

Inhaltsverzeichnis

Vorwort zur 5. Auflage	5
Aus dem Vorwort zur 1. Auflage	6
1. Einleitung (H.-P. Kleber)	11
1.1. Voraussetzungen, Durchführung und Auswertung biochemischer Experimente	12
1.1.1. Technische Ausrüstung	12
1.1.2. Reinheitskriterien	12
1.1.3. Versuchsdurchführung	13
1.1.4. Auswertung	15
1.2. Sicherheit im Labor – Verhalten bei Unfällen	17
2. Physikalisch-chemische Grundlagen wichtiger biochemischer Arbeitstechniken sowie qualitative und quantitative Nachweise von Biomolekülen (H.-P. Kleber, D. Schlee, W. Schöpp) ..	21
2.1. Zell- und Gewebeaufschluß	21
2.1.1. Einführung	21
2.1.2. Aufschluß tierischer Zellen	23
2.1.3. Aufschluß von Mikroorganismen	24
2.1.4. Aufschluß pflanzlicher Zellen	26
2.2. Zentrifugation	27
2.2.1. Einführung	27
2.2.2. Zentrifugen	29
2.2.3. Rotortypen	30
2.2.4. Zentrifugationstechniken	31
2.3. Messung und Konstanthaltung des pH-Wertes	33
2.3.1. Bedeutung des pH-Wertes für die lebende Zelle	33
2.3.2. Berechnung des pH-Wertes	34
2.3.3. Herstellung und Eigenschaften von Pufferlösungen	35
2.3.4. Experimentelle Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration	36
2.4. Chromatographische Trennverfahren	38
2.4.1. Vorbemerkungen	38
2.4.2. Ionenaustauschchromatographie	39
2.4.3. Adsorptionschromatographie	41
2.4.4. Gaschromatographie	42
2.4.5. Papierchromatographie	42
2.4.6. Dünnschichtchromatographie	44
2.4.7. Gelchromatographie	45
2.4.8. Affinitätschromatographie	47
2.4.9. Hydrophobe Chromatographie	51
2.4.10. Hochdruckflüssigkeits-Chromatographie (HPLC)	53
2.5. Elektrophoretische Trennverfahren	58
2.5.1. Einführung	58
2.5.2. Nieder- und Hochspannungselektrophoresen in dünnen Schichten	60
2.5.3. Gelelektrophorese	60
2.5.4. Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamid-Gelelektrophorese	64
2.5.5. Isoelektrische Fokussierung (IEF) (Elektrofokussion)	66
2.5.6. Isotachophorese	68
2.5.7. Zweidimensionale (2-D) Elektrophorese	69
2.5.8. Immunelektrophorese	69
2.5.9. Kapillarelektrophorese	70
2.5.10. Nachweis und Auswertung elektrophoretisch getrennter Verbindungen	70

2.6.	Spektroskopische Untersuchungsmethoden	73
2.6.1	Einführung	73
2.6.2.	Absorptionsspektroskopie	74
2.6.2.1.	Quantifizierung der Lichtabsorption	74
2.6.2.2.	Spektroskopie im UV- und VIS-Bereich	75
2.6.2.3.	Optische Rotationsdispersion (ORD) und Circular dichroismus (CD)	79
2.6.2.4.	Infrarot(IR)spektroskopie	80
2.6.3.	Fluoreszenzspektroskopie	83
2.6.4.	Elektronenspinresonanz(ESR)-Spektroskopie	86
2.6.5.	Kernresonanz-Spektroskopie	89
2.7.	Messung des pO_2 -Partialdruckes	91
2.7.1.	Einführung	91
2.7.2.	Chemische Verfahren	93
2.7.3.	Elektrochemische Verfahren (Sauerstoffpolarographie)	95
2.8.	Anwendung von Isotopen (Isotopentechnik)	95
2.8.1.	Einführung	95
2.8.2.	Stabile Isotope	96
2.8.3.	Radioaktive Isotope	96
2.8.4.	Nachweis der Radioaktivität	97
2.8.5.	Messung der Radioaktivität	98
2.8.6.	Applikationstechniken	99
2.8.7.	Strahlenschutz	100
2.9.	Qualitative und quantitative Nachweise	102
2.9.1.	Kohlenhydrate	102
2.9.2.	Lipide	109
2.9.3.	Aminosäuren	118
2.9.4.	Proteine	124
2.9.5.	Nucleinsäuren	135
2.9.6.	Anorganisches Phosphat	136
3.	Funktionelle und molekulare Charakterisierung von Enzymen (W. Schöpp)	140
3.1.	Aktivitätsbestimmung von Enzymen	140
3.2.	Enzymreaktionen außerhalb des steady-state-Bereiches	155
3.3.	Quantitative Daten der Enzym-Ligand-Wechselwirkung	165
3.4.	Kinetische Analyse von Einsubstratreaktionen	175
3.5.	Kinetische Charakterisierung von Mehrsubstratreaktionen	188
3.6.	Hemmung enzymatischer Reaktionen	197
3.7.	pH-Abhängigkeit enzymatischer Reaktionen	211
3.8.	Modifizierung von Enzymen und Änderung der Enzymkonformation	217
3.9.	Bestimmung der Molmasse von Enzymen und Nachweis der Einheitlichkeit von Enzympräparaten	229
3.10.	Kinetisches Verhalten immobilisierter Enzyme	242
3.11.	Gewinnung und Anreicherung von Enzymen: Reinigung der Alkoholdehydrogenase aus Bäckerhefe	252
4.	Stoffwechsel und Regulation (H.-P. Kleber, D. Schlee)	265
4.1.	Isolierung und Bestimmung von Ribonucleinsäure und Desoxyribonucleinsäure aus Keimlingen von <i>Pisum sativum</i>	265
4.2.	Isolierung und Trennung extrazellulärer Enzyme: Nachweis von RNase und Saurer Phosphatase im Medium von Zellkulturen der Tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	269
4.3.	Induktion und Repression von Enzymen unter Nährstoffmangel – Nachweis von RNase unter Phosphatmangel in Zellkulturen der Tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	273
4.4.	Trennung von Samenproteinen mittels Polyacrylamid-Diskelektrophorese	278
4.5.	Zweidimensionale Trennung von Proteinen (Methode nach O'Farrell)	282
4.6.	Ermittlung der Phosphoaminsäurezusammensetzung am Beispiel des Hitzeschockproteins hsp25 der Maus	290
4.7.	Isolierung und Charakterisierung von Protoplasten und Vakuolen aus Gerstenblättern (<i>Hordeum vulgare</i>)	294

4.8.	Analyse des photosynthetischen Elektronentransports mit isolierten Thylakoiden und Photosystem II-Membranen	297
4.9.	Lichtinduzierter Einbau von Orotsäure-6- ¹⁴ C in die Gesamt-RNA von <i>Euglena gracilis</i>	309
4.10.	Mikroautoradiographischer Nachweis des Einbaus von Thymidin- ³ H in die DNA des Zellkerns von <i>Allium cepa</i>	314
4.11.	Nachweis von Urease und Ureaamidolyase durch Bestimmung der ¹⁴ CO ₂ -Freisetzung aus radioaktivem Harnstoff	316
4.12.	Isolierung von Glykogen aus der Rattenleber und seine saure und enzymatische Hydrolyse	322
4.13.	Reinigung von Proteinen durch Affinitätsverteilung in wässrigen Zwei-Phasensystemen	326
4.14.	Fraktionierung subzellulärer Organellen durch verschiedene Zentrifugationsverfahren und Ermittlung der Enzymverteilung	331
4.15.	Untersuchung der Glykolyse in einem zellfreien Hefe-Rohextrakt mit Hilfe der Warburg-Technik.	338
4.16.	Atmungskette und oxidative Phosphorylierung: Ermittlung von Respirationskontrollindices und P/Q-Quotienten sowie die Wirkung von Inhibitoren auf die mitochondriale Atmung.	346
4.17.	Cytochromzusammensetzung und Cytochromanordnung in Herzmuskelmitochondrien	356
4.18.	Biotransformationen	359
4.19.	Immunologische Bestimmung der Konzentration von Immunglobulin G (IgG) im menschlichen Serum	362
5.	Anhang (H.-P. Kleber)	372
5.1.	Herstellung von Pufferlösungen (pH 3,0–11,9)	372
5.2.	Herstellung von Ammoniumsulfatlösungen unterschiedlicher Sättigung	376
5.3.	Molekulargewichte einiger Proteine.	378
5.4.	Extinktionskoeffizienten einiger biochemisch wichtiger Verbindungen	379
5.5.	Isoelektrischer Punkt (<i>IP</i>) einiger Proteine	381
5.6.	p <i>K</i> -Werte einiger biochemischer Verbindungen.	382
5.7.	Detergenzien zur Isolierung von integralen Membranproteinen (Auswahl).	383
5.8.	Das internationale Einheitensystem (SI-Einheiten)	385
5.9.	Enzym-Nomenklatur	387
Sachregister	388