

V435	Analyse von Proteinwechselwirkungen mit NMR-Spektroskopie			
	Analysis of Protein Interactions by NMR Spectroscopy			
Modulverantwortliche/r PD Dr. Bernd König (b.koenig@fz-juelich.de)				
Dozentinnen/Dozenten PD Dr. Bernd König, Dr. Philipp Neudecker, Dr. Silke Hoffmann				
Modulorganisation PD Dr. Bernd König (b.koenig@fz-juelich.de)				
Arbeitsaufwand 270 h	Leistungspunkte 9 CP	Kontaktzeit 120 h	Selbststudium 150	Dauer 1 Semester
Lehrveranstaltungen Praktikum: 6 SWS Vorlesung: 1 SWS Seminar: 1 SWS		Häufigkeit des Angebots Jedes Wintersemester		Gruppengröße 6 Studierende
Lernergebnisse/Kompetenzen Die Studierenden können die grundlegenden Konzepte der Lösungs-NMR-Spektroskopie, den prinzipiellen Aufbau eines Hochfeld-NMR-Spektrometers und die Einsatzmöglichkeiten der NMR in der Biologie erläutern. Sie können eigenständig NMR-Spektren aufnehmen, prozessieren und analysieren. Die Studierenden sind in der Lage, eine NMR-Titration zum Studium der Bindung eines Liganden an ein Protein zu planen, durchzuführen, auszuwerten und zu interpretieren. Sie können Proteinstrukturen aus experimentellen Daten berechnen, am Computer graphisch darstellen und die gefundene Bindungsstelle hervorheben. Die Studierenden dokumentieren präzise die durchgeführten Versuche, werten sie aus und diskutieren die Ergebnisse. Sie können ein gegebenes Thema unter Nutzung englischsprachiger Fachliteratur ausarbeiten und verständlich vortragen.				
Lehrformen Vorlesung, Praktikum, Seminar				
Inhalte <u>Vorlesung:</u> (1) Biologischer Hintergrund: Interaktion von HIV-1 Nef mit SH3-Domänen. (2) Allgemeine Grundlagen der NMR-Spektroskopie: Gepulste Fourier-Transformations-spektroskopie, Ein- und mehrdimensionale NMR-Spektroskopie, experimentell ermittelte Parameter (chemische Verschiebung, skalare Kopplung, dipolare Kopplung, Kern-Overhauser-Effekt - NOE), Hochfeld-NMR-Spektrometer (Aufbau). (3) NMR an Biomakromolekülen: Isotopenmarkierung und rekombinante Herstellung, Proteine als Biopolymere, zugängliche Informationen (räumliche Struktur, Dynamik, Wechselwirkungen). (4) Strategien zur Datenauswertung: Resonanzzuordnung, Ermittlung geometrischer Parameter, Molekulardynamische Strukturrechnung. (5) Analyse der Protein-Ligand-Interaktion mittels NMR: HSQC-Titration, Lokalisierung von Bindungsstellen, Austauschregime, quantitative Auswertung (Massenwirkungsgesetz, Bindungsmodelle, Bestimmung der gebundenen Fraktion des Liganden) <u>Seminar:</u> Die Grundlagen der NMR-Spektroskopie (Vektormodell, FT NMR, Pulsfolgen, Relaxation) und relevante NMR-Parameter (chemische Verschiebung, skalare Kopplung, NOE) werden vorgestellt und in Übungen vertieft. Jeder Teilnehmer hält einen Vortrag zu einem				

ausgewählten Aspekt der Lösungs-NMR-Spektroskopie auf Basis englischsprachiger Fachliteratur.

Praktikum:

Probenpräparation (Dialyse, Konzentrationsbestimmung, pH-Wert Einstellung), Aufnahme von ein- und mehrdimensionalen NMR-Spektren; Spektrenbearbeitung und Analyse (mit der Software *nmrPipe*) und Visualisierung (*nmrDraw*); Resonanzzuordnung mittels 2D- und 3D-NMR-Spektren (*CARA*); Durchführung zweier NMR-basierter Titrationsen der ¹⁵N-markierten Proteindomäne Hck-SH3 mit den Liganden (a) Nef-Peptid und (b) Nef-Core-Protein: Probenpräparation, Spektrenaufnahme und Auswertung; Quantitative Auswertung einer Titrationsreihe: iterative Zuordnung der HSQC-Spektren, Ermittlung der Datenpunkte für die Bindungsisotherme, Anpassung der Daten an geeignetes Bindungsmodell (*QtiPlot*) und Ermittlung der Dissoziationskonstanten; Berechnung der hoch aufgelösten räumlichen Struktur der Hck-SH3-Domäne auf Basis vorhandener experimenteller Strukturdaten (NOE-basierte Liste von Proton-Proton Abständen im gefalteten Protein) mit Hilfe der Molekulardynamik (*CYANA*); Visualisierung und Evaluierung der berechneten Proteinstrukturen (*MOLMOL*); Darstellung der Bindestelle des Nef-Peptids auf der Oberfläche der Struktur der Hck-SH3-Domäne

Teilnahmevoraussetzungen

Formal: Alle Module des Grundstudiums (1. – 4. Sem.) müssen absolviert sein

Inhaltlich: Biochemische Grundlagen zum Aufbau von Proteinen und Aminosäuren sowie die Konzepte der physikalischen Chemie zur Beschreibung des thermodynamischen Gleichgewichtes werden vorausgesetzt.

Prüfungsformen

Vorlesung:

- (1) Kompetenzbereich „Wissen“ (70% der Note): mündliche Prüfung über die Inhalte der Vorlesung und des Praktikums.
- (2) Kompetenzbereich „Dokumentation“ (20% der Note): Protokoll (Darstellung der Grundlagen, Beschreibung der Arbeitsschritte, Dokumentation und Diskussion der Ergebnisse)
- (3) Kompetenzbereich „Wissenschaftliches Präsentieren“ (10% der Note): Seminarvortrag (Stoff erarbeiten, Inhalte graphisch darstellen, vortragen, diskutieren)

Voraussetzungen für die Vergabe der Leistungspunkte für dieses Modul

- (4) Bestehen des Kompetenzbereiches Wissen.
- (5) Regelmäßige und aktive Teilnahme am Praktikum.
- (6) Protokoll, das die Anforderungen an eine wissenschaftliche Dokumentation erfüllt.
- (7) Halten eines Seminarvortrages, der mindestens den Minimalstandards genügt.

Zuordnung zum Studiengang

Bachelorstudiengang Biologie

Verwendung des Moduls in anderen Studiengängen

Bachelorstudiengang Biochemie

Stellenwert der Note für die Endnote

Die Note fließt entsprechend der Kreditpunkte (CP) gewichtet in die Gesamtnote ein (B.Sc. Biologie 9/155.5 CP; B. Sc. Quantitative Biologie 9/223 CP; B.Sc. Biologie^{PLUS International} 9/171.5 CP)

Unterrichtssprache: Deutsch

Sonstige Informationen

Das Modul wird zentral vergeben. Das Modul findet am Forschungszentrum Jülich statt (es verkehrt ein Shuttlebus zwischen der HHU Düsseldorf und dem FZ Jülich). Selbststudium vor Beginn des Moduls: Kapitel 17 „Magnetische Resonanzspektroskopie von Biomolekülen“, in: F. Lottspeich und J.W. Engels „Bioanalytik“, Spektrum Akad. Verlag, 2006