

Inhaltsverzeichnis

Biochemie – Grundlagen und Experimente	5
1 Arbeiten im Biochemischen Labor	15
Herstellung eines Rohhomogenats und Zellextraktes	16
Methoden zum Aufschluss biologischen Materials	17
Zentrifugen und Zentrifugieren	19
Volumenmessung	22
pH-Messung	23
Arbeiten am Spektralphotometer	24
Chromatographie, Elektrophorese, elektrochemische Methoden	25
Umgang mit Biochemikalien und Reagentien	25
Vorschriften zur Arbeitssicherheit und Entsorgung	26
Datenauswertung und Protokollführung	29
2 Chemische und physikalische Grundlagen	31
Mischungen von Molekülen: Diffusion und Dialyse	31
Säuren, Basen und Puffer	35
Redoxvorgänge	41
Bioanorganische Chemie	47
Die Elemente der Biosphäre	49
Lichtabsorption und Spektren	52
Verteilung, Adsorption, Chromatographie	62
Versuche:	
2.1 Löslichkeit von Biomolekülen	33
2.2 Diffusion und Dialyse	34
2.3 Puffer für biochemische Zwecke	37
2.4 Bestimmung des pK-Wertes einer schwachen Säure	39
2.5 Abhängigkeit einer Enzymreaktion vom pH-Wert	40
2.6 Decarboxylierung einer Ketocarbonsäure	40
2.7 Das Redoxpaar Chinon/Hydrochinon	45
2.8 Farbstoffe als Redoxindikatoren: Methylenblau	46
2.9 Häm in Hämoglobin	50
2.10 Anthocyane aus Blüten und Früchten	57
2.11 Spektrale Eigenschaften der Nicotinamidadeninnucleotide	60
2.12 Dünnschichtchromatographie der Blattfarbstoffe	64

	Fragen zu Kapitel 2	67
3	Aminosäuren und Proteine	69
	Eigenschaften von Aminosäuren	69
	Proteinogene Aminosäuren	70
	Die Peptidbindung	72
	Isoelektrischer Punkt	73
	Ausfällen von Proteinen	76
	Methoden der Proteinbestimmung	79
	Thiol- und Disulfidgruppen in Proteinen	83
	Enzymatische und saure Hydrolyse (Proteolyse)	85
	Versuche:	
	3.1 Nachweis von Aminosäuren mit Ninhydrin	71
	3.2 Titration von Glycin	73
	3.3 Isoelektrischer Punkt und Löslichkeit von Casein	76
	3.4 Fällung von Proteinen	77
	3.5 Methoden zur Proteinbestimmung	79
	3.6 Nachweis von Thiolgruppen in Glutathion	84
	3.7 Spaltung der Peptidbindung durch Proteasen	86
	3.8 Präparation von L-Tyrosin aus Casein	87
	Fragen zu Kapitel 3	88
4	Enzymkatalyse, Enzyme und Coenzyme	91
	Enzyme als Katalysatoren	91
	Enzymnomenklatur	93
	Arbeiten mit Enzymen	94
	Enzymkinetik und Enzymhemmung	95
	Die Präparation von Enzymen	112
	Versuche:	
	4.1 Säurekatalyse der Esterbildung	99
	4.2 Katalyse der Zersetzung von Wasserstoffperoxid	100
	4.3 Vergiftung und Reaktivierung eines Enzyms: Urease	101
	4.4 Aktivität und Kinetik von Alkoholdehydrogenase	102
	4.5 Bestimmung von Transaminasen	104
	4.6 Enzymatische Bestimmung von Metaboliten: Pyruvat, ADP	107
	4.7 Spezifität und Hemmung von Serinproteasen	109

4.8	Isolierung von Enzymen aus biologischem Material	114
(a)	Alkoholdehydrogenase aus Hefe	115
(b)	Saure Phosphatase aus Weizenkeimen	115
(c)	Lysozym aus Hühnereiweiß	117
(d)	Aldolase aus Kaninchenmuskel	119
	Fragen zu Kapitel 4	123
5	Zucker und Polysaccharide	125
	Eigenschaften	125
	Umwandlungen der Zucker untereinander	127
	Die glycosidische Bindung	129
	Versuche:	
5.1	Reduzierende und nicht-reduzierende Zucker	130
5.2	Glucosebestimmung mit Glucoseoxidase	132
5.3	Bestimmung von Saccharose	134
5.4	Stärkeverzuckerung durch Amylase oder Amyloglucosidase	136
5.5	Präparation von Glykogen	137
5.6	Ascorbinsäure	139
	Fragen zu Kapitel 5	142
6	Phosphat und Nucleotide	145
	Die Phosphatbestimmung	145
	Struktur und Vielfalt der Nucleotide	147
	Adeninnucleotide und ihre Bestimmung	148
	Ionenaustauschchromatographie	150
	Versuche:	
6.1	Anorganisches und organisch gebundenes Phosphat	145
6.2	Trennung der Adenosinphosphate	151
6.3	Bestimmung von ATP mit Luciferin/Luciferase	152
6.4	Differenzierung von Ribo- und 2'-Desoxyribonucleotiden	154
	Fragen zu Kapitel 6	156

7	Nucleinsäuren	159
	Präparation und Charakterisierung von Nucleinsäuren	159
	Desoxyribonucleinsäure	161
	Ribonucleinsäure	171
	Versuche:	
7.1	Präparation von DNA	162
	(a) aus Kalbsthymus	163
	(b) aus Weizenkeimlingen	164
	(c) aus Bakterienzellen	165
7.2	Plasmid-DNA	166
7.3	Basenzusammensetzung: Methylcytosin in Pflanzen-DNA	167
7.4	Spektroskopie von DNA-Lösungen, T_m -Wert	169
7.5	Präparation der Gesamt-RNA aus Hefe	171
7.6	Nucleotidanalyse eines RNA-Hydrolysats	172
	Fragen zu Kapitel 7	175
8	Zellorganellen	177
	Präparation intakter Zellorganellen, Dichtegradientenzentrifugation	177
	Leit- oder Markerenzyme	179
	Mitochondrien	181
	Elektrochemische Sauerstoffbestimmung	186
	Chloroplasten	197
	Versuche:	
8.1	Bestimmung von Leitenzymen	180
8.2	Präparation von Mitochondrien	182
	(a) aus Schweineherz	183
	(b) aus Kartoffeln	184
8.3	Aktivitätsmessungen an Mitochondrien	186
8.4	Cytochrom c und Cytochromoxidase	190
8.5	Isolierung und Identifizierung von Membranlipiden	194
8.6	Präparation und Charakterisierung von Spinatchloroplasten	198
8.7	Ribulosebiphosphatcarboxylase aus Spinat	200
8.8	Licht- und Redoxregulation der chloroplastidären Fructose-bisphosphatase	203
	Fragen zu Kapitel 8	207

9	Biochemische Trenn- und Analysenverfahren	209
	Hinweise zur Säulenchromatographie	210
	Molekularsiebchromatographie (Gelfiltration)	211
	Ionenaustauschchromatographie von Proteinen	213
	Affinitätschromatographie	217
	Polyacrylamid-Gelelektrophorese (PAGE)	219
	Versuche:	
9.1	Gelfiltration von Proteinen und Cofaktoren	212
9.2	DEAE-Cellulosechromatographie eines Proteingemisches	214
9.3	CM-Cellulosechromatographie: Cytochrom c oder Lysozym	215
9.4	Affinitätschromatographie einer Dehydrogenase	218
9.5	SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese von Proteinen	222
	Fragen zu Kapitel 9	224
10	Begriffe, Tabellen, Nomogramme, Literatur	227
	Chemische und physikalisch-chemische Begriffe	227
	Puffer für biochemische Zwecke	231
	Säuredissoziationskonstanten	232
	Standard-Reduktionspotentiale	233
	% Ammoniumsulfatsättigung	234
	Geschwindigkeit von Zentrifugenrotoren	235
	Gebräuchliche Abkürzungen der Biochemie	236
	Literaturhinweise	238
	Periodensystem der Elemente	240
	Sachverzeichnis	241