

Bioanalytik

Bearbeitet von
Lay Solodkoff, Zettlmeier, Lay, Friedrich Lottspeich, Joachim W. Engels

1. Auflage 2012. Buch. xl, 1208 S. Hardcover
ISBN 978 3 8274 2942 1
Format (B x L): 21 x 27,9 cm

[Weitere Fachgebiete > Chemie, Biowissenschaften, Agrarwissenschaften > Biochemie](#)

schnell und portofrei erhältlich bei

The logo for beck-shop.de features the text 'beck-shop.de' in a bold, red, sans-serif font. Above the 'i' in 'shop' are three red dots of increasing size. Below the main text, 'DIE FACHBUCHHANDLUNG' is written in a smaller, red, all-caps sans-serif font.

beck-shop.de
DIE FACHBUCHHANDLUNG

Die Online-Fachbuchhandlung beck-shop.de ist spezialisiert auf Fachbücher, insbesondere Recht, Steuern und Wirtschaft. Im Sortiment finden Sie alle Medien (Bücher, Zeitschriften, CDs, eBooks, etc.) aller Verlage. Ergänzt wird das Programm durch Services wie Neuerscheinungsdienst oder Zusammenstellungen von Büchern zu Sonderpreisen. Der Shop führt mehr als 8 Millionen Produkte.

Inhalt

| | | | |
|--------------------------------------------------------|-----|------------------------------------------------------|----|
| Vorwort | V | 3.3.1 Iodierungen | 46 |
| | | Weiterführende Literatur | 46 |
| Autoren | XXI | | |
| 1 Bioanalytik – eine eigenständige Wissenschaft | 1 | 4 Enzymatische Aktivitätstests | 47 |
| 1.1 Paradigmenwechsel in der Biochemie: | | 4.1 Die Triebkraft chemischer Reaktionen | 47 |
| von der Proteinchemie zur Systembiologie | 2 | 4.2 Die Geschwindigkeit chemischer Reaktionen | 48 |
| 1.1.1 Klassische Strategie | 2 | 4.3 Katalysatoren | 49 |
| 1.1.2 Holistische Strategie | 3 | 4.4 Enzyme als Katalysatoren | 49 |
| 1.2 Methoden begründen Fortschritt | 3 | 4.5 Geschwindigkeit enzymgesteuerter Reaktionen | 50 |
| 1.2.1 Proteinanalytik | 5 | 4.6 Michaelis-Menten-Theorie | 50 |
| 1.2.2 Molekularbiologie | 6 | 4.7 Bestimmung von K_m und V_{max} | 51 |
| 1.2.3 Bioinformatik | 8 | 4.8 Inhibitoren | 52 |
| 1.2.4 Funktionsanalyse | 8 | 4.8.1 Kompetitive Inhibitoren | 53 |
| | | 4.8.2 Nichtkompetitive Inhibitoren | 53 |
| | | 4.9 Aufbau eines Testsystems | 53 |
| | | 4.9.1 Analyse der physiologischen Funktion | 54 |
| | | 4.9.2 Auswahl der Substrate | 54 |
| | | 4.9.3 Detektionssystem | 54 |
| | | 4.9.4 Zeitabhängigkeit | 55 |
| | | 4.9.5 pH-Wert | 55 |
| | | 4.9.6 Auswahl der Puffersubstanz und der Ionenstärke | 56 |
| | | 4.9.7 Temperatur | 56 |
| | | 4.9.8 Substratkonzentration | 56 |
| | | 4.9.9 Kontrollen | 57 |
| | | Weiterführende Literatur | 57 |
| 2 Proteinreinigung | 13 | 5 Mikrokolorimetrie | 59 |
| 2.1 Eigenschaften von Proteinen | 13 | 5.1 Differential scanning calorimetry (DSC) | 60 |
| 2.2 Proteinlokalisierung und Reinigungsstrategie | 16 | 5.2 Isothermal titration calorimetry (ITC) | 67 |
| 2.3 Homogenisierung und Zellaufschluss | 17 | 5.2.1 Bindung von Liganden an Proteine | 68 |
| 2.4 Die Fällung | 20 | 5.2.2 Bindung von Molekülen an Membranen: | |
| 2.5 Zentrifugation | 21 | Einbau und periphere Bindung | 71 |
| 2.5.1 Grundlagen | 21 | 5.3 Pressure perturbation calorimetry (PPC) | 74 |
| 2.5.2 Zentrifugationstechniken | 24 | Weiterführende Literatur | 75 |
| 2.6 Abtrennung von Salzen oder hydrophilen | | | |
| Verunreinigungen | 26 | | |
| 2.7 Konzentrierung | 28 | | |
| 2.8 Detergenzien und ihre Entfernung | 29 | | |
| 2.8.1 Eigenschaften von Detergenzien | 29 | | |
| 2.8.2 Entfernen von Detergenzien | 32 | | |
| 2.9 Probenvorbereitung für die Proteomanalyse | 34 | | |
| Weiterführende Literatur | 34 | | |
| 3 Proteinbestimmungen | 35 | 6 Immunologische Techniken | 77 |
| 3.1 Quantitative Bestimmung durch Färbetests | 37 | 6.1 Antikörper | 77 |
| 3.1.1 Biuret-Assay | 38 | 6.1.1 Antikörper und Immunabwehr | 77 |
| 3.1.2 Lowry-Assay | 38 | 6.1.2 Antikörper als Reagens | 78 |
| 3.1.3 Bicinchoninsäure-Assay (BCA-Assay) | 39 | 6.1.3 Eigenschaften von Antikörpern | 78 |
| 3.1.4 Bradford-Assay | 40 | 6.1.4 Funktionelle Struktur von IgG | 80 |
| 3.2 Spektroskopische Methoden | 41 | 6.1.5 Antigenbindungsstelle (Haftstelle) | 81 |
| 3.2.1 Messungen im UV-Bereich | 41 | 6.1.6 Handhabung von Antikörpern | 82 |
| 3.2.2 Fluoreszenzmethode | 43 | 6.2 Antigene | 83 |
| 3.3 Radioaktive Markierung von Peptiden und | | 6.3 Antigen-Antikörper-Reaktion | 85 |
| Proteinen | 44 | 6.3.1 Immunagglutination | 86 |

| | | | | | |
|--------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 6.3.2 | Immunpräzipitation | 87 | 8.5.4 | Spezielle Fluoreszenztechniken: FRAP, FLIM, FCS, TIRF | 192 |
| 6.3.3 | Immunbindung | 100 | 8.5.5 | Förster-Resonanz-Energietransfer (FRET) | 192 |
| 6.4 | Komplementfixation | 111 | 8.5.6 | Einzelmolekülspektroskopie | 193 |
| 6.5 | Methoden der zellulären Immunologie | 112 | 8.6 | Methoden mit polarisiertem Licht | 194 |
| 6.6 | Alteration biologischer Funktionen | 114 | 8.6.1 | Lineardichroismus | 195 |
| 6.7 | Herstellung von Antikörpern | 115 | 8.6.2 | Optische Rotationsdispersion und Circulardichroismus | 198 |
| 6.7.1 | Arten von Antikörpern | 115 | | Weiterführende Literatur | 200 |
| 6.7.2 | Neue Antikörpertechniken (<i>antibody engineering</i>) | 116 | 9 | Lichtmikroskopische Verfahren – Imaging | 201 |
| 6.7.3 | Optimierte monoklonale Antikörperkonstrukte mit Effektorfunktionen für den therapeutischen Einsatz | 120 | 9.1 | Wegbereiter der Mikroskopie – von einfachen Linsen zu hochauflösenden Mikroskopen | 201 |
| 6.7.4 | Ausblick: künftige Erweiterung der Bindungskonzepte | 123 | 9.2 | Moderne Anwendungsbereiche | 202 |
| Widmung | | 124 | 9.3 | Physikalische Grundlagen | 203 |
| Weiterführende Literatur | | 124 | 9.4 | Nachweismethoden | 210 |
| 7 | Chemische Modifikation von Proteinen und Proteinkomplexen | 125 | 9.5 | Präparationsmethoden | 217 |
| 7.1 | Chemische Modifikation funktioneller Gruppen von Proteinen | 126 | 9.6 | Spezielle fluoreszenzmikroskopische Analytik | 219 |
| 7.2 | Modifizierung als Mittel zur Einführung von Reportergruppen | 134 | | Weiterführende Literatur | 227 |
| 7.2.1 | Untersuchungen an natürlich vorkommenden Proteinen | 134 | 10 | Spaltung von Proteinen | 229 |
| 7.2.2 | Untersuchungen an überexprimierten oder mutierten Proteinen | 138 | 10.1 | Proteolytische Enzyme | 229 |
| 7.3 | Protein- <i>cross-linking</i> zur Analyse von Proteinwechselwirkungen | 139 | 10.2 | Strategie | 230 |
| 7.3.1 | Bifunktionelle Reagenzien | 139 | 10.3 | Denaturierung | 231 |
| 7.3.2 | Photoaffinitätsmarkierung | 140 | 10.4 | Spaltung von Disulfidbrücken und Alkylierung | 231 |
| Weiterführende Literatur | | 149 | 10.5 | Enzymatische Fragmentierung | 233 |
| 8 | Spektroskopie | 151 | 10.5.1 | Proteasen | 234 |
| 8.1 | Physikalische Prinzipien und Messtechniken | 152 | 10.5.2 | Proteolysebedingungen | 238 |
| 8.1.1 | Physikalische Grundlagen optischer spektroskopischer Messmethoden | 152 | 10.6 | Chemische Fragmentierung | 239 |
| 8.1.2 | Wechselwirkung Licht-Materie | 152 | 10.7 | Ausblick | 242 |
| 8.1.3 | Absorptionsmessungen | 160 | | Weiterführende Literatur | 242 |
| 8.1.4 | Photometer | 163 | 11 | Chromatographische Trennmethoden | 243 |
| 8.1.5 | Kinetische spektroskopische Untersuchungen | 164 | 11.1 | Instrumentierung | 243 |
| 8.2 | UV/VIS/NIR-Spektroskopie | 166 | 11.2 | Chromatographische Theorie | 244 |
| 8.2.1 | Grundlagen | 166 | 11.3 | Die physiko-chemischen Charakteristika der Peptide und Proteine | 248 |
| 8.2.2 | Chromoproteine | 167 | 11.4 | Chromatographische Trennmethoden für Peptide und Proteine | 250 |
| 8.3 | IR-Spektroskopie | 174 | 11.4.1 | Ausschlusschromatographie | 251 |
| 8.3.1 | Grundlagen | 174 | 11.4.2 | Hochleistungs- <i>reversed-phase</i> -Chromatographie (HP-RPC) | 251 |
| 8.3.2 | Molekülschwingungen | 175 | 11.4.3 | Hochleistungsnormalphase-Chromatographie (NPC) | 253 |
| 8.3.3 | Messtechniken | 177 | 11.4.4 | Hochleistungs-Hydrophile-Interaktions- chromatographie (HP-HILIC) | 253 |
| 8.3.4 | Infrarotspektroskopie von Proteinen | 180 | 11.4.5 | Hochleistungs- <i>aqueous</i> -Normalphase- chromatographie (HP-ANPC) | 254 |
| 8.4 | Raman-Spektroskopie | 183 | 11.4.6 | Hochleistungs-Hydrophobe-Interaktions- chromatographie (HP-HIC) | 254 |
| 8.4.1 | Grundlagen | 183 | 11.4.7 | Hochleistungsionenaustausch- chromatographie (HP-IEX) | 257 |
| 8.4.2 | Raman-Experimente | 184 | 11.4.8 | Hochleistungsaffinitäts- chromatographie (HP-AC) | 257 |
| 8.4.3 | Resonanz-Raman-Spektroskopie | 186 | 11.5 | Methodenentwicklung für die analytische Chromatographie am Beispiel der HP-RPC | 258 |
| 8.5 | Fluoreszenzspektroskopie | 187 | 11.5.1 | Entwicklung und Optimierung einer Methode | 258 |
| 8.5.1 | Grundlagen | 187 | 11.6 | Multidimensionale HPLC | 263 |
| 8.5.2 | Fluoreszenzspektren als Emissionsspektren und als Aktionsspektren | 189 | | | |
| 8.5.3 | Fluoreszenzuntersuchungen mit intrinsischen und extrinsischen Fluorophoren | 190 | | | |

| | | | | | |
|--------------------------|----------------------------------------------------------------------|-----|--------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 11.6.1 | Aufreinigung von individuellen Peptiden und Proteinen in der MD-HPLC | 264 | 13.4.2 | Kapillaraffinitätselektrophorese (ACE) | 315 |
| 11.6.2 | Trennung von komplexen Peptid- und Proteinmischungen mit der MD-HPLC | 265 | 13.4.3 | Micellarelektrokinetische Chromatographie (MEKC) | 316 |
| 11.6.3 | Methodenstrategien für die MD-HPLC | 265 | 13.4.4 | Kapillarelektrochromatographie (CEC) | 319 |
| 11.6.4 | Entwurf eines effektiven MD-HPLC-Schemas für Peptide und Proteine | 266 | 13.4.5 | Chirale Trennungen | 320 |
| 11.7 | Schlussbemerkung | 268 | 13.4.6 | Kapillargelelektrophorese (CGE) | 321 |
| Weiterführende Literatur | | 268 | 13.4.7 | Isoelektrische Fokussierung (CIEF) | 322 |
| 12 | Elektrophoretische Verfahren | 269 | 13.4.8 | Isotachophorese (ITP) | 326 |
| 12.1 | Geschichtlicher Überblick | 269 | 13.5 | Spezielle Techniken | 327 |
| 12.2 | Theoretische Grundlagen | 271 | 13.5.1 | Online-Probenkonzentrierung | 327 |
| 12.3 | Instrumentierung und Durchführung von Gelelektrophoresen | 274 | 13.5.2 | Fraktionierung | 328 |
| 12.3.1 | Probenvorbereitung | 276 | 13.5.3 | Mikrochipelektrophorese | 330 |
| 12.3.2 | Gelmedien für Elektrophoresen | 276 | 13.6 | Ausblick | 332 |
| 12.3.3 | Nachweis und Quantifizierung der getrennten Proteine | 278 | Weiterführende Literatur | | 332 |
| 12.3.4 | Zonenelektrophorese | 280 | 14 | Aminosäureanalyse | 335 |
| 12.3.5 | Porengradientengele | 281 | 14.1 | Probenvorbereitung | 336 |
| 12.3.6 | Puffersysteme | 282 | 14.1.1 | Saure Hydrolyse | 336 |
| 12.3.7 | Disk-Elektrophorese | 282 | 14.1.2 | Alkalische Hydrolyse | 337 |
| 12.3.8 | Saure Nativelektrophorese | 284 | 14.1.3 | Enzymatische Hydrolyse | 337 |
| 12.3.9 | SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese | 284 | 14.2 | Freie Aminosäuren | 337 |
| 12.3.10 | Kationische Detergenselektrophorese | 285 | 14.3 | Flüssigchromatographie mit optischer Detektion | 338 |
| 12.3.11 | Blaue Nativ-Polyacrylamidgelelektrophorese | 285 | 14.3.1 | Nachsäulenderivatisierung | 338 |
| 12.3.12 | Isoelektrische Fokussierung | 286 | 14.3.2 | Vorsäulenderivatisierung | 340 |
| 12.4 | Präparative Verfahren | 290 | 14.4 | Aminosäureanalyse mit massenspektrometrischer Detektion | 344 |
| 12.4.1 | Elektroelution aus Gelen | 290 | 14.5 | Datenauswertung und Beurteilung der Analysen | 345 |
| 12.4.2 | Präparative Zonenelektrophorese | 291 | Weiterführende Literatur | | 347 |
| 12.4.3 | Präparative isoelektrische Fokussierung | 292 | 15 | Proteinsequenzanalyse | 349 |
| 12.5 | Trägerfreie Elektrophorese | 293 | 15.1 | N-terminale Sequenzanalyse: der Edman-Abbau | 351 |
| 12.6 | Hochauflösende zweidimensionale Elektrophorese | 294 | 15.1.1 | Reaktionen des Edman-Abbaus | 351 |
| 12.6.1 | Probenvorbereitung | 296 | 15.1.2 | Identifizierung der Aminosäuren | 353 |
| 12.6.2 | Vorfraktionierung | 296 | 15.1.3 | Die Qualität des Edman-Abbaus: die repetitive Ausbeute | 353 |
| 12.6.3 | Erste Dimension: IEF in IPG-Streifen | 297 | 15.1.4 | Instrumentierung | 355 |
| 12.6.4 | Zweite Dimension: SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese | 298 | 15.1.5 | Probleme der Aminosäuresequenzanalyse | 358 |
| 12.6.5 | Detektion und Identifizierung der Proteine | 298 | 15.1.6 | Stand der Technik | 361 |
| 12.6.6 | Differenzgelelektrophorese (DIGE) | 298 | 15.2 | C-terminale Sequenzanalyse | 362 |
| 12.7 | Elektroblotting | 300 | 15.2.1 | Chemische Abbaumethoden | 362 |
| 12.7.1 | Blotsysteme | 300 | 15.2.2 | Peptidmengen und Qualität des chemischen Abbaus | 364 |
| 12.7.2 | Transferpuffer | 302 | 15.2.3 | Abbau der Polypeptide mit Carboxypeptidasen | 364 |
| 12.7.3 | Blotmembranen | 302 | Weiterführende Literatur | | 366 |
| Weiterführende Literatur | | 302 | 16 | Massenspektrometrie | 367 |
| 13 | Kapillarelektrophorese | 303 | 16.1 | Ionisationsmethoden | 368 |
| 13.1 | Geschichtlicher Überblick | 303 | 16.1.1 | Matrixassistierte Laserdesorptions/Ionisations-Massenspektrometrie (MALDI-MS) | 368 |
| 13.2 | Aufbau der Kapillarelektrophorese | 304 | 16.1.2 | Elektrospray-Ionisation (ESI) | 373 |
| 13.3 | Grundprinzipien der Kapillarelektrophorese | 305 | 16.2 | Massenanalysatoren | 380 |
| 13.3.1 | Injektion der Proben | 305 | 16.2.1 | Flugzeitanalysator (TOF) | 382 |
| 13.3.2 | Der Motor: elektroosmotischer Fluss (EOF) | 306 | 16.2.2 | Quadrupolanalysator | 385 |
| 13.3.3 | Joulesche Wärmeentwicklung | 307 | 16.2.3 | Elektrische Ionenfallen | 388 |
| 13.3.4 | Detektion | 308 | 16.2.4 | Magnetische Ionenfalle | 390 |
| 13.4 | Die Methoden der Kapillarelektrophorese | 310 | 16.2.5 | Orbital-Ionenfalle | 391 |
| 13.4.1 | Kapillarzonenelektrophorese (CZE) | 310 | 16.2.6 | Hybridgeräte | 392 |
| | | | 16.3 | Ionendetektoren | 397 |

| | | | | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-----|------------------------------------------------------------------------|------------|
| 16.3.1 | Sekundärelektronenvervielfacher (SEV) | 397 | Weiterführende Literatur | 458 |
| 16.3.2 | Faraday-Becher | 398 | | |
| 16.4 | Fragmentierungstechniken | 399 | 18 Biosensorik | 461 |
| 16.4.1 | Kollisionsinduzierte Dissoziation (CID) | 399 | 18.1 Trockenchemie-Teststreifen und Diabetes | 462 |
| 16.4.2 | Prompte und metastabile Zerfälle (ISD, PSD) | 400 | 18.2 Biosensoren | 462 |
| 16.4.3 | Photoneninduzierte Dissoziation (PID, IRMPD) | 402 | 18.2.1 Das Konzept der Biosensoren | 462 |
| 16.4.4 | Erzeugung von Radikalen (ECD, HECD, ETD) | 402 | 18.2.2 Aufbau und Funktion von Biosensoren | 463 |
| 16.5 | Massenbestimmung | 404 | 18.2.3 Zellsensoren | 467 |
| 16.5.1 | Berechnung der Masse | 404 | 18.2.4 Immunsensoren | 468 |
| 16.5.2 | Einfluss der Isotopie | 405 | 18.3 Von der Enzymelektrode für Glucose zum elektronischen DNA-Biochip | 470 |
| 16.5.3 | Kalibrierung | 409 | 18.4 Miniaturisierte Biosensor-Systeme | 470 |
| 16.5.4 | Bestimmung der Ladungszahl | 409 | 18.5 Trends bei Biosensoren | 471 |
| 16.5.5 | Signalverarbeitung und -auswertung | 409 | Weiterführende Literatur | 472 |
| 16.5.6 | Ableitung der Masse | 410 | | |
| 16.5.7 | Probleme | 410 | | |
| 16.6 | Identifizierung, Nachweis und Strukturaufklärung | 411 | Teil II 3D-Strukturaufklärung | |
| 16.6.1 | Identifizierung | 412 | | |
| 16.6.2 | Nachweis | 413 | 19 Magnetische Resonanzspektroskopie von Biomolekülen | 475 |
| 16.6.3 | Strukturaufklärung | 413 | 19.1 NMR-Spektroskopie von Biomolekülen | 475 |
| 16.7 | LC-MS und LC-MS/MS | 420 | 19.1.1 Theorie der NMR-Spektroskopie | 476 |
| 16.7.1 | LC-MS | 420 | 19.1.2 Eindimensionale NMR-Spektroskopie | 480 |
| 16.7.2 | LC-MS/MS | 422 | 19.1.3 Zweidimensionale NMR-Spektroskopie | 485 |
| 16.7.3 | Ionenmobilitätsspektrometrie (IMS) | 422 | 19.1.4 Dreidimensionale NMR-Spektroskopie | 492 |
| 16.8 | Quantifizierung | 423 | 19.1.5 Signalzuordnung | 495 |
| Weiterführende Literatur | | 424 | 19.1.6 Bestimmung der Proteinstruktur | 500 |
| 17 Protein-Protein-Wechselwirkungen | | 425 | 19.1.7 Proteinstrukturen und mehr – ein Ausblick | 506 |
| 17.1 Das <i>two-hybrid</i> -System | | 425 | 19.2 EPR-Spektroskopie an biologischen Systemen | 509 |
| 17.1.1 Das Konzept des <i>two-hybrid</i> -Systems | | 425 | 19.2.1 Grundlagen der EPR-Spektroskopie | 510 |
| 17.1.2 Die Elemente des <i>two-hybrid</i> -Systems | | 426 | 19.2.2 cw-EPR-Spektroskopie | 511 |
| 17.1.3 Konstruktion des Köderproteins | | 428 | 19.2.3 g-Wert | 512 |
| 17.1.4 Welche Köderproteine eignen sich für das <i>two-hybrid</i> -System? | | 429 | 19.2.4 Elektronenspin-Kernspin-Kopplung (Hyperfeinkopplung) | 512 |
| 17.1.5 Aktivator-Fusionsprotein und cDNA-Bibliotheken | | 429 | 19.2.5 g- und Hyperfeinanisotropie | 513 |
| 17.1.6 Durchführung des <i>two-hybrid</i> -Screenings | | 430 | 19.2.6 Elektronenspin-Elektronenspin-Kopplung | 516 |
| 17.1.7 Modifizierte Anwendungen und Weiterentwicklungen der <i>two-hybrid</i> -Technologie | | 435 | 19.2.7 Gepulste EPR-Experimente | 517 |
| 17.1.8 Biochemische und funktionale Analyse der Interaktoren | | 436 | 19.2.8 Weitere Anwendungsbeispiele für EPR | 522 |
| 17.2 TAP-tagging und Reinigung von Proteinkomplexen | | 437 | 19.2.9 Generelle Bemerkungen zur Aussagekraft von EPR-Spektren | 524 |
| 17.3 <i>In-vitro</i> -Interaktionsanalyse: GST-pulldown | | 441 | 19.2.10 Vergleich EPR/NMR | 524 |
| 17.4 Ko-Immunpräzipitation | | 442 | Danksagung | 525 |
| 17.5 Far-Western | | 443 | Weiterführende Literatur | 526 |
| 17.6 Plasmonenspektroskopie (<i>surface plasmon resonance</i>) | | 443 | 20 Elektronenmikroskopie | 527 |
| 17.7 Fluoreszenz-Resonanz-Energietransfer – FRET | | 446 | 20.1 Transmissionselektronenmikroskopie – Instrumentation | 529 |
| 17.7.1 Interaktions- und Strukturanalyse mittels FRET | | 446 | 20.2 Präparationsverfahren | 530 |
| 17.7.2 Experimentelle Bestimmung der FRET-Effizienz | | 447 | 20.2.1 Native Proben in Eis | 531 |
| 17.7.3 Methoden der FRET-Messung | | 448 | 20.2.2 Negativkontrastierung | 533 |
| 17.7.4 Verwendete Sonden | | 449 | 20.2.3 Bedampfung mit Schwermetallen | 534 |
| 17.8 Analytische Ultrazentrifugation | | 451 | 20.2.4 Markierung von Proteinen | 535 |
| 17.8.1 Instrumentelle Grundlagen | | 451 | 20.3 Abbildung im Elektronenmikroskop | 536 |
| 17.8.2 Sedimentationsgeschwindigkeitsexperimente | | 452 | 20.3.1 Auflösung des Transmissionselektronenmikroskops | 536 |
| 17.8.3 Sedimentationsgleichgewichtsexperimente | | 456 | 20.3.2 Wechselwirkungen des Elektronenstrahls mit dem Objekt | 537 |
| | | | 20.3.3 Kryoelektronenmikroskopie | 540 |

| | | | | | |
|------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|-----|
| 20.4 | Bildanalyse und Bildverarbeitung elektronenmikroskopischer Aufnahmen | 541 | 23.4 | Charakterisierung der Struktur synthetischer Peptide | 612 |
| 20.4.1 | Bildpunktgröße | 542 | 23.5 | Analytik von Peptidbibliotheken | 613 |
| 20.4.2 | Fourier-Transformation | 542 | | Weiterführende Literatur | 616 |
| 20.4.3 | Analyse von Kontrastübertragungsfunktion und Objekteigenschaften | 545 | 24 Kohlenhydratanalytik | | 617 |
| 20.4.4 | Erhöhung des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses | 546 | 24.1 | Allgemeine stereochemische Grundlagen | 618 |
| 20.4.5 | Korrespondenzanalyse und Klassifizierung | 551 | 24.1.1 | Die Reihe der D-Zucker | 618 |
| 20.5 | Dreidimensionale Elektronenmikroskopie | 553 | 24.1.2 | Stereochemie der D-Glucose | 619 |
| 20.5.1 | 3D-Rekonstruktion von Einzelpartikeln | 554 | 24.1.3 | Wichtige Monosaccharidbausteine | 620 |
| 20.5.2 | 3D-Rekonstruktion von regelmäßig angeordneten Molekülkomplexen | 557 | 24.1.4 | Die Reihe der L-Zucker | 621 |
| 20.5.3 | Elektronentomographie individueller Objekte | 558 | 24.1.5 | Die glykosidische Bindung | 622 |
| 20.6 | Analyse komplexer 3D-Datensätze | 559 | 24.2 | Die Proteinglykosylierung | 625 |
| 20.6.1 | Hybridmodelle: Kombination von EM- und Röntgenstruktur-Daten | 559 | 24.2.1 | Aufbau der N-Glykane | 626 |
| 20.6.2 | Segmentierung von Tomogrammen | 560 | 24.2.2 | Der Aufbau der O-Glykane | 626 |
| 20.6.3 | Identifizierung von Proteinkomplexen in Zelltomogrammen | 560 | 24.3 | Analyse der Proteinglykosylierung | 627 |
| 20.7 | Perspektiven der Elektronenmikroskopie | 562 | 24.3.1 | Analyse auf der Basis des intakten Glykoproteins | 628 |
| | Weiterführende Literatur | 563 | 24.3.2 | Massenspektrometrische Analysen auf der Basis der Glykopeptide | 634 |
| 21 Rasterkraftmikroskopie | | 565 | 24.3.3 | Freisetzung und Isolierung des N-Glykan-Pools | 637 |
| 21.1 | Funktionsprinzip des Rasterkraftmikroskops | 566 | 24.3.4 | Analyse des N-Glykan-Pools | 639 |
| 21.2 | Wechselwirkung zwischen Spitze und Probe | 567 | 24.3.5 | Analyse einzelner N-Glykane | 646 |
| 21.3 | Präparationsverfahren | 568 | 24.4 | Genom, Proteom, Glykom | 657 |
| 21.4 | Abbilden biologischer Makromoleküle | 569 | 24.5 | Schlussbetrachtung | 660 |
| 21.5 | Kraftspektroskopie einzelner Moleküle | 571 | | Weiterführende Literatur | 661 |
| 21.6 | Detektion des funktionellen Zustands und der Wechselwirkung einzelner Proteine | 572 | 25 Lipidanalytik | | 663 |
| | Weiterführende Literatur | 573 | 25.1 | Aufbau und Einteilung von Lipiden | 663 |
| 22 Röntgenstrukturanalyse | | 575 | 25.2 | Extraktion von Lipiden aus biologischem Material | 666 |
| 22.1 | Röntgenkristallographie | 576 | 25.2.1 | Flüssigphasenextraktion | 666 |
| 22.1.1 | Kristallisation | 576 | 25.2.2 | Festphasenextraktion | 667 |
| 22.1.2 | Kristalle und Röntgenbeugung | 579 | 25.3 | Methoden der Lipidanalytik | 668 |
| 22.1.3 | Das Phasenproblem | 583 | 25.3.1 | Chromatographische Methoden | 668 |
| 22.1.4 | Modellbau und Strukturverfeinerung | 588 | 25.3.2 | Massenspektrometrie | 673 |
| 22.2 | Kleinwinkel-Röntgenstreuung (SAXS) | 589 | 25.3.3 | Immunassays | 673 |
| 22.2.1 | Apparativer Aufbau | 590 | 25.3.4 | Weitere Methoden in der Lipidanalytik | 674 |
| 22.2.2 | Theorie | 591 | 25.3.5 | Online-Kopplung verschiedener Analysesysteme | 675 |
| 22.2.3 | Auswertung | 593 | 25.4 | Analytik ausgewählter Lipidklassen | 677 |
| 22.2.4 | Ausblick: Methodenweiterentwicklungen | 594 | 25.4.1 | Gesamtlipidextrakte | 677 |
| 22.3 | Freier Elektronen-LASER (FEL) | 595 | 25.4.2 | Fettsäuren | 678 |
| 22.3.1 | Apparativer Aufbau und Theorie | 595 | 25.4.3 | Unpolare Neutrallipide | 679 |
| 22.3.2 | Proben | 596 | 25.4.4 | Polare Esterlipide | 681 |
| 22.3.3 | Auswertung | 596 | 25.4.5 | Lipidhormone und intrazelluläre Signaltransduktoren | 685 |
| | Weiterführende Literatur | 597 | 25.5 | Lipidvitamine | 689 |
| | | | 25.6 | Lipidomanalytik | 692 |
| | | | 25.6 | Ausblick | 694 |
| | | | | Weiterführende Literatur | 695 |
| Teil III Spezielle Stoffgruppen | | | | | |
| 23 Analytik synthetischer Peptide | | 601 | 26 Analytik posttranslationaler Modifikationen: Phosphorylierung und Acetylierung von Proteinen | | 697 |
| 23.1 | Prinzip der Peptidsynthese | 601 | 26.1 | Funktionelle Bedeutung von Phosphorylierungen und Acetylierungen | 697 |
| 23.2 | Untersuchung der Reinheit synthetischer Peptide | 606 | | | |
| 23.3 | Charakterisierung und Identität synthetischer Peptide | 608 | | | |

| | | |
|--------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 26.1.1 | Phosphorylierung | 697 |
| 26.1.2 | Acetylierung | 698 |
| 26.2 | Strategien zur Analyse der posttranslationalen Phosphorylierung und Acetylierung von Proteinen und Peptiden | 699 |
| 26.3 | Trennung und Anreicherung phosphorylierter und acetylierter Proteine und Peptide | 701 |
| 26.4 | Detektion phosphorylierter und acetylierter Proteine und Peptide | 704 |
| 26.4.1 | Detektion mittels enzymatischer, radioaktiver, immunchemischer und fluoreszenzbasierender Methoden | 704 |
| 26.4.2 | Detektion phosphorylierter und acetylierter Proteine mittels Massenspektrometrie | 705 |
| 26.5 | Lokalisation und Identifizierung posttranslational modifizierter Aminosäuren | 706 |
| 26.5.1 | Lokalisation phosphorylierter und acetylierter Aminosäuren mittels Edman-Sequenzierung | 706 |
| 26.5.2 | Lokalisation phosphorylierter und acetylierter Aminosäuren mittels massenspektrometrischer Fragmentionenanalyse | 707 |
| 26.6 | Quantitative Analyse posttranslationaler Modifikationen | 713 |
| 26.7 | Zukunft der Analytik posttranslationaler Modifikationen | 713 |
| | Weiterführende Literatur | 715 |

Teil IV Nucleinsäureanalytik

| | | |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------|-----|
| 27 | Isolierung und Reinigung von Nucleinsäuren | 719 |
| 27.1 | Reinigung und Konzentrationsbestimmung von Nucleinsäuren | 719 |
| 27.1.1 | Phenolextraktion | 719 |
| 27.1.2 | Gelfiltration | 720 |
| 27.1.3 | Ethanolpräzipitation der Nucleinsäuren | 721 |
| 27.1.4 | Konzentrationsbestimmung von Nucleinsäuren | 722 |
| 27.2 | Isolierung genomischer DNA | 723 |
| 27.3 | Isolierung niedermolekularer DNA | 725 |
| 27.3.1 | Isolierung von Plasmid-DNA aus Bakterien | 725 |
| 27.3.2 | Isolierung niedermolekularer DNA aus eukaryotischen Zellen | 730 |
| 27.4 | Isolierung viraler DNA | 730 |
| 27.4.1 | Isolierung von Phagen-DNA | 730 |
| 27.4.2 | Isolierung von DNA aus eukaryotischen Viren | 731 |
| 27.5 | Isolierung einzelsträngiger DNA | 732 |
| 27.5.1 | Isolierung von M13-DNA | 732 |
| 27.5.2 | Trennung von einzel- und doppelsträngiger DNA | 733 |
| 27.6 | Isolierung von RNA | 733 |
| 27.6.1 | Isolierung von cytoplasmatischer RNA | 734 |
| 27.6.2 | Isolierung von poly(A) ⁺ -RNA | 735 |
| 27.7 | Isolierung von Nucleinsäuren unter Verwendung von magnetischen Partikeln | 736 |
| 27.8. | <i>Lab-on-a-chip</i> | 737 |
| | Weiterführende Literatur | 738 |

| | | |
|-----------|----------------------------------------------------------------------|-----|
| 28 | Aufarbeitung von Nucleinsäuren | 739 |
| 28.1 | Restriktionsanalyse | 739 |
| 28.1.1 | Prinzip der Restriktionsanalyse | 739 |
| 28.1.2 | Historischer Überblick | 740 |
| 28.1.3 | Restriktionsenzyme | 740 |
| 28.1.4 | Der Restriktionsansatz und seine Anwendungen | 743 |
| 28.2 | Elektrophorese | 749 |
| 28.2.1 | Gelelektrophorese von DNA | 750 |
| 28.2.2 | Gelelektrophorese von RNA | 757 |
| 28.2.3 | Pulsfeldgelelektrophorese (PFGE) | 758 |
| 28.2.4 | Zweidimensionale Gelelektrophorese | 761 |
| 28.2.5 | Kapillargelelektrophorese | 764 |
| 28.3 | Färbemethoden | 764 |
| 28.3.1 | Fluoreszenzfarbstoffe | 764 |
| 28.3.2 | Silberfärbung | 767 |
| 28.4 | Nucleinsäureblotting | 767 |
| 28.4.1 | Blottingverfahren | 767 |
| 28.4.2 | Wahl der Membranen | 767 |
| 28.4.3 | Southern-Blotting | 768 |
| 28.4.4 | Northern-Blotting | 771 |
| 28.4.5 | Dot- und Slot-Blotting | 772 |
| 28.4.6 | Kolonie- und Plaquehybridisierungen | 772 |
| 28.5 | Fragmentisolierung | 774 |
| 28.5.1 | Reinigung über Glas- <i>beads</i> | 774 |
| 28.5.2 | Reinigung über Gelfiltrations- oder <i>reversed-phase</i> -Säulen | 774 |
| 28.5.3 | Elektroelution | 775 |
| 28.5.4 | Andere Methoden | 775 |
| 28.6 | LC-MS von Oligonucleotiden | 776 |
| 28.6.1 | Prinzip der Synthese von Oligonucleotiden | 776 |
| 28.6.2 | Untersuchung der Reinheit und Charakterisierung von Oligonucleotiden | 778 |
| 28.6.3 | Massenspektrometrische Untersuchung von Oligonucleotiden | 780 |
| 28.6.4 | IP-RP-HPLC-MS-Untersuchung eines Phosphorothioat-Oligonucleotids | 781 |
| | Weiterführende Literatur | 785 |
| 29 | Hybridisierung und Nachweistechiken von Nucleinsäuren | 787 |
| 29.1 | Grundlagen der Hybridisierung | 788 |
| 29.1.1 | Prinzip und Durchführung der Hybridisierung | 789 |
| 29.1.2 | Spezifität der Hybridisierung und Stringenz | 790 |
| 29.1.3 | Hybridisierungsformate | 791 |
| 29.2 | Sonden zur Nucleinsäureanalytik | 798 |
| 29.2.1 | DNA-Sonden | 799 |
| 29.2.2 | RNA-Sonden | 800 |
| 29.2.3 | PNA-Sonden | 801 |
| 29.2.4 | LNA-Sonden | 802 |
| 29.3 | Markierungsverfahren | 802 |
| 29.3.1 | Markierungspositionen | 804 |
| 29.3.2 | Enzymatische Markierungsreaktionen | 805 |
| 29.3.3 | Photochemische Markierungsreaktionen | 807 |
| 29.3.4 | Chemische Markierungsreaktionen | 807 |
| 29.4 | Nachweissysteme | 808 |
| 29.4.1 | Färbemethoden | 808 |
| 29.4.2 | Radioaktive Systeme | 808 |
| 29.4.3 | Nichtradioaktive Systeme | 810 |

| | | | | | |
|--------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-----|--------------------------|------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 29.5 | Amplifikationssysteme | 820 | 32 | Analyse der epigenetischen Modifikationen | 897 |
| 29.5.1 | Targetamplifikation | 822 | 32.1 | Überblick über die Detektionsmethoden der DNA-Methylierung | 898 |
| 29.5.2 | Targetspezifische Signalamplifikation | 822 | 32.2 | Methylierungsanalyse mit der Bisulfittechnik | 899 |
| 29.5.3 | Signalamplifikation | 823 | 32.2.1 | Amplifikation und Sequenzierung von Bisulfit-behandelter DNA | 900 |
| Weiterführende Literatur | | 825 | 32.2.2 | Restriktionsanalyse nach Bisulfit-PCR | 901 |
| 30 | Polymerasekettenreaktion | 827 | 32.2.3 | Methylierungsspezifische PCR | 903 |
| 30.1 | Möglichkeiten der PCR | 827 | 32.3 | Analyse der DNA mit methylierungs-spezifischen Restriktionsenzymen | 904 |
| 30.2 | Grundlagen | 828 | 32.4 | Methylierungsanalyse durch Methylcytosin-bindende-Domäne-Proteine | 906 |
| 30.2.1 | Instrumentierung | 828 | 32.5 | Methylierungsanalyse durch Methylcytosin-spezifische Antikörper | 906 |
| 30.2.2 | Amplifikation von DNA | 830 | 32.6 | Methylierungsanalyse durch DNA-Hydrolyse und <i>nearest-neighbor</i> -Assays | 907 |
| 30.2.3 | Amplifikation von RNA (RT-PCR) | 833 | 32.7 | Analyse von epigenetischen Modifikationen des Chromatins | 908 |
| 30.2.4 | Optimierung der Reaktion | 835 | 32.8 | Chromosomenkonformationsanalyse | 909 |
| 30.2.5 | Quantitative PCR | 836 | 32.9 | Ausblick | 910 |
| 30.3 | Spezielle PCR-Techniken | 839 | Weiterführende Literatur | | 910 |
| 30.3.1 | Nested PCR | 839 | 33 | Protein-Nucleinsäure-Wechselwirkungen | 911 |
| 30.3.2 | Asymmetrische PCR | 840 | 33.1 | DNA-Protein-Wechselwirkungen | 911 |
| 30.3.3 | Einsatz von degenerierten Primern | 840 | 33.1.1 | Grundlagen der DNA-Protein-Erkennung: helikale Doppelstränge | 911 |
| 30.3.4 | Multiplex-PCR | 841 | 33.1.2 | DNA-Krümmung | 912 |
| 30.3.5 | <i>Cycle sequencing</i> | 841 | 33.1.3 | DNA-Topologie | 914 |
| 30.3.6 | <i>In-vitro</i> -Mutagenese | 842 | 33.2 | DNA-Bindungsmotive | 915 |
| 30.3.7 | Homogene PCR-Detektionsverfahren | 842 | 33.3 | Spezielle Analysemethoden | 916 |
| 30.3.8 | Quantitative Amplifikationsverfahren | 842 | 33.3.1 | Filterbindung | 916 |
| 30.3.9 | <i>In-situ</i> -PCR | 843 | 33.3.2 | Gelelektrophorese | 917 |
| 30.3.10 | Weitere Verfahren | 843 | 33.3.3 | Bestimmung von Dissoziationskonstanten | 920 |
| 30.4 | Kontaminationsproblematik | 844 | 33.3.4 | Analyse der Dynamik von DNA-Protein-Komplexen | 921 |
| 30.4.1 | Vermeidung von Kontaminationen | 844 | 33.4 | DNA- <i>footprint</i> -Analysen | 923 |
| 30.4.2 | Dekontamination | 845 | 33.4.1 | Markierung der DNA | 925 |
| 30.5 | Anwendungen | 846 | 33.4.2 | Primer- <i>extension</i> -Analyse für DNA | 925 |
| 30.5.1 | Nachweis von Infektionskrankheiten | 846 | 33.4.3 | Hydrolyse-Methoden | 926 |
| 30.5.2 | Nachweis von genetischen Defekten | 848 | 33.4.4 | Chemische Reagenzien für Modifikation von DNA-Protein-Komplexen | 928 |
| 30.5.3 | Humangenomprojekt | 850 | 33.4.5 | Interferenzbedingungen | 930 |
| 30.6 | Alternative Verfahren der Amplifikation | 852 | 33.4.6 | Chemische Nucleasen | 932 |
| 30.6.1 | <i>Nucleic acid sequence based amplification</i> (NASBA) | 852 | 33.4.7 | Genomweite DNA-Protein-Interaktionsanalysen | 933 |
| 30.6.2 | <i>Strand displacement amplification</i> (SDA) | 852 | 33.5 | Physikalische Analysen | 934 |
| 30.6.3 | <i>Helicase dependent amplification</i> (HDA) | 854 | 33.5.1 | Fluoreszenz-Methoden | 934 |
| 30.6.4 | <i>Ligase chain reaction</i> (LCR) | 855 | 33.5.2 | Fluorophore und Markierungsverfahren | 934 |
| 30.6.5 | <i>Qβ-Amplifikation</i> (<i>Qβ amplification</i>) | 856 | 33.5.3 | Fluoreszenz-Resonanz-Energietransfer (FRET) | 935 |
| 30.6.6 | <i>Branched DNA amplification</i> (bDNA) | 857 | 33.5.4 | Molekulare Lichtsonden (<i>molecular beacons</i>) | 936 |
| 30.7 | Ausblick | 857 | 33.5.5 | <i>Surface plasmon resonance</i> (SPR) | 936 |
| Weiterführende Literatur | | 858 | 33.5.6 | <i>Scanning force microscopy</i> (SFM) | 937 |
| 31 | DNA-Sequenzierung | 859 | 33.5.7 | <i>Optical tweezer</i> | 938 |
| 31.1 | Gelgestützte DNA-Sequenzierungsverfahren | 860 | 33.5.8 | <i>Fluorescence correlation spectroscopy</i> (FCS) | 938 |
| 31.1.1 | Sequenzierung nach Sanger: das Didesoxy-verfahren | 864 | 33.6 | RNA-Protein-Wechselwirkungen | 939 |
| 31.1.2 | Markierungstechniken und Nachweisverfahren | 871 | 33.6.1 | Funktionsvielfalt der RNA | 939 |
| 31.1.3 | Chemische Spaltung nach Maxam und Gilbert | 875 | 33.6.2 | RNA-Sekundärstrukturparameter und ungewöhnliche Basenpaarungen | 939 |
| 31.2 | Gelfreie DNA-Sequenzierungsmethoden | 882 | 33.6.3 | Dynamik der RNA-Protein-Erkennung | 940 |
| 31.2.1 | Sequenzierung durch Strangsynthese (<i>sequencing by synthesis</i>) | 883 | | | |
| 31.2.2 | Sequenzierung durch Ligation | 889 | | | |
| 31.2.3 | Einzelmolekül-Sequenzierung (<i>single molecule sequencing</i>) | 891 | | | |
| 31.2.4 | Andere Verfahren | 894 | | | |
| Weiterführende Literatur | | 894 | | | |

| | | |
|--------|-----------------------------------------------------------------|-----|
| 33.7 | Charakteristische RNA-Bindungsmotive | 942 |
| 33.8 | Spezielle Methoden zur Analyse von RNA-Protein-Komplexen | 943 |
| 33.8.1 | Limitierte enzymatische Hydrolyse | 944 |
| 33.8.2 | Markierungsmethoden | 944 |
| 33.8.3 | Primer- <i>extension</i> von RNA | 945 |
| 33.8.4 | Gebräuchliche RNasen | 945 |
| 33.8.5 | Chemische Modifikation von RNA-Protein-Komplexen | 946 |
| 33.8.6 | Chemische Quervernetzung | 949 |
| 33.8.7 | Einbau photoreaktiver Nucleotide | 950 |
| 33.8.8 | Genomweite Identifizierung von Transkriptionsstartstellen (TSS) | 951 |
| 33.9 | Genetische Methoden | 952 |
| 33.9.1 | <i>Tri-hybrid</i> -Methode | 952 |
| 33.9.2 | Aptamere und das Selex-Verfahren | 953 |
| 33.9.3 | Gezielte Mutationen in Bindedomänen | 954 |
| | Weiterführende Literatur | 955 |

Teil V Systematische Funktionsanalytik

| | | |
|-----------|-----------------------------------------------|-----|
| 34 | Sequenzanalyse | 959 |
| 34.1 | Sequenzanalyse und Bioinformatik | 959 |
| 34.2 | Datenbanken | 960 |
| 34.2.1 | Datenabruf | 961 |
| 34.3 | Webdienste | 964 |
| 34.4 | Sequenzzusammensetzung | 965 |
| 34.5 | Muster in Sequenzen | 966 |
| 34.5.1 | Sequenzsignale: funktionale Motive | 967 |
| 34.5.2 | Transkriptionsfaktor-Bindestellen | 968 |
| 34.5.3 | Identifizierung codierender Bereiche in DNA | 968 |
| 34.5.4 | Proteinlokalisierung | 969 |
| 34.5.5 | Sekundärstruktur | 970 |
| 34.6 | Homologie | 970 |
| 34.6.1 | Identität, Ähnlichkeit und Homologie | 970 |
| 34.6.2 | Alignment | 971 |
| 34.6.3 | Optimales Alignment | 973 |
| 34.6.4 | Alignment für schnelle Datenbanksuchen: BLAST | 974 |
| 34.6.5 | Profilbasierte Datenbanksuchen: PSI-BLAST | 975 |
| 34.7 | Multiples Alignment und Konsensussequenzen | 977 |
| 34.8 | Sequenz und Struktur | 978 |
| 34.9 | Ausblick | 979 |
| | Weiterführende Literatur | 980 |

| | | |
|-----------|----------------------------------------------------------------|-----|
| 35 | Analyse von Promotorstärke und aktiver RNA-Synthese | 981 |
| 35.1 | Methoden zur Analyse von RNA-Transkripten | 981 |
| 35.1.1 | Überblick | 981 |
| 35.1.2 | Nuclease-S1-Analyse von RNA | 982 |
| 35.1.3 | Ribonuclease-Protektionsassay (RPA) | 986 |
| 35.1.4 | Primerverlängerung (<i>primer extension</i>) | 988 |
| 35.1.5 | Northern-Blot, Dot- und Slot-Blot | 990 |
| 35.1.6 | Quantitative Polymerasekettenreaktion (<i>real-time</i> -PCR) | 991 |

| | | |
|--------|---------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 35.2 | Analyse der RNA-Synthese <i>in vivo</i> | 992 |
| 35.2.1 | <i>Nuclear-run-on</i> -Assay | 993 |
| 35.2.2 | Markierung naszierender RNA mit 5-Fluorouridin | 993 |
| 35.3 | Die <i>in-vitro</i> -Transkription klonierter Gene in Extrakten und Proteinfractionen | 994 |
| 35.3.1 | Komponenten des <i>in-vitro</i> -Transkriptionsansatzes | 994 |
| 35.3.2 | Herstellung transkriptionsaktiver Extrakte und Proteinfractionen | 995 |
| 35.3.3 | Promotorspezifische Matrizen-DNA und Detektion der <i>in-vitro</i> -Transkripte | 995 |
| 35.4 | Die <i>in-vivo</i> -Analyse von Promotoren in Säugerzellen | 998 |
| 35.4.1 | Plasmidvektoren für die Analyse von <i>cis</i> -aktiven Elementen in Säugerzellen | 998 |
| 35.4.2 | Einschleusen von Fremd-DNA in Säugerzellen | 1000 |
| 35.4.3 | Die Charakterisierung der <i>in-vivo</i> -Transkripte der klonierten Promotoren | 1001 |
| | Weiterführende Literatur | 1003 |

| | | |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 36 | Hybridisierung fluoreszenzmarkierter DNA zur Genomanalyse in der molekularen Cytogenetik | 1005 |
| 36.1 | Methoden zur Hybridisierung fluoreszenzmarkierter DNA | 1006 |
| 36.1.1 | Markierungsstrategie | 1006 |
| 36.1.2 | DNA-Sonden | 1006 |
| 36.1.3 | Markierung der DNA-Sonden | 1007 |
| 36.1.4 | <i>In-situ</i> -Hybridisierung | 1008 |
| 36.1.5 | Fluoreszenzauswertung der Hybridisierungssignale | 1008 |
| 36.2 | Anwendungen: FISH und CGH | 1009 |
| 36.2.1 | Analyse genomischer DNA durch FISH | 1009 |
| 36.2.2 | Vergleichende genomische Hybridisierung (CGH) | 1011 |
| | Weiterführende Literatur | 1014 |

| | | |
|-----------|--------------------------------------------------------|------|
| 37 | Physikalische und genetische Genkartierung | 1015 |
| 37.1 | Genetische Kartierung: Lokalisierung von Loci im Genom | 1015 |
| 37.1.1 | Rekombination | 1015 |
| 37.1.2 | Genetische Marker | 1017 |
| 37.1.3 | Kopplungsanalyse – die Erstellung genetischer Karten | 1019 |
| 37.1.4 | Die genetische Karte des menschlichen Genoms | 1021 |
| 37.1.5 | Genetische Kartierung von Krankheitsgenen | 1022 |
| 37.2 | Physikalische Kartierung | 1023 |
| 37.2.1 | Restriktionskartierung ganzer Genome | 1023 |
| 37.2.2 | Kartierung mittels rekombinanter Klone | 1025 |
| 37.2.3 | Erstellung der physikalischen Karte | 1026 |
| 37.2.4 | Isolierung und Identifizierung von Genen | 1029 |
| 37.2.5 | Transkriptkarten des menschlichen Genoms | 1031 |
| 37.2.6 | Gen und vererbte Krankheit – die Mutationssuche | 1032 |
| 37.3 | Integration der Genkarten | 1033 |

| | | | | | |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------|------|-----------|--------------------------------------------------------------------------|------|
| 37.4 | Das menschliche Genom | 1035 | 40.1.4 | Einsatz von antisense-Oligonucleotiden in Zeltkultur und in Tiermodellen | 1064 |
| | Weiterführende Literatur | 1035 | 40.1.5 | Antisense-Oligonucleotide als neue Arzneimittel | 1065 |
| 38 | Differenzielle Genaktivität | 1037 | 40.2 | Ribozyme | 1066 |
| 38.1 | Grundprinzip des <i>differential display</i> | 1037 | 40.2.1 | Entdeckung und Klassifikation von Ribozymen | 1066 |
| 38.2 | Experimentelle Durchführung des <i>differential display</i> | 1038 | 40.2.2 | Anwendungen von Ribozymen | 1067 |
| 38.2.1 | RNA-Isolierung | 1038 | 40.3 | RNA-Interferenz und microRNAs | 1068 |
| 38.2.2 | Synthese der cDNA | 1039 | 40.3.1 | Grundlagen der RNA-Interferenz | 1068 |
| 38.2.3 | Amplifikation durch die erste PCR | 1039 | 40.3.2 | RNA-Interferenz durch Expressionsvektoren | 1069 |
| 38.2.4 | Modifikationen der PCR und der Nachweisreaktion | 1040 | 40.3.3 | Anwendungen der RNA-Interferenz | 1070 |
| 38.2.5 | Polyacrylamid-Gelelektrophorese | 1041 | 40.3.4 | microRNAs | 1070 |
| 38.2.6 | Aufreinigung von PCR-Produkten | 1042 | 40.4 | Aptamere: hoch affine RNA- und DNA-Oligonucleotide | 1072 |
| 38.2.7 | Northern-Blot-Analyse | 1042 | 40.4.1 | Selektion von Aptameren | 1072 |
| 38.2.8 | Klonierung der cDNAs | 1042 | 40.4.2 | Anwendungen von Aptameren | 1074 |
| 38.2.9 | Alternative zur Northern-Blot-Analyse: Microarray-Analysen | 1043 | 40.5 | Ausblick | 1075 |
| 38.3 | Leistungsfähigkeit des <i>differential display</i> | 1043 | | Weiterführende Literatur | 1076 |
| 38.3.1 | Abgeleitete Methoden | 1043 | 41 | Proteomanalyse | 1077 |
| 38.3.2 | Methodenkombinationen mit <i>differential display</i> | 1043 | 41.1 | Definition der Ausgangsbedingungen und der Fragestellung, Projektplanung | 1080 |
| 38.3.3 | <i>Differential display</i> und Microarray-Analyse | 1044 | 41.2 | Probenvorbereitung | 1081 |
| 38.4 | Einsatzmöglichkeiten des <i>differential display</i> | 1044 | 41.3 | Die quantitative Analyse des Proteoms mit <i>top-down</i> -Strategien | 1083 |
| | Weiterführende Literatur | 1045 | 41.3.1 | Labelfreie <i>top-down</i> -Proteomanalysen | 1083 |
| 39 | DNA-Microarray-Technologie | 1047 | 41.3.2 | Isotopenlabelbasierte <i>top-down</i> -Proteomanalysen | 1088 |
| 39.1 | RNA-Analysen | 1048 | 41.4 | <i>Bottom-up</i> -Proteomstrategie | 1095 |
| 39.1.1 | Analyse der Transkriptmengen | 1048 | 41.4.1 | Labelfreie <i>bottom-up</i> -Proteomanalysen | 1096 |
| 39.1.2 | RNA-Reifung | 1049 | 41.4.2 | Isotopenlabelbasierte <i>bottom-up</i> -Proteomanalysen | 1097 |
| 39.1.3 | RNA-Struktur und Funktionalität | 1049 | 41.5 | <i>Targeted proteomics</i> | 1098 |
| 39.2 | DNA-Analysen | 1049 | 41.6 | Bioinformatik | 1099 |
| 39.2.1 | Genotypisierung | 1049 | 41.7 | Diskussion und Ausblick | 1100 |
| 39.2.2 | Epigenetische Studien | 1050 | | Weiterführende Literatur | 1101 |
| 39.2.3 | DNA-Sequenzierung | 1051 | 42 | Metabolomics und Peptidomics | 1103 |
| 39.2.4 | Analyse der Kopienzahl genomischer DNA-Abschnitte | 1052 | 42.1 | Systembiologie und Metabolomics | 1105 |
| 39.2.5 | Protein-DNA-Interaktionen | 1053 | 42.2 | Technologische Plattformen für Metabolomics | 1106 |
| 39.3 | Molekülsynthese | 1054 | 42.3 | Metabolomisches Profiling | 1107 |
| 39.3.1 | DNA-Synthese | 1054 | 42.4 | Peptidomics | 1108 |
| 39.3.2 | Herstellung von RNAi | 1054 | 42.5 | Metabolomics Knowledge Mining | 1109 |
| 39.3.3 | Chipgebundene Proteinexpression | 1055 | 42.6 | Datamining | 1110 |
| 39.4 | Neue Ansätze | 1055 | 42.7 | Anwendungsfelder | 1110 |
| 39.4.1 | Genomweite Identifizierung funktionell-essenzieller Gene | 1055 | | Weiterführende Literatur: | 1111 |
| 39.4.2 | Eine universelle Chipplattform | 1056 | 43 | Interactomics – systematische Protein-Protein-Wechselwirkungen | 1113 |
| 39.4.3 | Strukturanalysen | 1057 | 43.1 | Protein-Microarrays | 1113 |
| 39.4.4 | Jenseits von Nucleinsäuren | 1057 | 43.1.1 | Sensitivität durch Miniaturisierung – <i>ambient analyte assay</i> | 1114 |
| | Weiterführende Literatur | 1058 | 43.1.2 | Von DNA- zu Protein-Microarrays | 1115 |
| 40 | Oligonucleotide als zellbiologische Werkzeuge | 1059 | 43.1.3 | Anwendungen von Protein-Microarrays | 1117 |
| 40.1 | Antisense-Oligonucleotide | 1060 | | Weiterführende Literatur | 1119 |
| 40.1.1 | Wirkweisen von antisense-Oligonucleotiden | 1061 | | | |
| 40.1.2 | Triplexbildende Oligonucleotide | 1062 | | | |
| 40.1.3 | Modifikationen von Oligonucleotiden zur Steigerung der Nucleasestabilität | 1062 | | | |

| | | | | | |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|------|--------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|------|
| 44 | Chemische Biologie | 1121 | 45.3.2 | Images: Massenspektrometrische Rasterbilder | 1152 |
| 44.1 | Chemische Biologie – innovative chemische Ansätze zum Studium biologischer Fragestellungen | 1121 | 45.3.3 | SMALDI-MS: Das Matrixdilemma | 1153 |
| 44.2 | Chemische Genetik – kleine organische Moleküle zur Modulation von Proteinfunktionen | 1123 | 45.3.4 | SIMS- und ME-SIMS-Imaging: die Erweiterung des Massenbereichs | 1154 |
| 44.2.1 | Das Studium von Proteinfunktionen mit kleinen organischen Molekülen | 1125 | 45.3.5 | Auflösung versus Nachweisgrenze | 1154 |
| 44.2.2 | Vorwärts und rückwärts gerichtete Chemische Genetik | 1127 | 45.3.6 | MS-Imaging als phänomenologische Methode | 1155 |
| 44.2.3 | Chemo-genomische Ansätze am Beispiel der <i>bump-and-hole</i> -Methode | 1128 | 45.3.7 | MALDI-Imaging als exakte Methode | 1156 |
| 44.2.4 | Identifizierung von Kinase-Substraten mithilfe der ASKA-Technologie | 1131 | 45.3.8 | Identifizierung und Charakterisierung | 1157 |
| 44.2.5 | Biologische Systeme mit kleinen organischen Molekülen schaltbar machen | 1132 | | Weiterführende Literatur | 1157 |
| 44.3 | Ligation exprimierter Proteine – Symbiose aus Chemie und Biologie zum Studium von Proteinfunktionen | 1133 | 46 | Systembiologie | 1159 |
| 44.3.1 | Analyse lipidierter Proteine | 1134 | 46.1 | Ziele der Systembiologie | 1159 |
| 44.3.2 | Analyse phosphorylierter Proteine | 1136 | 46.1.1 | Definition | 1159 |
| 44.3.3 | Konditionales Proteinspleißen | 1136 | 46.2 | Methodische Ansätze | 1160 |
| | Weiterführende Literatur | 1137 | 46.2.1 | Modellaufbau | 1160 |
| 45 | Toponomanalyse | 1139 | 46.2.2 | Induktiver versus deduktiver Lösungsansatz | 1161 |
| 45.1 | Lichtmikroskopische Methoden im Hochdurchsatz | 1139 | 46.2.3 | Mathematische Werkzeuge | 1163 |
| 45.2 | Antikörperbasierte Toponomanalyse mit Multi-Epitop-Ligand-Kartierung (MELK) | 1140 | 46.3 | Beispiele für systembiologische Modelle | 1163 |
| 45.2.1 | Konzept des Proteintoponom | 1141 | 46.3.1 | Studien in der pharmakologischen Forschung | 1163 |
| 45.2.2 | <i>Imaging cyclus robots</i> : Grundlage einer Toponomlesetechnologie | 1142 | 46.3.2 | Signaltransduktion JAK/STAT | 1166 |
| 45.2.3 | Ein Beispiel: Spezifität und Selektivität des Zelloberflächentoponom | 1144 | 46.3.3 | Rückkopplungsprozesse bei der Aktivierung von T-Lymphocyten | 1167 |
| 45.2.4 | Methoden der Toponomanalyse | 1144 | 46.3.4 | Signaltransduktion EGF-Rezeptor/MAPK | 1168 |
| 45.2.5 | Zusammenfassung und Ausblick | 1151 | 46.4 | Hürden und Perspektiven für die Systembiologie | 1168 |
| 45.3 | Abbildende Massenspektrometrie | 1151 | 46.5 | Internationale Forschungsnetzwerke | 1169 |
| 45.3.1 | Analytische Mikrosonden | 1151 | | Weiterführende Literatur | 1170 |
| | | | Anhang | | |
| | | | Anhang 1: Strahlenschutz im Labor | 1173 | |
| | | | Anhang 2: Biologische Sicherheit | 1175 | |
| | | | Anhang 3: Aminosäuren und posttranslationale Modifikationen | 1177 | |
| | | | Anhang 4: Symbole und Abkürzungen | 1179 | |
| | | | Index | 1183 | |