

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

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: von der Proteinchemie zur Systembiologie	2	4.1 Die Triebkraft chemischer Reaktionen	47
1.1.1 Klassische Strategie	2	4.2 Die Geschwindigkeit chemischer Reaktionen	48
1.1.2 Holistische Strategie	3	4.3 Katalysatoren	49
1.2 Methoden begründen Fortschritt	3	4.4 Enzyme als Katalysatoren	49
1.2.1 Proteinanalytik	5	4.5 Geschwindigkeit enzymgesteuerter Reaktionen	50
1.2.2 Molekularbiologie	6	4.6 Michaelis-Menten-Theorie	50
1.2.3 Bioinformatik	8	4.7 Bestimmung von K_m und V_{max}	51
1.2.4 Funktionsanalyse	8	4.8 Inhibitoren	52
		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
Teil I Proteinanalytik			
2 Proteinreinigung	13	5 Mikrokalorimetrie	59
2.1 Eigenschaften von Proteinen	13	5.1 Differential scanning calorimetry (DSC)	60
2.2 Proteinlokalisation 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: Einbau und periphere Bindung	71
2.5 Zentrifugation	21	5.3 Pressure perturbation calorimetry (PPC)	74
2.5.1 Grundlagen	21	Weiterführende Literatur	75
2.5.2 Zentrifugationstechniken	24		
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 Färbe tests	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 Proteinen	44	6.3 Antigen-Antikörper-Reaktion	85
		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 Antikörpertchniken (<i>antibody engineering</i>)	116			
6.7.3	Optimierte monoklonale Antikörperkonstrukte mit Effektorfunktionen für den therapeutischen Einsatz	120	9	Lichtmikroskopische Verfahren – Imaging	201
6.7.4	Ausblick: künftige Erweiterung der Bindungskonzepte	123	9.1	Wegbereiter der Mikroskopie – von einfachen Linsen zu hochauflösenden Mikroskopen	201
Widmung		124	9.2	Moderne Anwendungsbereiche	202
Weiterführende Literatur		124	9.3	Physikalische Grundlagen	203
7	Chemische Modifikation von Proteinen und Proteinkomplexen	125	9.4	Nachweismethoden	210
7.1	Chemische Modifikation funktioneller Gruppen von Proteinen	126	9.5	Präparationsmethoden	217
7.2	Modifizierung als Mittel zur Einführung von Reportergruppen	134	9.6	Spezielle fluoreszenzmikroskopische Analytik	219
7.2.1	Untersuchungen an natürlich vorkommenden Proteinen	134		Weiterführende Literatur	227
7.2.2	Untersuchungen an überexprimierten oder mutierten Proteinen	138	10	Spaltung von Proteinen	229
7.3	Protein- <i>cross-linking</i> zur Analyse von Proteinwechselwirkungen	139	10.1	Proteolytische Enzyme	229
7.3.1	Bifunktionelle Reagenzien	139	10.2	Strategie	230
7.3.2	Photoaffinitätsmarkierung	140	10.3	Denaturierung	231
Weiterführende Literatur		149	10.4	Spaltung von Disulfidbrücken und Alkylierung	231
			10.5	Enzymatische Fragmentierung	233
			10.5.1	Proteasen	234
			10.5.2	Proteolysebedingungen	238
			10.6	Chemische Fragmentierung	239
			10.7	Ausblick	242
				Weiterführende Literatur	242
8	Spektroskopie	151	11	Chromatographische Trennmethoden	243
8.1	Physikalische Prinzipien und Messtechniken	152	11.1	Instrumentierung	243
8.1.1	Physikalische Grundlagen optischer spektroskopischer Messmethoden	152	11.2	Chromatographische Theorie	244
8.1.2	Wechselwirkung Licht-Materie	152	11.3	Die physiko-chemischen Charakteristika der Peptide und Proteine	248
8.1.3	Absorptionsmessungen	160	11.4	Chromatographische Trennmethoden für Peptide und Proteine	250
8.1.4	Photometer	163	11.4.1	Ausschlusschromatographie	251
8.1.5	Kinetische spektroskopische Untersuchungen	164	11.4.2	Hochleistungs- <i>reversed-phase</i> -Chromatographie (HP-RPC)	251
8.2	UV/VIS/NIR-Spektroskopie	166	11.4.3	Hochleistungsnormalphase-Chromatographie (NPC)	253
8.2.1	Grundlagen	166	11.4.4	Hochleistungs-Hydrophile-Interaktions- chromatographie (HP-HILIC)	253
8.2.2	Chromoproteine	167	11.4.5	Hochleistungs- <i>aqueous</i> -Normalphase- chromatographie (HP-ANPC)	254
8.3	IR-Spektroskopie	174	11.4.6	Hochleistungs-Hydrophobe-Interaktions- chromatographie (HP-HIC)	254
8.3.1	Grundlagen	174	11.4.7	Hochleistungsionenaustausch- chromatographie (HP-IEX)	257
8.3.2	Molekülschwingungen	175	11.4.8	Hochleistungsaffinitäts- chromatographie (HP-AC)	257
8.3.3	Messtechniken	177	11.5	Methodenentwicklung für die analytische Chromatographie am Beispiel der HP-RPC	258
8.3.4	Infrarotspektroskopie von Proteinen	180	11.5.1	Entwicklung und Optimierung einer Methode	258
8.4	Raman-Spektroskopie	183		Multidimensionale HPLC	263
8.4.1	Grundlagen	183			
8.4.2	Raman-Experimente	184			
8.4.3	Resonanz-Raman-Spektroskopie	186			
8.5	Fluoreszenzspektroskopie	187			
8.5.1	Grundlagen	187			
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	Porengradientenengelektrophorese	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	Injection 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	Kapillarzonelektrophorese (CZE)	310	16.2.6	Hybridgeräte	392
		310	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 Enzyelektrode für Glucose zum	
16.5.3	Kalibrierung	409	elektronischen DNA-Biochip	470
16.5.4	Bestimmung der Ladungszahl	409	18.4 Miniaturisierte Biosensor-Systeme	470
16.5.5	Signalverarbeitung und -auswertung	409	18.5 Trends bei Biosensoren	471
16.5.6	Ableitung der Masse	410	Weiterführende Literatur	472
16.5.7	Probleme	410		
16.6	Identifizierung, Nachweis und Strukturaufklärung	411		
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	Ionenmobilitätspektrometrie (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 <i>g</i> -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 <i>g</i> - und Hyperfein-anisotropie	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	430	19.2.7 Gepulste EPR-Experimente	517
17.1.8	Biochemische und funktionale Analyse der Interaktoren	435	19.2.8 Weitere Anwendungsbeispiele für EPR	522
17.2	TAP- <i>tagging</i> und Reinigung von Proteinkomplexen	436	19.2.9 Generelle Bemerkungen zur Aussagekraft von EPR-Spektren	524
17.3	<i>In-vitro</i> -Interaktionsanalyse: GST- <i>pulldown</i>	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 Bedämpfung 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	
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
			24.3.3	Freisetzung und Isolierung des N-Glykan-Pools	637
21	Rasterkraftmikroskopie	565	24.3.4	Analyse des N-Glykan-Pools	639
21.1	Funktionsprinzip des Rasterkraftmikroskops	566	24.3.5	Analyse einzelner N-Glykane	646
21.2	Wechselwirkung zwischen Spitze und Probe	567	24.4	Genom, Proteom, Glykom	657
21.3	Präparationsverfahren	568	24.5	Schlussbetrachtung	660
21.4	Abilden biologischer Makromoleküle	569		Weiterführende Literatur	661
21.5	Kraftspektroskopie einzelner Moleküle	571	25	Lipidanalytik	663
21.6	Detektion des funktionellen Zustands und der Wechselwirkung einzelner Proteine	572	25.1	Aufbau und Einteilung von Lipiden	663
	Weiterführende Literatur	573	25.2	Extraktion von Lipiden aus biologischem Material	666
22	Röntgenstrukturanalyse	575	25.2.1	Flüssigphasenextraktion	666
22.1	Röntgenkristallographie	576	25.2.2	Festphasenextraktion	667
22.1.1	Kristallisation	576	25.3	Methoden der Lipidanalytik	668
22.1.2	Kristalle und Röntgenbeugung	579	25.3.1	Chromatographische Methoden	668
22.1.3	Das Phasenproblem	583	25.3.2	Massenspektrometrie	673
22.1.4	Modellbau und Strukturverfeinerung	588	25.3.3	Immunassays	673
22.2	Kleinwinkel-Röntgenstreuung (SAXS)	589	25.3.4	Weitere Methoden in der Lipidanalytik	674
22.2.1	Apparativer Aufbau	590	25.3.5	Online-Kopplung verschiedener Analyse-	
22.2.2	Theorie	591		systeme	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	
	Weiterführende Literatur	597		Signaltransduktoren	685
			25.5	Lipidvitamine	689
			25.6	Lipidomanalytik	692
			25.6	Ausblick	694
				Weiterführende Literatur	695
23	Analytik synthetischer Peptide	601	26	Analytik posttranskriptionaler 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	28	Aufarbeitung von Nucleinsäuren	739
26.1.2	Acetylierung	698	28.1	Restriktionsanalyse	739
26.2	Strategien zur Analyse der posttranslationalen Phosphorylierung und Acetylierung von Proteinen und Peptiden	699	28.1.1	Prinzip der Restriktionsanalyse	739
26.3	Trennung und Anreicherung phosphorylierter und acetylierter Proteine und Peptide	701	28.1.2	Historischer Überblick	740
26.4	Detektion phosphorylierter und acetylierter Proteine und Peptide	704	28.1.3	Restriktionsenzyme	740
26.4.1	Detektion mittels enzymatischer, radioaktiver, immunchemischer und fluoreszenzbasierender Methoden	704	28.1.4	Der Restriktionsansatz und seine Anwendungen	743
26.4.2	Detektion phosphorylierter und acetylierter Proteine mittels Massenspektrometrie	705	28.2	Elektrophorese	749
26.5	Lokalisation und Identifizierung posttranslational modifizierter Aminosäuren	706	28.2.1	Gelelektrophorese von DNA	750
26.5.1	Lokalisation phosphorylierter und acetylierter Aminosäuren mittels Edman-Sequenzierung	706	28.2.2	Gelelektrophorese von RNA	757
26.5.2	Lokalisation phosphorylierter und acetylierter Aminosäuren mittels massenspektrometrischer Fragmentionenanalyse	707	28.2.3	Pulsfeldgelelektrophorese (PFGE)	758
26.6	Quantitative Analyse posttranslationaler Modifikationen	713	28.2.4	Zweidimensionale Gelelektrophorese	761
26.7	Zukunft der Analytik posttranslationaler Modifikationen	713	28.2.5	Kapillargelelektrophorese	764
	Weiterführende Literatur	715	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-beads	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

Teil IV Nucleinsäureanalytik

27	Isolierung und Reinigung von Nucleinsäuren	719	29	Hybridisierung und Nachweistechniken von Nucleinsäuren	787
27.1	Reinigung und Konzentrationsbestimmung von Nucleinsäuren	719	29.1	Grundlagen der Hybridisierung	788
27.1.1	Phenolextraktion	719	29.1.1	Prinzip und Durchführung der Hybridisierung	789
27.1.2	Gelfiltration	720	29.1.2	Spezifität der Hybridisierung und Stringenz	790
27.1.3	Ethanolpräzipitation der Nucleinsäuren	721	29.1.3	Hybridisierungsformate	791
27.1.4	Konzentrationsbestimmung von Nucleinsäuren	722	29.2	Sonden zur Nucleinsäureanalytik	798
27.2	Isolierung genomischer DNA	723	29.2.1	DNA-Sonden	799
27.3	Isolierung niedermolekularer DNA	725	29.2.2	RNA-Sonden	800
27.3.1	Isolierung von Plasmid-DNA aus Bakterien	725	29.2.3	PNA-Sonden	801
27.3.2	Isolierung niedermolekularer DNA aus eukaryotischen Zellen	730	29.2.4	LNA-Sonden	802
27.4	Isolierung viraler DNA	730	29.3	Markierungsverfahren	802
27.4.1	Isolierung von Phagen-DNA	730	29.3.1	Markierungspositionen	804
27.4.2	Isolierung von DNA aus eukaryotischen Viren	731	29.3.2	Enzymatische Markierungsreaktionen	805
27.5	Isolierung einzelsträngiger DNA	732	29.3.3	Photochemische Markierungsreaktionen	807
27.5.1	Isolierung von M13-DNA	732	29.3.4	Chemische Markierungsreaktionen	807
27.5.2	Trennung von einzel- und doppelsträngiger DNA	733	29.4	Nachweissysteme	808
27.6	Isolierung von RNA	733	29.4.1	Färbemethoden	808
27.6.1	Isolierung von cytoplasmatischer RNA	734	29.4.2	Radioaktive Systeme	808
27.6.2	Isolierung von poly(A) ⁺ -RNA	735	29.4.3	Nichtradioaktive Systeme	810
27.7	Isolierung von Nucleinsäuren unter Verwendung von magnetischen Partikeln	736			
27.8.	<i>Lab-on-a-chip</i>	737			
	Weiterführende Literatur	738			

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 Bisulfite-Technik	899
29.5.3	Signalamplifikation	823	32.2.1	Amplifikation und Sequenzierung von Bisulfite-behandelter DNA	900
	Weiterführende Literatur	825	32.2.2	Restriktionsanalyse nach Bisulfite-PCR	901
30	Polymerasekettenreaktion	827	32.2.3	Methylierungsspezifische PCR	903
30.1	Möglichkeiten der PCR	827	32.3	Analyse der DNA mit methylierungsspezifischen 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			
30.3.2	Asymmetrische PCR	840			
30.3.3	Einsatz von degenerierten Primern	840			
30.3.4	Multiplex-PCR	841			
30.3.5	<i>Cycle sequencing</i>	841			
30.3.6	<i>In-vitro</i> -Mutagenese	842			
30.3.7	Homogene PCR-Detectionsverfahren	842			
30.3.8	Quantitative Amplifikationsverfahren	842	33	Protein-Nucleinsäure-Wechselwirkungen	911
30.3.9	<i>In-situ</i> -PCR	843	33.1	DNA-Protein-Wechselwirkungen	911
30.3.10	Weitere Verfahren	843	33.1.1	Grundlagen der DNA-Protein-Erkennung: helikale Doppelstränge	911
30.4	Kontaminationsproblematik	844	33.1.2	DNA-Krümmung	912
30.4.1	Vermeidung von Kontaminationen	844	33.1.3	DNA-Topologie	914
30.4.2	Dekontamination	845	33.2	DNA-Bindungsmotive	915
30.5	Anwendungen	846	33.3	Spezielle Analysemethoden	916
30.5.1	Nachweis von Infektionskrankheiten	846	33.3.1	Filterbindung	916
30.5.2	Nachweis von genetischen Defekten	848	33.3.2	Gelelektrophorese	917
30.5.3	Humangenomprojekt	850	33.3.3	Bestimmung von Dissoziationskonstanten	920
30.6	Alternative Verfahren der Amplifikation	852	33.3.4	Analyse der Dynamik von DNA-Protein-Komplexen	921
30.6.1	<i>Nucleic acid sequence based amplification</i> (NASBA)	852	33.4	DNA- <i>footprint</i> -Analysen	923
30.6.2	<i>Strand displacement amplification</i> (SDA)	852	33.4.1	Markierung der DNA	925
30.6.3	<i>Helicase dependent amplification</i> (HDA)	854	33.4.2	Primer- <i>extension</i> -Analyse für DNA	925
30.6.4	<i>Ligase chain reaction</i> (LCR)	855	33.4.3	Hydrolyse-Methoden	926
30.6.5	<i>Qβ-Amplifikation</i> (<i>Qβ amplification</i>)	856	33.4.4	Chemische Reagenzien für Modifikation von DNA-Protein-Komplexen	928
30.6.6	<i>Branched DNA amplification</i> (bDNA)	857	33.4.5	Interferenzbedingungen	930
30.7	Ausblick	857	33.4.6	Chemische Nucleasen	932
	Weiterführende Literatur	858	33.4.7	Genomweite DNA-Protein-Interaktionsanalysen	933
31	DNA-Sequenzierung	859	33.5	Physikalische Analysen	934
31.1	Gelgestützte DNA-Sequenzierungsverfahren	860	33.5.1	Fluoreszenz-Methoden	934
31.1.1	Sequenzierung nach Sanger: das Didesoxyverfahren	864	33.5.2	Fluorophore und Markierungsverfahren	934
31.1.2	Markierungstechniken und Nachweisverfahren	871	33.5.3	Fluoreszenz-Resonanz-Energietransfer (FRET)	935
31.1.3	Chemische Spaltung nach Maxam und Gilbert	875	33.5.4	Molekulare Lichtsonden (<i>molecular beacons</i>)	936
31.2	Gelfreie DNA-Sequenzierungsmethoden	882	33.5.5	<i>Surface plasmon resonance</i> (SPR)	936
31.2.1	Sequenzierung durch Strangsynthese (<i>sequencing by synthesis</i>)	883	33.5.6	<i>Scanning force microscopy</i> (SFM)	937
31.2.2	Sequenzierung durch Ligation	889	33.5.7	<i>Optical tweezers</i>	938
31.2.3	Einzelmolekül-Sequenzierung (<i>single molecule sequencing</i>)	889	33.5.8	<i>Fluorescence correlation spectroscopy</i> (FCS)	938
31.2.4	Andere Verfahren	891	33.6	RNA-Protein-Wechselwirkungen	939
	Weiterführende Literatur	894	33.6.1	Funktionsvielfalt der RNA	939
		894	33.6.2	RNA-Sekundärstrukturparameter und ungewöhnliche Basenpaarungen	939
			33.6.3	Dynamik der RNA-Protein-Erkennung	940

33.7	Charakteristische RNA-Bindungsmotive	942	35.2	Analyse der RNA-Synthese <i>in vivo</i>	992
33.8	Spezielle Methoden zur Analyse von RNA-Protein-Komplexen	943	35.2.1	<i>Nuclear-run-on-Assay</i>	993
33.8.1	Limitierte enzymatische Hydrolyse	944	35.2.2	Markierung naszierender RNA mit 5-Fluorouridin	993
33.8.2	Markierungsmethoden	944	35.3	Die <i>in-vitro</i> -Transkription klonierter Gene in Extrakten und Proteinfraktionen	994
33.8.3	Primer- <i>extension</i> von RNA	945	35.3.1	Komponenten des <i>in-vitro</i> -Transkriptionsansatzes	994
33.8.4	Gebräuchliche RNAsen	945	35.3.2	Herstellung transkriptionsaktiver Extrakte und Proteinfraktionen	995
33.8.5	Chemische Modifikation von RNA-Protein-Komplexen	946	35.3.3	Promotorspezifische Matrizen-DNA und Detektion der <i>in-vitro</i> -Transkripte	995
33.8.6	Chemische Quervernetzung	949	35.4	Die <i>in-vivo</i> -Analyse von Promotoren in Säugerzellen	998
33.8.7	Einbau photoreaktiver Nucleotide	950	35.4.1	Plasmidvektoren für die Analyse von <i>cis</i> -aktiven Elementen in Säugerzellen	998
33.8.8	Genomweite Identifizierung von Transkriptionsstartstellen (TSS)	951	35.4.2	Einschleusen von Fremd-DNA in Säugerzellen	1000
33.9	Genetische Methoden	952	35.4.3	Die Charakterisierung der <i>in-vivo</i> -Transkripte der klonierten Promotoren	1001
33.9.1	<i>Tri-hybrid</i> -Methode	952		Weiterführende Literatur	1003
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	36	Hybridisierung fluoreszenzmarkierter DNA zur Genomanalyse in der molekularen Cytogenetik	1005
34.1	Sequenzanalyse und Bioinformatik	959	36.1	Methoden zur Hybridisierung fluoreszenzmarkierter DNA	1006
34.2	Datenbanken	960	36.1.1	Markierungsstrategie	1006
34.2.1	Datenabruf	961	36.1.2	DNA-Sonden	1006
34.3	Webdienste	964	36.1.3	Markierung der DNA-Sonden	1007
34.4	Sequenzzusammensetzung	965	36.1.4	<i>In-situ</i> -Hybridisierung	1008
34.5	Muster in Sequenzen	966	36.1.5	Fluoreszenzauswertung der Hybridisierungssignale	1008
34.5.1	Sequenzsignale: funktionale Motive	967	36.2	Anwendungen: FISH und CGH	1009
34.5.2	Transkriptionsfaktor-Bindestellen	968	36.2.1	Analyse genomicscher DNA durch FISH	1009
34.5.3	Identifizierung codierender Bereiche in DNA	968	36.2.2	Vergleichende genomische Hybridisierung (CGH)	1011
34.5.4	Proteinlokalisierung	969		Weiterführende Literatur	1014
34.5.5	Sekundärstruktur	970			
34.6	Homologie	970	37	Physikalische und genetische Genkartierung	1015
34.6.1	Identität, Ähnlichkeit und Homologie	970	37.1	Genetische Kartierung: Lokalisierung von Loci im Genom	1015
34.6.2	Alignment	971	37.1.1	Rekombination	1015
34.6.3	Optimales Alignment	973	37.1.2	Genetische Marker	1017
34.6.4	Alignment für schnelle Datenbanksuchen: BLAST	974	37.1.3	Kopplungsanalyse – die Erstellung genetischer Karten	1019
34.6.5	Profilbasierte Datenbanksuchen: PSI-BLAST	975	37.1.4	Die genetische Karte des menschlichen Genoms	1021
34.7	Multiples Alignment und Konsensussequenzen	977	37.1.5	Genetische Kartierung von Krankheitsgenen	1022
34.8	Sequenz und Struktur	978	37.2	Physikalische Kartierung	1023
34.9	Ausblick	979	37.2.1	Restriktionskartierung ganzer Genome	1023
	Weiterführende Literatur	980	37.2.2	Kartierung mittels rekombinanter Klone	1025
35	Analyse von Promotorstärke und aktiver RNA-Synthese	981	37.2.3	Erstellung der physikalischen Karte	1026
35.1	Methoden zur Analyse von RNA-Transkripten	981	37.2.4	Isolierung und Identifizierung von Genen	1029
35.1.1	Überblick	981	37.2.5	Transkriptkarten des menschlichen Genoms	1031
35.1.2	Nuclease-S1-Analyse von RNA	982	37.2.6	Gen und vererbbarer Krankheit – die Mutationssuche	1032
35.1.3	Ribonuclease-Protektionsassay (RPA)	986			
35.1.4	Primerverlängerung (<i>primer extension</i>)	988	37.3	Integration der Genkarten	1033
35.1.5	Northern-Blot, Dot- und Slot-Blot	990			
35.1.6	Quantitative Polymerasekettenreaktion (<i>real-time</i> -PCR)	991			

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

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