

Inhaltsverzeichnis

Vorwort.....	V
Inhaltsverzeichnis.....	VII
Abkürzungen	XIII
Symbole	XVIII
1 Einleitung.....	1
2 Biomoleküle	9
2.1 Proteine	9
2.1.1 Aminosäurestrukturen	10
2.1.1.1 Zwitterionenform und pH-Abhängigkeit	12
2.1.1.2 pK-Werte und isoelektrischer Punkt	13
2.1.1.3 D- und L-Konfiguration	14
2.1.2 Proteinstrukturen	14
2.1.2.1 Peptidbindung	14
2.1.2.2 Sulfidbindung	15
2.1.2.3 Aminosäuresequenz	15
2.1.2.4 Primär-, Sekundär-, Tertiär- und Quarternärstruktur	18
2.1.2.5 α -Helix und β -Faltblatt	18
2.1.3 Denaturierung und Redenaturierung	20
2.1.4 Glutathion- und Metallothioneinstrukturen	21
2.2 Nucleinsäuren	24
2.2.1 Strukturen	24
2.2.2 Doppelhelix, Basenpaarung und Replikation	27
2.2.3 Translation und Transkription	30
2.2.4 Die Polymerasekettenreaktion	30
2.3 Glycoproteine	33
2.3.1 Strukturen	33
2.3.1.1 <i>N</i> -glycosidische Bindung	35
2.3.1.2 <i>O</i> -glycosidische Bindung	37

2.3.2 Isolierung von Glycoproteinen aus Membranen.....	37
2.3.3 Enzymatische Sequenzierung der Glycane.....	42
2.3.4 Freisetzung der Glycane aus Proteinen	45
2.3.4.1 Enzymatische Isolierung	45
2.3.4.2 Hydrazinolyse.....	46
2.3.5 Markieren der Glycane.....	46
2.3.5.1 Fluoreszenzmarkierung mit 2-AB und BAP.....	47
2.3.5.2 Radioaktive Markierung.....	48
2.4 Lipide	49
2.4.1 Strukturen.....	49
2.4.2 Biosyntheseprozesse.....	53
2.4.2.1 Cholesterin und Squalen.....	53
2.4.2.2 Ceramid und Cerebrosid.....	54
3 Prechromatographische Methoden	57
3.1 Lysozymbehandlung.....	57
3.2 Aussalzen	58
3.3 Lyophilisation	60
3.4 Dialyse	61
3.5 Ultrazentrifugation	61
3.6 Batch-Adsorption	63
3.7 Flüssig-flüssig-Extraktion	64
3.8 Filtration.....	65
3.8.1 Mikrofiltration.....	66
3.8.2 Ultrafiltration	67
4 Flüssigchromatographie	71
4.1 Hochleistungsflüssigchromatographie.....	71
4.1.1 Grundlagen des Trennprozesses.....	72
4.1.2 Apparative Grundlagen	80
4.1.3 Trennsysteme	90
4.1.3.1 Normalphasenchromatographie.....	90
4.1.3.2 Chemisch modifizierte Phasen und Reversed-Phase-Chromatographie	90
4.1.3.3 Chirale Trennsysteme.....	92

4.2 Spezielle Trennmethode und -systeme	95
4.2.1 Ionenausschlu�chromatographie	95
4.2.2 Ionenausschlu�chromatographie	96
4.2.3 Anionenaustauschchromatographie mit gepulst-amperometrischer Detektion	98
4.2.4 Ionenchromatographie	99
4.3 Biochromatographie	101
4.3.1 Chromatographie an Hydroxylapatit	103
4.3.2 Größenausschlußchromatographie	104
4.3.3 Ionenaustauschchromatographie	106
4.3.4 Hydrophobe Wechselwirkungs-Chromatographie	110
4.3.5 Affinitätschromatographie	112
4.3.6 Kovalente Chromatographie	115
4.3.7 Chromatographie an porösen Glaskugeln	118
4.3.8 Perfusionschromatographie	119
5 Elektrophorese-Techniken	123
5.1 Klassische Elektrophorese	123
5.1.1 Tr�gerfreie und tr�gergest�tzte Elektrophorese	123
5.1.2 Zonenelektrophorese	125
5.1.3 Disk-Elektrophorese	126
5.1.4 SDS-Polyacrylamid-Gel-Elektrophorese	127
5.1.5 Isotachophorese	129
5.1.6 Isoelektrische Fokussierung	130
5.2 Kapillarelektrophorese	132
5.2.1 Apparative Grundlagen	132
5.2.1.1 Aufbau einer Kapillarelektrophorese-Apparatur	132
5.2.1.2 Injektionstechniken	133
5.2.1.3 Trennkapillaren	133
5.2.1.4 Detektion	134
5.2.2 Trennph�nomene	135
5.2.2.1 Elektrophoreseprinzip	135
5.2.2.2 Elektroosmotischer Fluß	136
5.2.3 Trennmechanismen	138
5.2.3.1 Kapillarzonenlektrophorese	138
5.2.3.2 Kapillargelelektrophorese	138
5.2.3.3 Isoelektrische Fokussierung	139
5.2.3.4 Isotachophorese	139
5.2.3.5 Micellare Elektrokinetische Chromatographie	139
5.2.3.6 Kapillar-Elektrochromatographie	141

6 Strukturanalytische Methoden	145
6.1 UV/VIS- und Fluoreszenzspektroskopie	145
6.1.1 Spektralbereiche	147
6.1.2 Wechselwirkungen zwischen Strahlung und Substanz	149
6.1.3 Lambert-Beer'sches Gesetz	150
6.1.4 Aufbau eines Spektralphotometers	151
6.1.5 Fluoreszenzspektroskopie	152
6.2 Kernmagnetische Resonanzspektroskopie	153
6.2.1 Magnetfeld, Kernanregung und Kernspin	154
6.2.2 Resonanzbedingung	157
6.2.3 Relaxation	158
6.2.4 Impulsverfahren	159
6.2.5 Chemische Verschiebung	159
6.2.6 Spin-Spin-Kopplung	161
6.2.7 Aufbau eines NMR-Spektrometers	162
6.2.8 Strukturaufklärung	163
6.3 Massenspektrometrie	166
6.3.1 Aufbau eines Massenspektrometers	166
6.3.2 Harte Ionisationsarten	168
6.3.2.1 Elektronenstoßionisation	168
6.3.3 Weiche Ionisationsarten	169
6.3.3.1 Thermospray	170
6.3.3.2 Chemische Ionisation	170
6.3.3.3 Fast Atom Bombardement	170
6.3.3.4 Electrospray	171
6.3.3.5 Feldionisation	171
6.3.3.6 Felddesorption	172
6.3.4 Spektrometertypen	172
6.3.4.1 Magnetfeld-Sektorfeld-Massenspektrometer	172
6.3.4.2 Flugzeitmassenspektrometer	174
6.3.4.3 Quadrupolmassenspektrometer	175
6.3.4.4 Tandemmassenspektrometer	175
6.3.6 Spektrenvergleich zwischen harter und weicher Ionisation	176
6.4 Laser Desorptions/Ionisations - Massenspektrometrie	177
6.4.1 Aufbau von MALDI-TOF-MS-Geräten	178
6.4.2 Probepräparation	180
6.4.3 Molekulargewichtsbestimmung mittels MALDI-MS	182
7 Kopplungstechniken	185
7.1 Gaschromatographie - Massenspektrometrie	185

7.2 Flüssigchromatographie - Massenspektrometrie	187
7.2.1 LC-Thermospray-MS	188
7.2.2 LC-Atmosphärendruck-MS	190
7.2.3 LC-Fast-Atom-Bombardement-MS	192
7.2.4 LC-Electrospray-MS	193
7.2.5 LC-Particle-Beam-MS	194
7.2.6 μ -LC-Direkteinlaß-MS	195

8 Applikationen kleiner Biosubstanzen 199

8.1 Glutathion und Metallothioneine in toxischen und antitoxischen Prozessen.....	200
8.1.1 Metallothioneine	200
8.1.2 Phytochelatine	202
8.1.3 Glutathion und Thiolspecies.....	203
8.1.4 Derivatisierung und Detektion von Thiolspecies	205
8.1.4.1 Ellman's-Reagenz.....	206
8.1.4.2 Sanger's Reagenz	206
8.1.4.3 Substituierte Maleinimide	206
8.1.4.4 Monobrombiman.....	207
8.1.4.5 o-Phthalaldehyd.....	207
8.1.4.6 Elektrochemische Detektion.....	208
8.1.5 HPLC von Thiolen und Disulfiden.....	209
8.1.5.1 Kovalente Chromatographie.....	209
8.1.5.2 „Saure“ Reversed-Phase-HPLC	211
8.1.5.3 Electrospray-MS von Glutathion und Metaboliten.....	213
8.1.5.4 Analyse biologischer Matrices	214
8.1.6 Kapillarelektrophorese von Thiolen und Disulfiden	216
8.1.7 Kapillarelektrophorese von Phytochelatinen.....	218
8.2 Nucleobasen und Nucleoside in Zellen und Geweben	221
8.2.1 Reversed-Phase- und Ionenpaarchromatographie	222
8.2.2 Kapillarelektrophorese	224
8.3 Kohlenhydrate in Hydrolysaten und Lebensmitteln	225
8.3.1 Chromatographie an Aminophasen	225
8.3.2 HPAEC-PAD-Technik	229
8.3.3 Kapillarelektrophorese	231
8.4 Säuren in biotechnologischen Prozessen und Produkten.....	232
8.4.1 Organische Säuren in Fermentationsmedien	232
8.4.1.1 Ionenaustauschchromatographie von organischen Säuren.....	234
8.4.1.2 Ionenausschlußchromatographie von niederen organischen Säuren.....	236
8.4.2 Fettsäuren in Hefen und Bakterien	238
8.4.2.1 Modifizierungen und Kapillargaschromatographie	240
8.4.2.2 Kapillargaschromatographie - Massenspektrometrie	243

9 Applikationen großer Biomoleküle	247
9.1 Enzyme von thermophilen Mikroorganismen	247
9.1.1 Isolierung der Enzymfraktionen	247
9.1.2 Biochromatographie	249
9.2 Nucleotide in Geweben und von DNA-Spaltprodukten	253
9.2.1 Ionenpaarchromatographie	254
9.2.2 Kapillargelelektrophorese von DNA-Fragmenten	256
9.3 Glycan-Strukturen von Glycoproteinen	260
9.3.1 Profilanalysen der Glycane	262
9.3.1.1 Monosaccharid-Mapping mittels HPAEC-PAD	262
9.3.1.2 <i>N</i> -Glycan-Trennungen mit speziellen HPLC-Methoden	263
9.3.2 Strukturanalysen der Glycane	264
9.3.2.1 GC-MS und Methylierungsanalyse	265
9.3.2.2 Fast-Atom-Bombardement	266
9.3.3.3 LC-Electrospray-MS	267
9.3.3.4 MALDI-TOF-MS	268
9.3.2.5 MALDI-PSD-TOF-MS	269
9.3.2.5 ¹ H-NMR	274
9.4 Phospholipide in biologischen Extrakten	276
9.4.1 Flüssigchromatographie	276
9.4.2 NMR-Spektroskopie	279
10 Literaturverzeichnis.....	285
zu Kapitel 2:	285
zu Kapitel 3:	285
zu Kapitel 4:	286
zu Kapitel 5:	289
zu Kapitel 6:	290
zu Kapitel 7:	292
zu Abschnitt 8.1	293
zu Abschnitt 8.2:	296
zu Abschnitt 8.3	297
zu Abschnitt 8.4	298
zu Abschnitt 9.1	299
zu Abschnitt 9.2	301
zu Abschnitt 9.3	303
zu Abschnitt 9.4	305
Sachwortverzeichnis	307