

Experimentator

## Der Experimentator: Proteinbiochemie/Proteomics

Bearbeitet von  
Hubert Rehm, Thomas Letzel

7., überarbeitete und aktualisierte Auflage 2016. Buch. XV, 406 S. Softcover

ISBN 978 3 662 48850 8

Format (B x L): 16,8 x 24 cm

[Weitere Fachgebiete > Chemie, Biowissenschaften, Agrarwissenschaften > Biochemie  
> Proteinforschung](#)

Zu [Leseprobe](#)

schnell und portofrei erhältlich bei

  
DIE FACHBUCHHANDLUNG

Die Online-Fachbuchhandlung [beck-shop.de](http://beck-shop.de) ist spezialisiert auf Fachbücher, insbesondere Recht, Steuern und Wirtschaft. Im Sortiment finden Sie alle Medien (Bücher, Zeitschriften, CDs, eBooks, etc.) aller Verlage. Ergänzt wird das Programm durch Services wie Neuerscheinungsdienst oder Zusammenstellungen von Büchern zu Sonderpreisen. Der Shop führt mehr als 8 Millionen Produkte.

# Inhaltsverzeichnis

---

<b>1</b>	<b>Das tägliche Brot</b> .....	1
1.1	<b>Puffer herstellen</b> .....	2
1.2	<b>Protein bestimmen</b> .....	2
1.2.1	BCA-Test.....	2
1.2.2	Bradford-Test.....	3
1.2.3	Lowry-Test .....	4
1.2.4	Starcher-Test .....	5
1.2.5	Pilztest.....	6
1.2.6	Weniger beliebte, aber gute Methoden.....	7
1.3	<b>Gele</b> .....	8
1.3.1	SDS-Gele .....	8
1.3.2	Für Eilige: SDS-Elektrophorese ohne Sammelgel .....	11
1.3.3	Native Gele .....	12
1.4	<b>Gele färben</b> .....	13
1.4.1	Fixieren.....	13
1.4.2	Färben.....	13
1.4.3	Trocknen .....	21
1.5	<b>Fällen und Konzentrieren</b> .....	22
1.5.1	Denaturierende Fällung .....	22
1.5.2	Native Fällung.....	22
1.5.3	Konzentrieren.....	23
1.6	<b>Blotten</b> .....	24
1.6.1	Proteinfärbung auf Blots .....	25
1.6.2	Blocken.....	27
1.6.3	Immunfärbung.....	28
1.6.4	Ca <sup>2+</sup> -Bindung .....	29
1.6.5	Ligandenfärbung.....	30
1.6.6	Ablösen von Proteinen von Blots .....	30
1.7	<b>Autoradiographie von Gelen und Blots</b> .....	30
1.7.1	Autoradiographie mit Röntgenfilmen.....	30
1.7.2	Phosphorimager .....	31
	Literatur .....	33
<b>2</b>	<b>Ligandenbindung</b> .....	37
2.1	<b>Radioaktive Ligandenmarkierung</b> .....	39
2.1.1	Iodierung von Peptiden und Proteinen .....	39
2.1.2	Iodierung von Molekülen mit niedrigem Molekulargewicht.....	42
2.1.3	Isolierung einzelner iodierter Spezies.....	42
2.1.4	Vor- und Nachteile des Iodierens .....	43
2.1.5	Tritiiieren.....	44
2.2	<b>Bindung</b> .....	45
2.2.1	Isolierung von Membranen .....	45
2.2.2	Bindungstest.....	52

2.2.3	Bindungstests mit Membranen.....	55
2.2.4	Entwicklung von Membranbindungstests .....	56
2.2.5	Bindungstests mit Proteinen in Lösung .....	57
2.2.6	Bindungstests ohne Modifikation der Liganden .....	60
2.2.7	Wie entwickelt man einen Bindungstest für Proteine in Lösung? .....	82
2.2.8	Keine Bindung, was tun? .....	83
2.3	<b>Auswertung von Bindungsdaten</b> .....	84
2.3.1	Die Bindung ist im Gleichgewicht .....	85
2.3.2	Kinetik.....	95
2.4	<b>Vernetzen von Liganden</b> .....	97
2.4.1	Drei-Komponenten-Vernetzung (3K-Vernetzung).....	98
2.4.2	Photoaffinitätsvernetzung .....	102
2.4.3	Kontrollen bei Vernetzungsversuchen .....	104
2.4.4	Vernetzung nicht-radioaktiver Liganden .....	107
2.5	<b>Sinniges</b> .....	107
	Literatur .....	110
<b>3</b>	<b>Membranproteine solubilisieren</b> .....	115
3.1	<b>Seifen</b> .....	117
3.1.1	Saubere Begriffe .....	117
3.1.2	Vom Umgang mit Seifen .....	117
3.2	<b>Solubilisieren</b> .....	121
3.2.1	Solubilisierungskriterien .....	128
3.2.2	Physikalische Parameter solubilisierter Membranproteine .....	129
3.2.3	Wie werde ich die Seife wieder los?.....	131
	Literatur .....	131
<b>4</b>	<b>Rekonstitution von Proteinen</b> .....	133
4.1	<b>Rekonstitution der Tertiärstruktur löslicher Proteine</b> .....	134
4.2	<b>Rekonstitution von Membranproteinen in Membranen</b> .....	136
4.2.1	Einleitung.....	136
4.2.2	Liposomen.....	137
4.2.3	Proteoliposomen.....	139
4.2.4	Rekonstitution in Membranen .....	139
4.2.5	Nachweis der Rekonstitution in Membranen durch Fluxtests.....	142
4.2.6	Aufbauende Überlegungen .....	146
	Literatur .....	148
<b>5</b>	<b>Säubern und Putzen</b> .....	151
5.1	<b>Putziges</b> .....	152
5.1.1	Proteinaggregation messen und verhindern .....	155
5.2	<b>Konventionelle Reinigungsmethoden</b> .....	158
5.2.1	Reinigung nach Hydrophobizität.....	158
5.2.2	Reinigung nach Größenunterschieden.....	165
5.2.3	Reinigung nach Ladungsunterschieden .....	167
5.2.4	Blaugel .....	178
5.2.5	Zeolithchromatographie.....	179

5.3	<b>Affinitätschromatographie</b> .....	181
5.3.1	Lektinchromatographie.....	181
5.3.2	Liganden-Affinitätschromatographie .....	182
5.4	<b>Unkonventionelle Reinigungsmethoden</b> .....	190
5.4.1	Nicht-zerstörende präparative Massenspektrometrie .....	190
5.5	<b>Die Reinheitsprobe</b> .....	192
5.6	<b>Ausschlachten</b> .....	193
	Literatur .....	195
<b>6</b>	<b>Antikörper und Aptamere</b> .....	199
6.1	<b>Herstellung von polyklonalen Antikörpern</b> .....	202
6.1.1	Antigen.....	202
6.1.2	Adjuvans .....	204
6.1.3	Injektion und Serumgewinnung.....	204
6.1.4	Reinigung von Antikörpern .....	205
6.2	<b>Immunpräzipitation</b> .....	206
6.2.1	Immunpräzipitation mit immobilisiertem Protein A .....	207
6.2.2	Immunpräzipitation mit immobilisiertem Antikörper .....	207
6.2.3	Nachweis präzipitierter Antigene mit biotinylierten Antikörpern .....	208
6.3	<b>Immunaффinitätschromatographie</b> .....	209
6.4	<b>Antikörper gegen ungereinigte Proteine</b> .....	210
6.5	<b>Immunologische Nachweistechiken</b> .....	212
6.5.1	Dot-Blots .....	212
6.5.2	ELISA .....	214
6.5.3	Signalverstärkung bei Immunoassays.....	218
6.6	<b>Antikörperersatz: Aptamere und andere Bindungsmoleküle</b> .....	222
6.6.1	Aptamere.....	222
6.6.2	Ribosomen-Display.....	227
	Literatur .....	230
<b>7</b>	<b>Proteomics</b> .....	233
7.1	<b>Einführung</b> .....	235
7.2	<b>Probennahme</b> .....	238
7.2.1	Mikrodissektion mit Lasererfassung .....	239
7.3	<b>2D-Gelelektrophorese und andere mehrdimensionale Trenntechniken</b> .....	243
7.3.1	Probenvorbereitung in der 2DE .....	243
7.3.2	Vorfractionieren für die 2DE.....	246
7.3.3	Die Technik der 2DE .....	252
7.4	<b>Proteine spalten</b> .....	264
7.4.1	Proteasenverdau .....	265
7.4.2	Bromcyan- und Säurespaltung .....	267
7.5	<b>Massenspektrometrie von Proteinen und Peptiden</b> .....	267
7.5.1	Einführung.....	267
7.5.2	Ionenquellen und Probenvorbereitung .....	268
7.5.3	Analysatoren und Detektoren .....	281
7.5.4	MS-Parameter und Spektreninterpretation .....	287
7.5.5	Peptidmassen-Fingerabdruck.....	295

7.5.6	Peptidsequenzierung mit MS .....	296
7.5.7	Möglichkeiten der MS mit ESI-Quellen .....	314
7.5.8	Möglichkeiten der MS mit MALDI-Quellen .....	326
7.5.9	Bildgebende Massenspektrometrie .....	331
7.5.10	MS-Strategie .....	332
7.6	<b>Proteinchips</b> .....	333
7.6.1	Antikörperchips .....	333
7.7	<b>Aussterbende Dinosaurier?</b> .....	336
7.7.1	Blockierte N-Termini .....	337
7.7.2	Edman-Abbau .....	338
7.7.3	Carboxyterminale Sequenzierung .....	339
7.8	<b>Rehms Proteomics-Philosophie</b> .....	340
7.9	<b>Letzels Proteomics-Philosophie</b> .....	342
	Literatur .....	342
<b>8</b>	<b>Untereinheiten</b> .....	347
8.1	<b>Stöchiometrie und Merigkeit</b> .....	348
8.1.1	Über die Schwierigkeiten bei Stöchiometriebestimmungen .....	348
8.1.2	S & M mit Röntgenstrukturanalyse .....	349
8.1.3	S & M mit Hybridisierungsexperimenten .....	349
8.1.4	S & M mit Vernetzungsexperimenten .....	350
8.1.5	S & M mit Aminosäureanalysen oder Antikörpern .....	358
8.2	<b>Was unsre Welt im Innersten zusammenhält</b> .....	360
	Literatur .....	361
<b>9</b>	<b>Glykoproteine</b> .....	363
9.1	<b>Wie, wo und wozu werden Proteine glykosyliert?</b> .....	364
9.2	<b>Nachweis von Glykoproteinen in Gelen</b> .....	364
9.3	<b>Nachweis von Glykoproteinen auf Blots</b> .....	365
9.3.1	Nicht-selektive Glykoproteinfärbung .....	365
9.3.2	Selektive (Lektin-)Färbung .....	365
9.4	<b>Anreicherung von Glykopeptiden für die LC/MS</b> .....	369
9.5	<b>Deglykosylierung</b> .....	370
9.5.1	Glykosylierungshemmer .....	370
9.5.2	Endoglykosidasen .....	371
9.5.3	Chemische Deglykosylierung .....	375
9.5.4	Massenspektrometrische Deglykosylierung .....	376
9.6	<b>Zuckerketten</b> .....	376
9.6.1	Monosaccharidzusammensetzung .....	376
9.6.2	Aufbau und Sequenz .....	377
	Literatur .....	384
<b>10</b>	<b>Der Schatz im Silbersee</b> .....	387
10.1	<b>Vom Paper</b> .....	388
10.2	<b>Vom Schreiben eines Papers</b> .....	388
10.3	<b>Wie bringe ich andere dazu, mein Paper zu zitieren?</b> .....	390
	Literatur .....	391

<b>11</b>	<b>Durch die Wüste</b> .....	393
	Literatur .....	395
	<b>Serviceteil</b> .....	397
	Das Letzte .....	398
	Sachverzeichnis .....	399



<http://www.springer.com/978-3-662-48850-8>

Der Experimentator: Proteinbiochemie/Proteomics

Rehm, H.; Letzel, Th.

2016, XV, 406 S. 158 Abb., Softcover

ISBN: 978-3-662-48850-8