



Max Planck Institut für molekulare Physiologie

Abteilung Strukturelle Biologie

Titel der Lehreinheit (LE)

Modulpraktika Biochemie im Schwerpunkt
Proteine: Struktur und biologische Funktion
Kristallisation und Röntgenstrukturanalyse von Proteinen

Bezeichnung der LE

Nr. des
Vorl.-Verzeichnis

LE-Kreditpunkte

4

Fachsemester

7

Dauer :

2 Wochen

SWS

5

Dozenten

Ingrid Vetter, Eva Wolf

Prüfer

Ingrid Vetter, Eva Wolf

Studiengänge:

Pflicht-LE für:

M. Sc. in Biochemie

Freiwillige LE für:

M. Sc. in Chemie

Zielsetzungen

Die Teilnehmer sollen mit den Grundzügen der Proteinstrukturbestimmung durch Röntgenstrukturanalyse sowie mit der Analyse von Proteinmodellen vertraut gemacht werden.

Themenverzeichnis

Kristallisation von Proteinen, Umgang mit Kristallen und Vorbereitung zur Röntgendiffraktionsmessung, Kristallsymmetrien, Datensammlung, Auswertung und Prozessierung, Lösung des Phasenproblems (MIR/MAD/MR), Berechnung der Elektronendichte, Modellbau an UNIX-Grafikworkstations und Verfeinerung, Qualitätsuntersuchung und Analyse des Proteinmodells

Lehrmethoden:

Praktikum

2 Wochen ganztägiges Praktikum

Seminar

3x ½ Tag

Überprüfung des Lernfortschritts

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

Leistungskontrolle

Eingangskolloquien zu den Teilaufgaben des Modulpraktikums, Versuchsprotokoll, Vortrag in Abschlusseminar (ggf. an Termin ausserhalb des Praktikumsblocks nach Vereinbarung)

Zusammenfassung der Lehrgegenstände

- Sicherheitsbelehrung: Allgemeine Laborpraxis, Arbeiten mit Röntgenstrahlen
- Versuchsstrategische und methodische Vorbesprechung (Vergleich Röntgenstrukturanalyse mit anderen Methoden der Strukturbestimmung, Vorgehensweise der Strukturanalyse)
- Einführung zu eigenständigem wissenschaftlichen Arbeiten (Literaturrecherche, Protokollierung, Darstellung wissenschaftlicher Ergebnisse in schriftlicher sowie Vortragsform)
- Praktische Versuche:
 - 1) Kristallzüchtung aus gereinigten Proteinen, Vergleich verschiedener Verfahren der Kristallisation (u.a. hanging drop/sitting drop)
 - 2) Vorbereitung für die Röntgenmessung, d.h. mount in Glaskapillaren bzw. Suche eines passendes Gefrierschutzmittel zum Einfrieren der Kristalle
 - 3) Röntgenmessung mit Einweisung in die Röntgensoftware, Montieren des Kristalls auf dem Diffraktometer sowie strategische Planung eines Röntgenexperimentes.
 - 4) Phasenbestimmung mit Hilfe der zwei Standard-Methoden: "molekularer Ersatz" sowie "Isomorpher Ersatz" mit Schwermetall-Atomen, die in die Kristallstruktur eingebracht werden.
 - 5) Modellbau in die experimentelle Elektronendichte, die aus den obigen Daten und Auswertungen berechnet wurde, mit Hilfe von SGI UNIX Grafik-Workstations.
 - 6) Refinement: Das von Hand gebaute, rohe Modell wird mit Hilfe von sogenannten "refinement"-Programmen so verändert, daß es optimal zu den Meßdaten paßt. Es werden mehrere Zyklen von Modellbau und Verfeinerung durchgeführt, bis das Proteinmodell die Röntgendaten korrekt wiedergibt.
 - 7) Als Abschluß des Praktikums werden verschiedene Analyseverfahren auf das fertige Modell angewendet, z.B. Ramachandran-Plot, Z-score- und Temperaturfaktoranalyse sowie Untersuchung des Faltungstyps und Vergleich mit schon bekannten Proteinstrukturen.

Der Inhalt dieses Forschungspraktikums ist nur exemplarisch; über die tatsächlich durchgeführten Experimente wird kurz vor dem Praktikum entschieden.