

Complexome profiling

Neues Verfahren zur Analyse von Protein-Protein-Interaktionen

Proteine interagieren sehr häufig mit anderen Proteinen. Diese Interaktionen sind funktionell bedeutend und mehr oder weniger stabil. Stabile Zusammenlagerungen werden als Proteinkomplexe bezeichnet. Diese können, sofern sie in ausreichender Menge vorkommen, mittels biochemischer Verfahren aufgereinigt und charakterisiert werden. Schwieriger ist es, seltene Proteinkomplexe zu charakterisieren, ganz besonders solche, die

sich nur transient ausbilden und eher auf labilen Protein-Protein-Interaktionen basieren. In den vergangenen Jahrzehnten wurden für die Analyse labiler Proteinzusammenlagerungen genetische Verfahren entwickelt, beispielsweise das Yeast-two-hybrid-Verfahren. Alternativ werden Gene, die für interessierende Proteine kodieren, mit Zusatzsequenzen fusioniert, die für sogenannte Tags kodieren. Nachfolgend können die mit Tags ausgestatteten Proteine zusammen mit Interaktionspartnern angereichert werden. Diese Verfahren sind als sehr erfolgreich einzustufen, haben jedoch den Nachteil, dass die zu untersuchenden Proteine in modifizierter Form vorliegen und dass diese Modifikationen ihre Interaktionseigenschaften verändern können.

In jüngster Zeit wurde eine neue Methode entwickelt, mit der sich Protein-Protein-Interaktionen sehr empfindlich nachweisen lassen, ohne dass Proteine dazu modifiziert werden müssen: das Complexome profiling (Heide et al. 2012, *Cell Metab.* 16,538-49; Giese et al. 2015 *Bioinformatics* 31,440-441). Ausgangspunkt sind definierte zelluläre beziehungsweise subzelluläre Fraktionen. Die Proteine dieser Fraktionen werden unter nativen Bedingungen extrahiert. Um Membranproteine in die Analysen einzubeziehen, können milde nicht-ionische Detergenzien eingesetzt werden. Die interessierende Proteinfraction wird nun mittels einer Blau-nativen Gelelektrophorese im Größenbereich <50 bis >2000 kDa aufgetrennt (Abb.). Der resultierende Gelstreifen wird als nächstes horizontal in 50 bis 100 „Gelschnipsel“ zerschnitten. Nachfolgend werden alle Schnipsel mittels hochsensitiver quantitativer Proteinidentifizierungstechnologie analysiert (zunächst Fragmentierung der Proteine eines Gelschnipsels mit Hilfe einer Endoprotease, dann Auftrennung der Peptide des Peptidgemisches über eine Flüssigkeitschromatographie, schließlich



Deutsche Gesellschaft für
Proteomforschung e.V.

Termine

8. Mai 2018, Göttingen

DGPF-Minisympodium „Proteomics“

Identifizierung der Peptide mittels Massenspektrometrie). Es können hunderte Proteine pro Gelschnipsel nachgewiesen und quantifiziert werden. Typischerweise werden fast alle Proteine in mehreren Gelschnipseln gefunden, wenn auch in unterschiedlichen Mengen. Dadurch können Abundanzprofile für hunderte bis tausende von Proteinen entlang des nativen Gelstreifens dargestellt werden, die sich in Form einer Heatmap visualisieren lassen (Abb.). Werden diese Profile nun gemäß ihrer Ähnlichkeiten aneinander ausgerichtet, sind charakteristische Cluster sichtbar, die das Vorkommen von definierten Proteinkomplexen belegen.

Seit seiner Einführung wurde Complexome profiling bereits in mehreren Studien sehr erfolgreich eingesetzt, insbesondere in der Mitochondrienforschung (Heide et al. 2012 *Cell Metab.* 16, 538-49; Senkler et al. 2017, *Plant J.* 89, 1079-1092). Es konnten zahlreiche neue Protein-Protein-Interaktionen entdeckt werden. Auch für abundante und stabile Proteinkomplexe, die bereits biochemisch gut untersucht sind, ergaben sich neue Erkenntnisse, da niedrig-abundante Assemblierungsintermediate nachweisbar sind. Es besteht die Chance, dabei sogar Assemblierungsfaktoren zu finden, die nur an bestimmte Assemblierungsintermediate binden und ihre Zusammenlagerung zu reifen Proteinkomplexen katalysieren. Abgesehen von Untersuchungen an Mitochondrien wurde Complexome profiling erst vereinzelt eingesetzt. Das Potential dieser Methode für die proteinbiochemische Grundlagenforschung ist als sehr hoch einzustufen.

Prof. Dr. Hans-Peter Braun, Hannover

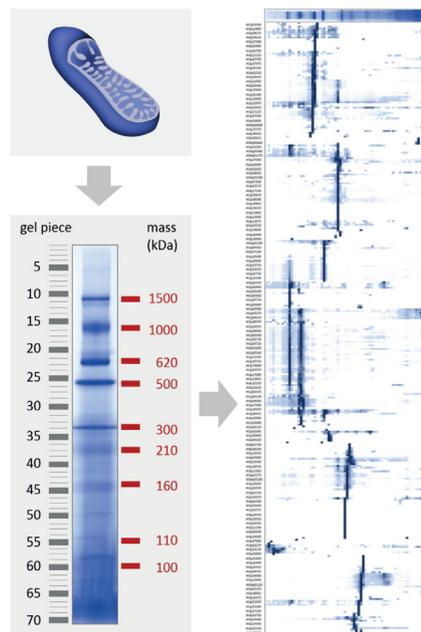


Abb.: Das Prinzip des Complexome profilings: Zunächst wird die interessierende zelluläre oder subzelluläre Fraktion aufgereinigt - hier die Mitochondrien - (oben links). Nachfolgend werden die Proteine der Fraktion mittels blau-nativer Gelelektrophorese aufgetrennt (unten links). Eine Spur des resultierenden Gels wird in horizontale „Gelschnipsel“ zerschnitten. Die in den Streifen vorhandenen Proteine werden abschließend mittels quantitativer Massenspektrometrie im sogenannten Shotgun-Modus identifiziert und ihre Abundanzen entlang des Gelstreifens in Form einer Heatmap visualisiert (rechts).

Abb.: Hans-Peter Braun, Hannover