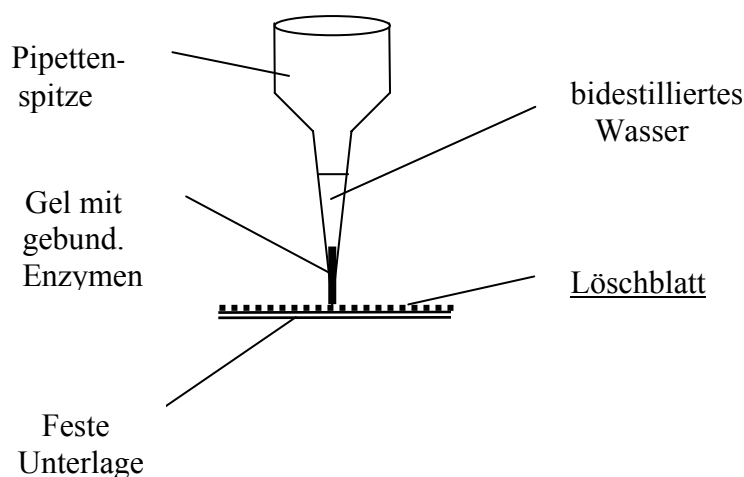


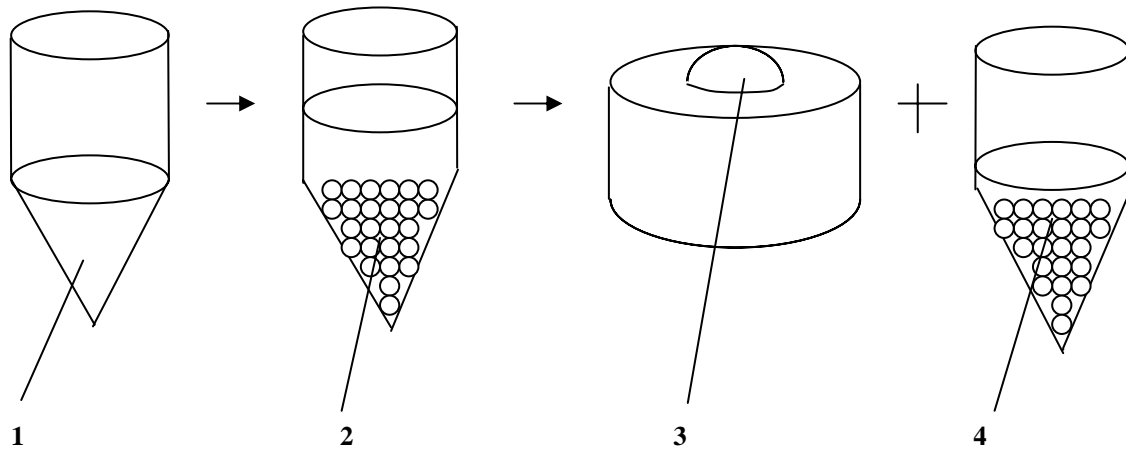
### 2.1.2 Die enzymatische Spaltung

Gelpartikel mit dem kovalent gebundenen Enzym werden mit der Spitze einer 10  $\mu\text{l}$  Pipette angesaugt und das Lösungsmedium wird aus der Pipette herausgepresst (siehe Abbildung 1). Dabei ist wichtig, dass an das untere Ende der Pipettenspitze ein Stück Löschpapier festgedrückt wird, damit die Gelkügelchen in der Pipettenspitze zurückbleiben. Dann wird bidestilliertes Wasser in die gleiche Pipettenspitze mehrmals hochgesaugt und immer wieder herausgedrückt, während man das untere Ende der Spitze ebenfalls an ein Blatt Löschpapier festgedrückt hält. Dadurch wird erreicht, dass Salze herausgespült und feste Gelpartikel mit dem immobilisierten Enzym in der Pipettenspitze zurückgehalten werden.



**Abb. 1 Reinigung von Enzymen**

Im Anschluß daran werden 2-5  $\mu\text{l}$  der Substanzprobe in ein Eppendorf-Gefäß pipettiert und mit einigen wenigen entsalzten immobilisierten Enzymen inkubiert. Nach der Inkubationszeit werden 0,5  $\mu\text{l}$  aus der Probe entnommen, wobei darauf geachtet wird, dass die an makroskopisch sichtbare Gelpartikel gebundenen Enzyme im Eppendorf-Gefäß zurückbleiben (Abbildung 2). Der entnommene Probenanteil wird mit Hilfe der MALDI-Massenspektrometrie untersucht.



**Abb. 2 Enzymatische Analytik:**

- 1: Probe
- 2: Probe mit an Gelpartikel gebundenen Enzymen
- 3: Probe ohne Enzyme für die MALDI-Analyse
- 4: Eppendorfgefäß mit gelgebundenen Enzymen und der Restprobe

Ein großer Vorteil dieser Methode besteht darin, dass man die restliche Substanzprobe weiterinkubieren lassen und auf diese Weise Zwischen- und Endprodukte einer spezifischen Enzymspaltung erhalten kann.