

# Inhaltsverzeichnis

Vorwort	7
<b>1 Das Leben und seine Bestandteile</b>	<b>11</b>
1.1 Der Aufbau von DNA und RNA	13
1.2 Der genetische Code	16
1.3 Die Gene	17
1.4 Die Proteine	22
1.5 Die Zelle	27
<b>2 Grundlagen der Arbeit im Labor</b>	<b>29</b>
2.1 Wasser	30
2.2 Messung des pH-Wertes	31
2.3 Puffer	32
2.4 Waagen	33
2.5 Mikropipetten	34
2.6 Gefäße im Labor	36
2.7 Zentrifugen	36
2.8 Mischen und Konzentrieren	40
2.9 Konzentrieren	41
2.10 Pufferwechsel	42
2.11 Proben-Lagerung	42
2.12 Steriles Arbeiten	43
2.13 Die kleinen Freunde – Pflege und Aufzucht von <i>Escherichia coli</i>	45
2.14 Der Aufschluss von Geweben	50
<b>3 Aufreinigung von Nukleinsäuren</b>	<b>53</b>
3.1 Gegenspieler erfolgreicher DNA- und RNA-Isolationen	55
3.2 Extraktion von Nukleinsäuren	58
3.3 Die weitere Aufreinigung der DNA	59
3.4 Einige ausgewählte DNA-Aufreinigungsmethoden	66
3.5 Die Isolation von RNA	71
3.6 Übersicht über den Einsatz von Kits	74
3.7 Tipps zum Erzielen hoher Ausbeuten bei der Isolation von Nukleinsäuren	74
3.8 Quantifizierung von Nukleinsäuren	75
<b>4 Polymerase Kettenreaktion</b>	<b>79</b>
4.1 Prinzip der Polymerase-Kettenreaktion	81
4.2 Die Komponenten der PCR	81
4.3 Geräte für die PCR	90
4.4 Die Standard-PCR	91
4.5 Ausgewählte PCR-Methoden	91
4.6 Anwendungen der PCR	100
4.7 Optimierung der PCR-Reaktion	101
<b>5 Klonieren für Einsteiger</b>	<b>103</b>
5.1 Restriktionsenzyme	105
5.2 Ligation	113
5.3 Dephosphorylierung	115
5.4 Die Transformation von <i>E. coli</i>	117
5.5 Der Weg zum klonierten Gen	119
5.6 Der ungerichtete Einbau einer amplifizierten DNA in einen Vektor	119
5.7 Der gerichtete Einbau von DNA in einen Vektor	122
5.8 Ligase-unabhängige Klonierungssysteme	124
5.9 Wenn es mal nicht klappt ...	125
<b>6 Vektoren</b>	<b>127</b>
6.1 Plasmide	129
6.2 Klonierungsplasmide	132
6.3 Rekombinase-basierte Klonierung	136
6.4 Expressionsplasmide	139
6.5 Reportergene	143
6.6 Phagen	146
6.7 Phagemide	147
6.8 Shuttle-Vektoren	147
6.9 Künstliche Chromosomen: BACs, PACs und YACs	148
6.10 Hefen als Klonierungs- und Expressionssystem	149

6.11	Die Transformation von Pflanzen	151		
6.12	Die Transformation von Säugetieren und tierischen Zellkulturen	153		
<b>7</b>	<b>Elektrophorese von Nukleinsäuren</b>	<b>157</b>		
7.1	Agarose-Gelelektrophorese von DNA	159		
7.2	Die Detektion der DNA im Gel	164		
7.3	Präparative Agarosegele	165		
7.4	Auftrennen von RNA im Agarosegel	167		
7.5	Fehlersuche bei der Agarose-Gelelektrophorese	168		
<b>8</b>	<b>Proteinaufreinigung</b>	<b>171</b>		
8.1	Homogenisation	175		
8.2	Extraktion von Proteinen	177		
8.3	Dialyse und Konzentrierung	181		
8.4	Weitere Aufreinigungsschritte	183		
8.5	Quantifizierung von Proteinen	186		
8.6	Aufreinigungsverfahren für getaggte Proteine aus <i>E. coli</i>	189		
<b>9</b>	<b>Gelelektrophorese von Proteinen</b>	<b>195</b>		
9.1	Die Polyacrylamid-Gelelektrophorese (PAGE)	197		
9.2	Die denaturierende SDS-PAGE	197		
9.3	Das Färben der Gele	206		
9.4	Weitere Elektrophoreseverfahren für Proteine	208		
9.5	Western Blotting	211		
9.6	Wenn es mal nicht klappt ...	214		
<b>10</b>	<b>Immunbiochemische Methoden</b>	<b>217</b>		
10.1	Antikörper	219		
10.2	Prinzipien immunbiochemischer Verfahren	223		
10.3	Spezifische und unspezifische Bindungen	229		
10.4	Immunbiochemische Verfahren	230		
10.5	ELISA	230		
10.6	Immunfärbung nach Western Blot	235		
10.7	Immunoaffinitätschromatographie	237		
10.8	Weitere Antikörper-basierte Methoden	239		
10.9	Wenn es mal nicht klappt ...	240		
<b>11</b>	<b>Molekularbiologie für Fortgeschrittene</b>	<b>243</b>		
11.1	DNA-Sequenzierung	245		
11.2	Bioinformatische Sequenzanalyse	248		
11.3	Der Einsatz der Bioinformatik für die Klonierung von DNA	250		
11.4	Vollständige Sequenzen durch 3'-RACE-PCR und 5'-RACE-PCR	251		
11.5	Stammsammlungen	253		
11.6	Identifizierung von Nukleinsäuren durch Hybridisierung	253		
11.7	DNA-Chips oder Microarrays	255		
11.8	Veränderung von Nukleinsäuren	256		
11.9	Synthetische Gene	260		
	<b>Anhang</b>			
A1	Sicherheit im Labor	262		
A2	Die 10 goldenen Laborregeln	263		
A3	Das Laborbuch und die finale Arbeit	264		
	Verzeichnis der Maps, Protokolle, E-Docs, Tabellen und Abbildungen	266		
	Abkürzungsverzeichnis	268		
	Quellenverzeichnis	268		
	Register	269		