

Inhaltsverzeichnis

1	Auftakt	1
	<i>Guido Hermey</i>	
2	Molekularbiologische Techniken	7
	<i>Guido Hermey</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 Hermey</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 Hermey</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	Ionen-transport 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 Hermey</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	Magnetenzecephalographie – 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