

Methodenpraktikum für Fortgeschrittene	Pflichtmodul	5 oder 7 CP
<i>Advanced methods in biochemistry and biophysics</i>		
Inhalte:		
<p>Das Praktikum besteht aus mehreren Experimenten, die ganztags in Gruppen von 2 Studierenden durchgeführt werden.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Strukturbestimmung eines Proteins mittels Lösungs-NMR. Die Studierenden erhalten eine Einführung in mehrdimensionale Spektroskopie an einem NMR Gerät. Anschließend werten sie 3D und 2D Spektren am Computer aus und berechnen die Struktur des Proteins. 2) Einführung in die Elektrophysiologie. Mit Hilfe der Elektrophysiologie lassen sich die elektrischen Eigenschaften von Zellen und den in der Membran sitzenden Proteinen untersuchen. Im Praktikum führen die Studierenden verschiedene Verfahren durch: „patch Clamp“ Experimente an eukaryotischen Zellen, 2-Elektroden-Voltage Clamp Versuche an <i>Xenopus laevis</i> Oozyten, elektrische Leitfähigkeitsmessungen an mit Bakteriorhodopsin besetzten „Black Lipid Membranen“ sowie Flash Photolyse Experimente mit Wildtyp-Bakteriorhodopsin und Mutanten. 3) Strukturermittlung von Lysozym mit Hilfe der Röntgenstrukturanalyse. Die Studierenden setzen Kristallisationsexperimenten an und isolieren anschließend die. Entstandenen Kristalle. Das Beugungsmuster wird mit Hilfe einer Röntgenquelle gemessen. Mit vorbereiteten Datensätzen wird die Struktur des Proteins mittels „Molecular Replacement“ gelöst. 4) Rekonstituierung eines Membranproteins: Es soll anhand eines typischen Membranproteins alle protein-biochemischen Arbeitsschritte durchgeführt werden die nötig sind, um Proben für weiterführende funktionale oder strukturbiochemische Studien herzustellen. Dies involviert Solubilisierung, Aufreinigung und Einbau in Liposomen. 5) Massenspektrometrie: Die Studierenden nehmen unter Anleitung MALDI- und ESI-Massenspektren von Peptiden und Proteinen auf. Anhand der Spektren erlernen die Studierenden die Interpretation der erhaltenen Daten, incl. der Sequenzbestimmung von Peptiden aus MS/MS-Daten. Mit vorbereiteten PMF-Spektren von enzymatischen Proteinrestriktionen (PMF = Peptide Mass Fingerprint) wird die Identifizierung von Proteinen mittels Datenbanken erlernt. <p>Vertiefung A: Einführung in die FK-NMR. FK-NMR ist eine wichtige Methode für das Studium nichtlöslicher Proteine (Fibrillen, Membranproteine). In diesem Versuch lernen die Studenten die wichtigsten Grundzüge von MAS-NMR und lernen anisotrope Wechselwirkungen zu verstehen. Sie werden in einem kristallinen Tripeptid Zuordnungsexperimente durchführen und genaue Kern-Kern-Abstände messen und diese Daten mit denen der Kristallographie und Lösungs-NMR vergleichen. Die Datenauswertung erfolgt über Simulationen, so dass auch allgemeine Kenntnisse über das Wechselspiel zwischen theoretischen Vorhersagen und experimenteller Verifizierung vermittelt werden.</p> <p>Vertiefung B: Untersuchung der Entfaltungskinetik mittels „Stop Flow“ Verfahren. Für die Untersuchung schneller Kinetiken sind spezielle Verfahren notwendig. In diesem Praktikumsversuch wird Lysozym sehr schnell mit einer Harnstofflösung gemischt und die Entfaltung des Proteins wird mit Hilfe der Messung der zeitabhängigen Fluoreszenzintensität verfolgt.</p>		
Qualifikationsziele und Kompetenzen:		
Nach Absolvieren des Moduls können die Studierenden:		
<ul style="list-style-type: none"> • modernen biophysikalischen Methoden im Labor anwenden • für spezifische biophysikalische Fragestellungen die richtigen Techniken auswählen • relevante Daten exakt erfassen und Auswerten • erhaltene Ergebnisse korrekt darstellen und interpretieren 		
Angebotszyklus :	einmal pro Jahr	
Dauer des Moduls:	ein Semester	
Voraussetzung für die Teilnahme am Modul:	erfolgreich abgeschlossenes Modul Methoden zur Strukturbestimmung von Biomolekülen I	
(ggf.) Lehr- und Prüfungssprache:	Deutsch/Englisch	
Studiennachweise:	Protokolle zu den einzelnen Versuchsteilen	
Modulprüfung sowie Prüfungsform:	mündliche Abschlussprüfung (45 Min)	

	oder Klausur (120-180 Min)					
Voraussetzungen für die Vergabe der CP:	Bestehen der Abschlussprüfung und Testat aller Protokolle					
Herkunft des Moduls sofern nicht aus diesem Studiengang:						
Verwendbarkeit des Moduls in anderen Studiengängen:						
Organisatorisches:	Der Vertiefungsteil A und B ist optional. Es müssen entweder diese beiden zusätzlichen Versuche durchgeführt werden oder das C. elegans Praktikum im Zellbiologie Modul. Die CP werden entsprechend berechnet. Bei ausreichender Kapazität können auch beide Vertiefungsrichtungen belegt werden.					
Lehrveranstaltungen	Typ	SWS	Semester / CP			
			1	2	3	4
Fortgeschrittenen Praktikum BPC	Pr	4		5		
Vertiefung FK-NMR und Stop-Flow	Pr	2		2		
Studentische Arbeitsbelastung (in Zeitstunden):	Kontaktzeit			Selbststudium		
Fortgeschrittenen Praktikum BPC	120			30		
Vertiefung FK-NMR und Stop-Flow	40			20		
Gesamt	150/210					