

# Inhaltsverzeichnis

<b>Biochemie – Grundlagen und Experimente</b>	<b>5</b>
<b>1 Arbeiten im Biochemischen Labor</b>	<b>15</b>
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
<b>2 Chemische und physikalische Grundlagen</b>	<b>31</b>
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
<b>Versuche:</b>	
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 Hämoglobin aus Hämoglobin	50
2.10 Anthocyane aus Blüten und Früchten	57
2.11 Spektrale Eigenschaften der Nicotinamidadeninnucleotide	60
2.12 Dünnschichtchromatographie der Blattfarbstoffe	64

<b>Fragen zu Kapitel 2</b>	<b>67</b>
<b>3 Aminosäuren und Proteine</b>	<b>69</b>
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
<b>Versuche:</b>	
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
<b>Fragen zu Kapitel 3</b>	<b>88</b>
<b>4 Enzymkatalyse, Enzyme und Coenzyme</b>	<b>91</b>
Enzyme als Katalysatoren	91
Enzymnomenklatur	93
Arbeiten mit Enzymen	94
Enzymkinetik und Enzymhemmung	95
Die Präparation von Enzymen	112
<b>Versuche:</b>	
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
<b>5 Zucker und Polysaccharide</b>	<b>125</b>
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
<b>6 Phosphat und Nucleotide</b>	<b>145</b>
Die Phosphatbestimmung	145
Struktur und Vielfalt der Nucleotide	147
Adeninnucleotide und ihre Bestimmung	148
Ionenaustrauschchromatographie	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

<b>7 Nucleinsäuren</b>	<b>159</b>
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-Hydrolysat	172
Fragen zu Kapitel 7	175
<b>8 Zellorganellen</b>	<b>177</b>
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 Ribulosebisphosphatcarboxylase aus Spinat	200
8.8 Licht- und Redoxregulation der chloroplastidären Fructose-bisphosphatase	203
Fragen zu Kapitel 8	207

---

<b>9 Biochemische Trenn- und Analysenverfahren</b>	<b>209</b>
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
<b>10 Begriffe, Tabellen, Nomogramme, Literatur</b>	<b>227</b>
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
<b>Sachverzeichnis</b>	<b>241</b>