

Versuch im Rahmen des Praktikums „Biophysikalische Chemie – Spektroskopische Methoden“ für Studierende der Fachrichtung Molekularbiologie/Biochemie (5. und 6. Semester)

Karl-Heinz Gührs, IMB  
"Massenspektrometrie an Proteinen"

Für die Regulation der Lokalisation, Lebensdauer und Funktion einer großen Zahl von Proteinen spielen posttranslationale Modifikationen (PTM) eine Rolle. Der Nachweis von PTM ist oft schwierig und nicht immer eindeutig. Dies liegt an der wechselnden Spezifität der häufig für derartige Versuche verwendeten Antikörper. Eine weitere Möglichkeit solche Proteinmodifizierungen nachzuweisen und darüber hinaus die Lokalisation bisher unbekannter PTM innerhalb eines Protein zu bestimmen bieten proteinanalytische Techniken. Eine dieser Techniken ist die Maldi-Tof-Massenspektrometrie. In Versuch soll am Modellprotein beta-Casein (und eventuell am Modellprotein Fetuin) das Vorhandensein von PTM überprüft werden. Dazu werden Spektren der intakten Proteine aufgenommen und enzymatische Reaktionen zur Beseitigung oder Entfernung von PTM verwendet. Daneben werden die derart behandelten Proben einem proteolytischen Verdau unterzogen und die Spektren der resultierenden Peptide gemessen. Da im realen Fall die Proteine nicht als reine Substanzen vorliegen, werden zur Simulation realer Verhältnisse die Proben der Modellproteine in SDS-Gelen getrennt und aus diesen isoliert. Anschließend werden die genannten Analysen erneut durchgeführt. Ziel des Versuches ist es die Bedingungen herauszuarbeiten, die für eine erfolgversprechende Identifizierung und Analyse von Proteinen und eventueller PTM gegeben sein müssen.