

5 Zusammenfassung

In dieser Arbeit werden von mir neu entwickelte Strategien und Algorithmen vorgestellt, welche die Proteinidentifikation mittels MALDI-TOF-MS „*peptide mass fingerprinting*“ unter Verwendung einer externen Kalibrierung so weit verbessern, dass auf die Anwendung einer internen Kalibrierung gänzlich verzichtet werden kann. Die Algorithmen basieren auf der Beobachtung, dass die Variation in den bestimmten Flugzeiten der sich an unterschiedlichen Positionen auf dem MALDI-Probenträger befindlichen Peptide auf zwei systematische Fehler zurückführen lässt. Zum einen wird bei Wechsel der Position der Nullpunkt des Massenspektrums verschoben, das heißt alle Massen weichen danach um einen bestimmten konstanten Betrag von den vorherigen Werten ab. Zum anderen können die Massenspektren nach Wechsel der Position noch zusätzlich linear gestreckt oder gestaucht sein. Im ersten Fall wird jede einzelne gemessene Masse mit einem bestimmten für alle Massen gleichen Fehlerbetrag behaftet. Die Differenzen zwischen den einzelnen gemessenen Massen bleiben davon jedoch unberührt. Im zweiten Fall werden sowohl die Absolutwerte, als auch die Massendifferenzen verändert. Die Algorithmen erkennen diese systematischen Fehler und ermöglichen, auch wenn die Massenrichtigkeit der generierten Daten sehr gering ist, eine korrekte Identifizierung der analysierten Proteine.

Um Proteine eindeutig in großen Proteinsequenzdatenbanken zu identifizieren, wurde von mir ein Algorithmus entwickelt, der mit Hilfe der Parameter: Standardabweichung, Trefferanzahl und prozentualer Sequenzabdeckung für jedes Protein einen „*Scoring*“-Faktor Z berechnet. Mit diesem neu entwickelten „*Scoring*“-Verfahren konnten z.B. 52 von 96 gentechnisch hergestellten Proteinen ohne Eingreifen des Menschen eindeutig identifiziert werden. In keinem Fall wurde ein falsch-positives Ergebnis geliefert.

Weiterhin wurde von mir das Softwarepaket „MS-Proteomics“ entwickelt, das in kurzer Zeit vollautomatisch eine große Anzahl von massenspektrometrischen Datensätzen einliest, die Proteinidentifikation durch Abgleich mit einer in wenige Sekunden aus einer ausgewählten Proteindatenbank berechneten Peptidsequenzdatenbank durch Anwendung der oben erwähnten Algorithmen vornimmt und die Ergebnisse übersichtlich darstellt. Die Software liest darüber hinaus 2D-Gelbilder ein und weist den detektierten Proteinspots die Ergebnisse der Datenbanksuche automatisch zu.

Alle relevanten Ergebnisse wurden publiziert oder eingereicht zur Veröffentlichung in den anerkannten wissenschaftlichen Fachzeitschriften "Analytical Chemistry" und "Electrophoresis" (die entsprechenden Literaturhinweise finden sich Anhang). Eine Internetversion von MSA 2.0 wird nach Veröffentlichung dieser Arbeit unter <http://www.molgen.mpg.de/~mass-spec/msa20.html> der wissenschaftlichen Gemeinde zur Verfügung gestellt.

6 Summary

Within this work I present a new protein identification strategy that overcomes the need for performing internal or close external calibration in MALDI-TOF-MS peptide mass fingerprinting. The strategy is based on the observation that the variation of peptide flight times, when measured on different positions on the sample support, are systematic and affect mainly the linear components (offset and slope) of the correlation between m/z and the square of the flight time. Consequently, the mass errors obtained when using a single set of calibration constants, determined at one position of the sample support, to calibrate all other time-of-flight spectra recorded from that support, are also systematic. The developed search algorithm recognizes these systemic trends in the mass errors, thereby allowing protein identification even with a low mass accuracy of the input data.

For the retrieval of the correct protein in a database search, I have developed a new scoring algorithm, which uses the parameters: standard deviation, number of matching peptide masses and the sequence coverage of the protein to calculate the score for each protein. Using this algorithm it was possible to correctly identify 52 out of 96 recombinant proteins of known identity, without any false identification. Moreover, I implemented the above identification strategy and scoring algorithms in a software package designated "MS-Proteomics", which automatically reads many peptide mass maps in a short time and performs all calculations for protein identification. For protein identification from 2D-gel electrophoresis, MS-Proteomics also comprises a 2D-gel viewer that links the search results to its corresponding spots on the gel image. All relevant results have been published or submitted for publication in the peer-reviewed scientific journals "Analytical Chemistry" and "Electrophoresis" (references are part of the appendix).

In addition, some of the results have been presented at the 48th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, LA, California, USA, June 11-15, 2000. A web-based version of the program MSA 2.0 will be made available to the scientific community at <http://www.molgen.mpg.de/~mass-spec/msa20.html>, following publication of this thesis.

7 Literaturverzeichnis

1. R.K. Saiki, S.J. Scharf, F. Faloona, K.F. Mullis, G.T. Horn, H.A. Ehrlich N. Arnheim „PCR“, Science **1985**, 230, 1350-1354.
2. J. C. Venter et. al „*The Sequence of the Human Genome*“, Science **2001**, 291, 1304-1351.
3. Eric S. Lander, et al. „*Initial sequencing and analysis of the human genome*“, Nature **2001**, 409, 860 – 921.
4. D. Lockhart, E. Winzeler „*Genomics, gene expression and DNA arrays*“, Nature **2000**, 405, 827-836.
5. D.W. Selinger, K.J. Cheung, R. Mei, E.. Johansson, .C.S. Richmond, F. R. Blattner, J.D. Lockhart, G.M. Church „*RNA expression analysis using a 30 base pair resolution Escherichia coli genome array*“, Nat. Biotechnol. **2000**, 18, 1262-1268.
6. L. Anderson, J. Seilhamer „*A comparison of selected mRNA and protein abundances in human liver*“, Elektrophoresis **1997**, 18, 533-537.
7. S.P. Gygi, Y. Rochon, B. R. Franza, R. Aebersold „*Correlation between protein and mRNA abundance in yeast*“, Mol. Cell. Biol. **1999**, 19, 1720-1730.
8. V. Hatzimanikatis, K.H. Lee „*Dynamical analysis of gene networks requires both mRNA and Protein expression information*“, Metabolic Eng. **1999**, 1, 275-281.
9. V.C. Wasinger, S.J. Cordwell, A. Cerpa-Poljak, J.X. Yan, A.A. Gooley, M.R. Wilkins, M.W. Duncan, R. Harris, K.L. Williams, I. Humphery-Smith „*Progress with gene-product mapping the Mollicutes: Mycoplasma genitalium*“, Electrophoresis **1995**, 16, 1090-1094.
10. M.R. Wilkins, J.C. Sanchez, A:A. Gooley, R.D: Appel, I. Humphery-Smith and D.F. Hochstrasser „*Progress with proteome projects: why all proteins expressed by a genome should be identified and how to do it*“, Biotechnol. Genet. Eng. Rev. **1995**, 13, 19-50.
11. J. Klose, U. Kobalz „*Two-Dimensional electrophoresis of proteins: An updated protocol and implications for funtional analysis of the genome*“, Electrophoresis **1995**, 16, 1034-1059.
12. J. Klose, Humangenetik **1975**, 26, 231-243.

13. W.F. Patton „*Making blind robots see: the synergy between fluorescent dyes and imaging devices in automated proteomics*“, *BioTechniques* **2000**, 28, 944-957.
14. T.R. Covey, R.F. Bonner, B.I. Shushan, J. Henion, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1988**, 2, 249-256.
15. J.B. Fenn, M. Mann, C.K. Meng, S.F. Wong, C.M. Whitehouse, *Science* **1989**, 246, 64-71.
16. R.D. Smith, J.A. Loo, C.G. Edmonds, C.J. Barinaga, H.R. Udseth, *Anal. Chem.* **1990**, 62, 882.
17. M. Karas, F. Hillenkamp "*Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10,000 daltons*", *Anal. Chem.* **1988**, 60, 2299-2301.
18. F. Hillenkamp, M. Karas, R.C. Beavis and B. Chait "*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry of Biopolymers*", *Anal. Chem.* **1991**, 63, 1193-1203.
19. M. Karas, F. Hillenkamp "*UV Laser desorption of proteins up to 100,000 Daltons*", *Pres. At the 11th Int. Mass Spectrom. Conf. Bordeaux 29.Aug.-2.Sept.* **1988**.
20. L. Konermann and D.J. Douglas "*Acidinduced unfolding of cytochrome c at different methanol concentrations: electrospray ionization mass spectrometry specifically monitors changes in the tertiary structure*", *Biochemistry* **1997**, 36, 12296-12302.
21. M.O. Glocker, C. Borchers, W. Fiedler, D. Suckau and M. Przybylski "*Molecular characterization of surface topology in protein tertiary structures by amino-acylation and mass spectrometric peptide mapping*", *Bioconjug. Chem.* **1994**, 5, 583-590.
22. J. Gao, D.H. Yin, Y. Yao, H. Sun, Z. Qin, C. Schoneich, T.D. Williams and T.C. Squier "*Loss of conformational stability in calmodulin upon methionine oxidation*", *Biophys J.* **1998**, 74, 1115-1134.
23. A.N. Verentchikov, W. Ens and K.G. Standing "*Reflecting time-of-flight mass spectrometer with an electrospray ion source and orthogonal extraction*", *Anal. Chem.* **1994**, 66,126-133.
24. M. Wilm and M. Mann "*Analytical properties of the nanoelectrospray ion source*", *Anal. Chem.* **1996**, 68, 1-8.

25. M. Wilm, A. Shevchenko, T. Houthaeve, S. Breit, L. Schweiger, T. Fotsis and M. Mann "Femtomole sequencing of proteins from polyacrylamide gels by nano-electrospray mass spectrometry", *Nature* **1996**, 379, 466-469.
26. R. Zenobi and R. Knochenmuss "Ion formation in MALDI mass spectrometry", *Mass Spectrom. Rev.* **1998**, 17, 337-366.
27. B.A. Mamyrin, V.I. Karataev. and V.A. Zagulin "Mass-reflectron. Novii bezmagnitnii vremja-proliotnii mass-spectrometr s visokoi razreshaushei sposobnostju", *Sov. Phys. JETP* **1973**, 64, 82-89.
28. M. Guilhaus „Principles and Instrumentation in Time-of-flight Mass Spectrometry“, *J. Mass Spectrom.* **1995**, 30, 1519-1532.
29. M. Guilhaus, V. Mlynski and D. Selby „Perfect Timing: Time-of-flight Mass Spectrometry“, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1997**, 11, 951-962.
30. X. Tang, R. Beavis, W. Ens, F. Lafortune, B. Schueler and K.G. Standing "A secondary ion time-of-flight mass spectrometer with an ion mirror", *Int. J. Mass Spectrom. Ion Proc.* **1988**, 85, 43-67.
31. M.L. Vestal, P. Juhasz, A. Martin, "Delayed Extraction Matrix-assisted Laser Desorption Time-of-flight Mass Spectrometry", *Rapid Commun Mass Spectrom* **1995**, 9, 1044-1050.
32. R.S Brown and J.J Lennon "Mass Resolution Improvement by Incorporation of Pulsed Ion Extraction in a Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Linear Time-of-Flight Mass Spectrometer", *Anal. Chem.* **1995**, 67, 1998-2003.
33. K. Biemann "Mass spectrometry of peptides and protein", *Annu. Rev. Biochem.* **1992**, 61, 977-1010.
34. P. Roepstorff "Mass spectrometry in protein studies from genome to function", *Curr. Opin. Biotech.* **1997**, 8, 6-13.
35. C.E. Costello, "Time, life...and mass spectrometry", *Biophys. Chem.* **1997**, 68, 173-188.
36. A.L. Burlingame, R.K. Boyd and S.J. Gaskell "Mass Spectrometry", *Anal. Chem.* **1998**, 70, 647R-716R.
37. U.K. Lämmli „Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4“, *Nature* **1970**, 227, 680-685.

38. W.J. Henzel, T.M. Billeci, J.T. Stults, S.C. Wong, C. Grimley and C. Watanabe "*Identifying proteins from two-dimensional gels by molecular mass searching of peptide fragments in protein sequence databases.*", Proc. Natl. Acad. Sci. **1993**, 90, 5011-5015.
39. P. James, M. Quadroni, E. Carafoli and G. Gonnet "*Protein Identification by Mass Profile Fingerprinting.*", Biochem. Biophys. Res. Commun. **1993**, 1, 58-64.
40. M. Mann, P. Hojrup and P. Roepstorff "*Use of mass-spectrometric molecular-weight information to identify proteins in sequence databases.*", Biol. Mass Spectrom. **1993**, 22, 338-345.
41. M. Mann, M. Wilm, Anal. Chem. **1994**, 66, 4390-4399.
42. A. Shevchenko, M. Wilm, O Vorm, M. Mann, M. Anal. Chem. **1996**, 68, 850-858.
43. J.R Yates, J.K. Eng, A.L McCormack, Anal. Chem. **1995**, 67, 3202-3210.
44. J.R. Yates, S.F. Morgan, C.L. Gatlin, P.R. Griffin, J.K. Eng, Anal. Chem. **1998**, 70, 3557-3565.
45. D. Fenyö, Curr. Opin. Biotechnol. **2000**, 11, 391-395.
46. O.N. Jensen, A. Podtelejnikov, M. Mann, Rapid Commun Mass Spectrom. **1996**, 10, 1371-1378.
47. E. Nordhoff, H. Eickhoff, M. Horn, T. Przewieslik, V. Egelhofer, P. Giavalisco, D. Theiss, H. Lehrach, and J. Gobom "*Large-Gel 2-DE - MALDI-TOF-MS – An Analytical Challenge for Studying Complex Protein Mixtures*", Electrophoresis **2001**, accepted.
48. J. Gobom, M. Schuerenberg, M. Mueller, D. Theiss, H. Lehrach, E. Nordhoff, „ *α -Cyano-4-hydroxycinnamic Acid Affinity Sample Preparation. A Protocol for MALDI-MS Peptide Analysis in Proteomics*“, Anal. Chem. **2000**, ASAP Article, Web Release Date: December 28.
49. M. Schuerenberg, C. Luebbert, H. Eickhoff, M. Kalkum, H. Lehrach, E. Nordhoff, Anal. Chem. **2000**, 72, 3436-3442.
50. H. Rashidi, L.,K. Bühler „*Grundriss der Bioinformatik. Anwendungen in den Biowissenschaften und der Medizin*“, Spektrum Akad. Verlag **2001**.
51. A. Hansen „*Bioinformatik. Ein Leitfaden für Naturwissenschaftler*“, 2001, Birkhäuser, Biel-Benken.

52. M.L. Vestal, Proceedings of the 43rd ASMS conference of mass spectrometry and allied topics, Atlanta, Georgia **1995**, 195.
53. A. Ingendoh, M. Karas, F. Hillenkamp, U. Giessmann, Int. J. Mass Spectrom. **1994**, 131, 345.
54. V. Egelhofer „*Investigations for fast identification of proteins by means of mass-spectroscopically peptide mapping*“, Diplom-Arbeit, Freie Universität Berlin.
55. V. Egelhofer, K. Büssow, C. Luebbert, H. Lehrach, and E. Nordhoff, „*Improvements in protein identification by MALDI-TOF-MS peptide mapping*“, Anal. Chem. **2000**, 72, 2741-2750.
56. P.R. Baker, K.R. Klauser, **1995**, „<http://prospector.uscf.edu>“.
57. D.N. Perkins, D.J.C. Pappin, D.M. Creasy, J.S. Cotrell „*Probability-based protein identification by searching sequence databases using mass spectrometry data*“, Electrophoresis **1999**, 20, 3551-3567.
58. D.J.C Pappin, P. Hojrup and A.J. Bleasby "Rapid identification of proteins by peptide-mass fingerprinting.", Curr. Biol. **1993**, 3, 327-332.
59. W.Z. Zhang, B.T. Chait „*Profound – An expert system for protein identification using mass spectrometric peptide mapping information*“, Anal. Chem. **2000**, 72, 2482-2489.
60. L. Bretthorst In „*Maximum Entropy and Bayesian Methods*“, G. Eds. Heidbreder, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht the Netherlands **1994**.
61. W. Zhang, B.T. Chait „*Protein Identification by Database Searching: A Bayesian Algorithm*“, Proceedings of the 43rd ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Atlanta, Georgia, **1995**.
62. V. Egelhofer, J. Gobom, P. Giavalisco, H. Lehrach, and E. Nordhoff "Improvements in protein identification by MALDI-TOF-MS peptide mapping II", Anal. Chem. **2001**, submitted.
63. S. Holzner „*Java 2. Das Buch*“, Sybex-Verlag **2001**, Düsseldorf.
64. A. Solymosi, I. Schmiedecke „*Programmieren mit Java*“, Vieweg **2001**, Wiesbaden.
65. R. F. Stärk „*Java and the Java Virtual Machine. Definition, Verification, Validation*“, 2001, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

66. A. Bien „*Enterprise Java Anwendungen*“, Addison-Wesley **2001**.
67. F. Hawlitzek „*Java 2*“, Addison-Wesley **2000**.
68. C. S. Horstmann, G. Cornell „*Core Java 2 -Fundamentals*“, Prentice-Hall **1999**.
69. C. S. Horstmann, G. Cornell „*Core Java 2 – Advanced Features*“, Prentice-Hall **1999**.
70. G. Krüger „*Go To Java 2*“, Addison-Wesley **2000**.
71. D. Flanagan „*Java in a Nutshell*“, O'Reilly **2000**.
72. D. Flanagan „*Java Foundation Classes in a Nutshell*“, O'Reilly **2000**.
73. B. Eckel „*Thinking in Java*“, Prentice Hall **2000**.
74. Java™ 2 SDK, Standard Edition, Version 1.2.2_008, **2001**, „<http://javasun.com/jdk/1.2/>“.
75. K. Büsow, D.J. Cahill, W. Nietfeld, D. Bancroft, E. Scherzinger, H. Lehrach, G. Walter, Nucl. Acids. Res. **1998**, 26, 5007-5008.
76. K. Büsow, „*Arrayed cDNA expression libraries for antibody screening and systematic analysis of gene products*“, Dissertation **1998**, Freie Universität Berlin.
77. J. Gobom, M. Mueller, V. Egelhofer, Eckhard Nordhoff „*Improved mass accuracy in MALDI-TOF-MS peptide analysis*“, Anal. Chem. **2001**, submitted.
78. W. Dehnhardt „*Anwendungsprogrammierung mit JDBC. Datenbanken, Java, Client/ Server*“, Hanser Elektronik, **1999**.
79. V. Gruhn, A. Thiel „*Komponentenmodelle*“, Addison-Wesley, **2000**.
80. W. Rockwell „*XML, XSLT, Java und JSP Professionelle Web-Applikationen entwickeln*“, Galileo Press, **2000**.
81. J. Martin, J. Leben „*Client/Server Databases*“, Prentice-Hall, **1995**.
82. R. Orfali, D. Harkey „*Client/Server Programming with Java and COBRA*“, John Wiley & Sons, **1998**.
83. W.R. Cheswick, S.M. Bellovin „*Firewalls and Internet Security*“, Addison-Wesley, **1994**.

84. P. Roßbach, H. Schreiber „*Java Server und Servlets*“, Addison-Wesley, **1999**.
85. Java™ Servlet Technology „<http://java.sun.com/products/servlet/>“, **2001**.
86. B. Meyer „*Objektorientierte Programmierung*“, Hanser-Verlag, **1990**.
87. B. Stroustup „*The C++ - Programming Language*“, Addison-Wesley, **1997**.
88. H. Kredel, A. Yoshida „*Thread- und Netzwerk-Programmierung mit Java*“, dpunkt, **1999**.
89. D. Lea „*Concurrent Programming*“, Addison-Wesley, **1997**.
90. S. Kleiman, D. Shah, B. Smaalders „*Programming with Threads*“, Prentice-Hall, **1996**.
91. M. Ben-Ari „*Grundlagen der Parallelprogrammierung*“, Hanser-Verlag, **1984**.
92. S. Oaks, H. Wong „*Java Threads*“, O'Reilly, **1997**.
93. M. Weber „*Verteilte Systeme*“, Spektrum-Verlag, **1998**.
94. M. Boger „*Java in Verteilten Systemen - Nebenläufigkeit, Verteilung, Persistenz*“, dpunkt, **1999**.

Abkürzungen

2-DE	Zweidimensionale Gelelektrophorese
60SRP	60S Ribosomal Protein L7
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
AS	Aminosäure
CHCA	α -Cyano-4-hydroxizimtsäure
CJD	Creutzfeldt-Jakob-Krankheit
Da	Dalton
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DTT	Dithiothreitol
ESI	Elektrospray-Ionisation
ESI-MS	ESI- Massenspektrometrie
fmol	Femtomol
Hits	Trefferzahl
HSP	„Heatshock Cognate 71Kd Protein“
K ⁺	Kaliumkation
kDa	Kilodalton
MALDI	Matrix-assistierte Laserdesorption/Ionisation
MALDI-MS	MALDI- Massenspektrometrie
MB	„Megabyte“
MHZ	Megahertz
MOWSE	„MOlecular Weight Search“
mRNA	„messenger“ Ribonukleinsäure
MS	Massenspektrometrie
MTP	Mikrotiterplatte
MW	Molekulargewicht
m/z	dimensionsloses Verhältnis aus Zahl der Masseneinheiten zur Ladungszahl
Na ⁺	Natriumkation
NCBI	National Center for Biotechnology Information
ns	Nanosekunden
nm	Nanometer
PCR	Polymerasekettenreaktion
pmol	Picomol
PPG	Polypropylenglykol
PPM	„Parts per million“
σ	Standardabweichung
SDS-PAGE	Sodiumdodecylsulfat-Polyacrylamidgelelektrophorese
SC	„Sequence coverage“, Sequenzabdeckung
TFA	Trifluoressigsäure
TOF	„Time of Flight“, Flugzeit
U	Beschleunigungsspannung
μ	Mittelwert
v	Geschwindigkeit
Z	„Scoring“-Faktor

Aminosäuren

A	Ala	Alanin
C	Cys	Cystein
D	Asp	Asparaginsäure
E	Glu	Glutaminsäure
F	Phe	Phenylalanin
G	Gly	Glycin
H	His	Histidin
I	Ile	Isoleucin
K	Lys	Lysin
L	Leu	Leucin
M	Met	Methionin
N	Asn	Asparagin
P	Pro	Prolin
Q	Gln	Glutamin
R	Arg	Arginin
S	Ser	Serin
T	Thr	Threonin
V	Val	Valin
W	Trp	Tryptophan
Y	Tyr	Tyrosin

Publikationen

V. Egelhofer, K. Büssow, C. Luebbert, H. Lehrach, and E. Nordhoff, "Improvements in protein identification by MALDI-TOF-MS peptide mapping", *Anal. Chem.* **2000**, 72, 2741-2750.

V. Egelhofer, J. Gobom, H. Seitz, P. Giavalisco, H. Lehrach, and E. Nordhoff "Protein Identification by MALDI-TOF-MS peptide mapping: A New Strategy", *Anal. Chem.* **2002**, 74/8, 1760-1771 (Accelerated Article).

V. Egelhofer "Taking some of the "guesswork" out of protein identification ", Interview in *Anal. Chem.* **2002**, 74/9, 248A-249A.

E. Nordhoff, H. Eickhoff, M. Horn, T. Przewieslik, V. Egelhofer, P. Giavalisco, D. Theiss, H. Lehrach, and J. Gobom "Large-Gel 2-DE - MALDI-TOF-MS – An Analytical Challenge for Studying Complex Protein Mixtures", *Electrophoresis* **2001**, 22, 2844-2855.

F. Schmidt., A. Lueking, E. Nordhoff, J. Gobom, J. Klose, H. Seitz, V. Egelhofer, H. Eickhoff, H. Lehrach and D. Cahill "Generation of minimal protein identifiers of proteins from 2D gels and recombinant proteins", *Electrophoresis* **2002**, 23, 621-625.

J. Gobom, M. Mueller, V. Egelhofer, H. Lehrach, and E. Nordhoff „Improved mass accuracy in MALDI-TOF-MS peptide analysis“, Proceedings of the 49th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics **2001**, Chicago, California, USA, May 27 – 31.

P. Giavalisco, E. Nordhoff, V. Egelhofer, J. Klose, H. Lehrach and J. Gobom „Proteome analysis of *Arabidopsis thaliana*“, Proceedings of the 49th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics **2001**, Chicago, California, USA, May 27 - 31.

Poster Präsentation

V. Egelhofer, K. Büssow, C. Luebbert, H. Lehrach, and E. Nordhoff „Improvements in protein identification by MALDI-TOF-MS peptide mapping“, Proceedings of the 48th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics **2000**, LA, California, USA, June 11 - 15.

Diplom-Arbeiten

V. Egelhofer „*Biologische Untersuchungen zur Charakterisierung von Steroid-Dehydrogenasen*“, Diplom-Arbeit, Technische Fachhochschule Berlin **1995**.

V. Egelhofer „*Investigations for fast identification of proteins by means of mass-spectroscopically peptide mapping*“, Diplom-Arbeit, Freie Universität Berlin **1999**.

Software Entwicklungen

Datenbank Search engine MSA Version 0.99, frei zugänglich via „[http://www.molgen.mpg.de/~mass-spec/ASMS-Conference / msaProgram.htm](http://www.molgen.mpg.de/~mass-spec/ASMS-Conference/msaProgram.htm)“.

Datenbank Search engine MSA Version 2.0, frei zugänglich via „<http://www.scienion.de/msa>“.

Softwarepaket MS-Proteomics Version 1.0, komplette Client-Server Anwendung inklusive vollautoautomatischen Batchbetrieb, Protein-identifikation und interaktiven Ergebnisdarstellung.