



EUROPA-FACHBUCHREIHE
für Naturwissenschaften

Molekulare Biologie und Mikrobiologie

Basiswissen und Labormethoden

Dr. Heribert Keweloh
Dr. Linda Frintrop

3. aktualisierte und erweiterte Auflage

VERLAG EUROPA-LEHRMITTEL · Nourney, Vollmer GmbH & Co. KG
Düsselberger Straße 23 · 42781 Haan-Gruiten

Europa-Nr.: 69733

Autoren:

Dr. rer. nat. Heribert Keweloh, Priv.-Doz.

Dr. rer. nat. Linda Frintrop, M.Sc., Institut für Anatomie, Universitätsmedizin Rostock

Verlagslektorat:

Dr. Astrid Grote-Wolff

Bildbearbeitung:

Zeichenbüro des Verlags Europa-Lehrmittel, 73760 Ostfildern

3. Auflage 2022

Druck 5 4 3 2 1

Alle Drucke derselben Auflage sind parallel einsetzbar, da sie bis auf die Korrektur von Druckfehlern identisch sind.

ISBN 978-3-8085-6468-4

Alle Rechte vorbehalten. Das Werk ist urheberrechtlich geschützt. Jede Verwendung außerhalb der gesetzlich geregelten Fälle muss vom Verlag schriftlich genehmigt werden.

© 2022 by Verlag Europa-Lehrmittel, Nourney, Vollmer GmbH & Co. KG, 42781 Haan-Gruiten
www.europa-lehrmittel.de

Satz: Satzherstellung Dr. Naake, 09212 Limbach-Oberfrohna

Umschlag: braunwerbeagentur, Radevormwald

Umschlagfotos: © Sergey Nivens, Fotolia.com; © Manfred Rhode, Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung GmbH, Braunschweig

Druck: Plump Druck und Medien GmbH, 53619 Rheinbreitbach

Vorwort

Die Biologie, insbesondere die Mikrobiologie, spielt in den modernen industriellen Produktionsprozessen eine wichtige Rolle. Biochemische Stoffe wie Enzyme, aber auch Zellen werden zur Entwicklung neuer, hocheffizienter Syntheseverfahren sowie neuer Diagnosemethoden eingesetzt. Das für das Verständnis, die Entwicklung und die weitere Optimierung dieser Verfahren erforderliche Fachwissen kann nicht mehr nur einer Naturwissenschaft zugeschrieben werden. Viele naturwissenschaftliche Fachrichtungen haben die traditionellen Grenzen ihrer Disziplin überschritten, Fachkenntnisse und Arbeitsmethoden der Molekularbiologie, der Biochemie, der Mikrobiologie, der Genetik und der Bioinformatik fließen mit dem Fachwissen der Medizin und der Ingenieurwissenschaften, insbesondere der Verfahrens- und Lebensmitteltechnik, zu einer Einheit zusammen.

Auf dieses neue Anforderungsprofil der in der Forschung und Industrie tätigen Fachkräfte sind die modernen Ausbildungs- und Studiengänge abgestimmt. Der molekularen Biologie und Mikrobiologie kommt in den folgenden Fachdisziplinen eine besondere Bedeutung zu:

- ▶ **Naturwissenschaften**, wie Biologie, Chemie und Physik,
- ▶ **Ingenieurwissenschaften**, wie Biotechnologie-, Chemie- und Verfahrenstechnik,
- ▶ **Ernährungs- und Lebensmittelwissenschaften**, wie Ökotoxikologie, Lebensmittelchemie und Lebensmitteltechnologie,
- ▶ **Medizin und Pharmazie**,
- ▶ **Geo- und Umweltwissenschaften**, wie Geologie und Umwelttechnik.

Das Lehrbuch „**Molekulare Biologie und Mikrobiologie – Basiswissen und Labormethoden**“ ist auf die Studienordnungen dieser Studiengänge sowie auf die Rahmenlehrpläne der Ausbildung zum/zur **Biologielaborant/-in**, zum/zur **Chemielaborant/-in**, zum/zur **Chemisch-technischen Assistent/-in** und zum/zur **Medizinisch-technischen Laboratoriumsassistent/-in** abgestimmt. Es vermittelt die grundlegenden Fachinhalte der molekularen Biologie und der Mikrobiologie sowie die aktuellen, in den biologischen und mikrobiologischen Laboren angewandten Arbeitsmethoden. Dabei wird stets auf die Verknüpfung mit den verwandten Fachdisziplinen sowie auf die Praxisnähe besonderer Wert gelegt.

Das Buch schafft aufgrund seiner didaktischen Besonderheiten auch für Lernende mit geringen Vorkenntnissen die Möglichkeit, sich umfassend und mit minimalem Zeitaufwand in diese Wissensgebiete einzuarbeiten. Es ist zum Selbststudium, aber auch zum begleitenden Einsatz von Vorlesungen, Seminaren, Unterricht und Praktika geeignet.

In den **Teilen I und II zu den theoretischen Grundlagen der molekularen Biologie und der Mikrobiologie** wird das Verständnis der im Text dargestellten Fachinhalte durch eine reichhaltige Bebilderung unterstützt. Zum Lernerfolg tragen zahlreiche Begriffsdefinitionen für Leser mit geringem Vorwissen sowie Merksätze zu prüfungsrelevanten Inhalten bei. Eine große Anzahl Aufgaben schließt jedes Hauptkapitel ab und regt den Leser zur Überprüfung und Vertiefung seines Wissens an.

Die **Teile III und IV zu den Labormethoden der molekularen Biologie und Mikrobiologie** bieten zu jedem der dargestellten Verfahren die jeweils zugrunde liegenden Prinzipien sowie in übersichtlicher Weise die genauen Arbeitsvorschriften, ergänzt durch eine Auflistung der bei der Durchführung des Verfahrens möglicherweise auftretenden Fehler und Empfehlungen zur Fehlerkorrektur.

Die **3. Auflage** wurde aktualisiert und um das Kapitel zum Hämoglobin, zur Genschere CRISPR/Cas und zu Coronaviren, insbesondere SARS-COV-2, erweitert.

Unseren Leserinnen und Lesern wünschen wir viel Freude bei der Beschäftigung mit den für das Verständnis vieler Prozesse so wichtigen Grundlagen der molekularen Biologie und Mikrobiologie sowie bei der Durchführung oder auch dem theoretischen Durchdenken der wesentlichen Labormethoden. Hinweise, die zur Verbesserung und Weiterentwicklung des Buches beitragen, nehmen wir gerne unter der Verlagsadresse oder per E-Mail (lektorat@europa-lehrmittel.de) entgegen.

Inhaltsverzeichnis

I Molekulare Biologie

9

1	Eigenschaften von Lebewesen.....	10
2	Biologische Stoffklassen.....	15
2.1	Proteine und Aminosäuren.....	16
2.1.1	Aufbau der Aminosäuren	16
2.1.2	Eigenschaften von Aminosäuren	17
2.1.3	Einteilung der Aminosäuren.....	18
2.1.4	Struktur der Proteine	22
2.1.5	Eigenschaften der Proteine.....	26
2.1.6	Funktionen der Proteine	28
2.1.7	Hämoglobin: Struktur und Funktion eines Proteins	31
2.2	Kohlenhydrate	35
2.2.1	Aufbau und Eigenschaften der Kohlenhydrate.....	35
2.2.2	Einteilung und Funktionen der Kohlenhydrate.....	40
2.3	Lipide	47
2.3.1	Fettsäuren	48
2.3.2	Neutrale Lipide (Fette, Öle, Wachse)	50
2.3.3	Phospholipide.....	52
2.3.4	Glykolipide.....	54
2.3.5	Eigenschaften von Membranlipiden	54
2.3.6	Isoprenoide.....	55
2.3.7	Lipopolysaccharide	58
2.4	Nukleinsäuren	59
2.4.1	Nukleotide, die Monomere der Nukleinsäuren.....	59
2.4.2	Aufbau und Struktur der DNA	60
2.4.3	Aufbau und Funktionen der RNA	63
3	Die Zelle als biologische Grundstruktur	65
3.1	Zellen der Prokaryonten	66
3.2	Zellen der Eukaryonten	67
3.2.1	Zellteilung und Zellzyklus	72
3.2.2	Bildung von Keimzellen in der Meiose	74
3.3	Biologische Membranen und Stofftransport.....	75
3.3.1	Membranaufbau	75
3.3.2	Permeabilität von Biomembranen	77
3.3.3	Membrantransport	80
3.3.4	Weitere Funktionen von Biomembranen	83
4	Vom Gen zum Protein	85
4.1	Replikation der DNA	86
4.2	Proteinbiosynthese	89
4.2.1	Transkription.....	90
4.2.2	Genetischer Code	91
4.2.3	Translation	91
4.2.4	mRNA-Prozessierung in eukaryontischen Zellen	94

4.3	Veränderungen des Erbguts	95
4.4	Genregulation	102
4.4.1	Regulation der Genexpression in Prokaryonten	102
4.4.3	Regulation der Genexpression in Eukaryonten	105
5	Stoffwechsel und Energieumwandlung	108
5.1	Biologische Energieumwandlung	108
5.2	Enzyme	109
5.2.1	Enzymkinetik	111
5.2.2	Einflüsse auf die Enzymaktivität	112
5.2.3	Einteilung von Enzymen	114
5.3	Stoffwechsel	116
5.3.1	Stoffwechselvielfalt der Organismen	116
5.3.2	Fotosynthese	118
5.3.3	Bau- und Energiestoffwechsel	124
6	Evolution	131
6.1	Mechanismen der Evolution	132
6.1.1	Bedeutung des Erbguts für die Evolution	132
6.1.2	Bedeutung der Umwelt für die Evolution	134
6.1.3	Artbildung über Isolation und Gendrift	137
6.2	Belege für die Evolution	140
6.3	Abstammung und Einteilung der Lebewesen	144

II Mikrobiologie 152

1	Bakterien und Archaeen	155
1.1	Bakterien	155
1.1.1	Grundstrukturen der Bakterienzellen	159
1.1.2	Klassifikation der Bakterien	169
1.1.3	Genübertragung bei Bakterien, Werkzeuge der Gentechnik	177
1.1.4	Stoffwechsel von Bakterien	186
1.2	Archaeen	198
2	Pilze und Protozoen	204
2.1	Pilze	204
2.1.1	Wachstum und Fortpflanzung von Hyphenpilzen	206
2.1.2	Einteilung der Pilze	209
2.1.3	Hefen	216
2.2	Protozoen	221
3	Viren und Prionen	226
3.1	Viren	226
3.1.1	Struktur von Viren	227
3.1.2	Infektionszyklus von Viren	233
3.2	Prionen	237

4	Mikroorganismen in Umwelt und technischen Verfahren	239
4.1	Mikroorganismen in globalen Stoffkreisläufen.....	241
4.1.1	Kohlenstoffkreislauf	243
4.1.2	Stickstoffkreislauf	245
4.1.3	Schwefelkreislauf	247
4.2	Die anaerobe Nahrungskette	249
4.2.1	Syntrophe Mikroorganismen	252
4.2.2	Biogasbildung	252
4.3	Mikroorganismen in Gewässern.....	256
4.3.1	Süßwasserseen	256
4.3.2	Gewässerbelastung und Abwasserreinigung	259
4.3.3	Trinkwasser und Fäkalindikatoren	266
4.3.4	Typische Wassermikroorganismen.....	268
4.4	Mikroorganismen im Boden.....	270
4.4.1	Erdboden als Standort von Bakterien und Pilzen	271
4.4.2	Abbau von Schadstoffen in Böden	274
4.5	Mikroorganismen an Grenzflächen und interzelluläre Kommunikation.....	279
4.5.1	Biofilme	279
4.5.2	Zell-Zell-Kommunikation.....	284
5	Wachstum von Mikroorganismen	288
5.1	Wachstumsphasen	289
5.2	Wachstum in statischen und kontinuierlichen Kulturen	291
5.3	Wachstumsvoraussetzungen für Mikroorganismen.....	295
5.3.1	Nährstoffbedarf	295
5.3.2	Einfluss der Temperatur	297
5.3.3	Einfluss des pH-Werts	301
5.3.4	Einfluss der Wasseraktivität (a_w -Wert)	303
6	Mikrobiologie des Menschen	305
6.1	Mikrobiom des Menschen.....	305
6.2	Mikroorganismen als Krankheitserreger	310
6.2.1	Bakterien als Krankheitserreger	318
6.2.2	Pilze als Krankheitserreger	323
6.2.3	Protozoen als Krankheitserreger	325
6.2.4	Viren und Prionen als Krankheitserreger	326
6.2.5	SARS-CoV-2 Coronaviren	330
6.2.6	Antibiotika und Antibiotikaresistenzen	336
III Bioanalytische Arbeitsmethoden		347
1	Proteinanalytik	348
1.1	Isolierung von Proteinen.....	348
1.2	Nachweis und Konzentrationsbestimmung von Proteinen.....	351
1.2.1	Grundlagen der Fotometrie.....	351
1.2.2	<i>Bradford</i> -Proteinbestimmung	353

1.3	Auftrennung von Proteinen.....	354
1.3.1	Säulenchromatografie über Gelfiltration	354
1.3.2	Ionenaustausch- und Affinitätschromatografie	358
1.3.3	Elektrophoresen.....	359
1.4	<i>Blotting</i>	363
2	DNA- und RNA-Analytik	367
2.1	Isolierung von DNA	367
2.1.1	Isolierungsmethoden	369
2.2	Isolierung von RNA.....	371
2.2.1	Isolierungsmethoden	373
2.3	Nachweis und Konzentrationsbestimmung von DNA und RNA	375
2.4	Auftrennung von Nukleinsäuren durch Gelelektrophorese.....	375
2.5	<i>Blotting</i> von Nukleinsäuren	377
2.6	DNA-Sequenzierung	380
3	Klonierung und PCR	383
3.1	Klonierung eines DNA-Fragments	383
3.2	Vektorsysteme	385
3.3	PCR (Polymerase-Kettenreaktion)	387
3.3.1	<i>Real-Time-PCR</i>	389
3.4	<i>DNA-Fingerprinting</i>	391
4	Immunologische Methoden (ELISA)	393
5	Enzymatische Bestimmung von Stoffkonzentrationen.....	395
IV Mikrobiologische Arbeitsmethoden		397
1	Sicherheitsvorkehrungen und steriles Arbeiten.....	398
1.1	Gefahren und Risikogruppen	398
1.2	Steriles Arbeiten	399
1.3	Sicherheitswerkbänke	400
2	Verfahren zur Keimabtötung.....	401
2.1	Sterilisationsverfahren	401
2.1.1	Sterilisationsverfahren mit feuchter Hitze	402
2.1.2	Sterilisationsverfahren mit trockener Hitze	404
2.1.3	Hitzeunabhängige Sterilisationsverfahren	405
2.2	Desinfektion und Pasteurisation	406
3	Kultivierung von Mikroorganismen	409
3.1	Kultivierung von Mikroorganismen mit Sauerstoff	410
3.2	Kultivierung von Mikroorganismen ohne Sauerstoff	411

3.3	Nährmedien	413
3.3.1	Arten von Nährmedien	413
3.3.2	Animpfen von Nährmedien	415
3.3.3	Herstellung von festen Kulturmedien	416
3.3.4	Beispiele für Nährmedien	418
3.4	Stammkulturen	424
3.5	Gewinnung von Reinkulturen	427
4	Identifizierung von Mikroorganismen	430
4.1	Klassische mikrobiologische Tests	431
4.2	Molekularbiologische Diagnostik	437
5	Mikrobiologische Umwelt- und Hygieneuntersuchungen	440
5.1	Wasseruntersuchungen	440
5.2	Luftuntersuchungen	443
5.3	Oberflächenuntersuchungen	445
6	Mikroskopische Methoden	448
6.1	Mikroskopieren von Mikroorganismen	448
6.2	Färbungen von Mikroorganismen	453
7	Keimzahlbestimmungen und Wachstumsmessungen	457
7.1	Bestimmung der Lebendkeimzahl	458
7.1.1	Ausplattierungsverfahren	458
7.1.2	Gussplattenverfahren	460
7.1.3	Titerverfahren (MPN-Bestimmung)	462
7.1.4	Weitere Bestimmungsmethoden	463
7.1.5	Keimzahlberechnung	464
7.2	Bestimmung der Gesamtkeimzahl und Zellmasse	465
7.2.1	Trübungsmessung	465
7.2.2	Zählkammerbestimmung	467
7.2.3	Weitere Bestimmungsmethoden	469
8	Resistenztestung	470
8.1	Agardiffusionstest	470
8.2	MHK-Bestimmung (Verdünnungsreihen-Test)	471
9	Die mikrobiologische Lebensmittelanalyse	473
9.1	Untersuchungsparameter	473
9.2	Festlegung des Untersuchungsspektrums und -ablaufs	474
9.3	Probenahme	475
9.4	Zerkleinern/Homogenisieren der Proben	476
9.5	Lebendzellzahlbestimmung	476
9.6	Bewertung der Ergebnisse und Einordnung des Lebensmittels	477
	Sachwortverzeichnis	478
	Abkürzungsverzeichnis	495

Teil I

Molekulare Biologie

Die Biologie ist die Naturwissenschaft, die sich mit den Prozessen des Lebens beschäftigt (griech. *bíos*: Leben und *lógos*: Lehre). Sie untersucht die unterschiedlichen Lebewesen (Organismen) und erklärt deren Lebensvorgänge. Diese stehen mit den chemischen und physikalischen Gesetzmäßigkeiten in Einklang, besitzen aber oft eine hohe Komplexität.

Die Biologie ist eine Wissenschaft, die die **Lebensprozesse** auf unterschiedlichen Ebenen betrachtet. Ihr Spektrum reicht von der Untersuchung von molekularen Strukturen über die Untersuchung von **Zellen**, aus denen alle Organismen aufgebaut sind, bis hin zur Untersuchung von Lebewesen in ihrem Lebensraum und ihren Beziehungen untereinander.

Die Erforschung der Strukturen von Lebewesen ist durch deren außerordentliche Vielfalt und einen zumeist sehr komplexen Aufbau der Organismen gekennzeichnet. Aufgrund dieser Strukturfülle und der Komplexität ist die biologische Wissenschaft in zahlreiche Einzelfachdisziplinen gegliedert, die in der Regel auch spezielle Arbeitstechniken und Forschungsmethoden anwenden (Tabelle 1).

Zellen

Kleinste selbstständig lebens- und vermehrungsfähige biologische Strukturen

Tabelle 1 Fachrichtungen der Biologie

Fachdisziplin	Untersuchungsschwerpunkt
Zoologie	Tierische Lebewesen
Botanik	Pflanzliche Lebewesen
Mikrobiologie	Mikroorganismen
Molekularbiologie	Biologische Strukturen und Funktionen auf molekularer Ebene
Zellbiologie (Zytologie)	Strukturen und Funktionen der Zelle
Entwicklungsbiologie	Entwicklung des Organismus aus einer befruchteten Eizelle zu Gewebe und Organen
Systematik der Biologie	Bestimmung, Beschreibung und Klassifikation von Organismen
Physiologie	Biophysikalische und biochemische Funktionen der Organismen
Genetik	Erbgut der Organismen und die Weitergabe der Erbinformationen
Verhaltensbiologie	Verhalten von Tieren und Menschen
Immunbiologie (Immunologie)	Immunsystem, Abwehr des Körpers von Krankheitserregern
Morphologie	Körpergestalt, Aufbau der Organismen
Ökologie	Beziehungen der Lebewesen zueinander und mit der unbelebten Natur
Neurobiologie	Strukturen und Funktionen von Nervenzellen bzw. -systemen

Die Aufteilung der Biologie in verschiedene Fachdisziplinen mit ihren jeweiligen Schwerpunkten ist ein historischer Prozess. Die Biologie als theoretische und experimentelle Erforschung des Lebens entwickelte sich im 16. und 17. Jahrhundert. Durch den Bau leistungsfähiger Mikroskope (*Antoni van Leeuwenhoek*, 1632 – 1723) wurde den Forschern die Möglichkeit der Untersuchung von Zellen und ihren Strukturen gegeben.

Die Beobachtung von Bakterien und anderen **Mikroorganismen** führte zur Entstehung der Fachdisziplin **Mikrobiologie**. Im 20. Jahrhundert gewann die Biologie vor allem durch die Fortschritte in der Erkundung der Mechanismen und molekularen Grundlagen der Lebensvorgänge an Bedeutung für Industrie sowie für das tägliche Leben.

Mikroorganismen

Mit dem Auge nicht sichtbare Lebewesen, die überwiegend aus einer Zelle bestehen

1

Eigenschaften von Lebewesen

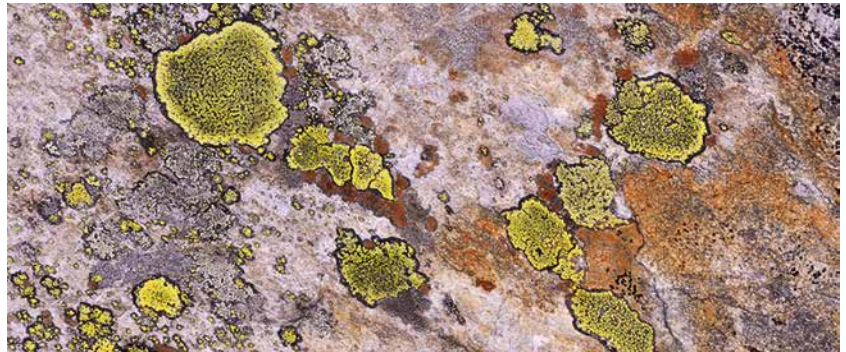
Die Erkennung von Lebewesen fällt in der Regel leicht; auch völlig unbekannte Lebewesen können aufgrund ihrer Eigenschaften fast immer dem Bereich des Lebens zugeordnet werden.

Andererseits gibt es Organismen wie die Flechten, die auf den ersten Blick nicht als Lebewesen zu erkennen sind. Dabei sind Flechten sogar eine Art von Doppel-Lebewesen. Sie bestehen aus zwei völlig verschiedenen Organismen, aus einem Pilz und einer Alge oder einem Bakterium, die in engem Kontakt zusammenleben. Eine solche Lebensgemeinschaft zweier verschiedener Organismen wird **Symbiose** genannt und sie führt bei den Flechten zu völlig neuen Eigenschaften und Lebensformen.

© imageBROKER/Kevin Prönncke,
Okapia KG Michael Grzimek & Co

Bild 1

**Flechtenüberzug auf
einem Fels**



Leben ist von einer ungeheuren Komplexität gekennzeichnet, die auch heute erst in groben Zügen bekannt ist. Es gibt keine allgemein gültige, umfassende Definition dessen, was Leben ist. Vielmehr ist es eine Reihe von Eigenschaften, die Lebewesen von unbelebter Materie abgrenzen. Organismen weisen folgende **Kennzeichen bzw. Merkmale des Lebens** auf:

► **Stoffwechsel**

Unter Stoffwechsel (Metabolismus) werden die Aufnahme von Stoffen in den Organismus oder in seine Zellen, die Verarbeitung in Form von chemischen Umwandlungen sowie die Abgabe von Stoffen verstanden. Die chemischen und physikalischen Stoffwechselvorgänge dienen dem Aufbau und der Erhaltung der Zell- und Körperstrukturen sowie der Energiegewinnung. Der Stoffwechsel ist eine der wesentlichen Eigenschaften der Lebewesen und der Zelle (s. Kap. 1.5).

► **Wachstum**

Die Stoffwechselaktivitäten führen zum **Wachstum** eines Organismus. Mit der Masse (oder der Größe) nimmt zumeist auch die Zahl der Zellen zu. Einzeller teilen sich bei einer bestimmten Zellgröße in Tochterzellen; das Wachstum führt bei ihnen stets auch zur **Vermehrung**.

► **Fortpflanzung**

Die Fortpflanzung (Reproduktion) von Lebewesen kann auf sexuellem oder nicht sexuellem Wege erfolgen. Bei der **sexuellen** oder geschlechtlichen Fortpflanzung kommt es zu einer Verschmelzung (Fusion) von zwei Zellen, einer weiblichen und einer männlichen Keimzelle (Gameten). Die Nachkommen erhalten dadurch Erbanlagen von beiden Elternteilen. Der Vorgang der Zellfusion wird auch als **Befruchtung** bezeichnet und das Verschmelzungsprodukt als **Zygote**.

Wachstum

Zunahme der
Masse eines
Organismus durch
Neubildung von
Körpersubstanz

Vermehrung

Zunahme der Zahl
neuer Individuen