

Merksätze Kapitel 38

Proteinanalytik

38.1 Bestimmung der Aminosäurezusammensetzung und Sequenzanalyse von Proteinen

Die direkte Analyse der Aminosäuresequenz eines Proteins ist aufwändig, liefert jedoch Informationen über posttranslational erworbene Strukturmerkmale des Proteins, wie Disulfidbrücken oder Glykosylierungen. Am einfachsten ist es, die Aminosäuresequenz aus der Nucleotidsequenz der entsprechenden DNA abzuleiten.

38.2 Analyse der 3D-Struktur von Makromolekülen durch Röntgenkristallographie

Die Röntgenkristallographie setzt die Kristallisation des Proteins voraus und ergibt die Struktur des ins Kristallgitter eingebauten Proteins mit atomarer Auflösung.

38.3 Analyse der 3D-Struktur von Makromolekülen durch magnetische Kernresonanz (NMR)

NMR (*Nuclear magnetic resonance*) liefert ein Ensemble mehrerer möglicher Strukturen eines Proteins in Lösung, die einem Abbild der Motilität und Dynamik des Proteinmoleküls entsprechen. Rechnergestützte *Molecular dynamics*-Programme simulieren die konformationelle Dynamik von Proteinen; *Molecular docking*, ein unentbehrliches Hilfsmittel beim Design von Wirkstoffen, modelliert rechnerisch die Bindung von Liganden an ein Zielprotein.

38.4 Elektronenmikroskopie (EM)

Transmissions-EM liefert ein Negativbild der Probe mit einer Auflösung von 5-0.5 nm. Bei der Gefrierätzungs- (*Freeze-fracture*-)Technik entsteht durch Aufdampfen einer Platin-Kohlenstoffschicht eine „Schattenlandschaft“ der Bruchfläche. Computer-gestützte EM (Einzelpartikelanalyse verbunden mit *Backprojection*) kann α -Helices und β -Faltblätter erkennen.

38.5 Untersuchung posttranslatinaler Modifikationen von Proteinen

Folgende Analyseverfahren sind in Gebrauch:

Phosphorylierung: isoelektrische Fokussierung, MS, Antikörper

Glykosylierung: do. und Gelelektrophorese zur Bestimmung der erhöhten Molekülmasse

Methylierung: MS

Ubiquitinierung: Antikörper, Gelelektrophorese zur Bestimmung der erhöhten Molekülmasse

38.6 Untersuchung von Protein-Ligand-Wechselwirkungen

Die quantitative Messung der Wechselwirkung zwischen Proteinen und ihren Bindungspartnern (Makromoleküle, Ionen und kleinere Moleküle) beruht auf der Trennung der freien und gebundenen Moleküle und deren nachfolgender Quantifizierung. Die Komplexbildung lässt sich auch mittels spektroskopischer Methoden oder anhand von Oberflächeneffekten (Biacore-Technik, *Surface plasmon resonance*) verfolgen.