

3.2 Versuch zum Nachweis der enzymatischen Aktivität von immobilisierter NADase

Mit Hilfe vom Nicotinsäure-Adenin-Dinukleotid (NAD) konnte man die Aktivität der NADase testen, die ein Enzym zur spezifischen Spaltung des NAD darstellt. Die NADase war an CNBr-aktivierte Sepharose-Gelpartikel gebunden.

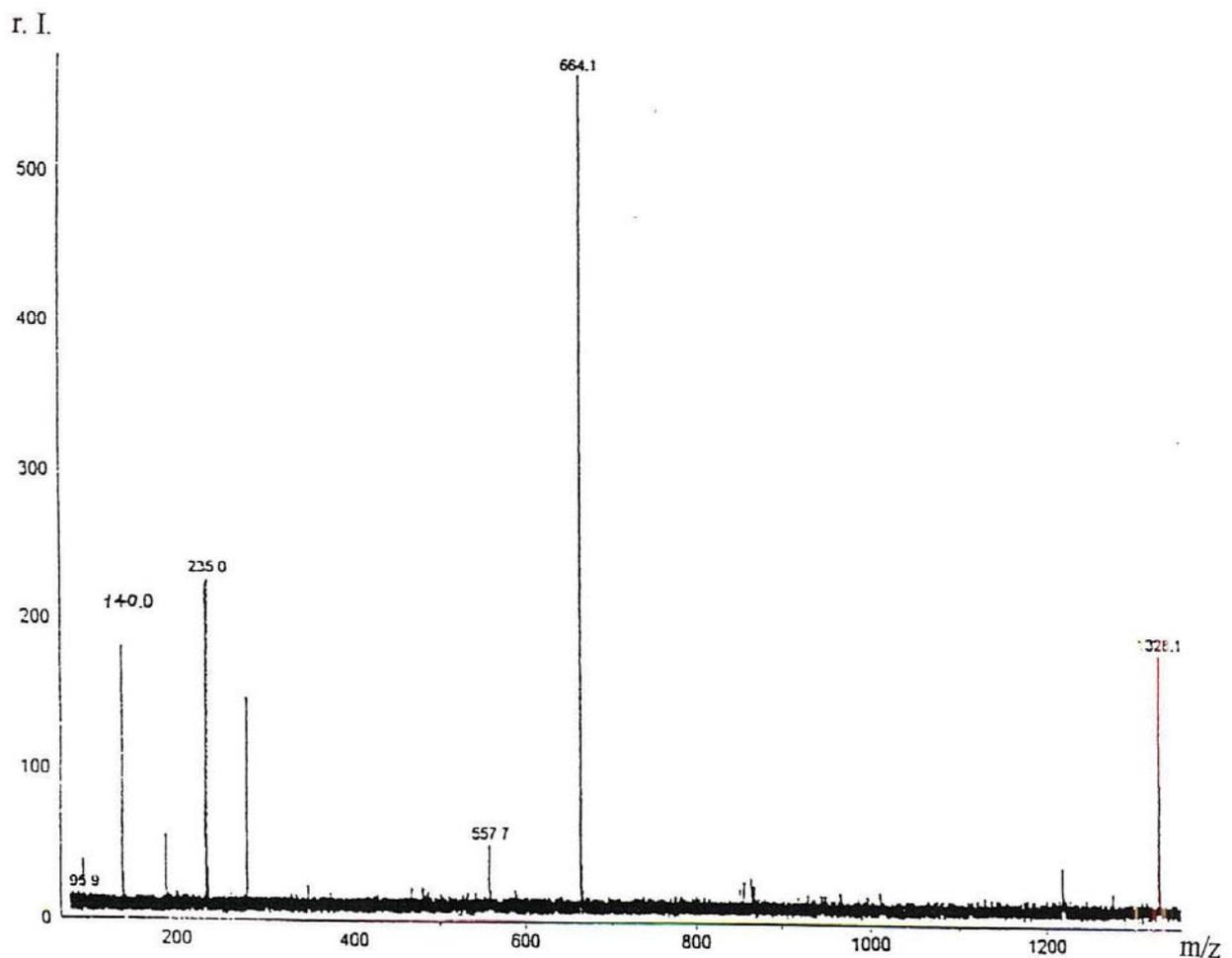


Abb. 10: MALDI-Massenspektrum von NAD vor der Inkubation mit der NADase

Abszisse: Massenzahl pro Ladung (m/z)

Ordinate: relative Intensität (dimensionslos)

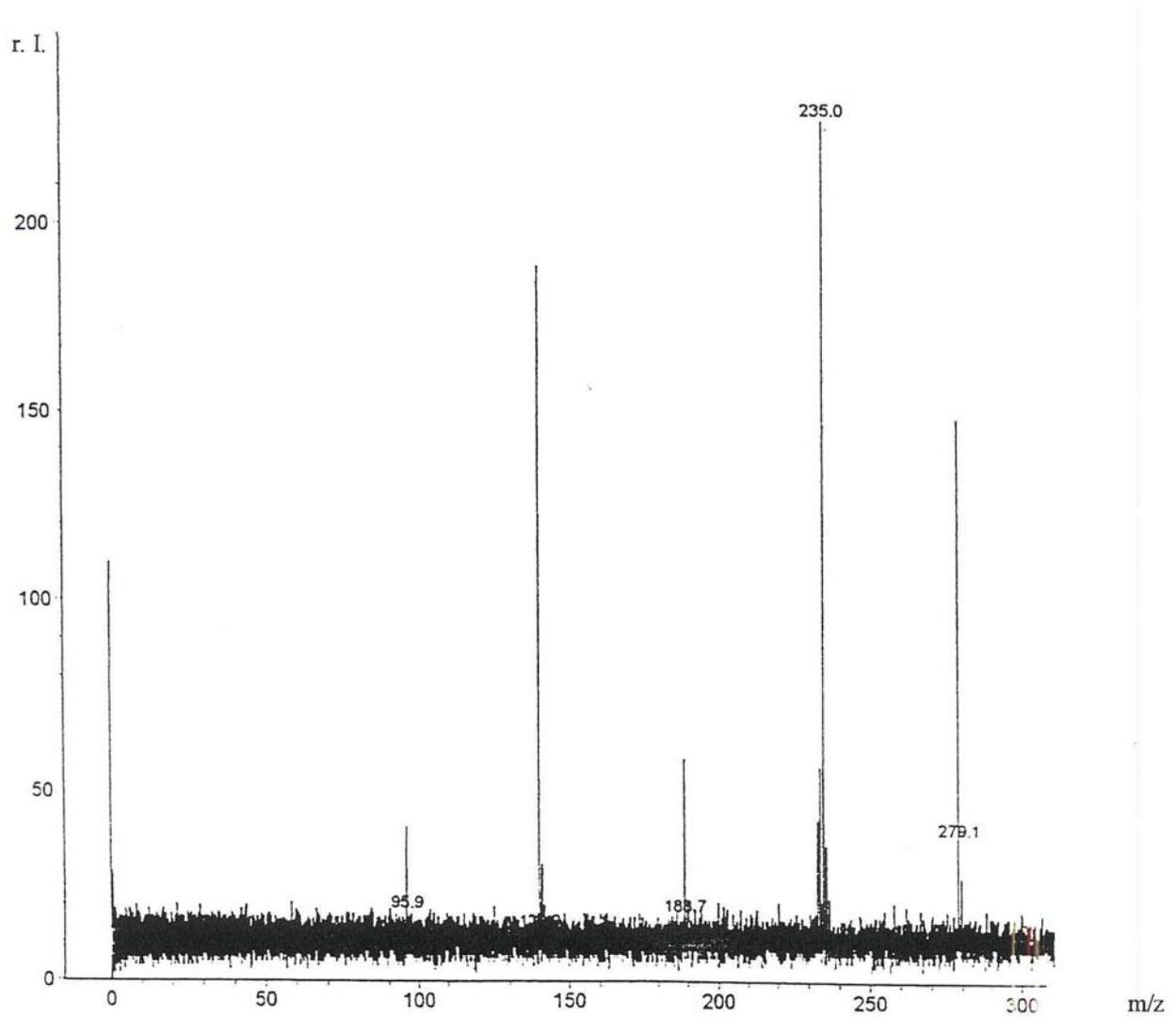


Abb. 11: Vergrößerter Ausschnitt aus dem MALDI-Massenspektrum von NAD

Abszisse: Massenzahl pro Ladung (m/z)

Ordinate: relative Intensität (dimensionslos)

Aus den Abbildungen 10 und 11 soll ersichtlich werden, dass vor der Inkubation mit der NADase das MALDI-Massenspektrum von NAD kein Nicotinamid-Signal enthielt. Das Molekulargewicht des Nicotinamid beträgt 122 Da.

In den nach der Enzyminkubation erhaltenen Spektren, die in den Abbildungen 12 und 13 dargestellt sind, ist der Nicotinamid-Peak vorhanden. Damit ist die Aktivität der NADase nachgewiesen.

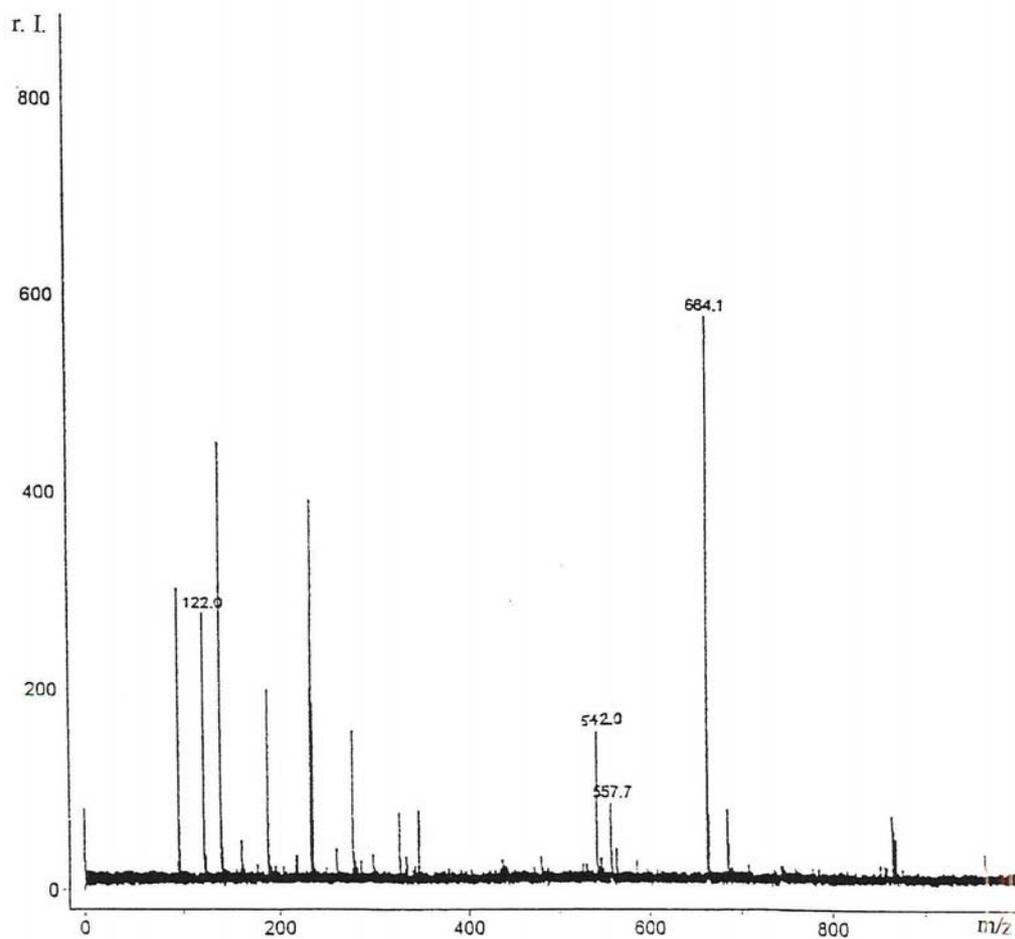


Abb. 12: MALDI-Massenspektrum des NAD nach der Inkubation mit der NADase.

Abszisse: Massenzahl pro Ladung (m/z)

Ordinate: relative Intensität (dimensionslos)

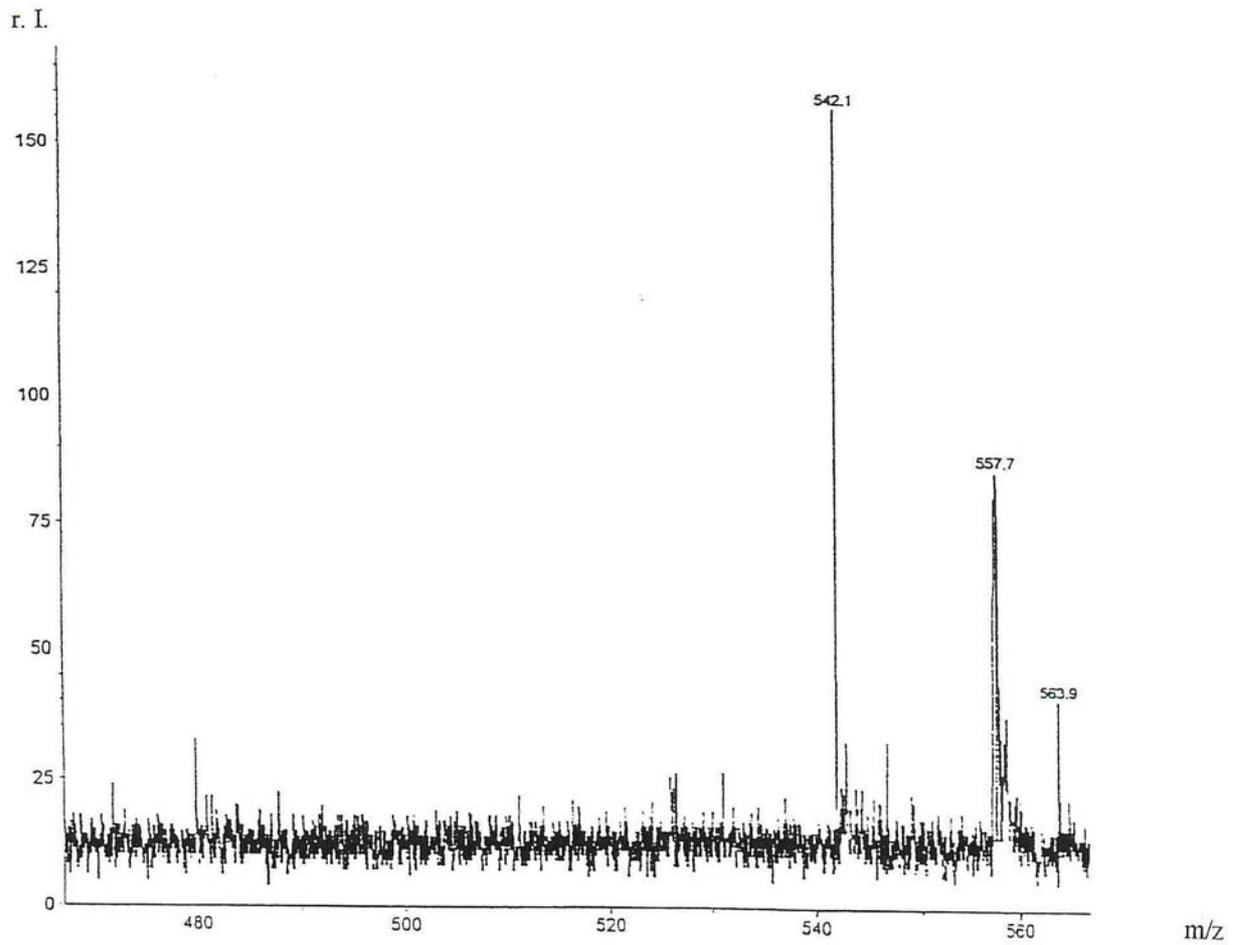


Abb. 13: Vergrößerter Ausschnitt aus dem MALDI-Massenspektrum des NAD nach der Inkubation mit der NADase.

Abszisse: Massenzahl pro Ladung (m/z)

Ordinate: relative Intensität (dimensionslos)

Die in den MALDI-Massenspektren von NAD vorgekommenen Signale werden nun tabellarisch dargestellt und interpretiert. Dabei werden alle Signale mit der Molekularmasse unter 300 Da, die durch das Einwirken des Laserimpulses auf die Matrix während des MALDI-Desorptionsprozesses zustande kommen, nicht mehr berücksichtigt. Zu ihrer Interpretation siehe Tabellen 1 und 2.

Masse des gemessenen Fragments $[M+H]^+$	Interpretation des gemessenen Fragments	Masse des berechneten Fragments $[M+H]^+$
557.7	4 HPA	557.0
664.1	NAD	664.4
1328.1	2 x NAD	1328.8

Tab. 3: Interpretation der Signale in den MALDI-Massenspektren der Abbildungen 10 und 11.

Masse des gemessenen Fragments $[M+H]^+$	Interpretation des gemessenen Fragments	Masse des berechneten Fragments $[M+H]^+$
122.0	Nicotinamid	122.0
542.1	NAD – Nicotinamid	542.4
557.7	4 HPA	557.0
664.1	NAD	664.4

Tab. 4: Interpretation der Signale in den MALDI-Massenspektren der Abbildungen 12 und 13.