

Inhaltsverzeichnis

1	Bioanalytik – eine eigenständige Wissenschaft	1
	<i>Jens Kurreck, Friedrich Lottspeich und Joachim W. Engels</i>	
1.1	Paradigmenwechsel in der Biochemie: von der Proteinchemie zur Systembiologie	3
1.1.1	Klassische Strategie	3
1.1.2	Holistische Strategie	3
1.2	Methoden begründen Fortschritt	4
1.2.1	Proteinanalytik	6
1.2.2	Molekularbiologie	7
1.2.3	Bioinformatik	9
1.2.4	Funktionsanalyse	9

I Proteinanalytik

2	Proteinreinigung	13
	<i>Friedrich Lottspeich</i>	
2.1	Eigenschaften von Proteinen	14
2.2	Proteinlokalisierung und Reinigungsstrategie	17
2.3	Homogenisierung und Zellaufschluss	18
2.4	Die Fällung	20
2.5	Zentrifugation	21
2.5.1	Grundlagen	22
2.5.2	Zentrifugationstechniken	23
2.6	Abtrennung von Salzen oder hydrophilen Verunreinigungen	25
2.7	Konzentrierung	27
2.8	Detergenzien und ihre Entfernung	28
2.8.1	Eigenschaften von Detergenzien	28
2.8.2	Entfernen von Detergenzien	31
2.9	Probenvorbereitung für die Proteomanalyse	32
	Literatur und Weiterführende Literatur	32
3	Proteinbestimmungen	33
	<i>Lutz Fischer</i>	
3.1	Quantitative Bestimmung durch Färbetests	35
3.1.1	Biuret-Assay	37
3.1.2	Lowry-Assay	37
3.1.3	Bicinchoninsäure-Assay (BCA-Assay)	38
3.1.4	Bradford-Assay	38
3.2	Spektroskopische Methoden	39
3.2.1	Messungen im UV-Bereich	39
3.2.2	Fluoreszenzmethode	41
3.3	Radioaktive Markierung von Peptiden und Proteinen	41
3.3.1	Iodierungen	42
	Literatur und Weiterführende Literatur	44
4	Enzymatische Aktivitätstests	45
	<i>Hans Bisswanger</i>	
4.1	Michaelis-Menten-Gleichung	46
4.2	Kriterien für die Konzentrationen der Testsubstanzen	49
4.3	Einflüsse auf die Enzymaktivität	49
4.3.1	pH-Abhängigkeit	49
4.3.2	Abhängigkeit von der Ionenstärke	50

4.3.3	Abhängigkeit von der Temperatur.....	50
4.3.4	Stabilität von Enzymen	51
4.4	Aufbau eines Testsystems	52
4.4.1	Generelle Vorgehensweise bei Enzymtests	52
4.4.2	Konzipierung eines speziellen Testverfahrens.....	52
4.5	Messtechniken	54
4.5.1	Optische Methoden	54
4.5.2	Elektrochemische Methoden.....	55
4.5.3	Radioaktive Markierung	56
4.5.4	Chromatographische Verfahren	56
4.5.5	Diverse Methoden.....	56
5	Mikrokalorimetrie	59
	<i>Alfred Blume</i>	
5.1	Differential Scanning Calorimetry (DSC)	61
5.2	Isothermal Titration Calorimetry (ITC)	67
5.2.1	Bindung von Liganden an Proteine.....	67
5.2.2	Bindung von Molekülen an Membranen: Einbau und periphere Bindung.....	72
5.3	Pressure Perturbation Calorimetry (PPC)	75
	Literatur und Weiterführende Literatur	76
6	Immunologische Techniken	77
	<i>Hyun-Dong Chang und Reinhold Paul Linke</i>	
6.1	Antikörper	78
6.1.1	Antikörper und Immunabwehr.....	78
6.1.2	Antikörper als Reagens	78
6.1.3	Eigenschaften von Antikörpern	79
6.1.4	Funktionelle Struktur von IgG.....	81
6.1.5	Antigenbindungsstelle (Haftstelle)	82
6.1.6	Handhabung von Antikörpern	83
6.2	Antigene	84
6.3	Antigen-Antikörper-Reaktion	85
6.3.1	Immunagglutination	86
6.3.2	Immunpräzipitation	87
6.3.3	Immunbindung	97
6.4	Komplementfixation	106
6.5	Methoden der zellulären Immunologie	106
6.5.1	Immunhistochemie, Immuncytochemie.....	106
6.5.2	Durchflusscytometrie.....	108
6.5.3	Seriellles Zellsortierverfahren.....	111
6.5.4	Parallele Zellsortierverfahren	111
6.6	Herstellung von Antikörpern	112
6.6.1	Arten von Antikörpern.....	112
6.6.2	Ausblick: künftige Erweiterung der Bindungskonzepte.....	114
	Literatur und Weiterführende Literatur	115
7	Chemische Modifikation von Proteinen und Proteinkomplexen	117
	<i>Sylvia Els-Heindl, Anette Kaiser, Kathrin Bellmann-Sickert und Annette G. Beck-Sickinger</i>	
7.1	Chemische Modifikation funktioneller Gruppen von Proteinen	119
7.1.1	Lysinreste	119
7.1.2	Cysteinreste	122
7.1.3	Glutamat- und Aspartatreste.....	123
7.1.4	Argininreste	124
7.1.5	Tyrosinreste	124
7.1.6	Tryptophanreste.....	125

7.1.7	Methioninreste	126
7.1.8	Histidinreste	126
7.2	Modifizierung als Mittel zur Einführung von Reportergruppen.	127
7.2.1	Untersuchungen an natürlich vorkommenden Proteinen	127
7.2.2	Untersuchungen an mutierten Proteinen	130
7.3	Protein-Crosslinking zur Analyse von Proteinwechselwirkungen.	132
7.3.1	Bifunktionelle Reagenzien	133
7.3.2	Photoaffinitätsmarkierung	133
	Literatur und Weiterführende Literatur	143
8	Spektroskopie	145
	<i>Werner Mäntele</i>	
8.1	Physikalische Prinzipien und Messtechniken.	147
8.1.1	Physikalische Grundlagen optischer spektroskopischer Messmethoden	147
8.1.2	Wechselwirkung Licht-Materie	148
8.1.3	Absorptionsmessungen	156
8.1.4	Photometer	159
8.1.5	Kinetische spektroskopische Untersuchungen	160
8.2	UV/VIS/NIR-Spektroskopie	162
8.2.1	Grundlagen	162
8.2.2	Chromoproteine	162
8.3	IR-Spektroskopie	168
8.3.1	Grundlagen	168
8.3.2	Molekülschwingungen	170
8.3.3	Messtechniken	171
8.3.4	Infrarotspektroskopie von Proteinen	174
8.4	Raman-Spektroskopie	177
8.4.1	Grundlagen	177
8.4.2	Raman-Experimente	178
8.4.3	Resonanz-Raman-Spektroskopie	178
8.5	Fluoreszenzspektroskopie	180
8.5.1	Grundlagen	180
8.5.2	Fluoreszenzspektren als Emissionsspektren und als Aktionsspektren	181
8.5.3	Fluoreszenzuntersuchungen mit intrinsischen und extrinsischen Fluorophoren	182
8.5.4	Spezielle Fluoreszenztechniken: FRAP, FLIM, FCS, TIRF	184
8.5.5	Förster-Resonanz-Energietransfer (FRET)	185
8.5.6	Einzelmolekülspektroskopie	185
8.6	Methoden mit polarisiertem Licht	186
8.6.1	Lineardichroismus	186
8.6.2	Optische Rotationsdispersion und Circular dichroismus	189
	Literatur und Weiterführende Literatur	191
9	Lichtmikroskopische Verfahren – Imaging	193
	<i>Thomas Quast und Waldemar Kolanus</i>	
9.1	Wegbereiter der Mikroskopie – von einfachen Linsen zu hochauflösenden Mikroskopen	195
9.2	Moderne Anwendungsbereiche	197
9.3	Physikalische Grundlagen.	197
9.3.1	Phänomene der Beugung und Bildentstehung	201
9.4	Nachweismethoden	202
9.4.1	Histologische Färbungen	203
9.4.2	Physikalische Färbungen	203
9.4.3	Physikochemische Vorgänge bei Färbungen (Elektroadsorption)	204
9.4.4	Chemische Färbungen	204
9.4.5	Fluoreszenzmarkierung	204
9.4.6	Direkte und indirekte Immunfluoreszenzmarkierung	204

9.4.7	<i>In vitro</i> -Markierung mit organischen Fluorochromen	205
9.4.8	Fluoreszenzmarkierung für Live Cell Imaging	205
9.4.9	<i>In vivo</i> -Markierung mit organischen Fluorochromen	205
9.4.10	Markierung mit <i>Quantum Dots</i>	205
9.4.11	<i>In vivo</i> -Markierung mit fluoreszierenden Fusionsproteinen (GFP und Varianten)	206
9.4.12	Fluorochrome und Lichtquellen für die Fluoreszenzmikroskopie	207
9.5	Präparationsmethoden	209
9.5.1	Isolierte Zellen	209
9.5.2	Gewebebiopsien	210
9.5.3	Paraffinpräparate	210
9.5.4	Gefrierschnitte	211
9.6	Spezielle fluoreszenzmikroskopische Analytik	211
9.6.1	cLSM (Confocal Laser Scanning Microscopy)	211
9.6.2	Multi-Photon Fluorescence Microscopy	212
9.6.3	Konfokale High-Speed-Spinning-Disk-Systeme (Nipkow-Systeme)	214
9.6.4	Live Cell Imaging	214
9.6.5	Lichtmikroskopische Superauflösung jenseits des Abbe-Limits	215
9.6.6	Messung von Molekülbewegungen	217
	Literatur und Weiterführende Literatur	223
10	Spaltung von Proteinen	225
	<i>Josef Kellermann</i>	
10.1	Proteolytische Enzyme	226
10.2	Strategie	227
10.3	Denaturierung	228
10.4	Spaltung von Disulfidbrücken und Alkylierung	228
10.5	Enzymatische Fragmentierung	229
10.5.1	Proteasen	229
10.5.2	Proteolysebedingungen	234
10.6	Chemische Fragmentierung	235
10.7	Zusammenfassung	236
	Literatur	237
11	Chromatographische Trennmethoden für Peptide und Proteine	239
	<i>Reinhard Boysen</i>	
11.1	Instrumentierung	241
11.2	Chromatographische Theorie	242
11.3	Die physiko-chemischen Charakteristika der Peptide und Proteine	245
11.4	Chromatographische Trennmethoden	246
11.4.1	Ausschlusschromatographie	247
11.4.2	Hochleistungs-Reversed-Phase-Chromatographie (HP-RPC)	248
11.4.3	Hochleistungsnormalphase-Chromatographie (HP-NPC)	249
11.4.4	Hochleistungs-Hydrophile-Interaktionschromatographie (HP-HILIC)	250
11.4.5	Hochleistungs-Aqueous-Normalphasechromatographie (HP-ANPC)	250
11.4.6	Hochleistungs-Hydrophobe-Interaktionschromatographie (HP-HIC)	251
11.4.7	Hochleistungsionenaustauschchromatographie (HP-IEX)	253
11.4.8	Hochleistungsaffinitätschromatographie (HP-AC)	254
11.5	Methodenentwicklung für die analytische Chromatographie am Beispiel der HP-RPC ..	256
11.5.1	Entwicklung und Optimierung einer Methode	256
11.5.2	Übergang zur präparativen Chromatographie	258
11.5.3	Fraktionierung	259
11.5.4	Analyse der Fraktionen	259
11.6	Multidimensionale HPLC	260
11.6.1	Trennung von individuellen Peptiden und Proteinen in der MD-HPLC	260
11.6.2	Trennung von komplexen Peptid- und Proteinmischungen mit der MD-HPLC	261
11.6.3	Methodenstrategien für die MD-HPLC	261

11.6.4	Entwurf eines effektiven MD-HPLC-Schemas für Peptide und Proteine.....	262
11.7	Schlussbemerkung	264
	Literatur und Weiterführende Literatur	264
12	Elektrophoretische Verfahren	265
	<i>Reiner Westermeyer und Angelika Görg</i>	
12.1	Geschichtlicher Überblick	267
12.2	Theoretische Grundlagen	268
12.3	Instrumentierung und Durchführung von Gelelektrophoresen	271
12.3.1	Probenvorbereitung	273
12.3.2	Gelmedien für Elektrophoresen	273
12.3.3	Nachweis und Quantifizierung der getrennten Proteine	274
12.3.4	Zonenelektrophorese	277
12.3.5	Porengradientengele	278
12.3.6	Puffersysteme	278
12.3.7	Disk-Elektrophorese	279
12.3.8	Saure Nativelektrophorese	280
12.3.9	SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese	280
12.3.10	Kationische Detergenselektrophorese	282
12.3.11	Blaue Nativ-Polyacrylamidgelelektrophorese	282
12.3.12	Isoelektrische Fokussierung	282
12.4	Präparative Verfahren	287
12.4.1	Elektroelution aus Gelen	287
12.4.2	Präparative Zonenelektrophorese	287
12.4.3	Präparative isoelektrische Fokussierung	288
12.5	Trägerfreie Elektrophorese	290
12.6	Hochauflösende zweidimensionale Elektrophorese	290
12.6.1	Probenvorbereitung	292
12.6.2	Vorfraktionierung	292
12.6.3	Erste Dimension: IEF in IPG-Streifen	293
12.6.4	Zweite Dimension: SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese	294
12.6.5	Detektion und Identifizierung der Proteine	294
12.6.6	Differenzgelelektrophorese (DIGE)	294
12.7	Elektroblotting	296
12.7.1	Blotsysteme	296
12.7.2	Transferpuffer	298
12.7.3	Blotmembranen	298
	Literatur und Weiterführende Literatur	298
13	Kapillarelektrophorese	299
	<i>Philippe Schmitt-Kopplin und Gerhard K. E. Scriba</i>	
13.1	Geschichtlicher Überblick	300
13.2	Aufbau der Kapillarelektrophorese	300
13.3	Grundprinzipien der Kapillarelektrophorese	301
13.3.1	Der Elektroosmotische Fluss (EOF)	301
13.3.2	Joule'sche Wärmeentwicklung	303
13.3.3	Injektion der Proben	303
13.3.4	Detektion	304
13.4	Die Methoden der Kapillarelektrophorese	305
13.4.1	Kapillarzonenelektrophorese (CZE)	305
13.4.2	Micellarelektrokinetische Chromatographie (MEKC) und Mikroemulsion elektrokinetische Chromatographie (MEEKC)	310
13.4.3	Kapillaraffinitätslektrophorese (ACE)	313
13.4.4	Kapillarelektrochromatographie (CEC)	313
13.4.5	Enantiomerentrennungen	314

13.4.6	Kapillargelelektrophorese (CGE).....	314
13.4.7	Isoelektrische Fokussierung (CIEF).....	317
13.4.8	Isotachophorese (ITP).....	320
13.5	Spezielle Techniken	321
13.5.1	Online-Probenkonzentrierung.....	321
13.5.2	Fraktionierung.....	321
13.5.3	Mikrochipelektrophorese.....	323
13.6	Ausblick	324
	Literatur und Weiterführende Literatur.....	325
14	Aminosäureanalyse	327
	<i>Josef Kellermann</i>	
14.1	Probenvorbereitung	329
14.1.1	Saure Hydrolyse.....	329
14.1.2	Alkalische Hydrolyse.....	330
14.1.3	Enzymatische Hydrolyse.....	330
14.2	Freie Aminosäuren	330
14.3	Flüssigchromatographie mit optischer Detektion	330
14.3.1	Nachsäulenderivatisierung.....	330
14.3.2	Vorsäulenderivatisierung.....	333
14.4	Aminosäureanalyse mit massenspektrometrischer Detektion	335
14.5	Datenauswertung und Beurteilung der Analysen	337
	Literatur und Weiterführende Literatur.....	339
15	Proteinsequenzanalyse	341
	<i>Friedrich Lottspeich</i>	
15.1	N-terminale Sequenzanalyse: der Edman-Abbau	344
15.1.1	Reaktionen des Edman-Abbaus.....	344
15.1.2	Identifizierung der Aminosäuren.....	345
15.1.3	Die Qualität des Edman-Abbaus: die repetitive Ausbeute.....	346
15.1.4	Instrumentierung.....	346
15.1.5	Probleme der Aminosäuresequenzanalyse.....	350
15.1.6	Stand der Technik.....	353
15.2	C-terminale Sequenzanalyse	354
15.2.1	Chemische Abbaumethoden.....	354
15.2.2	Peptidmengen und Qualität des chemischen Abbaus.....	356
15.2.3	Abbau der Polypeptide mit Carboxypeptidasen.....	356
15.3	Single Molecule Protein Sequencing	357
15.4	Ausblick	357
	Literatur und Weiterführende Literatur.....	358
16	Massenspektrometrie	359
	<i>Helmut E. Meyer, Thomas Fröhlich, Eckhard Nordhoff und Katja Kuhlmann</i>	
16.1	Ionisationsmethoden	361
16.1.1	Matrixassistierte Laserdesorptions/Ionisations-Massenspektrometrie (MALDI-MS).....	362
16.1.2	Elektrospray-Ionisation (ESI).....	367
16.2	Massenanalysatoren	374
16.2.1	Flugzeitanalysator (TOF).....	376
16.2.2	Quadrupolanalysator.....	378
16.2.3	Elektrische Ionenfallen.....	380
16.2.4	Magnetische Ionenfalle.....	382
16.2.5	Orbital-Ionenfalle.....	383
16.2.6	Hybridgeräte.....	384
16.3	Ionendetektoren	389
16.3.1	Sekundärelektronenvervielfacher (SEV).....	389

16.3.2	Faraday-Becher	390
16.4	Fragmentierungstechniken	391
16.4.1	Kollisionsinduzierte Dissoziation (CID)	391
16.4.2	Prompte und metastabile Zerfälle (ISD, PSD)	392
16.4.3	Photoneninduzierte Dissoziation (PID, IRMPD)	394
16.4.4	Erzeugung von Radikalen (ECD, HECD, ETD)	394
16.5	Massenbestimmung	396
16.5.1	Berechnung der Masse	396
16.5.2	Einfluss der Isotopie	396
16.5.3	Kalibrierung	400
16.5.4	Bestimmung der Ladungszahl	400
16.5.5	Signalverarbeitung und -auswertung	400
16.5.6	Ableitung der Masse	401
16.5.7	Probleme	401
16.6	Identifizierung, Nachweis und Strukturaufklärung	402
16.6.1	Identifizierung	402
16.6.2	Nachweis	403
16.6.3	Strukturaufklärung	404
16.7	LC-MS und LC-MS/MS	410
16.7.1	LC-MS	410
16.7.2	LC-MS/MS	412
16.7.3	Ionenmobilitätsspektrometrie (IMS)	412
16.8	Quantifizierung	413
	Literatur und Weiterführende Literatur	414
17	Massenspektrometriebasierte Immunassays	415
	<i>Oliver Pötz, Thomas O. Joos, Dieter Stoll und Markus F. Templin</i>	
17.1	Fängermoleküle für massenspektrometriebasierte Immunassays	416
17.2	Auswahl der Peptide für massenspektrometriebasierte Immunassays	418
17.3	Gezielter Nachweis von Proteinen über massenspektrometriebasierte Immunassays	419
17.4	Anwendung in der Forschung und Klinik – Proteinbiomarker	420
17.5	Proteomweite Immunaффinitäts-MS-basierte Ansätze mit gruppenspezifischen Antikörpern	421
17.6	Ausblick	422
	Literatur und Weiterführende Literatur	422
18	Bildgebende Massenspektrometrie	423
	<i>Bernhard Spengler</i>	
18.1	Analytische Mikrosonden	424
18.2	Images: Massenspektrometrische Rasterbilder	425
18.3	SMALDI-MS: Die Grenzen der Auflösung	426
18.4	Weitere Methoden der bildgebenden Massenspektrometrie	427
18.5	Auflösung versus Nachweisgrenze	428
18.6	MS-Imaging als phänomenologische Methode	429
18.7	SMALDI-Imaging als exakte Methode	429
18.8	Identifizierung und Charakterisierung	430
	Literatur und Weiterführende Literatur	431
19	Protein-Protein-Wechselwirkungen	433
	<i>Peter Uetz, Eva-Kathrin Ehmöser, Dagmar Klostermeier, Klaus Richter und Ute Curth</i>	
19.1	Das Two-Hybrid-System	435
19.1.1	Das Konzept des Two-Hybrid-Systems	435
19.1.2	Die Elemente des Two-Hybrid-Systems	436

19.1.3	Konstruktion des Köderproteins.....	437
19.1.4	Welche Köderproteine eignen sich für das Two-Hybrid-System?.....	440
19.1.5	Aktivator-Fusionsprotein und cDNA-Bibliotheken.....	440
19.1.6	Durchführung des Two-Hybrid-Screenings.....	441
19.1.7	Modifizierte Anwendungen und Weiterentwicklungen der Two-Hybrid-Technologie.....	445
19.1.8	Biochemische und funktionale Analyse der Interaktoren.....	446
19.2	TAP-Tagging und Reinigung von Proteinkomplexen	447
19.2.1	Retrovirale Transduktion.....	448
19.2.2	TAP-Reinigung.....	449
19.2.3	Massenspektrometrische Analyse.....	450
19.2.4	Limitationen der TAP-Reinigung.....	450
19.3	In vitro-Interaktionsanalyse: GST-Pulldown	450
19.4	Ko-Immunpräzipitation	452
19.5	Far-Western-Blot	453
19.6	Plasmonenspektroskopie (Surface Plasmon Resonance)	453
19.7	Fluoreszenz-Resonanz-Energietransfer – FRET	456
19.7.1	FRET-Effizienzen und ihre experimentelle Bestimmung.....	456
19.7.2	Methoden der FRET-Messung.....	458
19.7.3	Einbringen von FRET-Sonden in Biomoleküle.....	460
19.7.4	Anwendungen von FRET: Interaktions- und Strukturanalyse.....	461
19.7.5	FRET als diagnostisches Werkzeug: Biosensoren.....	461
19.7.6	Ausblick.....	462
19.8	Analytische Ultrazentrifugation	462
19.8.1	Instrumentelle Grundlagen.....	463
19.8.2	Sedimentationsgeschwindigkeitsexperimente.....	465
19.8.3	Sedimentationsgleichgewichtsexperimente.....	468
	Zitierte und Weiterführende Literatur.....	470
20	Bio- und biomimetische Sensoren	473
	<i>Frieder W. Scheller, Aysu Yarman und Reinhard Renneberg</i>	
20.1	Das Konzept von Bio- und biomimetischen Sensoren	474
20.2	Aufbau und Funktion von Biosensoren	475
20.3	Enzymelektroden	476
20.3.1	Gekoppelte Enzymreaktionen in Sensoren.....	477
20.3.2	Biosensoren für Diabetes.....	478
20.4	Zellsensoren	480
20.4.1	Mikrobielle Sensoren/biochemischer Sauerstoffbedarf von Abwasser.....	480
20.5	Immunsensoren	480
20.6	Biomimetische Sensoren	482
20.6.1	Molekular geprägte Polymere.....	482
20.6.2	Aptamere.....	483
20.7	Mikrofluidische Systeme	484
20.8	Ausblick: Von der Glucoseelektrode zum „Einzel-Molekül-Transistor“	484
	Literatur und Weiterführende Literatur.....	485

II 3D-Strukturaufklärung

21	Magnetische Resonanzspektroskopie von Biomolekülen	489
	<i>Markus Zweckstetter, Tad A. Holak und Martin Schwalbe</i>	
21.1	NMR-Spektroskopie von Biomolekülen	490
21.1.1	Theorie der NMR-Spektroskopie.....	490
21.1.2	Eindimensionale NMR-Spektroskopie.....	495
21.1.3	Zweidimensionale NMR-Spektroskopie.....	500

21.1.4	Dreidimensionale NMR-Spektroskopie	506
21.1.5	Signalzuordnung	511
21.1.6	Bestimmung der Proteinstruktur	516
21.1.7	Proteinstrukturen und mehr – ein Ausblick	521
	Literatur und Weiterführende Literatur	526
22	EPR-Spektroskopie an biologischen Systemen	527
	<i>Olav Schiemann und Gregor Hagelueken</i>	
22.1	Grundlagen der EPR-Spektroskopie	529
22.1.1	Elektronenspin und Resonanzbedingung	530
22.1.2	cw-EPR-Spektroskopie	531
22.1.3	<i>g</i> -Wert	532
22.1.4	Elektronenspin-Kernspin-Kopplung (Hyperfeinkopplung)	532
22.2	<i>g</i>- und Hyperfeinanisotropie	533
22.2.1	<i>g</i> -Anisotropie	534
22.2.2	Hyperfeinanisotropie	535
22.3	Elektronenspin-Elektronenspin-Kopplung	536
22.4	Gepulste EPR-Experimente	538
22.4.1	Grundlagen gepulster EPR	539
22.4.2	Relaxation	540
22.4.3	Spinechos	540
22.4.4	ESEEM	541
22.4.5	HSCORE	542
22.4.6	ENDOR	543
22.4.7	Gepulste dipolare EPR-Spektroskopie	545
22.4.8	Vergleich zwischen PELDOR und FRET	548
22.5	Weitere Anwendungsbeispiele für EPR	548
22.5.1	Quantifizierung von Spinzentren/Bindungskonstanten	549
22.5.2	Lokale pH-Werte	549
22.5.3	Mobilität	549
22.6	Generelle Bemerkungen zur Aussagekraft von EPR-Spektren	550
22.7	Vergleich EPR/NMR	551
	Literatur und Weiterführende Literatur	552
23	Elektronenmikroskopie	553
	<i>Philipp Erdmann, Sven Klumpe und Juergen M. Plitzko</i>	
23.1	Historischer Überblick	556
23.2	Transmissionselektronenmikroskopie	557
23.2.1	Instrumentation	557
23.2.2	Elektronenerzeugung	557
23.2.3	Elektronenlinsen	558
23.2.4	Elektronenaufzeichnung	560
23.2.5	Objektträger und Probenhalter	560
23.3	Präparationsverfahren	561
23.3.1	Negativkontrastierung	562
23.3.2	Native Proben in Eis	564
23.3.3	Kryo-FIB-Lamellen	566
23.4	Abbildung im Elektronenmikroskop	569
23.4.1	Auflösung des Transmissionselektronenmikroskops	569
23.4.2	Wechselwirkungen des Elektronenstrahls mit dem Objekt	570
23.4.3	Phasenkontrast in der Elektronenmikroskopie	572
23.4.4	Elektronenmikroskopie mit Phasenplatten	573
23.4.5	Kryo-Elektronenmikroskopie	575
23.4.6	Aufnahme von Bildern – Elektronendetektoren	576

23.5	Bildverarbeitung für die 3D-Elektronenmikroskopie	577
23.5.1	Die Fourier-Transformation	577
23.5.2	Eigenschaften und Nutzen der Fourier-Transformation in der Bildverarbeitung	579
23.5.3	Die Kontrastübertragungsfunktion	579
23.5.4	Erhöhung des Signal-Rausch-Verhältnisses	582
23.6	Einzelpartikelanalyse	583
23.6.1	2D-Alignierung und Klassifizierung	584
23.6.2	Dreidimensionale Rekonstruktion	587
23.6.3	Modellbildung	591
23.7	Tomographie	593
23.7.1	Aufnahmeschemata	594
23.7.2	Rekonstruktion	595
23.7.3	Template Matching und Subtomogramm-Averaging	597
23.8	Perspektiven	599
	Literatur und Weiterführende Literatur	600
24	Rasterkraftmikroskopie	601
	<i>Nico Strohmeyer und Daniel J. Müller</i>	
24.1	Funktionsprinzip des Rasterkraftmikroskops	602
24.2	Wechselwirkung zwischen Spitze und Objekt	604
24.3	Präparationsverfahren	605
24.4	Abbilden biologischer Makromoleküle	605
24.5	Kraftspektroskopie einzelner Moleküle	606
24.6	Multifunktionelles Abbilden von Oberflächen	607
24.7	Detektion des funktionellen Zustands und der Wechselwirkung einzelner Proteine	607
24.8	Analyse der biomechanischen Eigenschaften lebender Zellen	608
	Literatur und Weiterführende Literatur	610
25	Röntgenstrukturanalyse	611
	<i>Dagmar Klostermeier und Markus G. Rudolph</i>	
25.1	Erzeugung und Detektion von Röntgenlicht	613
25.2	Apparativer Aufbau	614
25.3	Streuung und Beugung von Röntgenstrahlen	615
25.3.1	Kleine Physik der Streuung	616
25.3.2	Kleine Physik der Diffraktion	616
25.4	Kleinwinkel-Röntgenstreuung (SAXS)	618
25.4.1	Probenvorbereitung und Messung	618
25.4.2	Analyse von SAXS-Daten	618
25.4.3	Strukturbestimmungen mit SAXS	620
25.5	Röntgenkristallographie	622
25.5.1	Makromoleküle und ihre Kristallisation	622
25.5.2	Kristalle und ihre Eigenschaften	626
25.5.3	Datensammlung und -analyse	629
25.5.4	Das Phasenproblem und seine Lösung	631
25.5.5	Modellbau und Strukturverfeinerung	635
25.5.6	Validierung von Strukturmodellen	637
25.6	Ausblick	638
	Literatur und Weiterführende Literatur	638

III Spezielle Stoffgruppen

26	Analytik synthetischer Peptide	643
	<i>Annette G. Beck-Sickinger und Jan Stichel</i>	
26.1	Prinzip der Peptidsynthese	644

26.2	Untersuchung der Reinheit synthetischer Peptide	649
26.3	Charakterisierung und Identität synthetischer Peptide	650
26.4	Charakterisierung der Struktur synthetischer Peptide	653
26.5	Analytik von Peptidbibliotheken	655
	Literatur und Weiterführende Literatur	657
27	Kohlenhydratanalytik	659
	<i>Andreas Zappe und Kevin Pagel</i>	
27.1	Theoretische Grundlagen	660
27.1.1	Aldosen und Ketosen	660
27.1.2	Cyclisierung	661
27.1.3	Anomerer Effekt	662
27.1.4	Die glykosidische Bindung	663
27.1.5	Oligosaccharide und Glykane	666
27.2	Analytische Ansätze	670
27.2.1	Methoden zur Trennung und Analyse von Glykanen	673
27.2.2	Massenspektrometrie	679
27.3	Schlussbetrachtung	687
	Literatur und Weiterführende Literatur	688
28	Lipidanalytik	689
	<i>Hartmut Kühn</i>	
28.1	Aufbau und Einteilung von Lipiden	690
28.2	Extraktion von Lipiden aus biologischem Material	692
28.2.1	Flüssigphasenextraktion	692
28.2.2	Festphasenextraktion	693
28.3	Methoden der Lipidanalytik	694
28.3.1	Chromatographische Methoden	694
28.3.2	Massenspektrometrie	698
28.3.3	Immunassays	699
28.3.4	Weitere Methoden in der Lipidanalytik	700
28.3.5	Online-Kopplung verschiedener Analysensysteme	702
28.4	Analytik ausgewählter Lipidklassen	704
28.4.1	Gesamtlipidextrakte	704
28.4.2	Fettsäuren	704
28.4.3	Unpolare Neutrallipide	705
28.4.4	Polare Esterlipide	707
28.4.5	Lipidhormone und intrazelluläre Signaltransduktoren	710
28.5	Lipidvitamine	716
28.6	Lipidomanalytik	719
28.7	Ausblick	720
	Literatur und Weiterführende Literatur	721
29	Analytik posttranslationaler Modifikationen:	
	Phosphorylierung und oxidative Cysteinmodifikation von Proteinen	723
	<i>Gereon Poschmann, Nina Overbeck, Katrin Brenig und Kai Stühler</i>	
29.1	Funktionelle Bedeutung der Phosphorylierung und oxidativer Cysteinmodifikation bei Proteinen	725
29.1.1	Phosphorylierung	725
29.1.2	Oxidative Cysteinmodifikation	726
29.2	Strategien zur Analyse der posttranslationalen Phosphorylierung und oxidativer Cysteinmodifikation von Proteinen und Peptiden	728
29.3	Probenvorbereitung, Trennung und Anreicherung phosphorylierter und oxidativ cysteinmodifizierter Proteine und Peptide	728
29.3.1	Trennung und Anreicherung phosphorylierter Proteine und Peptide	729

29.3.2	Probenvorbereitung, Trennung und Anreicherung oxidativer Cysteinmodifikationen von Proteinen und Peptiden	731
29.4	Detektion der Phosphorylierung und oxidativer Cysteinmodifikationen von Proteinen und Peptiden	734
29.4.1	Detektion mittels enzymatischer, radioaktiver, immunchemischer und fluoreszenzbasierender Methoden	734
29.4.2	Detektion phosphorylierter und cysteinoxidierter Proteine mittels Massenspektrometrie.....	737
29.5	Lokalisation und Identifizierung posttranslational modifizierter Aminosäuren	738
29.5.1	Lokalisation phosphorylierter Aminosäuren mittels Edman-Sequenzierung	738
29.5.2	Lokalisation phosphorylierter und cysteinoxidierter Aminosäuren mittels massenspektrometrischer Fragmentionenanalyse	739
29.6	Quantitative Analyse posttranslationaler Modifikationen	743
29.7	Zukunft der Analytik posttranslationaler Modifikationen	743
	Literatur und Weiterführende Literatur.....	744

IV Nucleinsäureanalytik

30	Isolierung und Reinigung von Nucleinsäuren	749
	<i>Marion Jurk</i>	
30.1	Reinigung und Konzentrationsbestimmung von Nucleinsäuren	750
30.1.1	Phenolextraktion	750
30.1.2	Chromatographieverfahren.....	751
30.1.3	Ethanolpräzipitation der Nucleinsäuren	753
30.1.4	Konzentrationsbestimmung von Nucleinsäuren	754
30.2	Isolierung genomischer DNA	755
30.3	Isolierung niedermolekularer DNA	756
30.3.1	Isolierung von Plasmid-DNA aus Bakterien	756
30.3.2	Isolierung niedermolekularer DNA eukaryotischer Zellen	760
30.4	Isolierung viraler DNA	761
30.4.1	Isolierung von Phagen-DNA	761
30.4.2	Isolierung von DNA aus eukaryotischen Viren.....	762
30.5	Isolierung einzelsträngiger DNA.....	762
30.5.1	Isolierung von M13-DNA.....	762
30.5.2	Trennung von einzel- und doppelsträngiger DNA.....	763
30.6	Isolierung von RNA	763
30.6.1	Isolierung zellulärer RNA.....	764
30.6.2	Isolierung von poly(A) ⁺ -RNA	766
30.6.3	Isolierung niedermolekularer RNA	767
30.7	Isolierung von Nucleinsäuren unter Verwendung von magnetischen Partikeln	767
30.8	Lab-on-a-chip	767
	Literatur und Weiterführende Literatur.....	768
31	Aufarbeitung und chemische Analytik von Nucleinsäuren.....	769
	<i>Tobias Pöhlmann und Marion Jurk</i>	
31.1	Verfahren zur Analytik von Nucleinsäuren aus biologischen Proben	771
31.1.1	Elektrophorese	771
31.1.2	Färbe- und Markierungsmethoden.....	785
31.1.3	Blottingverfahren	786
31.1.4	Restriktionsanalyse	791
31.2	Chemische Analytik von Nucleinsäuren	800
31.2.1	Herstellung von Oligonucleotiden	800
31.2.2	Untersuchung der Reinheit von Oligonucleotiden	804
31.2.3	Gel-Elektrophorese	804

31.2.4	Charakterisierung von Oligonucleotiden	806
31.2.5	Aufreinigung von Nucleinsäuren	808
	Literatur und Weiterführende Literatur	810
32	RNA-Strukturaufklärung durch chemische Modifikation	811
	<i>W.-Matthias Leeder und H. Ulrich Göringer</i>	
32.1	Grundlagen der RNA-Faltung	813
32.1.1	RNA-Primärstruktur	813
32.1.2	RNA-Sekundär- und Tertiärstruktur	814
32.2	RNA-Modifikationsreagenzien und ihre Spezifitäten	817
32.2.1	Basenspezifische Modifikationsreagenzien	818
32.2.2	Basenunabhängige Modifikationsreagenzien	818
32.3	Identifizierung der modifizierten Nucleotidpositionen	819
32.4	Experimentelle Durchführung	821
32.4.1	RNA-Synthese und notwendige Kontrollen	821
32.4.2	Chemische Modifikation	821
32.4.3	Einbindung der Modifikationsdaten in 2D-Strukturvorhersagen	822
32.5	Transkriptomweite Strukturaufklärungen	824
32.6	Erweiterung der Strukturaufklärungsmöglichkeiten durch <i>Mutational Profiling</i>	825
32.7	<i>In vivo</i>-Modifikationen	826
	Literatur und Weiterführende Literatur	829
33	Polymerasekettenreaktion	831
	<i>Sandra Niendorf und C.-Thomas Bock</i>	
33.1	Möglichkeiten der PCR	833
33.2	Grundlagen	833
33.2.1	Ablauf einer PCR-Reaktion	833
33.2.2	Instrumentierung	835
33.2.3	Komponenten der PCR-Reaktion	836
33.2.4	Optimierung der PCR-Reaktion	838
33.3	Spezielle PCR-Techniken	839
33.3.1	Quantitative PCR	839
33.3.2	Reverse-Transkriptase-PCR	842
33.3.3	Nested-PCR	844
33.3.4	Asymmetrische PCR	845
33.3.5	Touchdown-PCR	845
33.3.6	Multiplex-PCR	845
33.3.7	Direct Cycle Sequencing	846
33.3.8	<i>In vitro</i>-Mutagenese	846
33.3.9	Digitale PCR (dPCR; Chamber Digital PCR, cdPCR und Droplet Digital PCR, ddPCR)	846
33.3.10	Emulsions-PCR (ePCR)	848
33.3.11	Immunquantitative Echtzeit-PCR (iPCR, iqPCR, irtPCR)	848
33.3.12	<i>In situ</i>-PCR	849
33.3.13	Weitere Verfahren	849
33.4	Kontaminationsproblematik	850
33.4.1	Vermeidung von Kontaminationen	850
33.4.2	Dekontamination	851
33.5	Anwendungen	852
33.5.1	Nachweis von Infektionskrankheiten	852
33.5.2	Nachweis von genetischen Defekten	853
33.5.3	Humangenomprojekt	854
33.6	Alternative Verfahren der Amplifikation	855
33.6.1	Isotherme PCR	856
33.6.2	Ligase Chain Reaction (LCR)	860
33.6.3	Branched DNA Amplification (bdNA)	861

33.7	Ausblick.	861
	Literatur und Weiterführende Literatur	862
34	DNA-Sequenzierung	863
	<i>Andrea Thürmer und Kilian Rutzen</i>	
34.1	Gelgestützte DNA-Sequenzierungsverfahren	866
34.1.1	Sanger-Sequenzierung	866
34.2	Gelfreie DNA-Sequenzierungsmethoden	870
34.2.1	Next-Generation-Sequenzierung	870
34.2.2	Third-Generation-Sequenzierung	877
	Literatur und Weiterführende Literatur	882
35	Analyse der epigenetischen Modifikationen	885
	<i>Reinhard Dammann</i>	
35.1	Überblick über die Detektionsmethoden der DNA-Modifikationen.	887
35.2	Analyse der Cytosin-Modifikationen mit der Bisulfittechnik	887
35.2.1	Amplifikation und Sequenzierung von bisulfitbehandelter DNA	889
35.2.2	Restriktionsanalyse nach Bisulfit-PCR	890
35.2.3	Methylierungsspezifische PCR	891
35.3	Analyse der DNA mit methylierungsspezifischen Restriktionsenzymen	893
35.4	Methylierungsanalyse durch Methylcytosin-bindende-Domäne-Proteine	895
35.5	Antikörperspezifische Analysen der modifizierte DNA	896
35.6	Analyse von modifizierten Basen durch DNA-Hydrolyse und Nearest-Neighbor-Assays	897
35.7	Analyse von epigenetischen Modifikationen von chromatinassoziierten Proteinen	898
35.8	Chromosomenkonformationsanalyse	899
35.9	Ausblick.	900
	Literatur und Weiterführende Literatur	900
36	Protein-Nucleinsäure-Wechselw-irkungen	901
	<i>Rolf Wagner und Benedikt M. Beckmann</i>	
36.1	Grundlagen der Protein-DNA/RNA-Wechselwirkung:	
	Gemeinsamkeiten und Unterschiede	902
36.1.1	Struktur von DNA und RNA	902
36.1.2	DNA- und RNA-Bindungsmotive	904
36.1.3	Gebräuchliche Methoden zur Analyse von Nucleinsäuren und Proteinen	906
36.2	Generelle Methoden (DNA oder RNA).	907
36.2.1	Filterbindung	907
36.2.2	Electrophoretic Mobility Shift Analysis (EMSA)	907
36.2.3	Crosslinking von Proteinen und Nucleinsäuren	911
36.3	Protein-DNA-Wechselwirkungen	912
36.3.1	DNA-Footprint-Analysen	912
36.3.2	Primer-Extension-Analyse für DNA	913
36.3.3	Chromatin-Immunpräzipitation (ChIP)	914
36.3.4	Nucleosome Mapping, Assay for Transposase-Accessible Chromatin using Sequencing (ATAC-Seq)	915
36.4	Protein-RNA-Wechselwirkungen	916
36.4.1	Analyse einzelner RBPs	916
36.4.2	Analyse von Proteinen, die mit einzelnen RNAs interagieren	919
36.4.3	Systemweite Analyse von Proteinen, die mit RNA interagieren	920
36.4.4	Polysome/Ribosome Profiling	923
36.5	Ausblick.	924
	Literatur und Weiterführende Literatur	924

V **Systematische Funktionsanalytik**

37	Sequenzanalyse	929
	<i>Boris Steipe</i>	
37.1	Sequenzanalyse und Bioinformatik	930
37.2	Datenbanken	931
37.2.1	Sequenzabruf aus öffentlichen Datenbanken	932
37.2.2	Daten und Datenformat	934
37.3	Webdienste	934
37.3.1	EMBOSS	934
37.4	Sequenzzusammensetzung	936
37.4.1	Sequenztendenzen	937
37.5	Muster in Sequenzen	938
37.5.1	Zeichenketten und regular expressions	939
37.5.2	Gewichtungsmatrizen	939
37.5.3	Sequenzprofile	940
37.5.4	Anwendungsbeispiel: Identifizierung codierender Bereiche in DNA	940
37.5.5	Anwendungsbeispiel: Proteinlokalisierung	941
37.6	Homologie	941
37.6.1	Identität, Ähnlichkeit und Homologie	942
37.6.2	Optimales Alignment	943
37.6.3	Alignment für schnelle Datenbanksuchen: BLAST	944
37.6.4	Orthologe und paraloge Sequenzen	946
37.6.5	Profilbasierte Datenbanksuchen: PSI-BLAST	946
37.7	Multiples Alignment und Konsensussequenzen	947
37.8	Sequenz und Struktur	949
37.9	Funktion	950
37.10	Ausblick	951
	Literatur und Weiterführende Literatur	952
38	Hybridisierung fluoreszenzmarkierter DNA zur Genomanalyse in der molekularen Cytogenetik	953
	<i>Gudrun Göhring, Doris Steinemann, Michelle Neßling und Karsten Richter</i>	
38.1	Methoden zur Hybridisierung fluoreszenzmarkierter DNA	954
38.1.1	Markierungsstrategie	954
38.1.2	DNA-Sonden	955
38.1.3	Markierung der DNA-Sonden	956
38.1.4	In situ -Hybridisierung	956
38.1.5	Fluoreszenzauswertung der Hybridisierungssignale	957
38.2	Anwendungen: FISH und CGH	957
38.2.1	Analyse genomischer DNA durch FISH	957
38.2.2	Vergleichende genomische Hybridisierung (CGH)	960
38.2.3	SNP-Array	963
38.2.4	Neue Entwicklungen zur Detektion von Kopienzahlveränderungen im Genom	963
	Literatur und Weiterführende Literatur	963
39	Physikalische, genetische und funktionelle Kartierung des Genoms	965
	<i>Christian Maercker</i>	
39.1	Physikalische Kartierung	966
39.2	Genetische Kartierung	967
39.2.1	Rekombination	967
39.2.2	Genetische Marker	967
39.2.3	Kopplungsanalyse – die Erstellung genetischer Karten	969

39.2.4	Die genetische Karte des menschlichen Genoms	971
39.2.5	Kartierung von genetisch bedingten Krankheiten	972
39.3	Funktionelle Kartierung des Genoms	973
39.3.1	Charakterisierung von Krankheitsgenen	973
39.3.2	Mutationen als Ursache vererbbarer Krankheiten	975
39.3.3	Transkriptkarten	976
39.3.4	Zelluläre Assays zur Charakterisierung von Genfunktionen	977
39.4	Integration der Genomkarten	979
39.5	Das menschliche Genom	979
	Literatur und Weiterführende Literatur	980
40	DNA-Microarray-Technologie	983
	<i>Jörg Hoheisel</i>	
40.1	RNA-Analysen	984
40.1.1	Analyse der Transkriptmengen	984
40.1.2	RNA-Reifung	986
40.1.3	RNA-Struktur und Funktionalität	987
40.2	DNA-Analysen	987
40.2.1	Genotypisierung	987
40.2.2	Epigenetische Studien	987
40.2.3	DNA-Sequenzierung	989
40.2.4	Analyse der Kopienzahl genomischer DNA-Abschnitte	990
40.2.5	Protein-DNA-Interaktionen	990
40.2.6	Genomweite Identifizierung funktionell-essenzieller Gene	991
40.3	Molekülsynthese	993
40.3.1	DNA-Synthese	993
40.3.2	Chipgebundene Proteinexpression	993
40.4	Neue Ansätze	993
40.4.1	Eine universelle Chip-Plattform	993
40.4.2	Strukturanalysen	994
40.4.3	Jenseits von Nucleinsäuren	995
	Literatur und Weiterführende Literatur	995
41	Silencing-Technologien zur Analyse von Genfunktionen	997
	<i>Jens Kurreck</i>	
41.1	Antisense-Oligonucleotide	998
41.1.1	Wirkweisen von Antisense-Oligonucleotiden	999
41.1.2	Modifikationen von Oligonucleotiden zur Steigerung der Nucleasestabilität	1000
41.1.3	Einsatz von Antisense-Oligonucleotiden in Zellkultur und in Tiermodellen	1002
41.2	RNA-Interferenz und microRNAs	1003
41.2.1	Grundlagen der RNA-Interferenz	1003
41.2.2	Anwendung der RNAi-Technologie	1004
41.2.3	RNA-Interferenz durch Expressionsvektoren	1005
41.2.4	Genomweite Screens mit RNAi	1005
41.2.5	microRNAs	1006
41.3	CRISPR/Cas-Technologie	1007
41.3.1	Biologische Funktion des CRISPR/Cas-Systems	1008
41.3.2	CRISPR/Cas-Anwendungen in eukaryotischen Zellen	1008
41.4	Induzierte pluripotente Stammzellen	1010
41.5	Ausblick	1011
	Literatur und Weiterführende Literatur	1012
42	Proteomanalyse	1013
	<i>Friedrich Lottspeich, Kevin Joß, Neil L. Kelleher, Michael Götze, Betty Friedrich und Ruedi Aebersold</i>	
42.1	Definition der Ausgangsbedingungen und der Fragestellung, Projektplanung	1017

42.2	Probenvorbereitung	1018
42.3	Quantitative Analyse der Proteine	1020
42.4	Klassische gelbasierte Proteomanalyse	1020
42.4.1	Probenvorbereitung	1020
42.4.2	Trennung der Proteine	1020
42.4.3	Färbung der Proteine	1021
42.4.4	Bildverarbeitung und Quantifizierung der Proteine, Datenanalyse	1021
42.4.5	Identifizierung und Charakterisierung der Proteine	1022
42.4.6	Zweidimensionale differenzielle Gelelektrophorese (2D-DIGE)	1023
42.5	Top-down-Proteomics: Massenspektrometrie von intakten Proteinen	1024
42.5.1	Grundlagen intakter Protein-Massenspektrometrie	1024
42.5.2	Dekonvolution von Proteinmassenspektren	1027
42.5.3	Fragmentierung von Proteinen	1029
42.5.4	Datenauswertung	1029
42.5.5	Top-down-Proteomics in der Hochdurchsatzanalyse	1032
42.5.6	Native Top-down-Massenspektrometrie	1034
42.5.7	Schlussfolgerungen und Ausblick	1036
42.6	Bottom-up-Proteomanalyse	1037
42.6.1	Bottom-up-Proteomics	1037
42.6.2	Bottom-up-Strategien	1039
42.6.3	Quantitative Peptidanalyse	1041
42.6.4	Datenabhängige Analyse (DDA)	1041
42.6.5	Selected Reaction Monitoring (SRM)	1042
42.6.6	SWATH-MS	1048
42.6.7	Erweiterungen	1050
42.6.8	Zusammenfassung	1051
42.7	Isotopenlabel-basierte Proteomanalysen	1051
42.7.1	Isotopenlabeling-Strategien für Top-down-Proteomics	1053
42.7.2	Isotopenlabelstrategien für Bottom-up-Proteomanalysen	1058
42.7.3	Zusammenfassung	1061
	Literatur und Weiterführende Literatur	1062
43	Metabolomics	1065
	<i>Christian G. Huber</i>	
43.1	Technologische Plattformen für Metabolomics	1068
43.1.1	NMR-basierte Metabolomics	1069
43.1.2	Massenspektrometrie-basierte Metabolomics	1071
43.2	Datenauswertung und biologische Interpretation	1074
43.3	Metabolisches Fingerprinting	1076
43.4	Unspezifische Metabolomics und Metabonomics	1076
43.5	Spezifische Metabolomics und Metaboliten-Profilung	1077
43.6	Anwendungsfelder	1079
	Literatur und Weiterführende Literatur	1079
44	Interaktomics – systematische Analyse von Protein-Protein-Wechselwirkungen	1081
	<i>Markus F. Templin, Thomas O. Joos, Oliver Pötz und Dieter Stoll</i>	
44.1	Protein-Microarrays	1083
44.1.1	Sensitivität durch Miniaturisierung – Ambient Analyte Assay	1084
44.1.2	Von DNA- zu Protein-Microarrays	1084
44.1.3	Anwendungen von Protein-Microarrays	1086
44.2	Diskussion und Ausblick	1089
	Literatur und Weiterführende Literatur	1090
45	Chemische Biologie	1091
	<i>Daniel Rauh und Susanne Brakmann</i>	

45.1	Chemische Biologie – innovative chemische Ansätze zum Studium biologischer Fragestellungen	1092
45.2	Chemische Genetik – kleine organische Moleküle zur Modulation von Proteinfunktionen	1094
45.2.1	Das Studium von Proteinfunktionen mit kleinen organischen Molekülen	1095
45.2.2	Vorwärts und rückwärts gerichtete Chemische Genetik	1097
45.2.3	Chemo-genomische Ansätze am Beispiel der Bump-and-Hole-Methode	1098
45.2.4	Identifizierung von Kinase-Substraten mithilfe der ASKA-Technologie	1102
45.2.5	Biologische Systeme mit kleinen organischen Molekülen schaltbar machen	1102
45.2.6	Modifikation von Proteinen durch Erweiterung des genetischen Codes	1104
45.3	Ligation exprimierter Proteine – Studium der posttranslationalen Modifikation von Proteinen	1104
45.3.1	Analyse lipidierter Proteine	1105
45.3.2	Analyse phosphorylierter Proteine	1106
45.4	Chemische Biologie der Nucleinsäuren	1107
	Literatur und Weiterführende Literatur	1108
46	Toponomanalyse	1109
	<i>Walter Schubert</i>	
46.1	Konzept des Proteintoponoms	1111
46.2	Imaging cyler robots: Grundlage einer Toponomlesetechnologie	1112
46.3	Ein Beispiel: Spezifität und Selektivität des Zelloberflächentoponoms	1113
46.4	Methoden der Toponomanalyse	1114
46.4.1	Multi-Epitop-Ligand-Kartographie (MELK)	1114
46.4.2	Probenvorbereitung und Antikörperkalibrierung	1120
46.4.3	Werkzeuge zur Visualisierung von Toponomdatensätzen	1121
46.4.4	Funktionelle Charakterisierung topologischer Molekülhierarchien	1122
46.5	Hochauflösende Toponome: Biomarker für erfolgreiche Therapien	1123
46.6	Zusammenfassung und Ausblick	1123
	Literatur und Weiterführende Literatur	1125
47	Organ-on-Chip	1127
	<i>Peter Loskill und Alexander Mosig</i>	
47.1	Grundlagen	1129
47.1.1	Mikrofluidik	1129
47.1.2	(Bio-)Materialien	1130
47.1.3	Zellquellen	1131
47.2	Beispiele von Organ-on-Chip-Systemen	1134
47.2.1	Gewebe mit Barrierefunktion	1134
47.2.2	Gewebe mit Stoffwechselfunktion	1135
47.2.3	Gewebe mit mechanischer Funktion	1136
47.2.4	Neuronale Gewebe	1136
47.2.5	Multi-Organ-Systeme	1138
47.3	Analytische Möglichkeiten	1138
47.3.1	In-Chip-Analyse	1139
47.3.2	Off-Chip-Perfusatanalyse	1140
47.3.3	Terminale Ex-situ-Analytik	1140
47.4	Anwendungsgebiete der OoC-Technologie	1141
47.4.1	Wirksamkeitstestung	1141
47.4.2	Toxikologische Untersuchungen	1142
47.4.3	Pharmakokinetik	1142
47.4.4	Personalisierte Medizin	1143
	Literatur und Weiterführende Literatur	1143

48	Systembiologie	1145
	<i>Olaf Wolkenhauer und Tom Gebhardt</i>	
48.1	Methodischer Ursprung systembiologischer Ansätze	1146
48.2	Der Begriff des Systems und dessen Darstellung als Netzwerk und Graph	1147
48.2.1	Zelluläre Funktionen, realisiert durch die Regulierung von Prozessen	1147
48.2.2	Die Beschreibung zellulärer Mechanismen als dynamische Systeme	1148
48.3	Die Rolle der Modellierung in der Molekular- und Zellbiologie	1148
48.3.1	Methodische Ansätze	1149
48.4	Der Begriff des Pathways und seine Grenzen	1150
48.4.1	Abstraktionen und Annahmen als Grundlage zur Untersuchung komplexer Systeme	1150
48.4.2	Standards als Treiber für Austausch und Kooperation	1151
48.5	Ansätze zur Konstruktion und Analyse von Modellen	1151
48.5.1	Konstruktion	1151
48.5.2	Analyse	1152
	Literatur und Weiterführende Literatur	1153
	Serviceteil	
	Standard-Aminosäuren	1156
	Nucleinsäuren und Kohlenhydrate	1157
	Ausgewählte wichtige Lipide	1158
	Stichwortverzeichnis	1159