

Massenspektrometrie: Unkonventioneller Einsatz

Enzyme bei der Arbeit filmen

Mittlerweile sind viele Gene entschlüsselt, doch die Arbeit um die Entschlüsselung molekularer Abläufe in Organismen hat damit erst begonnen.

Gene exprimieren unterschiedlichste Proteine, die wiederum eine Vielzahl von Metaboliten produzieren können. Die Identifizierung und Quantifizierung dieser Moleküle fasst man heute als »Proteomics« und »Metabolomics« zusammen. Zahlreiche Studien liefern eine wahre Flut an Information – zu der auch neue analytische Methoden beitragen, und hier besonders die Massenspektrometrie (MS). Proteomics und Metabolomics lassen sich durch die Untersuchung von Protein-Komplexen, Protein-Funktionen, enzymatischen Reaktionswegen und somit Entstehungsprozessen von Metaboliten eng miteinander verknüpfen. Man spricht konsequenterweise von funktioneller Proteomics. Auch hier nimmt die Bedeutung der schnellen und spezifischen massenspektrometrischen Techniken deutlich zu.

Seit Anfang 2003 benutzt die analytische Forschungsgruppe um Dr. Thomas Letzel am Lehrstuhl für Chemie der Biopolymere des TUM-Wissenschaftszentrums Weihenstephan (Prof. Dieter Langosch) mehrere MS-Anlagen, um Fragen der funktionellen Proteomics zu klären. Gleichzeitig dienen die an chromatographische Systeme (LC) gekoppelten MS-Geräte auch dazu, verschiedene organische Substanzen zu identifizieren und zu quantifizieren. Die bisher etwa zwei Dutzend TUM-intern durchge-

führten Kooperationen zeigen das immens zunehmende Interesse an dieser analytischen Technologie. Die Messungen werden nachts bzw. am Wochenende durchgeführt, was eine hohe Auslastung der teuren Geräte bedeutet und effektive Nutzung im Sinne einer effizienten Universität.

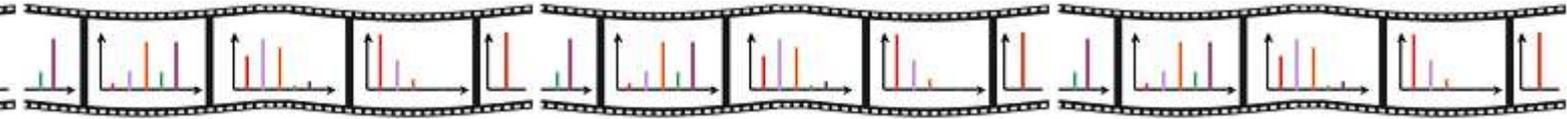
Die Forschungsschwerpunkte der Gruppe liegen jedoch in der unkonventionellen Nutzung der MS. So begann sie damit, enzymatische Reaktionen in Echtzeit zu bestimmen. Die Enzyme werden beispielsweise mit Ausgangssubstanzen und eventuell benötigten Kofakto-

Für alle Interessierten: Leicht verständliche Informationen zu Details der Massenspektrometrie und ihrer Anwendung im Bereich Proteomics hat Thomas Letzel in einem Kapitel des Buchs »Der Experimentator: Proteinchemie/Proteomics« von Hubert Rehm dargestellt (Elsevier Verlag; 5. Auflage, 2006).

ren gemischt und direkt in das Massenspektrometer gepumpt (meistens mit kontinuierlichen Flussraten von weniger als 0.01 ml pro Minute!). Die Ergebnisse kann man mit alten Kinofilmen auf klassi-

schen Filmrollen vergleichen. Das MS-Gerät trennt alle als Ionen auftretenden Moleküle auf – Masse gegen Ladung – und macht in bestimmten Zeitabständen, etwa jede Sekunde, ein Bild der Gesamtverteilung. Abertausende solcher aneinander gereihten Spektren ergeben einen Film, den sich der Analytiker am Monitor ansehen kann – und den er oft spannender findet als jeden Krimi.

Die Darstellung der zeitlichen Veränderung von Spektren (des Filmgeschehens) kann man auf einzelne Substanzen (Schauspieler oder Gegenstände) reduzieren. Im Beispiel Film: Angenommen, es wird die Heimkehr eines Forschers nach erfolgtem Tagwerk in seine Wohnung analysiert. Das gefilmte Gesamtbild (Gesamtgeschehen) zeigt, wie er seine Wohnung betritt, die Straßenkleidung ablegt und in seine Lieblingspantoffeln schlüpfte. Reduziert man nun das Gesamtbild, so würde man beispielsweise beobachten, wie der Hut vom Kopf (per Hand) auf die Hutablage gelangt, während gleichzeitig die Hausschuhe aus dem Schuhschrank an die Füße wandern. Da man gesehen hat, dass Straßenschuhe und Jacke abgelegt werden, kann man sich diese Prozesse ohne Einfluss der anderen Bilder erneut anzeigen lassen und isoliert betrachten. Ebenso kann man – ohne vorherige Kenntnis der genauen Handlung – den Hut oder die Hausschuhe »extrahieren« und so bewusst beobachten. Gleiches gilt auch für Filmhandlungen, die zunächst auf bloßen Vermutungen des Beobachters basieren und vielleicht nicht direkt aus der Szene zu erkennen sind – beispielsweise das Entnehmen des Geldbeutels aus der Hosentasche.



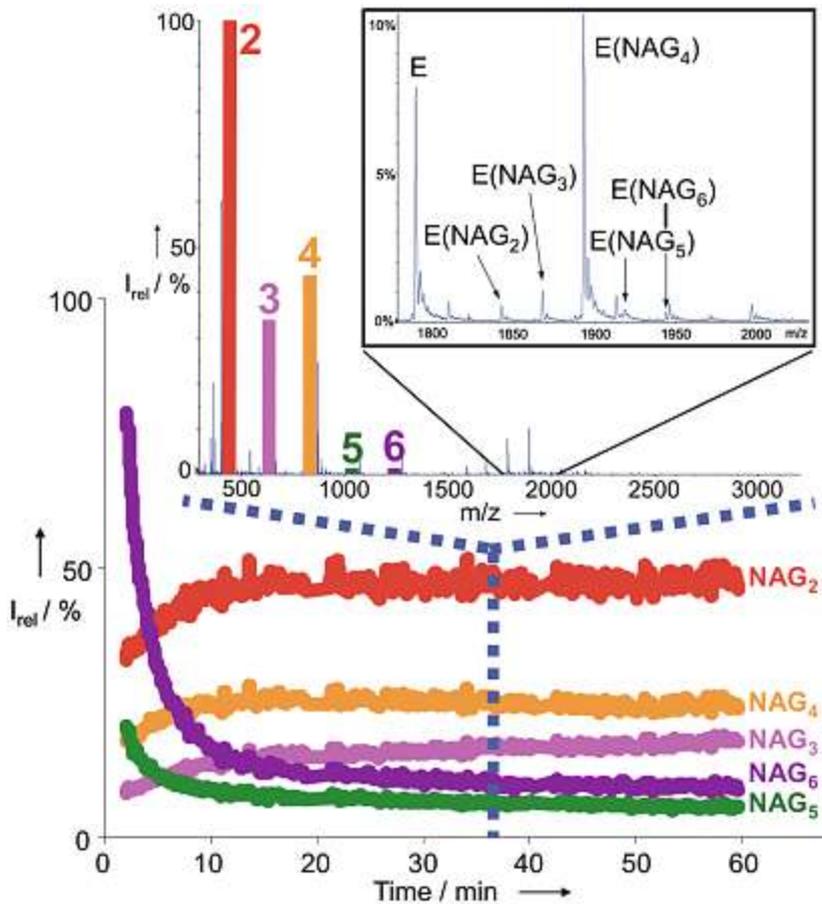
Ähnlich verhält es sich bei der MS-Untersuchung von Enzymen: Neben dem Gesamtbild und den erwarteten Molekülen, wie Ausgangssubstanz und bekannte Pro-

kürzlich von der Gruppe publiziertes Beispiel zur Untersuchung einer enzymatischen Hydrolysereaktion (*) verdeutlicht die einfache aber effektive Anwendung dieser »beob-

funktionelle Eigenschaften neuer Proteine »filmen«.

In einem größeren Forschungsvorhaben will die Arbeitsgruppe sich mit komplexeren Enzymmodellen und Proteinen mit teilweise unbekannt Funktionen beschäftigen. Erste Daten dafür liefert die Forschung von Dipl.-Leb. Chem. Nicole Denhart, die derzeit in der Letzel-Gruppe promoviert. Ihre Arbeit wurde zunächst von der Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der TUM finanziert und später durch den Bund der Freunde der TU München gefördert. Thomas Letzel wurde für seine Arbeiten kürzlich von der Gesellschaft Deutscher Chemiker ausgezeichnet (s. S.41).

Thomas Letzel



Zuckerabbau durch das Enzym Lysozym. Zu sehen ist der »Film« des Abbaus der Ausgangssubstanzen (NAG_6 und NAG_5), die Übergangprodukte (NAG_4) und der Aufbau der Endprodukte (NAG_3 und NAG_2). Herausgehoben ist eine Szene des Films mit dem »Gesamtgeschehen«: die bekannten Substanzen (2-6, links, farbig), unbekannte Substanzen, das Enzym (E) und in diesem Beispiel sogar Enzym-Komplexe, z. B. $\text{E}(\text{NAG}_2)$.

Dr. Thomas Letzel
Lehrstuhl für Chemie der Biopolymere
Tel.: 08161/71-3780
T.Letzel@lrz.tum.de

dukte, kann man neue, bisher unbekannte (Zwischen-)Produkte »extrahieren« und über die Zeit beobachten. Vorteil dieser Technik: Die parallele Aufzeichnung vieler »Szenen« bzw. Ionen bietet einen hohen Informationsgehalt und eine flexible Auswertung der Daten. Ein

achtenden« Technologie. Mit solchen Ansätzen lassen sich auch reaktionsunterdrückende Stoffe für bekannte Enzyme erkennen und

* Analytical and Bioanalytical Chemistry 386, 689-698 (2006)