

Prüfung
**529-0041-00S Moderne Massenspektroskopie,
gekoppelte Analysenmethoden, Chemometrie
Winter 2011/2012**

Vorname: Name:

- Es sind alle Aufgaben zu lösen. Jede Aufgabe wird separat benotet.
- **Zeit: 60 Min.**
- Es sind alle Hilfsmittel mit Ausnahme von Computern und Telekommunikation erlaubt.
- Unleserliche Texte, unklare Formulierungen oder unsaubere Skizzen können nicht bewertet werden. Bitte bemühen Sie sich um eine saubere Darstellung.
- Beginnen Sie jede Aufgabe auf einem neuen Blatt und schreiben Sie jedes abzugebende Blatt einzeln mit Ihrem Namen und Vornamen an.
- Dieses Deckblatt ist ausgefüllt abzugeben. Die Aufgabenstellung ist ebenfalls einzureichen.
- Wir bitten Sie um Fairness und wünschen Ihnen viel Erfolg!

Aufgabe:

Eine in der Vorlesung behandelte massenspektrometrische Methode wurde benutzt, um in Cryo-Dünnschnitten von Schilddrüsengewebe in situ Proteomics Analysen zu machen. Dabei ging es um eine bildgebende Messung der Verteilung des Thyroglobulins, ein iodhaltiges Glycoprotein mit einer Masse von ≈ 660 kDa. Zur Identifikation wurden tryptische Peptide herangezogen, wobei die Analyse des Gewebes (Abbildung, Spektrum B) mit einer käuflichen Referenzprobe von Thyroglobulin (Abbildung, Spektrum A) verglichen wurde.

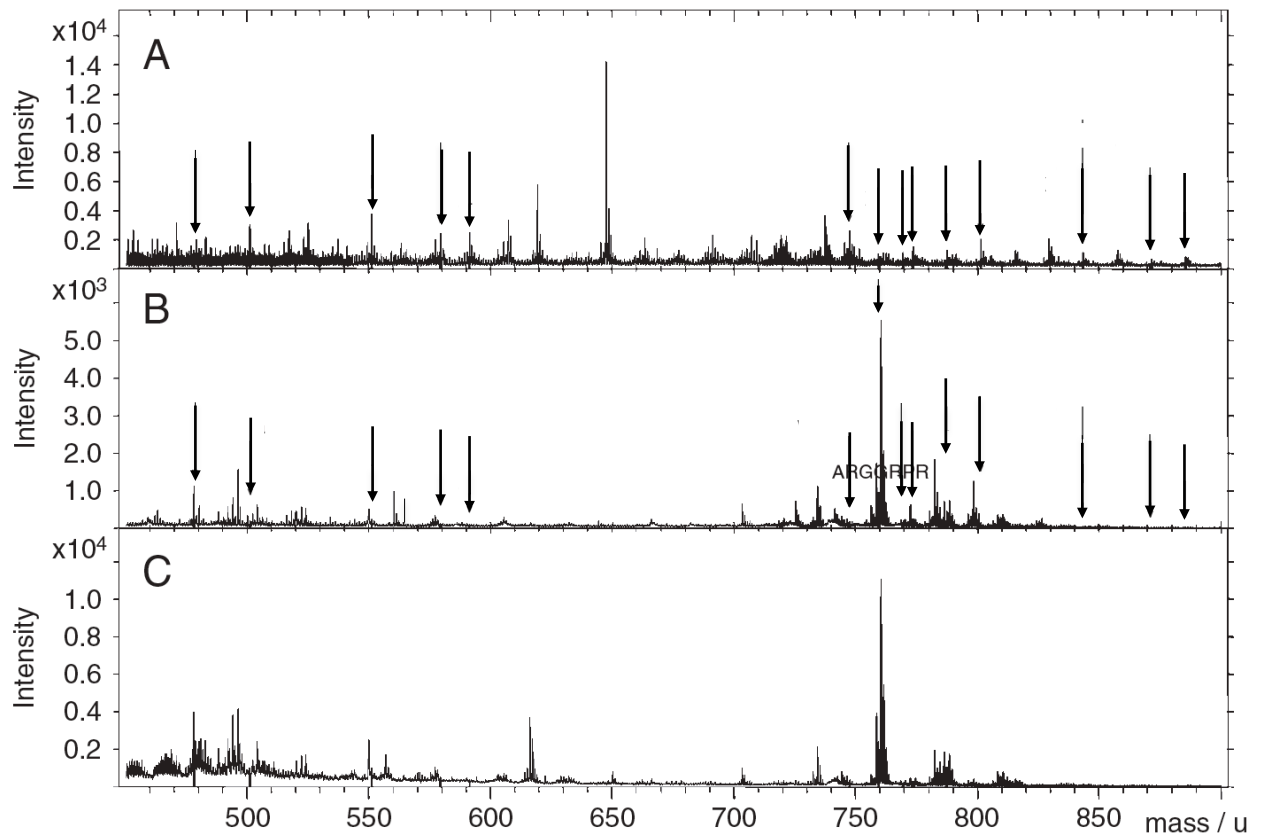


Abbildung: Hochaufgelöste Massenspektren im Bereich $450 < m/z < 900$. (A) Referenzspektrum tryptischer Peptide, die aus Thyroglobulin (1 mg/mL) gewonnen wurden. (B und C) Hochaufgelöste Massenspektren eines Cryo-Dünnschnitts von Schilddrüsengewebe. Aus H. Nygren and P. Malmberg, *Proteomics* 10 (2010) 1694 – 1698.

In der Abbildung wurden die Zuordnungen sämtlicher Peptid-Signale, die für die Identifikation von Thyroglobulin herangezogen wurden, abgedeckt.

Beantworten Sie die folgenden Fragen:

- A) Welche massenspektrometrische Methode kommt in Frage, um Bilder der Verteilung des Thyroglobulins in den Dünnschnitten mit einer räumlichen Auflösung von 3 μm zu messen? Begründen Sie Ihre Antwort.
- B) Die experimentell erreichte Massenauflösung betrug ≈ 6000 . Welche Art von Massenanalysator wurde vermutlich eingesetzt, um in Kombination mit dem bildgebenden MS-Verfahren aus Frage (a) diese Auflösung zu liefern? Begründen Sie Ihre Antwort.
- C) Wie würden Sie vorgehen, um die Dünnschnitt-Proben für die bildgebenden Proteomics-Analysen vorzubereiten?
- D) Ordnen Sie in den Massenspektren A oder B die folgenden tryptischen Peptide den entsprechenden Signalen zu: KFEK; LTGLSIR; ALFK+Na; RVVLQDR; LFRR; MQSLLGR+Na. Benutzen Sie dafür die untenstehende Tabelle. Tragen Sie die Zuordnungen direkt ins Spektrum ein und benutzen Sie Linien oder Pfeile, damit Ihre Zuordnungen eindeutig sind.

Aminosäure			Massendifferenz (Da)	Aminosäure			Massendifferenz (Da)
Gly	G		57.02	Asp	D		115.03
Ala	A		71.04	Lys	K		128.09
Ser	S		87.03	Gln	Q		128.06
Pro	P		97.05	Glu	E		129.04
Val	V		99.07	Met	M		131.04
Thr	T		101.05	His	H		137.06
Cys	C		103.01	Phe	F		147.07
Ile	I		113.08	Arg	R		156.10
Leu	L		113.08	Tyr	Y		163.06
Asn	N		114.04	Trp	W		186.08

- E) Erklären Sie kurz die Vorgehensweise, wie man mit derselben Proteomics-MS-Methode unbekannte Proteine identifizieren könnte.
- F) Das Signal bei $m/z \approx 646$ im Spektrum A (der Referenzprobe) stammt nicht von Thyroglobulin. Spekulieren Sie über den möglichen Ursprung dieses starken Signals!