

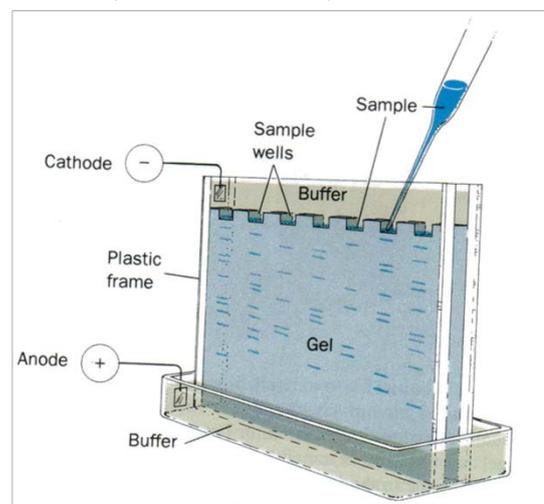
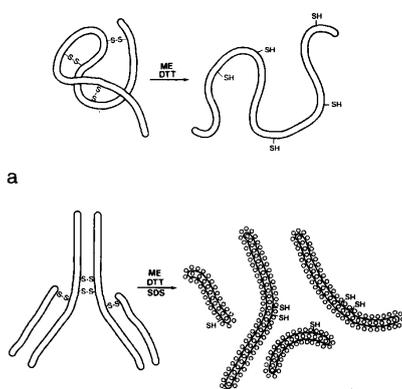
Teil 4:

Wie Grundlagenforschung zu technologischen und oder medizinischen Anwendungen führen kann:

Ursprüngliche Frage um 1950: Wie kann man die Struktur von Proteinen ergründen?

Medizinische Diagnostik heute: Identifizierung und Lokalisation von Tumoren durch automatisierte Serumprotein Analyse.

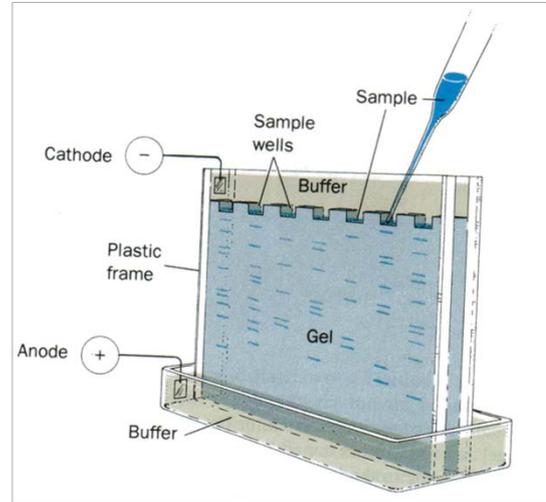
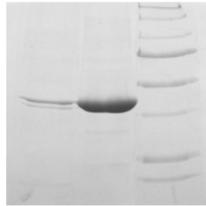
Molekulargewichtsbestimmung von Proteinen mit der SDS Polyacrylamid Gelelektrophorese (SDS-PAGE)



Molekulargewichtsbestimmung von Proteinen mit der SDS Polyacrylamid Gelelektrophorese (SDS-PAGE)

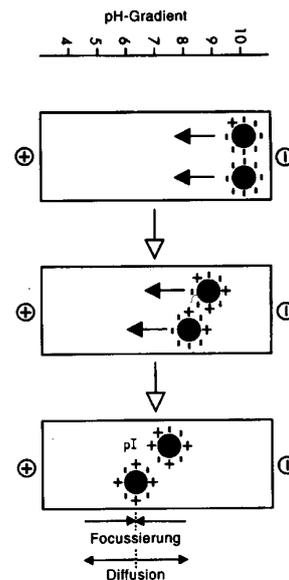


Immunoblot: Nachweis eines bestimmten Proteins mittels Antikörpers



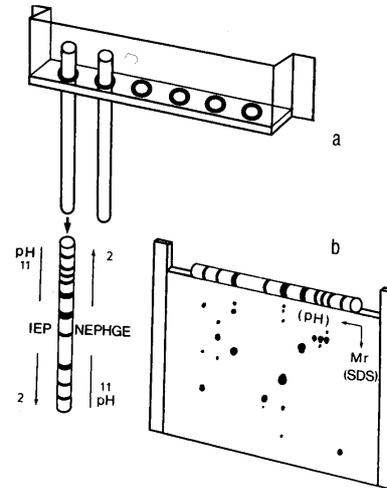
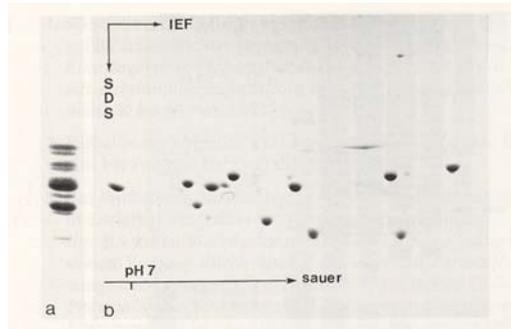
Isoelektrische Fokussierung

- Auftrennung über pH Gradienten

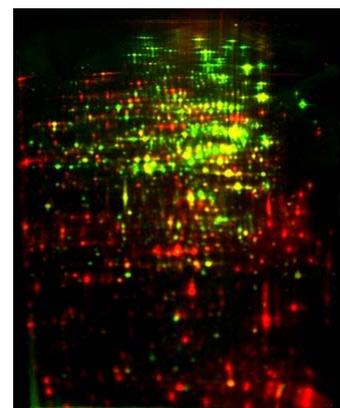
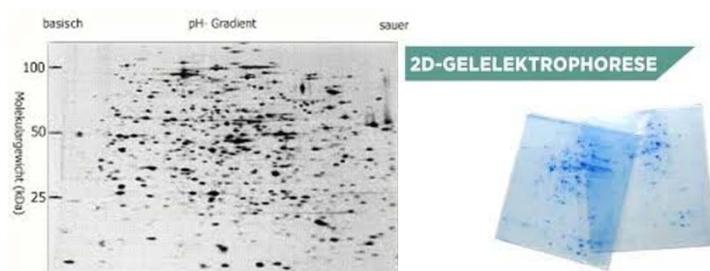


2D-Gelelektrophorese - Proteomanalyse

1. Isoelektrische Fokussierung
2. Dann SDS-PAGE



2D-Gelelektrophorese – Proteomanalyse - Beispiele

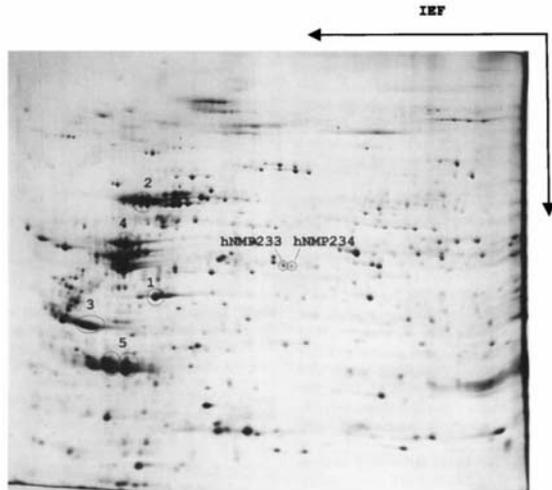


20 000 Punkte = 20 000 Proteine

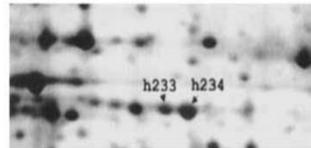
Quelle: Wikipedia

Diagnosemöglichkeit:

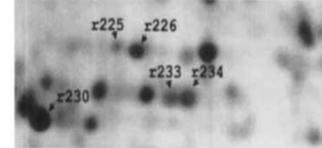
Veränderte neue Kernproteine in Tumorproben identifiziert - mit 2D-Gelelektrophorese und Massenspektroskopie (MALDI-TOF)



Liver tumor



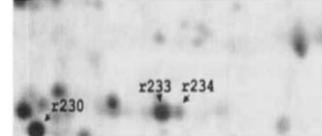
Rat lung tissue



Burkitts lymphoma



Rat testis tissue



Holzmann K et al. Eur J Biochem. 1997;244(2):479-86.

Themen für Vortrag im Rahmen des Biochemischen Seminars/Praktikum am 3. Seminartag WS 2017 / 18

1.

Beschreiben sie die prinzipielle chemische Struktur von Aminosäuren. Was sind proteinogene und nicht-proteinogene Aminosäuren? Was sind essentielle Aminosäuren? Geben sie an, wie man proteinogene Aminosäuren weiter unterteilen kann.

Wie werden die unterschiedlichen Eigenschaften bewirkt? (Erklären Sie die Begriffe hydrophob/hydrophil, negativ/positiv, sauer/basisch, polar/apolar)

2.

Was ist das Trennprinzip der Dünnschichtchromatographie (DC)? Wie kann man mit dieser Methode proteinogene Aminosäuren trennen? Was versteht man dabei unter dem R-Wert? Wandern polare oder apolare Aminosäuren schneller auf einer DC – warum?

3.

Wie genau funktioniert die Gelchromatographie? Nach welchen Prinzipien erfolgt die Trennung von Stoffen? In welcher Reihenfolge erwarten wir das Erscheinen im Eluat, wenn wir eine Mischung dreier unterschiedlich großer Substanzen ($M_n=100$, $M_n=200$, $M_n=1000$) aufzutrennen versuchen? Was könnte man tun, wenn in einem Auffangröhrchen trotzdem zwei Substanzen (z.B. $M_n=100$ und $M_n=200$) zu finden sind?

4.

Welches humane Ausgangsmaterial wird bei der Elektrophorese im Praktikum untersucht? In welche Fraktionen wird dieses Gemisch aufgetrennt? Nennen Sie Beispiele aus jeder Fraktion sowie deren Funktionen und überlegen Sie, in welchen Organen die meisten dieser Moleküle produziert werden. Welches Protein hat den größten Anteil im Serum und woher kommt es, und überlegen Sie, ob dieses im Krankheitsfall auch über andere Organe „verloren“ gehen kann.

Beschreiben sie, wie ein Normalbefund aussieht. Welche Erkrankungen führen zu signifikanten Veränderungen des Normalbefundes, und wo liegen diese Veränderungen?

5.

Nach welchem Prinzip kann man die Serumproteine mittels Gelelektrophorese trennen?

Wieso können Proteine überhaupt geladen sein? Was ist der isoelektrische Punkt eines Proteins? Welchen Einfluss hat der pI-Wert auf die Ladung des Proteins? Gibt es einen pI-Wert, bei dem Proteine generell negativ oder positiv geladen sind? Warum finden sich im Serum weniger Anionen als Kationen (Anionenlücke)?

6.

Wie erfolgt die quantitative Auswertung eines Elektropherogramms und auf welchen Annahmen beruht sie? Wie kommt es zur Färbung der Serumproteine und wie zur

quantitativen Analyse der aufgetrennten Gruppen? Vergleichen Sie Photometrie und Densitometrie und erklären Sie die Bedeutung des Lambert-Beer'schen Gesetzes!

7.

Welche Art von Molekülen sind Enzyme und was ist ihre prinzipielle Funktion/Aufgabe? Was sind Isoenzyme und welche Bedeutung haben die Isoenzyme der LDH? Was sind Co-Enzyme? Was sind einfache und was sind regulatorische (allosterische) Enzyme? Welche Faktoren beeinflussen Struktur und/oder Funktion von Enzymen?

8.

Beschreiben Sie, wie Sie vorgehen, um die Enzymaktivität (Enzymmenge) einer LDH-Präparation zu bestimmen? Welche Reaktion katalysiert die Lactat-Dehydrogenase (LDH) und welche Rolle spielt dabei NADH?

9.

Was ist die Michaelis-Konstante (K_m) und was können wir daraus ableiten? Was sind die Gemeinsamkeiten und Unterschiede der nicht-linearen und der linearisierten Darstellung? Welche Bedeutungen hat der K_m -Wert? Was ist v_{max} ? Beschreiben Sie, wie Sie vorgehen, um den K_m -Wert der LDH zu bestimmen.

10.

Welche unterschiedlichen Arten der Enzymhemmung gibt es? Wie würden die Darstellungen (nicht-linear und linearisiert) aussehen, wenn ein kompetitiver Hemmstoff zugesetzt würde?

Beschreiben Sie die Auswirkungen von Enzymhemmungen – auch im Hinblick auf Medikamente (z.B. was bewirken Statine?). Welche Auswirkungen sind von der unregelmäßigen Einnahme von Medikamenten, die als Enzym-Inhibitoren wirken, zu erwarten?

11.

Was versteht man unter einem groben, einem zufälligen und einem systematischen Fehler? Welche statistischen Kenngrößen für zufällige Fehler werden häufig verwendet und wie sind diese definiert?

Was versteht man bei der Labor-Diagnostik unter Qualitätskontrolle – welche Formen werden in Österreich angewandt?

12.

Welche Anforderungen werden an einen diagnostischen Test gestellt und was versteht man dabei unter Sensitivität und was unter Spezifität?

Was bedeuten die Begriffe falsch positiv und falsch negativ? Erklären Sie, warum eine Erhöhung der Sensitivität immer zu Lasten der Spezifität geht und umgekehrt!

1. Praktikum: Dienstag, 17.1.2023,
 Saal 3,
 Eingang Wasagasse, rechts
 Gruppe 52 12:30
 Gruppe 56 15:30