

Boris Maček

Wissenschaftliche Grundlagen

Die Systembiologie verwendet analytische Methoden wie Genomik, Transkriptomik und Proteomik zur quantitativen Beschreibung der lebenden Zelle. Es wird angenommen, dass die Komplexität in der Richtung Genom-Transkriptom-Proteom zunimmt und die Funktion von Genen durch Untersuchungen von Proteinen, ihren Modifikationen und Interaktionen am besten ermittelt wird. Gel-freie und auf Massenspektrometrie (MS) basierende quantitative Proteomik hat einen maßgebenden Einfluss auf alle Biowissenschaften, insbesondere auf die Proteom-Analyse der zellulären Homöostase. Mit einfachem experimentellen Aufwand, basierend auf hochpräziser MS und leistungsstarker Bioinformatik, wird die Expression von tausenden Proteinen in einem einzelnen Experiment zuverlässig identifiziert und quantifiziert. Die Aussage erreicht fast die Tiefe von mRNA-basierten Genchips und hat das Potential zur Abbildung kleiner Proteome, z.B. der Hefe. Weiterentwicklungen von biochemischen Trennmethode und Anreicherungsverfahren ermöglichen die Analyse von Positionen posttranslationaler Modifikationen nach einem Stimulus. Daraus ergeben sich viele Hinweise auf eukaryotische und prokaryotische Signaltransduktionsmechanismen, die mit Genomik oder Transkriptomik nicht entdeckt werden können. Neueste MS-Methoden ermöglichen die Identifikation, Lokalisation und Quantifizierung zuvor unbekannter Modifikationen und darüber hinaus die Untersuchung von sich gegenseitig beeinflussenden Modifikationen in der Signaltransduktion.

Ziele

Das Proteome Center Tübingen (PCT) entwickelt bioanalytische Methoden für quantitative Peptid- und Proteinanalysen mittels Hochpräzisions-Massenspektrometrie und wendet diese auf verschiedene wissenschaftliche Fragestellungen der Biomedizin an. Diese Technologie wird am PCT unter anderem dazu verwendet, Ser/Thr/Tyr Proteinphosphorylierungen in Prokaryoten und Eukaryoten zu untersuchen, Substrate von Kinasen zu identifizieren, Genvorhersagen zu verbessern (mithilfe von Genomik-Daten) und Diagnose-Methoden auf Basis der Markierung von

Peptiden/Proteinen mit stabilen Isotopen zu entwickeln. Das PCT ist auch an wissenschaftlichen Kooperationen mit verschiedenen Institutionen in Tübingen beteiligt und bietet einen kostenpflichtigen Service zur Identifikation von Proteinen/Peptiden an.

Strategie

Die Kompetenz des PCT liegt vor allem in dem quantitativen Vergleich von Protein-expressionsprofilen mithilfe modernster Methoden und Instrumentation. Kürzlich verlagerte das PCT seinen Schwerpunkt in den Bereich der hochpräzisen, Peptid-basierten („shot-gun“), quantitativen Proteomik, die einen großen dynamischen Bereich in der Proteinidentifizierung ermöglicht. Die quantitativen Arbeitsschritte stützen sich hauptsächlich auf die Markierung von Zellen und Geweben mittels stabilen Isotopen (Abb 1.) und der

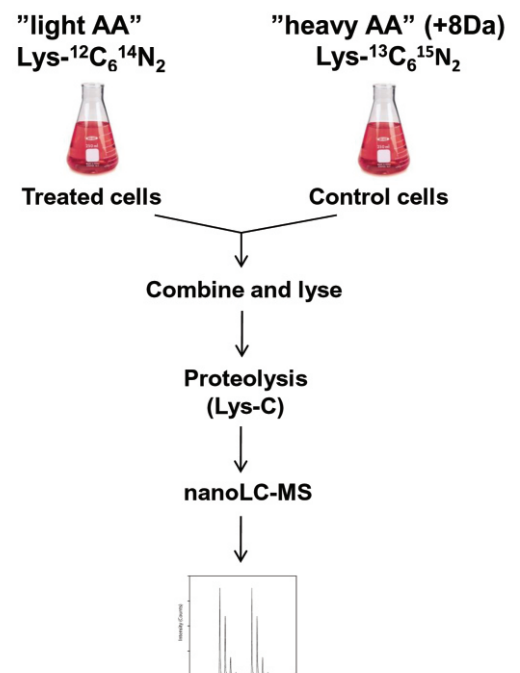


Abb. 1: Stable Isotope Labeling by Amino acids in Cell culture (SILAC)

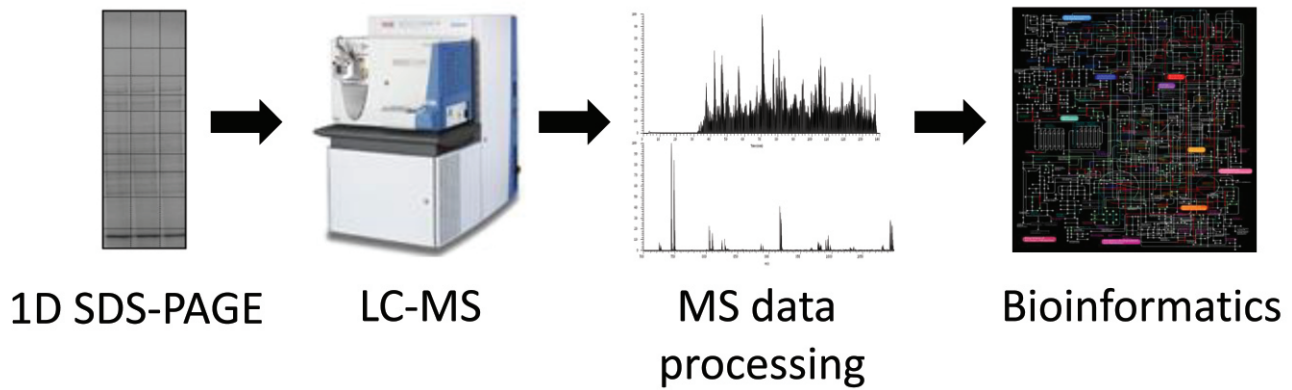


Abb. 2: "Shot-gun" proteomics workflow.

Analyse des gewonnenen Proteinextraktes in einem modernen LTQ-Orbitrap Massenspektrometer (Abb. 2). Darüber hinaus hat das PCT die notwendige Technologie und Expertise für verschiedene Peptid-Auftrennungsmethoden und für die bioinformatische Analyse komplexer Proteomik-Datensätzen.

agnostics tools based on peptide/protein labeling by stable isotopes. The PCT is involved in scientific collaborations with a range of institutions from the Tuebingen area and also offers protein/peptide mass spectrometry services against a fee.

Proteome Center Tuebingen

Proteome Center Tuebingen (PCT) was founded in 2003 as a part of the Interdepartmental Institute for Cell Biology (IFIZ) and it has since established and applied methods for quantitative comparison of protein expression profiles, using state-of-the-art methodology and instrumentation. PCT currently employs staff of 10 scientists and support personnel with core expertise in methods of protein analysis, such as different electrophoresis techniques and protein identification by mass spectrometry. PCT recently extended its expertise and shifted the emphasis to the workflows in the area of high accuracy peptide-based ("shot-gun") quantitative proteomics that enable high dynamic range of protein detection. The quantitative workflows are mainly based on stable isotope labeling of cells and tissues and measurements of resulting protein digests using state-of-the-art LTQ-Orbitrap mass spectrometry. In addition, PCT possesses considerable infrastructure and expertise for cell biology, protein/peptide separation technologies based on various analytical HPLC methods (strong cation exchange, reversed-phase chromatography, etc.), as well as bioinformatic analysis of shot-gun proteomics data. Among other topics, this technological platform is used at PCT in studies of Serine/Threonine/Tyrosine protein phosphorylation in prokaryotes and eukaryotes, refinement of raw genome sequences (together with genomics data) and development of di-

Projektleitung

Prof. Dr. Boris Maček

Eberhard Karls Universität Tübingen
 Interfakultäres Institut für Zellbiologie
 Auf der Morgenstelle 15
 72076 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071/29 70558
 Fax: 0049/(0)7071/29 5779

boris.macek@uni-tuebingen.de

www.proteom-centrum.de

