |
| Personalisierte Medizin durch Genotypisierung | 374 |
| Kapitel 23 | |
| Genchips und Co: Das molekularbiologische Minilabor | 377 |
| Chips in verschiedenen Geschmacksrichtungen | 378 |
| Beim Genchip macht's die Wasserstoffbrücke | 379 |
| Beim Proteinchip macht's die Spezifität | 381 |
| Kapitel 24 | |
| Serviceunternehmen Zelle: Proteine auf Bestellung | 383 |
| Molekülproduktion mit Hilfestellung: Rekombinante Proteine | 384 |
| Insulinproduktion mit Bakterienhilfe | 385 |
| Muteine: Künstliche Proteinvarianten | 389 |
| Milliardenmarkt der rekombinanten Proteine | 390 |
| Kapitel 25 | |
| Molekularbiologie in Landwirtschaft und Ernährung | 393 |
| Warum will man Tiere klonen? | 394 |
| Gene Pharming: Medikamente aus Euter, Blatt und Co | 398 |
| Transgene Tiere: Die Milch macht's | 399 |
| Transgene Pflanzen: Grüne Pharmafabriken | 400 |
| Xenotransplantationen: Tiere als Lebensretter für Schwerkranke? | 401 |
| Genfood: Auf dem Weg zur Designernahrung | 401 |
| Functional Food und Gentechnik | 403 |
| Ist Genfood gefährlich? | 403 |
| Nutrigenomik: Ernährungsplan nach Genprofil | 406 |
| Bioethik: Was darf die Molekularbiologie? | 409 |
| Beispiel aus der Bioethik: Gentechnisch veränderte Lebewesen | 410 |

TEIL VI DER TOP-TEN-TEIL 413

Kapitel 26 Die zehn (plus vier) wichtigsten Standardlösungen des Molekularbiologen 415

| | |
|---|-----|
| Puffer: Ausgleich für den pH-Wert | 415 |
| Ladepuffer für Elektrophoresegele | 417 |
| Lösungen für die Hybridisierung | 418 |
| Bakterienmedien: Nahrung für die Helfer | 419 |

Kapitel 27 Zehn plus zwei nützliche Internetadressen für (angehende) Molekularbiologen 421

| | |
|--|-----|
| Die offizielle Nobelpreis-Seite | 422 |
| Pimp your Brain | 422 |
| Deutsches Referenzzentrum für Ethik in den Biowissenschaften | 422 |
| Laborjournal online | 422 |
| Medizinische und molekularbiologische Datenbanken | 423 |
| Die Enzym-Seite | 423 |
| Die European Molecular Biology Organisation | 423 |
| Das National Center for Biotechnology Information | 424 |
| Die wichtigste Proteindatenbank | 424 |
| DNA from the Beginning | 424 |
| DNA Learning Center des Cold Spring Harbor Laboratory | 425 |
| Protokolldatenbank Bio-101 | 425 |

Stichwortverzeichnis 427