

Modul- „Moderne Methoden der Chemischen Biologie“

Themenübersicht der Praktikumsblöcke im neuen Masterpraktikum „Chemische Biologie für Fortgeschrittene“

Modulverantwortliche: Anne S. Ulrich und Christof M. Niemeyer

Block A: Biokonjugation für Chemische Biologie und Mikroanalytik

Christof M. Niemeyer

Qualifikationsziele:

Die Studierenden erhalten einen Überblick über Konzepte, Methoden und Anwendungen der Biokonjugation im Bereich der Chemischen Biologie und der Mikroanalytik. Sie kennen alternative Konzepte zur selektiven chemischen Modifizierung von Biomolekülen, insbesondere Proteine und Nucleinsäuren, und festen Substraten sowie typische Anwendungsbereiche von Biokonjugaten. Sie verstehen die Anforderungen an die chemische Synthese sowie das Design von Testverfahren (Assays) um solche Biokonjugate für die Untersuchung biologischer Fragestellungen einzusetzen und können ihr Wissen auf neue Fragestellungen übertragen. Im praktischen Teil werden typische Biokonjugationsverfahren für Proteine und Nucleinsäuren erlernt und auf modellhafte Oberflächen-basierte Assays zur Analyse von Proteinen und Nucleinsäuren angewendet.

Inhalt:

Grundlegende Konzepte der Chemischen Biologie; (kombinatorische) Synthese von Peptiden und Nucleinsäuren; (bio)orthogonale Ligationsverfahren; Oberflächenchemie; Mikroarray-Analytik; Antikörper-Wirkstoff-Konjugate; Ligand-induzierte Dimerisierung; Oberflächen-basierte Zell-Assays.

Vorlesung: 4 Doppelstunden

CN, IBG-1 (Geb. 601), Seminarraum 238

Praktikum: 3 Wochen, 20 Plätze

CN, IBG-1 (Geb. 601) Seminar- und Praktikumsraum

Literatur:

- Hermanson, G. T., Bioconjugate Techniques, Academic Press, San Diego 1998.
- Niemeyer, C. M., Bioconjugation Protocols: Strategies and Methods, Methods in Molecular Biology, Humana Press, Totowa, NJ 2004.
- Baldi, P., Hatfield, G. W., DNA Microarrays and Gene Expression: From Experiments to Data Analysis and Modeling, Cambridge University Press 2011.
- Schena, M., DNA Microarrays (Methods Express), Cold Spring Harbor Laboratory Press 2007.
- Weinrich, D., Jonkheijm, P., Niemeyer, C. M., Waldmann, H.; Applications of Protein Biochips in Biomedical and Biotechnological Research. Angew Chem Int Ed 48, 2009, p 7744.
- Chemical Biology. A Practical Course, H. Waldmann, P. Janning, Wiley-VCH, 1. Auflage, 2004.

Block B: Datenbanken und Bioinformatik-Tools

Claudia Muhle-Goll

Qualifikationsziele:

Die Studierenden werden in die Internet-Datenbankrecherche und Bioinformatik-Tools eingeführt. Genom-, Protein- und Metabolomics-Datenbanken und Methoden zur in silico Proteincharakterisierung werden vorgestellt. Im Praktikum werden die entsprechenden Techniken erläutert und an konkreten Beispielen angewandt.

Inhalt:

NCBI und ENSEMBL-Datenbank, Uniprot, KEGG, EXPASY, Blast-Sequenzvergleiche, multiple Sequenzvergleiche mit Clustal Ω und Phylogenie, Proteinstrukturmodellierung aufgrund von Homologie.

Vorlesung: 4 Doppelstunden

CN, IBG-2 (Geb. 352) Seminarraum 108

Praktikum: 1 Woche, 2* 15 Plätze

CN, IBG-2 (Geb. 352) Seminarraum 108

Literatur:

- Jean-Michel Claverie: Bioinformatics for Dummies

Block C: Kombinatorik

Ute Schepers

Qualifikationsziele:

Die Studierenden erhalten einen Überblick über Konzepte, Methoden und Anwendungen der kombinatorischen Synthese und Hochdurchsatztechniken im Bereich der Chemischen Biologie. Sie kennen alternative Konzepte zur Herstellung kleiner Molekülbibliotheken auf Basis der organischen Festphasensynthese, deren Markierung mit Fluorophoren und deren automatisiertes Screening in Zellen und im Tiermodell Zebrafisch. Sie erlernen bioorthogonale Reaktionen und deren Anwendung in vivo z.B. in der Markierung von Glykostrukturen.

Inhalt:

Grundlegende Konzepte der Chemischen Biologie; (kombinatorische) Synthese von kleinen Molekülen, Festphasenchemie, Markierungsstrategien; (bio)orthogonale Ligationsverfahren; Hochdurchsatz-Screeningverfahren, automatisierte Mikroskopie, Zebrafisch-Handling, Zellkultur, Robotik.

Vorlesung: 4 Doppelstunden

CN, IBG-1 (Geb. 601), Seminarraum 238

Praktikum: 3 Wochen, 20 Plätze

CN, ITG, (Geb. 316) Praktikumssaal/ Seminarraum

Literatur:

- A Miller, J. Tanner „Essentials of Chemical Biology“, Wiley
- B. Larijani, C.A. Rosser “Chemical Biology” Wiley
- H. Waldmann, P. Janning „Chemical Biology“ Wiley-VCH
- U. Schepers „RNAi interference in practice“ Wiley-VCH
- Niemeyer, C. M., Bioconjugation Protocols: Strategies and Methods, Methods in Molecular Biology, Humana Press, Totowa, NJ 2004.

Block D: Molecular Dynamics and Docking

Marcus Elstner, Tomas Kubar

Qualifikationsziele:

Die Studierenden werden in die Methodik der biophysikalischen Beschreibung der Struktur- und Strukturbildung von Biomakromolekülen (Proteine, DNA, RNA) eingeführt und in Modelle zu deren Verständnis, der Modellierung (Bioinformatik) und der Simulation.

Inhalt:

Einführung in die empirischen Kraftfeldmethoden, Energiebeiträge, Strukturminimierung Molekulardynamik (Thermostat, Barostat), Strukturbasierte Simulationen, Beschreibung von Bindungsvorgängen, Rezeptor-Liganden-Docking.

Vorlesung: 4 Doppelstunden

CS, Geb. 30.42, Raum 500

Praktikum: 2 Wochen, 12 Plätze

CS, Geb. 30.44, Raum 403 (Computerraum hinter 403)

Literatur:

- Leach: Molecular Modeling: Principles and Applications, Pearson Education, 2001.
- Jensen: Introduction to Computational Chemistry, Wiley, Chichester 2007

Block E: Hochauflösende NMR-Spektroskopie in der Chemischen Biologie

Burkhard Luy/ Claudia Muhle-Goll

Qualifikationsziele:

Die Studierenden werden in die Methoden der NMR-Spektroskopie zur Strukturaufklärung und Quantifizierung von organischen Molekülen eingeführt. Weiterhin lernen sie die Grundlagen zu Drug-Design und Ligandenscreening mit Hilfe der NMR-Spektroskopie kennen. Eine Einführung zur NMR-Spektroskopie an Proteinen wird gegeben. Neben der Vermittlung von Grundlagenwissen soll die Vorlesung die Studierenden auf das gleichzeitig stattfindende Praktikum vorbereiten.

Inhalt:

Einführung in die NMR-Strukturaufklärung im Hinblick auf Konstitution, Konfiguration und Konformation; NOE-Distanzen, Karplusrelation, dipolare Restkopplungen und deren Anwendung; Grundlagen zu Metabolomics; Multivariate und andere Analyseverfahren; liganden- und rezeptorbasierte Detektion von Bindungsverhalten; Struktur-Aktivitäts-Beziehung mit Hilfe der NMR.

Vorlesung: 4 Doppelstunden

CS, Gebäude 30.42, Raum 500

Praktikum: 2 Wochen, 6 Plätze

CN, Gebäude 351, Seminarraum vom IBG-4 (Luy)

Literatur:

- H. Günther: NMR Spectroscopy, Basic Principles, Concepts, and Applications, Wiley-VCH, 2013.
- Lämmerhofer, Michael / Weckwerth, Wolfram: Metabolomics in Practice, Wiley VCH, 2013.
- Originalliteratur

Block F: Hyperpolarisierte NMR-Spektroskopie und Ligandenbindung

Benno Meier

Qualifikationsziele:

Die Studierenden erhalten Einsicht in die Messung des Bindungsverhaltens von kleinen Molekülen und Proteinen mittels der NMR Spektroskopie. Das Relaxationsverhalten von kleinen und großen Molekülen wird diskutiert, sowie die Änderungen im Relaxationsverhalten im Falle einer Bindung. Methoden zur quantitativen Bestimmung der Bindungsstärke werden diskutiert und angewandt. Schließlich lässt sich die Empfindlichkeit der Messungen erheblich durch Hyperpolarisation der Liganden steigern. Hierdurch lassen sich Materialaufwand und Messzeit minimieren. Die Hyperpolarisationsmethode der dynamischen Kernpolarisation wird vorgestellt und angewandt.

Inhalt:

Physikalische Grundlagen der Magnetresonanz, Relaxation in der Magnetresonanz, Quantitative Bestimmung des Bindungsverhaltens kleiner Moleküle an Proteinen, Hyperpolarisation

Vorlesung: 4 Doppelstunden

CN, IBG-2 (Geb. 352) Seminarraum 108

Praktikum: 3 Wochen, 6 Plätze

CN, IBG-4 (Geb. 351) Seminarraum 120

Literatur:

- M H Levitt, Spin Dynamics, Wiley 2008
- T D W Claridge, High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry, Elsevier, 2016
- A Gossert et al., NMR in drug discovery: A practical guide to identification and validation of ligands interacting with biological macromolecules, Prog Nucl Magn Reson Spectrosc, 2016 97, 82-125
- K Kouril et al., Scalable dissolution-dynamic nuclear polarization with rapid transfer of a polarized solid, Nat Commun, 2019 10, 1733
- K Kouril et al., A cryogen-free, semi-automated apparatus for bullet-dynamic nuclear polarization with improved resolution, Magn Reson, 2021 2, 815

Block G: Strukturaufklärung in Membranen

Stephan Grage und Erik Strandberg (LS Biochemie, Anne S. Ulrich)

Qualifikationsziele:

Die Studierenden werden in die biologische Bedeutung und in die grundlegenden Techniken zur Aufklärung von Protein-Lipid-Wechselwirkungen eingeführt. An Beispielen wie der Membranbindung, Porenbildung, oder Amyloid-Aggregation werden Grundlagen und Methodik chiraloptischer und fluoreszenzspektroskopischer Techniken zur Charakterisierung von Biomakromolekülen vermittelt. Das zugehörige Praktikum beinhaltet die Probenpräparation relevanter Peptide in Membran-imitierenden Umgebungen, ihre Messung im CD- bzw. Fluoreszenz-Spektrometer.

In der Vorlesung werden die Studierenden verschiedene Methoden der Festkörper-NMR kennenlernen, um 3D-Strukturen von membranständigen Peptiden und Membranproteinen zu bestimmen. Im Praktikum wird der theoretische Hintergrund wichtiger Festkörper-NMR Techniken erklärt, sowie Probenvorbereitung, Durchführung und Daten-Auswertung vermittelt.

Inhalt:

Physikalische Grundlagen chiraloptischer und fluoreszenzspektroskopischer Methoden, Membranbindung, Konformations- und Orientierungsanalyse, Porenbildung, Translokation, Amyloid-Aggregation, Liposomen-Technologie, *in-vitro*- und *in-vivo*-Techniken, High-Throughput Screening, Sekundärstrukturanalyse, Peptidorientierung, fluorimetrische Funktionsassays.

Isotopenmarkierung, Rekonstitution von membranaktiven Peptiden in Lipiddoppelschichten und Vorbereitung von orientierten NMR Proben, Methoden der Festkörper-NMR zur Bestimmung von Molekülorientierungen, intermolekularen Abständen und molekularer Dynamik, fortgeschrittene Festkörper-NMR Techniken wie 2-dimensionale NMR und „magic angle spinning“

Vorlesung: 4 Doppelstunde

CN, IBG-2 (Geb. 352), Seminarraum 108

Praktikum: 2 Wochen, 5 Plätze

CN, IBG-2 (Geb. 352), Seminarraum 108

Literatur:

- G. D. Fasman (ed.): Circular Dichroism and the Conformational Analysis of Biomolecules, Plenum Press, N.J., 1996.
- Comprehensive Chiroptical Spectroscopy, Two volume set. Edited by N. Berova, P. L. Polavarapu, K. Nakanishi, and Robert W. Woody. John Wiley & Sons, Hoboken, 2012.
- Lakowicz, Principles of Fluorescence Spectroscopy, 3rd Ed., Springer, 2010
- J.M. Sanderson, Peptide–lipid interactions: Insights and perspectives. Organic & Biomolecular Chemistry. 3 (2005) 201-212.
- Wu, Y., H. W. Huang, and G. A. Olah. 1990. Method of oriented circular dichroism. Biophys. J. 57:797–806.
- K.A. Brogden, Antimicrobial peptides: Pore formers or metabolic inhibitors in bacteria. Nature Reviews Microbiology 3 (2005) 238-250.
- F. Madani et al., Mechanisms of cellular uptake of cell-penetrating peptides. Journal of Biophysics 2011 (2011), Article ID 414729.
- M. Levitt: Spin Dynamics
- M. Duerr: Solid-state NMR spectroscopy. Principles and Applications
- F. O. Stejskal and J. D. Memory: High resolution NMR in the solid state
- K. Schmidt-Rohr and H. Spiess: Multidimensional solid-state NMR in polymers

