

Name	Protein- und KH-Analytik, [PKA]
Semester lt. Studienablaufplan	4.
Dauer	1
ECTS-Punkte	5
Gesamtworkload	150 h
Präsens	40,00 h: 4 SWS: 3 SWS Vorlesung und 1 SWS Praktika.
Anteil Vor- und Nachbereitung von Lehrveranstaltungen	69,00 h: - 8,00 h Versuchsvorbereitung für 4 Versuche (Testat), - 16,00 h für Protokollanfertigung, - 45,00 h Vorlesungsnachbereitung.
Anteil Prüfung inkl. Prüfungsvorbereitung	20,00 h: - Prüfungsvorbereitung, 0,45 h: - Prüfung (PM 45).
Anteil sonstiges Selbststudium	20,15 h
Lehr- und Lernformen	<p>1. Vorlesungen (3 SWS)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Der Vorlesungsstoff wird durch eine Kombination von Tafelbild, Folien und Powerpointpräsentationen vermittelt. Dazu erhalten die Studenten ausgewählte <i>handouts</i>, die vor der Lehrveranstaltung aus dem Internet entnommen werden sollen. - Ziel ist auch, eine kurze Zusammenfassung jeder Vorlesung in Englisch anzubieten. - Eine LV kann von einem auswärtigen Experten (z.B. Präparative Chromatographie) gehalten werden. Dazu soll ein <i>handout</i> für die Nachbereitung des Stoffes verfügbar sein. - Für das weitere Selbststudium (ca. 2 SWS) erhalten die Studenten Skripte zu ausgewählten Themen (z.B. „Präanalytik“, Elektrophoresen, Biochromatographie). - Weiterhin werden Fachbücher in das Selbststudium einbezogen, die - wie auch die Vorlesungsskripte - zunehmend in englischer Sprache verfasst sind. <p>2. Praktika (1 SWS)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Den Studenten werden 4 verschiedene Praktika angeboten. Die Versuchsdurchführung muß aus didaktischen Gründen in kleineren Gruppen (3-4 Studenten) erfolgen. - Zur Vorbereitung des Praktikums dienen Skripte mit entsprechenden Literaturstellen sowie Teile des Vorlesungsstoffes. - Das erfolgreiche Bestehen des Testates ist die Voraussetzung zur Teilnahme am Praktikumsversuch. - Jede Praktikumsgruppe fertigt zum durchgeführten Versuch ein Protokoll an.
Prüfungsleistungen	Absolvierung aller Testate und Praktika, Termingerechte Abgabe aller Protokolle, Mündliche Prüfung zu den Vorlesungen und Praktika: PM 45.

Bewertung	Die Bewertung erfolgt differenziert: PM 45: Wichtungsfaktor (WF): 0.8, Praktikum/Testate/Protokolle: WF: 0.2.
Niveaustufe	Bachelor
Lerninhalt	<p>1. Inhalte und Zielstellung</p> <p>Die Lehrveranstaltung Protein- und KH¹-Analytik [PKA] ist Bestandteil des Gesamtmoduls Bioanalytik [BA]. Sie basiert auf der Analytischen Chemie [AC], der Instrumentellen Bioanalytik [IBA] und steht im Bezug zur LV Nucleinsäureanalytik/Gentechnik.</p> <p>Hauptinhalte sind die Isolierung, Reinigung und Charakterisierung von Proteinen/Enzymen aus biologischen Materialien. Dazu dienen präanalytische Methoden, analytische und präparative Elektrophoresen sowie Biochromatographie-Techniken und –Trennsysteme.</p> <p>Die Charakterisierung von Einzelbausteinen eines Proteins/Enzyms (Aminosäuren, Kohlenhydrate) erfolgt bevorzugt mit Hilfe chromatographischer und massenspektrometrischer Methoden. Zur Analyse von Proteinen einer Zelle (Proteomics) sind die 2-D-Elektrophorese in Kombination mit hochauflösender Massenspektrometrie (MS) die geeigneten Methoden. Nach Trennung in hunderte Proteinspots durch IEF und SDS-PAGE und ihrem enzymatischen Verdau werden von jedem Einzelprotein die Molekulargewichte der resultierenden Peptidbruchstücke mittels MALDI-TOF-MS² bestimmt und über Datenbanken abgeglichen.</p> <p>Glycan-Strukturen von Glycoproteinen können mit spezifischen Enzymen oder durch eine "Kohlenhydrat-Sequenzierung" mittels MALDI-TOF-MS-PSD³ nachgewiesen werden.</p> <p>Ziel ist die theoretische und praktische Vermittlung proteinchemischer/proteinanalytischer Arbeitsweisen und deren Einsatz in der biotechnologischen und biomedizinischen Applikation und Forschung.</p> <p>2. Gliederung der LV</p> <p>(1) "Präanalytische" Techniken:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Aufarbeitung von biologischen Materialien und Flüssigkeiten, schonende Isolierung und Konzentrierung der Proteine, - Aufarbeitungen unter Erhalt der biologischen Aktivität der Enzyme. <p>(2) Spezielle Konzentrierungstechniken für Proteine:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Lysozymbehandlung, Aussalzen/Einsalzen,

¹ Kohlenhydrat

² Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation – Time of Flight – Mass Spectrometry

³ MALDI-TOF-MS-Post Source Decay

	<p>Lyophilisation, Dialyse, Ultrazentrifugation (Sedimentationskoeffizienten), Batch-Adsorption, Flüssig-flüssig-Extraktion, Ultra-, Mikro-, Teilchenfiltration.</p> <p>(3) Grundlagen und Systematik der klassischen Elektrophorese:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Theorie und Praxis der elektrophoretischen Trennung in Gelen, - Vor- und Nachteile von Agarose, Polyacrylamid und Celluloseacetat, - Nachweis von Prionen in BSE⁴-Fleisch mittels Gelelektrophorese. <p>(4) Acetatfolien-Elektrophorese von humanen Serumeiweißen:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Trennmechanismus/Besonderheiten dieser Elektrophoresetechnik, - Bestandteile des Blutes, Herstellung von Plasma und Blutserum, - Zusammensetzung der Albumin- und Globulinfraktionen, - Charakteristik der Immunglobuline und pathologischen Blutseren. <p>(5) CAF⁵, IEF⁶, SDS-PAGE⁷, Isotacho-, Disk-Elektrophorese:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Grundlagen, Funktion und Besonderheiten der Trennmechanismen, - Applikationen von Proteinanalysen. <p>(6) Klassische Biochromatographie von Proteinen:</p> <ul style="list-style-type: none"> - hydrophiles Basismaterial - Erhalt der biologischen Enzymaktivität. <p>(6) Trennmechanismen der Biochromatographie: BioLC/FPLC⁸</p> <ul style="list-style-type: none"> - SEC⁹ (Trennung nach Molekülgröße der Proteine), IEC¹⁰ (nach Ladung), - HIC¹¹ (Trennung nach Hydrophobizität), AC¹² (nach Biospezifität), - Optimale Abfolge dieser Separationssysteme bei der Proteinreinigung.
--	---

⁴ Bovine Spongiforme Enzephalopathie

⁵ Cellulose-Acetat-Folien-Elektrophorese

⁶ Isoelectric Focussing

⁷ Sodium DodecylSulphate – PolyAcrylamid Gel Electrophoresis

⁸ Fast Protein Liquid Chromatography

⁹ Size Exclusion Chromatography

¹⁰ Ion Exchange Chromatography

¹¹ Hydrophobic Interaction Chromatography

¹² Affinity Chromatography

¹³ Weizenkeimagglutinin, Concanavalin A

¹⁴ Ortho-Phthaldialdehyd, Fluorenylmethoxycarbonylchlorid

¹⁵ 1-Dimethylaminonaphthalin-5-sulfonylchlorid, 4-Dimethylaminoazobenzol-4'-sulfonylchlorid

¹⁶ High pH Anion-Exchange Chromatography - Pulsed Amperometric Detection

¹⁷ SodiumDodecylSulfate-PolyAcrylamid Gel Electrophoresis

¹⁸ Matrix-Assisted Laser Desorption Ionisation, Electrospray Ionisation - Mass Spectrometry

	<p>(7) Biochromatographie, Kovalente LC:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Reinigung von schwefelhaltigen Peptiden (Glutathion), Phytochelatinen (PC) und Metallothioneinen. <p>(8) Biochromatographie, Lektin-LC:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Affinitätschromatographie, Zuckerspezifität, Präparation von "Lektin-Säulen" (Cofaktoren, Matrices), Interaktionen von Lektinen (WGA, Con A¹³) mit Mono-/Polysacchariden und Glycanen von Glycoproteinen, Applikationen. <p>(9) Aminosäureanalytik:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Freisetzung von AS aus Proteinen durch verschiedene Hydrolysen, - Derivatisierung der AS mit OPA, FMOC-¹⁴, Dansyl-, Dabsylchlorid¹⁵, - pre column derivatisation vs. post column derivatisation. <p>(10) Kohlenhydratanalytik:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Zuckeranalyse an Aminiophasen, mittels Ligandenaustausch und durch selektive und sensitive HPAEC-PAD¹⁶-Technik. <p>(11) Klassische Proteintrennung/-reinigung:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Thermostabile Enzyme (β-Galactosidase, Protease). <p>(12) Proteomanalyse:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Klassische Proteintrennung/-reinigung vs. "Proteomics", - Probenvorbereitung, hochauflösende 2-D-Elektrophorese (IEF, SDS-PAGE¹⁷), - enzymatische Hydrolyse von Proteinen, - Identifizierung, MALDI-MS, ESI-MS¹⁸), Datenanalyse, Bioinformatik. <p>(13) Enzymatische Glycan-Analyse:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Freisetzen der Glycanketten mit PNGase F, - Sequenzierung mit Enzymen (Gluco-, Manno-, Galactosidase). <p>(14) Instrumentelle Kohlenhydrat-Sequenzierung:</p> <ul style="list-style-type: none"> - MALDI-TOF-MS-PSD, MALDI-MS- und PSD-Spektren.
<p>Lernergebnis/Kompetenzen</p> <p>1. Fachkompetenzen (subject-related competences):</p> <p>2. Fachunabhängige Kompetenzen (generic competences)ⁱ</p>	<p>1. Fachkompetenzen (Auswahl):</p> <ul style="list-style-type: none"> - Weitere Vertiefung des Verständnisses und der Kompetenz für die differenzierte Herangehensweisen bei chemischen und andererseits bei bioanalytischen Fragestellungen. - Know how zur Isolierung von Enzymen/Proteinen aus biologischen Matrices.

	<ul style="list-style-type: none"> - Theoretische und praktische Grundausbildung in Elektrophorese-Techniken zur Analyse von Proteinen. - Methodik und praktische Handhabung von Proteintrennungen mittels verschiedener biochromatographischer Trennsysteme. - Möglichkeiten und Potential von Trennmethoden und strukturanalytischen Methoden in der Protein- und KH-Analytik. <p>2. Fachunabhängige Kompetenzen:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Vertiefung des naturwissenschaftlichen, logischen und freien Denkens. - Aneignung praktischer und experimenteller Fähigkeiten. Verbesserung der Geschicklichkeit. - Erarbeitung und Perfektionierung interessanter und praxisrelevanter Versuche.
Notwendige Voraussetzung für die Teilnahme	Erfolgreiche Absolvierung der Module Analytische Chemie, Instrumentelle Bioanalytik.
Status	Pflichtmodul
Module, die im Austausch für dieses Modul anerkannt werden	keine
Häufigkeit des Angebotes	nur im Sommersemester
Literatur	<p>Gey, Manfred: „Instrumentelle Analytik und Bioanalytik“; 2008, Verlag: Springer, (ISBN 978-3-540-73803-9).</p> <p>Lehninger et al.: Biochemie; Verlag: Springer.</p> <p>Lottspeich et al.: Bioanalytik; Verlag: Spektrum.</p> <p>Müller-Esterl: Biochemie; Verlag: Elsevier.</p> <p>Otto, Matthias: „Analytische Chemie“, Verlag: Wiley-VCH.</p> <p>Stryer: Biochemie; Spektrum Akademischer Verlag.</p>
Verantwortlich für den Inhalt:	Prof. Dr. rer. nat. habil. Manfred H. Gey
Bei Änderung des Moduls Info an:	Studiengangsbeauftragter für den BS-Studiengang Biotechnologie.
Letzte Änderung:	14.09.2008
Zugehörige Studienordnung:	BS-Studiengang Biotechnologie.