

Inhalt

Vorwort	V
1 Biochemische Literatur	1
1.1 Zugang zur allgemeinen biochemischen Literatur	1
1.1.1 Lehrbücher der Biochemie	2
1.1.2 Aktuelle Zusammenfassungen biochemischer Literatur	2
1.1.3 Biochemische Primärliteratur in wissenschaftlichen Zeitschriften	4
1.2 Zugang zur Methoden-orientierten biochemischen Literatur	5
1.2.1 Monographien und Serien	5
1.2.2 Methoden-orientierte biochemische Zeitschriften	6
1.3 Nachschlagewerke und Handbücher	6
1.3.1 Nachschlagewerke	6
1.3.2 Handbücher und Tabellenwerke	6
1.4 Literatursuche	7
1.4.1 Retrospektive Literatursuche	8
1.4.2 Aktuelle Literatursuche	8
1.4.3 Das Internet als Informationsquelle	9
1.5 Protokollführung bei biochemischen Arbeiten	9
1.5.1 Das Protokollbuch	9
1.5.2 Die Gestaltung des Protokolls	9
1.6 Literatur	10
2 Allgemeine Laborpraxis	11
2.1 Das biochemische Laboratorium	11
2.1.1 Geräte, die für jedes Laboratorium vorzusehen sind	11
2.1.2 Geräte, die zwischen mehreren Laboratorien geteilt werden können	12
2.1.3 Kleinteile	12
2.1.4 Gefäße (in verschiedenen Größen, aus Glas, Keramik, Metall und Kunststoff)	13
2.1.5 Einwegmaterial	13
2.1.6 Sicherheitsausstattung	14
2.1.7 Standardchemikalien	14
2.2 Allgemeine Arbeiten im biochemischen Laboratorium	14
2.2.1 Sicherheitsbestimmungen	14
2.2.2 Reinigung von Glas- und Kunststoffgefäßern	15
2.2.3 Abwiegen von Feststoffen	17
2.2.4 Pipettieren und Abmessen von Flüssigkeitsvolumina	18
2.2.5 Herstellung und Lagerung von Lösungen; Wasserqualität und Reinheitsgrad von Chemikalien	20
2.2.6 Temperieren	21

2.2.7	Schütteln, Rütteln und Röhren	22
2.2.8	Fördern durch Pumpen	24
2.2.9	Puffer	25
2.2.10	Pufferzusätze (Konservierungsstoffe, Komplexbildner, SH-Reagenzien, Detergenzien)	29
2.2.11	pH-Messung	29
2.2.12	Leitfähigkeitsmessung	30
2.3	Arbeiten mit Radioaktivität	31
2.3.1	Radioaktive Isotope und radioaktiver Zerfall	31
2.3.2	Messung der Radioaktivität	33
2.3.2.1	Geiger-Müller-Zählung	33
2.3.2.2	Szintillationszählung	34
2.3.2.3	Autoradiographie	38
2.3.2.4	<i>Imaging</i> Verfahren	38
2.3.3	Alternativen zur Verwendung von Radioaktivität	39
2.4	Literatur	43
3	Probenvorbereitung	45
3.1	Aufschluß von Zellen und Geweben	45
3.1.1	Allgemeine Prinzipien bei der Isolierung von Proteinen und Nukleinsäuren	45
3.1.2	Mechanische Aufschlußverfahren	48
3.1.3	Nicht-mechanische Aufschlußverfahren	49
3.2	Solubilisierung	50
3.3	Fällungsmethoden für Proteine und Nukleinsäuren	52
3.3.1	Fällungsmethoden für Proteine	52
3.3.1.1	TCA-Fällung	53
3.3.1.2	Ammoniumsulfatfällung	53
3.3.1.3	PEG-Fällung	54
3.3.1.4	Fällung durch organische Lösungsmittel	55
3.3.1.5	Hitzefällung	55
3.3.2	Fällungsmethoden für Nukleinsäuren	56
3.3.2.1	TCA-Fällung	56
3.3.2.2	Alkoholfällung	56
3.3.2.3	PEG-Fällung	56
3.4	Dialyse, Ultrafiltration und Lyophilisation	57
3.4.1	Dialyse	57
3.4.2	Ultrafiltration	59
3.4.3	Lyophilisation	62
3.5	Literatur	62
4	Trennungen	65
4.1	Chromatographie	65
4.1.1	Allgemeine Prinzipien und Definitionen	65
4.1.2	Säulenchromatographie	66
4.1.2.1	Niederdruckchromatographie im allgemeinen	66

4.1.2.2	Gelfiltration	72
4.1.2.3	Ionenaustauschchromatographie	78
4.1.2.4	Hydrophobe Interaktionschromatographie	86
4.1.2.5	Aussalzchromatographie	88
4.1.2.6	Affinitätschromatographie	89
4.1.2.7	Verteilungs- und Adsorptionschromatographie	92
4.1.2.8	HPLC	92
4.1.3	Papier- und Dünnschichtchromatographie	97
4.1.4	Gaschromatographie	100
4.2	Elektrophorese	101
4.2.1	Allgemeine Prinzipien und Definitionen	101
4.2.2	Celluloseacetatfolienelektrophorese	104
4.2.3	Gelelektrophorese	105
4.2.3.1	Polyacrylamidgelelektrophorese	105
4.2.3.2	Agarosegelelektrophorese	115
4.2.4	Isoelektrische Fokussierung	119
4.2.5	2D-Elektrophorese	122
4.2.6	<i>Blotting</i> -Verfahren	123
4.2.7	Auswertung von Elektropherogrammen	125
4.2.8	Kapillarelektrophorese	126
4.2.8.1	Kapillarzonenelektrophorese (CZE)	130
4.2.8.2	Kapillargelelektrophorese (CGE)	130
4.2.8.3	Micellare elektrokinetische Kapillarchromatographie (MECC)	131
4.3	Zentrifugation (Hydrodynamik)	131
4.3.1	Quantifizierung	132
4.3.2	Zentrifugen und Rotortypen	134
4.3.2.1	Rotortypen	134
4.3.2.2	Sicherheit und Rotorpflege	136
4.3.2.3	Zentrifugentypen	137
4.3.3	Analytische Zentrifugation	138
4.3.3.1	Bestimmung von Sedimentationskoeffizienten	138
4.3.3.2	Gleichgewichtszentrifugation	140
4.3.4	Präparative Zentrifugation	142
4.3.4.1	Pelletierungen	142
4.3.4.2	Dichtegradienten	143
4.4	Literatur	145
5	Analytik	149
5.1	Proteinanalytik	149
5.1.1	Methoden zur Molekulargewichtsbestimmung von Proteinen	149
5.1.1.1	Elektrophorese	150
5.1.1.2	Gelfiltration	150
5.1.1.3	Ultrazentrifugation	150
5.1.1.4	Massenspektrometrie	150
5.1.2	Mengen- bzw. Konzentrationsbestimmungen	150
5.1.2.1	Biuret-, Lowry- und BCA-assay	151

7.2.2.1	Röntgenkleinwinkelstreuung	259
7.2.2.2	Neutronenstreuung	260
7.3	Wechselwirkungen	260
7.3.1	Gleichgewichtsdialyse	261
7.3.2	Filtrationstechniken zur Bestimmung von Bindungsparametern	262
7.3.3	Chromatographie-, Elektrophorese- und Zentrifugationstechniken zur Bestimmung von Bindungsparametern	263
7.3.4	Biomolekulare Interaktionsanalyse	264
7.3.5	Protektions- bzw. Interferenzexperimente zur Bestimmung von Bindungsparametern	265
7.3.6	Kinetische Messungen	265
7.4	Strukturbestimmungen	268
7.4.1	Röntgenstrukturanalyse	268
7.4.1.1	Kristalle und Kristallzüchtung	268
7.4.1.2	Strukturanalyse	269
7.4.2	Strukturdaten	272
7.4.2.1	<i>Protein Data Bank (PDB)</i>	272
7.4.2.2	<i>Computer Graphics</i>	272
7.5	Literatur	273
8	Mathematische Methoden	275
8.1	Statistik	275
8.1.1	Mittelwerte	276
8.1.2	Verteilungen	277
8.1.2.1	Binomialverteilung	279
8.1.2.2	Poisson-Verteilung	279
8.1.2.3	Normalverteilung nach Gauß	280
8.1.2.4	Beispiele	281
8.2	Auswertung experimenteller Ergebnisse	282
8.2.1	Auswertung von Titrationen	282
8.2.2	Enzymkinetiken	284
8.2.3	Simulationen	288
8.3	Sequenzanalysen	289
8.3.1	Datenbanken	290
8.3.2	Datenstrukturen	291
8.3.3	Vergleichsalgorithmen	291
8.3.3.1	Ähnlichkeitsmatrizen	292
8.3.3.2	FASTA	293
8.3.3.3	Needleman-Wunsch-Algorithmus	294
8.4	Literatur	296
Anhang I: SI-Einheiten	297	
Anhang II: Umrechnungen in SI-Einheiten	298	
Sachregister	299	