

Inhaltsübersicht

1	Charakterisierung und Untersuchung lebender Zellen und ihrer Inhaltsstoffe	9	2	Durchführung mikrobiologischer Arbeiten	25
1.1	Kennzeichen des Lebens	9	2.1	Wesen der Mikroorganismen	25
1.2	Feinbau von Zellen	9	2.1.1	Bedeutung	25
1.2.1	Aufbau eukaryotischer Zellen	10	2.1.2	Größe	25
1.2.2	Aufbau prokaryotischer Zellen	11	2.1.3	Produktivität	25
1.3	Inhaltsstoffe der Zelle	11	2.1.4	Stoffwechselvielfalt und Anpassungsfähigkeit	26
1.3.1	Proteine	12	2.1.5	Reizbarkeit und Bewegung	26
1.3.2	Lipide	12	2.2	Lebensräume und Wachstumsbedingungen	26
1.3.2.1	Fette	12	2.2.1	Ernährungsweisen	26
1.3.2.2	Phospholipide	13	2.2.1.1	Autotrophe und heterotrophe Ernährung	26
1.3.2.3	Steroide	13	2.2.1.2	Phototrophe und chemotrophe Energiegewinnung	26
1.3.3	Kohlenhydrate	13	2.2.1.3	Lithotrophe und organotrophe Stoffwechselreaktionen	26
1.3.3.1	Monosaccharide	13	2.2.2	Lebensräume	27
1.3.3.2	Disaccharide	14	2.2.2.1	pH-Abhängigkeit	27
1.3.3.3	Polysaccharide	15	2.2.2.2	Sauerstoffverträglichkeit	27
1.3.4	Nucleinsäuren	17	2.2.2.3	Temperaturabhängigkeit	27
1.4	Mikroskopische Untersuchung von Zellen	17	2.2.3	Kultivierung	28
1.4.1	Lichtmikroskopie	17	2.2.3.1	Nährmedien	28
1.4.1.1	Vergrößerung und Beleuchtung	17	2.2.3.2	Sauerstoff	29
1.4.1.2	Auflösung	19	2.2.3.3	Temperatur	29
1.4.1.3	Kontrast	19	2.2.4	Wachstum und Vermehrung	29
1.4.1.4	Fluoreszenzmikroskopie	20	2.3	Hemmung des Wachstums	31
1.4.2	Elektronenmikroskopie	21	2.3.1	Sterilisation und Desinfektion	31
1.5	Zellaufschluss und Zellfraktionierung	21	2.3.2	Sterilfiltration	31
1.5.1	Zellaufschlussverfahren	21	2.3.2.1	Sterilwerkbänke	32
1.5.1.1	Mechanische Aufschlussverfahren	21	2.3.3	Sterilisation durch Hitze	32
1.5.1.2	Nicht-mechanische Aufschlussverfahren	22	2.3.3.1	Autoklavieren (Dampfsterilisation)	32
1.5.2	Zellfraktionierung durch Zentrifugation	22	2.3.3.2	Heißluftsterilisation	32
1.6	Aufgaben	24	2.3.3.3	Ausglühen und Abflammen	33
			2.3.4	Bestrahlung	33

2.3.5	Desinfektionsmittel	33	2.6.2	Biologische Agenzien	46
2.3.6	Antibiotika	33	2.6.3	Technische Schutzmaßnahmen	47
			2.7	Aufgaben	48
2.4	Wichtige Mikroorganismen und Viren	34	3	Durchführung biotechnologischer Arbeiten	49
2.4.1	Nomenklatur	34			
2.4.2	Pilze	34	3.1	Arbeitsgebiete der Biotechnologie. . .	49
2.4.2.1	Schimmelpilze	34			
2.4.2.2	Hefen	35	3.2	Zellwachstum und Produktbildung . .	50
2.4.2.3	Wichtige Vertreter der Schimmelpilze und Hefen	35	3.2.1	Parameter und Berechnungen	50
2.4.3	Bakterien	35	3.2.1.1	Zellzahl	50
2.4.3.1	Besonderheiten von Bakterien	36	3.2.1.2	Zellmasse	50
2.4.3.2	Wichtige Vertreter	38	3.2.2	Wachstumsphasen und Produkte . . .	51
2.4.4	Viren	38			
2.5	Untersuchung von Mikroorganismen	39	3.3	Bioreaktoren und Verfahren	51
2.5.1	Gewinnung und Reinigung von Mikroorganismen	39	3.3.1	Bioreaktoren	51
2.5.1.1	Gewinnung von Mikroorganismen . . .	39	3.3.2	Maßstabsvergrößerung	52
2.5.1.2	Reinigung der Kulturen	39	3.3.3	Verfahren und Betriebsweisen	53
2.5.2	Charakterisierung der Kolonien	40	3.3.3.1	Emers- und Submersverfahren	53
2.5.3	Mikroskopische Untersuchung	40	3.3.3.2	Kontinuierliche und diskontinuierliche Fermentation	53
2.5.3.1	Gramfärbung	40	3.3.4	Aufarbeitung der Produkte	53
2.5.3.2	Hängender Tropfen	41			
2.5.4	Bestimmung von Zellzahl und Bakteriendichte	41	3.4	Wichtige Produkte und Prozesse . . .	54
2.5.4.1	Lebendzellzahl = Keimzahl	42	3.4.1	Gärungsprodukte	54
2.5.4.2	Gesamtzellzahl	42	3.4.1.1	Hefe und Ethanol	54
2.5.4.3	Trübungsmessung	43	3.4.1.2	Milchprodukte und Silagefutter	55
2.5.5	Identifizierung	44	3.4.1.3	Essig	55
2.5.5.1	Kohlenhydratabbau	44	3.4.2	Antibiotika	55
2.5.5.2	Oxidation und Fermentation	44	3.4.2.1	Penicilline	55
2.5.5.3	Oxidase und Katalase	45	3.4.2.2	Weitere Antibiotika	55
2.5.5.4	Indol	45	3.4.3	Organische Säuren und Aminosäuren .	56
2.5.6	Hemmstofftests	45	3.4.3.1	Citronensäure	56
2.5.6.1	Agardiffusionstest	45	3.4.3.2	Glutaminsäure	56
2.5.6.2	Reihenverdünnungstest	46	3.4.4	Enzyme	56
			3.4.4.1	Amylasen und Proteasen	56
			3.4.4.2	Alkohol-Dehydrogenase	57
2.6	Mikrobiologische Sicherheitsanforderungen	46	3.4.5	Abwasserreinigung	57
2.6.1	Vorschriften	46	3.4.6	Erzlaugung	57
			3.5	Aufgaben	58

4	Durchführung biochemischer Arbeiten	59	4.4.2.2	Gel-Elektrophorese	73
4.1	Eigenschaften und Untersuchung von Aminosäuren	59	4.4.2.3	Polyacrylamidgel-Elektrophorese = SDS-PAGE	73
4.1.1	Säure-Base-Eigenschaften und isoelektrischer Punkt	61	4.4.2.4	Isoelektrische Fokussierung IEF	74
4.1.1.1	Pufferwirkung	62	4.4.3	Quantitative Bestimmung	74
4.1.1.2	Isoelektrischer Punkt	62	4.4.3.1	Spektroskopisch durch UV-Absorption	75
4.1.2	Auftrennung und Nachweis	63	4.4.3.2	Kolorimetrisch durch Absorption von sichtbarem Licht	75
4.1.2.1	Dünnschichtchromatografie DC	63	4.4.3.3	Methoden zur Isolierung, Reinigung und Analyse von Proteinen	76
4.1.2.2	Ionenaustauschchromatografie	63	4.5	Aufgaben	77
4.1.2.3	Elektrophorese	64			
4.2	Eigenschaften und Nachweis von Peptiden	64	5	Durchführung immunologischer und diagnostischer Arbeiten – Enzyme	78
4.2.1	Aufbau der Peptidbindung	64	5.1	Wirkungsweise von Enzymen	78
4.2.1.1	Aminosäuresequenz	65	5.1.1	Katalyse	78
4.2.1.2	Geometrie der Peptidbindung	65	5.1.2	Spezifität	78
4.2.2	Nachweis der Peptidbindung durch Biuretreaktion	66	5.1.3	Reaktionsbedingungen	79
4.3	Aufbau und Eigenschaften von Proteinen	66	5.1.3.1	Temperatur	79
4.3.1	Räumliche Strukturen	66	5.1.3.2	pH-Wert	79
4.3.1.1	Primärstruktur	67	5.1.3.3	Ionenstärke	79
4.3.1.2	Sekundärstruktur	67	5.1.4	Cofaktoren	80
4.3.1.3	Tertiärstruktur	68	5.1.5	Zusammenwirken von Enzym und Cosubstrat	80
4.3.1.4	Quartärstruktur	68	5.2	Einteilung der Enzyme und Cofaktoren und wichtige Beispiele	81
4.3.1.5	Proteinfaltung und Konformation	68	5.2.1	Enzyme	81
4.3.1.6	Denaturierung	69	5.2.2	Cofaktoren	83
4.3.2	Molekülmasse und physikalisch-chemische Eigenschaften	69	5.3	Enzymaktivität und Enzymkinetik	84
4.3.2.1	Molekülmasse	69	5.3.1	Aktivität	84
4.3.2.2	Physikalisch-chemische Eigenschaften	70	5.3.2	Enzymkinetik	85
4.3.3	Einteilung der Proteine	70	5.3.3	Hemmung von Enzymen	86
4.4	Isolierung, Reinigung und Analyse von Proteinen	71	5.4	Enzymatische Analysen	87
4.4.1	Isolierung und Reinigung	71	5.4.1	Prinzip	87
4.4.1.1	Ausfällung	71			
4.4.1.2	Dialyse	72			
4.4.2	Trennung von Proteingemischen	72			
4.4.2.1	Gelfiltration	72			

5.4.2	Bestimmung von Ethanol	88
5.4.3	Bestimmung verschiedener Zucker nebeneinander	88
5.4.4	Bestimmung der Amylase-Aktivität	89
5.5	Aufgaben	90

6 Durchführung immunologischer und diagnostischer Arbeiten – Immunglobuline 91

6.1	Wichtige Bestandteile des Immunsystems	91
6.1.1	Antikörper	91
6.1.1.1	Klassen von Antikörpern	93
6.1.1.2	Gewinnung von Antikörpern	93
6.1.2	Antigene	93
6.1.3	Antigen-Antikörper-Reaktion	93
6.1.3.1	Bindungsstärke	93
6.1.3.2	Visuelle Auswertung	94
6.1.3.3	Spezifität	94
	Biologischer Exkurs Wie wehrt der menschliche Organismus Krankheitserreger ab? . .	95
6.2	Immunologische Testverfahren	95
6.2.1	Grundlagen	95
6.2.2	Immunpräzipitation	95
6.2.2.1	Immundiffusion	95
6.2.2.2	Immunelektrophorese	96
6.2.3	Quantitative Immunoassays	96
6.2.3.1	Radioimmunoassay (RIA)	96
6.2.3.2	Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)	96
6.2.3.3	Direkter ELISA	97
6.2.3.4	Kompetitiver ELISA	98
6.2.3.5	Sandwich-ELISA	98
6.2.4	Immunoblot = Western-Blot	99
6.3	Aufgaben	100

7 Durchführung molekular-biologischer Arbeiten 101

7.1	Aufbau der Nucleinsäuren	101
7.1.1	Bausteine der DNA	101
7.1.1.1	Nucleoside	101
7.1.1.2	Nucleotide	102
7.1.1.3	Polynucleotide	102
7.1.1.4	Aufbau der RNA	102
7.1.2	Räumliche Struktur der DNA	102
7.1.3	Molekülgröße	103
	Biologischer Exkurs 1 Wie kann ein Molekül Informationen speichern?	104
7.2	Isolierung von DNA aus Zellen und Aufreinigung	104
7.2.1	Gewinnung von DNA durch klassische Extraktion	105
7.2.2	Gewinnung von DNA mit einem Präparationskit	106
7.2.3	Spezielle Präparationsmethoden	106
7.2.3.1	Plasmid-DNA	106
7.2.3.2	Pflanzen-DNA	106
7.2.4	Messung der DNA-Konzentration	106
7.3	Untersuchung der DNA	107
7.3.1	Vervielfältigung	107
7.3.1.1	Identische Replikation der DNA in der Zelle	107
7.3.1.2	Vervielfältigung von DNA-Abschnitten durch Polymerasekettenreaktion	108
7.3.2	Sequenzierung	111
7.3.3	Analyse der Produkte durch Elektrophorese	111
7.3.3.1	Gel-Elektrophorese	111
7.3.3.2	Kapillar-Gel-Elektrophorese	112
	Biologischer Exkurs 2 Wie wird die genetische Information in Produkte umgesetzt?	112
7.4	Nucleinsäuren in der Diagnostik	113
7.4.1	Blotting-Verfahren	113

7.4.2	Hybridisierung mit Gensonden	114	8.2	Differenzierung von Zellen und Typen von Geweben	123
7.4.3	Mikroarrays	114	8.2.1	Gewebe tierischer Organismen	124
7.5	Gentechnische Operationen	115	8.2.2	Gewebe pflanzlicher Organismen. . .	125
7.5.1	Schneiden und Verbinden von DNA-Molekülen	115	8.3	Haltung tierischer Zellen im Labor. . .	126
7.5.1.1	Schneiden mit Restriktionsenzymen	115	8.3.1	Gewinnung von Zellen	127
7.5.1.2	Verbinden mit Ligase	116	8.3.1.1	Primärkulturen	127
7.5.1.3	Rekombinante DNA	116	8.3.1.2	Zelllinien	127
7.5.2	Einführen von DNA in Bakterienzellen	116	8.3.2	Kultivierung	127
7.5.2.1	Molekulare Klonierung	116	8.3.2.1	Wachstum und Proliferation.	127
7.5.2.2	Vektoren	116	8.3.2.2	Nährmedien	128
7.5.2.3	Transformation.	116	8.3.2.3	Arten von Zellkulturen	129
7.5.2.4	Kompetente Zellen.	116	8.3.3	Routinemethoden im Zellkulturlabor .	130
7.5.3	Nachweis einer erfolgreichen Klonierung	117	8.3.3.1	Wechsel des Mediums und Subkultivierung	131
7.5.3.1	pUC-Plasmide	117	8.3.3.2	Zellzählung	131
7.5.3.2	Blau-Weiß-Selektion = blue-white-screening	117	8.3.3.3	Langzeitlagerung und Kryokonservierung	131
7.5.4	Anwendungen	118	8.3.4	Kontamination	132
7.5.4.1	Produkte gentechnisch veränderter Bakterien	118	8.4	Besondere Verfahren	133
7.5.4.2	Gentechnisch veränderte Nutzpflanzen	118	8.4.1	Produktion größerer Zellmengen . . .	133
7.5.5	Gentechnische Sicherheitsanforderungen.	118	8.4.2	Kultur von Hybridomazellen.	134
7.5.5.1	Gentechnikgesetz.	118	8.4.3	Toxikologische Testverfahren	135
7.5.5.2	Weitere Vorschriften	119	8.4.3.1	Ablösungsassay	136
7.6	Aufgaben.	119	8.4.3.2	Neutralrot-Test.	136
			8.4.3.3	MTT-Test	136
			8.4.3.4	LDH-Test	136
			8.4.4	Tissue Engineering	136
8	Durchführung zellkultur-technischer Arbeiten	121	8.5	Pflanzliche Zellkulturen	137
8.1	Besonderheiten eukaryotischer Zellen.	121	8.5.1	Besonderheiten des pflanzlichen Organismus	137
8.1.1	Zellkern und Chromosomen.	121	8.5.2	Kalluskulturen	138
8.1.1.1	Chromosomensatz	121	8.5.3	Kultivierung und Fusion von Protoplasten	138
8.1.1.2	Feinbau der Chromosomen	121	8.6	Aufgaben.	139
8.1.2	Wachstum und Zellteilung	122			
8.1.3	Alter und Tod von Zellen	123			
				Fachtheorie nach Lernfeldern für Chemielaboranten Teil 3, Aufbau des Buches . .	140
				Sachwortverzeichnis	141