

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | Auftakt | 1 |
| | <i>Guido Hermeý</i> | |
| 2 | Molekularbiologische Techniken | 7 |
| | <i>Guido Hermeý</i> | |
| 2.1 | DNA | 9 |
| 2.2 | Manipulation von DNA | 10 |
| 2.2.1 | Restriktion von DNA | 11 |
| 2.2.2 | Vektoren | 12 |
| 2.2.3 | DNA-Klonierung | 13 |
| 2.2.4 | Alternative Klonierungsstrategien | 16 |
| 2.3 | Polymerase-Kettenreaktion (PCR) | 17 |
| 2.3.1 | Mutagenese | 19 |
| 2.3.2 | Reverse Transkription-Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR) | 21 |
| 2.4 | Woher bekomme ich ein Gen oder eine bestimmte cDNA? | 21 |
| 2.5 | Sequenzierung von DNA | 22 |
| 2.6 | <i>In silico</i> | 22 |
| 2.7 | Genomische DNA | 23 |
| 2.8 | RNA | 24 |
| 2.8.1 | Isolation von RNA | 25 |
| 2.9 | Expressionsanalyse | 25 |
| 2.10 | Microarrays | 27 |
| 2.11 | RNA-Interferenz (RNAi) | 29 |
| | Literatur und World-Wide-Web-Links | 33 |
| 3 | Analyse von Proteinen | 35 |
| | <i>Guido Hermeý</i> | |
| 3.1 | Antikörper | 36 |
| 3.1.1 | Antikörper-Herstellung | 37 |
| 3.1.2 | Das Antigen | 38 |
| 3.1.3 | Reinigung von Antikörpern | 39 |
| 3.2 | Reinigen und Nachweisen von Proteinen | 39 |
| 3.2.1 | Reinigung von Proteinen | 39 |
| 3.2.2 | Nachweis von Proteinen | 41 |
| 3.3 | Subzelluläre Fraktionierung | 42 |
| 3.4 | Auffinden und Nachweisen von Proteininteraktionen | 45 |
| 3.4.1 | Immunpräzipitation | 46 |
| 3.4.2 | Co-Immunpräzipitation | 48 |
| 3.4.3 | Expression von Proteinen | 49 |
| 3.4.4 | Protein-Tags | 50 |
| 3.4.5 | Das Yeast-Two-Hybrid-System | 52 |
| 3.4.6 | Phagen-Display | 58 |
| 3.4.7 | Fluoreszenzbasierte Techniken zur Detektion von Proteininteraktionen | 59 |
| 3.4.8 | SPR-Analyse | 61 |
| | Literatur und World-Wide-Web-Links | 63 |

| | | |
|-------|---|-----|
| 4 | Zelluläre Neurobiologie | 67 |
| | <i>Guido Hervey</i> | |
| 4.1 | Allgemeines | 68 |
| 4.1.1 | Ausrüstung | 68 |
| 4.1.2 | Medien | 69 |
| 4.1.3 | Ungebetene Gäste | 69 |
| 4.1.4 | Zellen des Nervensystems | 70 |
| 4.2 | Zellkulturtypen | 70 |
| 4.2.1 | Primärkulturen und Gewebekulturen | 70 |
| 4.2.2 | Zelllinien | 73 |
| 4.2.3 | Arbeiten mit Zelllinien | 75 |
| 4.2.4 | Herstellung von primären Zellkulturen | 76 |
| 4.2.5 | Stammzellen | 81 |
| 4.3 | Transfektion von Zellen | 81 |
| 4.3.1 | Physikalischer Gentransfer | 82 |
| 4.3.2 | Chemischer Gentransfer | 83 |
| 4.3.3 | Viraler Gentransfer | 83 |
| 4.3.4 | Herstellung stabiler Zelllinien | 85 |
| 4.4 | An- und Ausschalten von Genen | 86 |
| 4.4.1 | Ausschalten von Genen | 86 |
| 4.4.2 | Dominant-negative Varianten | 86 |
| 4.4.3 | Induzierbare Expressionssysteme | 87 |
| 4.5 | Analyse von Proteinen in Zellkultur | 89 |
| 4.5.1 | Färben von Zellen | 89 |
| 4.5.2 | Fluoreszenzmarkierung von Proteinen | 90 |
| 4.6 | Neuronale Aktivität | 91 |
| 4.6.1 | Induktion neuronaler Aktivität | 91 |
| 4.6.2 | Stimulation von Nervenzellen durch optische Methoden | 92 |
| 4.6.3 | Nachweis neuronaler Aktivität | 93 |
| | Literatur und World-Wide-Web-Links | 97 |
| 5 | Elektrophysiologische Methoden | 99 |
| | <i>Michael Schwake</i> | |
| 5.1 | Grundlagen | 100 |
| 5.1.1 | Biologische Membranen | 100 |
| 5.1.2 | Ionentransport durch die Membran | 103 |
| 5.2 | Elektrophysiologische Methoden zur Untersuchung von Ionenkanälen | 108 |
| 5.2.1 | Zwei-Elektroden Spannungsklemme | 108 |
| 5.2.2 | Patch-Clamp | 112 |
| 5.2.3 | Messung von Aktionspotenzialen | 117 |
| 5.2.4 | Messung von postsynaptischen Potenzialen (PSP) | 118 |
| 5.2.5 | Patches an akuten Gewebeschnitten | 119 |
| 5.2.6 | Messung der synaptischen Plastizität | 120 |
| 5.2.7 | Ableitung evozierter Summenpotenziale | 120 |
| 5.2.8 | Multielektrodenarrays | 122 |
| 5.2.9 | Ableitung von Summenpotenzialen | 122 |
| | Literatur und World-Wide-Web-Links | 123 |

| | | |
|-------|--|-----|
| 6 | Anatomische Untersuchung des Nervensystems | 125 |
| | <i>Claudia Mahlke</i> | |
| 6.1 | Gewebeaufbereitung | 126 |
| 6.1.1 | Präparation, Fixierung und Einbettung | 126 |
| 6.1.2 | Schneidetechniken | 127 |
| 6.2 | Übersichtsfärbungen | 127 |
| 6.3 | Nachweis und Lokalisation von Protein und mRNA im Nervensystem | 129 |
| 6.3.1 | Immunhistochemie | 130 |
| 6.3.2 | Enzymhistochemie | 134 |
| 6.3.3 | <i>In situ</i> -Hybridisierung | 134 |
| 6.4 | Nachweis neuronaler Aktivität | 136 |
| 6.4.1 | Aktivitätsregulierte Gene | 136 |
| 6.4.2 | Autoradiographie | 138 |
| 6.4.3 | Reportermäuse | 139 |
| 6.4.4 | Cat-FISH | 139 |
| 6.5 | Tracing-Verbindungsstudien | 140 |
| | Literatur und World-Wide-Web-Links | 142 |
| 7 | Mikroskopie | 145 |
| | <i>Claudia Mahlke</i> | |
| 7.1 | Das Mikroskop | 146 |
| 7.2 | Wichtige Parameter in der Mikroskopie | 146 |
| 7.3 | Lichtmikroskopie | 149 |
| 7.4 | Fluoreszenzmikroskopie | 150 |
| 7.4.1 | Konfokale Mikroskopie | 151 |
| 7.4.2 | Mikroskopie unterhalb der Beugungsgrenze (<i>beyond diffraction limits</i>) | 154 |
| 7.5 | Elektronenmikroskopie | 155 |
| | Literatur und World-Wide-Web-Links | 156 |
| 8 | Transgene Tiermodelle | 157 |
| | <i>Guido Hermeij</i> | |
| 8.1 | Transgene Invertebrata | 158 |
| 8.1.1 | Transgene Fliegen | 158 |
| 8.1.2 | Transgene Würmer | 159 |
| 8.2 | Transgene Mäuse | 159 |
| 8.3 | Gene Targeting | 163 |
| 8.3.1 | Knockout/Knockin | 168 |
| 8.3.2 | Konditionale Mutationen | 169 |
| 8.3.3 | Large-Scale-Ansätze | 172 |
| 8.3.4 | Reporter | 176 |
| 8.4 | <i>In utero</i>-Elektroporation | 176 |
| | Literatur und World-Wide-Web-Links | 176 |
| 9 | Verhaltensbiologie | 179 |
| | <i>Claudia Mahlke</i> | |
| 9.1 | Einführung | 180 |
| 9.2 | Voraussetzungen für die verhaltensbiologische Untersuchung transgener Mäuse ... | 181 |
| 9.2.1 | Allgemeines | 181 |

| | | |
|--------|--|-----|
| 9.2.2 | Genetischer Hintergrund | 183 |
| 9.2.3 | Gesundheitscheck | 185 |
| 9.2.4 | Motorische Fähigkeiten | 186 |
| 9.2.5 | Sensorische Fähigkeiten | 187 |
| 9.2.6 | Ängstlichkeit und Explorationsverhalten | 190 |
| 9.3 | Lernen und Gedächtnis | 192 |
| 9.3.1 | Allgemeines | 192 |
| 9.3.2 | Deklaratives Gedächtnis | 193 |
| 9.3.3 | Nicht-deklaratives Gedächtnis | 198 |
| 9.4 | Neurologische Erkrankungen | 202 |
| 9.4.1 | Allgemeines | 202 |
| 9.4.2 | Depression | 203 |
| 9.4.3 | Schizophrenie | 204 |
| 9.4.4 | Autismus | 206 |
| | Literatur und World-Wide-Web-Links | 206 |
| 10 | Neuroimaging: neuro-bildgebende Verfahren | 209 |
| | <i>Tobias Sommer</i> | |
| 10.1 | Einleitung | 210 |
| 10.2 | Strukturelle Bildgebung | 213 |
| 10.2.1 | Computertomographie – CT | 213 |
| 10.2.2 | Magnetresonanztomographie – MRT | 214 |
| 10.2.3 | Diffusionstensorbildgebung – DTI | 223 |
| 10.3 | Funktionelle Bildgebung | 225 |
| 10.3.1 | Magnetresonanzspektroskopie – MRS | 225 |
| 10.3.2 | Single-Photon-Emissions-Computertomographie – SPECT | 227 |
| 10.3.3 | Positronenemissionstomographie – PET | 229 |
| 10.3.4 | Funktionelle Nahinfrarotspektroskopie – fNIRS | 235 |
| 10.3.5 | Elektroenzephalographie – EEG | 236 |
| 10.3.6 | Magnetenzephalographie – MEG | 239 |
| 10.4 | Funktionelle Magnetresonanztomographie – fMRT | 239 |
| 10.4.1 | Grundlagen der fMRT | 240 |
| 10.4.2 | fMRT-Experimente | 243 |
| 10.4.3 | Auswertung von fMRT-Daten: Vom BOLD-Signal zum Blob | 255 |
| | Literatur und World-Wide-Web-Links | 263 |
| | Stichwortverzeichnis | 265 |