



RUHR-UNIVERSITÄT BOCHUM

Medizinisches Proteomcenter

Titel der Lehrinheit (LE)

Modulpraktika Biochemie im Schwerpunkt
Proteine: Struktur und biologische Funktion:
Proteinanalytik: Elektrophorese, Chromatographie und
Massenspektrometrie

Bezeichnung der LE

Nr. des
Vorl.-Verzeichnis

LE-Kreditpunkte

4

Fachsemester

7

Dauer :

2 Wochen

SWS

5

Dozenten

Katrin Marcus, Kai Stühler, Bettina Warscheid

Prüfer

Katrin Marcus, Kai Stühler, Bettina Warscheid

Studiengänge:

Pflicht-LE für:

M. Sc. in Biochemie

Freiwillige LE für:

M. Sc. in Chemie

Zielsetzungen

Die Teilnehmer sollen einen Einblick in die am Medizinischen Proteom-Center (MPC) etablierten Methoden der aktuellen Proteomforschung verschafft werden. Hierbei sollen im ersten Teil Methoden zur Präparation und Auftrennung von komplexen Proteingemischen vorgestellt und selbständig bearbeitet werden. Im zweiten Teil sollen mittels Massenspektrometrie und Datenbanksuche ausgewählte Proteine identifiziert werden.

Themenverzeichnis

Probenpräparation für die moderne Proteinanalytik: Erstellung eines komplexen Proteingemisches (Maushirnlysate, Serum, Zellkultur, etc.), Aminosäureanalyse; Proteintrennung/-aufreinigung: Elektrophorese (1D/2D), Chromatographie; Detektion: Coomassie-, Silberfärbung; Identifizierung der Proteine mittels Massenspektrometrie (MALDI-MS, ESI-MS)

Lehrmethoden:

Praktikum

2 Wochen ganztägiges Praktikum

Seminar

3x ½ Tag

Überprüfung des Lernfortschritts

Bearbeitung der praktischen Aufgaben und deren Protokollierung, aktive Teilnahme am Seminar und am Praktikum

Leistungskontrolle

Eingangskolloquien zu den Teilaufgaben des Modulpraktikums, Versuchsprotokoll (Eine Überarbeitung des Protokolls ist möglich)

Zusammenfassung der Lehrgegenstände

- Sicherheitsbelehrung:
Allgemeine Laborpraxis, Einführung in die Geräte
- Seminar:
Versuchsstrategische und methodische Vorbesprechung (Biologischer Kontext der im Praktikum untersuchten Proben/Proteine, Besprechung allgemeiner Analyse-Strategien in der modernen Proteinanalytik, Planung der im Praktikum durchgeführten Analysen, Besprechung der eingesetzten Methoden/Techniken)
(Für diesen Versuchsteil sollten bitte aus dem Buch „Bioanalytik“, Lottspeich/Zorbas, Spektrum-Verlag, 1998 die folgenden Kapitel vorbereitet werden:
Kapitel 10: Elektrophoretische Verfahren
Kapitel 14: Massenspektrometrie (vor allem MALDI-Massenspektrometrie)
Kapitel 29: Proteomanalyse)
- Praktische Versuche:
 1. Probenvorbereitung: Herstellung des Proteinlysates/Probenaufschluss (abhängig von der zu analysierenden Probe: Zellkultur, Maushirn, Serum), Proteinquantifizierung (Bradford, Aminosäureanalyse)
 2. Proteintrennung: Elektrophorese (1D/2D), Chromatographie
 3. Proteindetektion: Coomassie-, Silberfärbung
 4. Proteinidentifizierung: Proteolytischer Verdau (in-Gel bzw. in-Lösung), massenspektrometrische Analyse (verschiedene Methoden: MALDI-TOF/TOF-MS, nanoLC-ESI-MS(/MS))
 5. Interpretation der Daten: Automatische Datenauswertung mit Hilfe verschiedener Suchalgorithmen und Datenbanksuchprogrammen.
- Einführung zu eigenständigem wissenschaftlichen Arbeiten (Literaturrecherche, Protokollierung, Darstellung wissenschaftlicher Ergebnisse in schriftlicher sowie Vortragsform)

Der Inhalt dieses Forschungspraktikums ist nur exemplarisch; die beschriebenen Methoden werden im Rahmen des Praktikums zum Einsatz kommen, allerdings wird über die tatsächlich analysierten Proben kurz vor dem Praktikum entschieden.