

Melléklet

Fehérjék azonosítása során felmerült nehézség szemléltetése

A minták *Streptomyces griseus* fajtól származó fehérjéket tartalmazták. Ugyanakkor a *Streptomyces griseus* fehérje adatbázisa nem volt elérhető 2008 tavaszáig, és a rendelkezésre álló adatbázisok pedig nagyon hiányosak voltak az adott fajra nézve. A vizsgált mintáknak sem a PMF analízise, sem pedig a MALDI - ion-trap mérése során kapott CID (fragmentációs) spektrumok adatbázisban történő lekeresése sem vezetett találatokhoz. Ezt követte a CID spektrumok egyenkénti feldolgozása. A közel 20 CID spektrum adatbázisban történő egyenkénti lekeresése során sem kaptam szignifikáns találatot. Ezt követően a CID spektrumok további vizsgálódása történt, amelyek közül csak egy vezetett a fehérje azonosításához (*Streptomyces griseus* **Alpha-amylase precursor (1,4-alpha-D-glucan glucanohydrolase)**, NCBI#: [gi|231547](#), LOCUS: [P30270](#), MW: 59,7 kDa). Ugyanakkor erre a fehérjére a MALDI-TOF tömegspektrumban detektált jelei közül is csak három illett. A fenti fehérje *Streptomyces griseus* adatbázisban végzett BLAST lekeresése határozta meg azt a fehérjét ([SGR5280](#) **SGR5280 6213493 6215229 putative alpha-amylase** (578 aa)), amely a MALDI-TOF tömegspektrumban detektált jelek nagy részét már megmagyarázta (84%).

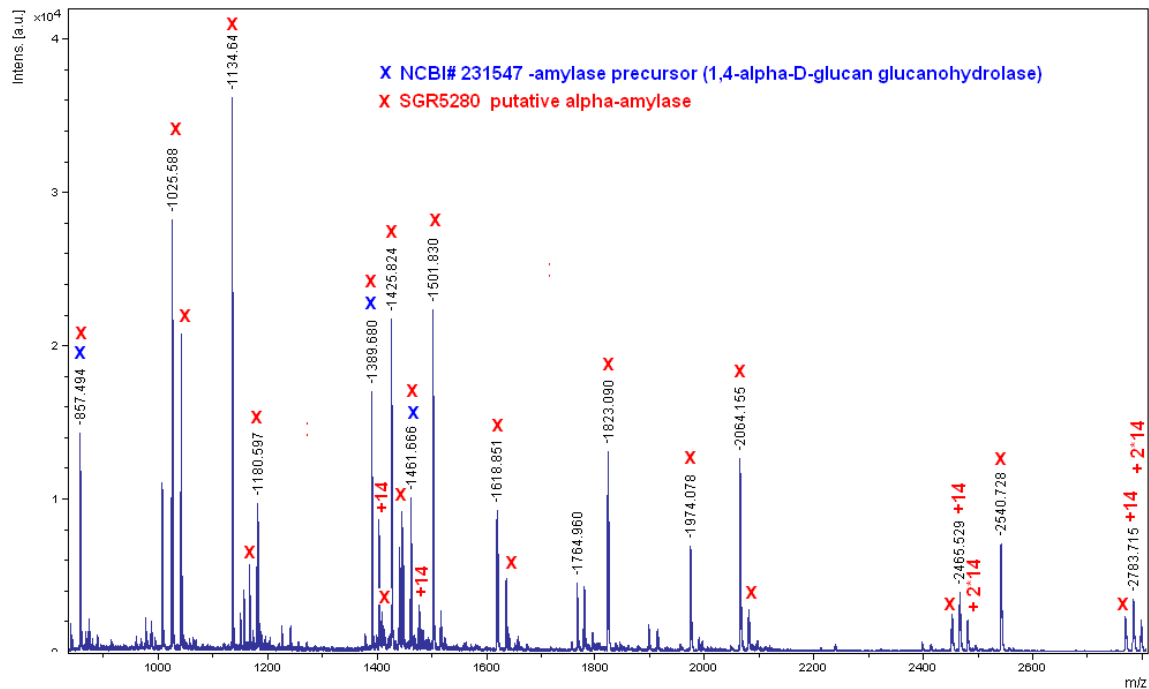
Mi volt az oka?

Nincs megfelelő homológ fehérje abban az adatbázisban, ahol a mérési adatok lekeresése történik/történhet.

Miért is?

Egy példán keresztül szeretném bemutatni:

Az **M - 1.** MALDI-TOF tömegspektrumban detektált jelek közül mely jeleket magyarázta meg az NCBI adatbázisban található fehérje, illetve ennek a *Streptomyces griseus* adatbázisban végzett BLAST lekeresése során kapott protein.



M-1. spektrum A putative alpha-amylase-t tartalmazó minta MALDI-TOF tömegspektruma.

Az NCBI adatbázisban lévő fehérje a MALDI-TOF tömegspektrumban detektált jelekből hármat magyarázott meg. A tömegeknek megfelelő szekvenciák az **M - 1. táblázat**ban láthatók.

Ugyanakkor ennek a fehérjének a *Streptomyces griseus* adatbázisban végzett BLAST lekeresése során meghatározott fehérje a detektált csúcsok 84%-át értelmezte, de a *három* jelnek megfelelő peptid közül *csak egy* volt egyértelműen megfeleltethető, azaz a két fehérjében teljesen azonos szekvenciájú. Az $m/z = 857.4$ tömeget az SGR5280 fehérje 2 szakasza is adhatja. Ezt mutatja a következő két táblázat (**M - 1.** és **M - 2. táblázat**), ahol a két fehérje által a fenti három tömegnek megfelelő szekvenciák láthatóak. **Kék** színnel jelöltem azokat a tömegeket, amelyekhez tartozó szekvenciák a két fehérjében teljes mértékben eltérnek, vagy pár aminosavban különböznek (de tömegük azonos), **piros** színnel azokat, amelyekhez tartozó szekvencia a két fehérjében teljes mértékben azonos.

NCBI# 231547					
m/z (mi)	módosítások	start	end	kihagyott hasítóhely	szekvencia
857.4952		89	96	1	(K)IAGRLGDR(A)
1389.6393		288	299	0	(K)SAVFVDNHDTER(G)
1461.6103		275	287	0	(K)NFGEDWGYMASGK(S)

M-1. táblázat

SGR5280					
m/z (mi)	módosítások	start	end	kihagyott hasítóhely	szekvencia
857.3835		365	370	0	(K)CQHAWR(E)
857.4952		95	102	1	(R)IAGRLGDR(A)
1389.6393		295	306	0	(K)SAVFVDNHDTER(G)
1461.6103	1Met-ox	282	294	0	(K)NFGEGWGFMESGK(S)

M-2. táblázat

Az M - 3. és M - 4. táblázatban találhatóak azok a tömegek, amelyek ugyan mindkét fehérje triptikus emésztése során keletkezhetnek és detektálhatóak lehetnének, de az adott tömegekhez rendelhető peptidek szekvenciája a két fehérjében kis (pl., m/z = 1461.6 és m/z = 2832.2), vagy teljes mértékben eltér (m/z = 857.4, m/z = 1863.8, m/z = 3178.7583). **Piros** színnel jelöltem azokat a peptideket, amelyek szekvenciája (a két fehérjére vonatkozólag) teljes mértékben azonos, **kék** színnel, amelyek szekvenciájában pár aminosav csere történt (de a tömeg az azonos maradt).

NCBI# 231547					
m/z (mi)	módosítások	start	end	kihagyott hasítóhely	szekvencia
857.4952		89	96	1	(K)IAGRLGDR(A)
867.4207		300	307	0	(R)GGDTLNYK(N)
1389.6393		288	299	0	(K)SAVFVDNHDTER(G)
1461.6103		275	287	0	(K)NFGEDWGYMASGK(S)
1863.0375		187	203	0	(R)IAAYLNDLLLGVDFR(I)
2238.0422		288	307	1	(K)SAVFVDNHDTERGGDTLNYK(N)
2832.2318		275	299	1	(K)NFGEDWGYMASGKSAVFVDNHDTER(G)
3178.5188		231	259	1	(K)QEAHGAEEVOPSEYLGTDVQEFRYAR(D)

M-3. táblázat

SGR5280					
m/z (mi)	módosítások	start	end	kihagyott hasítóhely	szekvencia
857.3835		365	370	0	(K)CQHAWR(E)
857.4952		95	102	1	(R)IAGRLGDR(A)
867.4207		307	314	0	(R)GGDTLNYK(N)
1389.6393		295	306	0	(K)SAVFVDNHDTER(G)
1461.6103	1Met-ox	282	294	0	(K)NFGEGWGFMEGK(S)
1863.8741		365	379	1	(K)CQHAWREISSMVGFR(N)
2238.0422		295	314	1	(K)SAVFVDNHDTERGGDTLNYK(N)
2832.2318	1Met-ox	282	306	1	(K)NFGEGWGFMEGKSAVFVDNHDTER(G)
3178.7583		5	40	1	(R)SLSAALALVAAAAAALVVPTGFGAAGTARAAAAPGDK(D)

M-4. táblázat

Az **M - 5. és M - 6. táblázat**ban azt szeretném bemutatni, hogy a kapott homológ fehérje [amelyek BLAST során meghatározott paraméterei: Identities = 455/566 (80%), Positives = 497/566 (87%)] triptikus peptidfragmensei milyen nagymértékben eltérnek. Így amennyiben a mérés során kapott tömeglista felhasználásával történik/ne a fehérje meghatározása (PMF), lehetetlenné válik a fehérje azonosítása abban az esetben, ha olyan adatbázisban történik a lekeresés, amiből hiányzik a megfelelő homológ fehérje. Azaz olyan fehérjét sem tudunk meghatározni, amit esetleg BLAST lekeresésre küldhetnénk a *Streptomyces griseus* adatbázisban.

NCBI# 231547					
m/z (mi)	módosítások	start	end	kihagyott hasítóhely	szekvencia
857.4952		89	96	1	(K)IAGRLGDR(A)
867.4207		300	307	0	(R)GGDTLNYK(N)
877.489		93	100	1	(R)LGDRAAFK(S)
989.4799		540	548	0	(K)AVWESGANR(T)
1011.4894		222	230	0	(K)VGNGSTYWK(Q)
1067.4752		154	162	0	(R)SEINDYGNR(A)
1159.6146		507	516	0	(K)LDPAAYPVWK(L)
1167.6191		209	219	0	(K)HMPAADLTAIK(A)
1183.614	1Met-ox	209	219	0	(K)HMPAADLTAIK(A)
1207.6358		35	44	0	(K)DVTAVLFEWK(F)
1210.6215		220	230	1	(K)AKVGNGSTYWK(Q)
1275.582		101	112	0	(K)SMVDTCHAAGVK(V)
1291.5769	1Met-ox	101	112	0	(K)SMVDTCHAAGVK(V)
1312.7008		264	274	0	(R)VFQENLAHLK(N)
1366.7511		209	221	1	(K)HMPAADLTAIKAK(V)
1382.746	1Met-ox	209	221	1	(K)HMPAADLTAIKAK(V)
1389.6393		288	299	0	(K)SAVFVDNHDTER(G)
1431.6975		535	548	1	(K)DAAGKAVWESGANR(T)
1461.6103		275	287	0	(K)NFGEDWGYMASGK(S)
1468.8019		263	274	1	(K)RVFQENLAHLK(N)
1471.8308		504	516	1	(R)ALKLDPAAAYPVWK(L)
1477.6053	1Met-ox	275	287	0	(K)NFGEDWGYMASGK(S)
1514.771		399	412	0	(K)AYVAINHEGSALNR(T)
1519.8155		517	530	0	(K)LDVPLAAGTPFQYK(Y)
1665.8993		204	219	1	(R)IDAAKHMPAADLTAIK(A)
1681.8942	1Met-ox	204	219	1	(R)IDAAKHMPAADLTAIK(A)

1692.8196		97	112	1	(R)AAFKSMVDTCHAAGVK(V)
1708.8145	1Met-ox	97	112	1	(R)AAFKSMVDTCHAAGVK(V)
1770.8414		358	372	0	(K)CQHAWPELSSMVGLR(N)
1777.9079		549	565	0	(R)TATVGTGALTLNDTWR(G)
1786.8363	1Met-ox	358	372	0	(K)CQHAWPELSSMVGLR(N)
1814.9144		396	412	1	(R)GDKAYVAINHEGSALNR(T)
1834.9294		549	566	1	(R)TATVGTGALTLNDTWRG(-)
1838.9799		35	50	1	(K)DVTAVLFEWKFASVAR(A)
1863.0375		187	203	0	(R)IAAYLNLLLLGVDGFR(I)
1899.8654		413	430	0	(R)TFQSGPLGGAYCDVQSGR(S)
1920.7527		138	153	0	(K)YDYPGIWGSADMDDCR(S)
1936.7476	1Met-ox	138	153	0	(K)YDYPGIWGSADMDDCR(S)
1952.064		517	533	1	(K)LDVPLAAGTPFOYKYLR(K)
2134.1655		185	203	1	(R)DRIAAYLNLLLLGVDGFR(I)
2238.0422		288	307	1	(K)SAVFVDNHDTERGDTLNYK(N)
2361.3177		187	208	1	(R)IAAYLNLLLLGVDGFRIDAAK(H)
2378.1405		113	137	0	(K)VVADSVINHMAAGSGTGTGGSAYQK(Y)
2394.1354	1Met-ox	113	137	0	(K)VVADSVINHMAAGSGTGTGGSAYQK(Y)
2433.1715		163	184	0	(R)ANVQNCVELVGLADLDTGEPYVR(D)
2491.1385		373	395	0	(R)NTASGQPVTNWWDNNGDQIAFGR(G)
2532.3053		431	457	0	(R)SVTVGSDGTFTATVAAGTALALHTGAR(T)
2629.4923		5	34	0	(R)LATASLAVLAAAATALTAPTAAAAAPPGA K(D)
2660.4123		507	530	1	(K)LDPAAYPVWKLDPVLAAGTPFOYK(Y)
2704.2995		163	186	1	(R)ANVQNCVELVGLADLDTGEPYVRDR(I)
2748.37		540	565	1	(K)AVWESGANRTATVGTGALTLNDTWR(G)
2755.2933		264	287	1	(R)VFQENLAHLKNFGEDWGYMASGK(S)
2771.2882	1Met-ox	264	287	1	(R)VFQENLAHLKNFGEDWGYMASGK(S)
2771.2907	pyroGlu	231	256	0	(K)QEAIHGAGEAVQPSEYLGTDVQEFYR(Y)
2785.5934		4	34	1	(R)RLATASLAVLAAAATALTAPTAAAAAPPG AK(D)
2788.3173		231	256	0	(K)QEAIHGAGEAVQPSEYLGTDVQEFYR(Y)
2791.2819		373	398	1	(R)NTASGQPVTNWWDNNGDQIAFGRGDK(A)
2832.2318		275	299	1	(K)NFGEDWGYMASGKSAVFVDNHDTER(G)
2848.2267	1Met-ox	275	299	1	(K)NFGEDWGYMASGKSAVFVDNHDTER(G)
2969.2101		138	162	1	(K)YDYPGIWGSADMDDCRSEINDYGNR(A)
2985.205	1Met-ox	138	162	1	(K)YDYPGIWGSADMDDCRSEINDYGNR(A)
3161.4923	pyroGlu	231	259	1	(K)QEAIHGAGEAVQPSEYLGTDVQEFYR (D)
3178.5188		231	259	1	(K)QEAIHGAGEAVQPSEYLGTDVQEFYR AR(D)
3395.6186		399	430	1	(K)AYVAINHEGSALNRTFQSGPLGGAYCDVQ SGR(S)
3481.6289		154	184	1	(R)SEINDYGNRANVQNCVELVGLADLDTGEPY VR(D)
3634.7047		101	137	1	(K)SMVDTCHAAGVKVVADSVINHMAAGSGT GTGGSAYQK(Y)
3650.6996	1Met-ox	101	137	1	(K)SMVDTCHAAGVKVVADSVINHMAAGSGT GTGGSAYQK(Y)
3666.6945	2Met-ox	101	137	1	(K)SMVDTCHAAGVKVVADSVINHMAAGSGT GTGGSAYQK(Y)
3780.7889		222	256	1	(K)VGNGSTYWKQEAIHGAGEAVQPSEYLG TDVQEFYR(Y)
3818.1102		5	44	1	(R)LATASLAVLAAAATALTAPTAAAAAPPGA KDVAVLFEWK(F)

M-5. táblázat

SGR5280					
m/z (mi)	módosítások	start	end	kihagyott hasítóhely	szekvencia
831.4571		560	568	0	(R)TATVPASGK(V)
857.3835		365	370	0	(K)COHAWRE
857.4952		95	102	1	(R)IAGRLGDR(A)
867.4207		307	314	0	(R)GGDTLNYK(N)
1025.5084		371	379	0	(R)EISSMVGF(R)
1041.5034	1Met-ox	371	379	0	(R)EISSMVGF(R)
1060.5786		569	577	0	(K)VTLTADVWR(G)
1117.6		569	578	1	(K)VTLTADVWRG(-)
1134.5942		229	237	0	(R)LTNPNVYWK(H)
1159.6146		518	527	0	(K)LDPAAYPVWK(L)
1166.5987		216	226	0	(K)HMPAGDLANIK(S)
1180.5341		160	169	0	(R)SQIGNNYNDR(G)
1182.5936	1Met-ox	216	226	0	(K)HMPAGDLANIK(S)
1225.5922		41	50	0	(K)DVTAVMFEWK(F)
1241.5871	1Met-ox	41	50	0	(K)DVTAVMFEWK(F)
1377.7274		227	237	1	(K)SRLTNPVYWK(H)
1389.6393		295	306	0	(K)SAVFVDNHDTER(G)
1408.7583	pyroGlu	270	281	0	(K)QVFLNENLAHLK(N)
1409.7318		216	228	1	(K)HMPAGDLANIKSR(L)
1425.7267	1Met-ox	216	228	1	(K)HMPAGDLANIKSR(L)
1425.7849		270	281	0	(K)QVFLNENLAHLK(N)
1445.6154		282	294	0	(K)NFGEGWGFMEGK(S)
1447.656		546	559	0	(K)DAAGNVTWESGANR(T)
1461.6103	1Met-ox	282	294	0	(K)NFGEGWGFMEGK(S)
1467.7373		371	383	1	(R)EISSMVGFRNTAR(G)
1483.7322	1Met-ox	371	383	1	(R)EISSMVGFRNTAR(G)
1501.7758		406	419	0	(K)AYVAINHEGSALTR(T)
1509.7948		528	541	0	(K)LDVNLPAAGTTFAYK(Y)
1575.751		545	559	1	(R)KDAAGNVTWESGANR(T)
1618.7828		103	118	0	(R)AAFAAMVNTCHAAGVK(V)
1634.7778	1Met-ox	103	118	0	(R)AAFAAMVNTCHAAGVK(V)
1664.8789		211	226	1	(R)IDAAKHMPAGDLANIK(S)
1680.8738	1Met-ox	211	226	1	(R)IDAAKHMPAGDLANIK(S)
1753.9959		267	281	1	(R)SLKQVFLNENLAHLK(N)
1800.9351		403	419	1	(R)GNKAYVAINHEGSALTR(T)
1822.9698		194	210	0	(R)IAGYLNLDLLSLGVDGFR(I)
1835.8996		34	50	1	(R)AAAPGDKDVTAVMFEWK(F)
1842.9459		41	56	1	(K)DVTAVMFEWKFASIAK(A)
1851.8946	1Met-ox	34	50	1	(R)AAAPGDKDVTAVMFEWK(F)
1858.9408	1Met-ox	41	56	1	(K)DVTAVMFEWKFASIAK(A)
1863.8741		365	379	1	(K)COHAWREISSMVGF(R)
1873.0178		560	577	1	(R)TATVPASGKVTLTADVWR(G)
1879.869	1Met-ox	365	379	1	(K)COHAWREISSMVGF(R)
1897.7367		144	159	0	(K)YDYPGLYSGADMDDCR(S)
1913.7317	1Met-ox	144	159	0	(K)YDYPGLYSGADMDDCR(S)
1928.0276		528	544	1	(K)LDVNLPAAGTTFAYKYVR(K)
1973.8909		420	437	0	(R)TFOTSLPAGDYCDVQSGK(G)
2036.0924		192	210	1	(R)GRIAGYLNLDLLSLGVDGFR(I)
2060.0164		99	118	1	(R)LGDRAAFAAMVNTCHAAGVK(V)
2063.9318		384	402	0	(R)GQSVGNWWDNNGGQIAFGR(G)
2076.0113	1Met-ox	99	118	1	(R)LGDRAAFAAMVNTCHAAGVK(V)
2238.0422		295	314	1	(K)SAVFVDNHDTERGGDTLNYK(N)
2260.0953		546	568	1	(K)DAAGNVTWESGANRTATVPASGK(V)
2321.25		194	215	1	(R)IAGYLNLDLLSLGVDGFRIDA(AK)(H)
2363.0912		384	405	1	(R)GQSVGNWWDNNGGQIAFGRGNK(A)
2397.1351		119	143	0	(K)VIADSVINHMSAGSGTGTGGSSYTK(Y)
2413.13	1Met-ox	119	143	0	(K)VIADSVINHMSAGSGTGTGGSSYTK(Y)
2451.1456		170	191	0	(R)GNVQNCENVGLADLDTGEEYVR(G)
2506.1607		380	402	1	(R)NTARGQSVGNWWDNNGGQIAFGR(G)

2540.3216		438	464	0	(K)GVTVNGSGOFTATVPAGTAV ALHTGAR(T)
2568.4508		5	33	0	(R)SLSAALALVAAAAAALVPTGFGAAGTAR(A)
2650.3916		518	541	1	(K)LDPAAYPVWKL DVNL PAGTTFAYK(Y)
2664.2682		170	193	1	(R)GNVQNC ELVGLADL DTGEEYVRGR(I)
2724.5519		4	33	1	(R)SLSAALALVAAAAAALVPTGFGAAGTAR(A)
2768.2798		238	263	0	(K)HEAIYGAGEAVSPSEYLGSGDVQ EFR(Y)
2816.2369		282	306	1	(K)NFGEGWGFME SGKSAV FDNHDTER(G)
2832.2318	1Met-ox	282	306	1	(K)NFGEGWGFME SGKSAV FDNHDTER(G)
2835.3559	pyroGlu	270	294	1	(K)QVFLNENLAHLKNFGE GWGF MESGK(S)
2851.3508	pyroGlu 1Met-ox	270	294	1	(K)QVFLNENLAHLKNFGE GWGF MESGK(S)
2852.3825		270	294	1	(K)QVFLNENLAHLKNFGE GWGF MESGK(S)
2868.3774	1Met-ox	270	294	1	(K)QVFLNENLAHLKNFGE GWGF MESGK(S)
3059.253		144	169	1	(K)YDYPGLYSGADMDDCRSQIGNNYNDR(G)
3075.248	1Met-ox	144	169	1	(K)YDYPGLYSGADMDDCRSQIGNNYNDR(G)
3144.4657		238	266	1	(K)HEAIYGAGEAVSPSEYLGSGDVQ EFRYGR(S)
3178.7583		5	40	1	(R)SLSAALALVAAAAAALVPTGFGAAGTARAA APGDK(D)
3456.6489		406	437	1	(K)AYVAINHEGSALTRTFQTS L PAGDYCDVQSGK(G)
3612.6619		160	191	1	(R)SQIGNNYNDRGNVQNC ELVGLADL DTGEEYVR (G)
3883.8562		229	263	1	(R)LTNPVYWKHEAIYGAGEAVSPSEYLGSGDVQ EFR(Y)
3996.9001		103	143	1	(R)AAFAAMVNTCHAAGVKVIADSVINHMSAGSGT GTGGSSYTK(Y)

M-6. táblázat

Ugyanakkor meg kell jegyezni, hogy ennél a mintánál még szerencsénk is volt, mivel

- MALDI - ion-trap mérések is rendelkezésre álltak, ami azt jelenti, hogy nem 1-2 MALDI-TOF PSD (fragmentációs) spektrum állt rendelkezésre, hanem kb. 20. Ugyanakkor ezek közül is csak egy fragmentációs spektrum alapos megvizsgálása (az is nagy munka árán) vezetett eredményre.
- Volt olyan homológ fehérje, aminek megjósolt triptikus darabjai és a vizsgált fehérje hasítási termékei között volt átfedés és készült ilyen peptidről fragmentációs spektrum.

Amennyiben a minta analízise csak **MALDI-TOF** mérésekkel történt:

- A pusztán tömeg-alapú lekeresés során történő fehérjeazonosítást a homológ fehérje hiánya az adatbázisból megnehezíti, legtöbb esetben szinte lehetetlenné teszi. Ezért is szorgalmaztuk a munka elkezdése elején a magának a *Streptomyces griseus* protein adatbázisnak a megszerzését, hogy a mérésekből kapott tömeglisták lekeresése azon történhessen. Ugyanakkor a fehérje adatbázist akkor még nem tették publikussá.
- A fragmentációs (PSD) spektrumok száma csekély (1-2, esetleg 3). Így nagy esély van arra, hogy nem arról a peptidről készül/t fragmentációs spektrum, ami teljes mértékben átfed egy ismert fehérjével, hanem olyanról, aminek megfelelő peptidszakaszt nem tartalmazza az adatbázisban lévő fehérje.
- A PSD spektrumok felvételekor figyelembe kell venni, hogy az adott csúcs nagy intenzitású legyen, és lehetőleg ne legyen a közelében másik jel, mivel ebben az esetben keverék (két, vagy több peptid) fragmentációs spektrumához vezet a mérés megnehezítve, illetve lehetetlenné téve a peptid szekvenciájának meghatározását.
- A PSD spektrumok sok esetben nem eléggé jó minőségűek „*de novo*” szekvenálásra.

Ezzel szemben az **LC-MS/MS** mérések során (amelyet a régi mintákon még nem végeztünk) több száz, esetleg ezer fragmentációs spektrum készül, amelyek közül természetesen több a selejtes is, de a fehérje azonosítását eredményező CID spektrumok száma is sokkal-sokkal nagyobb. Ugyanakkor ezen CID spektrumok közül a jó minőségűek „*de novo*” szekvenálást is lehetővé tesznek, ami szintén elvezethet a fehérje azonosításához.

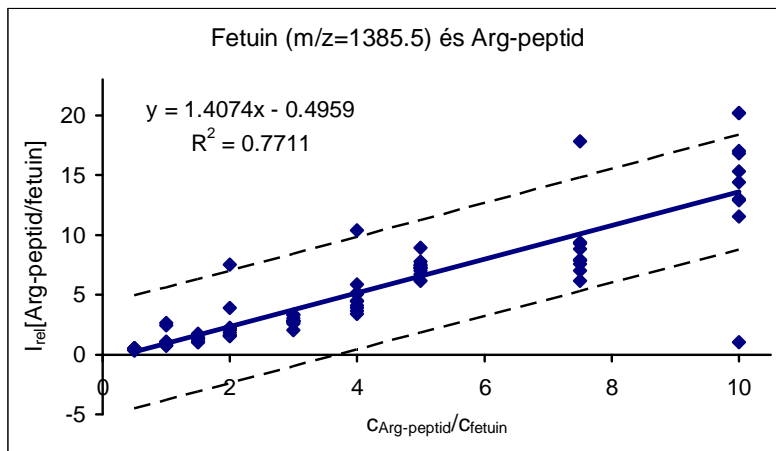
Az ubiquitinált minták szintézise és tisztítása

A cDNS megfelelő plazmidba történő beklónozását követően a fehérjéket *E. coli* baktériumban, illetve élesztőben (*S. cerevisiae*) fejeztették ki. A vizsgált fehérjék kinyerése és tisztítása glutation-gyöngyöt tartalmazó oszlopon történt.

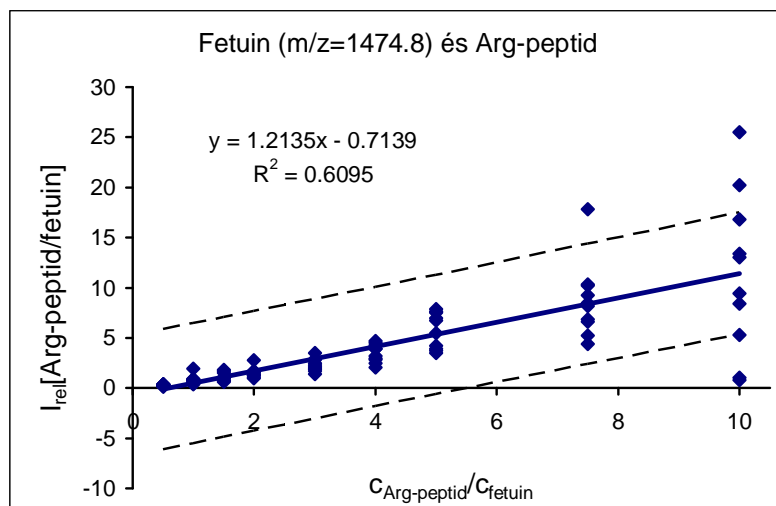
Az ubiquitinált fehérjék *in vitro* szintézise: A vizsgált fehérje standard ubiquitinálási reakciója 100 µl P0 pufferben (40 mM Tris_HCl, pH 7.5 8 mM MgCl₂ 100 µg/ml BSA_10% glycerol_100 µM ATP) történt 200 µg Rad6/18 (E2/E3), 500 ng Uba1 (ubiquitin-aktiváló enzim 1, ubiquitin-típusú módosító aktiváló enzim 1), 100 µg Ub (ubiquitin) és 15 µg vizsgált fehérje jelenlétében.

MALDI-TOF kvantitatív jellegének a vizsgálatához kapcsolódó ábrák

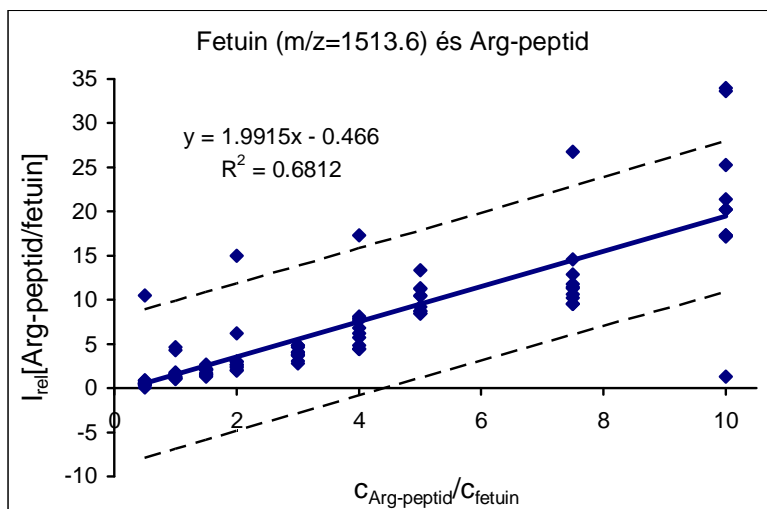
M-1. ábrák A szintetikus peptid relatív intenzitásának ábrázolása a fetuin adott triptikus peptidjére vonatkoztatott koncentráció arány függvényében. A minta adott mennyiségű Arg-peptid és 100 fmol fetuin emésztmény keveréke. A szaggatott vonalak az adott peptid mért relatív intenzitásainak a 95%-os konfidencia határait szemléltetik.



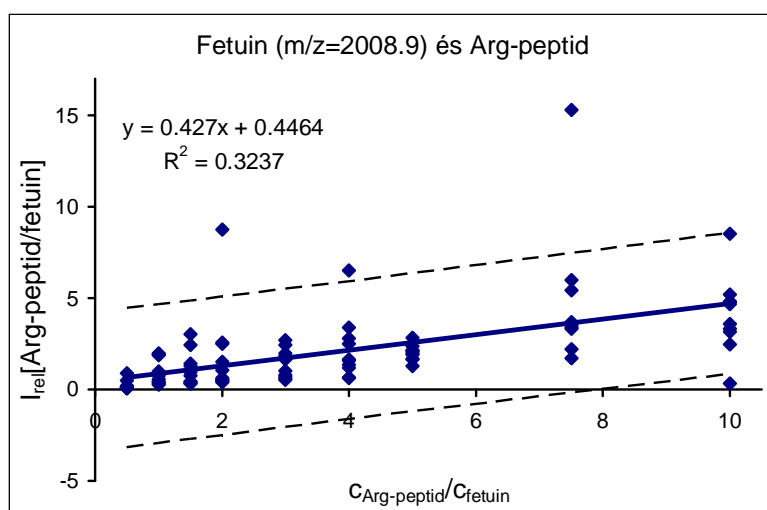
M-1.a ábra



M-1.b ábra

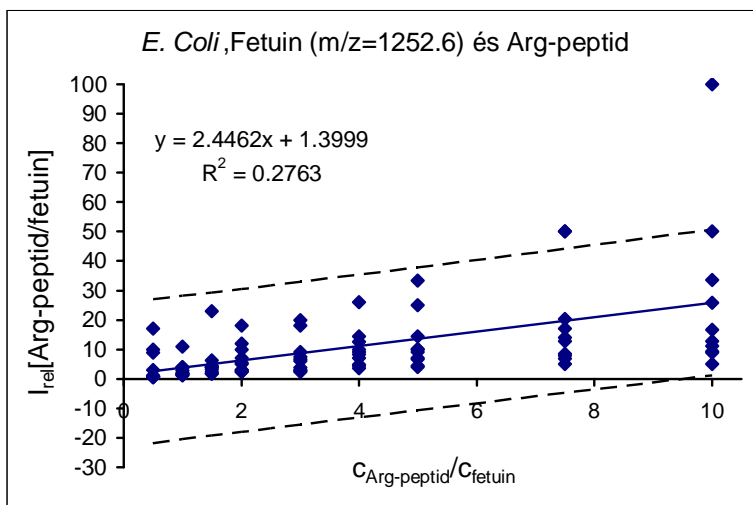


M-1.c ábra

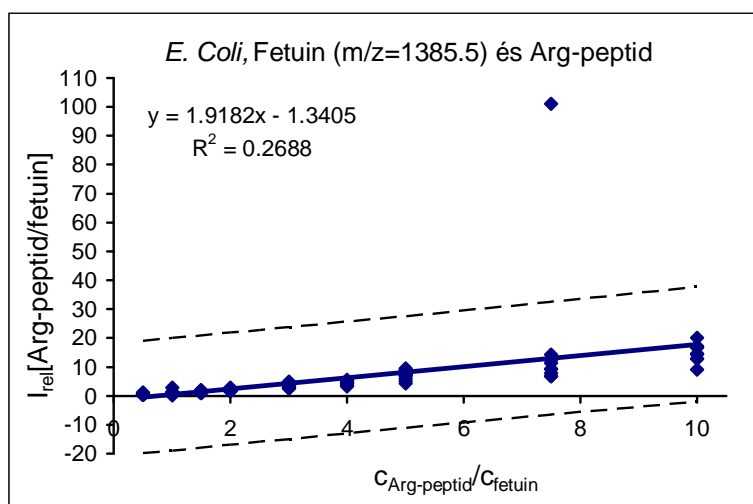


M-1.d ábra

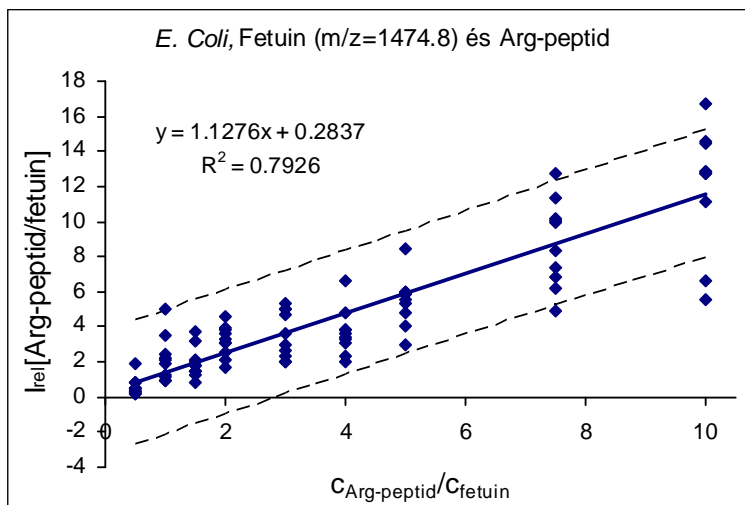
M-2. ábrák A szintetikus peptid relatív intenzitásának ábrázolása a fetuin adott triptikus peptidjére vonatkoztatott koncentráció arány függvényében. A minta adott mennyiségű Arg-peptid és 100 fmol fetuin emésztmény keveréke. 2×10^6 cfu *Escherichia coli* volt jelen minden egyes minta/spot esetében. A szaggatott vonalak az adott peptid mért relatív intenzitásainak a 95%-os konfidencia határait szemléltetik.



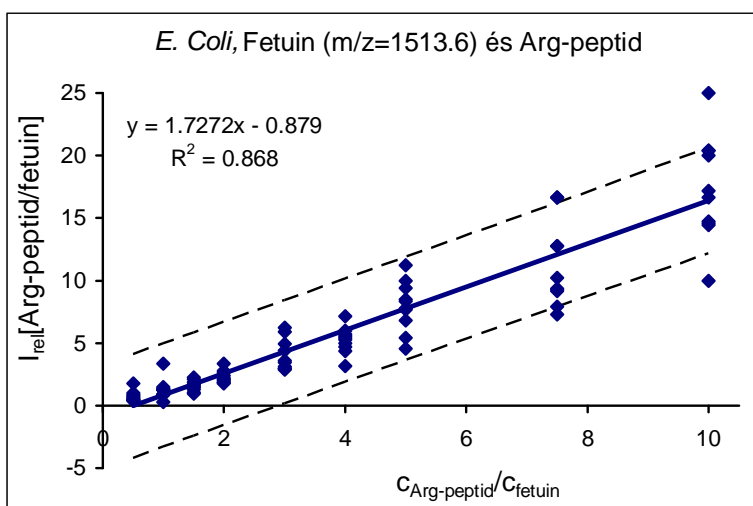
M-2.a ábra



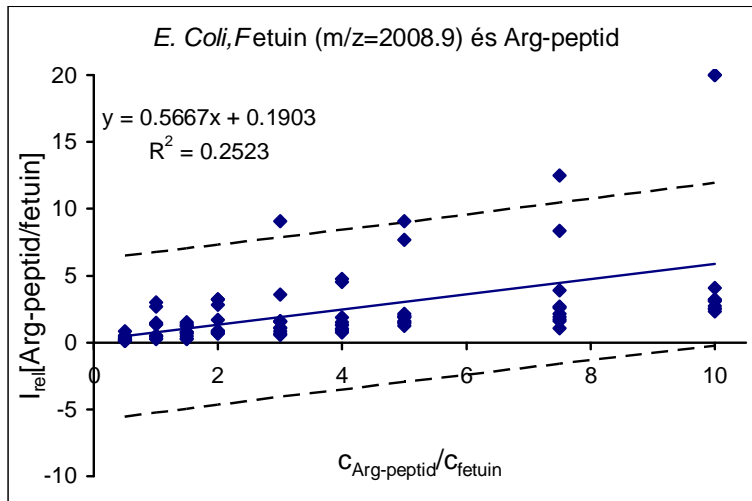
M-2.b ábra



M-2.c ábra

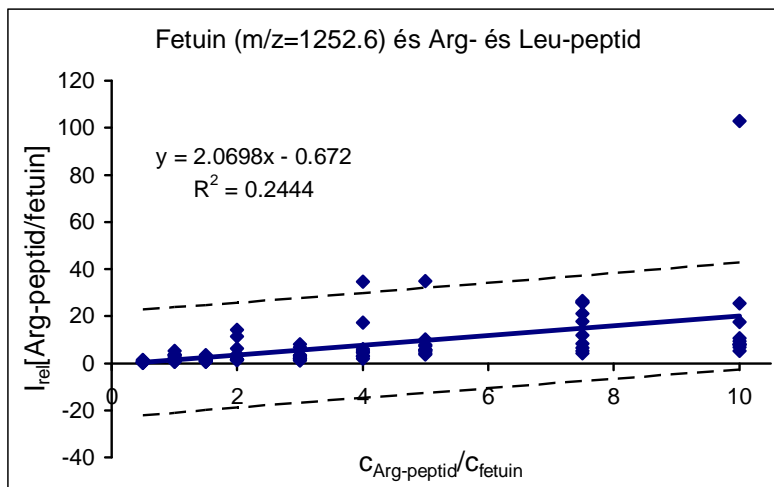


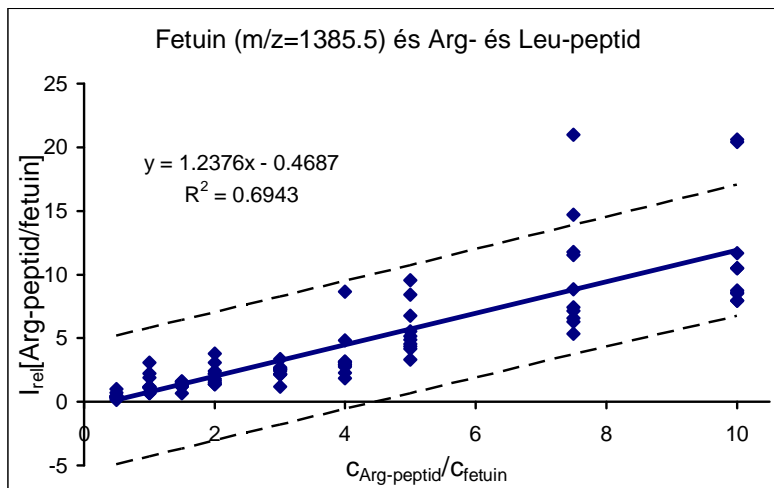
M-2.d ábra



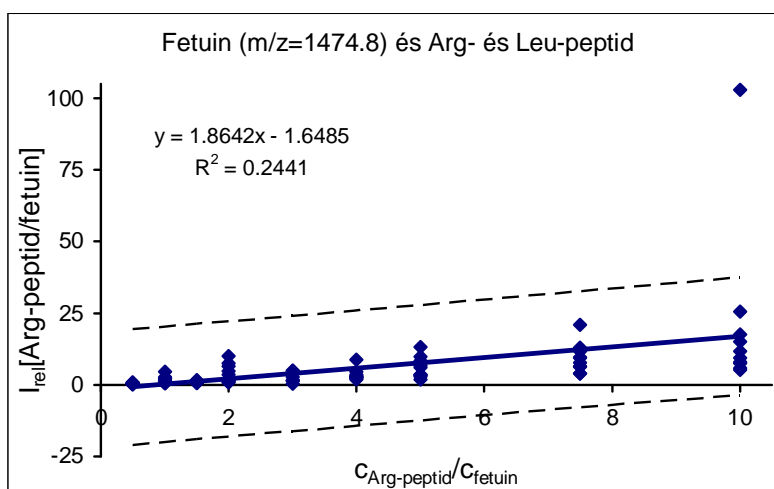
M-2.e ábra

M-3. ábrák A szintetikus peptid relatív intenzitásának ábrázolása a fetuin adott triptikus peptidjére vonatkoztatott koncentráció arány függvényében. A minta adott mennyiségű Arg- és Leu-peptid peptid és 100 fmol fetuin emésztmény keveréke. A szaggatott vonalak az adott peptid mért relatív intenzitásainak a 95%-os konfidencia határait szemléltetik.

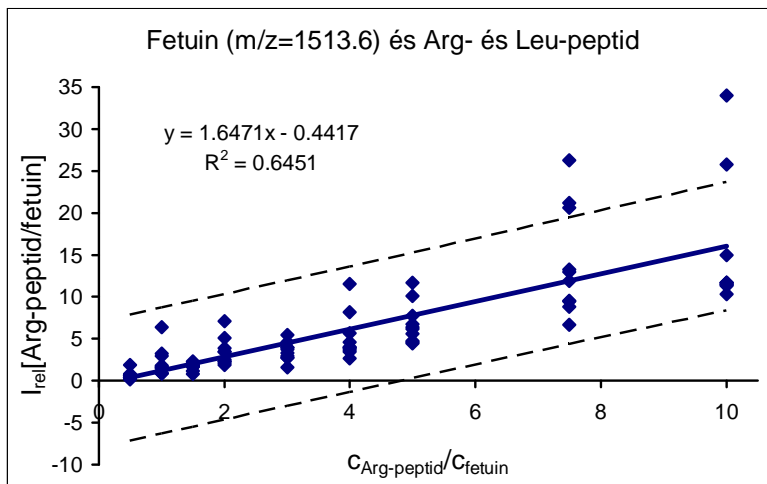




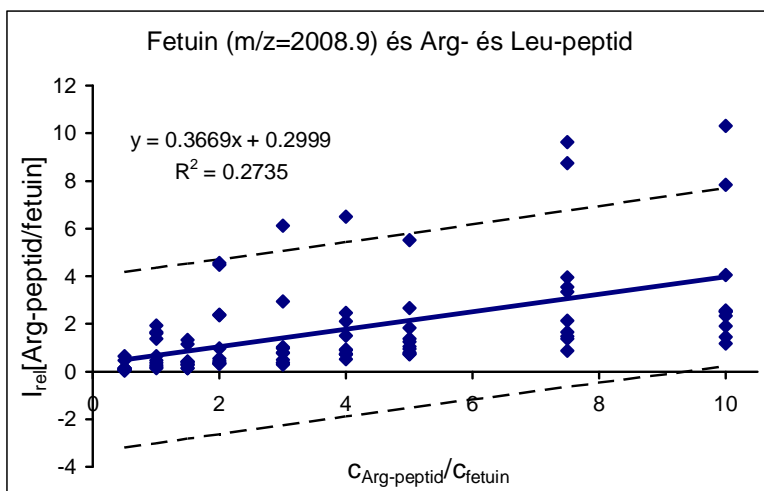
M-3.b



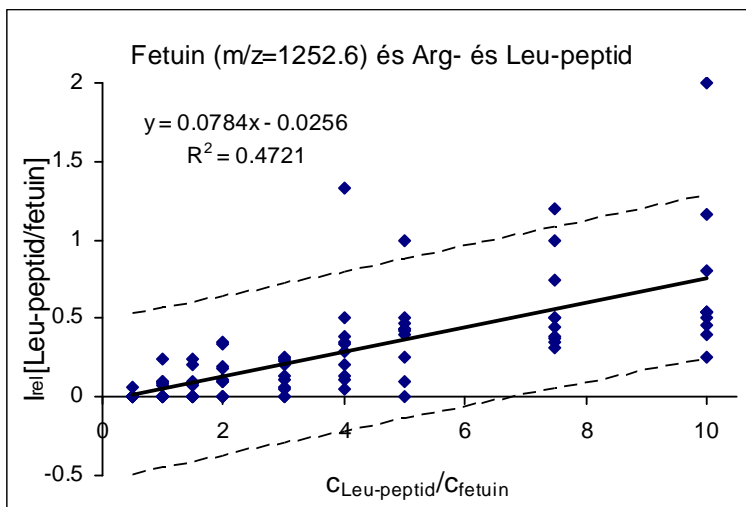
M-3.c



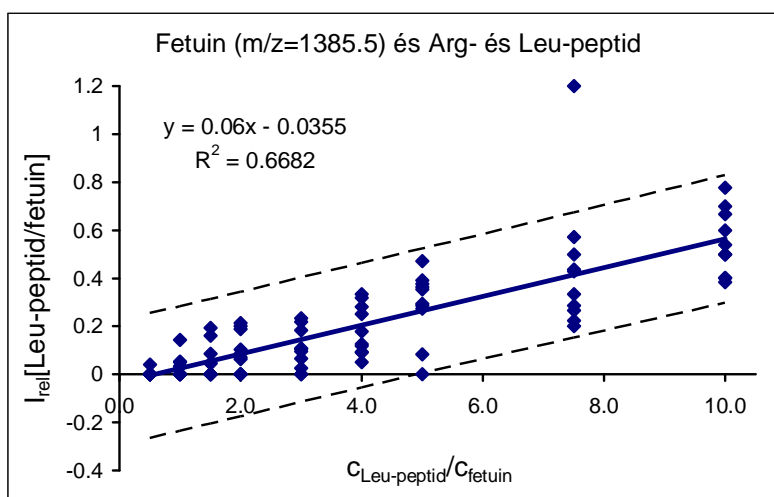
M-3.d



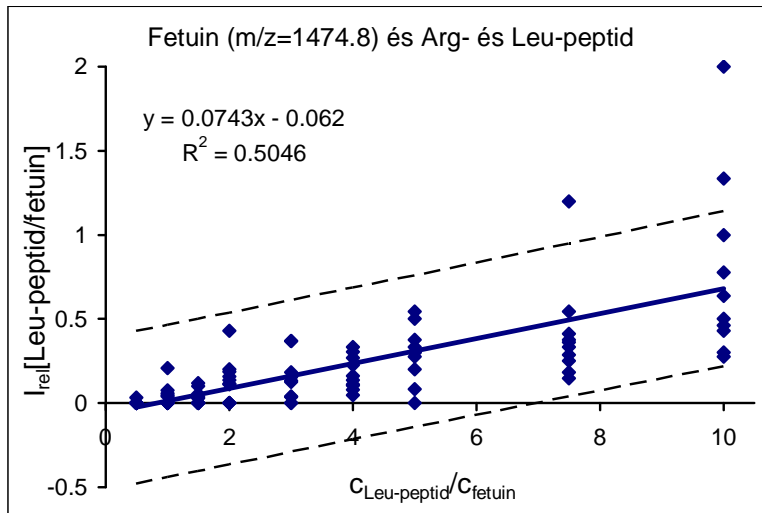
M-3.e



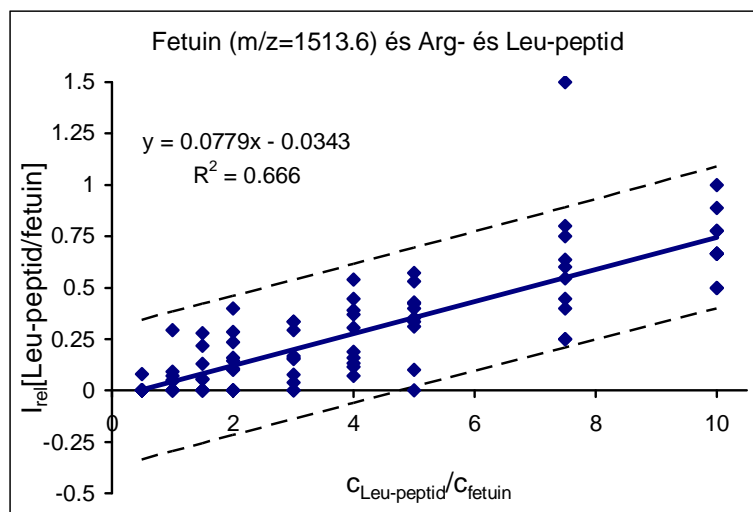
M-3.f



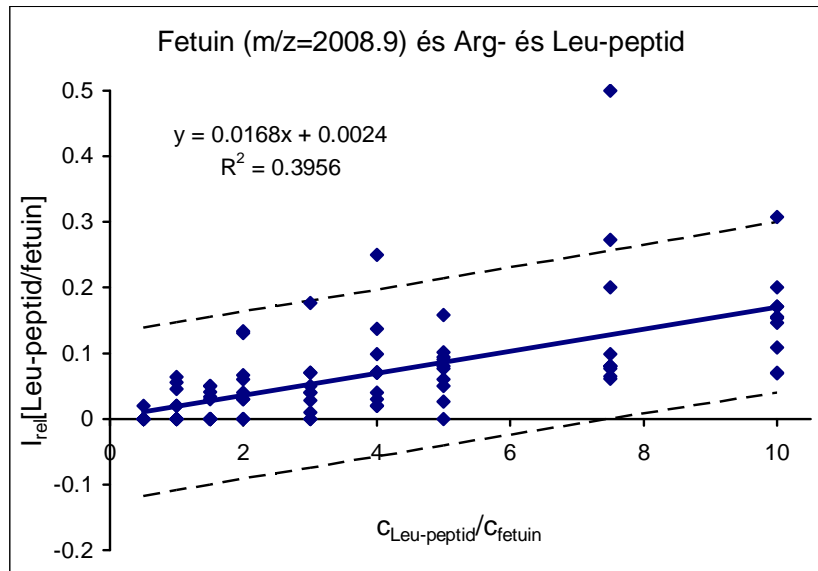
M-3.g



M-3.h

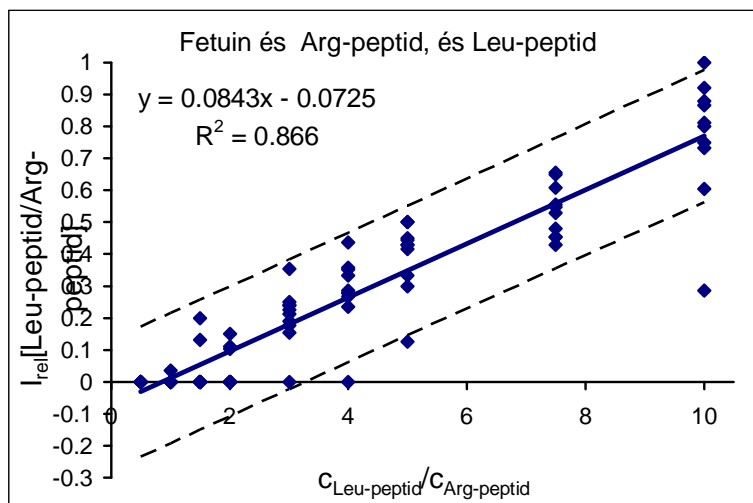


M-3.i

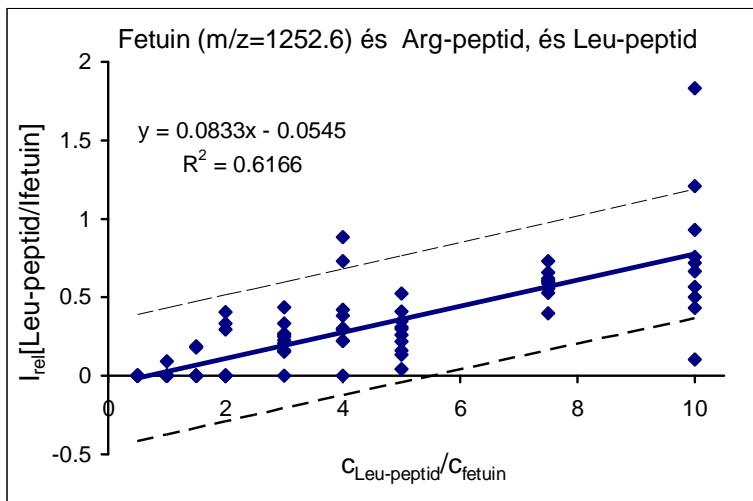


M-3.j

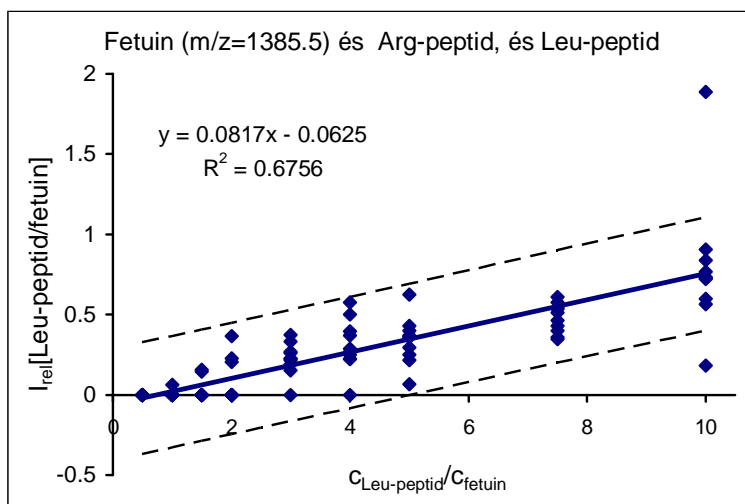
M-4. ábrák A szintetikus peptid relatív intenzitásának ábrázolása a fetuin adott triptikus peptidjére vonatkoztatott koncentráció arány függvényében. A minta adott mennyiségű Leu-peptid peptid és 100 fmol Arg-peptid és fetuin emésztmény keveréke. A szaggatott vonalak az adott peptid mért relatív intenzitásainak a 95%-os konfidencia határait szemléltetik.



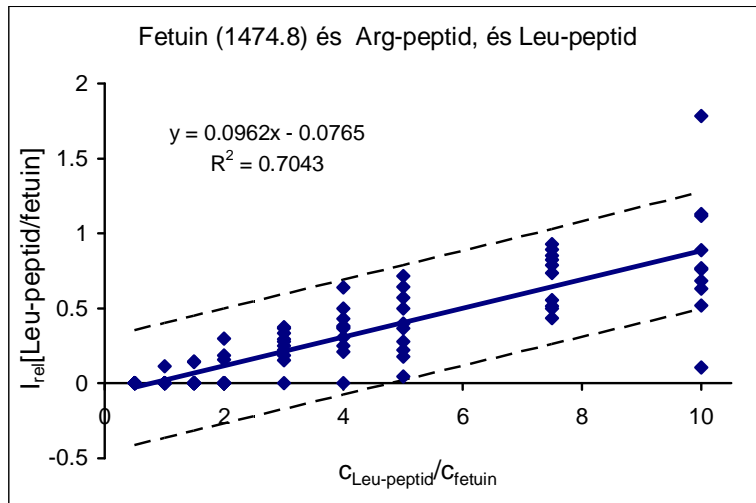
M-4.a



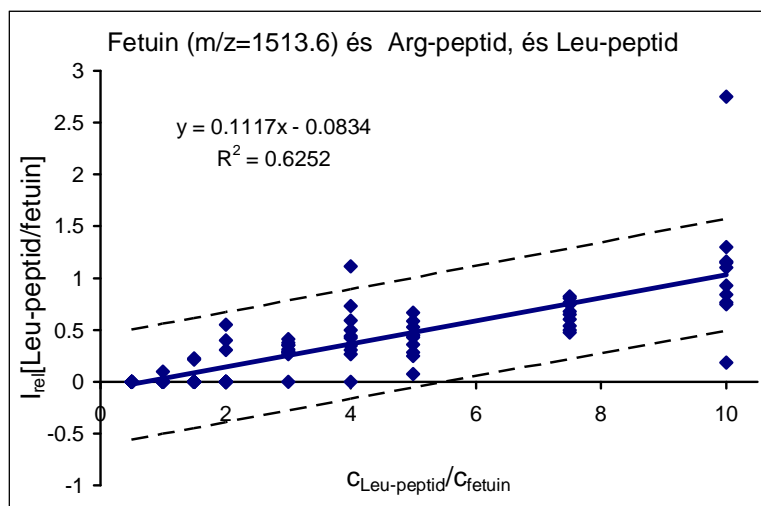
M-4.b



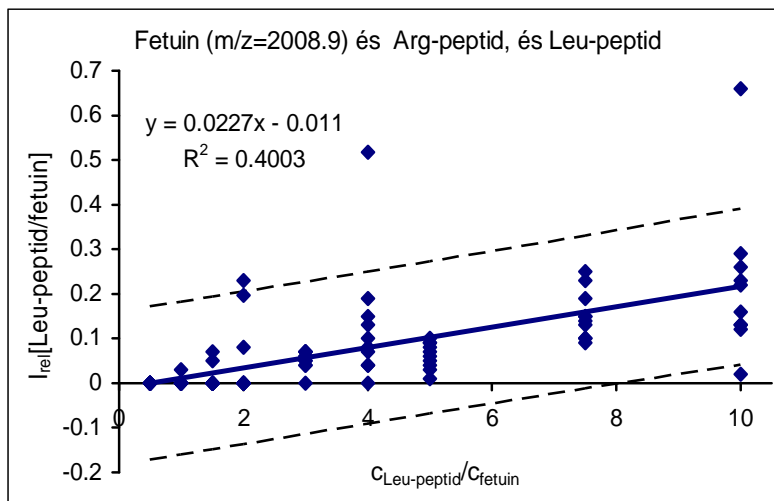
M-4.c



M-4.d

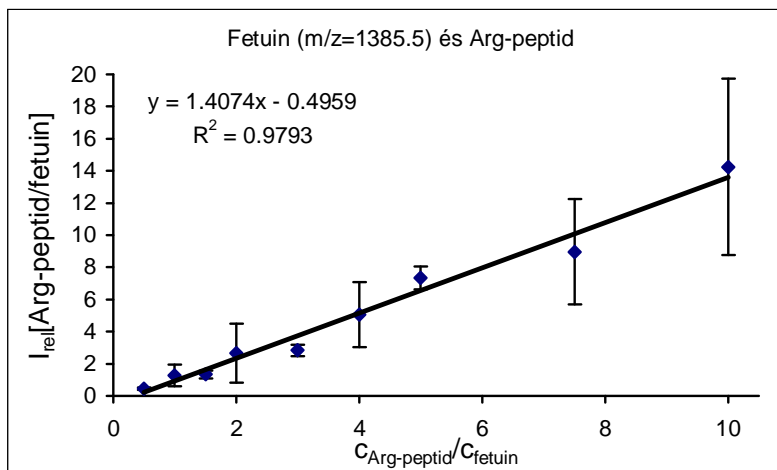


M-4.e

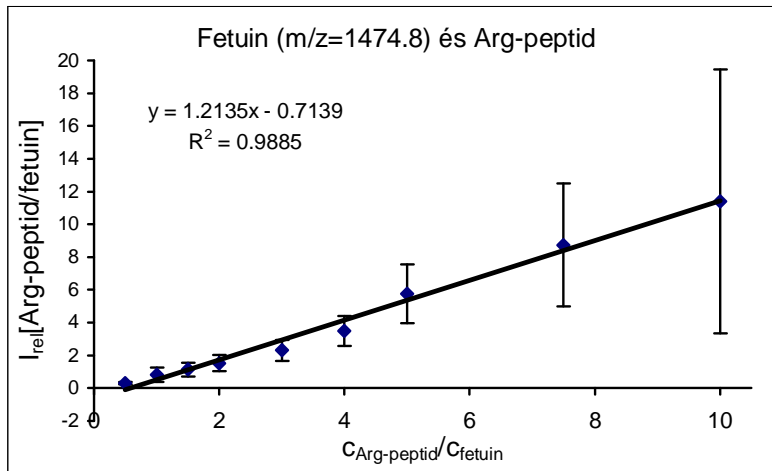


M-4.f

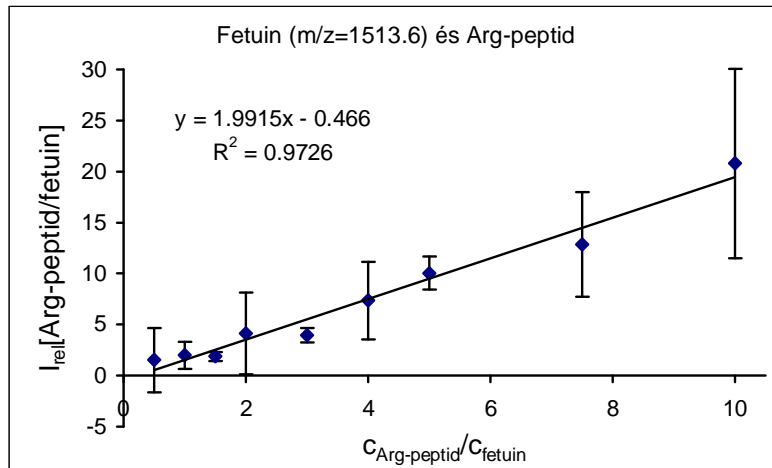
M-5. ábrák A szintetikus peptid relatív intenzitásának ábrázolása a fetuin adott riptikus peptidjére vonatkoztatott koncentráció arány függvényében. A relatív intenzitások középértékének ábrázolása a peptidek koncentráció arányának függvényében. A standard deviációt a hibavonalak reprezentálják. A minta adott mennyiségű Arg-peptid és 100 fmol fetuin emésztmény keveréke.



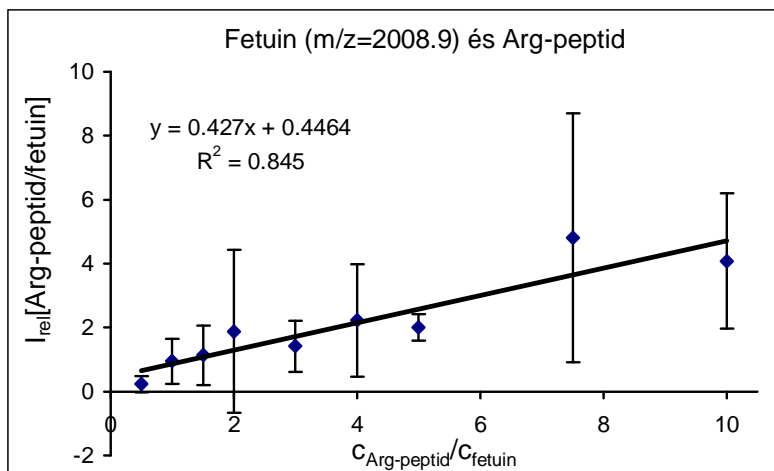
M-5.a



M-5.b

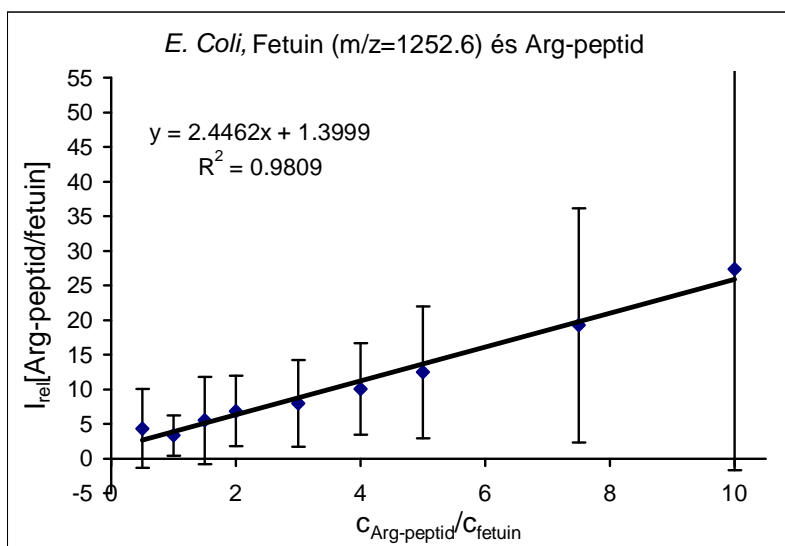


M-5.c

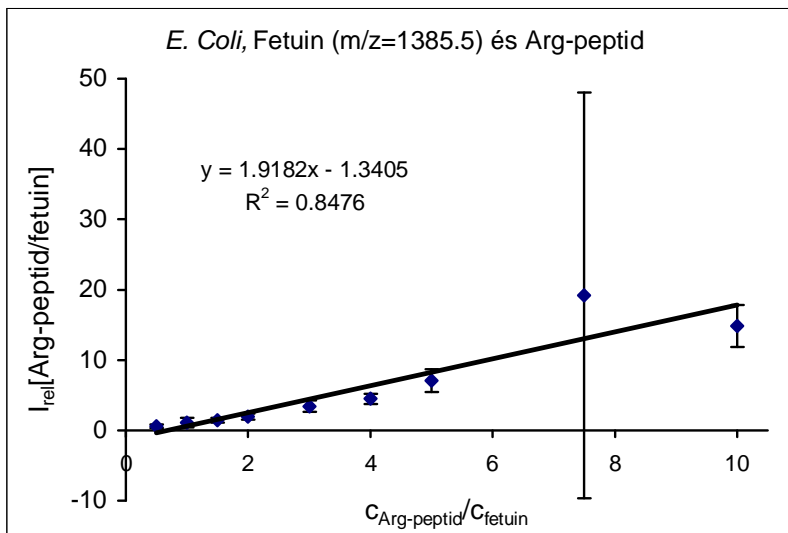


M-5.d

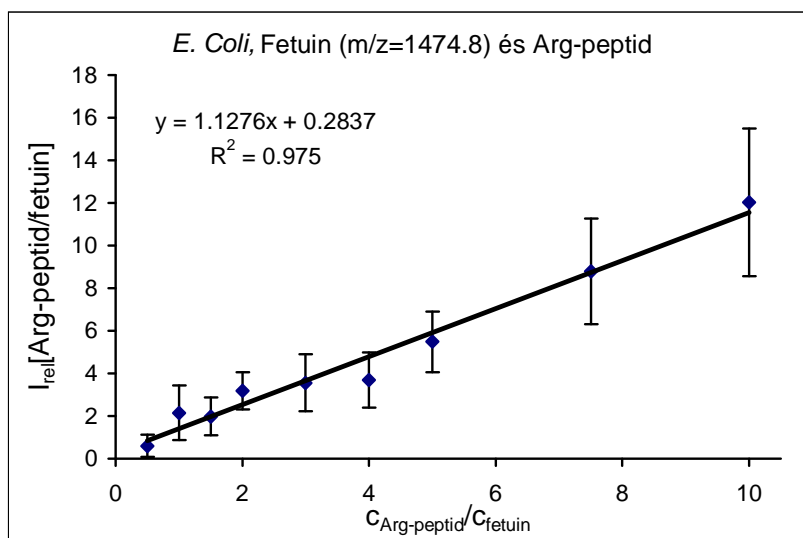
M-6. ábrák A szintetikus peptid relatív intenzitásának ábrázolása a fetuin adott riptikus peptidjére vonatkoztatott koncentráció arány függvényében. A relatív intenzitások középértékének ábrázolása a peptidek koncentráció arányának függvényében. A standard deviációt a hibavonalak reprezentálják. A minta adott mennyiségű Arg-peptid és 100 fmol fetuin emésztmény keveréke. 2×10^6 cfu *Escherichia coli* volt jelen minden minta/spot esetében.



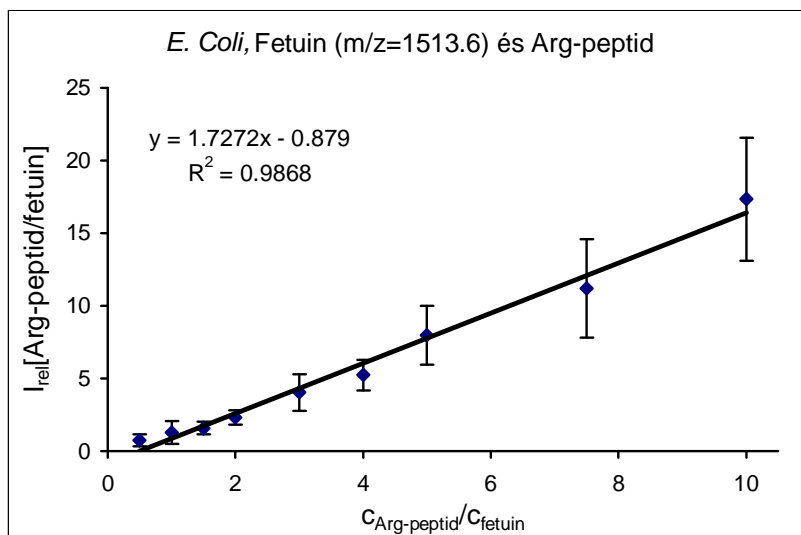
M-6.a



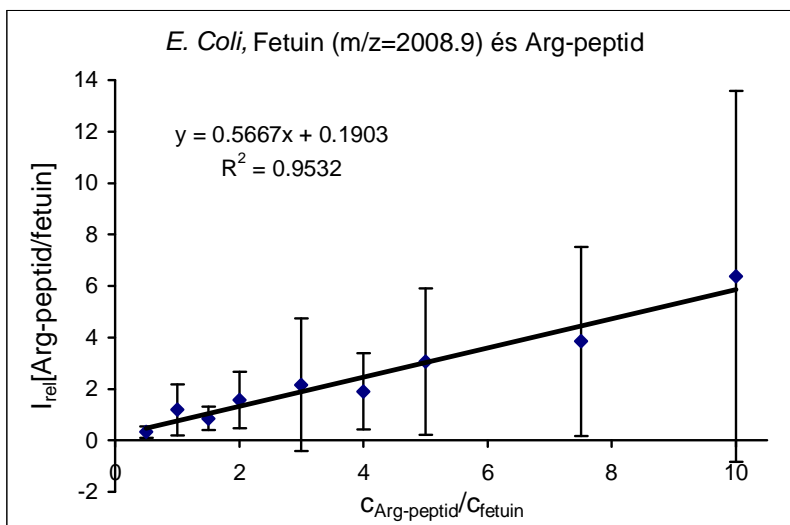
M-6.b



M-6.c

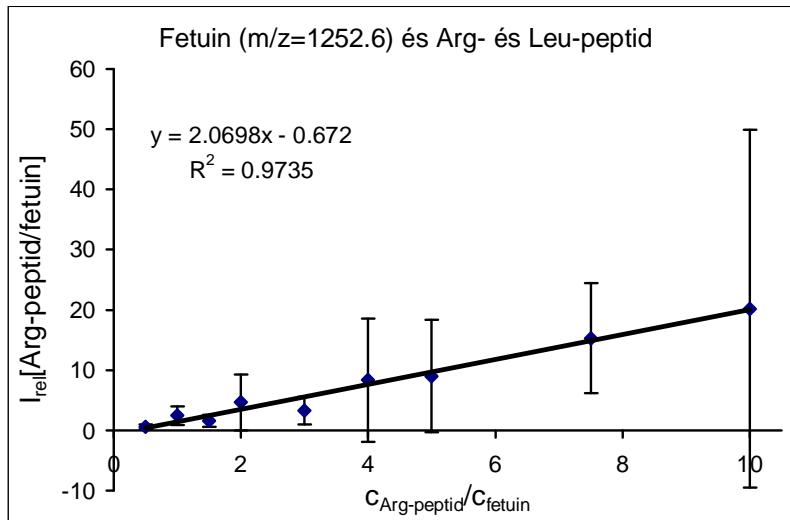


M-6.d

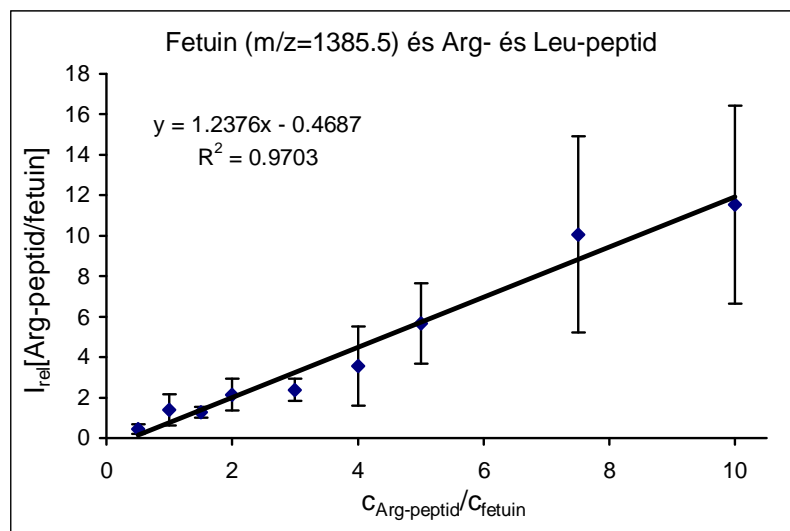


M-6.e

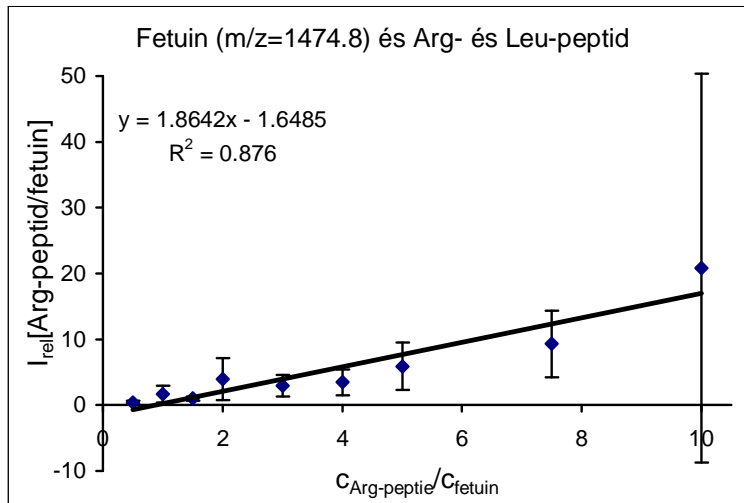
M-7. ábrák A szintetikus peptid relatív intenzitásának ábrázolása a fetuin adott riptikus peptidjére vonatkoztatott koncentráció arány függvényében. A relatív intenzitások középértékének ábrázolása a peptidek koncentráció arányának függvényében. A standard deviációt a hibavonalak reprezentálják. A minta adott és azonos mennyiségű Arg- és Leu-peptid és 100 fmol fetuin emésztmény keveréke.



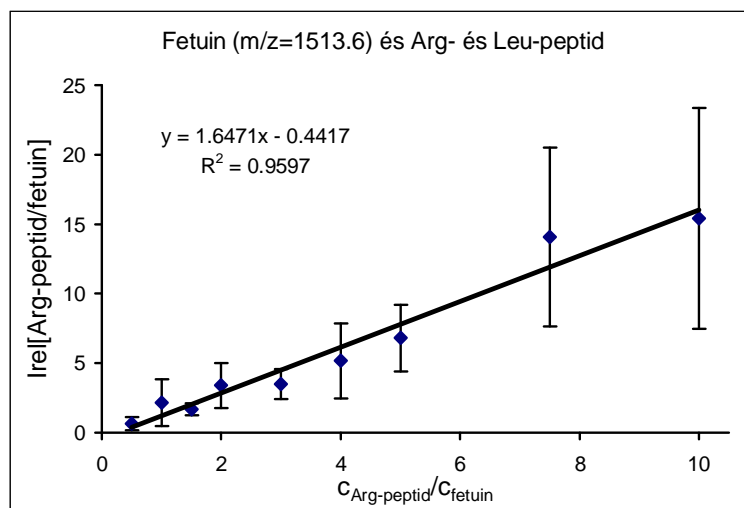
M-7.a



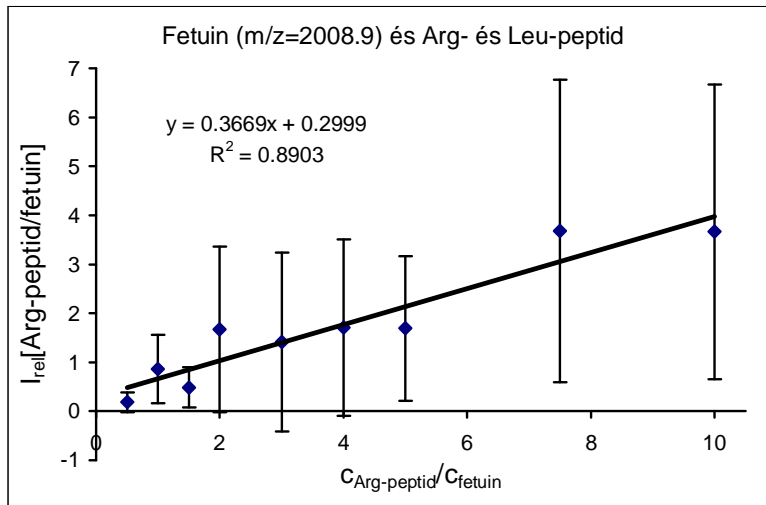
M-7.b



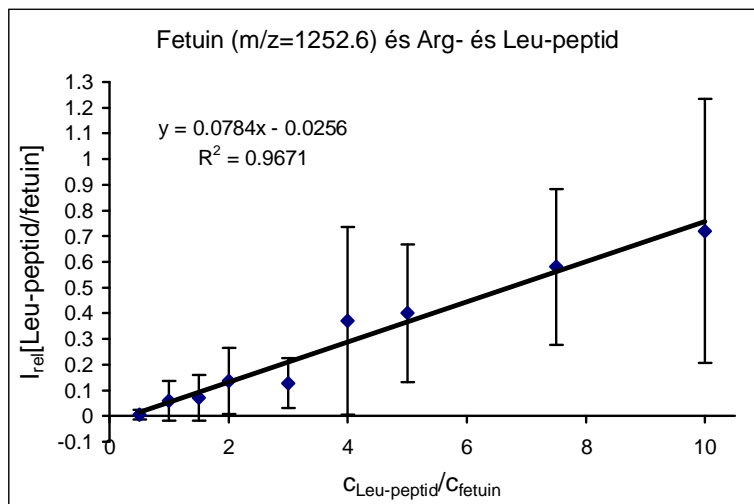
M-7.c



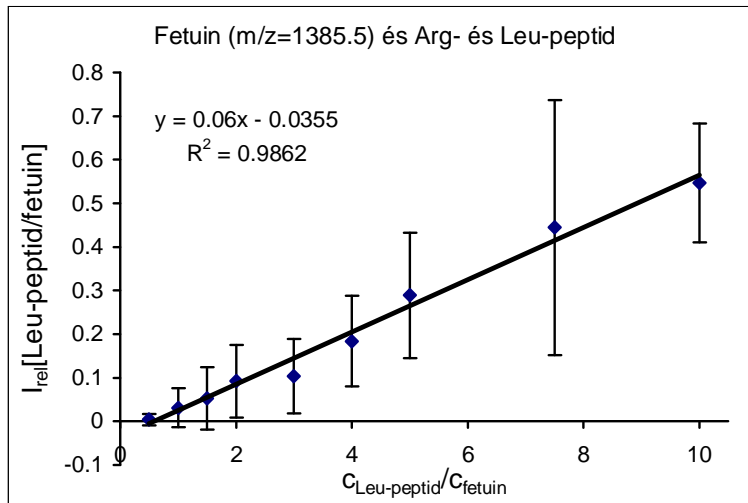
M-7.d



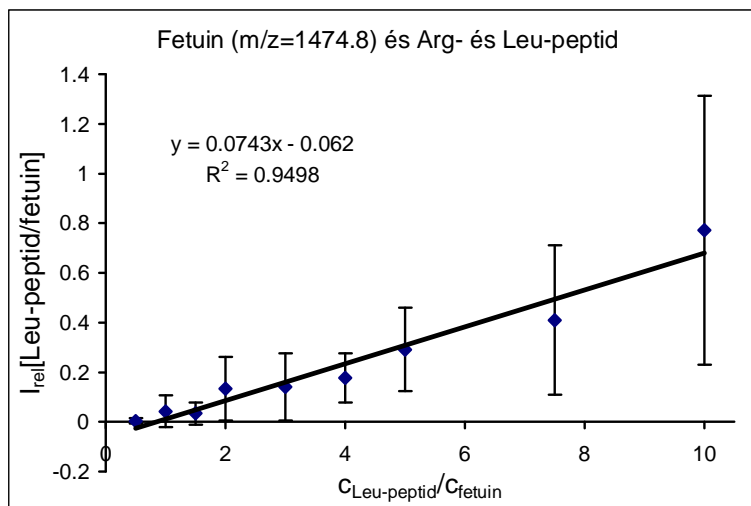
M-7.e



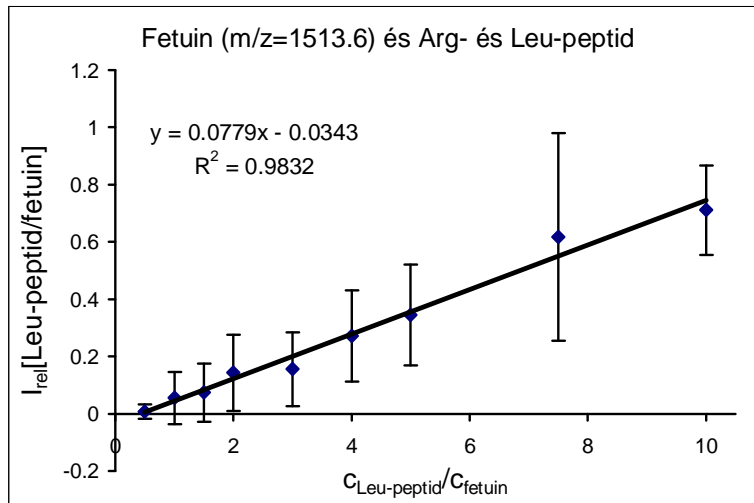
M-7.f



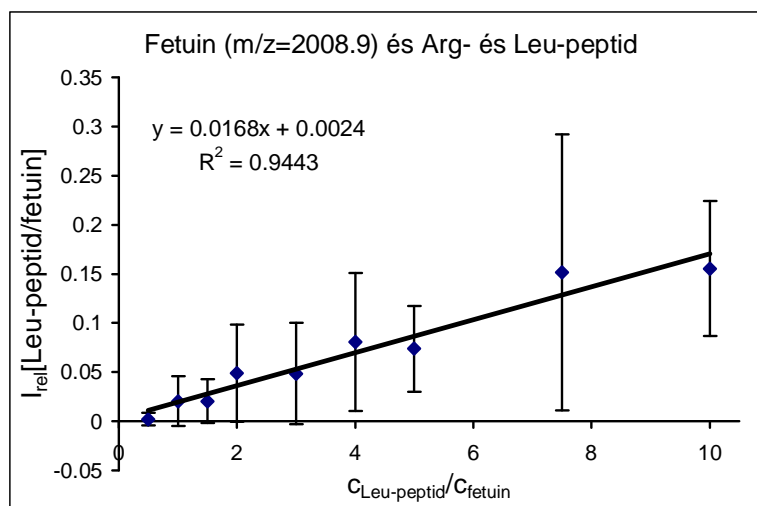
M-7.g



M-7.h

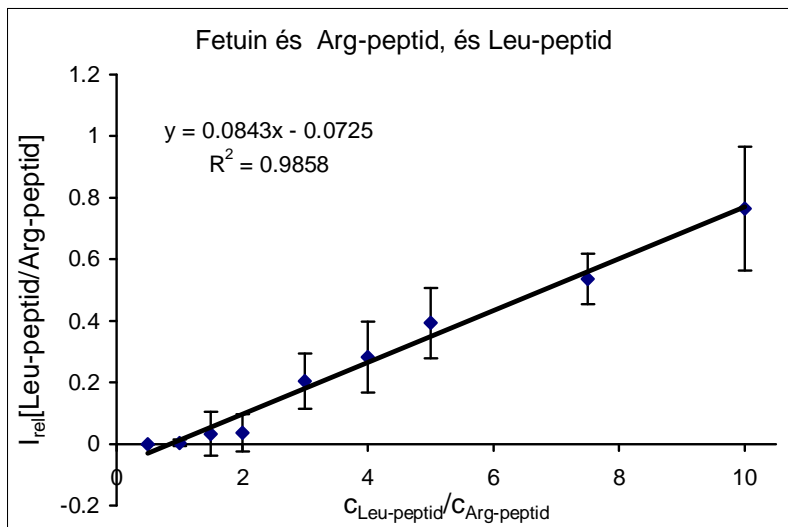


M-7.i

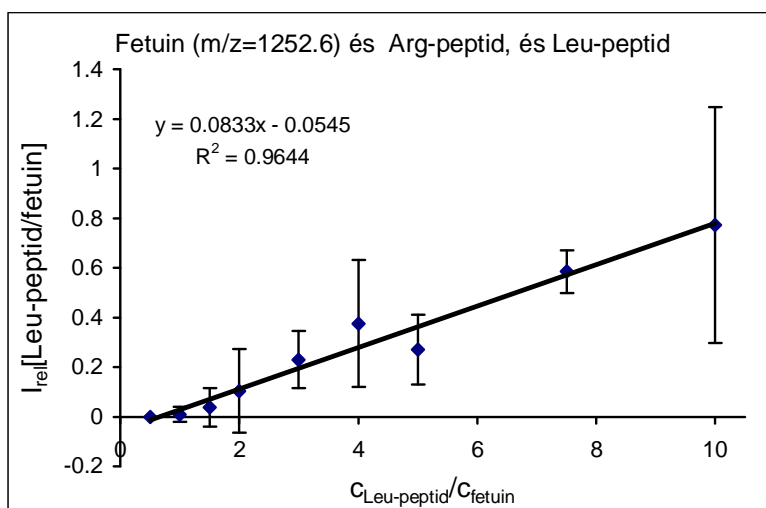


M-7.j

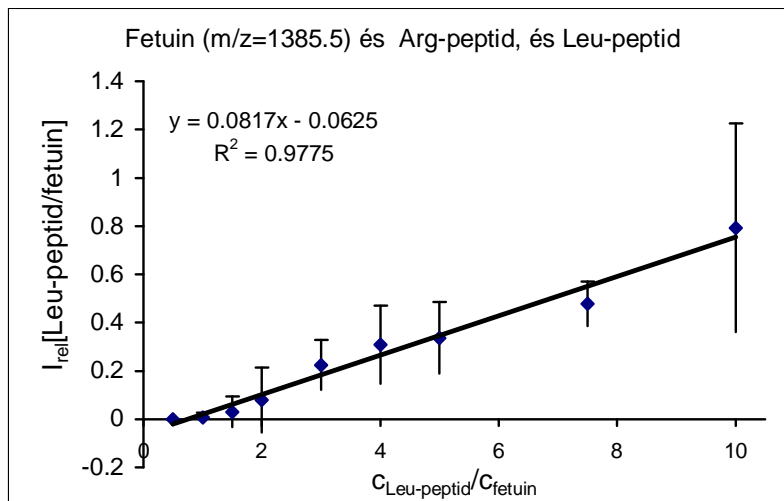
M-8. ábrák A szintetikus peptid relatív intenzitásának ábrázolása a fetuin adott riptikus peptidjére vonatkoztatott koncentráció arány függvényében. A relatív intenzitások középértékének ábrázolása a peptidek koncentráció arányának függvényében. A standard deviációt a hibavonalak reprezentálják. A minta adott mennyiségű Leu-peptid és 100 fmol Arg-peptid és fetuin emésztmény keveréke.



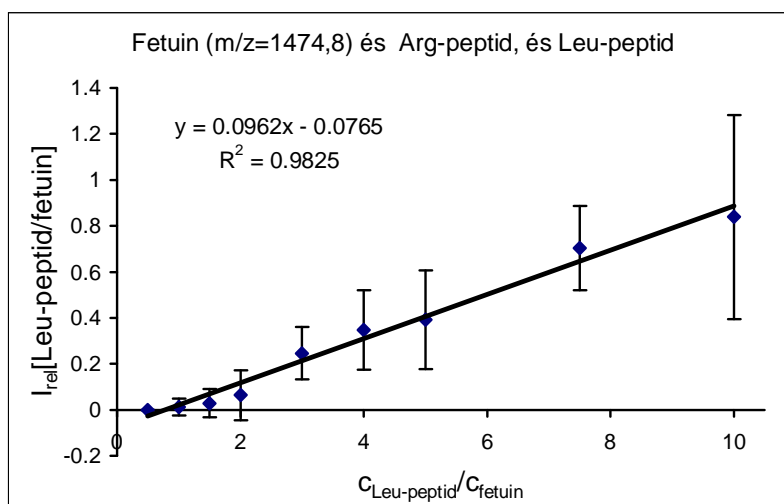
M-8.a



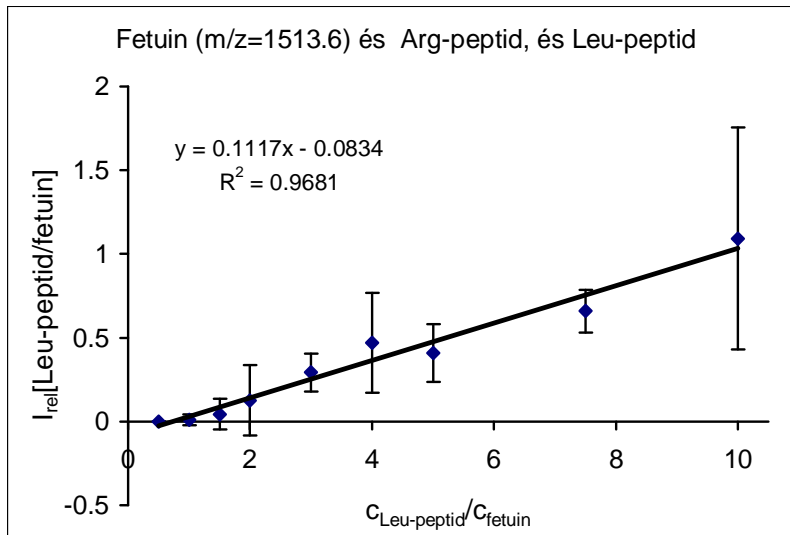
M-8.b



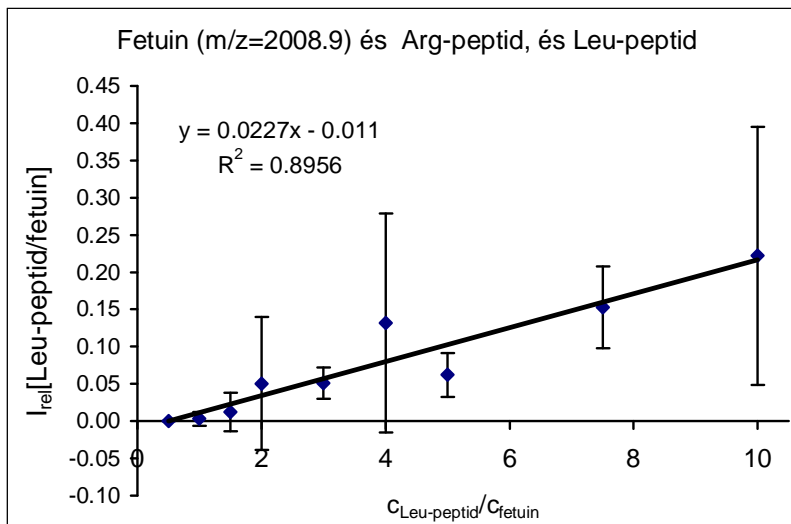
M-8.c



M-8.d

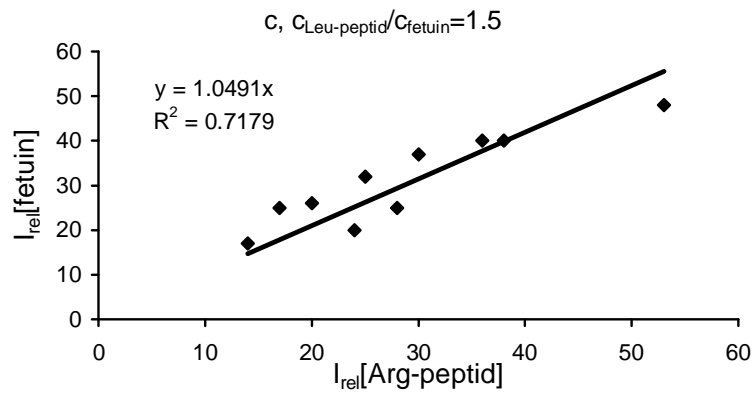
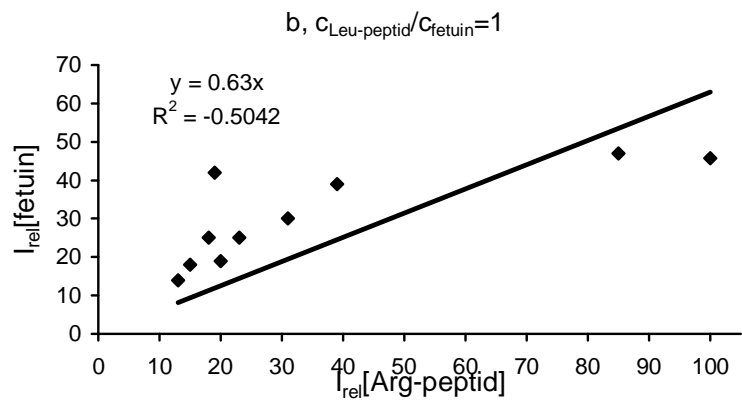
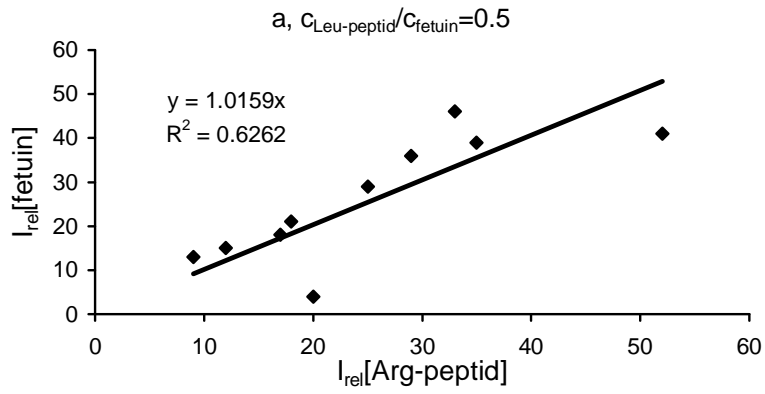


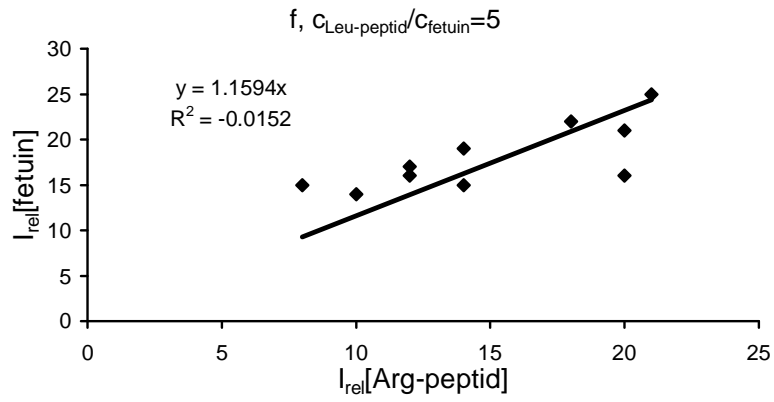
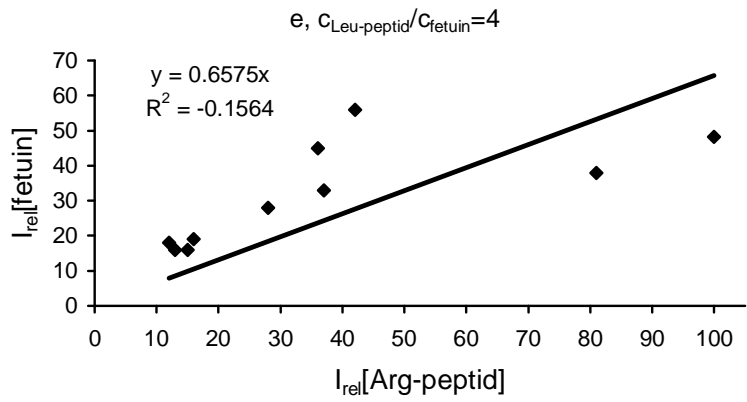
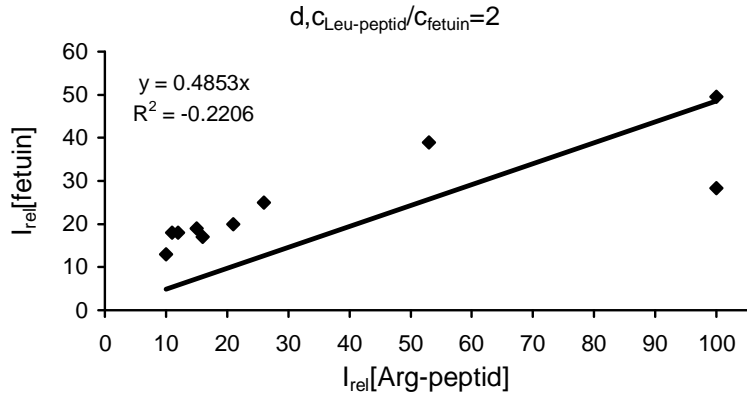
M-8.e

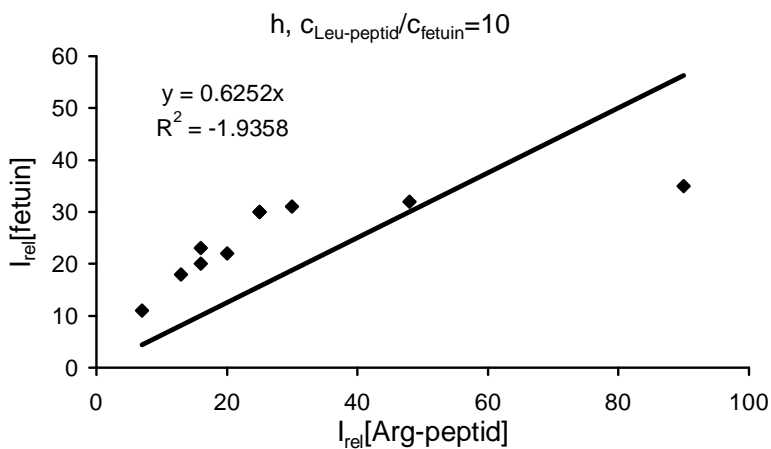
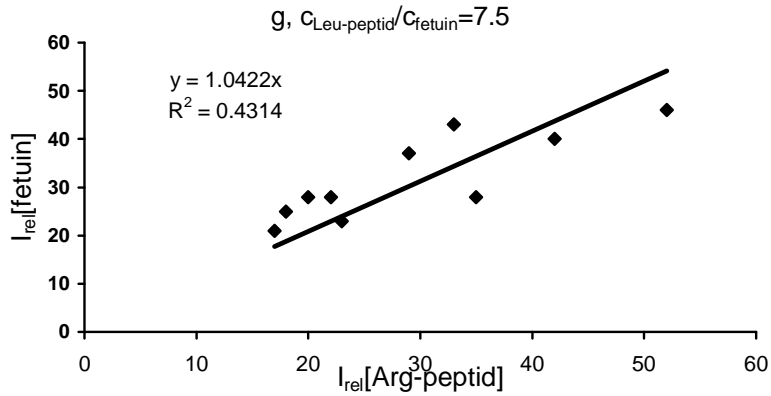


S-8.f

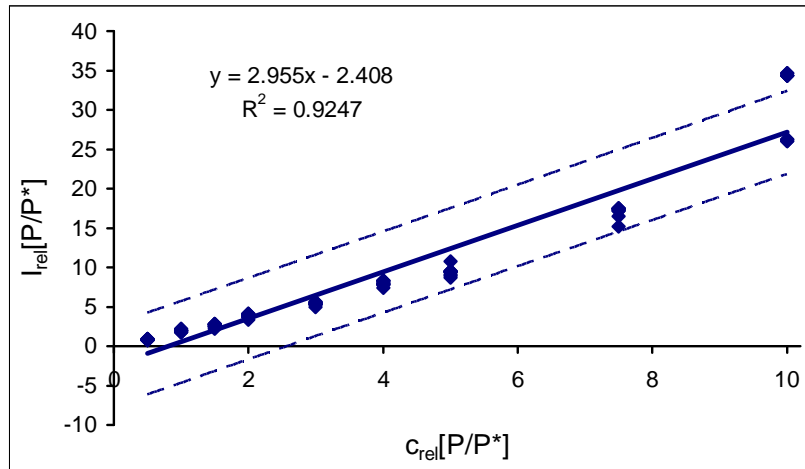
M-9. ábrák Az Arg- and triptikus fetuin peptid (m/z=1385.56) relatív intenzitásai közötti korreláció vizsgálata adott mintán belül (100 fmol mindegyik). A Leu-peptid minden egyes mintánál feltüntetett értéknek megfelelő mennyiségben volt jelen. A korrelációs egyenes szigorúan az origin átmenő egyenes, mivel lineáris arányosság feltételezett a jelintenzitások között.



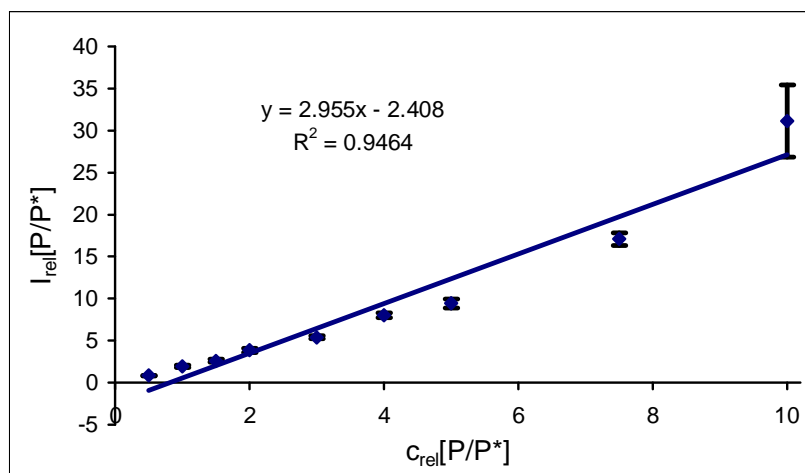




M-10. ábrák A P és P* peptid relatív intenzitásának (I_{rel}) ábrázolása a koncentráció arányuk függvényében. M-10.a, Minden egyes mért relatív intenzitás ábrázolása. A szaggatott vonalak az adott peptid mért relatív intenzitásainak a 95%-os konfidencia határait szemléltetik. M-10.b, A relatív intenzitások középértékének ábrázolása a peptidek megfelelő koncentráció arányának függvényében. A standard deviációt a hibavonalak reprezentálják. A minták adott mennyiségű P-peptid és 100-100 fmol P* peptid és fetuin emésztmény keverékei. 2×10^6 cfu *Escherichia coli* volt jelen minden minta esetében. A koncentráció tartomány a 0.5-10.0 intervallumba esett.

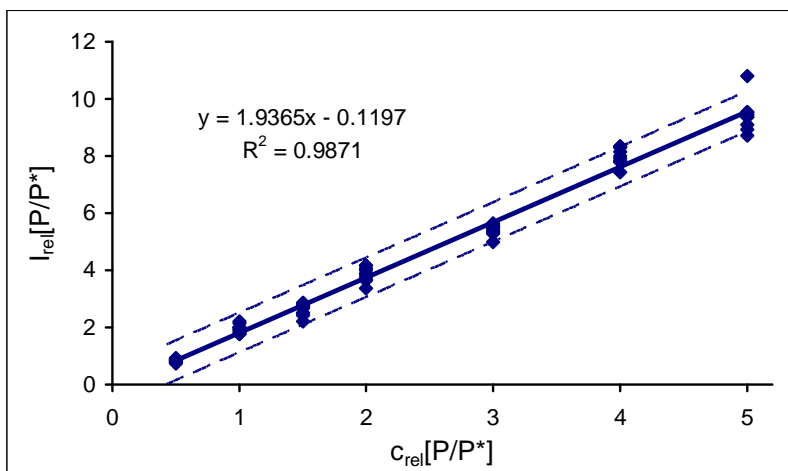


M-10.a

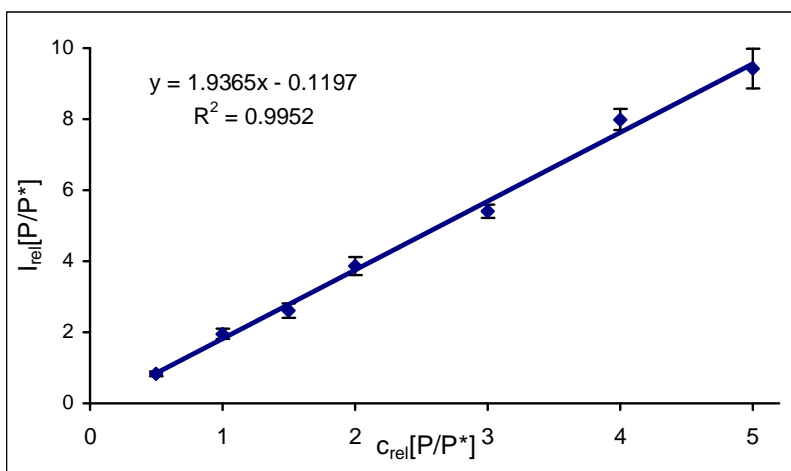


M-10.b

M-11. ábrák A P és P* peptid relatív intenzitásának (I_{rel}) ábrázolása a koncentráció arányuk függvényében. M-11.a, Minden egyes mért relatív intenzitás ábrázolása. A szaggatott vonalak az adott peptid mért relatív intenzitásainak a 95%-os konfidencia határait szemléltetik. M-11.b, A relatív intenzitások középértékének ábrázolása a peptidek megfelelő koncentráció arányának függvényében. A standard deviációt a hibavonalak reprezentálják. A minták adott mennyiségű P-peptid és 100-100 fmol P* peptid és fetuin emésztmény keverékei. 2×10^6 cfu *Escherichia coli* volt jelen minden minta esetében. A koncentráció tartomány a 0.5-5.0 intervallumba esett.

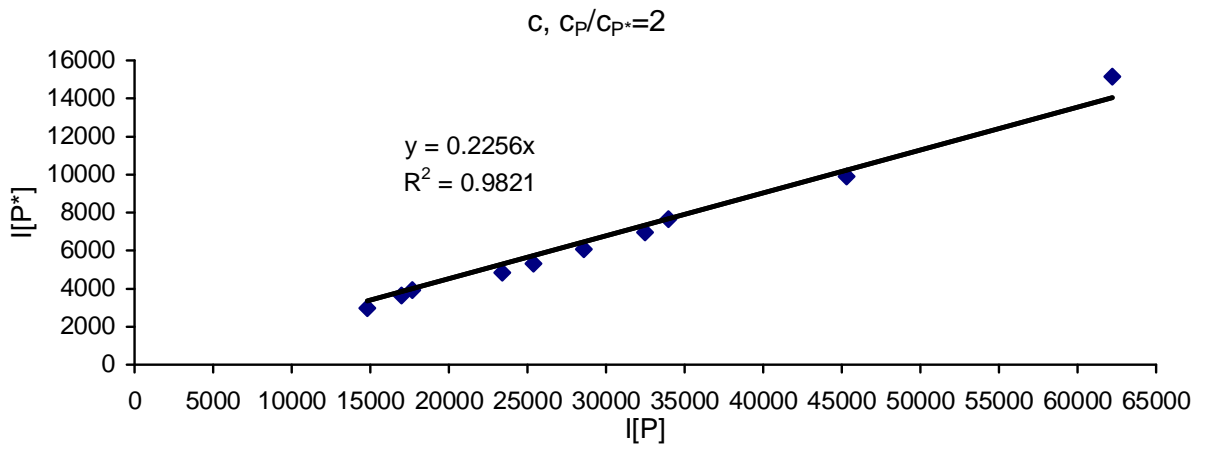
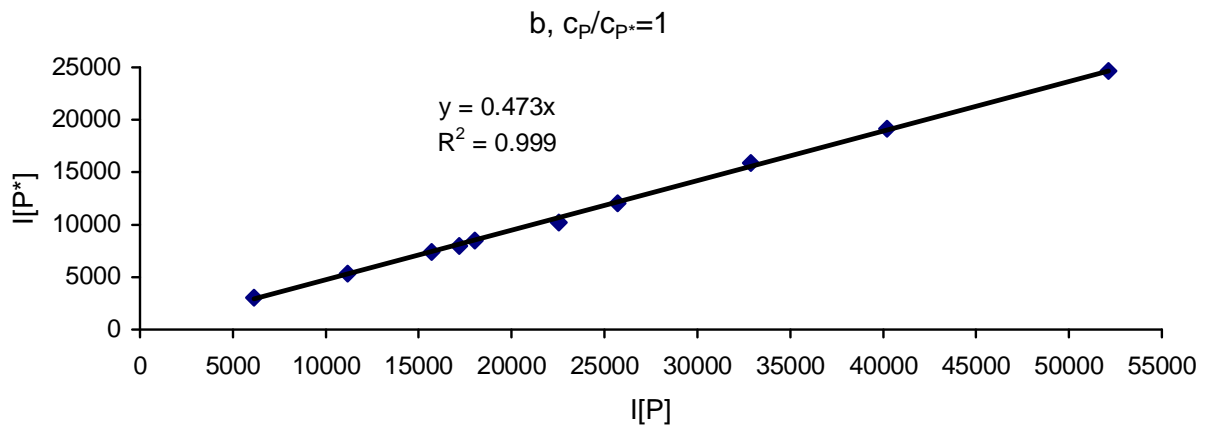
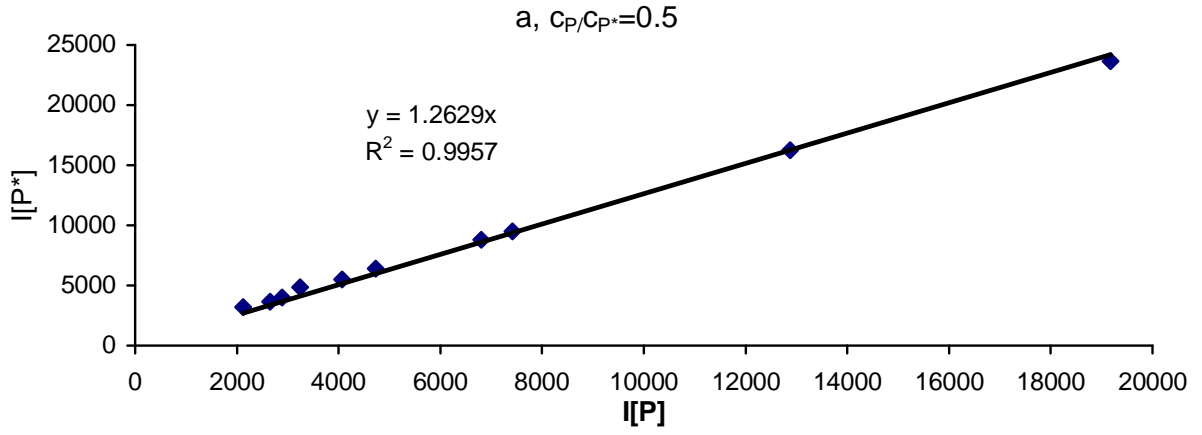


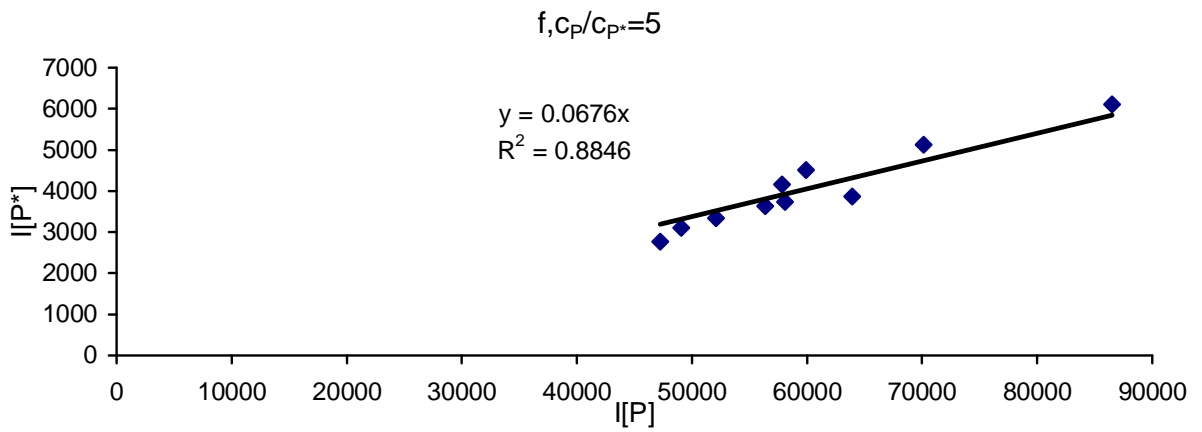
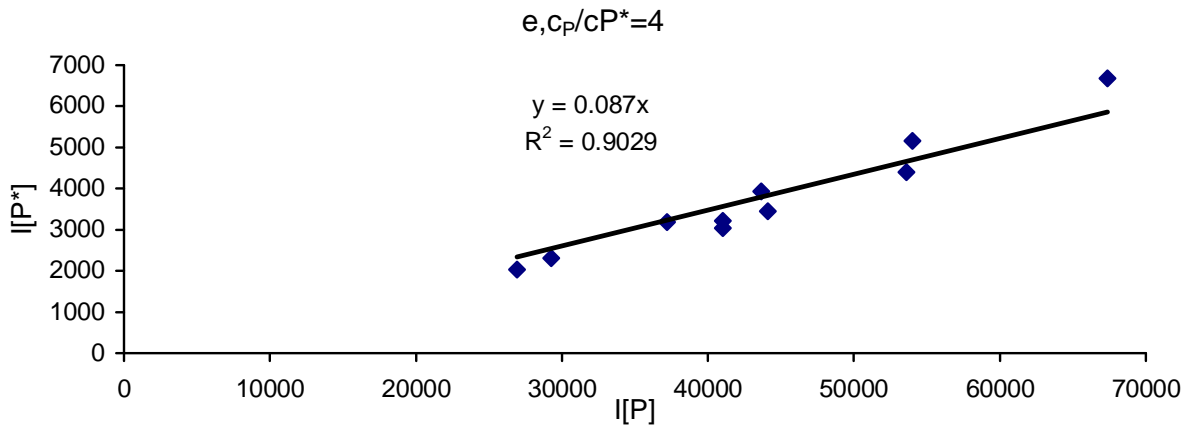
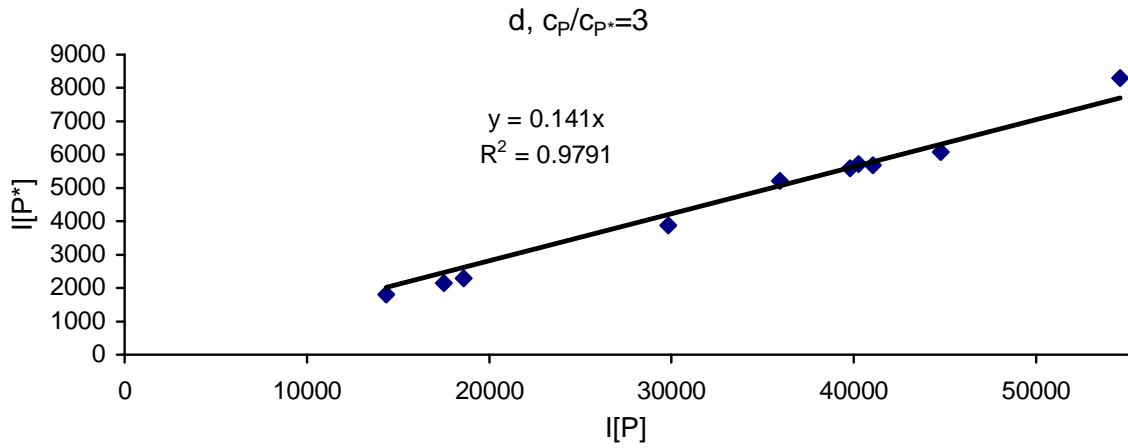
M-11.a

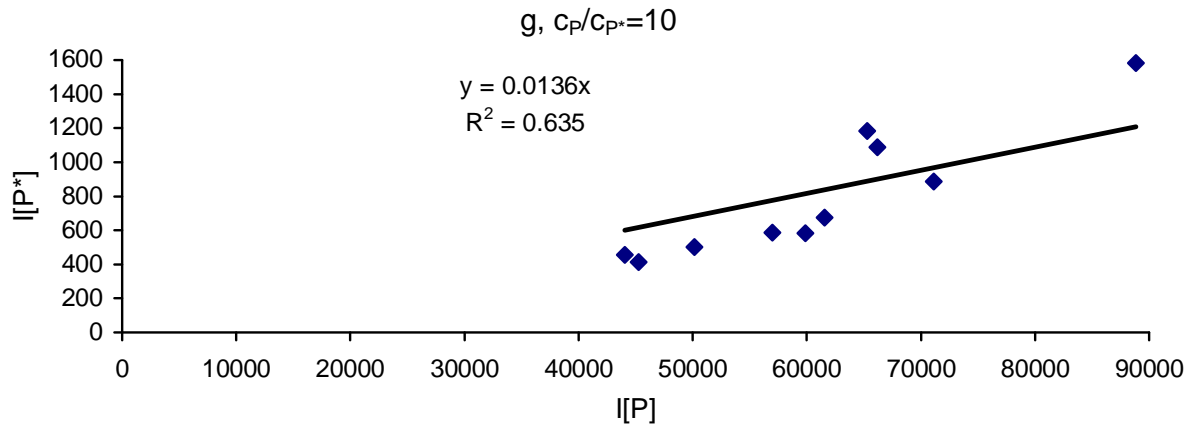


M-11.b

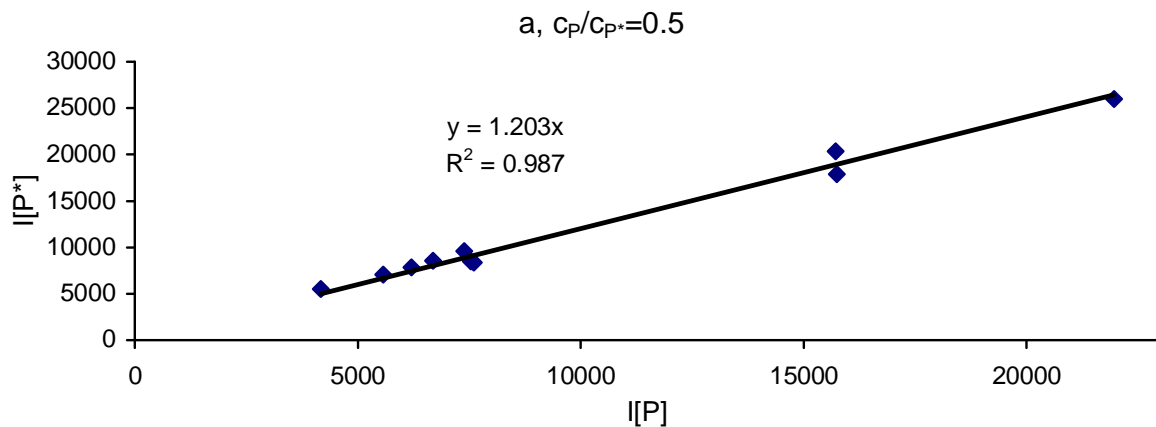
M-12. ábrák A P és P* peptidek intenzitásai közötti korreláció vizsgálata adott mintán belül, ahol a két peptid koncentráció aránya minden egyes ábrán feltüntetett értéknek felelt meg. 100 fmol fetuin triptikus emésztmény volt még jelen minden egyes mintában. A korrelációs egyenes szigorúan az origon átmenő egyes, mivel lineáris arányosság feltételezett a jelintenzitások között.

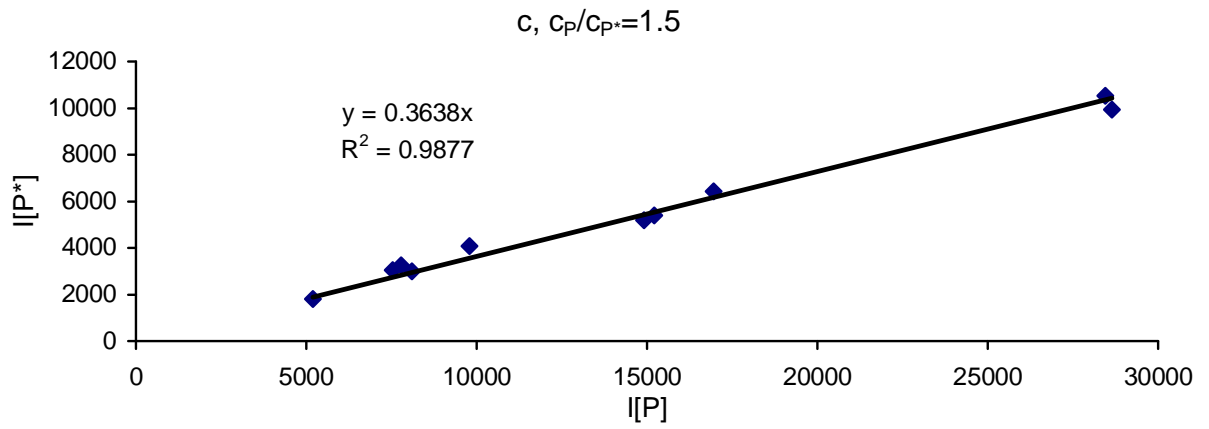
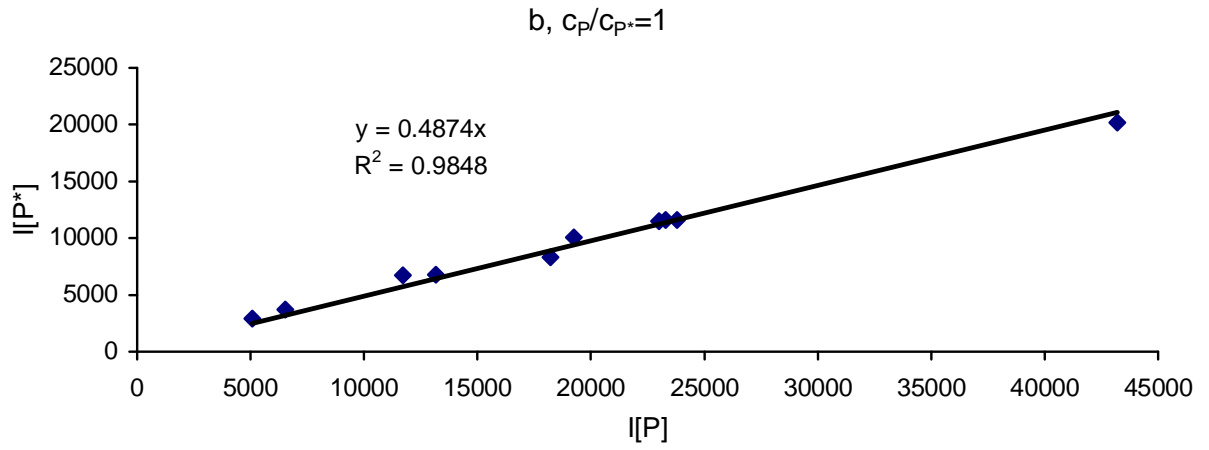


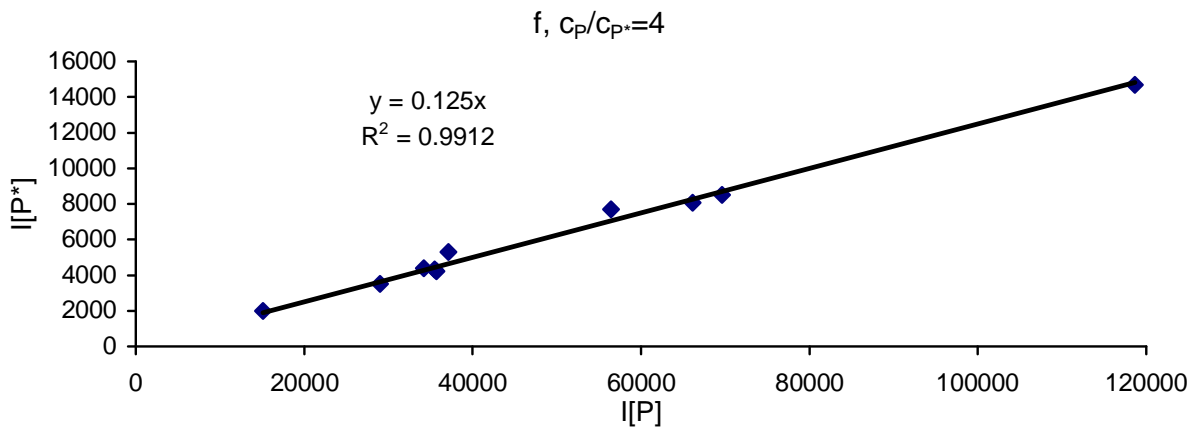
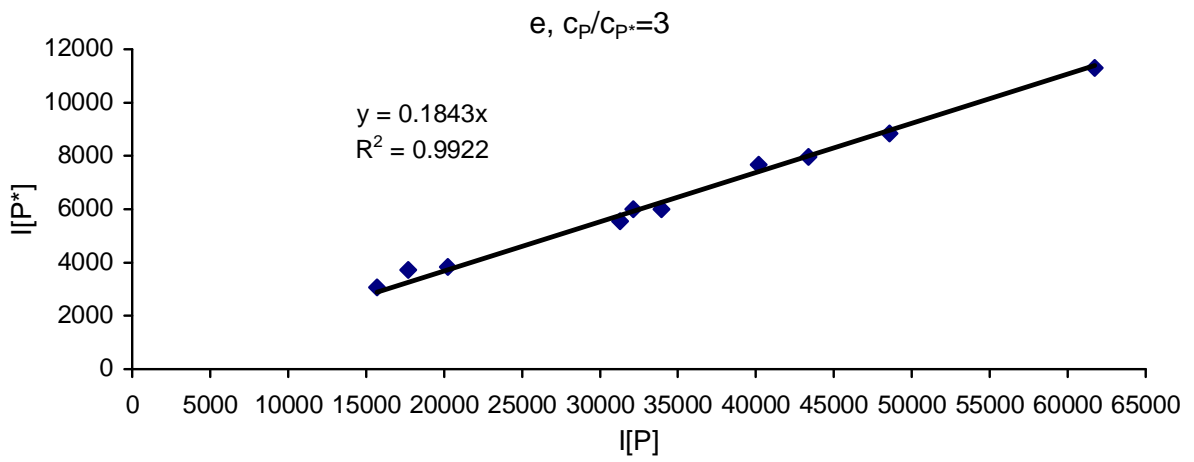
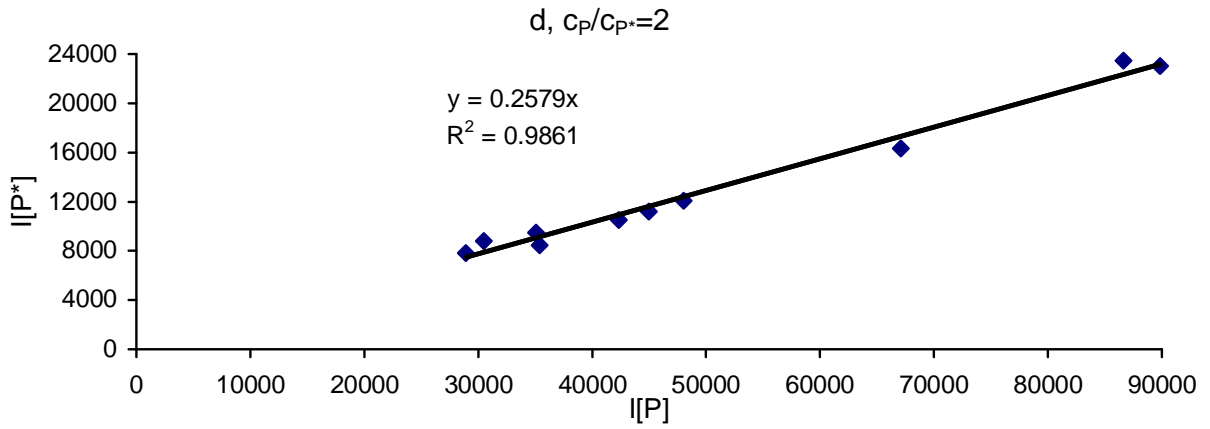


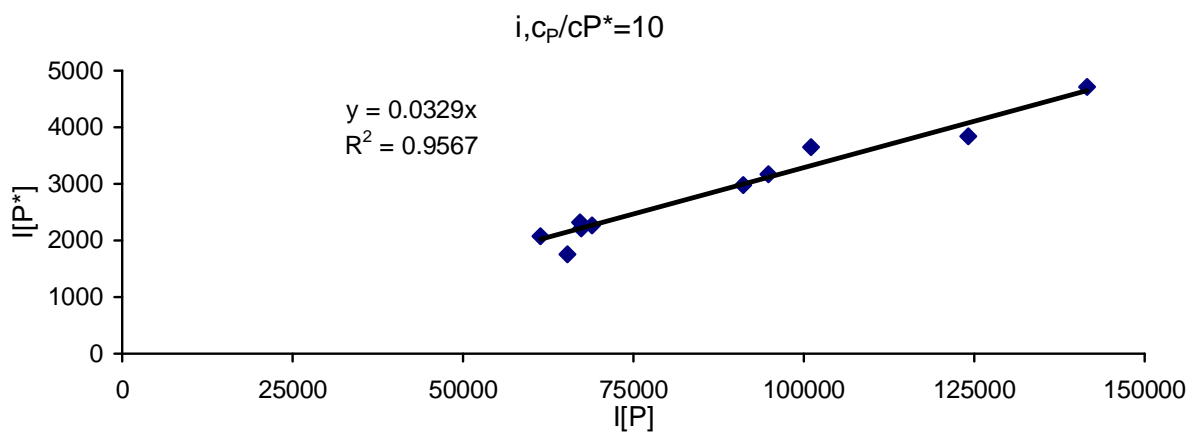
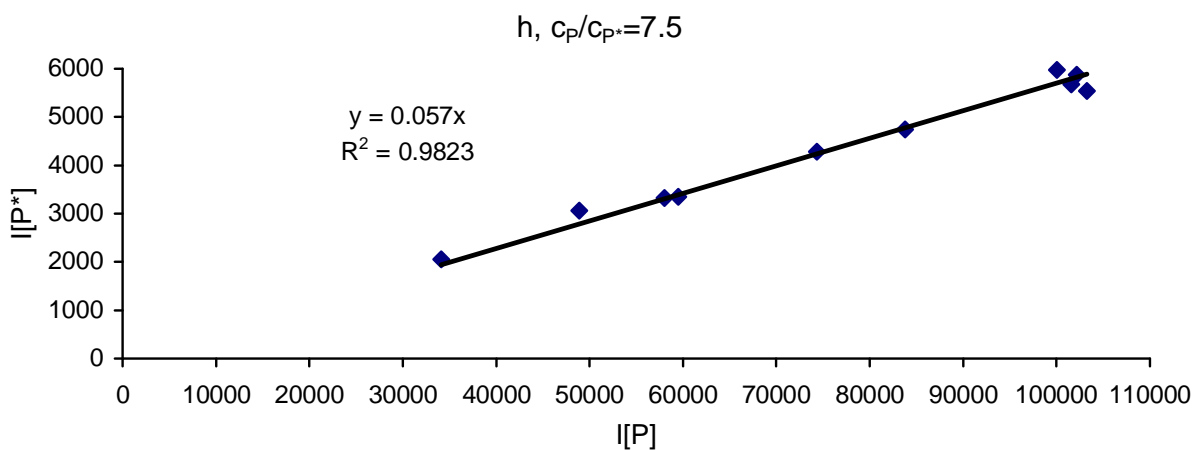
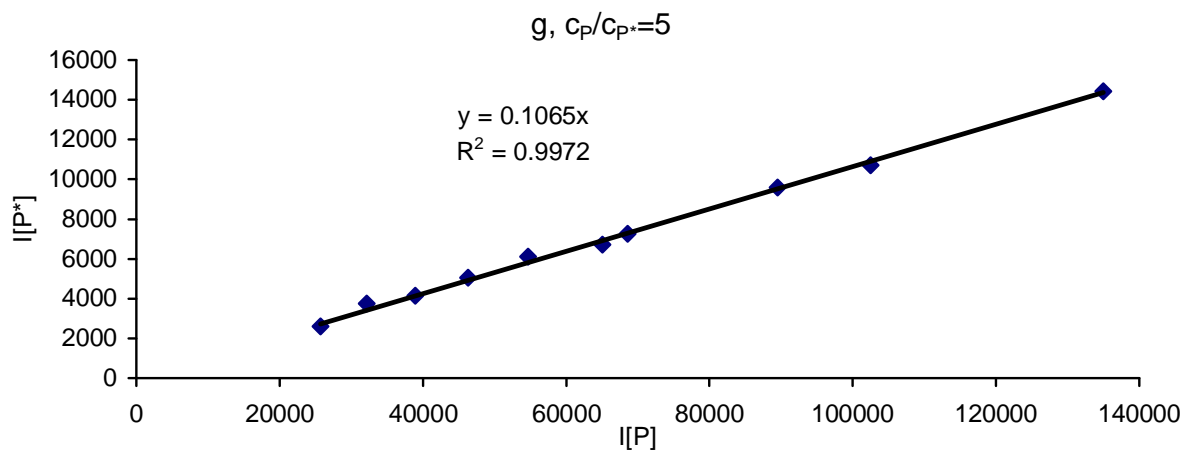


M-13. A P és P* peptidek intenzitásai közötti korreláció vizsgálata adott mintán belül, ahol a két peptid koncentráció aránya minden egyes ábrán feltüntetett értéknek felelt meg. 100 fmol fetuin triptikus emésztmény és 2×10^6 cfu *Escherichia coli* volt még jelen minden egyes minta esetében. A korrelációs egyenes szigorúan az origon átmenő egyes, mivel lineáris arányosság feltételezett a jelintenzitások között.



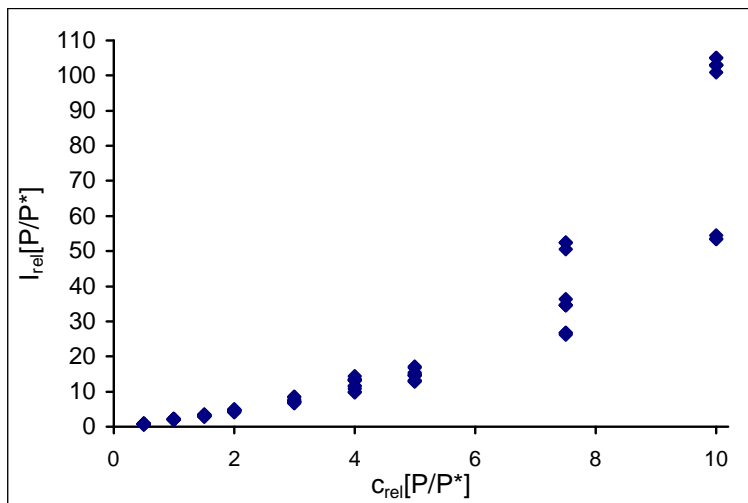




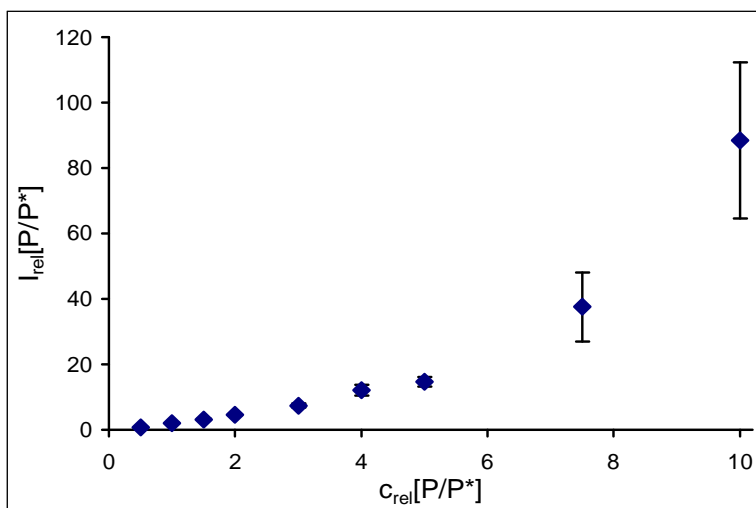


M-14. ábrák A P és P* peptid relatív intenzitásának ábrázolása a koncentráció arányuk függvényében. M-14.a, Minden egyes mért relatív intenzitás ábrázolása. A szaggatott vonalak az adott peptid mért relatív intenzitásainak a 95%-os konfidencia határait szemléltetik. **M-14.b,** A relatív intenzitások középértékének ábrázolása a peptidek megfelelő

koncentráció arányának függvényében. A standard deviációt a hibavonalak reprezentálják. A minták adott mennyiségű P-peptid és 100-100 fmol P* peptid és fetuin emésztmény keverékei.



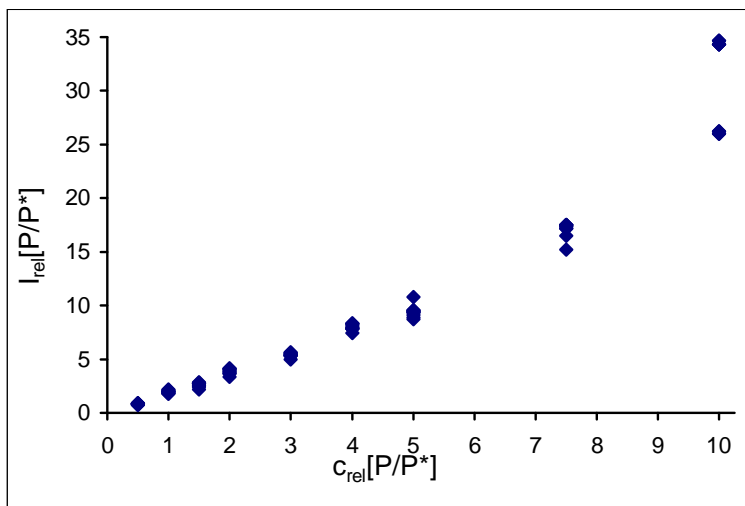
M-14.a



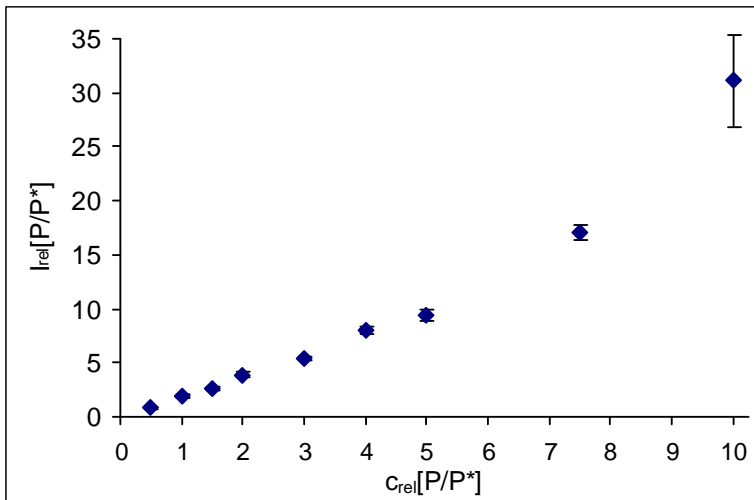
M-14.b

M-15. ábrák A P és P* peptid relatív intenzitásának ábrázolása a koncentráció arányuk függvényében. M-15.a, Minden egyes mért relatív intenzitás ábrázolása. A szaggatott vonalak az adott peptid mért relatív intenzitásainak a 95%-os konfidencia határait szemléltetik. **M-15.b,** A relatív intenzitások középértékének ábrázolása a peptidek megfelelő

koncentráció arányának függvényében. A standard deviációt a hibavonalak reprezentálják. A minták adott mennyiségű P-peptid és 100-100 fmol P* peptid és fetuin emésztmény keverékei. 2×10^6 cfu *Escherichia coli* volt jelen.



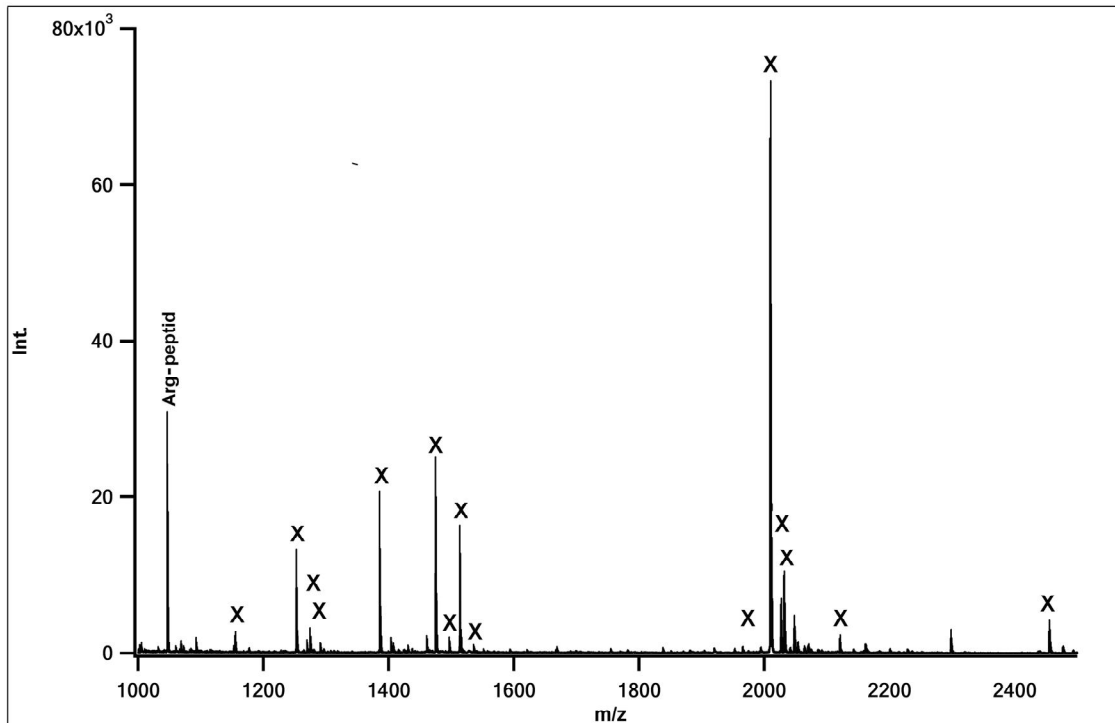
M-15.a



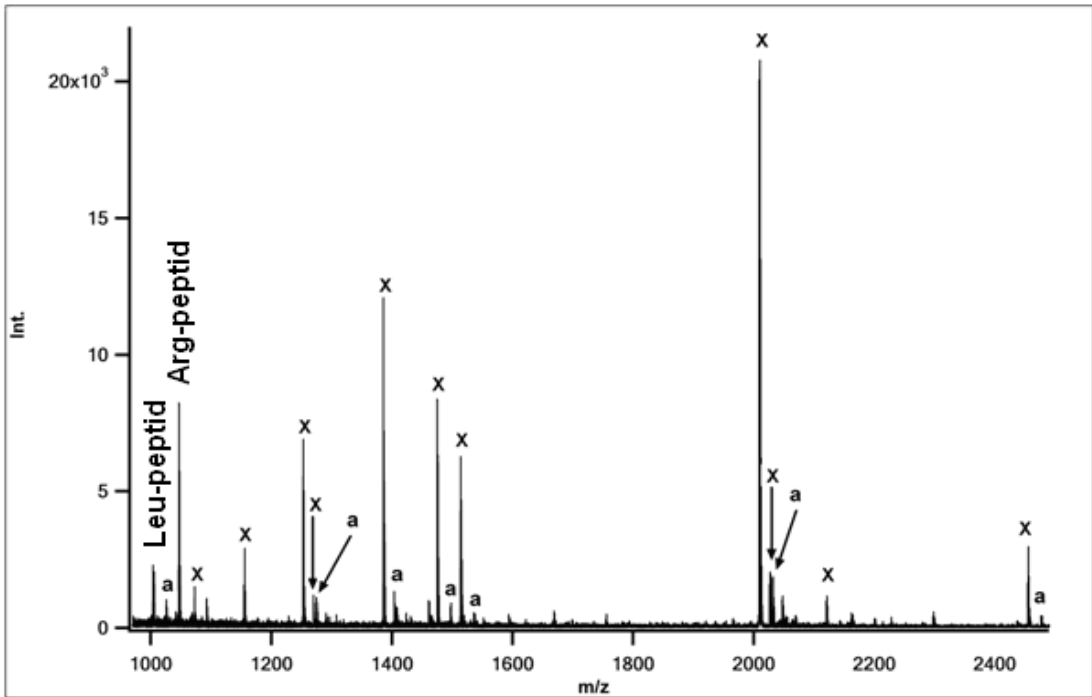
M-15.b

M-16. ábrák A háttérzaj és a jel/zaj viszony szemléltetésére random kiválasztott spektrumok. **M-16.a**, 200 fmol Arg-peptid és 100 fmol triptikus fetuin emésztmény keveréke. **M-16.b**, 400 fmol Leu-peptid és 100 fmol Arg-peptid és triptikus fetuin emésztmény keveréke. **c**, 100 fmol P* peptid, és triptikus fetuin emésztmény és 400 fmol P

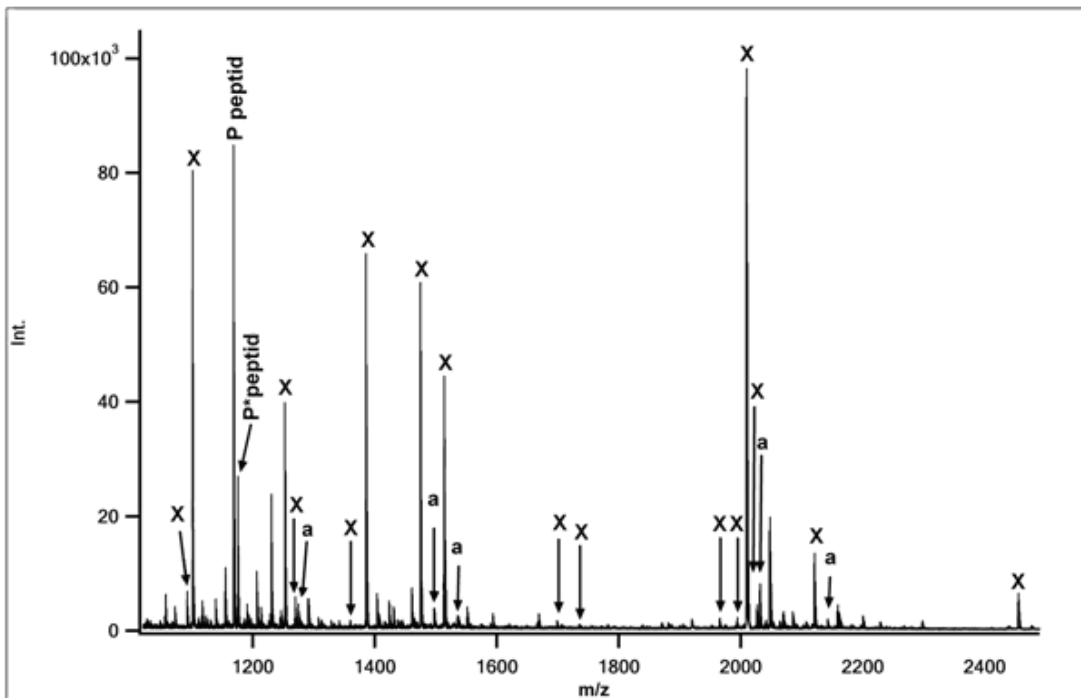
peptid keveréke. 2×10^6 cfu *Escherichia coli* volt jelen minden egyes minta esetében. "X": fetuin peptid; "a": fetuin peptidek nátrium adduktja.



M-16.a



M-16.b



M-16.c