

Identifizierung von Proteininteraktionen in synaptischen Vesikeln

Dissertation

zur Erlangung des

Doktorgrades der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

der

Naturwissenschaftlichen Fakultät I – Biowissenschaften –

der Martin-Luther-Universität

Halle-Wittenberg,

vorgelegt

von Frau **Sabine Wittig**, geb. Zurhorst



Datum der Verteidigung: 22.03.2024

Gutachter*innen

1. Prof. Dr. Carla Schmidt, Johannes-Gutenberg-Universität Mainz, Department of Chemistry – Biochemistry, Hanns-Dieter-Hüsch-Weg 17, 55128 Mainz
2. PD Dr. Hauke Lilie, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Institut für Biochemie und Biotechnologie, Kurt-Mothes-Str. 3, 06120 Halle
3. Prof. Dr. Henning Urlaub, Max-Planck-Institut für Multidisziplinäre Naturwissenschaften, Am Fassberg 11, 37077 Göttingen

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	V
Tabellenverzeichnis	VII
Abkürzungsverzeichnis	VIII
1 Zusammenfassung	1
2 Summary	3
3 Einleitung	5
3.1 Neuronen	5
3.2 Synapsen und der Kreislauf synaptischer Vesikel.....	7
3.2.1 Synapsen	7
3.2.2 Der Kreislauf synaptischer Vesikel	8
3.2.3 Synaptische Vesikel.....	11
3.3 Einzelne Proteine und Proteinkomplexe synaptischer Vesikel.....	12
3.3.1 Synaptobrevin-2.....	12
3.3.2 SV2A, Synaptophysin und strukturell ähnliche Proteine	14
3.3.3 V-ATPase.....	16
3.3.4 SNARE Komplex.....	18
3.3.5 Der vesikuläre Glutamatttransporter und andere Neurotransmittertransporter	20
3.3.6 Weitere abundante Proteine	20
3.3.7 Weitere Proteininteraktionen sowie Proteinkomplexe synaptischer Vesikel	21
3.4 Massenspektrometrie zur Identifizierung von Proteininteraktionen	21
3.4.1 Proteinidentifizierung mittels Tandemmassenspektrometrie	22
3.4.2 Chemische Quervernetzung kombiniert mit Massenspektrometrie.	25
3.4.3 Proteinmodifizierung zur Identifizierung der lösungsmittelzugänglichen Oberfläche eines Proteins.	27
3.4.4 Native Massenspektrometrie	28
3.4.5 Ionen-Mobilitäts-Massenspektrometrie.....	29

II | INHALTSVERZEICHNIS

4	Material und Methoden	31
4.1	Material	31
4.1.1	Chemikalien	31
4.1.2	Kommerziell erhältliche Reagenzien	31
4.1.3	Verbrauchsmaterialien	32
4.1.4	Enzyme	32
4.1.5	Proteine	32
4.1.6	Antikörper	34
4.1.7	Geräte	35
4.1.8	Software	36
4.2	Methoden	36
4.2.1	Proteinbiochemische Methoden	36
4.2.2	Methoden der Massenspektrometrie	40
5	Ergebnisse	50
5.1	Präparation und Charakterisierung der synaptischen Vesikel	50
5.1.1	Präparation der synaptischen Vesikel	50
5.1.2	Ausbeute der Präparationen	53
5.1.3	BoNT B-Assay	54
5.1.4	Charakterisierung der synaptischen Vesikel	55
5.1.5	Fusion synaptischer Vesikel mit Proteoliposomen	56
5.2	Proteomanalyse synaptischer Vesikel ¹	57
5.2.1	Identifizierung der Proteine synaptischer Vesikel	58
5.2.1	Quantitative Zusammensetzung synaptischer Vesikel	62
5.3	Proteininteraktionen synaptischer Vesikel ^{1,6}	67
5.3.1	Identifizierung der quervernetzten Peptide	67
5.3.2	Proteininteraktionen innerhalb des V-ATPase-Komplexes	70
5.3.3	Proteininteraktionsnetzwerk synaptischer Vesikel	74
5.3.4	Proteininteraktionen luminaler Proteinabschnitte	78
5.3.5	Modifikation der Proteine synaptischer Vesikel	83
5.4	Oligomerisierung von Synaptobrevin-2	84
5.4.1	Identifizierung verschiedener Synaptobrevin-2-Varianten	85
5.4.2	Oligomerisierung von Syb(1-116)	87

5.4.3	Oligomerisierung von Synaptobrevin-2-Liposomen.....	91
5.4.4	Oligomerisierung von Syb(1-96)	92
5.4.5	Oligomerisierung von Syb(49-96)	94
5.4.6	Ionenmobilitätsmessungen von Syb(49-96)	98
5.5	Synaptobrevin-2 in seiner natürlichen Umgebung ^{1,6}	99
5.5.1	Proteininteraktionen synaptischer Vesikel in der Abwesenheit von Synaptobrevin-2	100
5.5.2	Fixierung von Synaptobrevin-2 synaptischer Vesikel im SNARE-Komplex	102
5.5.3	Fusion mit Liposomen.....	106
6	Diskussion	110
6.1	Methodische Vorgehensweise	110
6.2	Zwei Funktionsstadien der V-ATPase	112
6.3	Oligomerisierung von Synaptobrevin-2.....	114
6.4	Oligomerisierung von Synaptophysin	119
6.5	Proteinnetzwerk synaptischer Vesikel	120
6.6	Die Unterscheidung von spezifischen und unspezifischen Interaktionen.....	121
6.7	Synaptophysin und strukturell ähnliche Proteine synaptischer Vesikel.....	124
7	Literaturverzeichnis	126
8	Anhang	137
8.1	Anhangsverzeichnis.....	137
8.1.1	Verzeichnis der Abbildungen im Anhang.....	138
8.1.2	Verzeichnis der Tabellen im Anhang.....	139
8.2	Ergänzende Abbildungen	140
8.3	Ergänzende Tabellen.....	148
8.3.1	Identifizierung der Proteine synaptischer Vesikel.....	148
8.3.2	Proteininteraktionen synaptischer Vesikel	185
8.3.3	Abstände innerhalb der V-ATPase	203
8.3.4	Modifizierte Aminosäurereste der Proteine synaptischer Vesikel	207
8.3.5	Identifizierte Quervernetzungen der Synaptobrevin-2-Varianten	214
8.3.6	Identifizierte Quervernetzungen nach Spaltung von Synaptobrevin-2 mit BoNT B...	216
8.3.7	Identifizierte Quervernetzungen nach Inkubation der synaptischen Vesikel mit einem Überschuss an löslichem Δ N-SNARE-Komplex.....	225
8.3.8	Identifizierte Quervernetzungen nach Fusion der synaptischen Vesikel mit Proteoliposomen	241

IV | INHALTSVERZEICHNIS

Danksagung	263
Publikationen	265
Präsentationen.....	266
Posterpräsentationen.....	267
Lebenslauf.....	268
Eidesstattliche Erklärung	269

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Abbildung eines Neurons.	6
Abbildung 2: Schematische Abbildung einer chemischen Synapse.	8
Abbildung 3: Synaptische Vesikel.	12
Abbildung 4: Synaptobrevin-2.	13
Abbildung 5: Topologie von Synaptoporin, SV2A, Synaptophysin und Synaptogyrin-1.	15
Abbildung 6: Aufbau der V-ATPase.	18
Abbildung 7: Schematische Abbildung der Fusions-Maschinerie.	19
Abbildung 8: Ablauf der Proteinidentifizierung mittels Massenspektrometrie.	22
Abbildung 9: Q Exactive Plus Hybrid Quadrupol-Orbitrapmassenspektrometer.	24
Abbildung 10: Quervernetzungsreaktionen.	26
Abbildung 11: Ablauf der Identifizierung von Proteininteraktionen mittel Massenspektrometrie.	27
Abbildung 12: Chromatogramm der Größenausschlusschromatographie aus einer Präparation synaptischer Vesikel.	51
Abbildung 13: Exemplarisches Gel einer der Präparationen synaptischer Vesikel.	53
Abbildung 14: Spaltung von Synaptobrevin-2 synaptischer Vesikel mit BoNT B.	55
Abbildung 15: Schematische Darstellung der Fusion von synaptischen Vesikeln mit Δ N-SNARE-Liposomen.	57
Abbildung 16: Proteomanalyse von fünf unterschiedlichen Präparationen synaptischer Vesikel.	59
Abbildung 17: Streudiagramme der iBAQ-Intensitäten.	60
Abbildung 18: Quantitative Zusammensetzung der cytosolischen V1-Domäne des V-ATPase-Komplexes.	64
Abbildung 19: Balkendiagramm der relativen iBAQ-Werte der Hauptproteinkomponenten der synaptischen Vesikel.	66
Abbildung 20: Spektrum eines intramolekular quervernetzten Peptidpaars.	68
Abbildung 21: Spektrum eines intermolekular quervernetzten Peptidpaars.	69
Abbildung 22: Venn-Diagramm der vier Replikate quervernetzter Proteine synaptischer Vesikel.	69
Abbildung 23: Identifizierte Proteininteraktionen innerhalb des V-ATPase-Komplexes.	71
Abbildung 24: Nachweis des aktiven und inaktiven V-ATPase-Komplexes.	73
Abbildung 25: Interaktionsnetzwerk synaptischer Vesikel.	75
Abbildung 26: Spektrum eines intermolekular quervernetzten Peptidpaars eines Homomers.	76
Abbildung 27: Western Blots mit anschließender Immundetektion quervernetzter Proteine synaptischer Vesikel.	77
Abbildung 28: Tertiäre Proteinnetzwerke synaptischer Vesikel.	78
Abbildung 29: Identifizierte Proteininteraktionen von Synaptophysin und Synaptoporin.	80
Abbildung 30: Balkendiagramm der Proteininteraktionen von SV2A, Synaptobrevin-2, Synaptogyrin-1, Synaptophysin und Synaptoporin.	81
Abbildung 31: Proteininteraktionen von SV2A, Synaptophysin und Synaptogyrin-1.	82

VI | ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 32: Proteininteraktionen luminaler Proteindomänen mit Synaptobrevin-2.	83
Abbildung 33: Balkendiagramme der drei Synaptobrevin-2-Varianten.....	86
Abbildung 34: Identifizierung der drei Synaptobrevin-2-Varianten.	87
Abbildung 35: Natives Massenspektrum der Volllängenvariante Syb(1-116).....	88
Abbildung 36: Quervernetzung von Syb(1-116).	89
Abbildung 37: Interaktionsnetzwerk der Volllängenvariante Syb(1-116).	90
Abbildung 38: Quervernetzung von Syb(1-116)-Liposomen.....	92
Abbildung 39: Native Massenspektren von Syb(1-96).....	93
Abbildung 40: Proteininteraktionen von Syb(1-96).	94
Abbildung 41: Native Massenspektren von Syb(49-96).....	96
Abbildung 42: Proteininteraktionen von Syb(49-96).	97
Abbildung 43: Ergebnisse der IM-MS von Syb(49-96).	99
Abbildung 44: Western Blots synaptischer Vesikel vor und nach der Spaltung mit BoNT B.....	100
Abbildung 45: Interaktionsnetzwerk von synaptischen Vesikeln nach Spaltung von Synaptobrevin-2 mittels BoNT B.	102
Abbildung 46: Schematische Darstellung der Bindung des löslichen Δ N-SNARE-Komplexes an Synaptobrevin-2 synaptischer Vesikel.	103
Abbildung 47: Western Blots bestätigen die Zusammenlagerung des gesamten Synaptobrevin-2 der synaptischen Vesikel in SNARE-Komplexen.....	104
Abbildung 48: Interaktionsnetzwerk synaptischer Vesikel, die mit dem löslichen Δ N-SNARE-Komplex inkubiert wurden.....	106
Abbildung 49: Spaltung von Synaptobrevin-2 mit BoNT B nach Fusion mit Δ N-SNARE-Liposomen.	107
Abbildung 50: Interaktionsnetzwerk der mit Liposomen fusionierten synaptischen Vesikel.....	109
Abbildung 51: Schematische Darstellung der reversiblen Dissoziation der V-ATPase in den unterschiedlichen Funktionsstadien synaptischer Vesikel.....	114

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Ausbeute der Präparationen synaptischer Vesikel.....	54
Tabelle 2: Identifizierung der Proteinuntereinheiten der V-ATPase.....	61
Tabelle 3: Massen der nachgewiesenen Syb(1-96) Oligomere.	93
Tabelle 4: Massen der nachgewiesenen Syb(49-96) Oligomere.	96

Abkürzungsverzeichnis

ACN	Acetonitril
AmAc	Ammoniumacetat
ATD	Arrival Time Distribution
ATP	Adenosintriphosphat
BoNT B	Botulinum Neurotoxin B
BS3	Bis(sulfosuccinimidyl)suberat
BSA	Bovines Serumalbumin
CHAPS	3-[(3-Cholamidopropyl)dimethylammonio]-1-propansulfonat
DDA	datenabhängiger Aufnahmemodus (von engl.: <i>Data Dependent Acquisition</i>)
DEPC	Diethylpyrocarbonat
DOPC	1,2-Dioleoyl-sn-Glycero-3-Phosphocholin
DOPE	1,2-Dioleoyl-sn-Glycero-3-Phosphoethanolamin
DOPS	1,2-Dioleoyl-sn-Glycero-3-Phosphoserin
DSS	Disuccinimidylsuberat
DTT	Dithiothreitol
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ESI	Elektrosprayionisation
FA	Ameisensäure (von engl.: <i>Fumaric Acid</i>)
FDR	Falscherkennungsrate (von engl.: <i>False Discovery Rate</i>)
HCD	Hochenergie-Stoßaktivierung (von engl.: <i>High-energy Collision-induced Dissociation</i>)
HEPES	4-(2-Hydroxyethyl)-piperazin-1-ethansulfonsäure
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitchromatographieanlage
IAA	Iodacetamid
iBAQ	Intensitätsbasierte absolute Quantifizierung
ID	Identifikator
IM	Ionenmobilität
KCl	Kaliumchlorid
LC	Flüssigkeitschromatographie
<i>m/z</i>	Mass-zu-Ladungs-Verhältnis
MOPS	3-(<i>N</i> -Morpholino)propansulfonsäure
MQ	Max Quant
MS	Massenspektrometrie
MS/MS	Tandem-Massenspektrometrie
NHS	<i>N</i> -Hydroxysuccinimid
OD	Optische Dichte
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung

PBS-T	Phosphatgepufferte Salzlösung-Tween
PMSF	Phenylmethylsulfonylfluorid
RPC	Umkehrphasenchromatographie von <i>engl. reversed-phase chromatography</i>
SA	Sequenzabdeckung
SDS	Natriumlaurylsulfat (von engl.: <i>Sodium Lauryl Sulfate</i>)
SNAP	Synaptosomal-assoziiertes Protein (von engl.: <i>Synaptosomal-Associated Protein</i>)
TCEP	Tris(2-carboxyethyl)phosphin-hydrochlorid (von engl.: <i>tris(2-carboxyethyl)phosphine</i>)
TFA	Trifluoressigsäure (von engl.: <i>Trifluoroacetic acid</i>)
TOF	Flugzeitanalysator (von engl.: <i>Time Of Flight Analyser</i>)
TrisBase	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
VGat	Vesikuläre γ -Aminobuttersäure-Transporter (von engl.: <i>Vesicular γ-Aminobutyric acid Transporter</i>)
VGlu	Vesikuläre Glutamattransporter (von engl.: <i>Vesicular Glutamate Transporter</i>)

1 Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurden die Interaktionen von Proteinen synaptischer Vesikel mittels chemischer Quervernetzung in der Kombination mit Massenspektrometrie (MS) untersucht. In synaptischen Vesikeln sind Neurotransmitter gespeichert, welche durch Fusion mit der präsynaptischen Membran bei Eintreffen eines Aktionspotentials freigesetzt werden. Synaptische Vesikel durchlaufen in einem Kreislauf verschiedene Stadien, um dieser Funktion nachgehen zu können. Obwohl viel über die Zusammensetzung synaptischer Vesikel bekannt ist, sind die Proteininteraktionen, welche sich für die unterschiedlichen Funktionsstadien ausbilden, weitestgehend unaufgeklärt.

Zur Identifikation der Proteininteraktionen wurden synaptische Vesikel aus Rattenhirnen präpariert und die häufigsten Proteine zunächst immunologisch nachgewiesen. Mithilfe elektronenmikroskopischer Aufnahmen, einem Botulinum-Neurotoxin B (BoNT B)-Assay und einem Fusions-Assay wurde weitestgehend bestätigt, dass die synaptischen Vesikel intakt sind. Die relative Häufigkeit der Proteine synaptischer Vesikel wurde mit Hilfe einer MS-basierten markierungsfreien Quantifizierungsmethode bestimmt. Dies zeigte, dass unterschiedliche Präparationen synaptischer Vesikel in der Proteinzusammensetzung vergleichbar sind und die Hauptproteine in erwarteter Stöchiometrie vorliegen.

Durch Kombination chemischer Quervernetzung mit MS wurden Proteininteraktionen in synaptischen Vesikeln nachgewiesen und daraus Interaktionsnetzwerke erstellt. In diesen Netzwerken stellte sich Synaptobrevin-2 als Hauptinteraktionspartner der Proteine synaptischer Vesikel heraus. Außerdem wurden zwei unterschiedliche Funktionsstadien der V-ATPase nachgewiesen. Zum einen konnte die inaktive, membranständige V_0 -ATPase und zum anderen der intakte, aktive V-ATPase-Komplex, bestehend aus der V_0 -Domäne und der cytosolischen V_1 -Domäne, nachgewiesen werden. Für Synaptophysin, Synaptobrevin-2 und SV2A wurden Proteininteraktionen über ihre luminalen Schlaufen nachgewiesen. Diese waren für das polare Quervernetzungsreagenz erreichbar, obwohl dieses nicht durch die Membran diffundieren kann. Die Zugänglichkeit für polare Lösungsmittel wurde nach chemischer Proteinmodifikation mittels MS bestätigt. Die identifizierten Interaktionen indizieren daher eine räumliche Anordnung der luminalen Schlaufen, die eine Zugänglichkeit aus dem Cytosol zulassen. Diese Eigenschaft lässt eine weitere Funktion dieser Proteine vermuten, welche für die reversible Vergrößerung synaptischer Vesikel während der Neurotransmitteraufnahme mitverantwortlich ist.

2 | ZUSAMMENFASSUNG

Da Synaptobrevin-2 eine zentrale Rolle im Interaktom synaptischer Vesikel spielt, wurde das Oligomerisierungsverhalten verschiedener Synaptobrevin-2-Varianten in Abwesenheit anderer Interaktionspartner untersucht. Hierfür wurden verschiedene Synaptobrevin-2-Varianten sowohl mittels chemischer Quervernetzung in Kombination mit MS als auch mittels nativer MS untersucht. Es zeigte sich anhand der Untersuchung der verschiedenen Varianten, dass der Oligomerisierungsgrad von Synaptobrevin-2 mit Abnahme der Proteinelänge zunimmt. Durch ergänzende Untersuchungen mittels Ionenmobilitäts-MS (IM-MS) zeigten sich typische Eigenschaften für intrinsisch ungeordnete Proteine. Aus den Ergebnissen konnte geschlossen werden, dass das Oligomerisierungsverhalten von Synaptobrevin-2 auf seine ungeordnete Struktur zurückzuführen ist und nicht auf die Ausbildung geordneter Strukturen.

Das Interaktionsverhalten von Synaptobrevin-2 wurde ergänzend in seiner nativen Umgebung, den synaptischen Vesikeln, eingehend untersucht. Dies erlaubte die Unterscheidung zwischen stabilen, spezifischen Interaktionen und unspezifischen Interaktionen. Für diese Unterscheidung wurden drei biochemische bzw. biophysikalische Versuche durchgeführt: (i) die Spaltung von Synaptobrevin-2 mittels BoNT B, (ii) das Fixieren von Synaptobrevin-2 im SNARE-Komplex (Engl. Abkürzung für: soluble *N*-ethylmaleimide-sensitive-factor attachment receptor) und (iii) die Vergrößerung der Membran durch Fusion mit Liposomen.

Zusammenfassend wurden in dieser Arbeit Proteininteraktionsnetzwerke verschiedener Populationen synaptischer Vesikel erstellt. Es wurden zwei unterschiedliche Funktionsstadien der V-ATPase und unkonventionelle Anordnungen der luminalen Schlaufen von SV2A, Synaptophysin und strukturell verwandter Proteine nachgewiesen. Durch die unterschiedlichen Versuche wurde zwischen spezifischen und unspezifischen Interaktionen unterschieden. Die genaue Kenntnis von Proteininteraktionen in synaptischen Vesikeln ist eine notwendige Grundlage, um neurodegenerative Krankheiten besser zu verstehen und behandeln zu können. Diese Arbeit liefert dafür einen neuen und wichtigen Beitrag.

2 Summary

In this thesis, the interactions of proteins of synaptic vesicles were studied using chemical cross-linking in combination with mass spectrometry (MS). Synaptic vesicles store neurotransmitters which are released by fusion with the presynaptic membrane upon arrival of an action potential. Synaptic vesicles pass through different stages in a cycle to fulfil this function. Although much is known about the composition of synaptic vesicles, the protein interactions required for the different functional stages are largely unknown.

For identification of protein interactions, synaptic vesicles were purified from rat brains and the most abundant proteins were immunologically confirmed. Electron microscopy images, a BoNT B assay, and a fusion assay largely confirmed that the synaptic vesicles were intact. The relative abundance of synaptic vesicle proteins was determined using a MS-based label-free quantification method. This showed that different preparations of synaptic vesicles are comparable in protein composition and that the major proteins are present in the expected stoichiometry.

By combining chemical cross-linking with MS, interaction networks could be generated by identifying protein interactions of synaptic vesicles. In these networks, synaptobrevin-2 was found to be the main interaction partner of synaptic vesicle proteins. In addition, two different functional stages of the V-ATPase were detected. On the one hand, the inactive, membrane-embedded V_0 -ATPase and, on the other hand, the intact, active V-ATPase complex consisting of the V_0 -domain and the cytosolic V_1 -domain could be identified. Protein interactions were identified for synaptophysin, synaptobrevin-2, and SV2A via their luminal loops. Those were accessible to the polar cross-linking reagent, which cannot diffuse across the membrane. Accessibility to solvents was confirmed by chemical protein modification using MS. The identified interactions indicate a spatial arrangement of the luminal loops that allow accessibility from the cytosol. This property suggests another function of these proteins, which contributes to the reversible increase of synaptic vesicle size during neurotransmitter uptake.

4 | SUMMARY

Since synaptobrevin-2 plays a central role in the interactome of synaptic vesicles, the oligomerization of different synaptobrevin-2 variants in the absence of other interaction partners was investigated. For this purpose, different synaptobrevin-2 variants were studied by chemical cross-linking in combination with MS as well as by native MS. The degree of oligomerization of synaptobrevin-2-variants was found to increase with decrease in protein length. Complementary studies by IM-MS revealed typical behaviour for intrinsically disordered proteins. From the results, it could be concluded that the oligomerization of synaptobrevin-2 is due to its disordered structure and not due to the formation of ordered structures.

The interaction behaviour of synaptobrevin-2 in its native environment, the synaptic vesicles, was further studied in detail. This allowed the distinction between stable, specific interactions and nonspecific interactions. For this distinction, three biochemical or biophysical experiments were performed: (i) cleavage of synaptobrevin-2 using BoNT B, (ii) fixation of synaptobrevin-2 in the SNARE complex, and (iii) enlargement of the membrane by fusion with liposomes.

In summary, in this study protein interaction networks of different populations of synaptic vesicles were generated, as well as two distinct functional stages of V-ATPase and unconventional arrangements of the luminal loops of SV2A, synaptophysin, and structurally related proteins were identified. The different experiments allowed a distinction between specific and non-specific interactions. Accurate knowledge of protein interactions in synaptic vesicles are a necessary basis to better understand and to treat neurodegenerative diseases. This work provides a new and important contribution for this purpose.

3 Einleitung

In dieser Arbeit wurden die Interaktionen der Proteine synaptischer Vesikel untersucht. Dies ist von Relevanz, da die Funktion synaptischer Vesikel für eine erfolgreiche Weiterleitung von Nervenimpulsen und somit der Funktion des gesamten Körpers entscheidend ist. Um dies zu gewährleisten, muss ein komplexer Funktionsapparat aufrechterhalten werden, an welchem zahlreiche Proteininteraktionen beteiligt sind. Die Untersuchung dieser Proteininteraktionen, teilweise bekannt, größtenteils jedoch unbekannt, ist eine Grundlage, um zukünftig die Abläufe innerhalb der Neuronen im Detail zu verstehen. Dieses Wissen ebnet den Weg für zukünftige Fortschritte in der Behandlung neurodegenerativen Erkrankungen, wie beispielsweise Morbus Alzheimer.

3.1 Neuronen

Das menschliche Nervensystem besteht aus ca. 86 Milliarden Neuronen [1]. Neuronen bestehen typischerweise aus einem Zellkörper (*Soma*), sowie aus Strukturelementen wie Neurofibrillen und Neurotubuli. Sie weisen alle typischen Organellen für eukaryotische Zellen, wie u.a. einen Zellkern oder Mitochondrien, auf. Mit seinen baumartig verzweigten Dendriten nimmt das Neuron fördernde und hemmende Signale von anderen Neuronen auf. Das Axon überträgt diese Signale auf nachgeschaltete Neuronen oder die Effektoren, wie Muskel- und Drüsenzellen. In Abbildung 1 ist ein Neuron schematisch dargestellt.

6 | EINLEITUNG

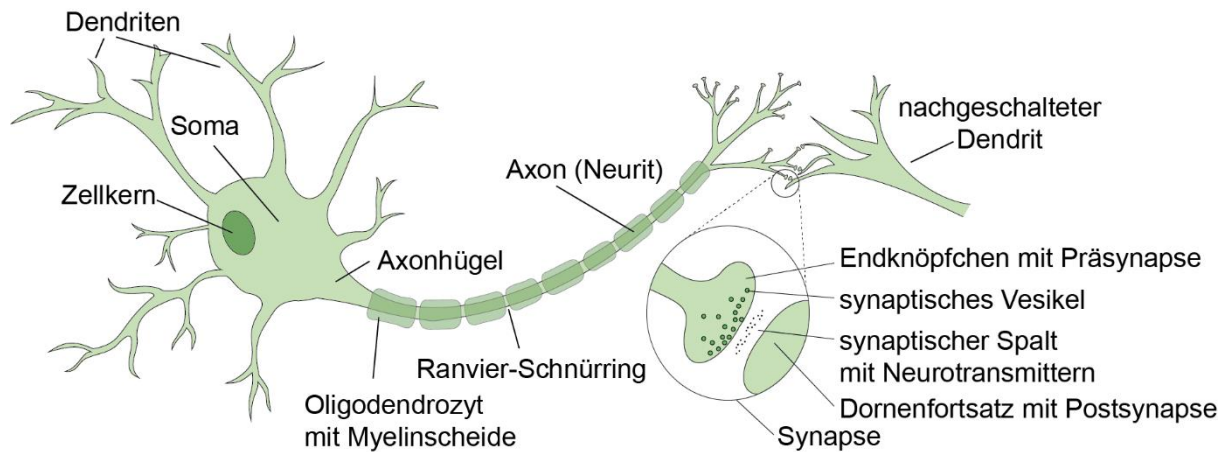


Abbildung 1: Schematische Abbildung eines Neurons.

Der Zellkörper enthält den Zellkern, den Speicher der genetischen Information, und führt zu zwei Arten von Zellfortsätzen, den Axonen und Dendriten. Die meisten Axone im zentralen Nervensystem sind sehr dünn (zwischen 0,2 und 20 μm im Durchmesser), verglichen mit dem Durchmesser des Zellkörpers (50 μm oder mehr). Viele Axone sind durch Oligodendrozyten mit ummantelnder Myelinscheide isoliert, die in regelmäßigen Abständen durch die Ranvier-Schnürringe unterbrochen werden. Das Aktionspotential wird meist am Axonhügel ausgelöst. Die Axonzweige eines präsynaptischen Neurons übertragen Signale an den Synapsen an ein postsynaptisches Neuron. Die Äste eines einzigen Axons können mit bis zu 1000 anderen Neuronen Synapsen bilden. Während das Axon das Ausgangselement des Neurons ist, sind die Dendriten die Eingangselemente des Neurons. Zusammen mit dem Zellkörper erhalten sie synaptische Signale von anderen Neuronen [2]. Modifiziert nach Dietel 2012 [3].

Neuronen weisen im nicht stimulierten Zustand ein negatives Ruhepotential an der Membran auf. Dieses Membranpotential wird durch spannungsabhängige Ionenkanäle reguliert und kann sowohl gesenkt als auch gesteigert werden. Übersteigen die erregenden Signale am Axonhügel einen Schwellenwert, depolarisiert die Membran schlagartig. Dieses depolarisierende Aktionspotential wird über das Axon bis an die synaptischen Enden weitergeleitet und dort übertragen [2]. An chemischen Synapsen geschieht die Übertragung mit Hilfe von Neurotransmittern [4]. Erreicht ein Aktionspotential das Endknöpfchen, löst es dort einen Calciumioneneinstrom aus. Der Anstieg an Calciumionen löst wiederum die Fusion von synaptischen Vesikeln mit der präsynaptischen Membran aus. In den synaptischen Vesikeln sind Neurotransmitter gespeichert, welche durch die Fusion in den synaptischen Spalt freigesetzt werden. Die Neurotransmitter diffundieren durch den synaptischen Spalt und initiieren an der postsynaptischen Endigung des nachgeschalteten Neurons eine neue Signaltransduktionskaskade. Diese Signaltransduktionskaskade, mittels Freisetzung von Neurotransmittern, wurde bereits 1969 beschrieben [5].

3.2 Synapsen und der Kreislauf synaptischer Vesikel

3.2.1 Synapsen

Die Kontaktstelle zwischen einem Endknöpfchen des Senderneurons und dem Dornenfortsatz des Empfängerneurons wird als Synapse bezeichnet. An den Synapsen findet die Reizübertragung von einem Neuron auf das nächste Neuron statt. Im Endknöpfchen des Senderneurons sind die synaptischen Vesikel lokalisiert, die in dieser Arbeit genauer betrachtet wurden. Synaptische Vesikel sind kleine Organellen, welche in erster Linie für die Speicherung sowie der Ausschüttung von Neurotransmittern verantwortlich sind. Die mit Neurotransmittern gefüllten synaptischen Vesikel werden in die aktive Zone (engl.: *active zone*) am Endknöpfchen rekrutiert. Um die rekrutierten synaptischen Vesikel befindet sich ein Proteingerüst, welches die gezielte Exozytose vorbereitet. Dieses Proteingerüst besteht aus großen Proteinen mit mehrteiligen Proteindomänen, wie z.B. Basson, Piccolo, ELKS/Rab6-interacting/CAST family members (ERCs), liprin- α , MINT1 und CASK [6]. Auf der postsynaptischen Seite befinden sich wiederum Multiproteinkomplexe aus Rezeptorproteinen welche als postsynaptische Dichte (engl.: *postsynaptic density*) das Pendant zur aktiven Zone darstellen. Aktive Zone und postsynaptische Dichte sind exakt aufeinander ausgerichtet. Zelladhäsionsmoleküle halten die Synapse zusammen. Im Bereich der postsynaptischen Dichte sind Rezeptorproteine und Ionenkanäle (z.B. Glutamatrezeptoren) lokalisiert, dorthin werden auch Signalproteine für die Reizweiterleitung rekrutiert. Rezeptor- und Signalproteine sind durch Gerüstproteine in der postsynaptischen Dichte verankert [6].

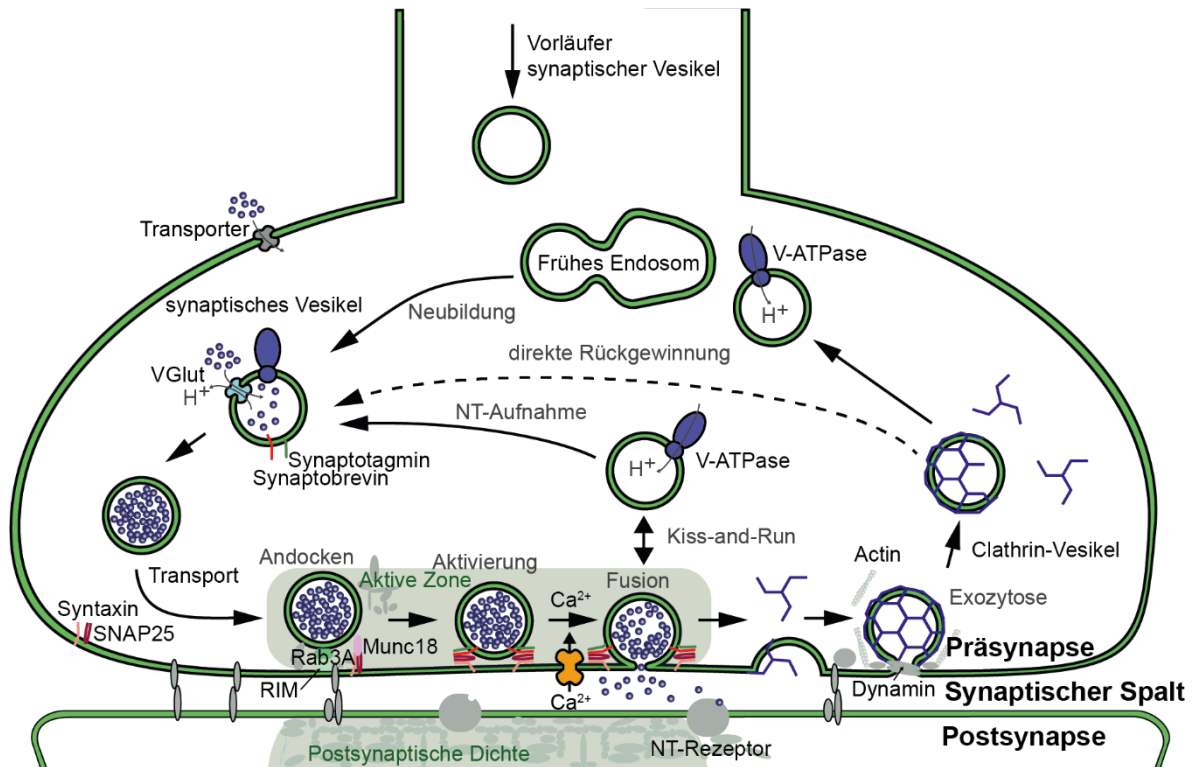


Abbildung 2: Schematische Abbildung einer chemischen Synapse.

Synaptische Vesikel werden an der präsynaptischen Seite gebildet und recycelt, wobei wahrscheinlich ein zusätzlicher Sortierprozess der Proteine über endosomale Intermediate stattfindet. Mit Neurotransmittern gefüllte synaptische Vesikel werden in die aktive Zone rekrutiert. Bei Stimulation fusionieren die Vesikel und setzen Neurotransmitter frei, welche durch den synaptischen Spalt diffundieren und an postsynaptische Neurotransmitter-Rezeptoren binden. Die Aktivierung dieser Rezeptoren führt zu einem Einstrom von Calciumionen, welche postsynaptische Signaltransduktionskaskaden auslösen. In der postsynaptischen Dichte zusammengesessene Multiproteinkomplexe, bündeln Rezeptoren und organisieren das Zusammenspiel verschiedener Signalkomponenten. Modifiziert nach [6].

3.2.2 Der Kreislauf synaptischer Vesikel

Damit synaptische Vesikel bei Eintritt eines Aktionspotentials schnell und präzise Neurotransmitter ausschütten können, muss ein komplexer Funktionsapparat aufrechterhalten werden. Dieser Funktionsapparat ermöglicht einen Kreislauf der synaptischen Vesikel, welcher in mehreren Funktionsstadien verläuft. (I) Beladen der synaptischen Vesikel mit Neurotransmittern, (II) das Andocken an die präsynaptische Membran, (III) die Aktivierung der synaptischen Vesikel für die Fusion, (IV) die Fusion mit der präsynaptischen Membran (Exozytose), (V) die Endozytose sowie verschiedene Wege der Neugewinnung von synaptischen Vesikeln [6; 7].

(I) Beladung mit Neurotransmittern

Das Beladen der synaptischen Vesikel mit Neurotransmittern erfolgt mittels Transportproteinen. Die Neurotransmittertransportproteine nutzen den elektrochemischen Protonengradienten welchen die vakuoläre Adenosintriphosphatase (V-ATPase) kontinuierlich zwischen Vesikellumen und Cytosol aufbaut, um die Neurotransmitter aktiv aus dem Cytosol der Präsynapse in das Lumen der synaptischen Vesikel zu transportieren. Spezifische Transporter sind für Glutamat (VGlu1, VGlu2 und VGlu3), Glutamat und Aspartat (VEAT), γ -Aminobuttersäure und Glycin (VGat, auch als VIAAT bezeichnet), Acetylcholin (VACht), Adenosintriphosphat (VNUT) und Monoamine (VMATs, zwei Isoformen) bekannt [8]. Es zeigte sich, dass synaptische Vesikel bei der Beladung mit Neurotransmittern in der Lage sind ihre Oberfläche reversibel um ca. 50 % zu vergrößern [9].

(II) Andocken

Ein Teil der synaptischen Vesikel wird in die aktive Zone und somit in die Nähe der präsynaptischen Membran rekrutiert [10]. Dort bilden sie einen jederzeit abrufbereiten Pool (engl. *readily releasable pool*). Für diese Rekrutierung ist ein ternärer Proteinkomplex aus den Proteinen Munc13, Rab3 und RIM beschrieben [6]. An der präsynaptischen Membran bindet Munc18 an Syntaxin-1 welches noch in seiner geschlossenen Konformation vorliegt [11]. Während des Andockens synaptischer Vesikel bildet sich ein Proteingerüst aus, welches an der präzisen Neurotransmitterausschüttung beteiligt ist. Dieses Proteingerüst besteht aus den Proteinen der aktiven Zone: Bassoon, Piccolo, ERCs, liprin- α , MINT1, MALS und CASK.

(III) Aktivierung

Als Aktivierung werden ATP-abhängige Reaktionen bezeichnet, welche die rekrutierten synaptischen Vesikel für die unmittelbare Neurotransmitterfreisetzung bei Calciumioneneinstrom vorbereitet [11]. Eine der hierfür notwendigen Reaktionen beinhaltet die Trennung von zuvor zusammengelagerten SNARE-Komplexen durch NSF und α -SNAP (Synaptosomal-assoziiertes Protein). Syntaxin-1 wird von Munc18 in seiner geschlossenen Konformation gehalten. Erst durch die Interaktion mit Munc13 und RIM geht Syntaxin-1 in seine offene Konformation über [6]. In der offenen Konformation bindet Syntaxin-1 mit Snap-25 und bildet den Akzeptorkomplex aus. Dieser Akzeptorkomplex weist eine Bindungsstelle für Synaptobrevin-2 auf. Synaptobrevin-2 interagiert mit dem Akzeptorkomplex zum aktivierten *trans*-SNARE-Komplex, welcher von Synaptotagmin-1 und Complexin-1 reguliert wird (3.3.4) [12–14].

10 | EINLEITUNG

(IV) Fusion

Erreicht ein Aktionspotential die Präsynapse öffnen sich die Calciumionenkanäle und es kommt zu einem Calciumioneneinstrom an der präsynaptischen Endigung. Calciumionenkanalcluster an der präsynaptischen Endigung sorgen für eine starke, zeitlich begrenzte und lokale Erhöhung der Calciumionenkonzentration im Cytosol. Die Calciumionen binden an die zwei C-Domänen von Synaptotagmin-1, welche daraufhin an Membranlipide und SNARE-Proteine binden [15]. Die Energiebarriere der Membranen wird in einem noch ungeklärten Mechanismus, welcher von Synaptotagmin-1 und Complexin-1 reguliert wird, überwunden und es bildet sich eine Fusionspore aus. Die Neurotransmitter werden in den synaptischen Spalt freigesetzt und der SNARE-Komplex geht in seine *cis*-Konformation über (3.3.4). Die Neurotransmitter diffundieren durch den synaptischen Spalt zu den postsynaptischen Rezeptoren [16; 17]. An der Fusion sind noch viele weitere Proteine beteiligt, die entweder in der entsprechenden Membran verankert sind oder einen Bestandteil des synaptischen Cytosols darstellen [18].

(V) Wiedergewinnung synaptischer Vesikel

Die Wiedergewinnung synaptischer Vesikel findet über die Clathrin-vermittelte Endozytose und dem weitestgehend unaufgeklärten „Kiss-and-Run-Weg“ statt. Bei der Clathrin-vermittelten Endozytose binden einzelne Adaptorproteine oder ternäre Adaptorproteinkomplexe (wie z.B. AP2-Komplex) an die Proteine synaptischer Vesikel (z.B. VGlu1 und Synaptotagmin-1). Diese Adaptorproteine sind dann für den Aufbau des Clathringerüsts verantwortlich. Es folgt die Einstülpung der Membran, sowie finalisierend das Abschnüren der im Clathringerüst befindlichen synaptischen Vesikel in das Zellinnere. Der Ablauf nach dem Abbau des Clathringerüsts ist nicht final geklärt. Eine Möglichkeit besteht darin, dass sich die synaptischen Vesikel nach dem Abbau des Clathrin-Gerüsts direkt zu funktionalen synaptischen Vesikeln entwickeln. Eine andere Möglichkeit ist die Fusion mit Endosom-ähnlichen Organellen, aus welchen sich neue synaptische Vesikel bilden [19]. Beim „Kiss-and-Run-Weg“ fusionieren synaptische Vesikel nicht vollständig mit der präsynaptischen Membran, sie verharren in einem Übergangsstadium und die Neurotransmitter werden über eine Pore in den synaptischen Spalt freigesetzt. Das Vesikel schnürt sich wieder ab und kann erneut Neurotransmitter aufnehmen [6; 20].

3.2.3 Synaptische Vesikel

Die Komplexität des Kreislaufs synaptischer Vesikel zeigt wie wichtig jedes einzelne beteiligte Protein und die Interaktionen der einzelnen Proteine miteinander sind. Im Fokus dieser Arbeit stehen die Proteininteraktionen frei vorliegender synaptischer Vesikel. An sich sind synaptische Vesikel Organellen, welche für das Speichern und die Freisetzung definierter Mengen von Neurotransmittern verantwortlich sind. Der Innendurchmesser der Vesikel beträgt lediglich $41,6 \pm 8,4$ nm. Synaptische Vesikel haben eine Dichte von $1,10$ g/mL, eine Masse von $15,9 \pm 3,5$ MDa und das Protein zu Phospholipidverhältnis (m/m) beträgt $1,94 \pm 0,23$ [21]. Die Membran synaptischer Vesikel ist dicht gepackt mit Transmembranproteinen und peripheren Membranproteinen. Die Proteinzusammensetzung synaptischer Vesikel wurde in mehreren Studien untersucht [22; 23; 21]. Unter anderem wurde die Proteinzusammensetzung von unterschiedlichen Populationen synaptischer Vesikel, wie z.B. im Andock-Stadium [24], Clathrin-ummantelte synaptische Vesikel [25], sowie synaptische Vesikel, welche spezifisch entweder Glutamat oder γ -Aminobuttersäure speichern [26] identifiziert. Neben qualitativen Studien wurden auch quantitative Studien zur Proteinzusammensetzung synaptischer Vesikel [21; 27], sowie von synaptischen Vesikeln in ihrer nativen Umgebung, den Synapsen, durchgeführt [28]. In Abbildung 3A ist ein Modell eines synaptischen Vesikels abgebildet. Die Abbildung 3B und C zeigen schematische Darstellungen eines synaptischen Vesikels, sowie einen Teil der Hauptproteinkomponenten synaptischer Vesikel. Es ist nicht bekannt wie die Proteine innerhalb der dicht gepackten Membran angeordnet sind. In dieser Arbeit wird auf die schematische Abbildung der Proteine aus Abbildung 3C zurückgegriffen.

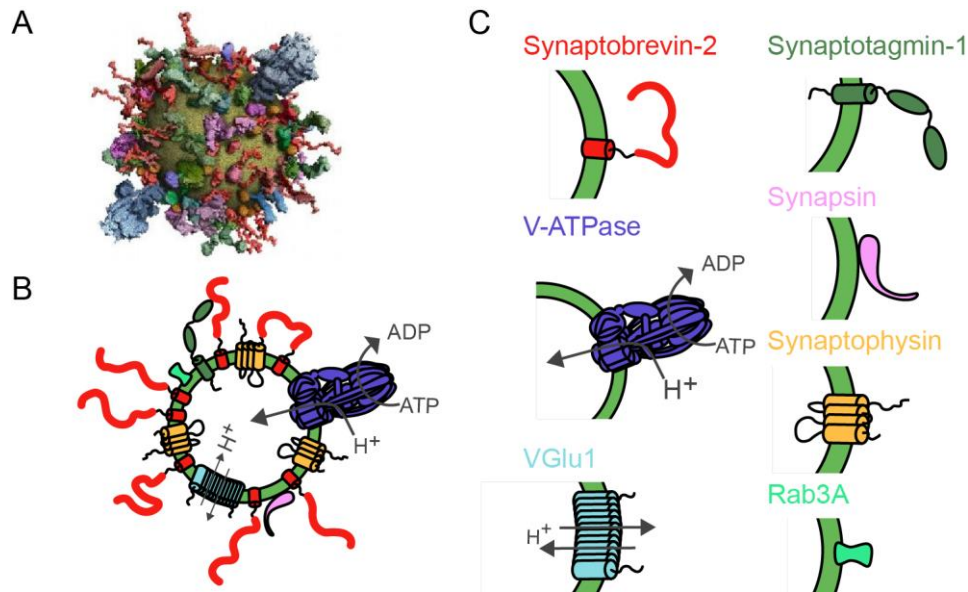


Abbildung 3: Synaptische Vesikel.

A) Molekulares Modell eines synaptischen Vesikels aus Takamori et al. [21] B) Schematische Darstellung eines synaptischen Vesikels. Die Stöchiometrie der Hauptproteinkomponenten ist angedeutet (Synaptobrevin: Synaptophysin: V-ATPase: Synapsin: Synaptophysin: VGlut1: Rab3A 7:3:1:1:1:1:1). C) Schematische Darstellung von sieben der Hauptproteinkomponenten synaptischer Vesikel.

3.3 Einzelne Proteine und Proteinkomplexe synaptischer Vesikel

Über einzelne Proteine und Proteinkomplexe synaptischer Vesikel ist bereits viel bekannt. Dennoch sind viele Fragen hinsichtlich der Funktion sowie der Interaktionen der Proteine offen. In dieser Arbeit wurden Proteininteraktionen in synaptischen Vesikeln identifiziert. Im Folgenden wird auf die Partner der nachgewiesenen Interaktionen näher eingegangen.

3.3.1 Synaptobrevin-2

Mit durchschnittlich 70 Kopien pro synaptischem Vesikel ist Synaptobrevin-2 das häufigste Protein synaptischer Vesikel [21]. Es gehört zur Gruppe der SNARE-Proteine (von engl.: *soluble N-ethylmaleimide-sensitive-factor attachment receptor*). Synaptobrevin-2 ist auf Seiten der synaptischen Vesikel primär für die Exozytose verantwortlich. Für diese geht es die Bildung des SNARE-Komplexes ein, auf welchen unter 3.3.4 näher eingegangen wird. In Abbildung 4A ist ein Modell eines synaptischen Vesikels abgebildet, welches ausschließlich Synaptobrevin-2 zeigt. Das Modell veranschaulicht die hohe Dichte an Synaptobrevin-2 in synaptischen Vesikeln. In Abbildung 4B ist eine schematische Abbildung von Synaptobrevin-2 mit den unterschiedlichen Proteinabschnitten dargestellt.

Es weist eine cytosolische Domäne von 94 Aminosäuren auf, welche das SNARE-Motiv (Aminosäuren 32-85) und die flexible Juxtamembrandomäne (Aminosäuren 86-94) beinhaltet. Über die Transmembranhelix (Aminosäure 95-114) ist es in der Membran verankert. Luminal weist Synaptobrevin-2 lediglich einen kurzen Rest auf (Aminosäuren 115/116) [29]. Die cytosolische, lösliche Domäne von Synaptobrevin-2 (Aminosäuren 1-94) ist in der Abwesenheit anderer SNARE-Proteine und Lipide überwiegend unstrukturiert [30–32]. Eine Studie mit dem Volllängenprotein (Aminosäuren 1-116) zeigte, dass die cytosolische Domäne unstrukturiert ist und die Transmembrandomäne aus einer α -Helix besteht, welche leicht schräg in der Membran verankert ist [33]. Die isolierte Transmembrandomäne (Aminosäuren 95-114) ist polymorph und weist in Abhängigkeit des Umfeldes sowohl α -Helix Strukturelemente als auch β -Faltblatt Strukturelemente auf [34]. In Gegenwart des SNARE-Proteins Syntaxin-1A nimmt die unstrukturierte cytosolische Domäne helikale Strukturelemente an [30; 31; 35]. Dies konnte ebenfalls in der Gegenwart von Lipiden nachgewiesen werden [36]. Synaptobrevin-2 ist hoch flexibel, was charakteristisch für intrinsisch ungeordnete Proteine ist [37]. Die Oligomerisierung von SNARE-Proteinen wurde in mehreren Studien nachgewiesen [13; 38–41]. In einer molekulardynamischen Simulation zeigt sich eine hohe Stabilität der Oligomere des Wildtyps sowie einer Mutante des Transmembranabschnitts [39].

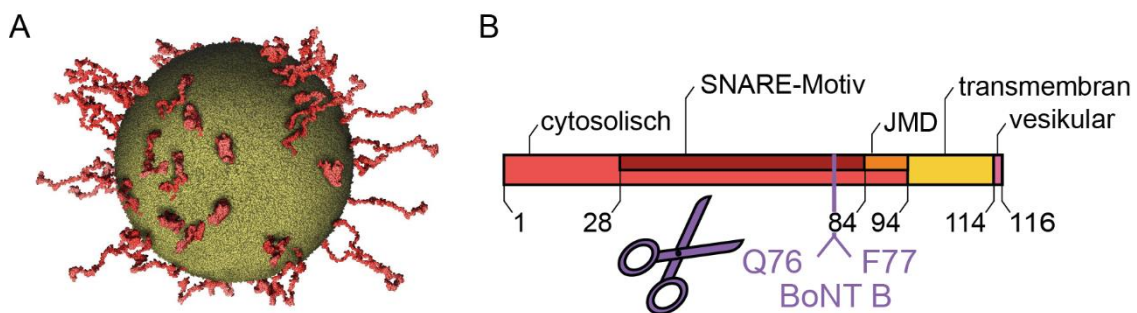


Abbildung 4: Synaptobrevin-2.

A) Strukturmodell eines synaptischen Vesikels welches ausschließlich Synaptobrevin-2 zeigt [21]. B) Schematische Darstellung von Synaptobrevin-2. Die unterschiedlichen Proteinabschnitte, inklusive der Juxtamembrandomäne (JMD), sowie die Schnittstelle des Botulinum-Neurotoxins B (BoNT B) sind farblich hervorgehoben.

Botulinum-Neurotoxin B

In dieser Arbeit wird das Botulinum-Neurotoxin B (BoNT B) verwendet, um die Proteininteraktionen synaptischer Vesikel in der Abwesenheit der cytosolischen Domäne von Synaptobrevin-2 zu untersuchen. BoNT B spaltet Synaptobrevin-2 spezifisch zwischen den Aminosäuren Q76 und F77 [42]. Botulinum-Neurotoxine bestehen aus zwei Proteinuntereinheiten, einer *leichten* Kette (ca. 50 kDa) und

14 | EINLEITUNG

einer *schweren* Kette (ca. 100 kDA). Diese sind über eine Disulfidbrücke miteinander verbunden. Mit der schweren Kette bindet das Toxin an die Präsynapse. Durch Endozytose der synaptischen Vesikel gelangt das Toxin in das Lumen synaptischer Vesikel, welche sich nun im Cytosol der Präsynapse befinden. Erhöht sich der pH-Wert im Inneren des Vesikels, durch die Aktivität der V-ATPase, wird die *leichte* Kette in das Cytosol der Präsynapse freigesetzt [43; 44]. Die *leichte* Kette ist eine Zink-Endopeptidase, welche im Fall von BoNT B Synaptobrevin-2 spezifisch spaltet [42]. Botulinumtoxine können nach der Ausbildung des SNARE-Komplexes die SNARE-Proteine nicht mehr schneiden [45]. Dies gab ursprünglich erste Hinweise darauf, dass sich der SNARE-Komplex erst während der Fusion ausbildet und nicht bereits zuvor [46].

3.3.2 SV2A, Synaptophysin und strukturell ähnliche Proteine

Synaptophysin und strukturell ähnliche Proteine

Synaptophysin ist mit 32 Kopien pro synaptischem Vesikel das zweithäufigste Protein. Es gehört zu den Tetraspannern, welche sich durch das Vorhandensein von vier Transmembranhelices sowie cytosolischen C- und N-Termini definieren [47]. Aus dieser Gruppe der Membranproteine weisen synaptische Vesikel noch Synaptoporin, eine Isoform von Synaptophysin, sowie Synaptogyrin-1/-2 und Proteine aus der Familie der SCAM-Proteine auf. Obwohl diese Proteingruppen sowohl in der Anzahl an Kopien als auch der Masse von synaptischen Vesikeln einen großen Anteil ausmachen (z.B. Synaptophysin mit 10 % der Gesamtproteinmasse [21]), sind noch viele Fragen hinsichtlich der Funktion der Tetraspanner ungeklärt. Die Topologie von Synaptophysin konnte anhand der Aminosäuresequenz abgeleitet und experimentell durch partielle Hydrolyse sowie spezifischen Antikörpern gegen unterschiedliche Proteinabschnitte bestätigt werden [48–50; 47]. In Abbildung 5 ist die Topologie der Tetraspanner Synaptophysin, Synaptoporin und Synaptogyrin-1 schematisch dargestellt. Zudem ist die Topologie von SV2A dargestellt, ein strukturell ähnliches Protein.

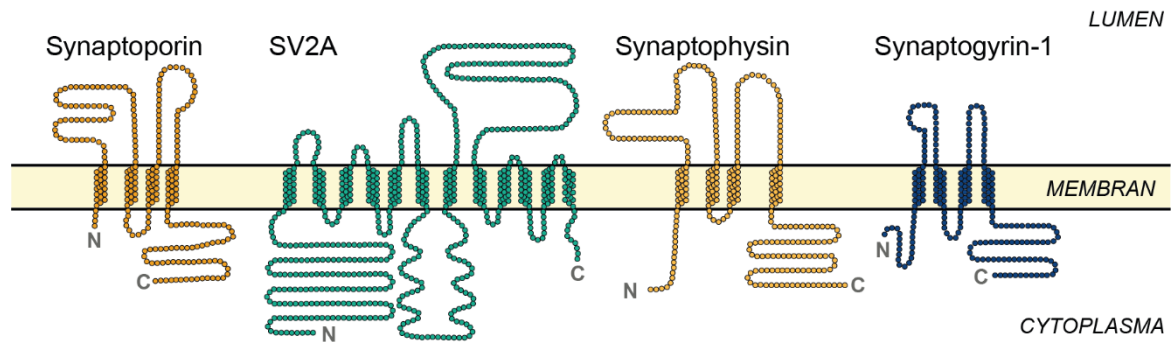


Abbildung 5: Topologie von Synaptoporin, SV2A, Synaptophysin und Synaptogyrin-1.

Die Tetraspanner Synaptophysin (gelb) und seine Isoform Synaptoporin (orangefarben), sowie Synaptogyrin-1 (blau) sind schematisch abgebildet. Die Proteine weisen vier Transmembranhelices auf. Zudem ist SV2A (grün) mit seinen zwölf Transmembranhelices abgebildet. Der cytosolische C-Terminus (C) und N-Terminus (N) ist gekennzeichnet. Die Proteine weisen große luminalen Schleifen auf.

Synaptophysin werden unterschiedlichste Funktionen zugesprochen. Es soll zur Plastizität der synaptischen Vesikel beitragen, sowie Funktionen für die Endo- aber auch für die Exozytose übernehmen. Doppel-Knockout-Mäuse (Synaptophysin/Synaptogyrin-1) zeigten eine stark reduzierte kurz- und langfristige synaptische Plastizität [51] auf. Synaptische Vesikel, welche das strukturell ähnliche Protein SV2A nicht aufweisen, waren nicht in der Lage ihr Volumen während der Glutamataufnahme zu vergrößern [9]. Ergebnisse von Studien mit Vierfach-Knockout-Mäusen (Synaptophysin-1/-2, sowie Synaptogyrin-1/-3) zeigten eine gesteigerte Exozytose. Weshalb Synaptophysin und die anderen Tetraspanner wahrscheinlich eine hemmende Rolle während der Exozytose einnehmen [52]. Es konnten Beteiligungen von Synaptophysin in der Rückgewinnung von Synaptobrevin-2 während der Exozytose nachgewiesen werden [53; 54]. Dies wäre eine Erklärung dafür, wie während des Kreislaufs synaptischer Vesikel gewährleistet wird, dass die hohe Dichte an Synaptobrevin-2-Kopien aufrechterhalten bleibt. Weiterhin konnten regulierende Funktionen der Clathrin-vermittelten Endozytose synaptischer Vesikel durch Wechselwirkung mit Dynamin nachgewiesen werden [55; 56]. Synaptophysin ist darüber hinaus für eine kinetisch effiziente Endozytose synaptischer Vesikel in kultivierten Hippocampus-Neuronen erforderlich, da weniger synaptische Vesikel pro Zeiteinheit in der Abwesenheit von Synaptophysin endozytiert werden [57]. In Chromatinzellen konnte eine Beeinflussung von Synaptophysin für große Vesikel mit dichterem Kernbereich (engl. *large dense core vesicles*) in unterschiedlichen Phasen der Fusionsporenbildung, sowie bei der Steuerung der Wahl zwischen Kiss-and-Run und einer vollständigen Fusion, nachgewiesen werden [58]. Die Oligomerisierung von Synaptophysin wurde in mehreren Studien

16 | EINLEITUNG

nachgewiesen [59–61]. Ursprünglich ist man bei Synaptophysin auf Grund seiner Häufigkeit von einer obligatorischen Rolle in der Endozytose ausgegangen. Dies konnte jedoch in mehreren Studien nicht bestätigt werden [62–64]. Konsens besteht jedoch in seiner Rolle bei der Rückgewinnung von Synaptobrevin-2 in die synaptischen Vesikel während der Endozytose. Darauf konnte rückgeschlossen werden, da das Fehlen von Synaptophysin zu einer Fehllokalisierung von Synaptobrevin-2 nach der Exozytose führt, was durch den Einbau von neugebildetem Synaptobrevin-2 in die synaptischen Vesikel während der Endozytose kompensiert wird [53; 65].

SV2A

Neben den Tetraspannern weisen die Mitglieder der synaptischen Vesikel-Proteinfamilie 2 (SV2) strukturelle Ähnlichkeiten mit Transportproteinen auf. Die zwei Hauptisoformen SV2A und SV2B, sowie die Isoform SV2C werden im Gehirn auf unterschiedliche Weise exprimiert. SV2A ist ubiquitär in fast allen Neuronen vorhanden, unabhängig von ihrem Neurotransmittertyp, während SV2B in vereinzelt Bereichen des Gehirns nicht exprimiert wird. SV2C ist nur in einer kleinen Untergruppe von Neuronen im basalen Vorderhirn und im Hirnstamm vorhanden [66]. Etwa 60 % der Sequenz der Proteine der SV2-Familie, insbesondere in den transmembranen und C-terminalen Regionen, stimmen überein [67]. Die Isoform SV2A ist durchschnittlich mit 2 Kopien pro synaptischem Vesikel nachweisbar und weist zwölf transmembrane Helices auf. Wie auch die Tetraspanner, besitzt es große luminalen Proteinschlaufen, deren Funktion ungeklärt ist. Auch SV2A hat voraussichtlich nicht nur eine spezifische Funktion im Apparat synaptischer Vesikel. Zum Einen ist es während der Endozytose in die Rückgewinnung von Synaptotagmin involviert und zum Anderen ist es über mehrere Mechanismen an der Regulierung der Neurotransmitterfreisetzung beteiligt [67]. Zudem ist es an der Volumenvergrößerung synaptischer Vesikel während der Glutamataufnahme beteiligt [9]. Weiterhin sind Interaktionen mit extrazellulären Matrixkomponenten, wie z. B. Laminin, beschrieben [68].

3.3.3 V-ATPase

Synaptische Vesikel nutzen für die Beladung von Neurotransmittern einen elektrochemischen Gradienten. Dieser elektrochemische Gradient wird von der V-ATPase aufgebaut. Die V-ATPase hydrolysiert ATP und nutzt die dabei freiwerdende Energie um Protonen aus dem Cytosol in das Lumen der synaptischen Vesikel zu transportieren [69; 70]. Die V-ATPase besteht aus einer cytosolischen V_1 -Domäne und einer membranständigen V_0 -Domäne. V_1 und V_0 setzen sich insgesamt aus

16 Proteinuntereinheiten zusammen. Die cytosolische V_1 -Domäne ist für die Hydrolyse von ATP zuständig und besteht aus den Proteinuntereinheiten A, B2, C1, D, E1, F, G1 oder G2 und H. Während die Isoform G2 ausschließlich in Neuronen exprimiert wird und die Hauptisoform synaptischer Vesikel darstellt, kommt die Isoform G1 ubiquitär vor [71]. Ursprünglich wurde davon ausgegangen, dass die Isoform G1 nicht auf synaptischen Vesikeln lokalisiert ist [71], G1 wurde aber bereits in zwei Studien für synaptische Vesikel nachgewiesen [21; 72]. V_0 ist für den Protonentransport verantwortlich und besteht bei Säugetieren aus den Untereinheiten a1, d1, e2, f, Ac45, PRR, c und c" [72]. Über eine hochauflösende EM-Struktur konnte die exakte Stöchiometrie der V-ATPase aus Säugetieren ermittelt werden [72]. In Abbildung 6 ist die V-ATPase mit der Isoform G2 schematisch in Anlehnung an die EM-Struktur [72] dargestellt. Die Aktivität der V-ATPase wird durch eine reversible Dissoziation der V_1 -Domäne gesteuert, wodurch die V_0 -Domäne nicht mehr in der Lage ist Protonen in das Lumen synaptischer Vesikel zu transportieren [73–77].

Die Proteinuntereinheiten A und B bilden ein A_3B_3 Hexamer, welches das katalytische Zentrum für die ATP-Hydrolyse ist. Die aus der Hydrolyse gewonnene Energie ist für die axiale Drehung des zentralen Schafts, bestehend aus den Untereinheiten D, F und d, erforderlich. Die Untereinheiten E und G bilden drei Heterodimere an der Oberfläche von V_1 , welche als periphere Verbindungsachsen für die Bindung des A_3B_3 -Hexamers an V_0 verantwortlich sind. Durch die Drehung des zentralen Schafts dreht sich auch der c-Ring der V_0 -Domäne. Dieser besteht aus neun c-Untereinheiten und einer c"-Untereinheit [78; 79; 72]. Die c"-Untereinheit weist im Vergleich zu den c-Untereinheiten längere luminale Schlaufen und eine zusätzliche Transmembranhelix am N-terminus auf [72; 80]. Jede c- bzw. c"-Untereinheit trägt an der Oberfläche einen Glutaminsäurerest, welcher für den Transport der Protonen reversibel protoniert wird [78]. Dieser Rest kommt durch die Drehung des c-Rings mit der Proteinuntereinheit a in Kontakt. Die Proteinuntereinheit a1 bildet C-terminal einen Kanal aus, der das Proton in das Lumen des Vesikels weiterleitet. Zudem weist a1 einen großen, cytosolischen N-Terminus auf [81; 82]. Reguliert wird die Protonenpumpenaktivität durch eine reversible Dissoziation von V_1 und V_0 [76; 77]. Nach Dissoziation hemmt die Untereinheit H in der V_1 -Domäne die Hydrolyse [83] und Untereinheit C trennt sich ab [74]. V_0 wird nach Dissoziation von V_1 für Protonen undurchlässig. Der N-Terminus der Untereinheit a1 geht in seine geschlossene Konformation über, in welcher er Kontakt mit der Untereinheit d1 hat [84].

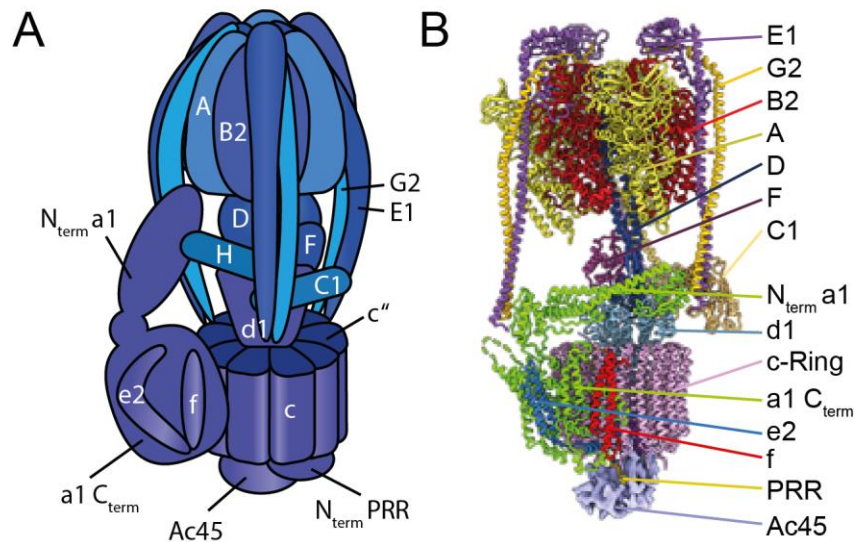


Abbildung 6: Aufbau der V-ATPase

(A) Schematische Abbildung der aktiven V-ATPase mit der Isoform G2. Die V-ATPase setzt sich aus der cytosolischen Domäne V_1 (unterschiedliche Blautöne) und der membranständigen Domäne V_0 (violett) zusammen. Der flexible, cytosolische N-terminus der Proteinuntereinheit a1 (N_{term} a1) liegt in seiner offenen Konformation vor in welcher er nicht in Kontakt mit der Untereinheit d1 steht. Die Abbildung wurde in Anlehnung an das Strukturmodell erstellt. (B) Strukturmodell der V-ATPase [72]. Die Untereinheit H ist nicht enthalten.

3.3.4 SNARE Komplex

Synaptobrevin-2 bildet zusammen mit SNAP-25 und Syntaxin-1 den SNARE-Komplex aus [85]. Dieser ist für die Membranfusion synaptischer Vesikel verantwortlich. Für den SNARE-Komplex liegt eine hochaufgelöste Struktur vor [86; 87]. Der Kernkomplex besteht aus vier parallel, verdrehten α -Helices, wobei jede Helix aus einem unterschiedlichen SNARE-Motiv stammt. In dessen Zentrum befinden sich ein Abschnitt aus jeweils 16 interagierenden Aminosäureresten, welche überwiegend hydrophob sind. Eine Ausnahme ist die zentrale „0“-Schicht, die aus drei Glutamin (Q)-Resten und einem Arginin (R)-Rest besteht. Nach diesen Aminosäuren werden die SNARE-Motive benannt [12]. Während Synaptobrevin-2 (R-Motiv) und Syntaxin-1 (Qa-Motiv) mit jeweils einem SNARE-Motiv im Komplex vertreten sind, trägt SNAP-25 zwei SNARE-Motive (Qbc-Motive) zum Komplex bei [12]. Synaptobrevin-2 ist auf Seite der synaptischen Vesikel lokalisiert (v-SNARE, Vesikelmembran-SNARE), SNAP-25 und Syntaxin-1 befinden sich auf Seite der präsynaptischen Membran (t-SNARE, für Targetmembran-SNARE) [12]. SNARE Proteine liegen im ungebundenen Zustand intrinsisch ungeordnet vor und sind C-terminal über eine Transmembranhelix in der Membran verankert. Eine

Ausnahme bildet SNAP-25, welches über palmitoylierte Cysteinreste in der präsynaptischen Membran verankert ist. Syntaxin-1 bildet in seiner offenen Konformation einen binären Aktivator-Komplex mit SNAP-25 aus. Dieser Komplex lagert sich mit Synaptobrevin-2 am N-Terminus der Proteine beginnend, in Richtung der C-terminalen Membrandomäne wie bei einem Reißverschluss aneinander. Zunächst bildet sich der stabile *trans*-SNARE-Komplex aus, bei welchem die Transmembranhelices noch in den zwei unterschiedlichen Membranen des Vesikels und der Präsynapse verankert sind. Dabei führen sie die Membranen immer näher aneinander und überwinden letztlich die Energiebarriere, wodurch die Verschmelzung der Membranen möglich ist. Der SNARE-Komplex geht in seine *cis*-Konfiguration über, in der sich die Transmembranhelices innerhalb derselben Membran befinden (Abbildung 7). *In vivo* sind an der Exozytose synaptischer Vesikel weitere SNARE-assoziierte Proteine wie z.B. Munc18, Munc13, Complexin und Synaptotagmin beteiligt (3.2.2). Synaptische Vesikel können jedoch auch mit Membranen fusionieren, welche lediglich SNAP-25 und Syntaxin-1 aufweisen [88].

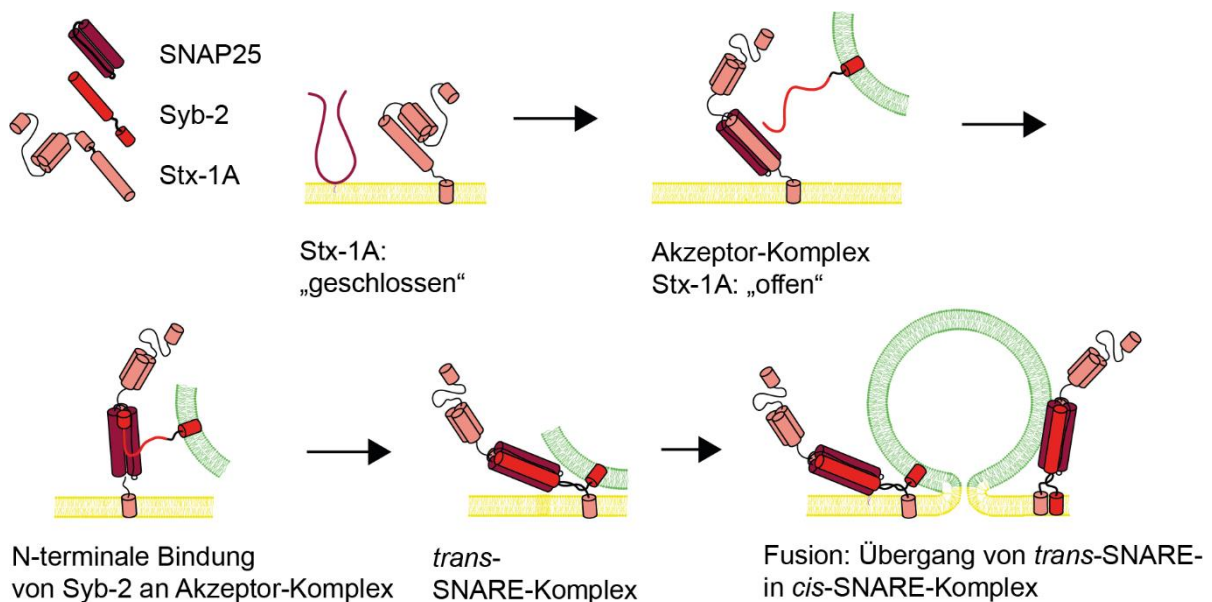


Abbildung 7: Schematische Abbildung der Fusions-Maschinerie.

Syntaxin-1A (Stx-1A, rosa) liegt in der präsynaptischen Membran in seiner geschlossenen Konformation und SNAP25 (dunkelrot) unstrukturiert vor. Zusammen bilden sie einen Akzeptor-Komplex für Synaptobrevin-2 (Syb-2, rot) aus, in welchem Syntaxin-1A in seiner offenen Konformation vorliegt. Ausgehend vom N-Terminus verdrillen sich die SNARE-Motive zum *trans*-SNARE-Komplex. Infolgedessen werden die Membranen immer näher zusammengebracht. Die Energiebarriere wird überwunden und es bildet sich eine Fusionspore. Der *trans*-SNARE-Komplex geht in den *cis*-SNARE-Komplex über. Abbildungen in Anlehnung an [14; 7; 29].

3.3.5 Der vesikuläre Glutamatransporter und andere Neurotransmittertransporter

60 % der synaptischen Vesikel weisen den häufigsten Neurotransmittertransporter, den vesikulären Glutamatransporter 1 (VGlu1), auf [21; 28]. Von diesen 60 % weisen ca. die Hälfte (32 %) neben VGlu1 auch den Zinktransporter-3 auf. VGlu1 hat 12 Transmembrandomänen und einen cytosolischen N- sowie C-Terminus. Der vesikuläre γ -Aminobuttersäure-Transporter (VGat) wurde bei 15,9 % der synaptischen Vesikel nachgewiesen. Zudem gibt es kleine (ca. 2 %), sehr vielfältige Populationen (27 unterschiedliche Typen) mit unterschiedlichen Neurotransmittertransportern [89]. VGlu1, sowie seine Isoformen (VGlu2 und VGlu3) werden durch den elektrochemischen Protonengradienten durch die Membran synaptischer Vesikel angetrieben, der durch die V-ATPase erzeugt wird [90]. VGlu1 fungiert als Glutamat/Protonen-Austauscher, der mit einer kanalartigen Chlorid-Leitfähigkeit verbunden ist. Da VGlu1 gleichzeitig als Kanal für Chloridionen sowie Kaliumionen und Protonen dient, kann er das Ionen-, Ladungs- und pH-Gleichgewicht aufrechterhalten und den Glutamattransport regulieren [91; 8]. Das Gleichgewicht zwischen der Geschwindigkeit des Glutamattransports und der transportierten Glutamatmenge wird zudem durch die Aktivitäten der V-ATPase beeinflusst [92].

3.3.6 Weitere abundante Proteine

Synaptische Vesikel weisen neben den genannten Hauptproteinkomponenten noch weitere relevante Proteine auf. Hierzu gehören neben den genannten Transmembranproteinen auch membranassoziierte Proteine (z.B. Synapsin mit 8 Kopien pro Vesikel). Andere Proteine treten nur in bestimmten Stadien des Kreislaufs mit synaptischen Vesikeln in Interaktion. Hierzu gehören Vertreter der Proteingruppen der kleinen Guanosintriphosphatasen (z.B. Rab3A mit 10 Kopien pro synaptischem Vesikel) und Proteine, welche für die Endozytose verantwortlich sind (z.B. der AP2-Komplex). Synapsin reguliert die Ausbildung der Cluster synaptischer Vesikel des abrufbereiten Pools in der aktiven Zone, welcher bei synaptischer Aktivität mobilisiert wird [93–96]. Rab3A ist aus der Protein-Unterfamilie der Rab3-Proteine am besten untersucht und wird in Neuronen exprimiert [97; 4; 98]. Fehlt Rab3A ist die Exozytose eingeschränkt, woraus eine Rolle bei der Regulierung der Effektivität der Neurotransmitterausschüttung abgeleitet wird. Über Interaktionen mit RIM1 und MUNC13 steuert es die Rekrutierung der synaptischen Vesikel an die präsynaptische Membran. Werden die Neurotransmitter frei gesetzt, dissoziiert es und hydrolysiert dabei GTP [99; 100; 98]. CSP leistet einen Beitrag zur Aufrechterhaltung der Proteinfaltung in der Synapse [101]. Synaptische Vesikel weisen neben Synaptobrevin-2 auch andere SNARE-Proteine wie z.B. Isoformen von Synaptobrevin, SNAP oder Syntaxin in deutlich geringerer

Anzahl auf, z.B. Synaptotagmin-1 mit 6 Kopien oder SNAP25 mit 2 Kopien. Syntaxin-1 und SNAP-25 sind eigentlich auf der präsynaptischen Membran lokalisiert, gelangen jedoch wahrscheinlich durch die Endozytose in die Membran synaptischer Vesikel [21].

3.3.7 Weitere Proteininteraktionen sowie Proteinkomplexe synaptischer Vesikel

Obwohl inzwischen viel über die Zusammensetzung und einzelner Funktionsmechanismen synaptischer Vesikel bekannt ist, halten sich Informationen über das Zusammenspiel der Proteine synaptischer Vesikel in Grenzen. Es wurden zwar erste Interaktionsnetzwerke von Synaptosomen veröffentlicht [102], dennoch ist die Anzahl an ungeklärten Zusammenhängen und Proteininteraktionen deutlich größer. Stabile Proteinkomplexe aus Synaptobrevin-2 und Synaptophysin wurden durch chemisches Quervernetzen mit anschließender Immundetektion nachgewiesen [103]. Elektronenmikroskopische Aufnahmen bestätigten die Interaktionen von Synaptobrevin-2 und Synaptophysin. Die Aufnahmen deuten auf eine 2:1 Stöchiometrie (Synaptobrevin-2: Synaptophysin) in einem hexameren Komplex hin [104; 105]. Durch Immunpräzipitation von Extrakten aus Synaptosomen konnten Interaktionen zwischen Synaptophysin, Synaptobrevin-2 und der V_0 -Domäne der V-ATPase nachgewiesen werden [106]. Auf diese Art und Weise konnten auch Interaktionen zwischen SV2A, Synaptotagmin-1, Synaptophysin und Synaptobrevin-2 nachgewiesen werden [107]. Auch die Interaktion von Synaptobrevin-2 mit der Untereinheit c der V-ATPase wurde nachgewiesen [108]. Bislang fehlte eine detaillierte Studie zur Untersuchung von Interaktionen gereinigter synaptischer Vesikel.

3.4 Massenspektrometrie zur Identifizierung von Proteininteraktionen

Der Nobelpreis ging insgesamt viermal an Pioniere der Massenspektrometrie (MS). Angefangen 1906 mit dem Nobelpreis für Physik an J. J. Thomson und 1922 mit dem Nobelpreis für Chemie an F. W. Aston für die Entwicklung des ersten Massenspektrographen zum Nachweis der Isotope verschiedener Elemente. 1989 ging der Nobelpreis für Physik an W. Paul und H. G. Dehmelt für die Entwicklung der Quadrupol-Ionenfalle und 2002 der Nobelpreis für Chemie an J. B. Fenn und K. Tanaka für die Entwicklung sanfter Ionisationsmethoden zur massenspektrometrischen Analyse von biologischen Makromolekülen [109]. Die Auszeichnungen zeigen auf, welche Bedeutung die MS für die Wissenschaft hat. Die beachtlichen Entwicklungen in der MS hinsichtlich der Geräte, der Methoden und der Datenverarbeitung etablierten die MS als Standardverfahren für die Identifizierung von Proteinen.

Zudem wird die MS in der Strukturbiologie verwendet, um Strukturinformationen über Proteine und Proteinkomplexe sowie Proteininteraktionen zu erhalten. Proteininteraktionen finden über nicht-kovalente, vor allem hydrophobe Wechselwirkungen, wie Van-der-Waals-Kräfte und Wasserstoffbrückenbindungen der Aminosäurereste beteiligter Proteine statt. Es kann sich dabei um temporäre oder dauerhafte Wechselwirkungen handeln. Für die Identifikation solcher Proteininteraktionen wird die MS mit verschiedenen Methoden kombiniert, wie z.B. das chemische Quervernetzen, die Proteinmodifizierung, Ionenmobilitätsmessungen oder dem Wasserstoff/Deuterium-Austausch [110]. In der nativen MS werden modifizierte Massenspektrometer eingesetzt, welche intakte Proteinkomplexe transmittieren können [111].

3.4.1 Proteinidentifizierung mittels Tandemmassenspektrometrie

Die „Shotgun-Proteomik“ hat sich als Routinemethode zur Identifizierung von Proteinen etabliert [112]. Der Ablauf ist in Abbildung 8 schematisch dargestellt. Die Proteine werden mit Hilfe einer Protease hydrolysiert. Die gebildeten Peptide werden mittels Flüssigkeitschromatographie (LC) getrennt und mittels Tandem-Massenspektrometrie (MS/MS) analysiert. Die Identifizierung der Proteine erfolgt anschließend über eine Datenbanksuche.

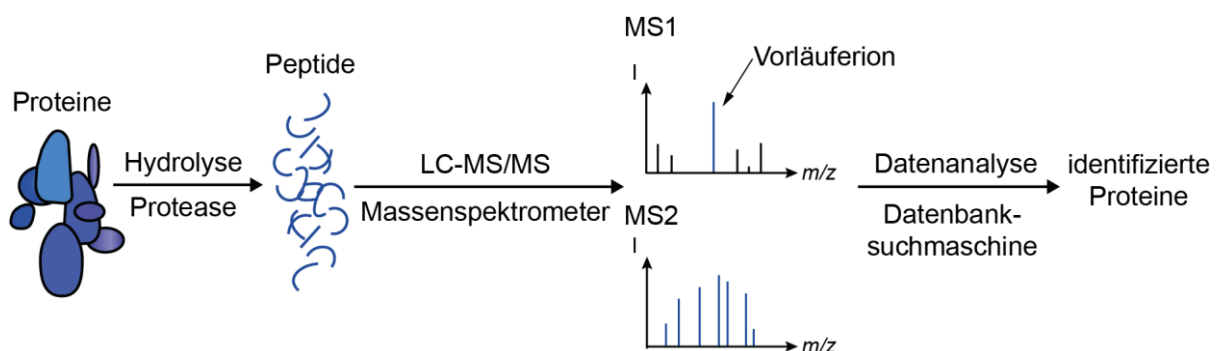


Abbildung 8: Ablauf der Proteinidentifizierung mittels Massenspektrometrie.

Schematische Darstellung der Shotgun-Proteomik zur Proteinidentifizierung mittels MS. Proteine werden mit einer Protease hydrolysiert. Die erhaltenen Peptide werden mittels LC-MS/MS analysiert. Im MS1-Spektrum ist das m/z des Vorläuferions gegen die relative Intensität (I) aufgetragen. Das Vorläuferion wird isoliert und fragmentiert. Im MS2-Spektrum sind die m/z der Fragmentationen gegen I aufgetragen. Die registrierten Daten werden mittels Datenbanksuchmaschinen analysiert.

Vor der massenspektrometrischen Analyse wird die Komplexität der Proben verringert. Hier hat sich unter anderem die denaturierende Gelelektrophorese bewährt [113; 114]. Für die Hydrolyse der Proteine wird in der Regel die Protease Trypsin verwendet welche die Proteine spezifisch C-terminal an den basischen Aminosäuren Lysin (K) und Arginin (R) spaltet. Andere Proteasen, wie Chymotrypsin

spalten beispielsweise C-terminal, nach den aromatischen Aminosäuren Phenylalanin, Tyrosine und Tryptophan [115]. Durch die Entwicklung der Elektrosprayionisation (ESI) kann direkt an die Ionisationsquelle des Massenspektrometers eine Hochleistungsflüssigkeitschromatographieanlage (HPLC) oder eine Nanofluss-HPLC (Nano-HPLC) gekoppelt werden. Die Peptide werden chromatografisch getrennt, die Komplexität der Probe weiter verringert und die Peptide eluieren zeitlich versetzt in das Massenspektrometer. In dieser Arbeit wurde ein Q Exactive Plus Hybrid Quadrupol (Q)-Orbitrapmassenspektrometer verwendet. Das verwendete Gerät ist in Abbildung 9 dargestellt. In einer nanoESI-Quelle wird die peptidhaltige Lösung durch eine Metallkapillare mit einem Innendurchmesser kleiner als 1 μm vernebelt. Das Aerosol aus geladenen Tröpfchen entsteht durch ein elektrisches Feld unter Atmosphärendruck. Mit Trypsin generierte Peptide sind durch den basischen N-Terminus und dem basischen Rest am C-Terminus nach der Ionisation meist zwei- bis dreifach geladen und liegen mit einer durchschnittlichen Peptidgröße von 700 bis 1500 Da im m/z für eine optimale MS/MS-Analyse [115–117]. Durch das angelegte elektrische Feld reichern sich die geladene Peptidionen in der Kapillare an. Die Ionen werden von der Kapillare am Eingang des Massenspektrometers angezogen. Es bildet sich ein Flüssigkeitskegel (Taylor-Kegel) aus. Dieser weist einen Überschuss an Ionen auf. An der Spitze des Kegels bildet sich ein dünner Flüssigkeitsfaden, der unmittelbar in ein Spray aus feinen Tröpfchen mit Ionen zerfällt. Durch Desolvatisierung unter der angelegten Spannung werden die Tröpfchen immer kleiner und die coulombsche Abstoßung der Ionen immer größer [118; 119]. Bei der ESI bleiben die Peptide intakt und fragmentieren nicht. Damit gehört die ESI zusammen mit der Matrix-unterstützten Laser-Desorption/Ionisation zu den am meisten verbreiteten sanften Ionisationsmethoden.

Im Massenspektrometer wird zunächst ein Vorläuferionenspektrum (MS oder MS1 Spektren) von allen Ionen aufgenommen, die zum gleichen Zeitpunkt eluieren. Im zweiten Schritt werden Fragmentationenspektren (MS/MS oder MS2 Spektren) aufgenommen, für welche jeweils ein Vorläuferion isoliert und fragmentiert wird. Für die Aufnahme von MS und MS/MS-Spektren ist ein Tandem-Massenspektrometer, wie das verwendete Q Exactive Plus Hybrid Quadrupol-Orbitrapmassenspektrometer, notwendig. Bei der Fragmentierung handelt sich um eine kollisionsinduzierte Dissoziation, bei welcher Peptide bevorzugt an ihrem Peptidrückrad fragmentieren und überwiegend y-Ionen und b-Ionen entstehen.

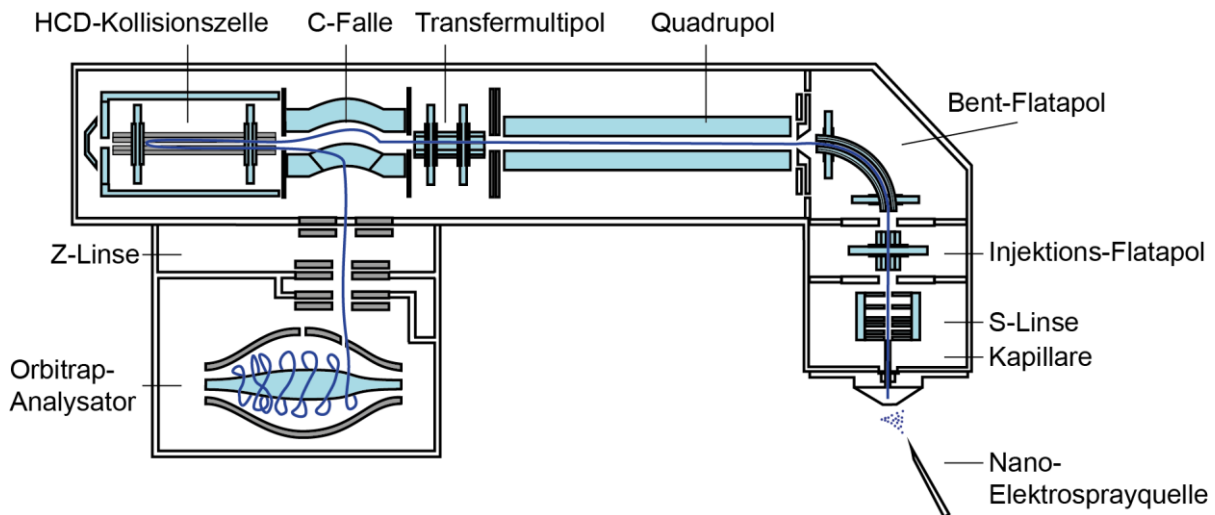


Abbildung 9: Q Exactive Plus Hybrid Quadrupol-Orbitrapmassenspektrometer.

Das Massenspektrometer weist einen Radiofrequenz-Quadrupolanalysator und eine Orbitrap-Ionenfalle auf. Der Radiofrequenz-Quadrupolanalysator leitet die Ionen des eingestellten m/z -Bereichs weiter. Quadrupolanalysator und Orbitrap-Analysator sind über eine C-Ionenfalle (engl.: *C-trap*) miteinander verbunden. Aus der C-Ionenfalle können die Ionen in den Orbitrap-Analysator oder die Fragmentierungszelle geleitet werden. Die Fragmentierung erfolgt in einer HCD-Zelle (engl.: *High-energy Collision-induced Dissociation*) [120]. Von der Fragmentierungszelle werden die Ionen wiederum über die C-Ionenfalle in den Orbitrap-Analysator geleitet. Die Orbitrap-Ionenfalle ist sowohl ein Massenanalysator als auch ein Detektor. Sie besteht aus einer spindelförmigen zentralen Elektrode und zwei unabhängigen äußeren Elektroden. Eine der äußeren Elektroden baut mit der zentralen Elektrode ein elektrisches Feld auf, in welchem sich die Ionen auf einer Kreisbahn um die zentrale Elektrode bewegen. Die Frequenz dieser Schwingung wird an der zweiten äußeren Elektrode, der Detektorplatte, detektiert. Die Frequenz wird durch Fouriertransformation in die entsprechenden Masse-zu-Ladung-Verhältnisse umgewandelt (Abbildung in Anlehnung an [121]).

Die Identifizierung der Proteine basiert auf der Übereinstimmung der Massen von experimentellen und theoretischen Peptidionen und Peptidfragmentionen. Die theoretischen Ionenmassen werden durch *in silico* Hydrolyse der Proteinsequenzen aus Datenbanken wie UniProt [122] erstellt. Übliche Datenbanksuchmaschinen sind Sequest [123], Mascot [124], aber auch Andromeda der MaxQuant Software [125–130]. Der verwendete Andromedaalgorithmus berechnet die Wahrscheinlichkeit mit welcher die Werte aus einem theoretischen und einem experimentellen Spektrum durch Zufall übereinstimmen [131]. Je höher die Übereinstimmung der Werte aus dem experimentellen Spektrum mit dem theoretischen Spektrum ist, desto unwahrscheinlicher ist es, dass das experimentelle Spektrum durch Zufall entstanden ist [116]. Diese Wahrscheinlichkeit wird mit einem Score angegeben. Nachfolgend werden die Werte der experimentellen Spektren mit einer Decoy-Datenbank, wie z.B. der invertierten Datenbank, verglichen um den Score der falsch-positiv identifizierten Peptide zu bestimmen. Mit dem Score der falsch-positiv identifizierten Peptide wird die Falscherkennungsrate (FDR von engl.: *false discovery rate*) festgelegt und in der Regel alle Peptide unter einer FDR von 1 % verworfen. Ein Maß für die absolute Menge eines Proteins in einem Shotgun-Proteomik Experiment ist die

intensitätsbasierte absolute Quantifizierung (iBAQ für engl.: *intensity based absolute quantification*). Der iBAQ entspricht dem Quotienten aus allen Peptidpeakintensitäten eines Proteins und der Anzahl aller theoretisch möglichen Peptide der verwendeten Proteindatenbank [132].

3.4.2 Chemische Quervernetzung kombiniert mit Massenspektrometrie.

Das chemische Quervernetzen kombiniert mit MS hat sich in den letzten 10 Jahren zu einer Standardergänzung der traditionellen Strukturaufklärungstechniken von Proteinen entwickelt. Die chemische Quervernetzung wurde erstmals 1974 in Kombination mit der Gel-Elektrophorese eingesetzt um die räumliche Nähe von Ribosomuntereinheiten nachzuweisen [133]. Im Jahr 2000 wurde die erste chemische Quervernetzung zwischen zwei Proteinuntereinheiten mittels Matrix-Assistierte Laser-Desorption-Ionisierung (MALDI) gekoppelt mit einem Flugzeitanalysator (engl. *time of flight*, TOF) massenspektrometrisch identifiziert [134]. Ein chemischer Quervernetzer besteht in der Regel aus zwei reaktiven Gruppen und einem Verbindungsstück, dem Spacer variabler Länge. Bei der chemischen Quervernetzung kombiniert mit MS werden zwei Aminosäurereste einer proteinhaltigen Probe mit Hilfe des chemischen Quervernetzers kovalent miteinander verknüpft. Die reaktiven Gruppen geben vor welche Aminosäurereste verknüpft werden. Aus der bekannten Länge und Position des Spacers können anschließend Abstandsinformationen der verknüpften Aminosäurereste abgeleitet werden. Die am weitesten verbreiteten Quervernetzer sind *N*-Hydroxysuccinimidester (NHS-Ester), mit den bekanntesten Vertretern Bis(sulfosuccinimidyl)suberat (BS3) und Disuccinimidylsuberat (DSS). NHS-Ester reagieren bevorzugt mit primären Aminogruppen und somit mit der Seitenkette von Lysin oder dem N-Terminus eines Proteins. Es treten jedoch auch Nebenreaktionen mit Hydroxygruppen wie den Seitenketten von Serin, Threonin und Tyrosin auf. Der Platzhalter von BS3 und DSS hat eine Länge von 11,4 Å. Die Vorteile von BS3 liegen in der leichten Verarbeitung, der Löslichkeit in Wasser und dem häufigen Vorkommen von Lysinen in den meisten Primärstrukturen [135]. BS3 ist bei pH-Werten von 7 bis 8 reaktionsfähig. In Abbildung 10A ist die Quervernetzungsreaktion von BS3 mit zwei Proteinen dargestellt. Abbildung 10B zeigt die unterschiedlichen Reaktionsprodukte nach der Hydrolyse. Es liegen unterschiedliche Formen von Peptiden vor: lineare Peptide, lineare Peptide bei welchen der Quervernetzer an einer Aminosäure gebunden und die andere Seite hydrolysiert vorliegt (Typ 0), lineare Peptide bei welchen der Quervernetzer an zwei Aminosäuren gebunden hat und eine Schlaufe ausbildet (Typ 1), quervernetzte Dipeptide (Typ 2), sowie Quervernetzungen zwischen mehr als zwei Peptiden (Typ 3). Zu den quervernetzten Dipeptiden (Typ 2) gehören intramolekulare Quervernetzungen

zwischen zwei Peptiden eines Proteins und intermolekulare Quervernetzung zwischen zwei Peptiden zweier unterschiedlicher Proteine [136]. Eine weitere Form stellen quervernetzte Dipeptide dar, bei welchem beide Peptide die gleiche Sequenz oder überlappende Sequenzen aufweisen. Dabei handelt es sich um eine intermolekulare Vernetzung zwischen zwei Proteinkopien eines Homooligomers. Typ 2 Quervernetzungen enthalten relevante Abstandsinformationen für die Identifizierung von Protein-Proteininteraktionen.

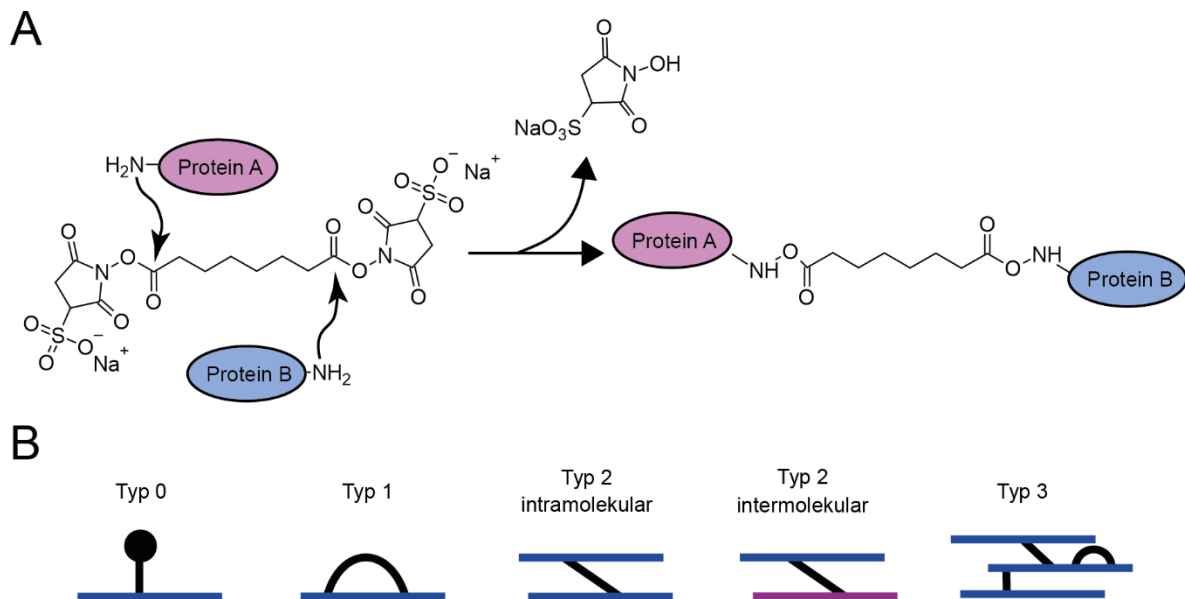


Abbildung 10: Quervernetzungsreaktionen.

(A) Reaktionsmechanismus von BS3: Die reaktiven *N*-Hydroxysulfosuccinimidester reagieren unter Freisetzung der *N*-Hydroxysulfosuccinimid-Gruppen bevorzugt mit primären Aminogruppen von Proteinen, die dabei durch stabile Amidbindungen kovalent vernetzt werden. (B) Unterschiedliche Reaktionsprodukte einer Quervernetzungsreaktion nach enzymatischer Hydrolyse. Typ 0: das Quervernetzungsreagenz reagiert mit einer funktionellen Gruppe, die zweite funktionelle Gruppe liegt hydrolysiert vor. Typ 1: Beide funktionelle Gruppen reagieren mit zwei Aminosäureresten desselben Peptids. Typ 2 intramolekular: Intralink, ein quervernetztes Peptidpaar aus einem Protein. Typ 2 intermolekular: Interlink, ein quervernetztes Peptidpaar zweier unterschiedlicher Proteine. Typ 3: Mehr als zwei Peptide liegen quervernetzt vor.

In Abbildung 11 ist ein typischer Ablauf einer Identifizierung von Proteininteraktionen mittels chemischer Quervernetzung kombiniert mit MS dargestellt. Um die Komplexität der Probe zu verringern, werden die quervernetzten Proteine mittels denaturierender Gelelektrophorese aufgetrennt und anschließend im Gel hydrolysiert. Alternativ werden die Proteine in Lösung hydrolysiert. Nach Hydrolyse unterscheiden sich die quervernetzten Peptide von linearen Peptiden sowohl in Ihrer Größe als auch in ihrem Ladungszustand im sauren Milieu [137] und können mittels Größenausschlusschromatographie oder der Kationenaustauschchromatographie voneinander getrennt werden. Bei der Verwendung von traditionellen Quervernetzern wie BS3 findet die Messung im Massenspektrometer analog zur Messung

von linearen Peptiden zur Proteinidentifizierung mittels MS statt. Zahlreiche Programme, wie Stavrox [138], pLink [139; 140] oder xiSEARCH [141] ermöglichen die Identifizierung quervernetzter Peptidpaare. Die Herausforderung besteht darin, dass theoretisch jedes Peptid mit jedem Peptid quervernetzt werden kann. Somit gibt es bei einer Anzahl von n Peptiden für jede Quervernetzung $(n^2+n)/2$ Möglichkeiten, wodurch eine Identifizierung bei großen Datenbanken erschwert ist. Eine zusätzliche manuelle Validierung der Spektren reduziert die Anzahl an falsch-positiv identifizierten Quervernetzungen [142].

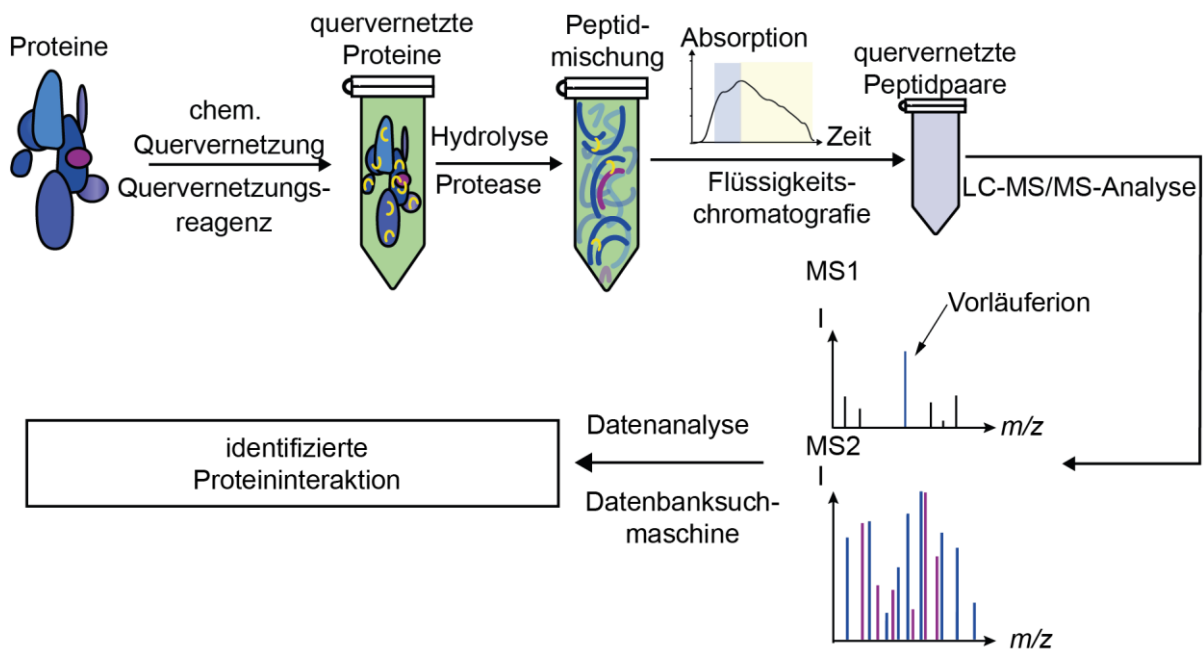


Abbildung 11: Ablauf der Identifizierung von Proteininteraktionen mittels Massenspektrometrie.

Ablauf eines typischen Quervernetzungsexperiments ist gegeben. Proteine werden chemisch quervernetzt. Die quervernetzten Proteine werden hydrolysiert. Unrelevante Peptide werden teilweise chromatografisch abgetrennt. Quervernetzte Peptidpaare werden mittels LC-MS/MS analysiert. Im Chromatogramm ist die relative Intensität (I) gegen die Zeit aufgetragen. Im MS1-Spektrum ist das m/z des Vorläuferions gegen I aufgetragen. Das Vorläuferion wird isoliert und fragmentiert. Im MS2-Spektrum sind die m/z der Fragmentationen beider Peptide des quervernetzten Peptidpaars gegen I (blau und violett) aufgetragen. Die registrierten Daten werden mit einer Datenbanksuchmaschine analysiert.

3.4.3 Proteinmodifizierung zur Identifizierung der lösungsmittelzugänglichen Oberfläche eines Proteins.

Die Proteinmodifizierung ist eine Methode zur Bestimmung der lösungsmittelzugänglichen Oberfläche von Proteinen. Diese gibt Aufschluss über die Proteinstruktur, über Protein-Protein-Interaktionsflächen oder Protein-Ligand Interaktionsflächen. In den letzten Jahrzehnten haben sich unterschiedliche

Methoden der Proteinmodifizierung und anschließender LC-MS/MS-Analyse entwickelt. Die bekanntesten Methoden sind der Wasserstoff-Deuterium-Austausch, Hydroxyl-Radikal Foot Printing und die chemische Proteinmodifizierung. Bei der Proteinmodifizierung wird ein chemisches Reagenz verwendet, welches die reaktiven Gruppen von Aminosäuren spezifisch und irreversibel modifiziert. Die gängigsten Reagenzien modifizieren primäre Amine (Lysin und N-Terminus), Carboxylgruppen (Asparaginsäure, Glutaminsäure) und Thiole (Cystein) [143]. In dieser Arbeit wurden die Reagenzien NHS-Acetat und Diethylpyrocarbonat (DEPC) verwendet [144]. NHS-Acetat acetyliert überwiegend primäre Amine und somit Lysine sowie den N-Terminus von Proteinen. Wie bereits für BS3 beschrieben reagiert NHS in Nebenreaktionen auch mit Hydroxylgruppen (Serin, Threonin und Tyrosin). Es kommt zu einer Acetylierung der lösungsmittelzugänglichen Aminosäurereste. DEPC reagiert mit Histidin-, Lysin-, Cystein-, Serin-, Threonin- und Tyrosinresten, sowie dem N-Terminus von Proteinen. Die Analyse mittels LC-MS/MS erfolgt analog zu der Analyse zur Proteinidentifizierung. Die Identifizierung der modifizierten Aminosäurereste erfolgt computergestützt mit Hilfe von Programmen wie z.B. MaxQuant [125], Mascot [124], und SEQUEST [123]. Dabei ist zu beachten, dass die einzelnen Peptide auch mehrfach modifiziert sein können [144]. Da die Modifizierungsreagenzien größer als die ersetzten Wasserstoffatome sind, können zu häufige Modifizierungen des Proteins zu einer Änderung der Konformation führen [110].

3.4.4 Native Massenspektrometrie

Die native MS ist eine Methode zur Analyse von intakten Proteinen und Proteinkomplexen in der Gasphase eines Massenspektrometers. Bei der nativen MS bleiben nicht-kovalente Wechselwirkungen intakt. Hierzu gehören die Bindung von Proteinuntereinheiten innerhalb eines Proteinkomplexes oder Wechselwirkungen zwischen Proteinen und ihren Liganden, wie Lipiden, Nukleotiden oder kleinen Molekülen. Aus dem Spektrum kann die Zusammensetzung und die Stöchiometrie von Proteinkomplexen entnommen werden. Zudem werden Informationen über Interaktionen der Proteinuntereinheiten über die Topologie des Komplexes sowie die Heterogenität der Probe gewonnen [111].

Ziel der Probenvorbereitung bei der nativen MS ist es, das Protein bzw. den Proteinkomplex in ein flüchtiges Lösungsmittel zu überführen, welches für MS geeignet ist und dabei die nicht-kovalenten Wechselwirkungen beizubehalten. Meist wird Ammoniumacetat (AmAc) mit einem pH-Wert zwischen

sechs und acht eingesetzt, andere Beispiele sind Ammoniumhydrogencarbonat oder Ammoniumformiat. [145; 146]. Um nicht-kovalente Proteininteraktionen während einer nativen MS aufrecht zu erhalten, sind die verwendeten Massenspektrometer speziell für die Transmission (Weiterleitung der Ionen) von Proteinkomplexen mit großen Massen modifiziert. In dieser Arbeit wurde hierfür ein modifiziertes Quadrupol-TOF Massenspektrometer verwendet [147]. Das Massenspektrometer weist zwei ausschlaggebende Modifikationen auf: zum Einen ist der Druckgradient zwischen den unterschiedlichen Geräteabschnitten verändert. Zum Anderen ist die Radiofrequenz des Quadrupolanalysators reduziert. Im Vergleich zu unmodifizierten Instrumenten ist der Druck in den unterschiedlichen Geräteabschnitten erhöht, damit Gasmoleküle mit dem Proteinkomplex kollidieren und der Komplex desolvatisiert. Zudem reduzieren die Kollisionen sowohl die radiale als auch die axiale Geschwindigkeit der Proteinkomplexionen, auch Kollisionskühlung (engl.: *collisional cooling*) oder Kollisionsfokussierung (engl.: *collisional focusing*) genannt. Daraus resultiert eine Transmission von Ionen bis zu einer Größe von ca. 32.000 m/z [147].

Die nativen Massenspektren gefalteter Proteine oder Proteinkomplexe weisen eine Signallerie von wenigen Ladungszuständen mit einer Gaußschen Verteilung auf. Die Anzahl an Ladungen korreliert meist mit der Anzahl an lösungsmittelzugänglichen basischen Aminosäureresten. Die Beobachtung einer Verteilung mehrerer Ladungszustände der Spezies erlaubt die Berechnung des Molekulargewichts des Proteinkomplexes aus zwei benachbarten Peaks mit m/z-Verhältnissen von $(m^{\text{Protein}} + z \times m^{\text{Proton}})/z$ und $(m^{\text{Protein}} + (z+1) \times m^{\text{Proton}})/(z+1)$, wobei z die Anzahl der Ladungen (d.h. Protonen) ist, die sich zwischen den beiden benachbarten Ladungszuständen um eins unterscheidet [148]. Während der Datenanalyse werden die Serien von Ladungszuständen identifiziert [149] und anschließend meist manuell annotiert.

3.4.5 Ionen-Mobilitäts-Massenspektrometrie

Bei der IM-MS werden Ionen nach ihrer Form und Ladung aufgetrennt. Es können Ionen unterschiedlicher Form und Größe aber gleichem m/z-Verhältnis aufgetrennt werden. Ein Maß für die Form und Größe eines Moleküls ist der Kollisionsquerschnitt. Um den Kollisionsquerschnitt zu bestimmen, gibt es unterschiedliche IM-Analysatoren. Die am weitesten verbreiteten sind Driftzellen-Analysatoren (engl.: *drift tube*) oder Transportwellen-Analysatoren (engl.: *travelling wave*). In dieser Arbeit wurde ein speziell konstruiertes Driftzelleninstrument [150] verwendet. Hierbei werden die

30 | EINLEITUNG

Ionen mit Hilfe eines elektrischen Feldes durch eine Driftzelle geleitet. In der Driftzelle befindet sich ein neutrales Gas. Durch Kollision mit den Gasmolekülen werden die Ionen auf ihrem Weg durch die Driftzelle gebremst. Je größer die Ionen, desto mehr Widerstand erfahren sie und desto länger brauchen sie durch die Driftzelle. Durch die Kopplung einer Driftzelle mit einem Massenspektrometer ist somit die Auftrennung nach einer weiteren Dimension möglich. Für die Analytione wird die jeweilige Verweildauer in der Driftröhre gemessen (engl.: *Arrival Time Distribution*, ATD). Durch Gaußsche-Kurvenanpassung an die ATDs kann die mittlere Verweildauer (engl.: *drift time*) bestimmt werden, welche dem Mittelwert der jeweiligen Gauskurve entspricht. Mit der mittleren Verweildauer kann zunächst die Ionenmobilitätskonstante bestimmt werden [151].

$$K = \frac{L}{tE} \frac{p}{p_0} \frac{T_0}{T}$$

In dieser Gleichung steht K für Ionenmobilitätskonstante, L für die Länge der Driftzelle, E für das elektrische Feld der Driftzelle, T_0 für die Standardtemperatur von 0° C, T für die Temperatur, p für den Druck und p_0 für den Standarddruck von 1 bar. Mit der Ionenmobilitätskonstante (K) kann anschließend der Kollisionsquerschnitt (Ω ; engl.: *collisional cross section*; CCS) der Analytione über die Mason-Schamp-Gleichung [152; 153] berechnet werden:

$$\Omega = \frac{3}{16} \frac{\left(\frac{2\pi}{\mu kT}\right)^{\frac{1}{2}} z e}{NK}$$

Mit Ω für den Kollisionsquerschnitt, K für die Ionenmobilitätskonstante, N für die Driftgasdichte, μ für die reduzierte Masse der Kollisionspartner, k für die Boltzmann-Konstante, T die Temperatur, e für die Ladung des Elektrons und z für die Ladung des Ions. Da die Temperatur, der Druck und die Driftgasdichte unter den experimentellen Bedingungen konstant gehalten werden, ist der Kollisionsquerschnitt im Wesentlichen abhängig von μ und K. IM liefert in Kombination mit nativer MS ergänzende Informationen über die Größe, Form und Stabilität von Proteinen und Proteinkomplexen.

4 Material und Methoden

4.1 Material

4.1.1 Chemikalien

Verwendete, herkömmliche Chemikalien wie Salze und Lösungsmittel wurden entweder von Sigma-Aldrich (St. Louis, USA), Carl-Roth (Karlsruhe, Deutschland), Merk Millipore (Billerica, USA) oder Thermo Fisher Scientific (Waltham, USA) bezogen. Weitere Chemikalien und Reagenzien sind im Folgenden aufgeführt:

Acetonitril (ACN), LC-MS-Qualität	Thermo Fisher Scientific,
Ammoniumhydrogencarbonat	Sigma Aldrich
BS3	Life Technologies, Carlsbad, USA
DEPC	Sigma Aldrich
Dithiothreitol (DTT)	Sigma Aldrich
Ethanol, 99.8% (v/v), LC-MS-Qualität	Carl Roth
Ameisensäure (FA), LC-MS-Qualität	Thermo Fisher Scientific
Iodacetamid (IAA)	Sigma Aldrich
N-hydroxysuccinimidyl-Acetat (NHS-Acetat)	Tokyo Chemical Industry, Präfektur Tokio, Japan
Natriumacetat	Sigma Aldrich
Sulfo-N-hydroxysuccinimidyl-Acetat	Thermo Fisher Scientific
Trifluoressigsäure (TFA)	Thermo Fisher Scientific
TrisBase (Tris(hydroxymethyl)aminomethan)	Sigma Aldrich
Tris(2-carboxyethyl)phosphin (TCEP)	Sigma Aldrich
Urea, 99.8%	GERBU Biotechnik, Heidelberg
Wasser, LC-MS-Qualität	Thermo Fisher Scientific

4.1.2 Kommerziell erhältliche Reagenzien

InstantBlue™ Protein Stain	Abcam, Cambridge, UK
Pierce™ ECL Western Blotting Substrate - Detection Reagent 1	Thermo Fisher Scientific
Pierce™ ECL Western Blotting Substrate - Detection Reagent 2	Thermo Fisher Scientific
Invitrogen™ Novex™ NuPAGE® LDS Sample Buffer (4 x)	Thermo Fisher Scientific
Invitrogen™ Novex™ NuPAGE® MES SDS Running Buffer (20 x)	Thermo Fisher Scientific
Invitrogen™ Novex™ NuPAGE® Reducing Agent (10 x)	Thermo Fisher Scientific
Invitrogen™ Novex™ NuPAGE® Antioxidant	Thermo Fisher Scientific
SeeBlue® Plus2 Pre-Stained Protein Standard	Thermo Fisher Scientific
Novex™ Tricine SDS Running Buffer (10 x)	Thermo Fisher Scientific

32 | MATERIAL UND METHODEN

Tween™ 20 Surfact-Amps™ Detergent Solution, 10 % (m/v)	Thermo Fisher Scientific
Phosphate buffered saline	Sigma Aldrich
RapiGest	Waters Corporation, Milford, USA

4.1.3 Verbrauchsmaterialien

NuPage Mini Gels	Thermo Fischer Scientific
Novex 16 % Tricine Gels	Thermo Fischer Scientific
Amersham™ Protran® Premium nitrocellulose Western Blotting membrane, 0,2 µm	GE Healthcare, Chicago, USA
Micro Bio-Spin™ P-6 Gel Columns	Bio-Rad, Hercules, USA
Disposable PD 10 Desalting Columns	GE Healthcare, Chicago, USA
Glass Capillaries GC100T-10	Harvard Apparatus, Holliston, USA
Glass Capillaries GC100TF-10	Harvard Apparatus, Holliston, USA
SS Emitter, ES542, Electropolished, Edelstahl LC/MS Emitter, O.D. 150 µm, I.D. 30 µm	Thermo Scientific
ZipTip C18-Pipettenspitzen	Sigma Aldrich

4.1.4 Enzyme

Trypsin (Trypsin Sequencing Grade)	Roche
Trypsin (Sequencing Grade Modified Trypsin)	Promega
Chymotrypsin	Roche
Überstand <i>Clostridium Botulinum</i> Type B-Kultur	Prof. Dr. Reinhard Jahn (AG Jahn MPI für multidisziplinäre Naturwissenschaften, Göttingen, Deutschland)

4.1.5 Proteine

Synaptobrevin-2-Varianten

696,4 µM Syb(1-96) und 2,870 mM Syb(49-96) wurden in 20 mM 4-(2-Hydroxyethyl)-piperazin-1-ethansulfonsäure (HEPES), 150 mM Kaliumchlorid (KCl), 0,1 mM Tris(2-carboxyethyl)phosphinhydrochlorid (TCEP), 1 mM Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) pH 7,4 bei -80 °C gelagert. 156,2 µM Syb-2(1-116) wurde in 1 % (m/v) 3-[(3-Cholamidopropyl)dimethylammonio]-1-propansulfonat (CHAPS), 20 mM HEPES, 150 mM KCl, 0,1 mM TCEP, 1 mM EDTA pH 7,4 bei -80 °C gelagert. Die unterschiedlichen Varianten von Synaptobrevin-2 wurden von Dr. Caroline Haupt, AG Schmidt ZIK HALOmem, MLU Halle-Wittenberg, zur Verfügung gestellt.

Löslicher Δ N-SNARE-Komplex

Der lösliche Δ N-SNARE-Komplex besteht aus Syntaxin-1A ohne Habc Domäne und ohne Transmembrandomäne (Stx1A(188-259)), aus SNAP-25 (SNAP25(1-206)) bei welchem Cysteine zu Serinen mutiert wurden und der kurzen Variante von Synaptobrevin-2 mit halbem SNARE-Motiv sowie der Juxtamembrandomäne (Syb(49-96)). Stx1A(188-259), SNAP25(1-206) und Syb(49-96) entsprechen der Sequenz aus *Rattus norvegicus*. 3,4 mg/mL löslicher Δ N-SNARE-Komplex wurden in 20 mM HEPES, <1000 mM Natriumchlorid, 0,1 mM TCEP bei -80 °C gelagert. Der lösliche Δ N-SNARE-Komplex wurde von Dr. Ángel Pérez-Lara, AG Jahn MPI Göttingen, für biophysikalische Chemie, zur Verfügung gestellt.

Proteoliposomen mit Synaptobrevin-2

Für die Proteoliposomen mit Synaptobrevin-2 wurde das Protein in seiner gesamten Länge verwendet (Syb(1-116)). Syb(1-116) entspricht der Sequenz aus *Rattus norvegicus*. Proteoliposomen bestehend aus 1,2-Dioleoyl-*sn*-Glycero-3-Phosphocholin (DOPC), 1,2-Dioleoyl-*sn*-Glycero-3-Phosphoethanolamin (DOPE), 1,2-Dioleoyl-*sn*-Glycero-3-Phosphoserin (DOPS) und Cholesterol in einem molaren Verhältnis von 5:2:2:1 (n/n/n/n) in 20 mM HEPES, 150 mM KCl, 0,1 mM TCEP pH 7 sowie Syb(1-116) in einem Protein zu Lipid Verhältnis von von 300:1 (n/n) wurden von Dr. Caroline Haupt, AG Schmidt ZIK HALOmem, MLU Halle-Wittenberg, zur Verfügung gestellt.

Proteoliposomen mit Δ N-SNARE-Komplex

Der Δ N-SNARE-Komplex besteht aus der Transmembrandomäne und der cytosolischen Domäne von Syntaxin-1A ohne die N-terminale Habc Domäne (Stx1A(183-288)), der verkürzten Synaptobrevin-2-Variante (Syb(49-96)) und SNAP-25 (SNAP25(1-206)) bei welchem Cysteine zu Serine mutiert wurden. Stx1A(183-288), SNAP25(1-206) und Syb(49-96) entsprechen der Sequenz aus *Rattus norvegicus*. Proteoliposomen bestehend aus 4 mM DOPC, DOPS und Cholesterol in einem Verhältnis von 26:4:10 (n/n/n) in 150 mM Kaliumgluconat, 20 mM 3-(*N*-Morpholino)propansulfonsäure (MOPS) pH 7,4 und einer Größe von 100 nm sowie 8 μ M Δ -N-SNARE-Komplex in einem Protein zu Lipid Verhältnis von 1:500 (n/n). Die Proteoliposomen mit inkorporiertem Δ N-SNARE-Komplex wurden von Dr. Marcelo Ganzella, AG Jahn MPI Göttingen, für biophysikalische Chemie, zur Verfügung gestellt.

4.1.6 Antikörper

Sekundär-Antikörper	Hersteller/ Katalognummer	Spezies	Verdünnung
Anti-Mouse IgG (Gesamtmolekül) –Peroxidase AK	Sigma Aldrich/ Merck/ A9044	Kaninchen, polyklonal, IgG-gereingt	1:100.000
Anti-Rabbit IgG (Gesamtmolekül) –Peroxidase AK	Sigma Aldrich/ Merck/ A0545	Ziege, polyklonal, IgG-gereingt	1:100.000
Primär-Antikörper	Hersteller/ Katalognummer	Spezies	Verdünnung
Anti-SNAP25	Synaptic Systems/ 110 011BT	Maus, monoklonal, IgG-gereingt, mit Biotinlabel	1:10.000
Anti-Synaptobrevin-2	Synaptic Systems/ 104 211	Maus, monoklonal, IgG-gereingt, <i>K.O. verifiziert, K.D. geprüft</i>	1:10.000
Anti-Synaptogyrin-1	Synaptic Systems/ 103 011	Maus, monoklonal, IgG-gereingt	1:1.000
Anti-Synaptophysin-1	Synaptic Systems/ 101 011	Maus, monoklonal, IgG-gereingt, <i>K.O. verifiziert, K.D. verifiziert</i>	1:5.000
Anti-Synaptophysin-1/2	Synaptic Systems/ 101 111	Maus, monoklonal, IgG-gereingt	1:5.000
Anti-Synaptoporin	Synaptic Systems/ 102 011	Maus, monoklonal, IgG-gereingt	1:1.000
Anti-Synaptotagmin-1	Synaptic Systems/ 105 011	Maus, monoklonal, IgG-gereingt	1:1.000
Anti-Syntaxin-1A	Synaptic Systems/ 110 111	Maus, monoklonal, IgG-gereingt, <i>K.D. verifiziert</i>	1:5.000
Anti-VAMP 1/2/3	Synaptic Systems/ 104 203	Kaninchen, polyklonal, affinitätsgereinigt, <i>K.D. verifiziert</i>	1:5.000
Anti-V-ATPase a	Synaptic Systems/ 109 003	Kaninchen, polyklonal, affinitätsgereinigt, <i>K.D. geprüft</i>	1:1.000

4.1.7 Geräte**4.1.7.1 Chromatographiesysteme und Zubehör**

Nano-HPLC-System	DionexUltiMate 3000 RSLCnano System, Thermo Scientific
Vorsäule	μ-Precolumn C18 PepMap 100, C18, 300 μm I.D., Partikelgröße 5 μm; Thermo Scientific
Analytische Säule	HPLC column Acclaim® PepMap 100, C18, 75 μm I.D., Partikelgröße 3 μm; Thermo Scientific
Chromatographie-System	ÄKTA™ pure chromatography system, General Electric, Boston, USA
Präparative Säule	Superdex™ peptide 3.2/300

4.1.7.2 Massenspektrometer

Q Exactive Plus Hybrid Quadrupole-Orbitrap	Thermo Scientific
Q Tof Ultima, modifiziert für Transmission hoher Massen	Waters/MS Vision

4.1.7.3 Laborgeräte

XCell SureLock® Mini-Cell	Thermo Fischer Scientific
Owl HEP-1 Semi Dry Electroblothing Apparatur	Thermo Fischer Scientific
Luminescent image Analyzer LAS-4000	Fujifilm Corporation
DeNovix Spectrophotometer DS 11+	DeNovix Inc.
Micropipette Puller p-1000	Sutter Instruments
Sputter Coater Q150R S	Quorum Technologies

4.1.8 Software

XVis	Grimm et al. 2015 [154]
Perseus 1.6.2.3	Tyanova et al. 2016 und Cox und Mann 2012 [155; 156]
CroCo 0.6.2	Bender und Schmidt 2019 [157]
MassLynx 4.0	Waters
Massign	Morgner and Robinson 2012 [149]
MaxQuant 1.5.7.0 und 1.6.3.4	Cox und Mann 2008, 2009, Cox et al. 2011, Schaab et al. 2012, Cox et al. 2014, Tyanova et al. 2015 [125–128; 130]
Xcalibur 4.2.47	Thermo Fisher Scientific
pLink 1.2	Yang et al. 2012 [139]
pXtract 1.0.0.0	Yuan et al. 2012 [158]
pLink2 2.3.5	Chen et al. 2019 [140]
Pride	Olivella et al. 2021 [159]

4.2 Methoden

4.2.1 Proteinbiochemische Methoden

4.2.1.1 Gelelektrophorese mit Bis-Tris Polyacrylamidgelen

Zur Trennung von Proteinen mit einem Molekulargewicht von 3,5 kDa bis 160 kDa wurde das NuPAGE® System (Invitrogen) mit 4-12 %igen (m/v) Bis-Tris Polyacrylamidgelen (NuPage Mini Gels) verwendet. Die Durchführung erfolgte nach Herstellerangaben und ist im Folgenden kurz zusammengefasst. Die Proben wurden in 1 × Probenpuffer (NuPAGE® LDS Sample Buffer) gelöst. Disulfidbrücken wurden durch Zugabe von 1 × Reduktionsmittel (NuPAGE® Reducing Agent) reduziert. Anschließend wurden die Proben für 10 min bei 70 °C erhitzt. Als Laufpuffer wurde 1 × MES SDS Laufpuffer (NuPAGE® MES SDS Running Buffer) verwendet und in die Kathodenkammer wurden 500 µL Antioxidationsmittel (NuPAGE® Antioxidant) gegeben. Die Geltaschen wurden entweder mit den Proben oder mit 10 µL Proteinmarker (SeeBlue® Plus2 Pre-Stained Protein Standard) beladen. Die Trennung der Proteine erfolgte für 35 min bei einer konstanten Spannung von 200 V.

4.2.1.2 Gelelektrophorese mit Tricin-Polyacrylamidgelen

Zur Trennung von Proteinen mit einem Molekulargewicht von 4 bis 30 kDa wurde das Novex™ System (Invitrogen) mit 16 %igen (m/v) Tricin-Polyacrylamidgelen (Novex 16 % Tricine Gels) verwendet. Die Durchführung erfolgte nach Herstellerangaben und ist im Folgenden kurz zusammengefasst. Die Proben wurden mit 1 × Probenpuffer (Novex® Tricine SDS Sample Buffer) versetzt und für 2 min bei

85 °C erhitzt. Als Laufpuffer wurde 1 × Novex™ Tricine SDS Laufpuffer (Novex™ Tricine SDS Running Buffer) verwendet. Die Geltaschen wurden entweder mit den Proben oder mit 10 µL Proteinmarker (SeeBlue® Plus2 Pre-Stained Protein Standard) beladen. Die Trennung der Proteine erfolgte für 90 min bei einer konstanten Spannung von 125 V.

4.2.1.3 Coomassiefärbung

Zur Färbung der Proteine im Gel wurden die Bis-Tris Polyacrylamidgele (4.2.1.1) und die Tricin-Polyacrylamidgele (4.2.1.1) für 16 h bei 25 °C mit InstantBlue Protein Stain (Expedeon)-Lösung inkubiert und anschließend mit Reinstwasser gewaschen, bis überschüssiges Coomassie entfernt war.

4.2.1.4 Western Blots

Zur Identifikation einzelner Proteine in einem Proteingemisch wurden Westerns Blots zur Immundetektion mit Hilfe spezifischer Antikörper durchgeführt. Die im Gel aufgetrennten Proteine (Kapitel 4.2.1.1 und 4.2.1.1) wurden mit Hilfe der Owl HEP-1 Semi Dry Electroblothing Apparatur (Thermo Fischer Scientific) auf eine Nitrocellulose Blotting Membran (Amersham Protran Premium Nitrocellulose Western blotting membranes, 0,2 µm) unter Verwendung von 1,44 % (m/v) Glycin, 0,303 % (m/v) TRIS (Tris(hydroxymethyl)-aminomethan), 0,1 % SDS (m/v), 10 % (v/v) Methanol als Transferpuffer übertragen. Proteine aus Bis-Tris Polyacrylamidgelen (4.2.1.1) wurden für 2 h bei 50 mA und Proteine aus Tricingelen (4.2.1.1) für 3 h bei 50 mA transferiert. Die Membran wurde mit 1 × PBS, 0,001 % (m/v) Tween 20, pH 7,4 (PBS-T) dreimal für 10 min gewaschen und für 1 h mit 5 % (m/v) Milchpulver, PBS-T inkubiert, um freie Bindungsstellen der Membran mit Milchproteinen zu blockieren. Nach dreimaligem Waschen für 10 min mit PBS-T Puffer wurde die Membran für 16 h bei 4 °C mit dem Primärantikörper, verdünnt in 1 % (m/v) BSA, PBS-T inkubiert. Die Membran wurde dreimal für 10 min mit PBS-T Puffer gewaschen und anschließend mit dem Sekundärantikörper, verdünnt in 1 % (m/v) BSA, PBS-T für 1 h bei 25 °C inkubiert. Nach dem letzten dreimaligen Waschen für 10 min mit PBS-T wurde die Membran mit 1 mL Pierce ECL Western Blotting Substrat 1 und Substrat 2, 1:1 (v/v) benetzt. Die Chemilumineszenz wurde mit Hilfe des Luminescent Image Analyzers LAS-4000 (Fujifilm Corporation) detektiert.

4.2.1.5 Bestimmung der Proteinkonzentration

Um die Konzentration der Proteinlösungen zu bestimmen, wurde die Extinktion der Proben bei 280 nm unter Verwendung eines DeNovix Spectrophotometers DS 11+ bestimmt. Hierfür wurden 2 µL Probe

auf den Probenträger aufgetragen und die Extinktion abgelesen. Als Blindwert diente die Extinktion des Puffers der zu bestimmenden Proteinlösung. Für die Bestimmung der Proteinkonzentration der verschiedenen Synaptobrevin-2-Varianten wurde anhand der Aminosäuresequenz der molare Extinktionskoeffizient berechnet. Die Extinktion der synaptischen Vesikel wurde gemessen und die Proteinkonzentration mit dem molaren Extinktionskoeffizienten von Bovinem Serumalbumin (BSA) berechnet.

4.2.1.6 Präparation synaptischer Vesikel

Zur Präparation synaptischer Vesikel wurde eine modifizierte Version [160] einer ursprünglich 1976 entwickelten Methode [161] verwendet. Für einen Präparationsansatz wurden 20 Hirne von sechs Wochen alten Wistar Ratten zunächst in Homogenisierungspuffer (5 mM HEPES, 320 mM Saccharose), pH 7,4 gelagert. Die Rattenhirne wurden in 200 mL Homogenisierungspuffer/Proteaseinhibitor (5 mM HEPES, 320 mM Saccharose, 0,2 mM PMSF, 1 µg/mL Pepstatin, 0,1 % (v/v) Ethanol, 0,1 % (v/v) DMSO) pH 7,4 in einem 60 mL Glas-Teflon Homogenisator bei 900 min⁻¹ in 9 Mahlvorgängen homogenisiert. Das Homogenat wurde bei 2.700 min⁻¹ (Thermo Scientific SS-34 Rotor) für 10 min zentrifugiert. Das Pellet (P1) wurde verworfen und der Überstand (S1) bei 10.000 min⁻¹ (Thermo Scientific SS-34 Rotor) für 15 min zentrifugiert. In diesem Zentrifugationsschritt setzen sich Synaptosomen als weiches, weißes Pellet ab. Die schwereren Mitochondrien setzen sich als festeres, schwarzes Pellet unter den Synaptosomen ab. Der Überstand (S2) wurde verworfen. Das Synaptosomenpellet (P2.1) wurde für einen wiederholten Waschschrift in 10 mL Homogenisierungspuffer resuspendiert, wobei Mitochondrien, welche sich als schwarzer Rückstand absetzten, zurückgelassen wurden. Die Suspension wurde bei 11.000 min⁻¹ (Thermo Scientific SS-34 Rotor) für 15 min zentrifugiert (P2.2). Die Synaptosomen (P2.2) wurden in 24 mL Homogenisierungspuffer resuspendiert. Für die Spaltung der Synaptosomen durch osmotischen Druck wurde die Suspension mit 216 mL Lysepuffer (2,5 mM HEPES, 0,1 mM PMSF, 0,5 µg/mL Pepstatin, 0,05 % (v/v) Ethanol, 0,05 % (v/v) DMSO) versetzt. Die Synaptosomen wurden bei maximaler Homogenisierungsgeschwindigkeit in 4 Mahlvorgängen aufgeschlossen und das Lysat bei 16.500 min⁻¹ (Thermo Scientific SS-34 Rotor) für 20 min zentrifugiert. Das Pellet (LP1) wurde verworfen, der Überstand (LS1) abgenommen und bei 256.630 × g für 2 h zentrifugiert. Das Pellet (LP2) wurde in 6 mL Saccharoselösung (40 mM Saccharose, 5 mM HEPES) pH 7,4 mit Hilfe des Homogenisators bei 900 min⁻¹ in 3 Mahlvorgängen resuspendiert. Das Homogenat (LP2) wurde zunächst mit Hilfe einer 20G

Nadel und im Anschluss einer 27G Nadel ergänzend resuspendiert. Mit Hilfe eines Gradientenmischers (Gradient master, Biocomp) wurde zweimal aus 18 mL 50 mM Saccharoselösung (5 mM HEPES) pH 7,4 und 18 mL 800 mM Saccharoselösung (5 mM HEPES) ein kontinuierlicher Saccharosegradient hergestellt. Jeweils 3 mL des Homogenats (LP2) wurden auf 36 mL Saccharosegradienten gegeben und bei 25.000 min^{-1} (Beckman Coulter SW 28 Rotor) für 4 h aufgetrennt. Nach der Zentrifugation befinden sich die synaptischen Vesikel auf Grund ihrer Dichte in der Fraktion von 200 mM bis 400 mM Saccharose (Huttner et al. 1983). Im Bereich dieser Fraktion tritt nach der Zentrifugation eine erkennbare Trübung auf. Es wurden jeweils 15 mL der vesikelhaltigen Saccharosefraktion (200 bis 400 mM Saccharose) abgenommen und vereint. 30 mL der vesikelhaltigen Saccharoselösung wurden auf eine Größenausschlusschromatographiesäule, gefüllt mit porösen Glaskugeln kontrollierter Porengöße von 3000 \AA , geladen. Die Auftrennung erfolgte mit einer Flussrate von 40 mL/h unter Verwendung von Glycinpuffer als Laufmittel (300 mM Glycin, 5 mM HEPES) pH 7,4. Das Chromatogramm wurde bei einer Wellenlänge von 280 nm (Pharmacia Biotech Control Unit UV-1) aufgezeichnet. Das Eluat wurde in 12 mL großen Fraktionen aufgefangen. Das erhaltene Chromatogramm weist seit der Entwicklung der Methode einen typischen Verlauf mit zwei Peaks auf. Huttner et al. [160] und Takamori et al. [21] hatten gezeigt, dass sich die synaptischen Vesikel in den Fraktionen des zweiten Peaks befinden. Die Fraktionen des zweiten Peaks wurden vereint und die Vesikel bei $256.630 \times g$ für 2 h pelletiert. Die pelletierten synaptischen Vesikel wurden in 500 μL Homogenisierungspuffer mit Hilfe eines 1 mL Glas-Teflon Homogenisators in 3 Mahlvorgängen bei 850 min^{-1} resuspendiert. Ergänzend wurde zuerst mit Hilfe einer 20G und im Anschluß mit einer 27G Nadel resuspendiert. Die synaptischen Vesikel wurden in Zusammenarbeit mit Dr. Marcelo Ganzella, AG Jahn MPI Göttingen, für biophysikalische Chemie und unter Assistenz von Susann Kostmann, AG Schmidt ZIK HALOmem, MLU Halle-Wittenberg, präpariert.

4.2.1.7 Botulinum Neurotoxin B Spaltung von Synaptobrevin-2 synaptischer Vesikel

BoNT B spaltet Synaptobrevin-2 spezifisch zwischen den Aminosäuren Glutamin⁷⁶ und Phenylalanin⁷⁷. Die Aminosäuren 1 bis 76 entsprechen dem Großteil der cytosolischen Domäne von Synaptobrevin 2 (Aminosäuren 1 bis 96). Für die Spaltung wurde der Überstand einer *Clostridium Botulinum* Typ B-Kultur verwendet, welcher BoNT B enthält. 4 Vol SVs mit einer Konzentration von 2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ wurden mit 1 Vol BoNT B für 60 min bei 37 °C inkubiert. 5 Vol fusionierte Vesikel (4.2.1.9)

40 | MATERIAL UND METHODEN

wurden mit 1 Vol BoNT B inkubiert. 6 Vol Δ N-SNARE-SVs (4.2.1.8) wurden mit 1 Vol BoNT B inkubiert. Die Spaltung von Synaptobrevin-2 wurde mit Hilfe von Western Blots (4.2.1.4) überprüft.

4.2.1.8 Bindung des Δ N-SNARE-Komplexes an Synaptobrevin-2 synaptischer Vesikel

Der lösliche Δ N-SNARE-Komplex bindet an Synaptobrevin-2 welches in der Membran synaptischer Vesikel verankert ist. Um sicherzustellen, dass jede Kopie von Synaptobrevin-2 an einem löslichen Δ N-SNARE-Komplex bindet, wurden die synaptischen Vesikel mit dreifach molarem Überschuss an löslichem Δ N-SNARE-Komplex versetzt. Der Massenanteil von Synaptobrevin-2 am Gesamtproteinanteil der synaptischen Vesikel ist 8,60 % [21]. Synaptische Vesikel mit einer Konzentration von 2 μ g/ μ L haben annäherungsweise eine Konzentration von 13,6 pmol/ μ L Synaptobrevin-2. 3,4 μ g/ μ L löslicher Δ N-SNARE-Komplex hat eine Konzentration von 83 pmol/ μ L Synaptobrevin-2. Für einen dreifachen molaren Überschuss wurden 2 Vol 2 μ g/ μ L SVs mit 1 Vol 3,4 μ g/ μ L löslichem Δ N-SNARE-Komplex für 16 h bei 4 °C inkubiert. BoNT B kann Synaptobrevin-2 nicht spalten, wenn es im Δ N-SNARE-Komplex gebunden ist. Zur Überprüfung, dass kein ungebundenes Synaptobrevin-2 mehr vorliegt, wurden die mit Δ N-SNARE-Komplex inkubierten synaptischen Vesikel (Δ N-SNARE-SVs) mit BoNT B versetzt und anschließend ein Western Blot durchgeführt (4.2.1.7).

4.2.1.9 Fusionierung synaptischer Vesikel mit Proteoliposomen

Für die Fusionierung von synaptischen Vesikeln mit Liposomen wurden Proteoliposomen mit Δ N-SNARE-Komplex verwendet. Für die Fusionierung wurden 3 Vol 2 μ g/ μ L SVs (4.2.1.6) mit 1 Vol Proteoliposomen mit einer Größe von 100 nm, 4 mM Lipidmischung (4.1.5) und 8 μ M Δ N-SNARE-Komplex für 1 h bei 37 °C inkubiert. Zur Überprüfung ob nach der Fusionierung der synaptischen Vesikel noch ungebundenes Synaptobrevin-2 vorliegt wurden die fusionierten Vesikel mit BoNT B versetzt (4.2.1.7) und anschließend ein Western Blot (4.2.1.4) durchgeführt.

4.2.2 Methoden der Massenspektrometrie

4.2.2.1 Quervernetzung mittels BS3

Quervernetzung der Synaptobrevin-2-Varianten

Um einen idealen Quervernetzungsgrad der Synaptobrevin-2-Varianten zu ermitteln, wurden verschiedene Proteinkonzentrationen jeweils mit unterschiedlichen Konzentrationen des Quervernetzungsreagenzes Bis(sulfosuccinimidyl)suberat (BS3) inkubiert. Hierfür wurden die Proben

mit unterschiedlichen Volumina an 25 mM BS3 in Reinstwasser versetzt und für 1 h bei 25 °C und 300 min⁻¹ in einem Thermomixer inkubiert.

Quervernetzung der synaptischen Vesikel

Die Proben (4.2.1.6, 4.2.1.7, 4.2.1.8 und 4.2.1.9) wurden mit einer finalen Konzentration von 10 mM BS3 in Reinstwasser versetzt und für 1 h bei 25 °C und 300 min⁻¹ in einem Thermomixer inkubiert.

4.2.2.2 Proteinmodifizierung

Proteinmodifizierung mittels Sulfo-NHS-Acetat

Synaptische Vesikel entsprechend einer Proteinmenge von 30 µg wurden in 5 bzw. 10 mM Sulfo-NHS-Acetat (S-NHS-Acetat) für 15 min bei 23 °C inkubiert. Anschließend erfolgte erst eine Ethanol-fällung (4.2.2.3) und anschließend ein proteolytischer Abbau in Lösung (4.2.2.5). Die modifizierten Peptide wurden mittels LC-MS/MS analysiert (4.2.2.7).

Proteinmodifizierung mittels DEPC

Synaptische Vesikel entsprechend einer Proteinmenge von 30 µg wurden in 5 bzw. 10 mM DEPC für 10 min bei 37 °C inkubiert. Anschließend erfolgte eine Ethanol-fällung der Proteine (4.2.2.3). Für die Hydrolyse der modifizierten Proteine wurde das gefällte Protein in 20 µL 8 M Urea in 25 mM Tris-HCl, pH 7,9 gelöst und für 15 min bei Raumtemperatur inkubiert. Für die Reduktion der Disulfidbrücken wurde die Proteinlösung mit 20 µL 10 mM DTT in 8 M Urea in 25 mM Tris-HCl, pH 7,9 versetzt und für 30 min bei 23 °C inkubiert. Die Alkylierung erfolgte durch die Zugabe von 20 µL 60 mM IAA in 8 M Urea in 25 mM Tris-HCl, pH 7,9 und anschließender Inkubation für 30 min bei 23 °C. Die Probelösung wurde auf eine Konzentration von 2 M Urea mit 100 mM Ammoniumbicarbonat, pH 8,5 eingestellt. Die Proteine wurden über Nacht bei 37 °C mit Trypsin (Promega) hydrolysiert (Enzym:Protein, 1:20). Die erhaltenen Peptide wurden unter Verwendung von C18-Spinsäulen (ZipTips) entsalzen. Hierfür wurden die ZipTips zweimal mit 30 µL 60 % ACN (v/v)/0,05 % FA (v/v) equilibriert. Anschließend wurden die ZipTips dreimal mit 30 µL 0,05 % FA (v/v) eingestellt und anschließend mit der Peptidlösung beladen. Die beladenen ZipTips wurden dreimal mit 30 µL 0,05 % FA (v/v) gespült. Die Elution erfolgte zweimal mit 20 µL 60 % ACN (v/v)/0,05 % FA (v/v). Die Salz-freie Peptidlösung wurde bis zur Trockene eingengt.

Die Proteinmodifizierungsexperimente wurden von Dr. Marie Alfes geb. Barth, AG Schmidt ZIK HALOmem, MLU Halle-Wittenberg, durchgeführt.

4.2.2.3 Ethanolfällung

1 Vol Probe wurde mit 1/10 Vol 3 M Natriumacetat, pH 5,3 und 3 Vol eiskaltem Ethanol versetzt. Die Proteine präzipitierten anschließend für 16 h bei -20 °C. Danach wurden die Proteine bei 4 °C für 30 min und 13.000 × g pelletiert und der Überstand verworfen. Das Proteinpellet wurde anschließend mit 4 Vol eiskaltem 80 % (v/v) Ethanol gewaschen und wiederholt bei 4 °C für 30 min und 13.000 × g zentrifugiert und der Überstand verworfen. Das Proteinpellet wurde im Vakuumkonzentrator getrocknet.

4.2.2.4 Proteolytischer Abbau im Gel und Peptid Extraktion

Proteolytischer Abbau im Gel

Der proteolytische Abbau von Proteinen aus dem Gel erfolgte nach einer etablierten Methode [113; 114]. Die Probe bzw. das Proteingemisch wurde mittels Gelelektrophorese (4.2.1.1, 4.2.1.2) getrennt und das Gel mit Coomassie gefärbt (4.2.1.3). Die Proteinbanden wurden ausgeschnitten und in ca. 1 × 1 mm große Stücke geschnitten. Bevor die Proteine mit einer Peptidase hydrolysiert wurden, wurden die Gelstücke gewaschen, die Disulfidbrücken reduziert und die Cysteine alkyliert. Um die Gelstücke zu waschen, wurden sie mit 150 µL Reinstwasser für 5 min, bei 26 °C und 1.050 min⁻¹ gewaschen und der Überstand verworfen. Die Inkubationsschritte wurden jeweils in einem Thermomixer durchgeführt. Für einen weiteren Waschschriff wurden die Gelstücke mit 150 µL ACN für 15 min, bei 26 °C und 1.050 min⁻¹ dehydratisiert und der Überstand verworfen. Die Gelstücke wurden im Vakuumkonzentrator für 5 min getrocknet. Zur Reduzierung der Disulfidbrücken wurden die Gelstücke mit 100 µL 10 mM Dithiothreitol (DTT) in 100 mM Ammoniumhydrogencarbonat, pH 8,0 versetzt und für 50 min bei 56 °C inkubiert. Anschließend wurde der Überstand abgenommen. Es folgte eine Inkubation mit 150 µL ACN für 15 min bei 26 °C und 1.050 min⁻¹ um sämtliches DTT zu entfernen. Der Überstand wurde verworfen. Zur Alkylierung wurden die Gelstücke mit 100 µL 55 mM Iodoacetamid (IAA) in 100 mM Ammoniumhydrogencarbonat, pH 8,0 versetzt und für 20 min, bei 26 °C und 1.050 min⁻¹ im Dunkeln inkubiert. Der Überstand wurde verworfen und die Gelstücke mit 150 µL 100 mM Ammoniumhydrogencarbonat, pH 8,0 für 15 min bei 26 °C inkubiert. Danach wurden 150 µL ACN hinzugegeben und noch einmal für 15 min bei 26 °C inkubiert, um die Gelstücke zu entfärben. Der Überstand wurde verworfen. Zur Entfernung des restlichen IAAs und Coomassies wurden die Gelstücke in 150 µL ACN für 15 min, bei 26 °C und 1.050 min⁻¹ inkubiert. Nach Entfernung des Überstandes wurden die Proben im Vakuumkonzentrator getrocknet. Anschließend wurden die Proteine hydrolysiert. Die getrockneten Gelstücke wurden für die Hydrolyse mit 0,1 µg/µL Trypsin (1:20 Enzym:Protein) in

41,7 mM Ammoniumhydrogencarbonat, 0,125 mM Salzsäure, 4,2 mM Calciumchlorid oder mit 0,1 µg/µL Chymotrypsin (1:20 Enzym:Protein) in 41,7 mM Ammoniumhydrogencarbonat, 0,125 mM Salzsäure, 4,2 mM Kaliumchlorid versetzt, bis die Gelstücke keinen weiteren peptidasehaltigen Puffer aufgenommen haben. Um ein Eintrocknen der Gelstücke während der Proteolyse zu verhindern wurden die rehydratisierten Gelstücke mit 50 µL 47,6 mM Ammoniumhydrogencarbonat, 4,7 mM Calciumchlorid Proteolysepuffer überschichtet. Die Proteine wurden für 16 h bei 37 °C mit Trypsin oder bei 25 °C mit Chymotrypsin hydrolysiert.

Peptidextraktion

Während der Proteolyse der Proteine diffundieren die Peptide bereits teilweise aus den Gelstücken in den Überstand. Zur vollständigen Extraktion der tryptischen Peptide wurden die Gelstücke in Proteolysepuffer mit 50 µL Reinstwasser versetzt und für 15 min bei 37 °C und 1.050 min⁻¹ inkubiert. Es wurden zusätzlich 50 µL ACN zu den Proben gegeben und die Proben ein weiteres Mal für 15 min bei 37 °C und 1.050 min⁻¹ inkubiert. Der peptidhaltige Überstand wurde abgenommen und aufbewahrt. Um restliche Peptide aus den Gelstücken zu extrahieren wurden die Gelstücke mit 5 % (v/v) FA versetzt und für 15 min bei 37 °C und 1.050 min⁻¹ inkubiert. Die Gelstücke wurden zusätzlich mit 50 µL ACN versetzt und für 15 min bei 37 °C und 1.050 min⁻¹ inkubiert. Der Überstand wurde abgenommen und mit dem zuvor gewonnenen Überstand vereinigt. Der vereinte peptidhaltige Überstand wurde im Vakuumkonzentrator bis zur Trockene eingengt. Für die Peptidextraktion nach der Hydrolyse mit Chymotrypsin wurden alle Schritte bei 25 °C durchgeführt.

4.2.2.5 Proteolytischer Abbau in Lösung

Der proteolytische Abbau komplexer Proben wurde in Lösung durchgeführt. Hierfür wurde das Proteinpellet der Ethanolfällung (4.2.2.3) in 10 µL 1 % (m/v) RapiGest® gelöst. Anschließend wurden für die Reduktion der Disulfidbrücken 10 µL 50 mM Dithiothreitol in 25 mM Ammoniumhydrogencarbonat, pH 8,5 hinzugegeben und die Probe für 1 h bei 37 °C inkubiert. Danach wurden für die Alkylierung der Cysteine 10 µL 100 mM Iodoacetamid in 25 mM Ammoniumhydrogencarbonat, pH 8,5 hinzugegeben und im Dunkeln für 1 h bei 37 °C inkubiert. Für die Proteolyse wurde 0,1 µg/µL Trypsin (1:100 bis 1:20, Enzym:Protein, 0,1 bis 0,5 µg/µL in 50 mM FA) zugegeben. Die Probe wurde mit 25 mM Ammoniumhydrogencarbonat, pH 8,5 auf eine RapiGest® (Waters) Konzentration von 0,1 % (m/v) verdünnt und die Proteine anschließend für 16 h bei 37 °C hydrolysiert. Zur Hydrolyse des RapiGest®

44 | MATERIAL UND METHODEN

wurde die Probe mit 20 µL 5 %iger (v/v) TFA versetzt und für 2 h bei 37 °C inkubiert. Zur Fällung des hydrolysierten RapiGest® wurde die Probe bei 13.000 min⁻¹ für 30 min zentrifugiert. Der peptidhaltige Überstand wurde abgenommen und im Vakuumkonzentrator bis zur Trockene eingengt. Für den Verdau von quervernetzten synaptischen Vesikeln wurden alle Schritte mit doppeltem Volumen und mit einer Trypsin Konzentration von 0,5 µg/µL durchgeführt.

4.2.2.6 Anreicherung quervernetzter Peptide

Die Anreicherung der quervernetzten Peptide erfolgte mittels Größenausschlusschromatographie unter Verwendung einer ÄKTATM pure Anlage. Zunächst wurde das Peptidpellet (4.2.2.3) in 60 µL 60 % (v/v) ACN, 0,1 % (v/v) TFA gelöst und für 1 min bei 10.000 × g zentrifugiert. 50 µL des Überstandes wurden auf eine SuperdexTM peptide 3.2/300-Säule aufgetragen. Die isokratische Trennung erfolgte mit 60 % (v/v) ACN, 0,1 % (v/v) TFA mit einer Flussgeschwindigkeit von 50 µL/min. Die Extinktion des Eluenten wurde bei 280 nm gemessen. Peptidhaltige Fraktionen von je 50 µL wurden anhand des UV-Spektrums ausgewählt. Fraktionen mit geringer Peptidkonzentration wurden vereinigt. Alle Fraktionen wurden im Vakuumkonzentrator zur Trockene eingengt.

4.2.2.7 Analyse von Peptiden mittels LC-MS/MS

Die LC-MS/MS Analyse erfolgte unter Verwendung einer Nanofluss Umkehrphasenchromatographie HPLC (DionexUltiMate 3000 RSLCnano System, Thermo Scientific; Mobile Phase A: 0,1 % (v/v) FA; Mobile Phase B: 80 % (v/v) ACN, 0,1 % (v/v) FA) gekoppelt mit einem Q Exactive Plus Hybrid Quadrupole-Orbitrap Massenspektrometer (Thermo Scientific).

Auftrennung der Peptide

Die Peptide wurden auf eine Vorsäule (µ-Pre-column C18 PepMap 100, C18, 300 µm I.D., Partikelgröße 5 µm; Thermo Scientific) aufgetragen um Salze abzutrennen. Die Auftrennung der Peptide erfolgte anschließend mit einer Flussgeschwindigkeit von 300 nL/min auf einer C18-Kapillarsäule (50 cm, HPLC column Acclaim® PepMap 100, C18, 75 µm I.D., Partikelgröße 3 µm, Thermo Scientific) bei einem linearen Gradienten der Mobilien Phase B von vier bis 90 % (v/v). Die Gradientenlaufzeit zur Auftrennung der Peptide welche durch einen In-Gel-Verdau gewonnen wurden (4.2.2.4) betrug 69 min. Die Gradientenlaufzeit der Peptide aus einem Lösungsverdau (4.2.2.5) betrug 95 min. Für chemisch-modifizierte Peptide (4.2.2.2) betrug die Gradientenlaufzeit 271 min. Die Peptide eluierten direkt in das Massenspektrometer.

Konditionen des Massenspektrometers

Am Emitter wurde eine Sprayspannung von 2,8 kV angelegt, die Temperatur der Transferkapillare betrug 275 °C. Die normalisierte Kollisionsenergie lag bei 30 %. Die Aufzeichnung der Spektren erfolgte im datenabhängigen Modus. Die MS Spektren des Massenbereichs von Peptiden wurden in der Orbitrap (m/z 350 – 1600) mit einer Auflösung von 70.000 und einer automatischen Verstärkungsregelung (AGC, von englisch *automatic gain control*) von $3 \cdot 10^6$ generiert. Die kollisionsinduzierte Dissoziation (HCD von engl. *higher-energy collisional dissociation*) erfolgte unter einer AGC von $1 \cdot 10^5$. Es wurden jeweils die 20 intensivsten Ionen fragmentiert, wobei bereits fragmentierte Ionen für 30 Sekunden von einer weiteren Fragmentierung ausgeschlossen wurden. Für die HCD-Fragmentierung wurden Ionen mit einem Ladungszustand von 2+ bis 7+ ausgewählt. Es erfolgte eine interne Kalibrierung mit Hilfe der Lockmasse m/z 445,120025 [162].

4.2.2.8 Analyse quervernetzter Peptide mittels LC-MS/MS unter Verwendung eines Q Exactive Plus Massenspektrometers

Die Analyse der quervernetzten Peptide mittels LC-MS/MS erfolgte analog zu der Analyse von Peptiden (4.2.2.6). Quervernetzte Peptide wurden über einen Gradienten von 92 min aufgetrennt. Quervernetzte Peptide, welche nach Bindung des löslichen Δ N-SNARE-Komplexes an synaptische Vesikel (4.2.1.8) gewonnen wurden, wurden über einen Gradienten von 152 min aufgetrennt. Für die HCD-Fragmentierung wurden zusätzlich zweifach geladene Ionen ausgeschlossen.

4.2.2.9 Datenanalyse von Peptiden zur Proteinidentifizierung

Für die Identifizierung von Proteinen wurden die gewonnenen Rohdaten mit entsprechenden Datenbanken abgeglichen. Für den Datenbankabgleich wurde die Software MaxQuant verwendet.

Identifizierung verschiedener Synaptobrevin-2-Varianten

Für die Identifizierung der verschiedenen Synaptobrevin-2-Varianten wurde MaxQuant v1.5.7.0 verwendet. Als Datenbank diente die Aminosäuresequenz der verschiedenen Varianten, wobei Aminosäurereste der Thrombinschnittstelle berücksichtigt wurden. Die Massentoleranz des Vorläuferions sowie der Fragmentionen wurde auf 20 ppm festgelegt. Die Peptide wurden durch tryptische oder chymotryptische Spaltung gewonnen. Es wurde definiert, dass die Peptide maximal zwei ungeschnittene Spaltungsstellen aufweisen. Carbamidomethylierung der Cysteinreste und Oxidation der Methioninreste wurden als variable Modifikation zugelassen.

Identifizierung des Proteoms synaptischer Vesikel

Für die Identifizierung des Proteoms der präparierten synaptischen Vesikel (4.2.1.6) wurde MaxQuant v1.6.3.4 verwendet. Als Datenbank wurde das Uniprot Referenzproteom der Spezies *Rattus norvegicus* (31.568 Proteine, Stand vom 26.09.2018, UniProt Proteom ID: UP000002494) verwendet. Die Massentoleranz des Vorläuferions wurde auf 4,5 ppm und der Fragmentionen auf 0,5 Da festgelegt. Die Peptide wurden durch tryptische Spaltung gewonnen und es wurden maximal zwei ungeschnittene Spaltungsstellen zugelassen. Carbamidomethylierung der Cysteinreste und Oxidation der Methioninreste wurden als variable Modifikation definiert. Für die Quantifizierung der Proteine wurden iBAQ-Intensitäten [132] ermittelt. Der iBAQ entspricht dem Quotienten aus allen Peptidsignalintensitäten die einem Protein zugeordnet werden können und der Anzahl aller theoretisch möglichen tryptischen Peptide der verwendeten Datenbank. Mit der Software Perseus v1.6.2.3 wurden Kontaminationen wie Keratine oder Trypsin aus der Liste der identifizierten Proteine entfernt. Es wurden alle Proteine entfernt, welche lediglich an Hand ihrer posttranslationalen Modifikationen identifiziert werden konnten, sowie Proteine, welche einen MaxQuant Score von unter 100 aufwiesen. Mit Hilfe der Perseus Software wurde die mediane iBAQ-Intensität der Replikate ermittelt und Streudiagramme erstellt.

4.2.2.10 Datenanalyse zur Identifizierung quervernetzter Peptide

Snaptobrevin-2-Varianten

Die Identifizierung der quervernetzten Peptide verschiedener Synaptobrevin-2-Varianten erfolgte mit Hilfe der Software pLink v1.2. Als Datenbank wurden die Aminosäuresequenzen der exprimierten Proteine verwendet. Zunächst wurden die Rohdaten mit pXtract in das MGF-Format (Mascot Generisches Format) umgewandelt und dann pLink v1.2 für den Abgleich der Daten mit den Datenbanken verwendet. Es wurden die folgenden Parameter für den Abgleich festgelegt: als Fragmentierungsmethode wurde HCD-Fragmentierung und als Enzym, Trypsin definiert. Als variable Modifikationen wurde Carbamidomethylierung der Cysteine und Oxidation der Methionine zugelassen. Als Quervernetzungsreagenz wurde BS3 mit einer Reaktivität beider funktionellen Gruppen mit Lysin und dem N-Terminus definiert. Für die Identifizierung der Nebenreaktionen wurde in einer separaten Suche BS3 mit einer Reaktivität der ersten funktionalen Gruppe mit Lysin, Serin, Threonin, Tyrosin oder dem N-Terminus und einer Reaktivität der zweiten funktionalen Gruppe mit Serin, Threonin, Tyrosin oder dem N-Terminus definiert.

Quervernetzte Varianten synaptischer Vesikel

Für die Identifizierung der quervernetzten Peptide wurde aus den 400 Proteinen mit den höchsten medianen iBAQ-Intensitäten (4.2.2.9) eine Datenbank erstellt (SV-Fasta). Die Rohdateien wurden mit der Datenbank abgeglichen. Die Datenbanksuche erfolgte mit der Software pLink2 v2.3.5. Für die Datenbanksuche wurden die folgenden Parameter definiert: Die Peptide wurden durch tryptische Spaltung gewonnen und es wurden maximal zwei ungeschnittene Spaltungsstellen zugelassen, die minimale Peptidgröße wurde als 600 Da und 4 AS und die maximale Peptidgröße als 6000 Da und 60 AS definiert, die Massentoleranz des Vorläuferions wurde auf 20 ppm und die Massentoleranz der Fragmentionen auf 20 ppm festgelegt, Carbamidomethylierung der Cysteinreste und Oxidation der Methioninreste wurden als variable Modifikation definiert, als Fragmentierungsmethode wurde HCD, als Quervernetzungsreagenz wurde BS3 mit einer Reaktivität mit Lysin und dem N-Terminus und ein FDR von 0,05 definiert. Die generierten Tabellen wurden mit Hilfe der CroCo Software [157] formatiert.

Die von pLink1 und pLink2 identifizierten Spektren wurden ergänzend manuell validiert. Wobei berücksichtigt wurde, dass für beide Peptide eine Fragmentionenserie von mindestens drei Fragmentionen detektiert wurde (y- und/oder b-Ionen), die Hauptsignale eines Spektrums zugeordnet wurden und die zugeordneten Signale eine Intensität größer als das Hintergrundrauschen haben.

4.2.2.11 Herstellung von Emittern zur Elektrosprayionisation

Emitter für die Elektrosprayionisation wurden aus Glaskapillaren (Glass Capillaries GC100T-10, Glass Capillaries GC100TF-10) selbst hergestellt. Die Glaskapillaren wurden mit dem Micropipette Puller p-1000 (Sutter Instruments) zum Ziehen von Kapillaren unter Erhitzung in zwei symmetrische Glasemitter gezogen. Hitze und Zugkraft wurden so gewählt, dass der Emitter eine geschlossene, möglichst dünne Spitze aufweist [145]. Für die elektrische Leitfähigkeit der Emitter wurden die Glasemitter mit Gold beschichtet. Hierfür wurde die Beschichtungsanlage Sputter Coater Q150R S (Quorum) entsprechend der Herstellervorgaben verwendet.

4.2.2.12 Probenvorbereitung für die native Massenspektrometrie

Um Proteine in die Gasphase überführen zu können, wurde der Lagerpuffer gegen 200 mM Ammoniumacetat, pH 7,0 ausgetauscht. Hierfür wurde zunächst der Puffer einer Micro Bio-Spin™ P-6 Gelfiltrationssäule (Bio-Rad) dreimal mit 0,5 mL 200 mM Ammoniumacetat, pH 7,0 bei 1000 × g für

1 min ausgetauscht. Anschließend wurden 20 μL Probe auf die Säule aufgetragen und der Lagerpuffer der Proteine für 4 min bei 1000 \times g ausgetauscht. Das Filtrat wurde direkt für die Messung eingesetzt.

Bei detergenzhaltigen Proben wurden der Lagerpuffer mit Hilfe einer PD10 Gelfiltrationssäule (GE Healthcare, 2,1 mL Säulenvolumen, Stationäre Phase: Sephadex G25) gegen 200 mM Ammoniumacetat, pH 7,0 entsprechend der Herstellerangaben ausgetauscht.

4.2.2.13 Native Massenspektrometrie zur Analyse intakter Proteinkomplexe

Für die Messung intakter Proteinkomplexe wurden 2 bis 4 μL der Probe (4.2.2.12) in einen Emitter (4.2.2.11) überführt. Der Emitter wurde mit Hilfe einer Pinzette geöffnet. Die Messungen erfolgten an einem Q-TOF Ultima (Waters), welches speziell für die Transmission großer Massen modifiziert wurde (MS Vision) [147]. An den Emitter wurde eine Spannung von 1,5 bis 1,7 V und auf den Probenkegel, sowie die RV-Linse eine Spannung von 80 V angelegt. Die Kollisionsenergie variierte zwischen 40 und 100 V. Die Massenspektren wurden extern mit Hilfe einer 100 mg/mL Cäsiumiodid-Lösung kalibriert [163].

4.2.2.14 Auswertung der Nativen MS Spektren

Die erhaltenen Massenspektren weisen für jeden Proteinkomplex eine Signalserie auf. In einer Signalserie entspricht jeder Peak einem Ladungszustand bei seinem m/z -Verhältnis. Die Daten aus mindestens 100 gemessenen Spektren wurden zusammengefasst. Ist eine Signalserie identifiziert, ergibt sich daraus die Masse des Proteinkomplexes. Für die Annotierung verschiedener Signalserien wurde die Software Massign verwendet. Die Software simuliert eine theoretische Signalserie mit den entsprechenden Ladungszuständen. Die Ausgangsparameter (Ladungszustand und m/z -Verhältnis des intensivsten Peaks) wurden verändert, bis die theoretische Signalserie mit den Signalen aus dem Spektrum übereinstimmten.

4.2.2.15 Ionen-Mobilität-Massenspektrometrie-Messungen

Die Kollisionsquerschnitte (Ω) wurden an einem speziell konstruierten IM-Massenspektrometer [150], mit Helium als Puffergas, gemessen. Die Ionen wurden mit Hilfe einer nanoESI-Quelle generiert und in einem Sanduhr-förmigen Eintritts-Funnel angereichert. Die Transmission der Ionen in die Driftzelle erfolgt in 150 μs langen Pulsen und einer Injektionsspannung von 30 V. Die Transmission durch die Driftzelle erfolgte in einem schwachen elektrischen Feld (~ 15 V/cm) in Helium-Puffergas (~ 5 mbar).

Nach Freigabe aus der Ionenmobilitätszelle wurden die Ionen mit einem Q-Massenfilter massenselektiert und ihre Verteilung der Ankunftszeit (ATD) durch Messung des zeitabhängigen Ionenstroms der m/z -selektierten Spezies aufgezeichnet. Die ATD wurde bei fünf Driftspannungen (1200-1000 V) aufgezeichnet und durch mehrere Gauß-Funktionen angepasst. Der Mittelwert jeder Gaußfunktion entspricht der Driftzeit einer einzelnen Spezies und wird mit Hilfe der Mason-Schamp-Gleichung [152; 153] in den Kollisionsquerschnitt umgerechnet (3.4.5).

Die IM-MS-Messungen und Auswertungen wurden von Waldemar Hoffmann, AG Prof. Dr. Kevin Pagel, Institut für Chemie und Biochemie, Freie Universität Berlin, durchgeführt.

4.2.2.16 Verfügbarkeit der Daten

Die gewonnen Rohdaten der massenspektrometrischen Experimente der Experimente mit Proteinen synaptischer Vesikel wurden beim ProteomeXchange Consortium (<http://proteomecentral.proteomexchange.org>) über das PRIDE-Partner-Repositorium ([164]), mit der Datensatzkennung Kennung PXD020859, hinterlegt.

5 Ergebnisse

Ziel dieser Arbeit war die Identifizierung von Interaktionen der Proteine intakter synaptischer Vesikel.

Die Identifizierung der Proteininteraktionen synaptischer Vesikel erfolgte unter der Verwendung der chemischen Quervernetzung in Kombination mit MS.

5.1 Präparation und Charakterisierung der synaptischen Vesikel¹

Um die Interaktionen der Proteine synaptischer Vesikel identifizieren zu können, mussten diese zunächst intakt gewonnen werden. Danach wurde ihre Gesamtproteinkonzentration bestimmt. Zur Charakterisierung wurden zunächst ausgewählte Proteine immunologisch nachgewiesen und zuletzt Nachweise für die Fusionsfähigkeit der synaptischen Vesikel durchgeführt.

5.1.1 Präparation der synaptischen Vesikel²

Synaptische Vesikel können anhand ihrer Dichte und Größe aus Rattenhirnen präpariert werden. Für die Präparation der synaptischen Vesikel wurde die etablierte Methode nach Nagy et al. (1976) und Hutter et al. (1983) [160; 161] angewandt. Die Gewinnung von Synaptosomen erfolgte durch Homogenisierung von Rattenhirnen. Die Synaptosomen wurden anschließend durch Differentialzentrifugation von anderen Zellbestandteilen abgetrennt. Die Freisetzung der synaptischen Vesikel aus den Synaptosomen erfolgte durch osmotische Lyse. Mit Hilfe der Dichtegradientenzentrifugation in einem kontinuierlichen Saccharosegradienten wurden Bestandteile der lysierten Synaptosomen, welche eine andere Dichte als die der synaptischen Vesikel aufwiesen, abgetrennt. Anschließend erfolgte die Abtrennung der Synaptosomenbestandteile mit ähnlicher Dichte durch eine Größenausschlusschromatographie. Als stationäre Phase dienten spezielle poröse Glaskugeln mit einer Porengröße von 3000 Å. Die Konzentration nach der Größenausschlusschromatographie wurde durch Ultrazentrifugation der vesikelhaltigen Fraktion und anschließender Resuspendierung der synaptischen Vesikel erhöht. Die Auswahl an Fraktionen mit synaptischen Vesikeln erfolgte anhand der Literaturangaben, da das Chromatogramm seit der

¹ Die Ergebnisse dieses Kapitels wurden publiziert in **Wittig S**, Ganzella M, Barth M, Kostmann S, Riedel D, Pérez-Lara Á, Jahn R, Schmidt C. Cross-linking mass spectrometry uncovers protein interactions and functional assemblies in synaptic vesicle membranes. *Nature Communications*. 2021 Feb 8;12(1):858.

² Die Präparationen synaptischer Vesikel erfolgte in Zusammenarbeit mit Dr. Marcelo Ganzella, AG Jahn MPI für biophysikalische Chemie, Göttingen, sowie unter Assistenz von Susann Kostmann, AG Schmidt ZIK HALOmem, MLU Halle-Wittenberg.

Entwicklung der Methode im Jahr 1983 [160] einen vergleichbaren Kurvenverlauf mit zwei Absorptionsmaxima aufweist. Die unterschiedlichen Fraktionen dieser etablierten Methode wurden in anderen Studien auf unterschiedliche Markerproteine untersucht, um festzustellen in welchen Fraktionen die synaptischen Vesikel enthalten sind [160; 21; 165]. Demnach sind in den Fraktionen des ersten Absorptionsmaximums heterogene Membranvesikel mit einem Durchmesser größer 100 nm enthalten und in den Fraktionen des zweiten Absorptionsmaximums die synaptischen Vesikel [21].

Abbildung 12 zeigt eines der Chromatogramme der Größenausschlusschromatographie aus insgesamt 12 Präparationen. Wie in der Literatur beschrieben, weist das Elutionsprofil zwei Absorptionsmaxima auf. In der gezeigten Präparation wurden die Fraktionen 53 bis 59 vereinigt, welche nach Literaturangaben die synaptischen Vesikel enthalten.

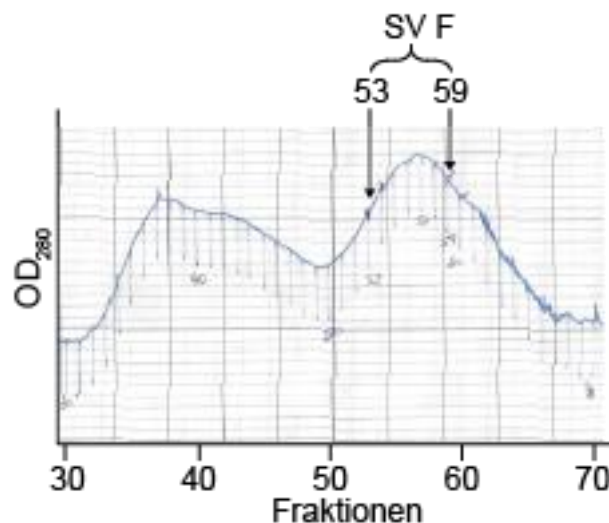


Abbildung 12: Chromatogramm der Größenausschlusschromatographie aus einer Präparation synaptischer Vesikel.

Die Fraktionen sind gegen die optische Dichte bei 280 nm (OD₂₈₀) aufgetragen. Das Chromatogramm zeigt zwei Maxima. Die Fraktionen 53 bis 59 mit synaptischen Vesikel (SV F) sind markiert.

Zur Überprüfung, ob es sich bei den präparierten synaptischen Vesikeln um intakte synaptische Vesikel handelt, wurden elektronenmikroskopische Aufnahmen vor und nach der letzten Ultrazentrifugation durchgeführt³. Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigen den Einfluss der letzten Ultrazentrifugation auf die synaptischen Vesikel. Abbildung A. 1A zeigt die elektronenmikroskopische

³ Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden von Dr. Dietmar Riedel / Abteilung Strukturelle Dynamik; MPI für biophysikalische Chemie, Göttingen, aufgenommen und zur Verfügung gestellt.

Aufnahme der vereinigten Fraktionen mit synaptischen Vesikeln vor der letzten Ultrazentrifugation. Die Aufnahme zeigt intakte Vesikel mit einer Größe von ca. 100 nm. Die Vesikel weisen weder Deformationen noch Aggregationen auf. Abbildung A. 1B zeigt die Aufnahme der synaptischen Vesikel nach der letzten Ultrazentrifugation. In der Aufnahme sind deutlich mehr intakte synaptische Vesikel mit einer Größe von ca. 100 nm zu sehen als in der Aufnahme vor der letzten Ultrazentrifugation (Abbildung A. 1A und Abbildung A. 1B). Auch nach der Ultrazentrifugation sind die synaptischen Vesikel nicht deformiert und es sind auch keine Aggregate zu sehen.

Synaptische Vesikel weisen über 200 unterschiedliche Proteine auf [21]. Als Nachweis, dass die präparierten synaptischen Vesikel ebenfalls eine Vielzahl an Proteinen aufweisen, wurde eine SDS-PAGE mit den synaptischen Vesikeln mit Hilfe des anionischen Tensids Natriumdodecylsulfats gelöst und die Proteine der synaptischen Vesikel durchgeführt und anschließend das Gel mit Coomassie eingefärbt. Abbildung 13 zeigt ein exemplarisches Gel mit den Proteinen synaptischer Vesikel. Gele mit Proteinen synaptischer Vesikel weisen im gesamten Bereich des Proteinmarkers von 6 kDa bis 196 kDa Proteinbanden auf. In der Abbildung wurden die theoretischen Laufhöhen einiger ausgewählter Markerproteine synaptischer Vesikel angedeutet, um zu veranschaulichen das im gesamten Bereich des Proteinmarkers Proteinbanden zu erwarten waren. Die etablierte Methode nach Hutter et al. und Nagy et al. [160; 161] wurde demnach erfolgreich angewandt um synaptische Vesikel zu gewinnen.

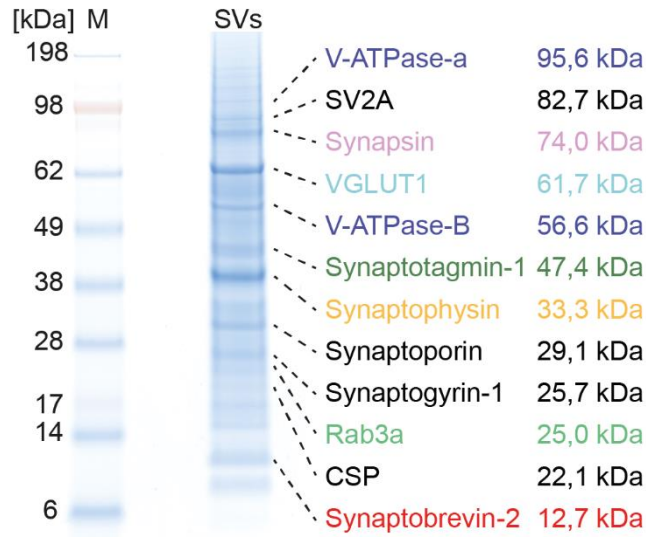


Abbildung 13: Exemplarisches Gel einer der Präparationen synaptischer Vesikel.

Beispielhaftes Gel einer SDS-PAGE mit anschließender Coomassie-Färbung mit Proteinen synaptischer Vesikel (SVs) einer der zwölf erfolgten Präparationen. Für ausgewählte Proteine synaptischer Vesikel wurde die Laufhöhe anhand des Molekulargewichts angedeutet. Das Molekulargewicht der Proteine des Proteinmarkers (M) sind angegeben.

5.1.2 Ausbeute der Präparationen

Um mit vergleichbaren Gesamtproteinkonzentrationen zu arbeiten, wurde zunächst die Gesamtproteinkonzentration der präparierten synaptischen Vesikel bestimmt. Für die Bestimmung der Gesamtproteinkonzentration wurde die Extinktion bei 280 nm gemessen. Die Messung erfolgte mit Hilfe eines Mikrovolumen-UV/VIS-Spektralphotometers, um den Verlust an synaptischen Vesikeln durch die Gesamtproteinbestimmung so gering wie möglich zu halten. Die Umrechnung der Extinktion in die Proteinkonzentration erfolgte mit dem molaren Extinktionskoeffizienten des Standardproteins BSA ($43,824 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$). In Tabelle 1 sind die durchgeführten Präparationen mit den entsprechenden Gesamtproteinkonzentrationen aufgelistet. Für die Durchführung der folgenden Versuche wurden zwölf Präparationen synaptischer Vesikel verwendet. Eine vergleichbare Gesamtproteinkonzentration der unterschiedlichen Präparationen wurde durch Verdünnung der synaptischen Vesikel auf eine Proteinkonzentration von $2 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ erzielt.

Tabelle 1: Ausbeute der Präparationen synaptischer Vesikel.

Auflistung der Präparationen synaptischer Vesikel mit der erzielten Gesamtproteinkonzentration in $\mu\text{g}/\mu\text{L}$.

Präparation	Gesamtproteinkonzentration [$\mu\text{g}/\mu\text{L}$]	Präparation	Gesamtproteinkonzentration [$\mu\text{g}/\mu\text{L}$]
1	2,8	7	2,7
2	2,6	8	10,2
3	9,5	9	8,1
4	1,8	10	4,6
5	10,1	11	11,2
6	2,0	12	5,9

5.1.3 BoNT B-Assay

Während der Präparation könnten sich invertierte synaptische Vesikel ausgebildet haben. Im Szenario invertierter synaptischer Vesikel, befänden sich luminale Proteindomänen im Cytosol und cytosolische Proteindomänen im Lumen. So befände sich auch die cytosolische Domäne von Synaptobrevin-2 im Lumen. Anhand der erzielten Chromatogramme der Größenausschlusschromatographie, elektronenmikroskopischen Aufnahmen und der Coomassie-gefärbten Gele können invertierte synaptische Vesikel nicht ausgeschlossen werden. Daher erfolgte der Nachweis invertierter synaptischer Vesikel mit Hilfe eines BoNT B-Assays. BoNT B spaltet Synaptobrevin-2 spezifisch zwischen den Aminosäuren Glutamin76 und Phenylalanin77 [42]. In Abbildung 14A ist der Spaltprozess von Synaptobrevin-2 mit BoNT B schematisch dargestellt. Für die Spaltung von Synaptobrevin-2 mittels BoNT B muss die cytosolische Domäne sterisch zugänglich sein. Dies wäre bei invertierten synaptischen Vesikeln nicht der Fall, da sich die cytosolische Domäne im Inneren der invertierten Vesikel befinden würde. Für diesen Kontrollversuch wurde der Überstand einer *Clostridium Botulinum* Type B-Kultur verwendet, welcher die leichte Kette und damit die Endopeptidase des Toxins (BoNT B) enthielt. Die präparierten synaptischen Vesikel wurden mit steigender Menge BoNT B versetzt. Die Detektion erfolgte immunologisch, mit Hilfe des Primärantikörpers anti-VAMP 1/2/3, welcher sowohl an intaktes Synaptobrevin-2 als auch an das Spaltprodukt von BoNT B (Aminosäuren 1-76) bindet. Abbildung 14B zeigt die Aufnahme des Western Blots aus diesem Kontrollversuch. Die Kontrollprobe ohne BoNT B zeigt eine Bande bei 16 kDa, welche dem Molekulargewicht von Synaptobrevin-2 entspricht. Bereits bei geringen Mengen an BoNT B ist ausschließlich eine Bande bei ca. 7 kDa zu sehen, welche dem Molekulargewicht des Spaltproduktes von Synaptobrevin-2 (BoNT Spaltprodukt) von 7976 Da entspricht. Bereits bei der kleinsten zugesetzten Menge an BoNT B konnte kein

ungespaltenes Synaptobrevin-2 mehr nachgewiesen werden. Die cytosolische Domäne war für das BoNT B zugänglich. Der Kontrollversuch ergab somit keinen Hinweis auf invertierte synaptische Vesikel.

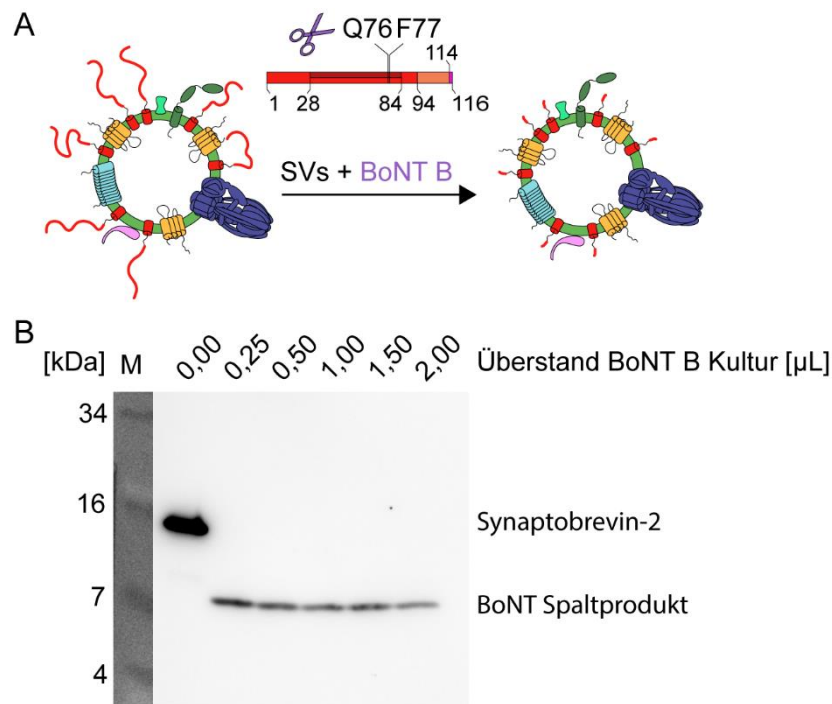


Abbildung 14: Spaltung von Synaptobrevin-2 synaptischer Vesikel mit BoNT B.

(A) Schematische Darstellung der Spaltung von Synaptobrevin-2 mit BoNT B. Links ist ein synaptisches Vesikel mit intaktem Synaptobrevin-2 (rot) schematisch dargestellt. Nach Inkubation mit BoNT B (SV + BoNT B) ist rechts ein synaptisches Vesikel mit einer verkürzten cytosolischen Domäne von Synaptobrevin-2 (dem Spaltprodukt) abgebildet **(B)** Western Blot der Spaltung von Synaptobrevin-2 mit BoNT B. Synaptische Vesikel, mit 4 µg Gesamtprotein, versetzt mit steigendem Volumen des Überstandes einer BoNT B produzierenden Clostridienkultur (0,25 µL bis 2,00 µL). Sowohl das intakte Synaptobrevin-2 (ca. 16 kDa) in der Kontrollprobe, als auch das Spaltprodukt von Synaptobrevin-2 (ca. 7 kDa) wurden detektiert (Primärantikörper: anti-VAMP 1/2/3, Sekundärantikörper: anti-Rabbit IgG (Gesamt-molekül)–Peroxidase AK).

5.1.4 Charakterisierung der synaptischen Vesikel⁴

Zur weiteren Validierung, dass es sich bei den präparierten Vesikel um synaptische Vesikel handelt, wurden ausgewählte, in der Literatur beschriebene Hauptproteinkomponenten synaptischer Vesikel [22; 21] immunologisch nachgewiesen. Der Nachweis erfolgte mit spezifischen Antikörpern. In Abbildung A. 2 sind die Ergebnisse der immunologischen Detektion dargestellt. Hierfür wurde eine SDS-Page mit den präparierten synaptischen Vesikeln durchgeführt und anschließend ein Western Blot

⁴ Die Anfertigung der Western Blots erfolgte durch Susann Kostmann, AG Schmidt ZIK HALOmem, MLU Halle-Wittenberg

mit anschließender immunologischer Detektion durchgeführt. Die Detektion erfolgte durch die spezifischen Primärantikörper anti-V-ATPase-a1, anti-Synaptotagmin-1, anti-Synaptophysin-1, anti-Syntaxin-1A, anti-Synaptoporin, anti-Synaptogyrin-1, anti-SNAP25, anti-CS und anti-Synaptobrevin-2. Alle ausgewählten Hauptproteinkomponenten konnten mit Hilfe der spezifischen Antikörper nachgewiesen werden.

5.1.5 Fusion synaptischer Vesikel mit Proteoliposomen⁵

Ein Nachweis für die Funktionsfähigkeit synaptischer Vesikel ist die Fähigkeit zur Fusion mit Proteoliposomen, welche den Δ N-SNARE-Komplex (Δ N-SNARE-Liposomen) enthalten. Während der native SNARE-Komplex aus Syntaxin-1A, Synaptobrevin-2 und SNAP-25 besteht, weist der Δ N-SNARE-Komplex angepasste Varianten dieser Proteine auf. Die verwendete Syntaxin-1A-Variante Stx1A(183-288) weist die Transmembranhelix zur Verankerung des Komplexes in der Liposommembran auf, jedoch nicht die N-terminale Habc-Domäne. Anstelle von Synaptobrevin-2 steht die verkürzte Synaptobrevin-2-Variante Syb(49-96), welche aus dem C-terminalen Teil des SNARE-Motives besteht. Der SNAP-25-Variante SNAP25(1-206) fehlen die Palmitinsäurereste über welchen natives SNAP-25 in der präsynaptischen Membran verankert ist. Das native Synaptobrevin-2 der synaptischen Vesikel bildet mit dem Δ N-SNARE-Komplex den SNARE-Komplex. Syb(49-96) wird dabei verdrängt und die synaptischen Vesikel fusionieren mit den Proteoliposomen. In Abbildung 15 ist die Fusion der synaptischen Vesikel mit den Proteoliposomen schematisch dargestellt.

⁵ Die DLS-Messungen erfolgten durch Dr. Marcelo Ganzella, AG Jahn MPI für biophysikalische Chemie, Göttingen

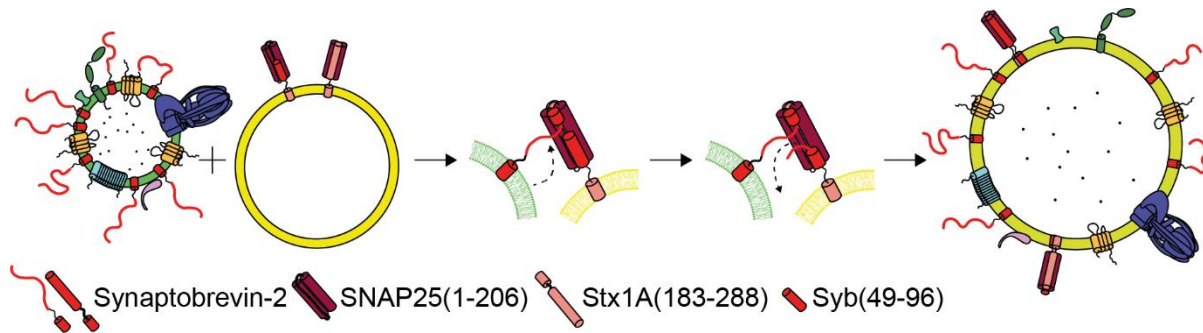


Abbildung 15: Schematische Darstellung der Fusion von synaptischen Vesikeln mit Δ N-SNARE-Liposomen.

Δ N-SNARE-Liposomen mit Stx1A(183-288), SNAP25(1-206) und Syb(49-96) fusionieren mit einem synaptischen Vesikel zu Vesikeln mit größerem Durchmesser. Die SNARE-Motive sind als Zylinder dargestellt. Die Annäherung von Synaptobrevin-2 an den Δ N-SNARE-Komplex, sowie die N-terminale Bindung von Synaptobrevin-2 an den Δ N-SNARE-Komplex und die Verdrängung von Syb(49-96) aus dem Δ N-SNARE Komplex ist dargestellt.

Zunächst wurde mit Hilfe der dynamischen Lichtstreuung überprüft, ob die synaptischen Vesikel vollständig mit den Δ N-SNARE-Liposomen fusionieren. Um zu gewährleisten, dass die Δ N-SNARE-Liposomen einen anderen hydrodynamischen Durchmesser als den der synaptischen Vesikel haben, wurden Δ N-SNARE-Liposomen mit einem Durchmesser von 400 nm verwendet. Die synaptischen Vesikel wurden mit den Δ N-SNARE-Liposomen versetzt und der hydrodynamische Durchmesser nach 0 min, 15 min, 60 min und 90 min gemessen. In Abbildung A. 3 sind die Ergebnisse der Messung graphisch dargestellt. Nach 60 min ist das Signal im Bereich des hydrodynamischen Radius synaptischer Vesikel bei 55 nm bis 73 nm kaum noch nachweisbar, während das Signal im Bereich der fusionierten synaptischen Vesikel von 224 nm bis 296 nm deutlich überwiegt. Es konnte nachgewiesen werden, dass die präparierten synaptischen Vesikel mit Δ N-SNARE-Liposomen fusionieren. Folglich sind die präparierten synaptischen Vesikel insofern funktionsfähig, dass sie zur Fusion fähig sind.

5.2 Proteomanalyse synaptischer Vesikel^{1,6}

Um die Interaktionen der Proteine synaptischer Vesikel identifizieren zu können, wurde zunächst die Proteinzusammensetzung der präparierten synaptischen Vesikel identifiziert. Dafür folgte eine massenspektrometrische Proteomanalyse, welche qualitativ und quantitativ ausgewertet wurde.

⁶ Die Rohdaten der massenspektrometrischen Experimente dieses Kapitels wurden beim ProteomeXchange Consortium (<http://proteomecentral.proteomexchange.org>) über das PRIDE-Partner-Repositorium ([164]), mit der Datensatzkennung PXD020859, hinterlegt.

5.2.1 Identifizierung der Proteine synaptischer Vesikel

5.2.1.1 Ermittlung der iBAQ-Werte

Mit synaptischen Vesikeln aus fünf unterschiedlichen Präparationen wurde (Präparation eins bis fünf aus Tabelle 1) eine SDS-Page durchgeführt und die Gele eingefärbt. Die getrennten Proteine wurden mit Trypsin hydrolysiert und die gewonnenen Peptide mittels LC-MS/MS analysiert⁷. Anschließend wurden die erhaltenen Daten mit Hilfe der Datenbanksuchmaschine MaxQuant mit dem Proteom der Ratte abgeglichen und damit die Proteine identifiziert. In Abbildung 16A sind die Gele der elektrophoretischen Proteintrennung abgebildet. Die fünf Gele weisen im gesamten Bereich des Proteinmarkers Proteinbanden auf. Die Laufhöhen der Proteinbanden sind innerhalb der fünf Präparationen vergleichbar. Jede der fünf Präparationen zeigt z.B. intensive Banden auf der Höhe eines Molekulargewichts von 14 kDa, 38 kDa, 62 kDa und 98 kDa. Die Intensität der Banden der zweiten und vierten Präparation ist in der Gesamtheit niedriger als die der anderen drei Präparationen. Als Zahlenwert für die Wahrscheinlichkeit mit welcher ein Protein identifiziert werden kann, wurde der „MaxQuant Protein Score“ (MQ-Wert) ermittelt [131]. Je größer der MQ-Wert, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit dass das Protein eindeutig identifiziert wurde. In dieser Arbeit wurde als Schwellenwert ein MQ-Wert von 100 festgelegt. In den fünf Präparationen wurden 1010 Proteine (Tabelle A. 1) mit einem MQ-Wert von über 100 identifiziert. Als weitere Bewertungsgrundlage wurden die iBAQ-Intensitäten ermittelt [132]. Der iBAQ-Wert ist der jeweilige Quotient aus der Summe der Peptidsignalintensitäten die einem Protein zugeordnet werden können und der Anzahl aller theoretisch möglichen tryptischen Peptide der verwendeten Proteindatenbank. Die iBAQ-Intensitäten korrelieren mit der Häufigkeit eines Proteins [132]. In Abbildung 16B wurden die iBAQ-Intensitäten aller Proteine mit einem MQ-Wert größer 100 absteigend aufgetragen. Die fünf Präparationen zeigen einen vergleichbaren Kurvenverlauf. Die Kurven sinken für die intensivsten ca. 200 Proteine zunächst stark ab, für die folgenden ca. 600 Proteine folgt ein langer flacher Kurvenverlauf, welcher für die letzten ca. 200 Proteinen wieder stark abfällt.

⁷ Die Durchführung erfolgte durch Susann Kostmann, AG Schmidt ZIK HALOmem, MLU Halle-Wittenberg

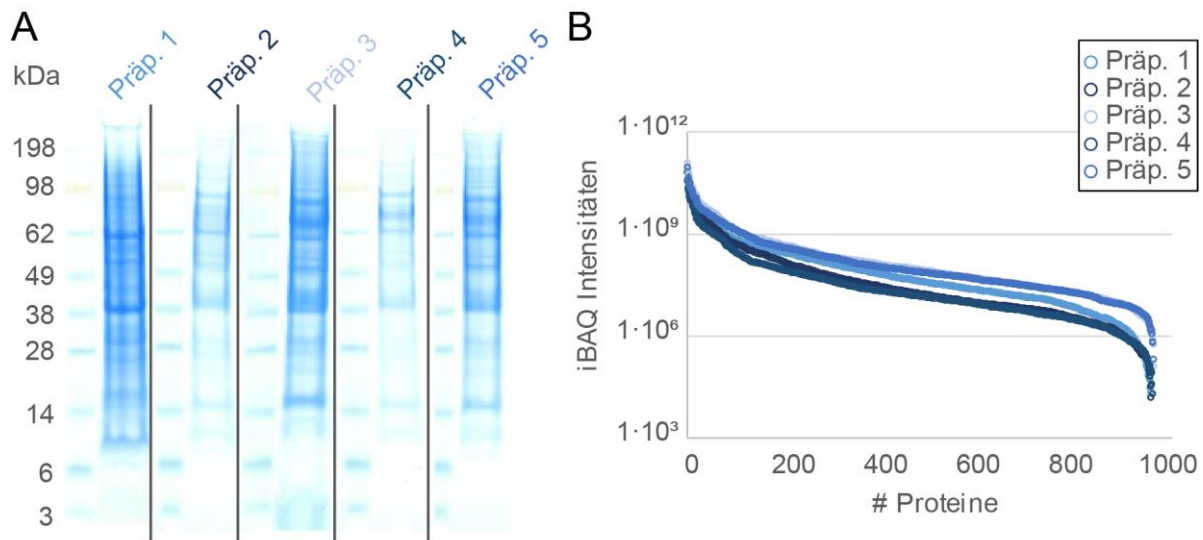


Abbildung 16: Proteomanalyse von fünf unterschiedlichen Präparationen synaptischer Vesikel.

(A) zeigt die Gele nach elektrophoretischer Auftrennung von 30 μ g Protein synaptischer Vesikel von fünf unterschiedlichen Präparationen (Präp.) (B) Absteigende Auftragung der iBAQ-Intensitäten gegen die Anzahl identifizierter Proteine. In jeder Präparation (siehe Legende) konnten über 1000 Proteine mit einem MQ-Wert größer 100 identifiziert werden.

Um zu zeigen, dass die unterschiedlichen Präparationen miteinander vergleichbar sind, wurde der binäre Logarithmus der jeweiligen iBAQ-Werte aus fünf Replikaten paarweise in einem Streudiagramm aufgetragen. Bei Präparationen mit vergleichbarer Proteinzusammensetzung führt das Auftragen des binären Logarithmus der iBAQ-Werte zu einem diagonalen, linearen Kurvenverlauf. Ein überexprimiertes Protein führt beispielsweise zu einem Datenpunkt über der Diagonalen und ein unterexprimiertes Protein zu einem Datenpunkt unterhalb der Diagonalen. Abbildung 17 zeigt die Streudiagramme. Jedes der zehn Streudiagramme zeigt einen diagonalen Verlauf. Es liegen keine Werte deutlich über oder unterhalb der Diagonalen. Die Streuung der Werte mit hohen iBAQ-Werten ist geringer als die Streuung mit niedrigen iBAQ-Werten. An den Achsen ist zu erkennen, dass die totalen iBAQ-Werte der Proteine für jede Präparation unterschiedlich sind. Das Verhältnis der iBAQ-Intensität zueinander ist jedoch gleichbleibend. Die fünf Präparationen sind hinsichtlich ihrer Proteinzusammensetzung vergleichbar und geben keinen Hinweis auf starke Schwankungen in der Proteinzusammensetzung.

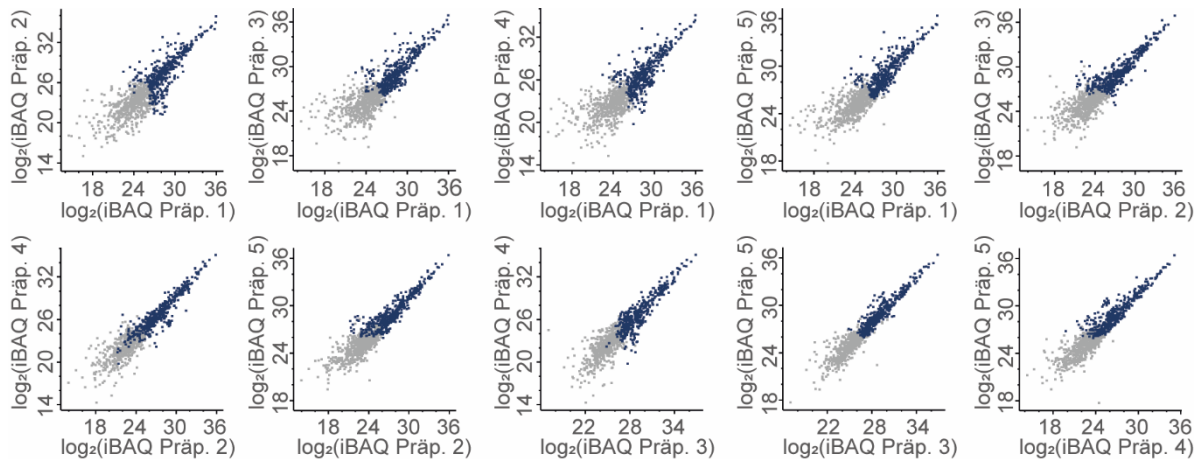


Abbildung 17: Streudiagramme der iBAQ-Intensitäten.

Der binäre Logarithmus der iBAQ-Intensitäten der Proteine synaptischer Vesikel ($\log_2(\text{iBAQ})$) mit einem MQ-Wert über 100 (~1000 Proteine) wurden paarweise für jede der fünf Präparationen (Präp.) in zehn Streudiagrammen gegenübergestellt. Die 400 Proteine mit den höchsten iBAQ-Intensitäten sind blau hervorgehoben.

5.2.1.2 iBAQ-Werte der V-ATPase

Um die iBAQ-Werte der qualitativen Proteinzusammensetzung der präparierten synaptischen Vesikel zu validieren, wurde der V-ATPase-Komplex als beispielhafter Proteinkomplex synaptischer Vesikel mit bekannter Zusammensetzung ausgewählt. Der V-ATPase-Komplex besteht aus 16 Proteinuntereinheiten. Die Proteinuntereinheiten a, c, c', d, e, RNaseK (f), Ac45 und PRR bilden die membranständige Proteinkomplexuntereinheit V_0 und die Untereinheiten A, B, C, D, E, F, G und H bilden die cytosolische Proteinkomplexuntereinheit V_1 (3.3.3). In Tabelle 2 sind die Ergebnisse der Proteomanalyse für den V-ATPase-Komplex aufgelistet. Es konnten 15 der 16 Proteinuntereinheiten identifiziert werden. Die Proteinuntereinheit e konnte nicht identifiziert werden, da die Aminosäuresequenz zu wenige Trypsinschnittstellen aufweist. Diese Ergebnisse stimmen gut mit anderen Studien überein, in welchen die Proteinuntereinheit e unter Verwendung von Trypsin ebenfalls nicht identifiziert wurde [21; 72]. In einer anderen Studie konnte V-ATPase-e jedoch unter Verwendung von Chymotrypsin massenspektrometrisch nachgewiesen werden [72]. Für die Proteinuntereinheiten B, C, G, a, c und d wurden unterschiedliche Isoformen identifiziert. In den fünf Präparationen wurden die Hauptisoformen der Proteinuntereinheiten der V-ATPase B2, C1, a1 und d1 mit einem deutlich höheren MQ-Score, höheren iBAQ-Werten (iBAQ 1 bis iBAQ 5) und einer höheren Sequenzabdeckung, als die Isoformen B1, C2, a4 und d2 identifiziert. Die Proteinuntereinheiten c', RNaseK (f) und Ac45 wurden

erfolgreich identifiziert, obwohl die Proteinuntereinheiten nur vereinzelte Trypsinschnittstellen aufweisen [166]. Der MQ-Wert liegt jedoch unter 100. Obwohl die Proteinuntereinheit c“ kaum Trypsinschnittstellen aufweist, konnte ein spezifisches Peptid für diese Untereinheit in einer Präparation nachgewiesen werden. In vorangehenden Studien konnte c“ massenspektrometrisch nicht identifiziert werden [23; 22; 21; 28]. Die Proteinisoformen G1 und G2 wurden beide mit hohem MQ-Score, Sequenzabdeckungen und iBAQ-Werten nachgewiesen. Die Proteinuntereinheit H ist für die volle Aktivität des V-ATPase-Komplexes notwendig [167]. In den präparierten synaptischen Vesikeln wurden in allen fünf Präparationen die V-ATPase-H mit einer Sequenzabdeckung von 85,7 % und einem MQ-Wert von 323,31 sowie hohen iBAQ-Werten nachgewiesen. Bei der gewählten Methode zur Präparation der synaptischen Vesikel ist die V-ATPase-H somit nicht dissoziiert.

Tabelle 2: Identifizierung der Proteinuntereinheiten der V-ATPase.

Proteinname (Protein), Akzessionsnummer der Datenbank UniProt (UP-Nr.), Sequenzabdeckung (SA) in %, MQ-Wert und die iBAQ-Werte sind für fünf Replikate (iBAQ 1 bis iBAQ 5) gelistet. Proteinuntereinheiten mit einem MQ-Wert von unter 100 sind gekennzeichnet (kursiv).

Protein	UP-Nr.	SA [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5
V₁-Domäne								
V-ATPase-A	D4A133; A0A1W2Q6N0	99	323,31	1,69E+10	9,60E+09	1,30E+10	6,11E+09	1,24E+10
V-ATPase-B2	P62815	95,3	323,31	1,49E+10	7,56E+09	1,66E+10	4,04E+09	1,23E+10
V-ATPase-C1	Q5FVI6	93,7	323,31	5,60E+09	3,48E+09	7,18E+09	2,10E+09	4,63E+09
V-ATPase-D	Q6P503	72,9	323,31	3,61E+09	1,73E+09	6,38E+09	7,39E+08	3,89E+09
V-ATPase-E1	G3V7L8; Q6PCU2; D3ZJ78	88,1	323,31	1,21E+10	9,33E+09	1,66E+10	3,59E+09	1,20E+10
V-ATPase-F	P50408; B2GUW7	83,2	241,13	3,54E+09	2,08E+09	3,74E+09	7,56E+08	3,29E+09
V-ATPase-G1	B2GUV5	61	323,31	6,65E+08	4,86E+08	7,25E+08	2,00E+08	5,79E+08
V-ATPase-G2	Q8R2H0; A0A0G2K2R1; A0A0G2KAG3	82,2	323,31	4,02E+09	1,83E+09	4,10E+09	8,12E+08	4,72E+09
V-ATPase-H	A0A0G2K9J2; E9PT11	85,7	323,31	4,90E+09	1,98E+09	5,72E+09	1,21E+09	3,99E+09
Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5
V₀-Domäne								
<i>Ac45</i>	<i>Q6IRF8</i>	16,2	88,906	4,93E+09	1,93E+09	6,14E+09	1,64E+09	4,40E+09
PRR (RENr)	Q6AXS4	39,1	310,99	7,37E+08	2,64E+08	6,99E+08	1,38E+08	4,18E+08
<i>RNaseK</i> (V-ATPase-f)	<i>D3ZIM6</i>	9,2	3,9966	6,69E+09	3,34E+09	6,17E+09	1,16E+09	4,90E+09
V-ATPase-a1	Q2I6B2; Q2I6B5; P25286-2; P25286; G3V887	55,3	323,31	2,76E+10	1,42E+10	2,71E+10	9,34E+09	2,12E+10
V-ATPase-c	P63081	99,4	277,95	5,84E+10	1,69E+10	8,32E+10	1,92E+10	4,39E+10
V-ATPase-c“	<i>B0K022</i>	12,2	3,5076	0	0	6,60E+06	0	0
V-ATPase-d1	Q5M7T6	78,9	323,31	2,12E+10	1,32E+10	2,87E+10	8,66E+09	1,83E+10

5.2.1.3 iBAQ-Werte ausgewählter Proteine synaptischer Vesikel

Um den Kreislauf synaptischer Vesikel aufrecht zu erhalten, sind eine Vielzahl von Proteinen in den unterschiedlichen Funktionsstadien involviert (3.2.2). In jedem der fünf Präparationen wurden die SNARE-Proteine Synaptobrevin-2, SNAP-25 und Syntaxin-1A nachgewiesen, die an der Exozytose synaptischer Vesikel beteiligt sind. Außerdem wurden die Membranproteine Synaptotagmin-1, SV2A, Synaptogyrin-1, Synaptophysin und Synaptoporin mit hohen iBAQ-Werten nachgewiesen. Ebenso wurden die membranassoziierten Proteine RAB3A, CSP und Synapsin in jeder der Präparationen nachgewiesen. Die Glutaminsäuretransporter VGlu1 und VGlu2 sowie der γ -Aminobuttersäure- und Glycintransporter VIAAT wurden in jeder Präparation nachgewiesen. Proteine der clathrinvermittelten Endozytose, wie beispielsweise Proteinuntereinheiten des AP2-Komplexes, wurden ebenfalls nachgewiesen. Neben Proteinen der synaptischen Vesikel wurden auch bereits beschriebene Kontaminationen mit peripheren Proteinen in den fünf untersuchten Präparationen nachgewiesen. Hierzu gehören beispielsweise die Proteine der Signalwege KCC2A, Cytoskelettproteine wie Tubulin α -1B, Stoffwechsellzyme wie G3P, Chaperone wie HSP7C oder auch Proteinuntereinheiten von Proteasomen wie Psma5 und Proteinuntereinheiten von Ribosomen wie RS27A.

5.2.1 Quantitative Zusammensetzung synaptischer Vesikel

5.2.1.1 Relative iBAQ-Werte der Proteine synaptischer Vesikel

Neben der qualitativen Zusammensetzung synaptischer Vesikel spielt die Proteinstöchiometrie innerhalb eines synaptischen Vesikels für seine Funktionalität eine wichtige Rolle. Die iBAQ-Werte korrelieren mit der Häufigkeit eines Proteins [132]. Da jedoch der direkte Vergleich der iBAQ-Werte zwischen zwei Proben nicht möglich ist, wurde der relative iBAQ-Wert bestimmt, welcher die iBAQ-Werte normalisiert. Der relative iBAQ-Wert wurde für jedes Protein mit einem MQ-Score von über 100 bestimmt. Der relative iBAQ-Wert eines Proteins ist der Quotient aus seinem iBAQ-Wert und der Summe aller iBAQ-Werte.

5.2.1.2 Relative iBAQ-Werte der V-ATPase

Die Validierung der relativen iBAQ-Werte aus der quantitativen Proteomanalyse erfolgte erneut anhand des V-ATPase-Komplexes, da für diesen Komplex die Stöchiometrie bekannt ist. In Abbildung 18A ist die V-ATPase schematisch dargestellt. Die cytosolische Domäne V_1 hat die Proteinstöchiometrie $A_3B_3CDE_3FG_3$. Die Proteinuntereinheiten A und B2 bilden ein Hexamer A_3B_3 aus. Die

Proteinuntereinheit E1 bildet mit einer der Isoformen G1 oder G2 drei Dimere aus $((E1G1)_3$ oder $(E1G2)_3$), welche für die Bindung von V_1 -ATPase an die membranständige Domäne V_0 -ATPase verantwortlich sind. Die anderen Proteinuntereinheiten C1, D, F und H kommen mit einer Kopie je V_1 -ATPase Molekül vor. In Abbildung 18B sind die relativen iBAQ-Werte der V_1 -ATPase in einem Balkendiagramm dargestellt. Die Proteinuntereinheiten C1, D, F und H, welche nur mit einer Kopie je Molekül vorkommen, haben einen vergleichbaren relativen iBAQ-Wert von ca. 0,005. Die Proteinuntereinheiten A, B2 und E1, welche jeweils mit drei Kopien pro Molekül vorkommen, haben einen relativen iBAQ-Wert von ca. 0,015. Die relativen iBAQ-Werte von A, B2 und E1 sind, wie auf Grund ihrer Stöchiometrie zu erwarten, dreimal höher als die Intensitäten der Untereinheiten C1, D, F und H. Die relativen iBAQ-Werte der Proteinuntereinheiten G1 und G2 sind mit unter 0,005 niedriger als erwartet. Da die iBAQ-Werte auf den Peptidsignalintensitäten beruht, könnte dies unter anderem an den überlappenden Proteinsequenzen von G1 und G2 liegen. Der relative iBAQ-Wert von G1 (0,00016) ist niedriger als der relative iBAQ-Wert von G2 (0,00110). Dieses Ergebnis stimmt gut mit vorangegangenen Studien überein, welche zeigten, dass G2 die Hauptisoform synaptischer Vesikel darstellt [72; 21]. Die relativen iBAQ-Intensitäten einzelner Proteine können auf Grund ihrer Aminosäuresequenz abweichen. Eine ungünstige Verteilung an Trypsinschnittstellen oder zu wenig Schnittstellen führen zu nicht oder schlecht ionisierbaren Peptiden und resultierender geringer oder nicht vorhandener Intensität. Für sieben der acht Proteinuntereinheiten der V_1 -ATPase stimmt das Verhältnis der relativen iBAQ-Werte mit der Stöchiometrie des Komplexes überein. Die Ergebnisse für die V_1 -ATPase zeigen, dass die Bestimmung der relativen iBAQ-Intensität für die Quantifizierung der Proteine synaptischer Vesikel geeignet ist.

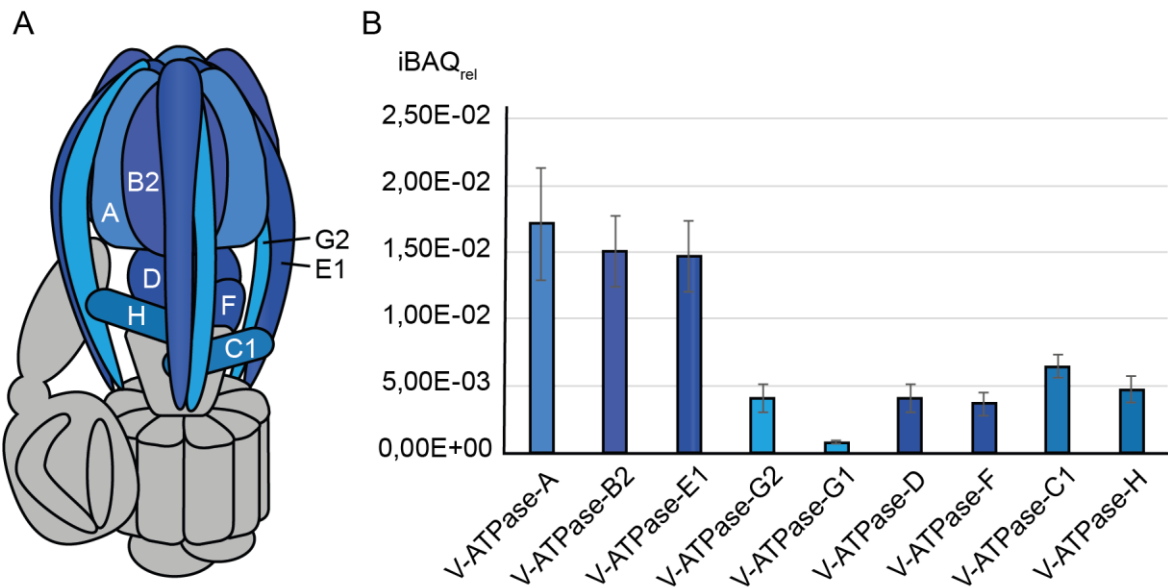


Abbildung 18: Quantitative Zusammensetzung der cytosolischen V₁-Domäne des V-ATPase-Komplexes.

(A) Schematische Darstellung der V-ATPase. Die Proteinuntereinheiten der V₁-ATPase sind hervorgehoben (blau). Die V-ATPase ist mit der Isoform G2 dargestellt. (B) Balkendiagramm mit den relativen iBAQ-Werten (iBAQ_{rel}) der Proteinuntereinheiten A, B2, E1, G2, G1, D, F, C1 und H.

Die membranständige V₀-ATPase besteht aus den Proteinuntereinheiten a1, c₉, c'', d, e, RNaseK (f), Ac45 und PRR (RENK) [72]. Die Proteinuntereinheiten c1, a1 und d1 wurden mit einem MQ-Wert über 100 nachgewiesen und somit wurde auch der relative iBAQ-Wert bestimmt. Die Proteinuntereinheit a1 hat mit 0,0281 einen vergleichbaren relativen iBAQ-Wert, wie die Proteinuntereinheit d1 mit 0,0253 und stimmt somit mit der beschriebenen Stöchiometrie der V₀-ATPase überein. Die Proteinuntereinheit c1 hat einen relativen iBAQ-Wert von 0,0581 und ist nur doppelt so hoch wie der relative iBAQ-Wert der Proteinuntereinheiten a1 und d1. Auf Grund der Stöchiometrie der V₀-ATPase wurde für c1 ein neunfach höherer relativer iBAQ-Wert als für a1 und d1 erwartet. Die niedrigeren relativen iBAQ-Werte könnten auf die Hydrophobizität und Anzahl der Trypsinschnittstellen von c1 im Vergleich zu a1 und d1 zurückzuführen sein.

Die relativen iBAQ-Werte der Proteinuntereinheiten der membranständigen V₀-ATPase sind deutlich höher als die der V₁-ATPase. Die Proteinuntereinheit d1 hat mit einem relativen iBAQ-Wert (0,0253) einen sechsfach höheren Wert als die Proteinuntereinheit D (0,0041), welche die gleiche Stöchiometrie im Komplex aufweist. Auf Grund der relativen iBAQ-Werte ist davon auszugehen, dass in den präparierten synaptischen Vesikeln mehr V₀-ATPase als V₁-ATPase vorliegt.

5.2.1.3 Quantitative Zusammensetzung – ausgewählte Proteine synaptischer Vesikel

In den aktuellen Modellen synaptischer Vesikel wird davon ausgegangen, dass jedes synaptische Vesikel einen Satz an identischen Proteinen aufweist. Neben diesem Satz an identischen Proteinen sind Subpopulationen synaptischer Vesikel bekannt. Diese Subpopulationen weisen beispielsweise unterschiedliche Transportproteine für Neurotransmitter (Glutamat oder γ -Aminobuttersäure) auf [26]. Ebenso liegen Isoformen der Proteine vor, je nach Lokalisation der synaptischen Vesikel im zentralen Nervensystem, z.B. von Synapsin und SV2 [168]. Andere Proteine sind je nach Funktionsstadium temporär mit synaptischen Vesikeln assoziiert, wie z.B. der AP2-Komplex während der Clathrin-vermittelten Endozytose [25]. In Abbildung 19 sind die relativen iBAQ-Werte der Hauptproteinkomponenten der synaptischen Vesikel als Balkendiagramm dargestellt. Die Höhe der Balken lässt auf das Verhältnis der Proteine zueinander schließen. Für Synaptobrevin-2 wurde mit 0,1083 der höchste relative iBAQ-Wert ermittelt. Die relativen iBAQ-Werte von Synaptobrevin-2, Synaptophysin und Synaptotagmin-1 haben ein Verhältnis von ca. 4:2:1. Die ermittelten relativen iBAQ-Werte korrelieren mit dem publizierten Verhältnis dieser Proteine von 70:31:15 [21]. Proteine mit einer vergleichbaren Anzahl an Kopien pro Vesikel weisen vergleichbare relative iBAQ-Werte auf. Synaptogyrin-1 und CSP sind beispielsweise mit durchschnittlich 2 Kopien je synaptischem Vesikel vertreten [21] und weisen vergleichbare relative iBAQ-Werte auf (Synaptogyrin-1 0,0408 und CSP 0,0438). Während das SNARE-Protein Synaptobrevin-2 auf der Seite der synaptischen Vesikel lokalisiert ist, sind die SNARE-Proteine SNAP-25 und Syntaxin-1A überwiegend auf der präsynaptischen Membran lokalisiert. Da synaptische Vesikel durch Endozytose aus der präsynaptischen Membran wiedergewonnen werden, gelangt jedoch auch SNAP-25 und Syntaxin-1A in die Membran der synaptischen Vesikel. SNAP-25 und Syntaxin-1A wurden mit deutlich niedrigeren relativen iBAQ-Werten als Synaptobrevin-2 nachgewiesen, wonach auch deutlich weniger Kopien in der Membran der synaptischen Vesikel verankert sind. SNAP-25 und Syntaxin-1A wurden mit relativen iBAQ-Werten von 0,0004 und 0,0003 nachgewiesen. Vergleichbare relative iBAQ-Werte sprechen für eine gleiche Anzahl an Kopien je synaptischem Vesikel und somit dafür das SNAP-25 und Syntaxin-1A im gleichen Verhältnis vorkommen. Ein 1:1 Verhältnis von SNAP-25 und Syntaxin-1A könnte darauf hinweisen, dass die beiden Proteine als ein vorgeformter intermediärer Akzeptor-Komplex (3.3.4) in die Membran der synaptischen Vesikel integriert wurden.

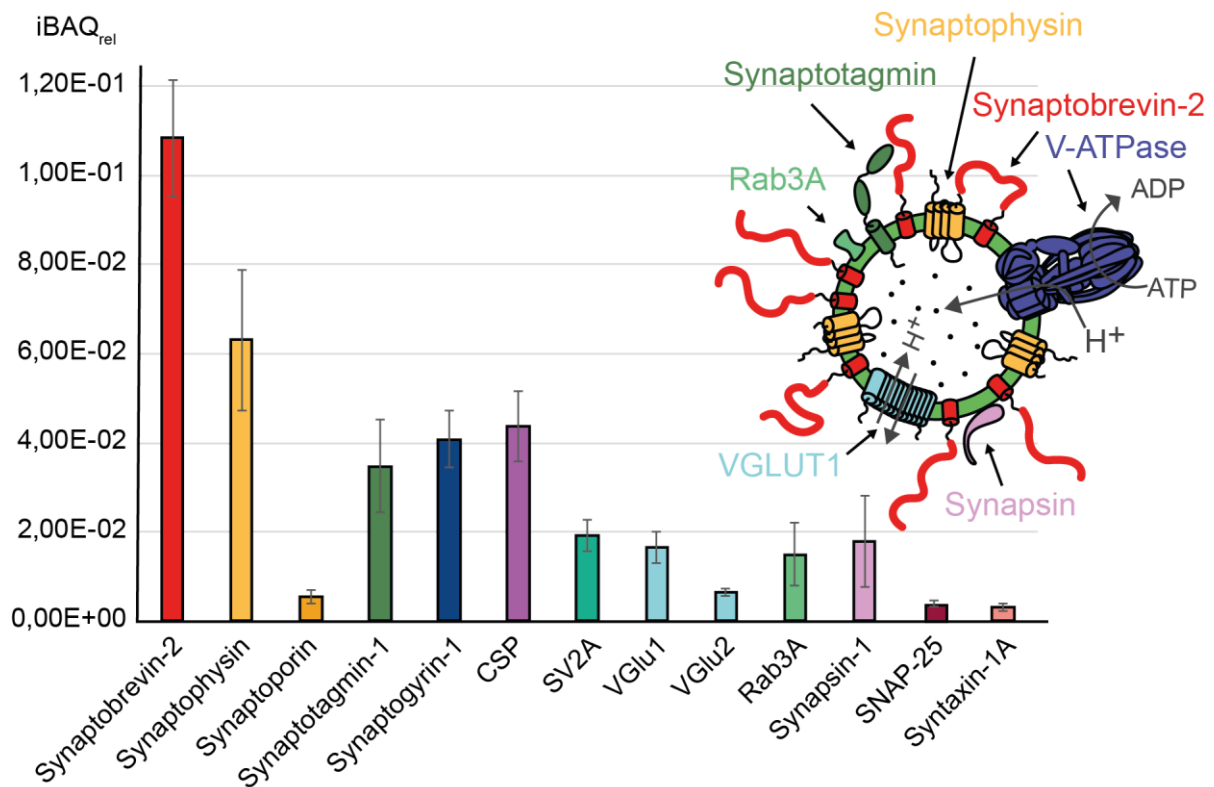


Abbildung 19: Balkendiagramm der relativen iBAQ-Werte der Hauptproteinkomponenten der synaptischen Vesikel.

Die relativen iBAQ-Werte (iBAQ_{rel}) ausgewählter Proteine der synaptischen Vesikel sind als Balken in unterschiedlichen Farben dargestellt (siehe Legende). Rechts ist ein synaptisches Vesikel schematisch dargestellt. Die Stöchiometrie der einzelnen Proteine ist angedeutet.

Die Proteomanalyse zeigt, dass die Proteinstöchiometrie der unterschiedlichen präparierten synaptischen Vesikel vergleichbar ist und somit die synaptischen Vesikel aus unterschiedlichen Präparationen für die weiteren Versuche verwendet werden können. Die qualitative und quantitative Proteinzusammensetzung der präparierten synaptischen Vesikel wurde erfolgreich identifiziert. Mit der angewandten Methode konnten über 1000 Proteine nach neustem Stand der Technik quantifiziert werden. Die Ergebnisse der Hauptproteinkomponenten synaptischer Vesikel stimmen mit bereits publizierten Proteinzusammensetzungen überein [23; 22; 21; 28].

5.3 Proteininteraktionen synaptischer Vesikel^{1,6}

Nach Bestimmung der quantitativen Zusammensetzung der synaptischen Vesikel, war es das Ziel die Proteininteraktionen synaptischer Vesikel zu identifizieren. Die Identifizierung der Proteininteraktionen synaptischer Vesikel erfolgte mit Hilfe des Quervernetzungsreagenzes BS3. BS3 reagiert mit der Aminogruppe von Lysinresten und dem N-Terminus von Proteinen (3.4.2). Jeweils zwei Aminogruppen welche sich in räumlicher Nähe zueinander befinden und somit die Voraussetzung für eine Interaktion aufweisen, werden kovalent miteinander verknüpft. Nach der Quervernetzung der Proteine wurde die Position der Quervernetzung im jeweiligen Protein mit Hilfe der Massenspektrometrie identifiziert (3.4.2).

5.3.1 Identifizierung der quervernetzten Peptide

Die Identifizierung der Position der Quervernetzung erfolgte anhand etablierter Methoden [163; 169]. Hierfür wurden die präparierten synaptischen Vesikel aus vier Präparationen in 10 mM BS3 inkubiert und anschließend die quervernetzten Proteine mit Trypsin hydrolysiert. Die in deutlich geringerer Anzahl vorhandenen, quervernetzten Peptidpaare wurden mittels Größenausschlusschromatographie von anderen Peptiden getrennt und die Fraktionen mit quervernetzten Peptiden mittels LC-MS/MS analysiert. Zwei Replikate wurden an einem Orbitrap Fusion Tribrid Massenspektrometer (Thermo Scientific)⁸ und zwei Replikate an einem Q Exactive Plus Hybrid Quadrupole-Orbitrap Massenspektrometer (Thermo Scientific) analysiert. Spektren quervernetzter Peptide wurden durch einen Datenbankabgleich mit der Datenbanksuchmaschine pLink2 identifiziert. Die Datenbank für die Identifizierung der Proteininteraktionen wurde aus den Aminosäuresequenzen der 400 Proteine synaptischer Vesikel mit den höchsten medianen relativen iBAQ-Werten erstellt (5.2.1), da die iBAQ-Werte der Proteine mit der Häufigkeit der Proteine korreliert (5.2.1). Die Beschränkung der Datenbank ist ein Kompromiss zwischen einer möglichst großen Datenbank für ein möglichst großes Interaktom und einer kleinen Datenbank um den Rechenaufwand der Datenbanksuche leisten zu können [170]. Abschließend wurden die identifizierten Spektren manuell validiert um die Anzahl falsch positiver Zuordnung weitestgehend zu reduzieren [142]. Parameter für die manuelle Validierung waren eine Serie von mindestens drei Fragmentationen, sowie eine höhere Intensität der zugeordneten Signale als das Signal-Rausch-Verhältnis. Abbildung 20 zeigt beispielhaft eines der erzielten Massenspektren eines intramolekular quervernetzten Peptidpaars. Das Vorläuferion mit einem m/z von 744,6058

⁸ Die Rohdaten wurden von Prof. Dr. Carla Schmidt / AG Schmidt ZIK HALOmem zur Verfügung gestellt.

entspricht bei einer Ladung von 5+, der berechneten Masse der Summe der zwei quervernetzten Peptide und dem Spacer von BS3. Das Massenspektrum bestätigt eine Quervernetzung zwischen den Lysinresten K48 und K109 der V-ATPase-B und zeigt eine fast vollständige Fragmentationsserie beider Peptide. Für das größere Peptid wurden zwei Immonium-Ionen, ein B-Ion und 15 Y-Ionen einer Serie nachgewiesen. Für das kürzere Peptid wurden 11 Y-Ionen einer Serie und somit jedes mögliche Y-Ion nachgewiesen.

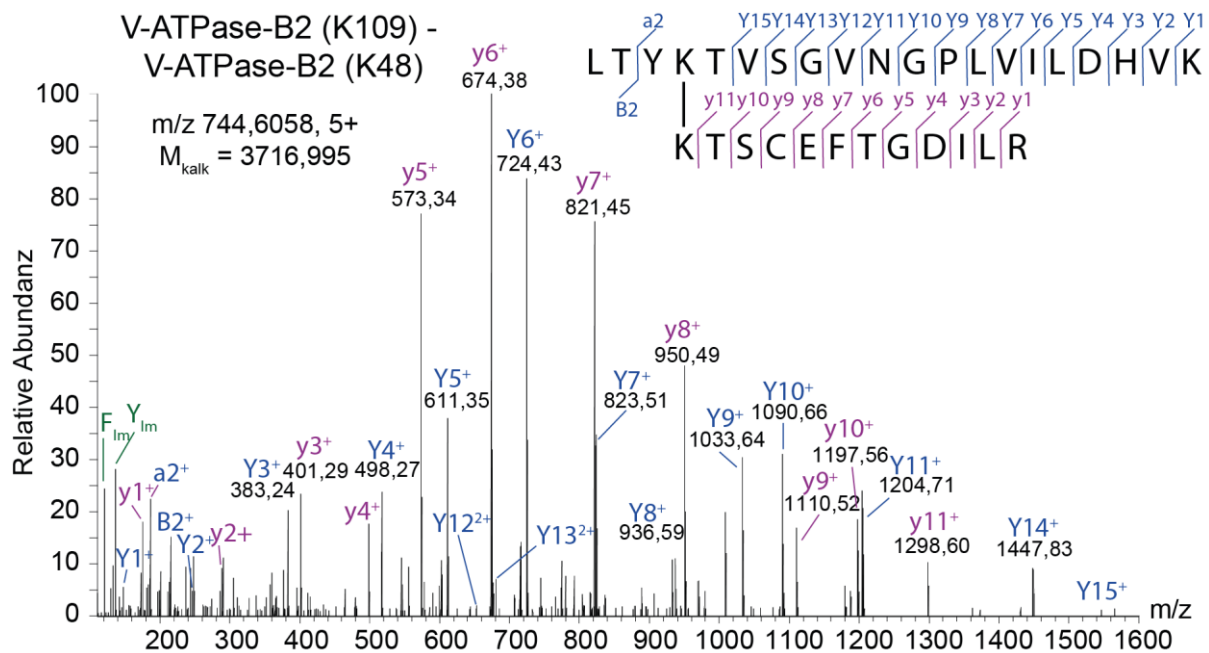


Abbildung 20: Spektrum eines intramolekular quervernetzten Peptidpaars.

Spektrum der intramolekularen Quervernetzung zwischen den Lysinresten K109 und K48 innerhalb der V-ATPase-B. Die B-/b-Ionen und Y-/y-Ionen der zwei Peptide (blau/violett), sowie zwei Immoniumionen (grün) sind zugeordnet. Das *m/z* des Vorläuferions entspricht einem kalkulierten Gewicht von 3716,995 Da.

Neben intramolekularen Quervernetzungen konnten auch intermolekulare Quervernetzungen nachgewiesen werden. Abbildung 21 zeigt beispielhaft ein Spektrum eines intermolekular quervernetzten Peptidpaars. Das Spektrum bestätigt eine Quervernetzung zwischen den Lysinresten K255 der V-ATPase-a und K52 von Synaptobrevin-2. Das *m/z* von sieben Y-Ionen (Y5 bis Y9) einer Serie und zwei B-Ionen entsprechen dem Peptid **KEMASGVNTR** und einer vollständigen y-Ionen-Serie, sowie von vier b-Ionen einer Serie entsprechen dem Peptid **VNVDKVLER**. Das Vorläuferion hat ein *m/z* von 768,0798 und entspricht bei einer Ladung von 3+ der berechneten Masse der involvierten Peptide.

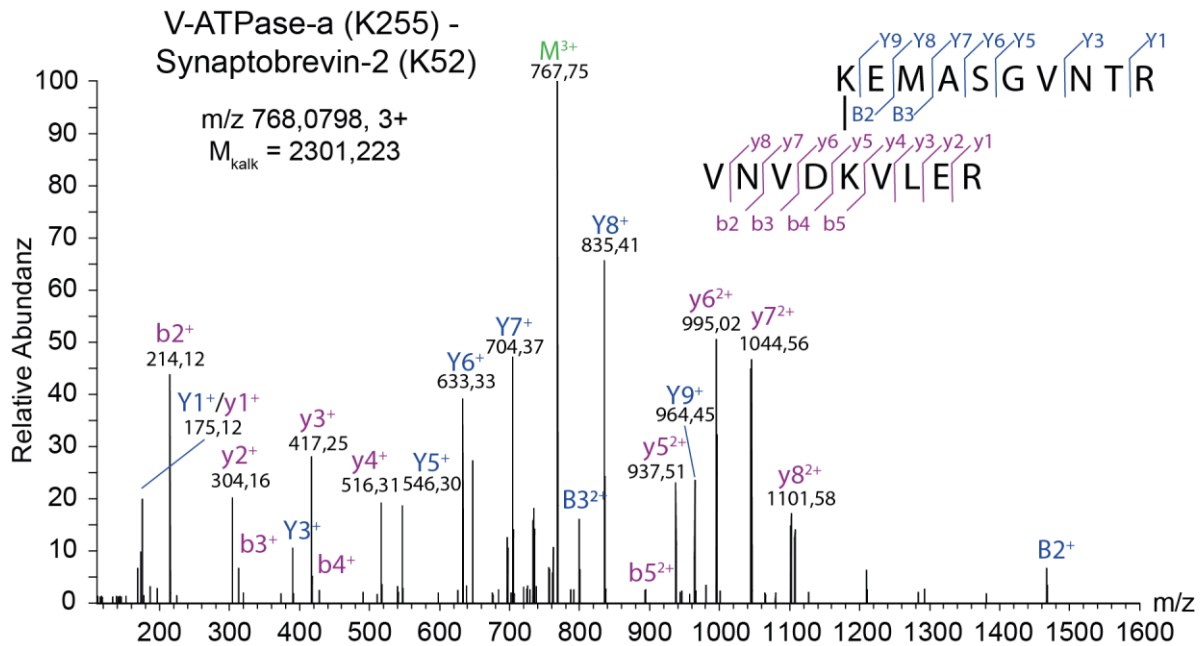


Abbildung 21: Spektrum eines intermolekular quervernetzten Peptidpaars.

Spektrum der intermolekularen Quervernetzung zwischen den Lysinresten K255 der V-ATPase-B und K48 von Synaptobrevin-2. Die B-/b-Ionen und Y-/y-Ionen der zwei Peptide (blau/violett) sowie das m/z des dreifach geladenen Vorläuferions (M^{3+} in grün) sind zugeordnet.

In den vier Replikaten konnten 472 Quervernetzungen identifiziert werden (Tabelle A. 2). Abbildung 22 zeigt ein Venn-Diagramm der manuell validierten Quervernetzungen der vier Replikate. Von den 472 Quervernetzungen konnten 70 Quervernetzungen in allen vier Replikaten, 163 in zwei Replikaten, 279 in drei Replikaten und 193 Quervernetzungen in nur einem Replikate nachgewiesen werden.

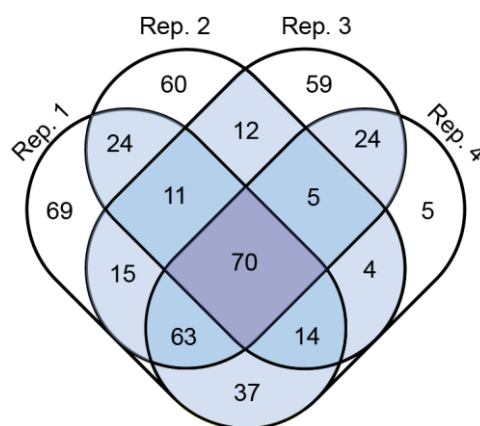


Abbildung 22: Venn-Diagramm der vier Replikate quervernetzter Proteine synaptischer Vesikel.

Das Venn-Diagramm zeigt die Verteilung der Quervernetzungen in den jeweiligen Replikaten: 472 Quervernetzungen konnten in vier Replikaten, 279 Quervernetzungen konnten in mindestens zwei Replikaten und 70 Quervernetzungen konnten in allen vier Replikaten identifiziert werden.

5.3.2 Proteininteraktionen innerhalb des V-ATPase-Komplexes

Nach der Identifizierung und Validierung der Spektren und somit der Identifizierung inter- und intramolekularer Proteininteraktionen, erfolgte eine detaillierte Betrachtung des V-ATPase-Komplexes. Innerhalb des V-ATPase-Komplexes wurden 22 inter- und 57 intramolekulare Quervernetzungen identifiziert. In zehn der 16 Proteinuntereinheiten wurden Proteininteraktionen nachgewiesen. Zudem erfolgte der Nachweis von Proteininteraktionen für beide Isoformen, V-ATPase-G2 und V-ATPase-G1. Abbildung 23 zeigt die identifizierten Quervernetzungen in einem Netzwerkdiagramm, sowie eine schematische Abbildung des V-ATPase-Komplexes. Die schematische Abbildung des V-ATPase-Komplexes basiert auf der publizierten hochaufgelösten Struktur [72]. Jede der intermolekularen Proteininteraktionen liegt zwischen zwei Proteinuntereinheiten, die sich im Proteinkomplex in räumlicher Nähe zueinander befinden. So wurden Proteininteraktionen zwischen den Proteinuntereinheiten A und B2 identifiziert, welche in der cytosolischen V_1 -Domäne das Hexamer A_3B_3 ausbilden. Es wurden Proteininteraktionen zwischen den Proteinuntereinheiten E1 und G2 nachgewiesen, welche die drei EG-Heterodimere, die peripheren Verbindungsachsen, ausbilden und als Proteingerüst die V_1 -ATPase mit der V_0 -ATPase verbinden. Es wurde eine Interaktion innerhalb des zentralen Schafts, bestehend aus den Proteinuntereinheiten D und F, nachgewiesen. Zudem wurden mehrere Interaktionen zwischen dem cytosolischen N-Terminus der V-ATPase-a1 und V-ATPase-d1 nachgewiesen. Es wurden Quervernetzungen zwischen V-ATPase-a1, einer Proteinuntereinheit der membranständigen V_0 -ATPase-Domäne, und V-ATPase-G1/2, einer Proteinuntereinheit der cytosolischen V_1 -ATPase-Domäne, nachgewiesen. Intramolekulare Quervernetzungen wurden überwiegend innerhalb der V_1 -ATPase-Domäne A, B2, E1 und C1, sowie dem cytosolischen N-Terminus der V_0 -ATPase-a1 nachgewiesen. Der Nachweis dieser Interaktionen zeigt, dass diese Proteinuntereinheiten für das Quervernetzungsreagenz BS3 gut zugänglich sind. Für den N-Terminus von a1 wird eine hohe Flexibilität abgeleitet [72; 171; 82]. Eine gute Erreichbarkeit für BS3 bestätigt diese hohe Flexibilität.

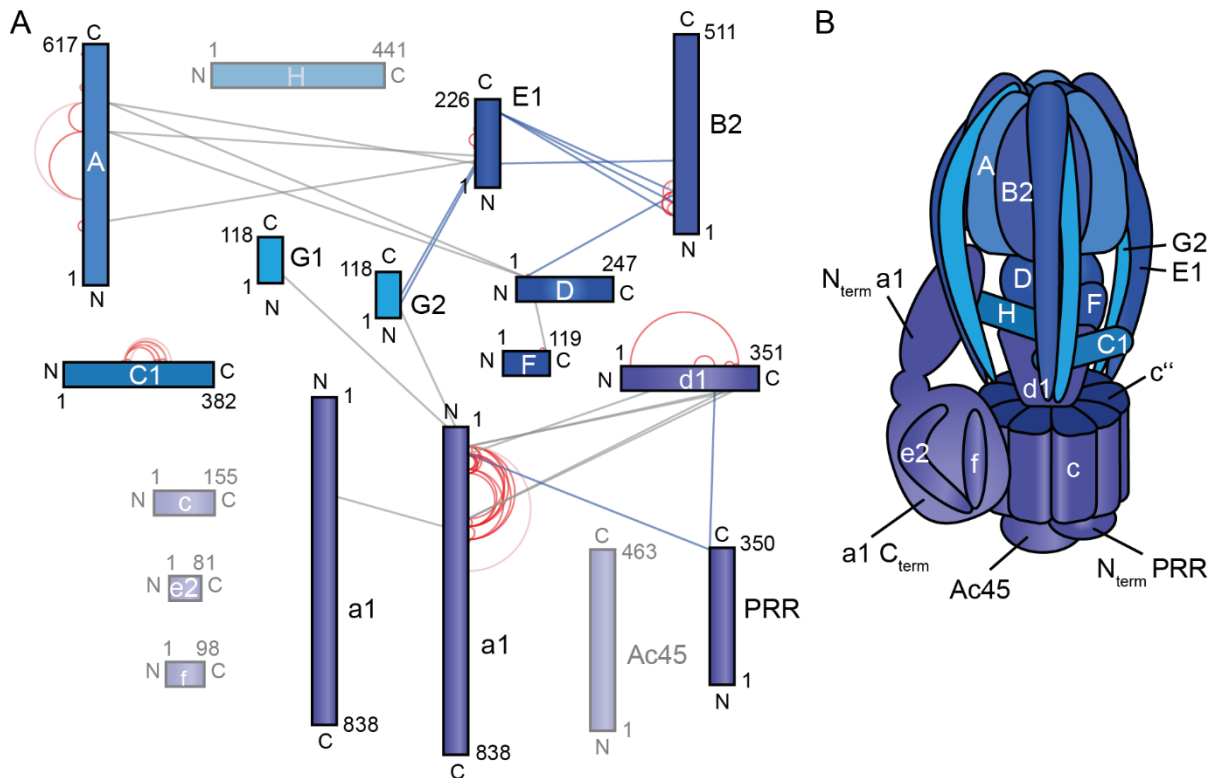


Abbildung 23: Identifizierte Proteininteraktionen innerhalb des V-ATPase-Komplexes.

(A) Die Proteinuntereinheiten des V-ATPase-Komplexes sind als Balken dargestellt. Die Balkenlänge ist proportional zur Länge der Aminosäuresequenz. Intermolekulare Quervernetzungen (blau) und intramolekulare Quervernetzungen (rot), sowie intermolekulare Quervernetzungen aus einem Replikat (grau) und intramolekulare Quervernetzungen aus einem Replikat (hellrot) sind dargestellt. (B) Schematische Darstellung des V-ATPase-Komplexes (3.3.3).

Nachweis des aktiven und inaktiven V-ATPase-Komplexes

Die Aktivität des V-ATPase-Komplexes wird durch eine reversible Dissoziation der cytosolischen V_1 -Domäne von der membranständigen V_0 -Domäne reguliert [73; 172; 75]. Für die Proteine der V-ATPase sind daher zwei Konformationen bekannt. Konformationen der aktiven V-ATPase, bei welcher der Komplex vollständig zusammengesetzt ist und Konformationen der inaktiven V-ATPase bestehend aus der membranständigen V_0 -Domäne. In Abbildung 24 sind beide Funktionsstadien schematisch dargestellt. Bei der aktiven V-ATPase kommt der N-Terminus der Proteinuntereinheit a1 mit den Proteingerüstuntereinheiten G1 bzw. G2 der V_1 -Domäne in Kontakt (Abbildung 24A). Die Quervernetzungen $G1^{K21}$ - $a1^{K50}$ und $G2^{K21}$ - $a1^{K70}$ sind ausschließlich mit der Konformation der Untereinheiten für die aktive V-ATPase vereinbar, da bei der inaktiven Konformation der Untereinheiten G1 bzw. G2 dissoziiert vorliegen [72]. Bei der Inaktivierung der V-ATPase dissoziiert die V_1 -Domäne und der N-Terminus von a1 legt sich über den c-Ring ($c_{9c}''_1$). Die identifizierten Proteininteraktionen zwischen dem N-Terminus von a1 und d1 sowie zwischen dem N-Terminus von a1 und dem

72 | ERGEBNISSE

cytosolischen C-Terminus von PRR (AS 324 bis 350) stimmen daher ausschließlich mit der Konformation der Untereinheiten für die inaktive V-ATPase überein (Abbildung 24B). Bei der aktiven V-ATPase hindert die V₁-Domäne den N-Terminus von a1 sterisch daran mit d und PRR zu interagieren. Obwohl das cytosolische C-terminale Peptid von PRR lediglich einen Lysinrest (K239) aufweist, wurden für diesen Lysinrest Quervernetzungen mit V-ATPase-a1 (PRR^{K346}-a1^{K70}) und V-ATPase-d1 (PRR^{K346}-d1^{K239}) nachgewiesen.

Die identifizierten Quervernetzungen innerhalb der zwei unterschiedlichen Funktionsstadien sind ein Nachweis dafür, dass ein Teil der V-ATPase der synaptischen Vesikel dissoziiert vorliegt und somit mehr V₀-ATPase als V₁-ATPase vorhanden ist. Dieser Nachweis bestätigt die Ergebnisse der Proteomanalyse (5.2.1.2), wonach für die Proteinuntereinheiten der V₀-Domäne höhere iBAQ-Werte als für die V₁-Domäne bestimmt wurden und somit ebenfalls mehr V₀-ATPase als V₁-ATPase nachgewiesen wurde.

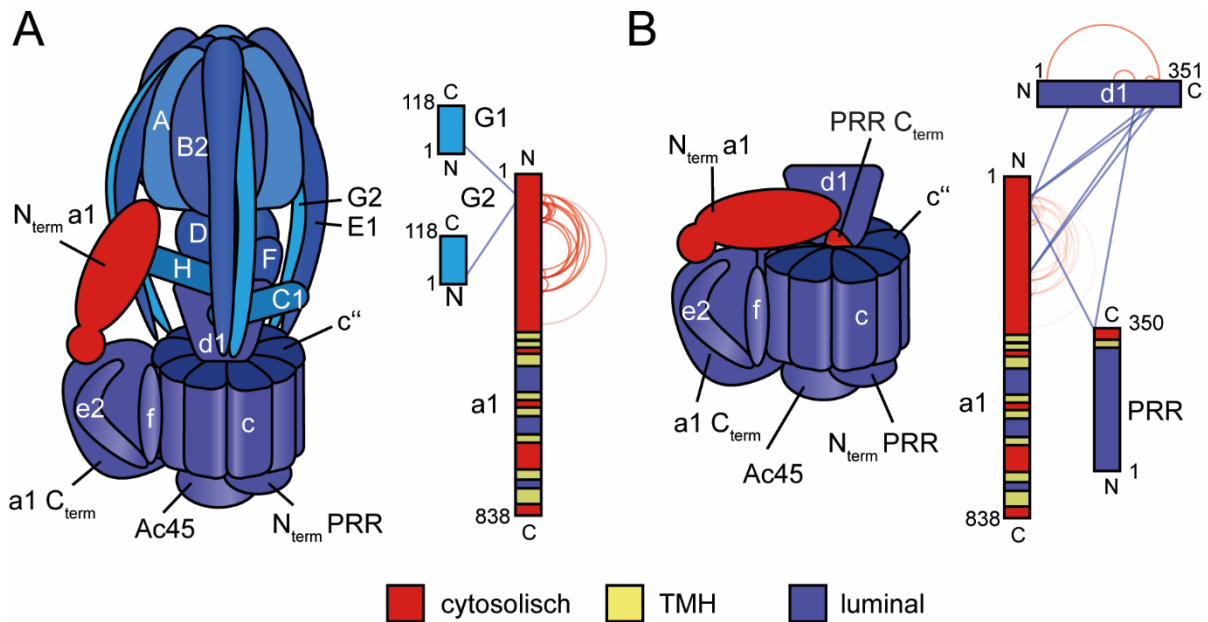


Abbildung 24: Nachweis des aktiven und inaktiven V-ATPase-Komplexes.

(A) Links: schematische Darstellung der offenen, aktiven Konformation der V-ATPase-a1. Der cytosolische N-Terminus der Proteinuntereinheit a1 ist hervorgehoben (rot). Rechts: Balkendiagramm der intermolekularen Quervernetzungen zwischen den Proteinuntereinheiten a1 und G1/G2, welche die Anwesenheit der aktiven V-ATPase bestätigen. (B) Links: schematische Darstellung der inaktiven Konformation der V-ATPase-a1. Die Proteindomäne V_1 -ATPase ist dissoziiert. Der N-Terminus der Proteinuntereinheit a1 und der cytosolische C-Terminus der Proteinuntereinheit PRR sind hervorgehoben (rot). Rechts: Balkendiagramm der intermolekularen Quervernetzungen zwischen Proteinuntereinheiten a1 und d1 sowie PRR welche die Anwesenheit der inaktiven V-ATPase bestätigen. Die Balkenlänge der Balkendiagramme ist proportional zur Länge der Aminosäuresequenz.

Abgleich der identifizierten Quervernetzungen innerhalb des V-ATPase-Komplexes mit der Struktur

Die identifizierten Quervernetzungen wurden mit der hochaufgelösten Struktur des V-ATPase-Komplexes abgeglichen (Abbildung A. 4).⁹ Die jeweiligen Abstände der Aminosäuren von 74 der 79 Quervernetzungen konnten ermittelt werden (Tabelle A. 3). Die Abstände von Quervernetzungen zwischen PRR und d1, sowie zwischen PRR und a1 und die Abstände der Quervernetzungen zwischen G2 und E1 sowie zwischen G2 und a1 konnten nicht ermittelt, da die entsprechenden Regionen nicht in der Struktur enthalten sind. Unter der Verwendung von BS3 können Aminosäuren mit einem Abstand der $C\alpha$ -Atome von maximal 26-30 Å quervernetzt werden [174]. 50 der 74 Quervernetzungen weisen einen Abstand der $C\alpha$ -Atome von ≤ 30 Å auf. Die identifizierten Quervernetzungen, welche einen Abstand >30 Å aufweisen liegen innerhalb flexibler Abschnitte des V-ATPase-Komplexes. Hierzu gehören die Verbindungsachsen und der N-Terminus der V-ATPase-a1 [175; 176]. In Abbildung A. 5

⁹ Der Abgleich der identifizierten Quervernetzungen des V-ATPase-Komplexes mit der Struktur erfolgte durch Marie Alfes / AG Schmidt ZIK HALOmem [173].

sind alle theoretisch möglichen Quervernetzungen der identifizierten vernetzten Lysinreste aufgetragen. Die Auftragung der Abstände theoretisch möglicher Quervernetzungen zeigt eine deutlich breitere Verteilung mit längeren Vernetzungsabständen als die Auftragung der identifizierten Quervernetzungen. Der Abgleich der identifizierten Quervernetzungen des V-ATPase-Komplexes mit der Struktur bestätigt die Eignung der verwendeten Quervernetzungsstrategie für die Identifizierung von Interaktionen der Proteine synaptischer Vesikel.

5.3.3 Proteininteraktionsnetzwerk synaptischer Vesikel

In Abbildung 25 sind die validierten intermolekularen Quervernetzungen in einem Netzwerkdiagramm dargestellt. In der Summe wurden intermolekulare Quervernetzungen zwischen 56 Proteinen nachgewiesen. Von den 56 Proteinen sind 33 Proteine als Proteine synaptischer Vesikel identifiziert [21]. Die Quervernetzungen, die lediglich in einem Replikat identifiziert werden konnten, bestehen überwiegend zwischen Kontaminationen oder zwischen niedrig abundanten Proteinen. 76 der 80 intermolekularen Quervernetzungen welche in mindestens zwei Replikaten identifiziert wurden (Abbildung 22), entsprechen Proteininteraktionen zwischen Synapsin-1, Synaptogyrin-1, Synaptobrevin-2, SV2A/B, Rab3A, CSP, Synaptophysin, Synaptoporin sowie dem AP2-Komplex und der V-ATPase. Synaptobrevin-2 interagiert mit 32 der 56 Proteinen und ist damit der häufigste Interaktionspartner. Synaptobrevin-2 interagiert sowohl mit Proteinen synaptischer Vesikel als auch mit Kontaminationen. Die hohe Anzahl an unterschiedlichen Interaktionen mit Synaptobrevin-2 gibt Grund zur Annahme, dass Synaptobrevin-2 eine zentrale Rolle innerhalb des Proteininteraktionsnetzwerks synaptischer Vesikel spielt. Es wurden nur eine geringe Anzahl an Interaktionen zwischen Synaptobrevin-2 und Synaptotagmin-1, Synaptogyrin-1 oder mit Neurotransmittertransportern (VGlu1/2) identifiziert, obwohl diese Proteine ähnlich häufig vorkommen, wie die identifizierten Interaktionspartner (Synapsin-1, SV2A/B, Rab3A, CSP, Synaptophysin, Synaptoporin) von Synaptobrevin-2 (5.2.1.3). Würde es sich um unspezifische Interaktionen handeln, müssten auch Interaktionen zu diesen Proteinen nachgewiesen werden können. Zudem wurden Interaktionen zwischen Synaptobrevin-2 und dem AP2-Komplex nachgewiesen. Bei den Proteinen des AP2-Komplexes handelt es sich zwar nicht um Proteine synaptischer Vesikel, der AP2-Komplex lagert sich jedoch während der Clathrin-vermittelten Endozytose an synaptische Vesikel an. Die nachgewiesene Interaktion stimmt mit einer Studie überein, welche zeigt, dass Synaptobrevin-2 mit Proteinen der AP-Familie interagiert, um die Wiederaufnahme bei der Clathrin-vermittelten Endozytose

in synaptische Vesikel zu steuern [20]. Die identifizierten Interaktionen lassen darauf schließen, dass Synaptobrevin-2 ein Cargoprotein des AP2-Komplexes ist.

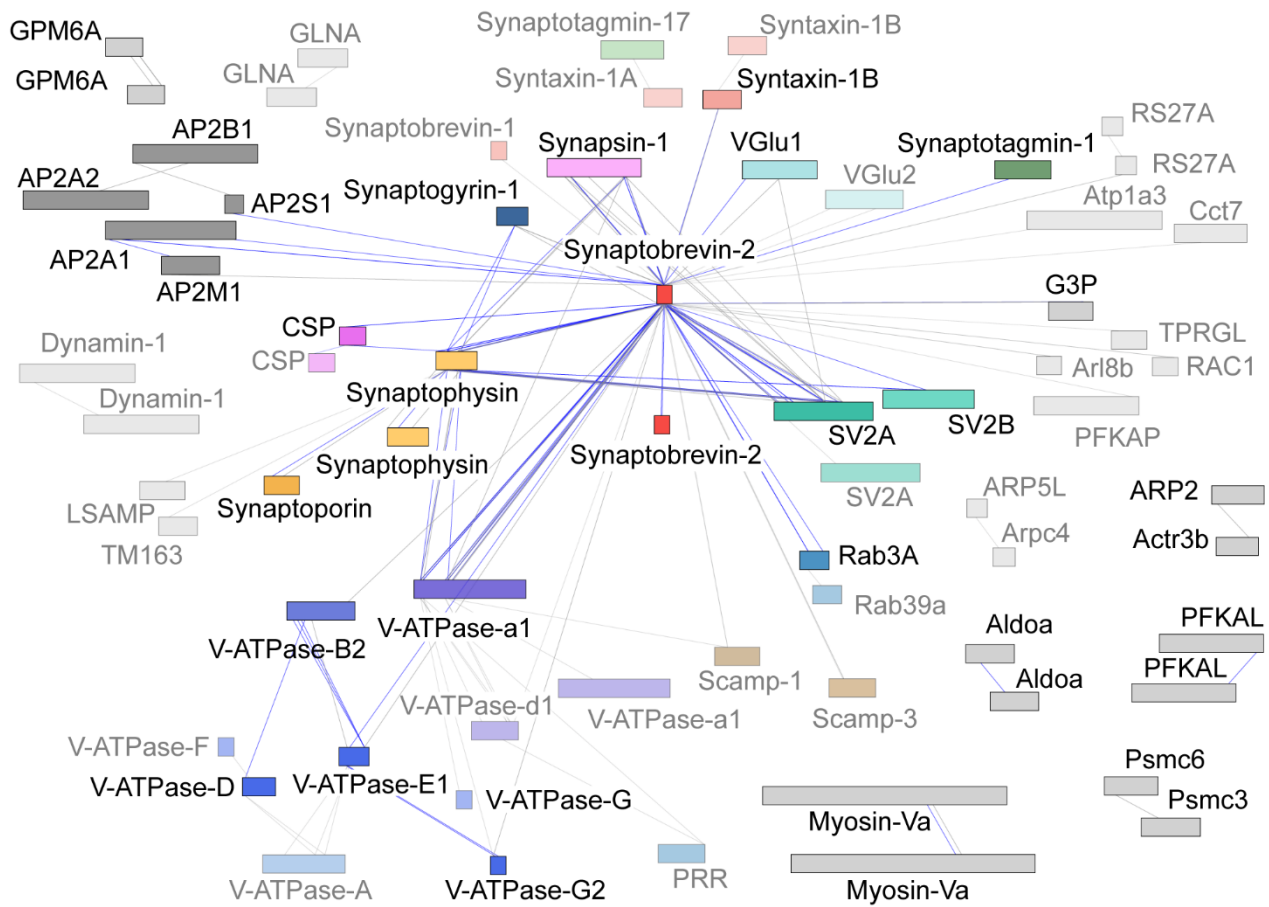


Abbildung 25: Interaktionsnetzwerk synaptischer Vesikel.

Die Balken sind proportional zur Länge der Proteine. Der N-Terminus befindet sich jeweils am linken Ende des Balkens und der C-Terminus am rechten Ende. Die intermolekularen Quervernetzungen aus einem Replikat (grau) oder aus wenigstens zwei Replikaten (blau) sind abgebildet. Proteine, mit welchen nur in einem Replikat eine Interaktion nachgewiesen wurde, sind transparent hinterlegt.

Identifizierung von Homomeren

Bei 19 der 175 identifizierten und validierten Quervernetzungen handelt es sich um Quervernetzungen zwischen zwei Kopien des gleichen Proteins. Diese Homomere konnten nachgewiesen werden, da zwei identische Peptide oder Peptide mit überlappenden Peptidsequenzen miteinander quervernetzt wurden. Wenn ein Protein das gleiche Peptid nicht zweimal aufweist, müssen die Peptide zwingend aus zwei Kopien des Proteins stammen. In Abbildung 26 ist eines dieser validierten Spektren eines Homomers dargestellt. Die Abbildung zeigt eine Quervernetzung zwischen zwei Kopien von Synaptobrevin-2. Das Vorläuferion hat ein m/z von 858,7560 und entspricht bei einer Ladung von 3+ der Summe der

berechneten Masse von zwei Peptidkopien und dem Spacer von BS3. Eine Serie an Fragmentationen (8 Y-/y- und 3 B-/b-Ionen) sind der Peptidsequenz zugeordnet. Es wurden Homomere der Proteine Synaptobrevin-2 (vier Replikate), Synaptophysin (3 Replikate) und CSP (3 Replikate) identifiziert.

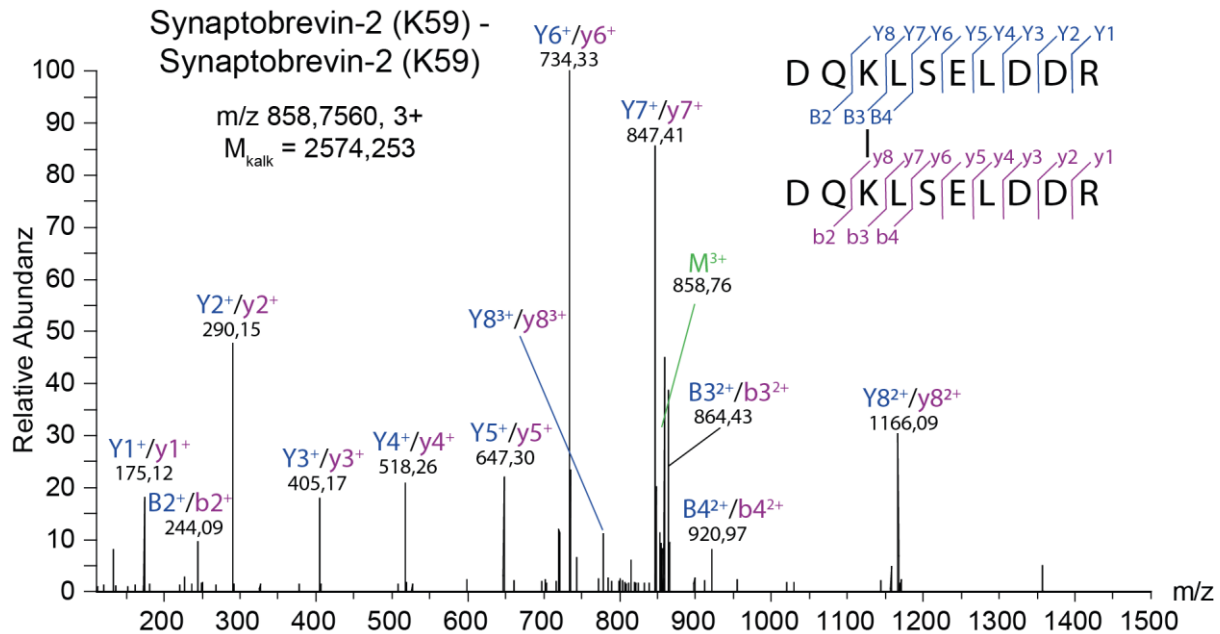


Abbildung 26: Spektrum eines intermolekular quervernetzten Peptidpaars eines Homomers.

Spektrum einer intermolekularen Quervernetzung zwischen den Lysinresten K59 zweier Kopien von Synaptobrevin-2. Die B-/b-Ionen und Y-/y-Ionen (blau und violett) sowie das m/z des Vorläuferions (grün) sind den zwei identischen Peptiden zugeordnet.

Interaktion von Synaptobrevin-2 und Synaptophysin

Zwischen Synaptobrevin-2 und Synaptophysin wurden zwölf Interaktionen nachgewiesen, wovon lediglich drei in nur einem Replikat nachgewiesen werden konnten. Diese nachgewiesene Interaktion von Synaptobrevin-2 mit Synaptophysin ist bereits beschrieben [103; 106]. Zur weiteren Validierung der mittels LC-MS/MS identifizierten Interaktionen wurde die chemische Quervernetzung mit der Immundetektion kombiniert. Hierfür wurden die Proteine intakter synaptischer Vesikel in 15 mM BS3 quervernetzt. Unterschiedliche Mengen der quervernetzten Proteine wurden mittels SDS-PAGE getrennt. Die Proteine wurden auf eine Membran transferiert. Die Membran wurde zur Immundetektion mit Primärantikörpern gegen Synaptobrevin-2 und gegen Synaptophysin inkubiert. In Abbildung 27 sind die Ergebnisse des Western Blots dargestellt. Mit dem anti-Synaptobrevin-2-Antikörper wurden Oligomere bis hin zu Pentameren nachgewiesen (Abbildung 27A) und mit dem anti-Synaptophysin-Antikörper wurden Dimere nachgewiesen (Abbildung 27B). Beide Membranen

weisen neben den Banden der Oligomere zudem eine zusätzliche Bande bei ca. 46 kDa auf (Abbildung 27C). Sowohl der anti-Synaptobrevin-2-Antikörper als auch der anti-Synaptophysin-Antikörper bindet an diesen Proteinkomplex. Die Höhe der Bande stimmt mit dem Molekulargewicht eines Heterodimers aus Synaptophysin und Synaptobrevin-2 überein. Anhand des Western Blots konnte kein Trimer aus 2 Synaptobrevin-2-Kopien und einer Synaptophysin-Kopie nachgewiesen werden.

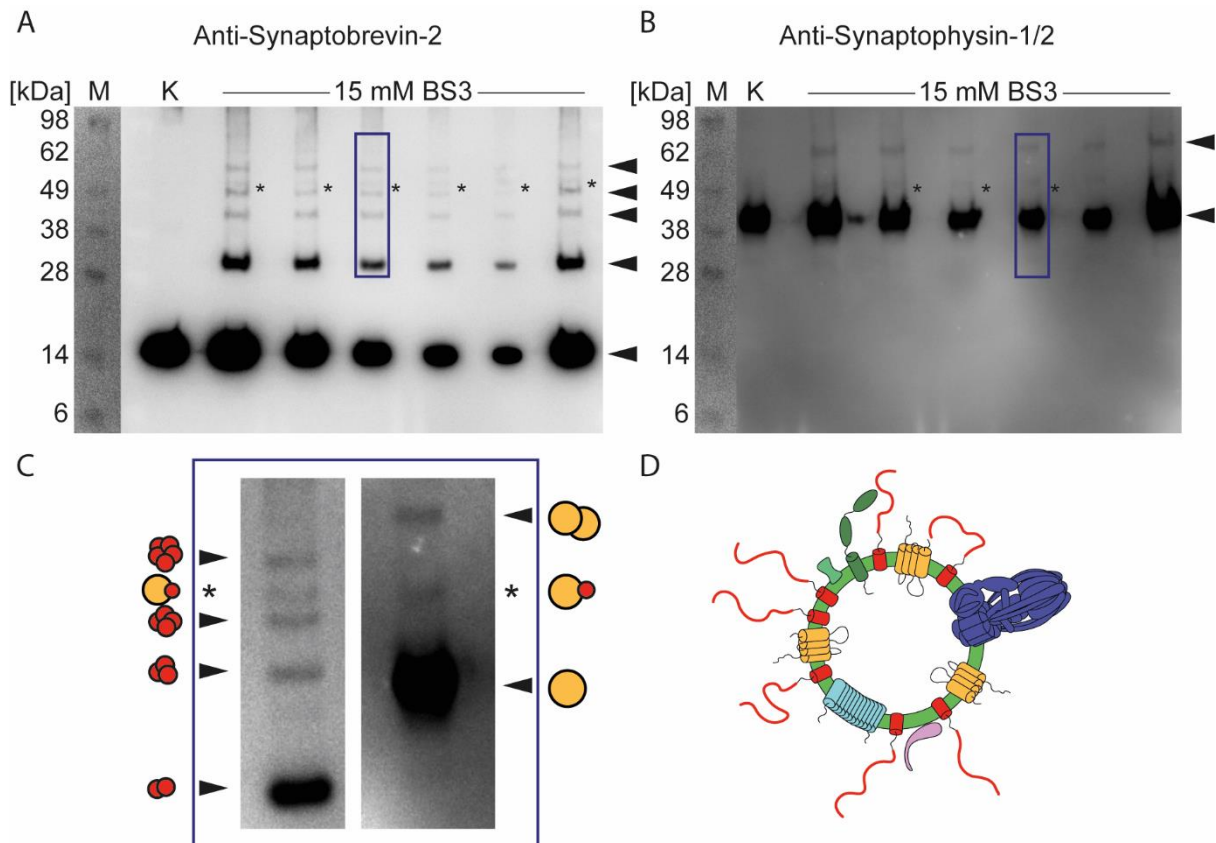


Abbildung 27: Western Blots mit anschließender Immundetektion quervernetzter Proteine synaptischer Vesikel.

Proteine synaptischer Vesikel wurden in 15 Mm BS3 quervernetzt. Unterschiedliche Mengen des Reaktionsansatzes sind aufgetragen (A) Primärantikörper: anti-Synaptobrevin-2. Oligomere bis hin zu Pentameren wurden nachgewiesen (s. Pfeilspitzen) (B) Primärantikörper: anti-Synaptophysin. Synaptophysin-Dimer wurden nachgewiesen (s. Pfeilspitzen) (C) Gegenüberstellung zweier Banden aus (A) und (B). Eine Proteinbande (Stern) wurde sowohl mit dem Antikörper gegen Synaptobrevin-2 als auch gegen Synaptophysin detektiert, die Masse von ca. 49 kDa entspricht der Masse eines Dimers aus Synaptobrevin-2 und Synaptophysin (D) Schematische Darstellung eines synaptischen Vesikels. Die quantitative Zusammensetzung ausgewählter Proteine synaptischer Vesikel ist angedeutet (Synaptobrevin-2:Synaptophysin:Synaptotagmin:Synaptophysin:1 V-ATPase:1 Rab3A = 7:3:1:1:1:1).

Die Western Blots bestätigen die durch chemische Quervernetzung kombiniert mit MS identifizierten Homomere von Synaptobrevin-2 und Synaptophysin. Die Interaktionen zwischen Synaptobrevin-2 und

Synaptophysin wurden ebenfalls bestätigt. Für Synaptobrevin-2 wurden durch Western Blotting zudem Oligomere bis zu Pentameren nachgewiesen.

Ternäre Interaktionsnetzwerke

Neben den binären Interaktionen von Synaptobrevin-2 mit Synaptophysin stechen aus dem Interaktom der synaptischen Vesikel (Abbildung 25) vier, kleinere Netzwerke aus jeweils drei Proteinen hervor (Abbildung 28). Synaptobrevin-2 und Synaptophysin interagieren nicht nur miteinander, sondern auch mit V-ATPase-a1, SV2A, Synapsin-1 oder CSP. Eine dominierende Interaktion von Synaptobrevin-2 und Synaptophysin mit anderen Proteinen wurde bereits beschrieben [103; 106] und wird durch die nachgewiesenen Interaktionen bestätigt.

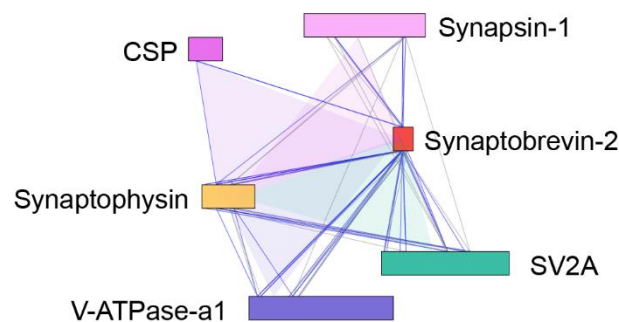


Abbildung 28: Tertiäre Proteinnetzwerke synaptischer Vesikel.

Balkendiagramm der tertiären Interaktionen von Synaptobrevin-2 und Synaptophysin mit CSP (blauviolett), Synapsin (rosa), V-ATPase-a1 (blau) und SV2A (grün). Die Balken sind proportional zur Proteinlänge. Der N-Terminus befindet sich jeweils am linken Ende des Balkens und der C-Terminus am rechten Ende. Die intermolekularen Quervernetzungen aus einem Replikat (grau) oder aus wenigstens zwei Replikaten (blau) sind abgebildet.

5.3.4 Proteininteraktionen luminaler Proteinabschnitte

In Kapitel 5.3.3 wurde bereits beschrieben, dass für Synaptophysin mittels chemischer Quervernetzung kombiniert mit MS, Homomere nachgewiesen wurden. Die Dimerisierung von Synaptophysin wurde anhand von Western Blots bestätigt und auch bereits in anderen Studien beschrieben [59; 103; 177; 61; 60]. In Abbildung 29 sind die intra- und intermolekularen Interaktionen von Synaptophysin sowie die Interaktionen mit der Isoform Synaptoporin dargestellt. Zwei der drei identifizierten Interaktionen zwischen zwei Synaptophysin-Kopien wurden zwischen luminalen Lysinresten (K83 und K163) nachgewiesen. Die dritte Interaktion wurde zwischen den N-Termini von zwei Synaptophysin-Kopien nachgewiesen. Homomere können mittels chemischer Quervernetzung kombiniert mit MS nur identifiziert werden, wenn das quervernetzte Peptidpaar aus zwei Kopien des gleichen Peptids bzw. aus

zwei Peptiden mit überlappender Peptidsequenz besteht. Die luminalen Lysinreste K83 und K163 sind neben den intermolekularen Interaktionen der Homomere auch an vier der fünf intramolekularen Quervernetzungen innerhalb der luminalen Domänen von Synaptophysin beteiligt. Diese vier Quervernetzungen sind auf Grund der fehlenden Peptidsequenzüberlappung einer intramolekularen Interaktion zugeordnet worden, wobei es sich jedoch auch um intermolekulare Interaktionen der Homomere handeln könnte. Hierfür spricht, dass die gleichen Aminosäuren an diesen Interaktionen beteiligt sind. Auch diese identifizierten Interaktionen sprechen daher für die Oligomerisierung von Synaptophysin. Das nachgewiesene Oligomerisierungsverhalten von Synaptophysin wird zudem durch die identifizierten Interaktionen mit seiner Isoform Synaptoporin bestärkt, welche ebenfalls zwischen luminalen Proteindomänen stattfinden. Für die C-terminale Domäne von Synaptophysin wurden keine Proteininteraktionen nachgewiesen. Die Aminosäuresequenz des C-Terminus weist zwei Lysinreste und nur einen Argininrest auf. Es sind zu wenige Lysinreste für eine erfolgreiche Quervernetzung und zu wenige Trypsinschnittstellen für eine ausreichende Proteolyse vorhanden. Mögliche Interaktionen konnten in diesem Proteinabschnitt somit wahrscheinlich aus methodischen Gründen nicht nachgewiesen werden.

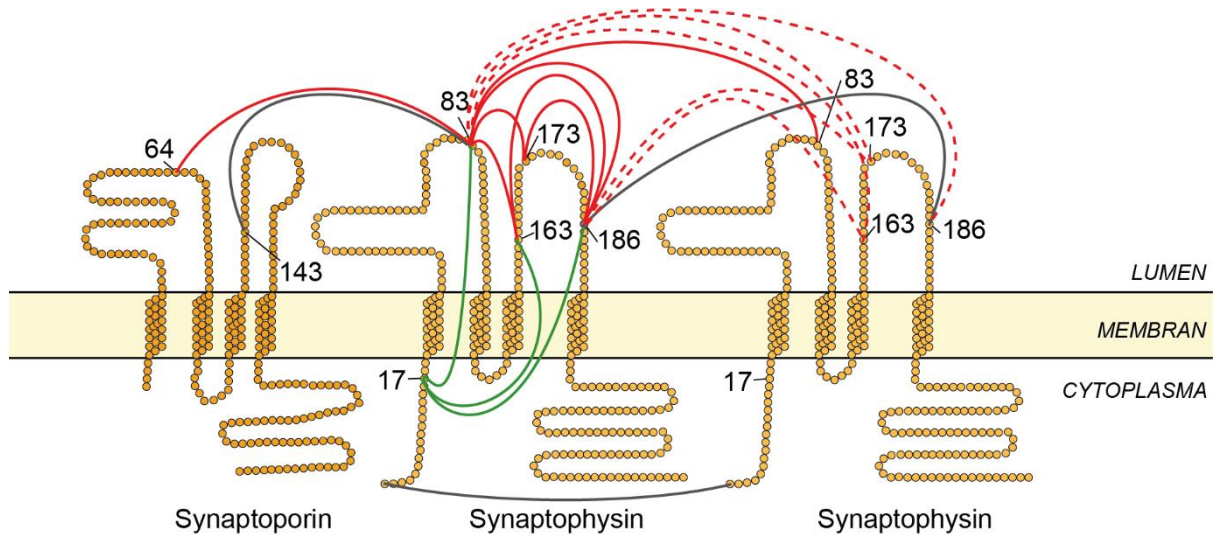


Abbildung 29: Identifizierte Proteininteraktionen von Synaptophysin und Synaptoporin.

Schematische Darstellung der Proteininteraktionen von Synaptophysin und Synaptoporin. Interaktionen innerhalb luminaler Proteindomänen (rot) und Proteininteraktionen zwischen luminalen und cytosolischen Proteindomänen (grün) sind dargestellt. Die als intramolekular zugeordneten Quervernetzungen, bei welchen es sich jedoch auch um intermolekulare Proteininteraktionen handeln könnte und somit die Oligomerisierung von Synaptophysin stützen, wurden zusätzlich dargestellt (gestrichelte Linien). Proteininteraktionen, welche nur in einem Replikat identifiziert wurden (grau), sind ebenfalls dargestellt.

Auch für andere Proteine synaptischer Vesikel mit luminalen Proteinschlaufen konnten vergleichbare Interaktionen nachgewiesen werden. Synaptophysin, Synaptoporin und Synaptogyrin-1 weisen vier Transmembranhelices und SV2A zwölf Transmembranhelices auf. Für jedes dieser Proteine wurden mehrere inter- und intramolekulare Proteininteraktionen nachgewiesen. Obwohl das verwendete hydrophile Quervernetzungsreagenz BS3 nicht in der Lage ist durch Membranen zu diffundieren, wurden mehrere Proteininteraktionen mit luminalen Aminosäureresten nachgewiesen. In Abbildung 30 sind die Proteininteraktionen in einem Balkendiagramm dargestellt.

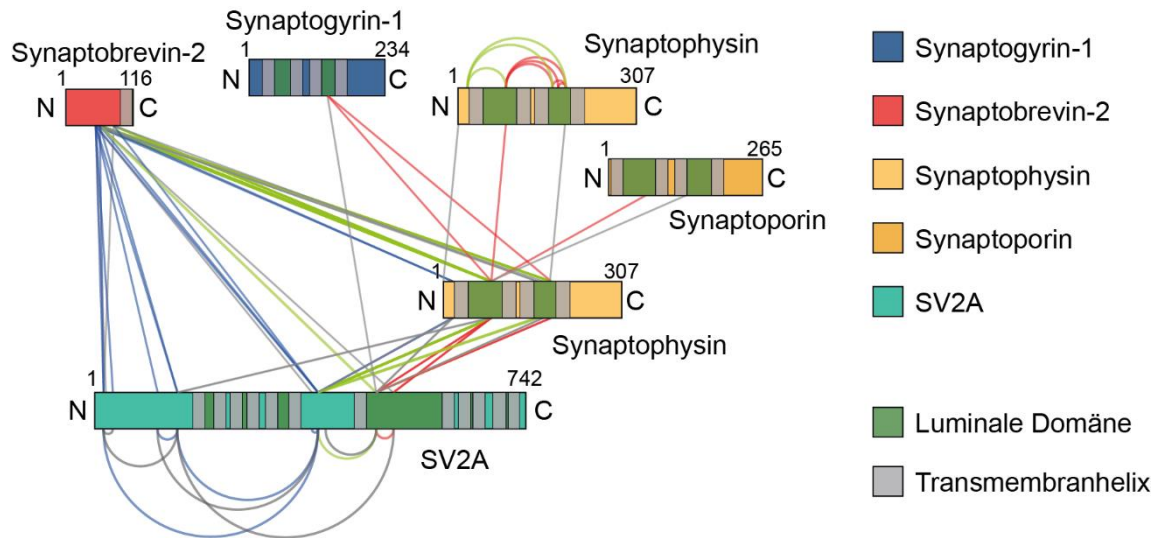


Abbildung 30: Balkendiagramm der Proteininteraktionen von SV2A, Synaptobrevin-2, Synaptogyrin-1, Synaptophysin und Synaptoporin.

Die Balken sind proportional zur Proteinelänge. Der N-Terminus befindet sich jeweils am linken Ende des Balkens und entsprechend der C-Terminus am rechten Ende. Identifizierte Proteininteraktionen aus einem Replikat (grau), Proteininteraktionen zwischen zwei cytosolischen Domänen (blau), Proteininteraktionen zwischen zwei luminalen Domänen (rot) und Proteininteraktionen zwischen einer cytosolischen und einer luminalen Proteindomäne (grün) sind dargestellt.

In Abbildung 31 sind die intramolekularen und intermolekularen Proteininteraktionen von SV2A, Synaptophysin und Synaptogyrin-1 dargestellt. Für SV2A wurden elf intramolekulare Quervernetzungen validiert, wovon sechs in mindestens zwei Replikaten identifiziert wurden. Eine dieser Quervernetzungen (SV2A^{K485}-SV2A^{K515}) wurde in vier von vier Replikaten nachgewiesen und liegt innerhalb der luminalen Domäne von SV2A (Aminosäuren 469 bis 598). Drei der elf intramolekularen Quervernetzungen liegen zwischen der luminalen Domäne und der cytosolischen Domäne von SV2A. Für Synaptophysin wurden acht validierte und reproduzierbare intramolekulare Quervernetzungen nachgewiesen. Fünf der acht Quervernetzungen liegen innerhalb der luminalen Proteindomäne von Synaptophysin. Drei von acht der Quervernetzungen liegen zwischen der luminalen und der cytosolischen Domäne von Synaptophysin. Neben intramolekularen Interaktionen der luminalen Proteindomäne wurden auch intermolekulare Proteininteraktionen der luminalen Proteindomäne nachgewiesen. Zwischen Synaptophysin und SV2A wurden neun intermolekulare Quervernetzungen identifiziert, fünf der neun intermolekularen Quervernetzungen wurden in mindestens zwei Replikaten nachgewiesen. Davon wurden nur eine Interaktion zwischen cytosolischen Domänen dieser beiden Proteine nachgewiesen. Vier der neun intermolekularen Interaktionen finden zwischen den luminalen Domänen der Proteine statt. Weitere vier von neun Interaktionen wurden zwischen luminalen und cytosolischen Domänen von SV2A und Synaptophysin nachgewiesen. Die Interaktionen finden

überwiegend (drei von vier) zwischen den luminalen Domänen von Synaptophysin und der größeren cytosolischen Domäne von SV2A statt. Die Interaktion einer der luminalen Domänen von Synaptophysin wurde auch reproduzierbar mit der großen cytosolischen Domäne der Isoform SV2B nachgewiesen (Synaptophysin^{K83}-SV2B^{K333} und Synaptophysin^{K83}-SV2B^{K341}). Es wurden jeweils zwei Interaktionen der luminalen Domäne von Synaptophysin mit den luminalen Domänen von Synaptogyrin-1 und Synaptoporin identifiziert (Abbildung 29).

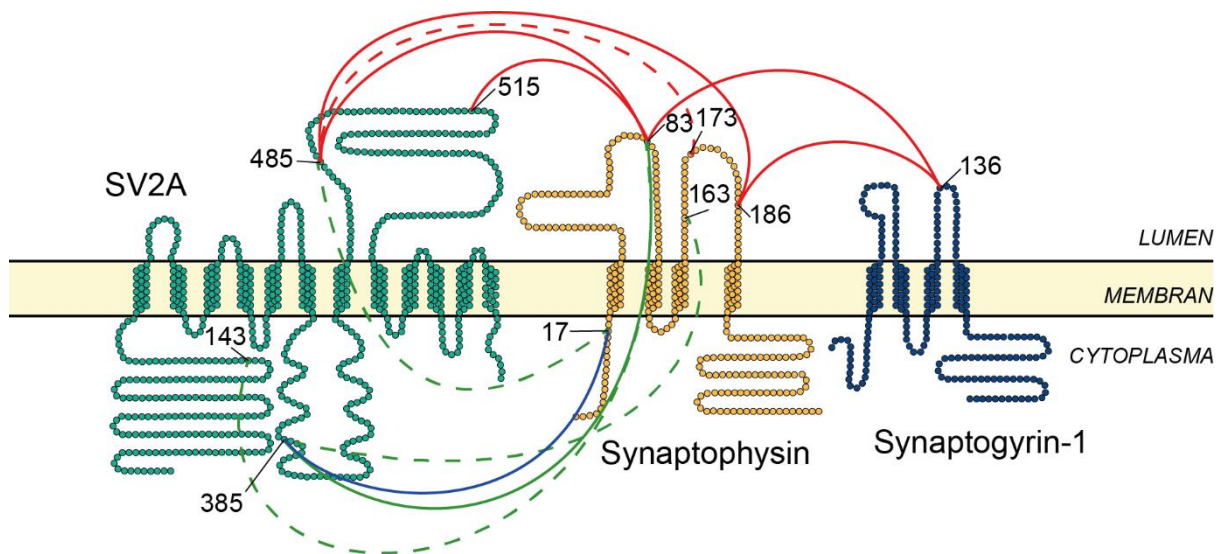


Abbildung 31: Proteininteraktionen von SV2A, Synaptophysin und Synaptogyrin-1.

Schematische Abbildung der Proteininteraktionen zwischen SV2A, Synaptophysin und Synaptogyrin-1. Interaktionen innerhalb luminaler Proteindomänen (rot), Proteininteraktionen zwischen luminalen und cytosolischen Proteindomänen (grün) und die Proteininteraktion innerhalb cytosolischer Domänen (blau) sind dargestellt. Identifizierte Interaktionen aus einem Replikat (gestrichelt) sind ebenfalls dargestellt.

Die luminalen und cytosolischen Domänen von SV2A und Synaptophysin interagieren zudem stark mit der cytosolischen Domäne von Synaptobrevin-2. In Abbildung 32 sind die Interaktionen von Synaptobrevin-2, SV2A und Synaptophysin dargestellt. Es wurden 14 Interaktionen zwischen der cytosolischen Domäne von Synaptobrevin-2 und SV2A nachgewiesen. Zwei der 14 Interaktionen liegen zwischen der cytosolischen Domäne von Synaptobrevin-2 und der luminalen Domäne von SV2A. Zwischen der cytosolischen Domäne von Synaptobrevin-2 und Synaptophysin wurden elf Interaktionen nachgewiesen, davon neun Interaktionen mit der luminalen Domäne von Synaptophysin.

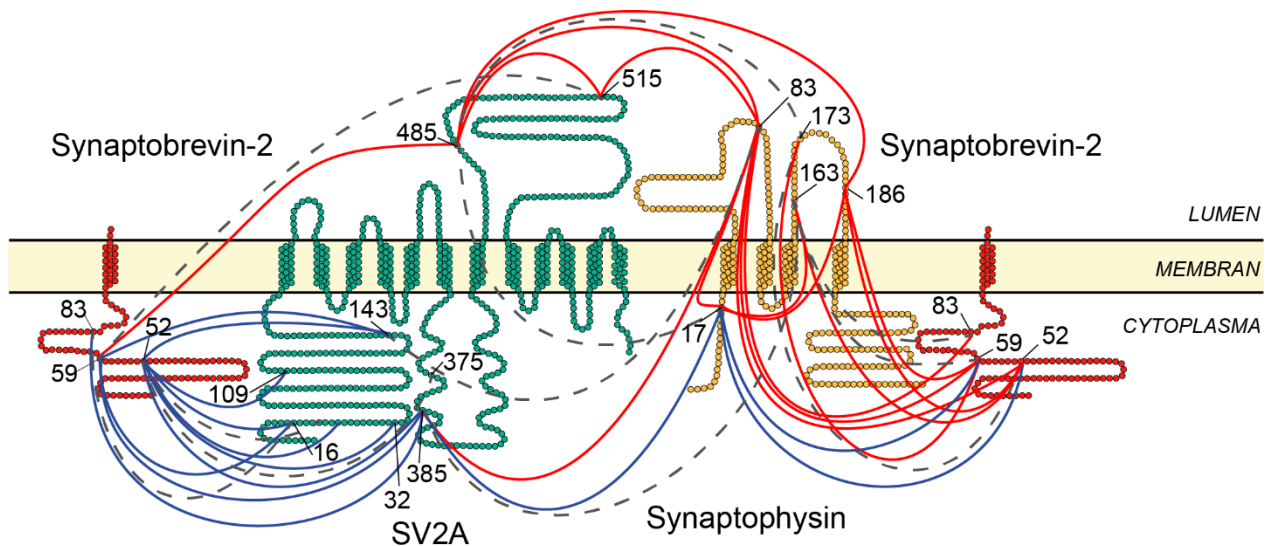


Abbildung 32: Proteininteraktionen luminaler Proteindomänen mit Synaptobrevin-2.

Schematische Abbildung der Proteininteraktionen zwischen Synaptobrevin-2, SV2A und Synaptophysin. Interaktionen innerhalb luminaler Proteindomänen (rot), Proteininteraktionen zwischen luminalen und cytosolischen Proteindomänen (grün) und Proteininteraktionen innerhalb cytosolischer Domänen (blau) sind dargestellt. Identifizierte Interaktionen aus einem Replikat (gestrichelt grau) sind ebenfalls dargestellt.

5.3.5 Modifikation der Proteine synaptischer Vesikel¹⁰

Die Erreichbarkeit der luminalen Aminosäurereste für das polare Lösungsmittel wurde in einem unabhängigen Proteinmodifizierungsexperiment bestätigt. Hierfür wurden mit zwei unterschiedlichen Reagenzien, Sulfo-NHS-Acetate und DEPC, Lösungsmittel-zugängliche Lysin-, Histidin-, Serin-, Threonin-, Tyrosin- und Cysteinreste nach einer etablierten Methode modifiziert und mittels MS analysiert [144]. Beide Reagenzien sind nicht in der Lage durch eine Membran zu diffundieren und können somit nur Aminosäurereste modifizieren, welche vom Cytosol aus zugänglich sind. Hierfür wurden synaptische Vesikel entsprechend einer Menge von 30 µg Protein jeweils in 5 mM bzw. 10 mM Sulfo-NHS-Acetat (S-NHS-Acetat), sowie in 5 mM bzw. 10 mM DEPC inkubiert. Die modifizierten Proteine wurden mit Trypsin hydrolysiert und mittels LC-MS/MS analysiert. Die Datenbanksuche erfolgte mit MaxQuant (Tabelle A. 4) gegen die Datenbank der 1010 identifizierten Proteine (5.2.1.1). Es wurden sowohl Modifizierungen von Aminosäuren der cytosolischen Domäne als auch der luminalen Schlaufen von SV2A, Synaptophysin und Synaptoporin nachgewiesen. In Abbildung A. 6 sind die

¹⁰ Die Proteinmodifizierungsexperimente wurden von Dr. Marie Alfes geb. Barth, AG Schmidt ZIK HALOmem, MLU Halle-Wittenberg durchgeführt und ausgewertet.

Ergebnisse der Proteinmodifizierungsexperimente für diese Proteine dargestellt. Für Synaptogyrin-1 wurde nur eine modifizierte luminal Aminosäure (K136) nachgewiesen. Dies könnte jedoch an der geringen Anzahl der modifizierbaren Aminosäuren und Trypsinschnittstellen innerhalb der luminalen Schlaufe liegen, wodurch eine Identifizierung nicht möglich ist. Als Kontrolle der Proteinmodifizierungsexperimente wurden die Proteine Synaptotagmin-1 und PRR genauer betrachtet. Synaptotagmin-1 weist einen langen cytosolischen Abschnitt (Aminosäuren 80-421) und einen kurzen luminalen Terminus (Aminosäuren 1-57) auf. PRR weist hingegen nur ein kurzes cytosolisches Peptid (Aminosäuren 324-350) und eine lange luminal Domäne (Aminosäuren 18-302) auf. Beide Proteine weisen sowohl cytosolisch, als auch luminal, modifizierbare Aminosäurereste auf. Die Ergebnisse bestätigen, dass lediglich cytosolische Aminosäurereste von Synaptotagmin-1 und PRR modifiziert wurden. Es wurden keine Modifikationen innerhalb luminaler Proteinabschnitte der beiden Proteine identifiziert. Zudem wurde eine Modifizierung mit DEPC am C-Terminus von PRR (K346) nachgewiesen. K346 ist der einzige cytosolische Aminosäurerest von PRR der modifizierbar ist. Die Identifizierung mehrerer modifizierter Aminosäurereste der V-ATPase-Untereinheiten d1 und a1 bestätigt zudem den Nachweis der aktiven und inaktiven V-ATPase (5.3.2). Die Proteinmodifizierungsexperimente sind somit geeignet, um Lösungsmittel-zugängliche Aminosäurereste synaptischer Vesikel zu identifizieren. Mittels Proteinmodifizierung wurde zudem bestätigt, dass die luminalen Schlaufen von SV2A, Synaptophysin, Synaptoporin und Synaptogyrin-1 innerhalb der Membran synaptischer Vesikel für Lösungsmittel zugänglich sind und stützen den Nachweis der Proteininteraktionen dieser Proteinabschnitte.

5.4 Oligomerisierung von Synaptobrevin-2¹¹

Synaptobrevin-2 ist mit durchschnittlich 70 Kopien pro synaptischem Vesikel das zahlenmäßig häufigste Protein der synaptischen Vesikel [21]. Es bildet zusammen mit SNAP-25 und Syntaxin-1A den SNARE-Komplex aus, welcher für die Fusionierung von synaptischen Vesikeln mit der präsynaptischen Membran verantwortlich ist [7]. Der SNARE-Komplex besteht aus vier Helices, von welchen eine Helix von Synaptobrevin-2 ausgebildet wird [87; 86]. In Abwesenheit der anderen SNARE-Proteine oder von Lipiden liegt Synaptobrevin-2 als unstrukturiertes Protein vor. Strukturierte Teilabschnitte, vor allem Intermediate bei der SNARE-Komplexbildung, sowie die Ausbildung von Synaptobrevin-2-Dimeren und

¹¹ Die Ergebnisse dieses Kapitels wurden publiziert in **Wittig S**, Haupt C, Hoffmann W, Kostmann S, Pagel K, Schmidt C. Oligomerisation of Synaptobrevin-2 Studied by Native Mass Spectrometry and Chemical Cross-Linking. *J Am Soc Mass Spectrom*. 2019 Jan;30(1):149-160. doi: 10.1007/s13361-018-2000-4.

höheren Oligomeren wurden bereits in mehreren Studien nachgewiesen. Um das Oligomerisierungsverhalten von Synaptobrevin-2 zum einen in der Abwesenheit von Interaktionspartnern und zum anderen eingebettet in einer Lipiddoppelschicht zu untersuchen, wurden drei unterschiedliche Varianten des Proteins exprimiert, sowie das Volllängenprotein in Liposomen inkorporiert. Die drei Proteinvarianten wurden mittels nativer MS sowie mittels chemischer Quervernetzung kombiniert mit MS untersucht. Ergänzend wurde die kleinste der drei Proteinvarianten mittels IM-MS untersucht.

5.4.1 Identifizierung verschiedener Synaptobrevin-2-Varianten

Um das Oligomerisierungsverhalten von Synaptobrevin-2 zu untersuchen, wurden drei verschiedene Varianten von Synaptobrevin-2 (*Rattus norvegicus* Sequenz, UniProt ID P63045) exprimiert. In Abbildung 33 sind die drei Synaptobrevin-2-Varianten als Balkendiagramm dargestellt. Die erste Variante Syb(1-116), ist das intakte Protein in seiner gesamten Länge. Die zweite Variante Syb(1-96) entspricht der cytosolischen Domäne von Synaptobrevin-2. Die dritte Variante Syb(49-96), ist ein Fragment, welches die Hälfte des SNARE-Motivs sowie die Juxtamembrandomäne beinhaltet. Alle drei Varianten wurden mit einem N-terminalen Hexahistidin-Tag in *E. coli* exprimiert und anschließend mit Hilfe der Affinitätschromatographie gereinigt.¹²

¹² Die Synaptobrevin-2-Varianten wurden von Dr. Caroline Haupt/AG Schmidt ZIK HALOmem exprimiert und zur Verfügung gestellt.

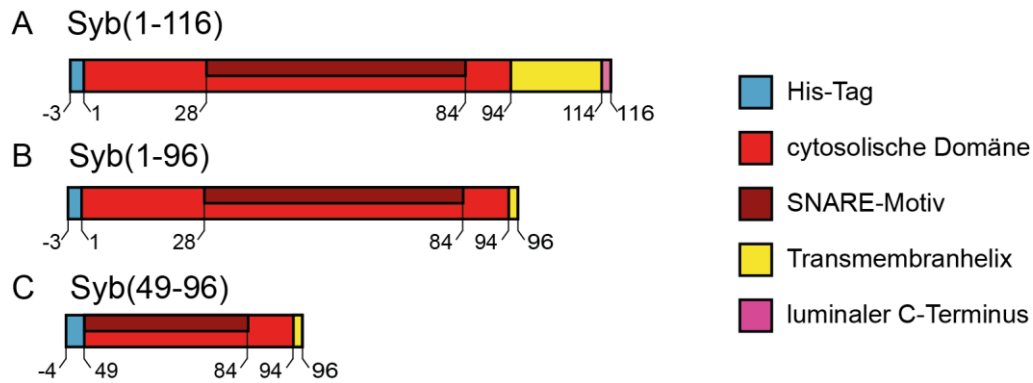


Abbildung 33: Balkendiagramme der drei Synaptobrevin-2-Varianten.

Die Länge der Balken ist proportional zur Länge der Proteine. Die unterschiedlichen Proteindomänen sind aufgezeigt (siehe Legende).

Zunächst wurden die drei Synaptobrevin-2-Varianten mittels MS identifiziert. Hierfür wurde eine SDS-PAGE durchgeführt (Abbildung 34A). Die Proteinbanden wurden ausgeschnitten und ein In-Gel-Verdau sowohl mit der Protease Trypsin als auch Chymotrypsin durchgeführt. Die gewonnenen Peptide wurden mittels LC-MS/MS analysiert und anschließend die verschiedenen Varianten von Synaptobrevin-2 mit Hilfe der Datenbanksuchmaschine MaxQuant identifiziert. Für Syb(1-116) wurde eine Sequenzabdeckung von 75 % der Aminosäuresequenz erzielt. In Abbildung 34B ist die Aminosäuresequenz von Syb(1-116) dargestellt. Die komplette cytosolische Domäne (AS 2-94) konnte identifiziert werden. Für Syb(1-96) und Syb(49-96) wurde eine Sequenzabdeckung von 98 % erzielt. Bei allen drei Varianten wurde das N-terminale Peptid identifiziert. Dieses weist einen Rest bestehend aus drei Aminosäuren (GSH) auf. Im Fall von Syb(49-96) besteht dieser Rest aus 4 Aminosäuren (GSHM). Es handelt sich dabei um Reste vom Hexahistidin-Tag, welche nach Spaltung durch Thrombin am N-Terminus verbleiben. Alle drei Synaptobrevin-2-Varianten konnten somit erfolgreich mittels MS identifiziert werden.

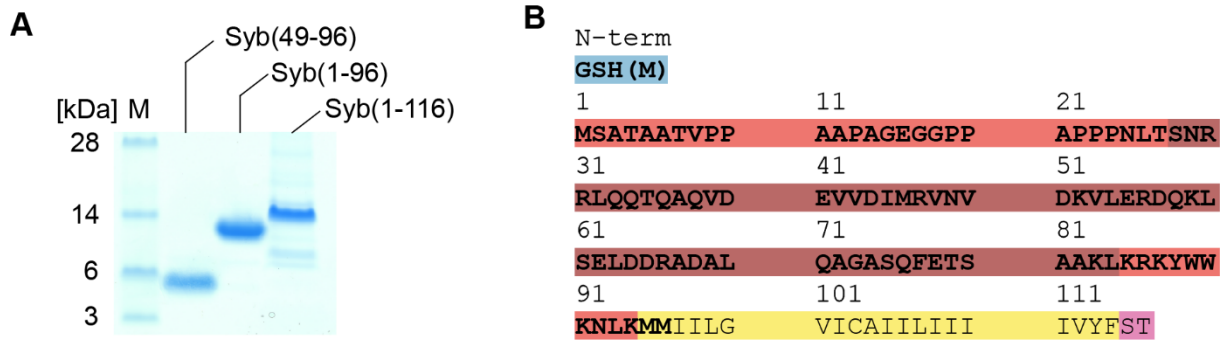


Abbildung 34: Identifizierung der drei Synaptobrevin-2-Varianten.

(A) Gel der SDS-PAGE der drei Synaptobrevin-2-Varianten mit Proteinbanden für Syb(49-96) (ca. 6 kDa), Syb(1-96) und Syb(1-116) (ca. 14 kDa). (B) Aminosäuresequenz von Synaptobrevin-2. Mittels LC-MS/MS identifizierte Abschnitte sind hervorgehoben. Der Rest des Hexahistidin-Tags (blau), die cytosolische Domäne (rot) inklusive SNARE-Motif (dunkelrot), die Transmembranhelix (gelb) und der luminaire C-Terminus (pink) sind farblich gekennzeichnet.

5.4.2 Oligomerisierung von Syb(1-116)

Um das Oligomerisierungsverhalten von Synaptobrevin-2 zu untersuchen, wurde zunächst die Vollständigvariante Syb(1-116) mittels nativer MS und anschließend mittels chemischer Quervernetzung untersucht. Da Syb(1-116) ein Membranprotein ist, ist es aufgrund seiner unpolaren Transmembranhelix nicht wasserlöslich. Um es in Lösung zu bringen, enthält der Lagerpuffer das Detergens Chaps. Detergenzien stören aufgrund ihrer Ladung massenspektrometrische Messungen. Um Syb(1-116) mittels nativer Massenspektrometrie analysieren zu können, wurde das Detergens größtenteils mittels Größenausschlusschromatographie entfernt und Syb(1-116) in Transferpuffer überführt. Die nativen Massenspektren wurden an einem Q-ToF Ultima, welches speziell für die Transmission großer Massen modifiziert wurde [147], aufgenommen.

Abbildung 35 zeigt das aufgenommene Massenspektrum von Syb(1-116). Das Massenspektrum weist zwei Signalserien auf. Mit Hilfe der Software Massign [149] wurden den zwei Signalserien eine Masse von 12.978 Da und 12.481 Da zugeordnet. Die Serie mit der höchsten Intensität entspricht einer Masse von 12.978 Da und stimmt mit der theoretischen Masse von Syb(1-116) (12.972 Da) überein. Die zweite Signalserie weist eine deutlich niedrigere Intensität auf. Diese Signalserie könnte einem Abbauprodukt von Syb(1-116) entsprechen. Mittels nativer MS wurden keine Dimere oder höheren Oligomere von Syb(1-116) nachgewiesen.

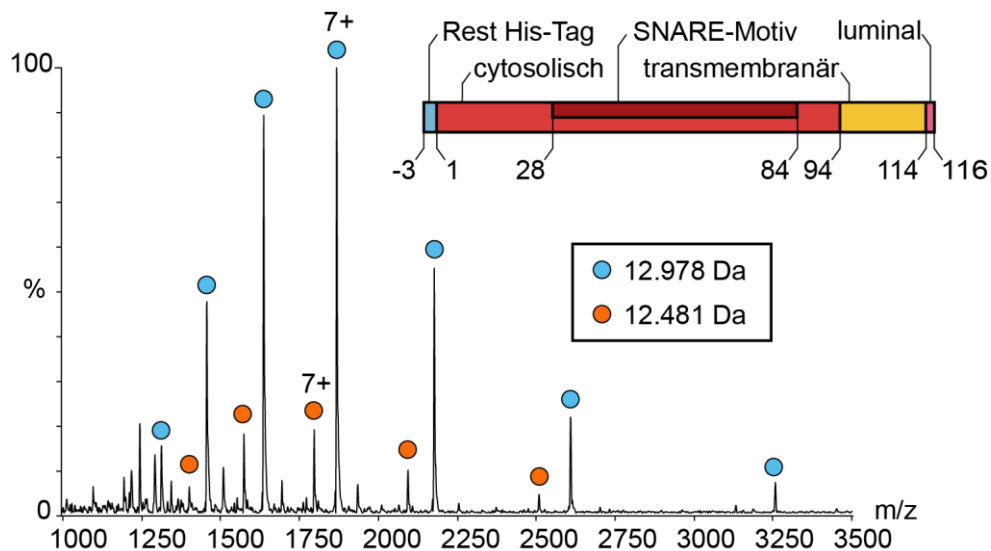


Abbildung 35: Natives Massenspektrum der Vollängenvariante Syb(1-116).

Das native Massenspektrum von Syb(1-116) weist eine Signallerie entsprechend der intakten Masse von Syb(1-116) (12.978 Da, blaue Kreise), sowie eine zweite, schwächere Signallerie entsprechend einer kleineren Masse (12.481 Da, orangefarbene Kreise) auf.

Um das Oligomerisierungsverhalten von Syb(1-116) weiter zu untersuchen, wurden Quervernetzungsversuche mit BS3 durchgeführt. Die beiden funktionellen Gruppen von BS3 reagieren mit primären Aminogruppen von Lysinseitenketten oder dem N-terminus von Proteinen und verbinden diese kovalent miteinander. In Nebenreaktionen reagiert BS3 auch mit den Hydroxylgruppen der Seitenketten von Serin, Threonin und Tyrosin [178]. Da eine mögliche Aggregation von Synaptobrevin-2 in höheren Konzentrationen kontrovers diskutiert wird [30; 31], wurde zunächst eine niedrige Proteinkonzentration von 10 μM Syb(1-116) gewählt, welche mit 200 μM BS3 quervernetzt wurde. In Abbildung 36 sind die Ergebnisse der SDS-PAGE dargestellt. Im Coomassie-gefärbten Gel ist in der Vergleichsprobe eine Bande auf Höhe des Molekulargewichts von Syb(1-116) zu sehen (ca. 14 kDa). Zudem weist das Gel weitere schwache Banden auf, bei welchen es sich um Proteinkontaminanten aus der Reinigung der Proteine handelt. In der quervernetzten Probe sind nur sehr schwache Banden auf der Höhe des Molekulargewichts von Syb(1-116) und des Dimers zu erkennen. Um die Sensitivität und Selektivität zu erhöhen wurde zusätzlich unter Verwendung eines spezifischen anti-Synaptobrevin-2-Antikörpers ein Western Blot durchgeführt.¹³ Durch die Western Blots wurden Oligomere bis hin zu Pentameren nachgewiesen (Abbildung 36). Da die Proteinkonzentration mit 10 μM zu gering war um Oligomere mittels SDS-Page und anschließender Coomassiefärbung nachzuweisen, wurden die

¹³ Die Anfertigung der Western Blots dieses Kapitels erfolgte durch Susann Kostmann, AG Jun.-Prof. Dr. Carla Schmidt

Quervernetzungsversuche mit höheren Konzentrationen wiederholt. 100 μM Syb(1-116) wurde in 83 μM BS3, 116 μM BS3 und 166 μM BS3 quervernetzt. Die quervernetzten Proben wurden mittels SDS-PAGE aufgetrennt und die Gele entweder mit Coomassie gefärbt oder ein Western Blot durchgeführt. Abbildung 36B zeigt die entsprechenden Gele. Im Coomassie-gefärbten Gel sind auf Grund der hohen aufgetragenen Menge an Syb(1-116) in allen Proben Kontaminationen aus der Proteinreinigung deutlich zu erkennen. Die Kontaminationen im höheren Molekulargewichtsbereich erschwert eine Identifizierung von Syb(1-116)-Oligomeren. Dennoch ist mit ansteigender Konzentration an BS3 immer deutlicher eine Bande auf Höhe eines Dimers (~ 24 kDa) zu erkennen. Durch die Western Blots wurden Syb(1-116)-Oligomere bis hin zu Pentameren nachgewiesen.

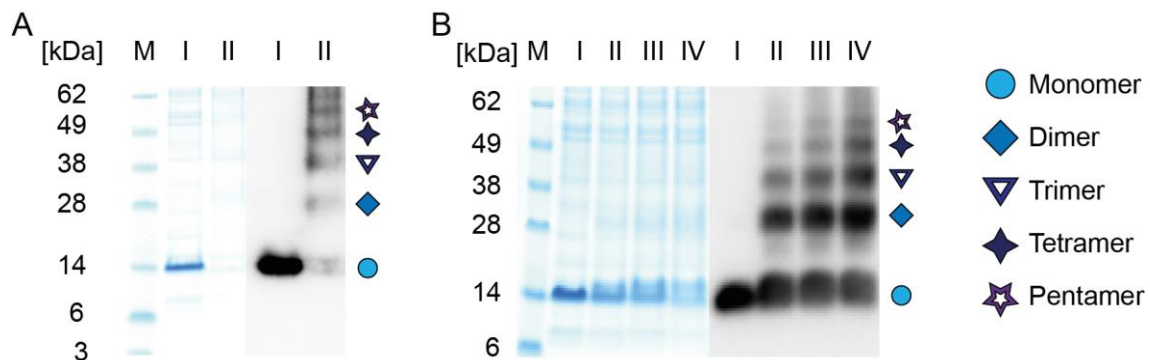


Abbildung 36: Quervernetzung von Syb(1-116).

(A) Quervernetzung einer niedrigen Konzentration von 10 μM Syb(1-116). 10 μM Syb(1-116) (I) wurde in 200 μM BS3 (II) quervernetzt. Coomassie-gefärbtes Gel (links) und Western Blot (rechts; Primärantikörper: anti-Synaptobrevin-2-Klon 69.1). Anhand der Western Blots sind Oligomere bis zum Pentamer nachweisbar (siehe Annotation) (B) Quervernetzung einer höheren Konzentration von 100 μM Syb(1-116). 100 μM Syb(1-116) (I) wurde in 83 μM BS3 (II), in 116 μM BS3 (III) und in 166 μM BS3 (IV) quervernetzt. Coomassie-gefärbtes Gel (links), Western Blot (rechts; Primärantikörper: anti-Synaptobrevin-2-Klon 69.1). Die Intensität der Oligomere nimmt mit steigender BS3-Konzentration zu. Oligomere bis zu Pentamere wurden identifiziert (siehe Legende).

Um die interagierenden Aminosäurereste zu identifizieren, wurde Syb(1-116) in BS3 inkubiert und anschließend das Protein mit Trypsin in Lösung hydrolysiert. Die Peptide wurden mittels Größenausschlusschromatographie getrennt und die Fraktionen mit quervernetzten Peptidpaaren mittels LC-MS/MS analysiert. Spektren quervernetzter Peptidpaare wurden mit der Datenbanksuchmaschine pLink [139] identifiziert und anschließend manuell validiert. Auf Grund der kleinen Datenbank konnten die Nebenreaktionen von BS3 als zusätzliche Parameter für die Datenbanksuche berücksichtigt werden. Es wurden 23 Quervernetzungen identifiziert (Tabelle A. 5). An elf dieser Quervernetzungen ist mindestens ein Serin- oder Threoninrest beteiligt. Sechs der

Quervernetzungen konnten eindeutig als intermolekulare Interaktion von Syb(1-116) identifiziert werden, da die Peptidsequenzen identisch sind oder überlappen und somit von zwei Kopien von Syb(1-116) stammen müssen. In Abbildung A. 6 ist ein validiertes Spektrum einer intermolekularen Quervernetzung zwischen zwei identischen Peptiden von Syb(1-116) dargestellt. Die Masse des Vorläuferions entspricht der doppelten Masse des Peptids VNVD⁵²KVLER und der Masse des Spacers von BS3. Die Position der Quervernetzung zwischen K52 und K52 kann durch eine vollständige Y-Ionenserie, sowie mehrere B-Ionen und A-Ionen zugeordnet werden. Somit konnten Homooligomere von Syb(1-116) mit Hilfe der chemischen Quervernetzung und MS eindeutig nachgewiesen werden.

Die validierten Quervernetzungen sind in Abbildung 37 in einem Interaktionsnetzwerk dargestellt. Sechs Interaktionen wurden eindeutig als intermolekulare Quervernetzungen identifiziert. Liegt keine überlappende Aminosäuresequenz vor, so kann nicht zwischen intra- und intermolekularen Interaktionen unterschieden werden. Daher wurden Quervernetzungen ohne überlappende Sequenz als intramolekulare Interaktionen erfasst, auch wenn es sich um intermolekulare Interaktionen handeln könnte. Die identifizierten Interaktionen liegen überwiegend innerhalb des SNARE-Motivs oder zwischen dem SNARE-Motiv und dem N-Terminus. Es konnten keine Interaktionen mit der Transmembranhelix oder dem C-Terminus (Serin 115 oder Threonin 116) nachgewiesen werden.

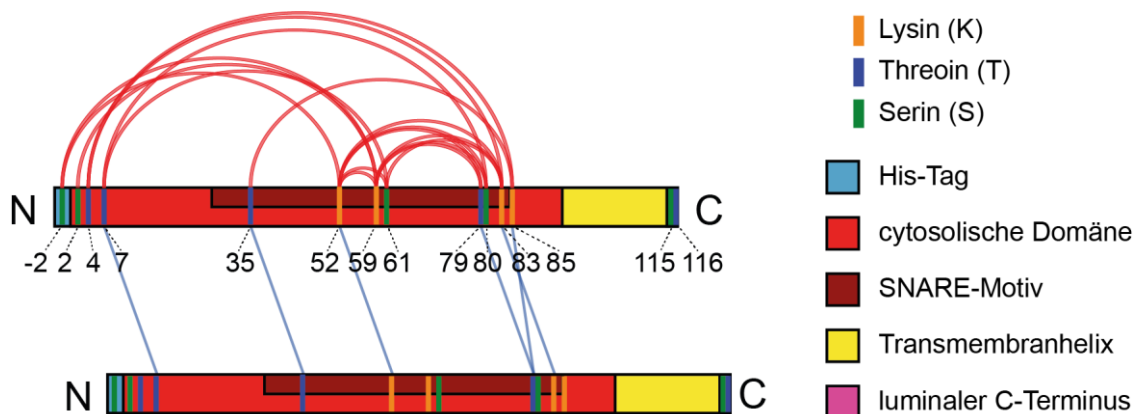


Abbildung 37: Interaktionsnetzwerk der Volllängevariante Syb(1-116).

Interaktionsnetzwerk von 114 μ M Syb(1-116) in 417 μ M BS3. Intramolekulare Quervernetzungen (rot) und intermolekulare Quervernetzungen (blau) sind mit den interagierenden Aminosäureresten dargestellt. Die Balkenlänge ist proportional zur Proteinlänge. Quervernetzte Lysin- (orangefarben), Threonin- (blau) und Serinreste (grün) sind hervorgehoben.

5.4.3 Oligomerisierung von Synaptobrevin-2-Liposomen

Vorangehende Studien zeigten, dass die Oligomerisierung von Synaptobrevin-2 von der Transmembranhelix ausgeht [38–41]. Um den Einfluss der Lipide auf die Oligomerisierung von Syb(1-116) zu analysieren, wurden aus Syb(1-116) und Lipiden, Proteoliposomen rekonstituiert. Als Lipidzusammensetzung wurde eine Mischung aus DOPC:DOPE:DOPS:Cholesterin in einem Verhältnis von 5:2:2:1 verwendet. Diese Zusammensetzung wurde bereits in anderen Studien verwendet um SNARE-Proteine sowie die Funktion von SNARE-Proteinen zu untersuchen [179] und entspricht der Lipidzusammensetzung synaptischer Vesikel [21]. Als Nachweis, dass die Rekonstitution erfolgreich war und kein freies Protein mehr vorliegt, wurde eine Dichtegradientenzentrifugation durchgeführt. Syb(1-116) konnte lediglich in der oberen Fraktion des Saccharosegradienten, welcher eine geringe Dichte aufweist, nachgewiesen werden. Die untere Fraktion mit hoher Dichte wies kein freies Syb(1-116) auf. Syb(1-116) wurde somit vollständig inkorporiert.¹⁴ Die Größenverteilung der Proteoliposomen wurde mittels DLS analysiert. Die Proteoliposomen wiesen eine homogene Population mit einem durchschnittlichen hydrodynamischen Durchmesser von ca. 24 nm auf. Nach erfolgreicher Rekonstitution des Syb(1-116) wurden die Proteoliposomen in BS3 inkubiert. Um das Oligomerisierungsverhalten zu analysieren, wurde mit den quervernetzten Proteinen eine SDS-Page durchgeführt. Die Gele wurden mit Coomassie eingefärbt sowie ein Western Blot durchgeführt (Abbildung 38). Sowohl im Coomassie-gefärbten Gel als auch im sensitiveren Western Blot wurden nur Banden des Monomers nachgewiesen. Für beide BS3-Konzentrationen befinden sich auf Höhe des Monomers (ca. 14 kDa) zwei Banden, während die Vergleichsprobe nur eine Bande aufweist. Die zwei Banden sind ein Hinweis darauf, dass sich durch die intramolekularen Quervernetzungen zwei unterschiedliche Konformationen von Syb(1-116) in Liposomen ausgebildet haben, welche mittels SDS-PAGE separiert werden konnten. Durch das Quervernetzen von Syb(1-116) in Liposomen wurde gezeigt, dass das Protein in Liposomen überwiegend als Monomer vorliegt und sich wahrscheinlich in der Lipiddoppelschicht verteilt. Die Vollängenvariante neigte nicht dazu Cluster aus Homooligomeren in Liposomen auszubilden. Dieses Ergebnis stimmt mit einer Studie überein, welche zeigt, dass Synaptobrevin-2 keine größeren Homooligomere in Liposomen mit ähnlicher Zusammensetzung (PC:PE:PS:Phosphatidylinositol:Cholesterin 5:2:1:1:1) ausbildet [180].

¹⁴ Die Herstellung der Proteoliposomen, die Dichtegradientenzentrifugation sowie die DLS-Messung erfolgte durch Dr. Caroline Haupt, AG Jun.-Prof. Dr. Carla Schmidt.

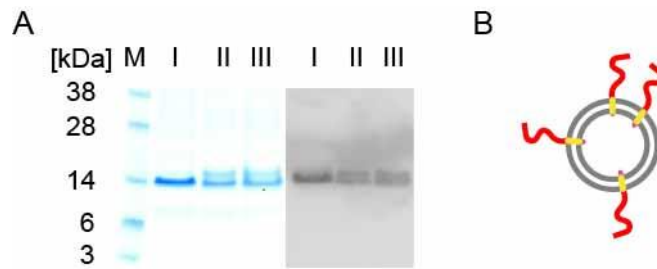


Abbildung 38: Quervernetzung von Syb(1-116)-Liposomen.

(A) Quervernetzung von Syb(1-116) Liposomen: 14 μM Syb(1-116) rekonstituiert in Proteoliposomen (I) wurde quervernetzt in 140 μM BS3 (II) und 280 μM BS3 (III). Coomassie-gefärbtes Gel (links) und Western Blot (rechts; Primärantikörper: anti-Synaptobrevin-2-Klon 69.1). Für die quervernetzten Proteoliposomen wurden zwei Banden und somit zwei unterschiedliche Konformationen bei ca. 14 kDa, der Masse des Monomers, erzielt. (B) Schematische Darstellung eines Syb(1-116)-Liposoms.

5.4.4 Oligomerisierung von Syb(1-96)

Um weitere Aufschlüsse über das Oligomerisierungsverhalten von Synaptobrevin-2 zu gewinnen, wurde die Synaptobrevin-2-Variante Syb(1-96) untersucht. Syb(1-96) fehlt die Transmembranhelix. Somit wurde mit Hilfe der nativen Massenspektrometrie und der chemischen Quervernetzung der Einfluss der Transmembranhelix auf das Oligomerisierungsverhalten analysiert.

Hierfür wurden zunächst 10 μM Syb(1-96) wie beschrieben in Transferpuffer überführt und Spektren mit Hilfe der nativen MS aufgenommen. Die Signale wurden wieder mit Hilfe der Software *Massign* [149] einer Masse zugeordnet. Die aufgenommenen Spektren sind in Abbildung 39 dargestellt. Bei einer Konzentration von 10 μM weist das Spektrum eine dominante Signalserie entsprechend der Masse des Monomers von Syb(1-96) mit 10.804 Da auf. Zudem wurde eine zweite Signalserie identifiziert, entsprechend der Masse des Dimers von Syb(1-96). Um die Intensität des Dimersignals zu erhöhen, sowie die Signalintensitäten von potentiell höheren Oligomeren zu erhöhen, wurde Syb(1-96) höhere Konzentrationen von 100 μM und 1 mM analysiert. Bei einer Konzentration von 1 mM wurden Signalserien von Oligomeren bis hin zu Pentameren identifiziert. Die Signalserie des Dimers ist die intensivste Serie. Mit steigendem Oligomerisierungsgrad nimmt die Intensität der Signalserien ab. Diese kontinuierliche Abnahme der Syb(1-96)-Oligomersignale spricht für eine additive Oligomerisierung, vergleichbar mit einer Aggregation, und nicht für die Ausbildung von definierten Oligomeren. Tabelle 3 enthält die experimentell ermittelten Massen, die theoretischen Masse sowie die Differenz der beiden Massen. Die experimentell ermittelten Massen liegen im erwarteten Massenbereich.

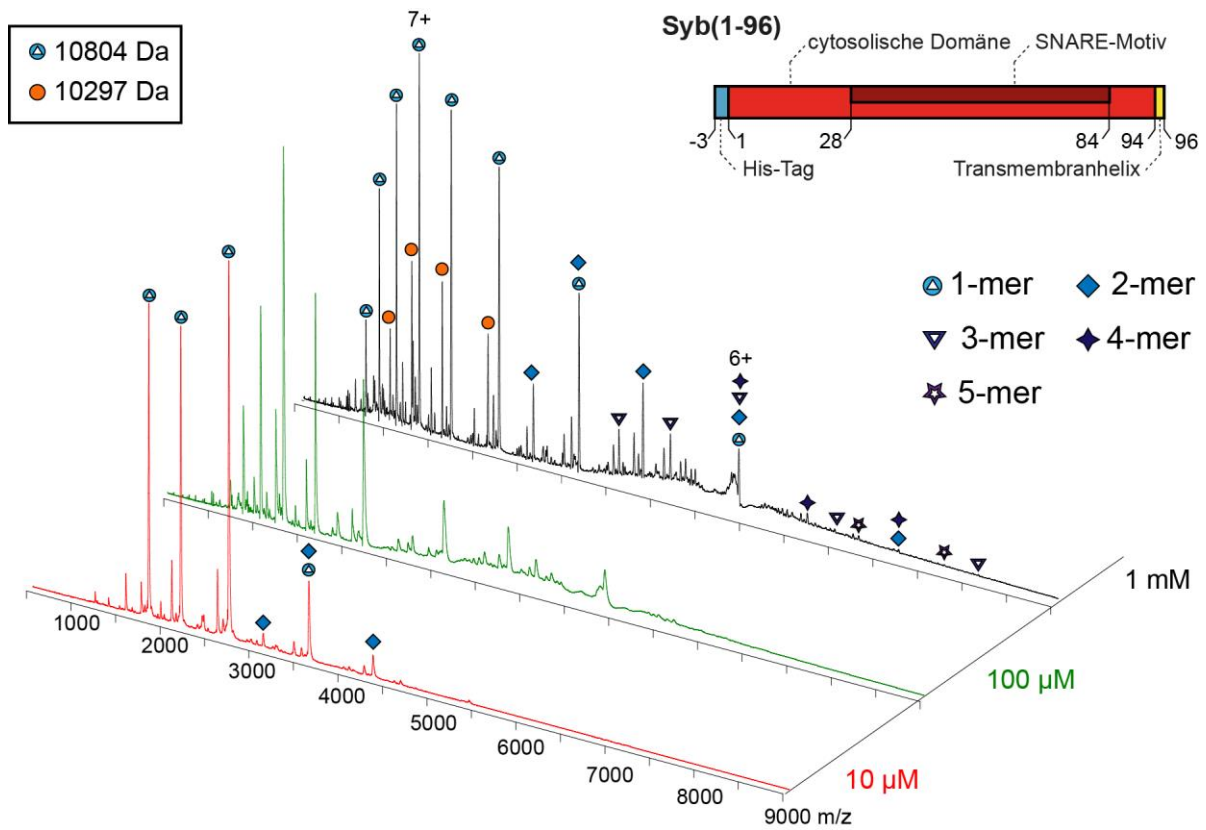


Abbildung 39: Native Massenspektren von Syb(1-96).

Die Spektren von 10 μM (rotes Spektrum), 100 μM (grünes Spektrum) und 1 mM (schwarzes Spektrum) Syb(1-96) sind gegeben. Aus einer 10 μM -Lösung wurde das intakte Syb(1-96)-Monomer (blaue Kreise) und ein Fragment (orangefarbene Kreise), sowie das Dimer (blaue Raute) nachgewiesen. Höhere Konzentrationen weisen höhere Oligomere bis hin zu Pentameren auf (siehe Legende).

Tabelle 3: Massen der nachgewiesenen Syb(1-96) Oligomere.

Für jedes Oligomer ist die experimentell ermittelte Masse (M (exp)), die theoretische Masse (M (theor)) sowie die Massendifferenz (ΔM) gegeben.

Syb(1-96) Oligomer	M (exp) [Da]	M (theor) [Da]	ΔM [Da]
Monomer (1-mer)	10804	10799	5
1-mer Fragment	10297	-	-
Dimer (2-mer)	21604	21598	6
Trimer (3-mer)	32405	32398	7
Tetramer (4-mer)	43209	43197	12
Pentamer (5-mer)	54010	53996	14

Die Oligomerisierung von Syb(1-96) wurde zudem mittels Quervernetzung nachgewiesen. Unterschiedliche Syb(1-96)-Konzentrationen wurden mit unterschiedlichen BS3-Konzentrationen quervernetzt. Nach der SDS-PAGE wurden die Gele entweder mit Coomassie eingefärbt oder ein

Western Blot durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 40 dargestellt. Bei höheren BS3 Konzentrationen von 200 μM konnten im Coomassie-gefärbten Gel Oligomere bis hin zu Hexameren nachgewiesen werden. Beim sensitiveren Western Blot reichten Konzentration von 10 μM Syb(1-96) um Oligomere bis hin zu Hexameren nachzuweisen. Die quervernetzten Proteine wurden im Gel proteolytisch hydrolysiert und die gewonnenen Peptide mittels LC-MS/MS analysiert. Anschließend wurden die Spektren der quervernetzten Peptide mit der Datenbanksuchmaschine pLink [139] identifiziert und die Annotation manuell validiert. Die Ergebnisse sind in Abbildung 40C in einem Netzwerkdiagramm dargestellt. Es wurden 43 Quervernetzungen zwischen Lysin-, Serin- und Threoninresten nachgewiesen, wobei es sich bei 16 der Quervernetzungen um intermolekulare Interaktionen handelt.

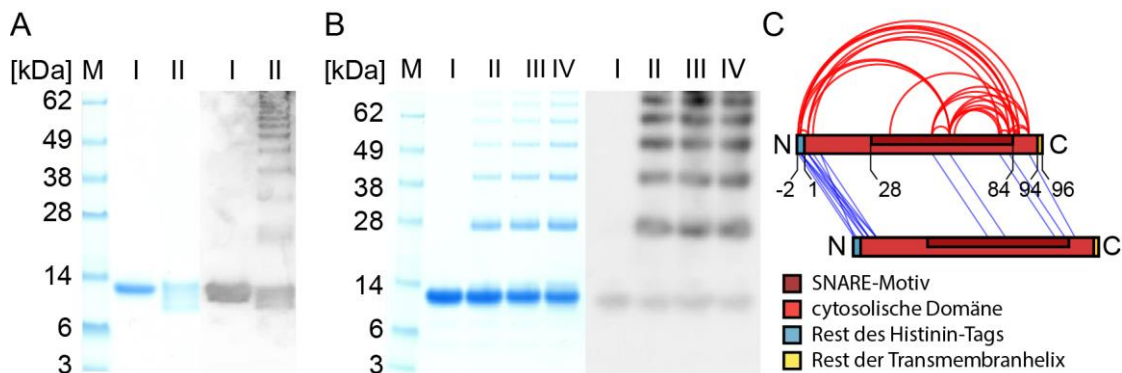


Abbildung 40: Proteininteraktionen von Syb(1-96).

(A) Coomassie-gefärbtes Gel (links) und Western Blot (rechts; Primärantikörper: anti-VAMP1/2/3). 10 μM Syb(1-96) (I) wurde quervernetzt in 200 μM BS3 (II). (B) Coomassie-gefärbtes Gel (links) und Western Blot (rechts; Primärantikörper: anti-VAMP1/2/3). 200 μM Syb(1-96) (I) wurde quervernetzt in 180 μM BS3 (II), in 250 μM BS3 (III) und in 350 μM BS3 (IV). (C) Interaktionsnetzwerk von Syb(1-96). Intramolekulare Quervernetzungen (rot) und intermolekulare Quervernetzungen (blau) sind dargestellt.

Die Anzahl an intermolekularen Quervernetzungen von Syb(1-96) ist im Vergleich zu Syb(1-116) höher. Die Verteilung der Quervernetzungspositionen ist mit den Positionen in Syb(1-116) vergleichbar. Die fehlende Transmembranhelix hat keinen Einfluss auf die Position der Quervernetzungen. Die nativen Massenspektren und die Quervernetzungsexperimente zeigen, dass Syb(1-96) stärker oligomerisiert als Syb(1-116).

5.4.5 Oligomerisierung von Syb(49-96)

Um den Einfluss der unterschiedlichen Proteinsegmente von Synaptobrevin-2 auf das Oligomerisierungsverhalten zu analysieren, wurde als nächstes Syb(49-96) untersucht. Syb(49-96) beinhaltet die C-terminale Hälfte des SNARE-Motivs sowie die Juxtamembrandomäne. Untersuchungen

von Synaptobrevin-2 und der cytosolischen Domäne von Synaptobrevin-2 zeigten, dass es im nativen Zustand ungeordnet vorliegt aber in der Gegenwart von Dodecylphosphocholinmizellen helikale Segmente ausbildet (Aminosäuren 36-54 und 77-88) [36]. Diese Segmente sind teilweise in Syb(49-96) enthalten. Zusätzlich fehlt Syb(49-96) die „coiled coil trigger site“ (Reste: 42-48), welche für die Ausbildung des SNARE-Komplexes essentiell ist [181]. Syb(49-96) ist somit eine Variante von Synaptobrevin-2, welche einen Teil wichtiger Struktursegmente aufweist, andere Segmente fehlen jedoch. Das Oligomerisierungsverhalten von Syb(49-96) kann somit Aufschluss über den Einfluss der Struktursegmente auf das Oligomerisierungsverhalten von Synaptobrevin-2 geben.

Das Oligomerisierungsverhalten von Syb(49-96) wurde analog zu Syb(1-116) und von Syb(1-96) mittels nativer Massenspektrometrie und Quervernetzung untersucht. Abbildung 41 zeigt die nativen Massenspektren für 10 μM , 30 μM , 100 μM , 300 μM , 1 mM und 3 mM Syb(49-96). Mit steigender Konzentration konnten höhere Oligomere nachgewiesen werden. Bei einer Konzentration von 3 mM Syb(49-96) wurden im m/z -Bereich von 4000 bis 6000 Signalserien für Oligomere bis hin zu Dodecameren zugeordnet. Das Signal bei ca. 6000 m/z entspricht der Masse von Syb(49-96). Somit ist es für jedes Oligomer Bestandteil der Signalserie. Auch andere Signale, wie z.B. die Signale bei 3000 m/z oder 4000 m/z entsprechen den Ladungszuständen von mehr als einem Oligomer. Das Signal bei ca. 4500 m/z entspricht beispielsweise einem Ladungszustand von 4+ für das Trimer, 8+ für das Hexamer, 12+ für das Nonamer und 16+ für das Dodecamer. Es konnte kein definiertes Oligomer nachgewiesen werden. Dies wäre der Fall, wenn Syb(49-96) beispielsweise ausschließlich als Tetramer vorliegt. Diese Art der Oligomerisierung und das entsprechende Spektrum ist typisch für eine additive Oligomerisierung. Im Vergleich zu Syb(1-96) weist Syb(49-96) einen höheren Oligomerisierungsgrad auf. Tabelle 4 enthält die mit der Hilfe der Software *Massign* [149] ermittelten Massen. Die experimentell ermittelten Massen liegen wie zu erwarten etwas höher als die theoretischen Massen.

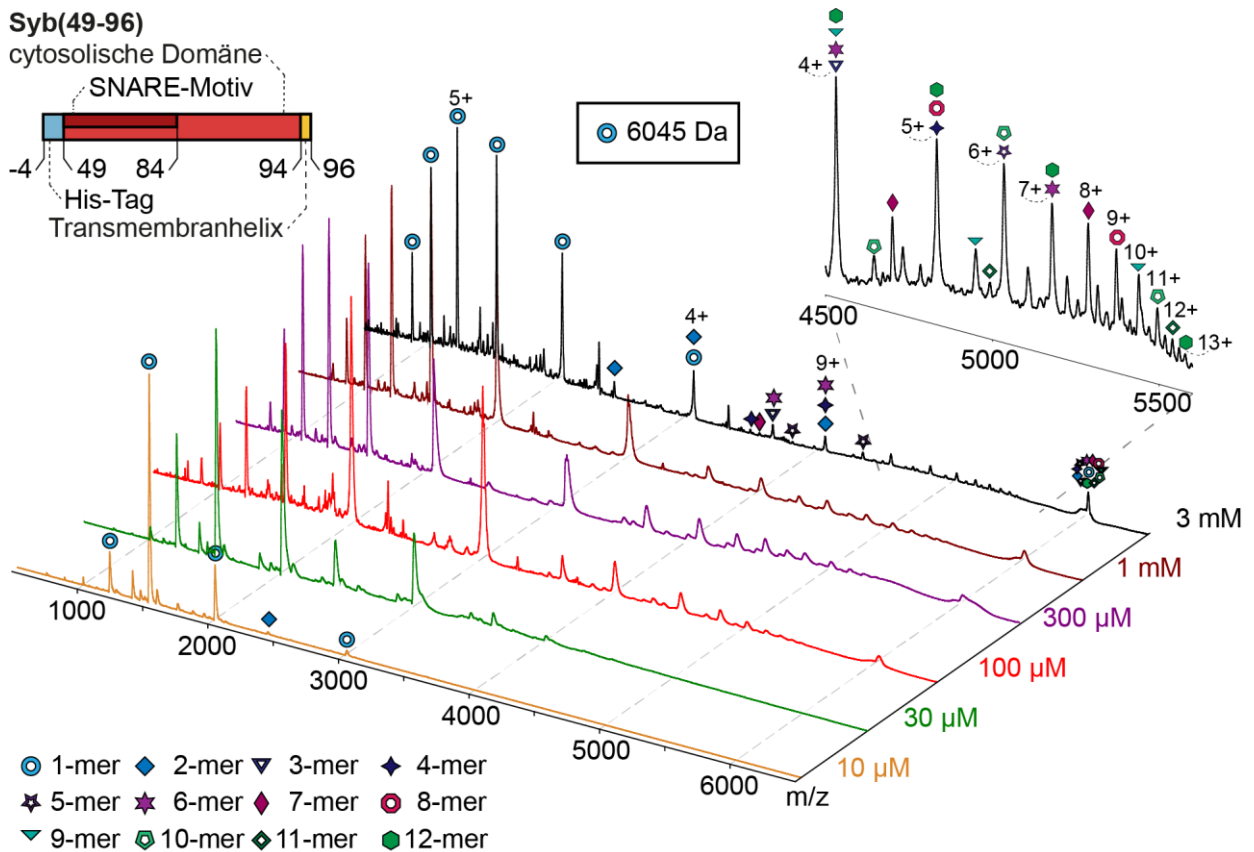


Abbildung 41: Native Massenspektren von Syb(49-96).

Die Massenspektren für 10 µM (gelb), 30 µM (grün), 100 µM (violett), 1 mM (dunkelrot) und 3 mM (schwarz) Syb(49-96) sind gezeigt. Aus einer 10 µM-Lösung wurden das Monomer von intaktem Syb(49-96) (blaue Kreise, 6045 Da) und das Dimer (blaue Raute) nachgewiesen. Höhere Konzentrationen an Syb(49-96) führten zu Signalen höherer Oligomere (siehe Legende).

Tabelle 4: Massen der nachgewiesenen Syb(49-96) Oligomere.

Für jedes Oligomer ist die experimentell ermittelte Masse ($M(\text{exp})$), die theoretische Masse ($M(\text{theor})$) sowie die Massendifferenz (ΔM) gegeben.

Syb(49-96) Oligomer	M (exp) [Da]	M (theor) [Da]	ΔM [Da]
Monomer (1-mer)	6045	6040	5
1-mer Fragment	5540	-	-
Dimer(2-mer)	12083	12080	3
Trimer (3-mer)	18137	18120	17
Tetramer (4-mer)	24174	24160	14
Pentamer (5-mer)	30213	30200	13
Hexamer (6-mer)	36282	36239	43
Heptamer (7-mer)	42303	42279	24
Octamer (8-mer)	48348	48319	29
Nonamer (9-mer)	54395	54359	36
Decamer (10-mer)	60447	60399	48
Undecamer (11-mer)	66478	66439	39
Dodecamer (12-mer)	72514	72479	35

Wie bereits Syb(1-116) und Syb(1-96) wurde auch Syb(49-96) mit BS3 quervernetzt. Die quervernetzten Proteine wurde mittels Gelelektrophorese getrennt. Die erhaltenen Gele wurden entweder mit Coomassie eingefärbt oder es wurde ein Western Blot durchgeführt. In Abbildung 42A und B sind die Ergebnisse abgebildet. Anhand der Western Blots konnten bereits bei einer Proteinkonzentration von 10 μM Oligomere bis hin zu Decameren nachgewiesen werden (Abbildung 42A). Bei einer Konzentration von 650 μM konnten auch im Coomassie-gefärbten Gel Oligomere bis hin zu Decameren nachgewiesen werden (Abbildung 42B). Die quervernetzten Proteine aus dem Coomassie-gefärbten Gel wurden wie beschrieben analysiert. In Abbildung 42C sind die Ergebnisse in einem Interaktionsnetzwerk dargestellt. Es konnten 33 Quervernetzungen nachgewiesen werden. Davon befinden sich fünf Quervernetzungen zwischen Serin oder Threoninresten. 17 von 33 Quervernetzungen entsprechen intermolekularen Interaktionen. Die Anzahl an Quervernetzungen ist mit 33 für Syb(49-96) im Verhältnis zur Proteinelänge nochmal höher als für Syb(1-96) mit 43 Quervernetzungen und Syb(1-116) mit 23 Quervernetzungen. Für jeden Lysin-, Serin- oder Threoninrest von Syb(49-96) konnte eine Quervernetzung nachgewiesen werden.

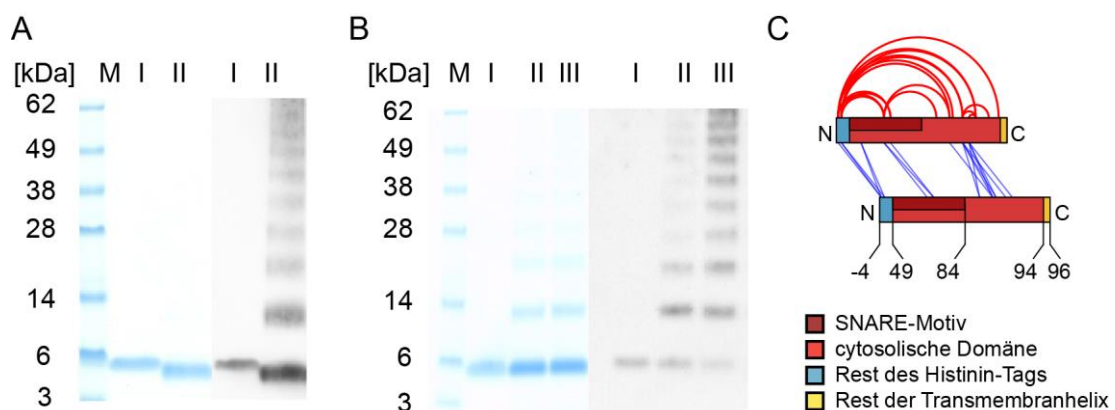


Abbildung 42: Proteininteraktionen von Syb(49-96).

(A) Coomassie-gefärbtes Gel (links) und Western Blot (rechts; Primärantikörper: anti-VAMP1/2/3). 10 μM Syb(49-96) (I) wurde quervernetzt in 200 μM BS3 (II). (B) Coomassie-gefärbtes Gel (links) und Western Blot (rechts; Primärantikörper: anti-VAMP1/2/3) von 650 μM Syb(49-96) (I) in 180 μM BS3 (II) und in 250 μM BS3 (III). (C) Interaktionsnetzwerk von Syb(49-96). Intramolekulare Quervernetzungen (rot) und intermolekulare Quervernetzungen (blau) sind dargestellt.

5.4.6 Ionenmobilitätsmessungen von Syb(49-96)¹⁵

Die Anwesenheit der zuvor identifizierten Oligomere von Syb(49-96) im Vergleich zur cytosolischen Domäne von Synaptobrevin-2 (Syb(1-96)) oder der Vollängenvariante (Syb(1-116)) sind ein Hinweis für eine ausgeprägte Neigung zur Oligomerisierung oder Aggregation von diesem bestimmten Proteinabschnitt. Ein Grund für diese ausgeprägte Neigung könnte die intrinsisch ungeordnete Struktur von Syb(49-96) sein. Um dies weiter zu untersuchen wurde Syb(49-96) mittels IM-MS analysiert. Hierfür wurde Syb(49-96) mittels Größenausschlusschromatographie in Transferpuffer überführt und an einem speziell konstruierten Ionenmobilitäts-Massenspektrometer [150] analysiert. Abbildung A. 6 zeigt das erzielte Spektrum. Es wurden Signalserien detektiert, welche den Ladungszuständen des Monomers und Dimers entsprechen, sowie ein Signal welches dem Trimer entspricht. Abbildung A. 7 zeigt die Verteilung der Ankunftszeit (ATD) der verschiedenen Spezies. Die ATD entspricht der jeweiligen Verweildauer in der Driftzelle. Je größer der Kollisionsquerschnitt, desto länger die Verweildauer in der Driftzelle. Alle Spezies weisen einen breiten Kurvenverlauf der ATD auf, was zeigt, dass die einzelnen Spezies eine polymorphe Gestalt besitzen und jede Spezies mehr als eine Konformation besitzt. Während für das dreifachgeladene Monomer $n/z = 1/3$ eine schmalere Kurvenverlauf der ATD ermittelt wurde und somit eine Konformation, wurden für die höher geladenen Monomere (3+ bis 7+) ATDs für bis zu vier Konformationen ermittelt. Für das Dimer konnten ATDs für bis zu zwei Konformationen (6+ und 7+) und für das Trimer eine Konformation ermittelt werden. Für jede Spezies wurde der Kollisionsquerschnitt berechnet. Abbildung 43 zeigt die experimentell ermittelten Kollisionsquerschnitte aufgetragen gegen die Anzahl an Untereinheiten. Die in die Abbildung eingefügte Kurve entspricht einem theoretischen isotropen Wachstum für eine idealisierte sphärische Anordnung [182] mit der Gleichung $\Omega = \sigma^{-1} \cdot n^{2/3}$, wobei Ω dem Kollisionsquerschnitt, σ^{-1} dem Kollisionsquerschnitt des Monomers und n der Anzahl an Untereinheiten entspricht. Spezies, bei welchen die Messwerte auf der isotropen Wachstumskurve liegen, sind sehr wahrscheinlich unstrukturiert, globulär und kompakt. Bei Messwerten außerhalb der isotropen Wachstumskurve handelt es sich um ausgedehntere Konformationen welche partiell strukturiert (reich an Helices oder β -Faltblättern) sein könnten. Eine ausgedehntere Konformation, welche nicht einem isotropen Wachstum entspricht, kann jedoch auch aus Coulomb-induzierter Entfaltung resultieren. Die Messwerte der Syb(49-96) Oligomere mit niedrigen Ladungszuständen liegen annähernd auf der theoretischen isotropen Wachstumskurve. Das spricht für

¹⁵ Die IM-MS Messungen und Auswertungen wurden von Waldemar Hoffmann, AG Prof. Dr. Kevin Pagel, Institut für Chemie und Biochemie, Freie Universität Berlin, durchgeführt.

eine unstrukturierte, kugelförmige Konformation mit geringer Oberfläche. Das Abweichen der Messwerte der höhergeladenen Spezies mit deutlich größerem Kollisionsquerschnitt spricht für ausgedehntere Konformationen. Diese ausgedehnteren Konformationen von Syb(49-96) gehen jedoch wahrscheinlicher auf Coulomb-induzierte Entfaltung durch die hohe Ladungsdichte zurück als auf höhere CCS durch Strukturelemente innerhalb des Monomers bzw. der Oligomere. Zusammenfassend konnten mittels IM-MS verschiedene Konformationen für die unterschiedlichen Ladungszustände des Monomers und Dimers sowie für einen Ladungszustand des Trimers nachgewiesen werden. Der Kollisionsquerschnitt der verschiedenen Konformationen spricht für eine intrinsisch ungeordnete, kugelförmige Konformation, welche sich mit hohen Ladungszuständen entfaltet.

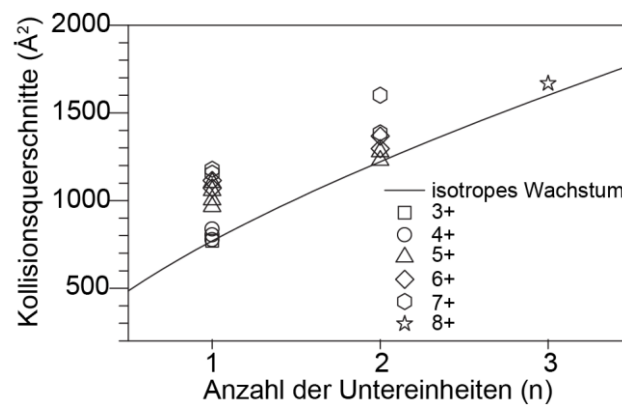


Abbildung 43: Ergebnisse der IM-MS von Syb(49-96).

Kollisionsquerschnitt aufgetragen gegen die Anzahl an Untereinheiten (n) für die unterschiedlichen Ladungszustände (3+ bis 8+) des Monomers, Dimers und Trimers (siehe Legende). Die Messwerte liegen auf einer isotropen Wachstumskurve, typisch für intrinsisch ungeordnete Proteine.

5.5 Synaptobrevin-2 in seiner natürlichen Umgebung^{1,6}

Die vorangegangenen Untersuchungen zeigten, dass Synaptobrevin-2 eine zentrale Rolle innerhalb des Proteininteraktionsnetzwerkes synaptischer Vesikel spielt. Hierfür gibt es zwei mögliche Gründe. Einerseits kann es sich um spezifische Interaktionen, andererseits um unspezifische Interaktionen handeln. Handelt es sich um spezifische Interaktionen, erklärt es die hohe Anzahl an Synaptobrevin-2-Kopien je synaptischem Vesikel. Handelt es sich um unspezifische Interaktionen kann es sich um zufällige Kontakte handeln, welche durch die große Strukturflexibilität von Synaptobrevin-2 zustande

kommen. Die Ergebnisse in Kapitel 5.4 zeigen, dass Synaptobrevin-2 zu unspezifischen Interaktionen mit sich selbst neigt [183]. Auch andere Studien weisen auf unspezifische Proteinkontakte, hervorgerufen durch die hohe Flexibilität, hin [36; 37]. Um herauszufinden, ob es sich um spezifische oder unspezifische Interaktionen handelt, wurden drei unterschiedliche Experimente durchgeführt. I) Durch Inkubation der synaptischen Vesikel mit BoNT B wurde der Großteil der cytosolischen Domäne von Synaptobrevin-2 (Aminosäuren 1 bis 76) abgespalten. II) Durch Inkubation der synaptischen Vesikel mit dem löslichen Δ N-SNARE-Komplex wurde Synaptobrevin-2 im SNARE-Komplex gebunden. III) Durch Fusionierung der synaptischen Vesikel mit Liposomen wurde die Oberfläche der Membran vergrößert und die Dichte der Proteine verringert. Anschließend wurde der Einfluss der drei Versuchsbedingungen auf die Interaktionen der Proteine synaptischer Vesikel mittels chemischer Quervernetzung in Kombination mit MS untersucht.

5.5.1 Proteininteraktionen synaptischer Vesikel in der Abwesenheit von Synaptobrevin-2

Die Identifizierung der Proteininteraktionen erfolgte analog zur Identifikation der Proteininteraktionen unbehandelter synaptischer Vesikel (5.3.1). Für dieses Experiment wurden zunächst synaptische Vesikel mit BoNT B inkubiert. Als Kontrolle der vollständigen Spaltung wurde analog zum BoNT B-Assay (5.1.3) ein Western Blot durchgeführt (Abbildung 44). Nach der Inkubation mit BoNT B wurde in den drei Replikaten kein intaktes Synaptobrevin-2 mehr nachgewiesen.

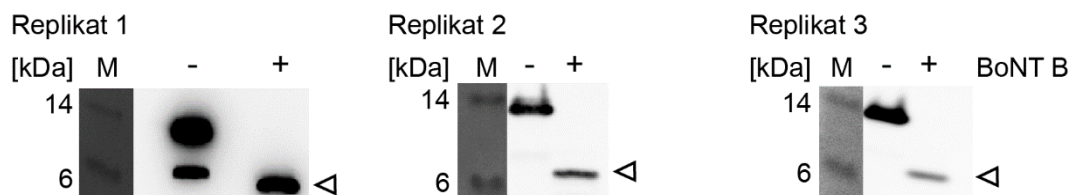


Abbildung 44: Western Blots synaptischer Vesikel vor und nach der Spaltung mit BoNT B.

Western Blots zur Überprüfung der vollständigen Spaltung von Synaptobrevin-2 (Primärantikörper: anti-VAMP1/2/3). Die Bande des intakten Synaptobrevin-2 entspricht einem Molekulargewicht von ca. 14 kDa. Nach Spaltung durch BoNT B zwischen den Aminosäureresten Q76 und F77 zeigt sich eine Bande bei ca. 6 kDa (Pfeilspitze), dem Spaltprodukt von Synaptobrevin-2. In allen drei Replikaten konnte kein ungespaltenes Synaptobrevin-2 nachgewiesen werden.

Nach der Spaltung wurden die synaptischen Vesikel in 10 μ M BS3 quervernetzt. Die Analyse der Proteininteraktionen erfolgte analog zu (5.3). Abbildung A. 8 zeigt das Venn-Diagramm der identifizierten Quervernetzungen. Es konnten 216 Quervernetzungen in drei Replikaten identifiziert werden (Tabelle A. 6). Von den 216 Quervernetzungen entsprechen 186 intramolekularen und

30 intermolekularen Proteininteraktionen. 159 der Proteininteraktionen konnten in mindestens zwei von drei Replikaten und 84 der Proteininteraktionen in drei von drei Replikaten nachgewiesen werden. 186 Quervernetzungen sind deutlich weniger als 472 Quervernetzungen welche für die unbehandelten synaptischen Vesikel (5.3) identifiziert wurden. Für die einzelnen Quervernetzungen wurde jedoch eine hohe Anzahl an MS/MS-Spektren gewonnen. Für die 84 Quervernetzungen, welche in allen drei Replikaten nachgewiesen wurden, wurden beispielsweise 1579 MS/MS-Spektren erzielt. Die große Anzahl an MS/MS-Spektren zeigt, dass eine geringere Anzahl an individuellen Quervernetzungen nicht an einer mangelhaften LC-MS/MS-Analyse liegen, sondern die Proteininteraktionen unter diesen Bedingungen in der Summe deutlich zurückgegangen sind.

Abbildung 45 zeigt ein Netzwerkdiagramm der intermolekularen Proteininteraktionen synaptischer Vesikel welche die cytosolische Domäne von Synaptobrevin-2 nicht mehr aufweisen. Die meisten der identifizierten Quervernetzungen sind intramolekulare Interaktionen von Proteinkontaminationen und nicht von Proteinen synaptischer Vesikel. Dass die Methode geeignet ist, um Interaktionen von mit BoNT B behandelten synaptischen Vesikeln nachzuweisen, zeigt das Interaktionsnetzwerk innerhalb des V-ATPase-Komplexes. Dieses ist vergleichbar mit dem Proteininteraktionsnetzwerk der unbehandelten synaptischen Vesikel (5.3). Nach der Spaltung von Synaptobrevin-2 mit BoNT B konnten Interaktionen von Synaptogyrin-1, Synaptobrevin-2, CSP, SV2A und SV2B, Synaptophysin sowie des V-ATPase-Komplexes nachgewiesen werden. Es wurden lediglich zwei Interaktionen zwischen Synaptobrevin-2 und einem anderen Protein synaptischer Vesikel (CSP und SV2A) nachgewiesen. Innerhalb des AP2-Komplexes wurden 13 intramolekulare Quervernetzungen und eine intermolekulare Quervernetzung nachgewiesen. Die Interaktionen zwischen dem AP2-Komplex und Proteinen unbehandelter synaptischer Vesikel wurden bei den mit BoNT B behandelten synaptischen Vesikeln nicht mehr nachgewiesen. Andere Proteininteraktionen, welche bereits bei unbehandelten synaptischen Vesikeln nachgewiesen wurden, wurden auch hier nachgewiesen. Darunter wurden auch die Interaktionen von Synaptophysin mit V-ATPase-a, SV2A oder Synaptogyrin-1 nachgewiesen. In zwei Replikaten konnte ein CSP-Homomer nachgewiesen werden. Während die meisten Proteininteraktionen synaptischer Vesikel nach der Behandlung mit BoNT B nicht mehr vorhanden sind, sind diese Proteininteraktionen jedoch weiter nachweisbar.

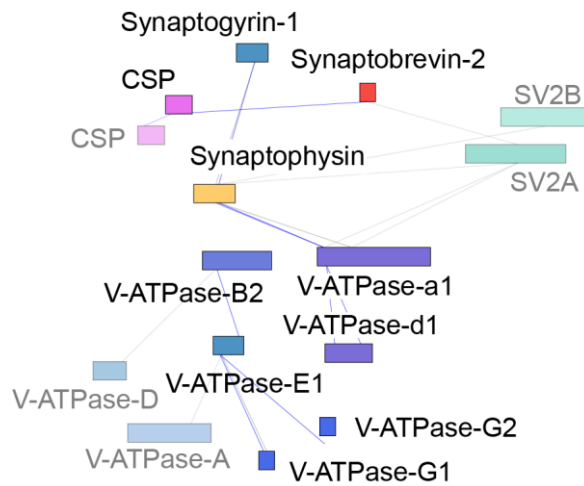


Abbildung 45: Interaktionsnetzwerk von synaptischen Vesikeln nach Spaltung von Synaptobrevin-2 mittels BoNT B.

Die Länge der Balken ist proportional zur Länge der Proteine. Der N-Terminus befindet sich jeweils am linken Ende des Balkens und der C-Terminus am rechten Ende. Intermolekulare Quervernetzungen aus einem Replikate (grau) oder aus mindestens zwei Replikaten (blau) sind abgebildet. Proteine, mit welchen nur in einem Replikate Interaktionen nachgewiesen wurden, sind transparent hinterlegt.

5.5.2 Fixierung von Synaptobrevin-2 synaptischer Vesikel im SNARE-Komplex

Der lösliche Δ N-SNARE-Komplex besteht aus dem SNARE-Motiv von Syntaxin-1A (Stx1A(188-259)) und SNAP-25 (SNAP25(1-206)) sowie einer kurzen Variante von Synaptobrevin-2 (Syb(49-96)) [184]. Als nächstes wurden synaptische Vesikel mit einem Überschuss des löslichen Δ N-SNARE-Komplexes inkubiert (4.2.1.8). In Abbildung 46 ist die Bindung des löslichen Δ N-SNARE-Komplexes an Synaptobrevin-2 schematisch dargestellt. Synaptobrevin-2 der synaptischen Vesikel verdrängt die kurze Synaptobrevin-2-Variante (Syb(49-96)) und bildet den SNARE-Komplex aus. Synaptobrevin-2 wird durch die Ausbildung des SNARE-Komplexes in seiner Konformation, entsprechend der kurz vor der Fusion synaptischer Vesikel vorliegenden Konformation, fixiert [87; 185; 30].

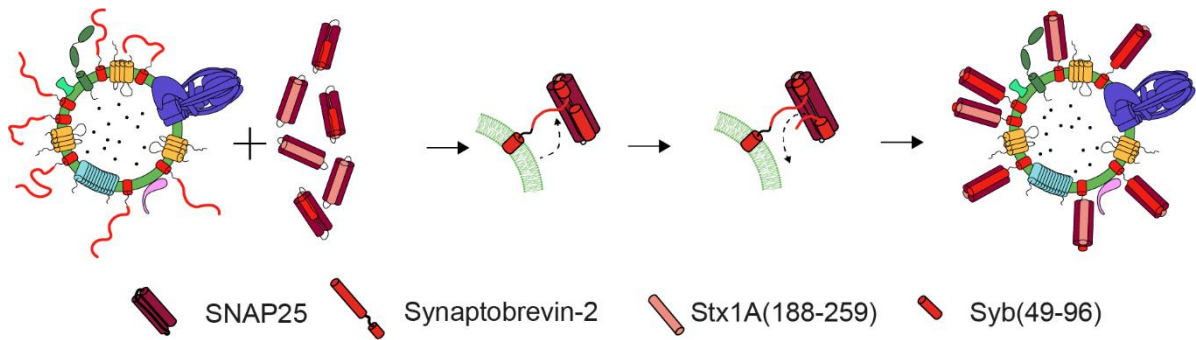


Abbildung 46: Schematische Darstellung der Bindung des löslichen Δ N-SNARE-Komplexes an Synaptobrevin-2 synaptischer Vesikel.

Synaptobrevin-2 der synaptischen Vesikel interagiert mit dem löslichen Δ N-SNARE-Komplex und bildet ein Vier-Helices-Bündel, den SNARE-Komplex, aus. Die kurze Synaptobrevin-2-Variante (Syb(49-96)) wird verdrängt.

Synaptobrevin-2 kann nicht von BoNT B gespalten werden, wenn es im SNARE-Komplex zusammengelagert ist. Läge nach Inkubation mit dem löslichen Δ N-SNARE-Komplex ungebundenes Synaptobrevin-2 vor, würde es von BoNT B geschnitten werden. Die Spaltung von Synaptobrevin-2 mit BoNT B kann durch die Anfertigung von Western Blots überprüft werden (Abbildung 47) und somit die quantitative Bindung des löslichen Δ N-SNARE-Komplexes an synaptische Vesikel überprüft werden. Für den Kontrollversuch anhand der Western Blots wurden synaptische Vesikel zunächst mit dem löslichen Δ N-SNARE-Komplex inkubiert und im Anschluss mit BoNT B versetzt. Synaptobrevin-2 der Kontrollprobe (unbehandelte synaptische Vesikel) wurde vollständig von BoNT B gespalten (Abbildung 47). Nach Ausbildung des SNARE-Komplexes und anschließender Inkubation mit BoNT B kann anhand der Western Blots kein Spaltungsprodukt von Synaptobrevin-2 nachgewiesen werden. Somit wurde gezeigt, dass Synaptobrevin-2 unter den gewählten Bedingungen vollständig im SNARE-Komplex gebunden ist und kein freies Synaptobrevin-2 mehr vorliegt.

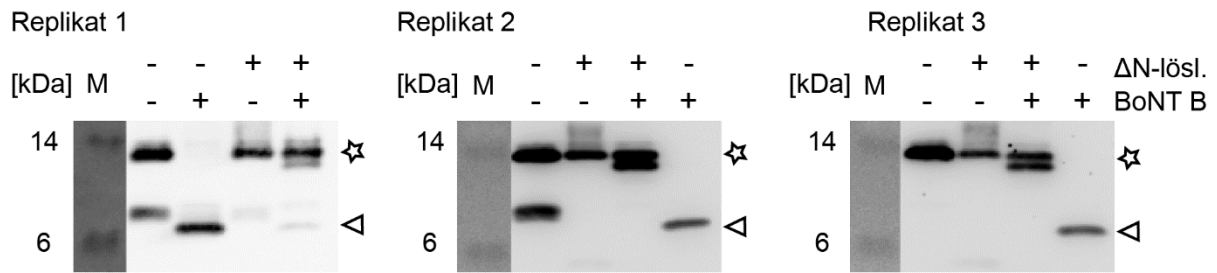


Abbildung 47: Western Blots bestätigen die Zusammenlagerung des gesamten Synaptobrevin-2 der synaptischen Vesikel in SNARE-Komplexen.

Western Blots (Primärantikörper: anti-VAMP1/2/3) synaptischer Vesikel (- Δ N-lösl./ - BoNT B), synaptischer Vesikel inkubiert mit dem löslichen Δ N-SNARE-Komplex (+ Δ N-lösl./ - BoNT B), synaptische Vesikel inkubiert mit BoNT B (- Δ N-lösl./ + BoNT B), sowie synaptische Vesikel erst inkubiert mit dem löslichen Δ N-SNARE-Komplex und anschließend mit BoNT B (+ Δ N-lösl./ + BoNT B). Synaptobrevin-2 bildet den SNARE-Komplex aus und kann nicht mehr durch das BoNT B geschnitten werden (Stern). In der Abwesenheit des löslichen Δ N-SNARE-Komplexes (Δ N-lösl.) wird Synaptobrevin-2 vollständig durch BoNT B geschnitten (Pfeilspitze).

Nachdem nachgewiesen wurde, dass Synaptobrevin-2 unter den gewählten Bedingungen im SNARE-Komplex zusammengelagert ist und kein freies Synaptobrevin-2 mehr vorliegt, wurden die Proben in 10 μ M BS3 quervernetzt. Die Identifizierung der Quervernetzungen erfolgte wie beschrieben (5.3). Durch die Zugabe des Δ N-SNARE-Komplexes beinhaltet die Probe mehr Protein. Der LC-Gradient wurde daher von 90 min auf 180 min verlängert, um die Analysezeit für die Fragmentierung niederabundanter quervernetzter Peptidpaare zu verlängern. Mit dem längeren LC-Gradienten wurden drei Replikate analysiert. In Abbildung A. 11 sind die identifizierten Quervernetzungen in einem Venn-Diagramm dargestellt. Mit der optimierten Methode, wurden 375 Quervernetzungen nachgewiesen (Tabelle A. 7). 235 der 375 Quervernetzungen wurden in zwei von drei Replikaten und 121 Quervernetzungen in drei von drei Replikaten identifiziert. Von den 407 Quervernetzungen entsprechen 206 Quervernetzungen intramolekularen Interaktionen und 147 Quervernetzungen intermolekularen Interaktionen.

In Abbildung 48 ist das Interaktionsnetzwerk der quervernetzten Proteine synaptischer Vesikel die mit dem löslichen Δ N-SNARE-Komplex inkubiert wurden, dargestellt. Die Quervernetzungen wurden überwiegend zwischen den SNARE-Proteinen SNAP-25, Syntaxin-1A und Synaptobrevin-2 nachgewiesen. Die meisten dieser Interaktionen wurden zwischen den C-terminalen Aminosäuren von Synaptobrevin-2 und SNAP-25 sowie Syntaxin-1A nachgewiesen. Diese Interaktionen stammen daher wahrscheinlich aus dem im Überschuss zugegebenen Δ N-SNARE-Komplex. Wieder konnten Proteininteraktionen innerhalb des V-ATPase-Komplexes identifiziert werden, welche mit den

Interaktionen der anderen Versuche vergleichbar sind. Im Vergleich mit dem Interaktionsnetzwerk der unbehandelten synaptischen Vesikel (5.3) nimmt die Anzahl an Proteininteraktionen zwischen Synaptobrevin-2 und anderen Proteinen synaptischer Vesikel ab. Dafür wurden Proteininteraktionen zwischen den SNARE-Proteinen SNAP-25 oder Syntaxin-1A und Proteinen synaptischer Vesikel identifiziert. Herausstechend sind hierbei die Interaktionen zwischen den SNARE-Proteinen und V-ATPase-a oder Synapsin-1. Es wurden auch Interaktionen zwischen Kontaminationen und den SNARE-Proteinen SNAP-25 oder Syntaxin-1A nachgewiesen, wie zuvor für Synaptobrevin-2. Dies spricht dafür, dass Interaktionen, welche bei den unbehandelten synaptischen Vesikeln mit Synaptobrevin-2 stattfanden, unter diesen Versuchsbedingungen mit dem SNARE-Komplex stattfinden. Andere Proteininteraktionen können weiterhin nachgewiesen werden, wie z.B. zwischen Synaptobrevin-2, Synaptophysin und SV2A oder zwischen Synaptobrevin-2 und Synapsin sowie Synaptobrevin-2-Dimere. Es wurden mehrere Interaktionen zwischen Synaptotagmin-1 und den SNARE-Proteinen Synaptobrevin-2, SNAP-25 und Syntaxin-1A nachgewiesen. Bei den unbehandelten synaptischen Vesikeln konnte hingegen nur eine Proteininteraktion zwischen Synaptotagmin-1 und Synaptobrevin-2 nachgewiesen werden. Als SNARE-assoziiertes Protein ist Synaptotagmin-1 Bestandteil der Proteinmaschinerie für die gezielte Fusion synaptischer Vesikel mit der präsynaptischen Membran. Als Calciumsensor ist es für die synchrone Freisetzung der Neurotransmitter bei Eintritt eines Aktionspotentials verantwortlich. Die Bildung des SNARE-Komplexes initiiert ein Prä-Fusions-Stadium. Die Interaktion von Synaptotagmin-1 und dem SNARE-Komplex in diesem Prä-Fusion-Stadium ist bereits beschrieben [186]. Zudem wurden Interaktionen zwischen den SNARE-Proteinen und verschiedenen Rab-Proteinen identifiziert. Bei den unbehandelten synaptischen Vesikeln wurden für Rab1A, Rab3A und Rab39A lediglich intramolekulare Interaktionen nachgewiesen. Die Rab-Proteine sind am Kreislauf synaptischer Vesikel und der Neubildung synaptischer Vesikel beteiligt [98; 187]. Die identifizierten Interaktionen könnten daher auch dem Funktionsstadium nach der Fusion entsprechen. Es konnten keine Interaktionen zwischen dem AP2-Komplex und Synaptobrevin-2 oder dem SNARE-Komplex nachgewiesen werden. Dies unterstützt die These, dass Synaptobrevin-2 als Cargoprotein für den AP2-Komplex dient, welches fixiert im SNARE-Komplex, nicht mehr zur Verfügung stand. Auch die Interaktionen zum Neurotransmittertransporter VGlu1 oder VGlu2 waren nicht mehr nachweisbar.

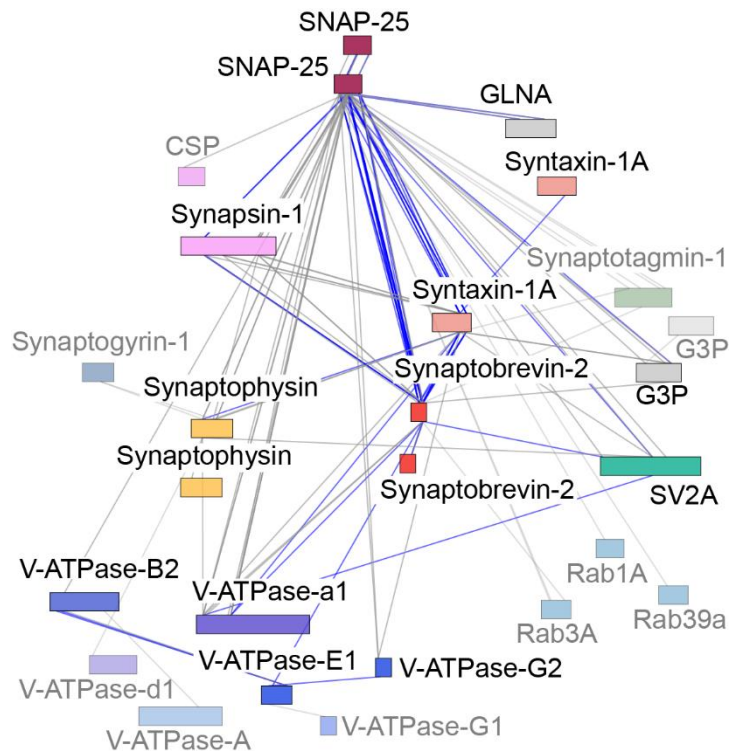


Abbildung 48: Interaktionsnetzwerk synaptischer Vesikel, die mit dem löslichen Δ N-SNARE-Komplex inkubiert wurden.

Die Proteine synaptischer Vesikel sind als farbige Balken dargestellt, Proteinkontaminationen als graue Balken. Die Länge der Balken ist proportional zur Länge der Proteine. Der N-Terminus befindet sich jeweils am linken Ende des Balkens und entsprechend der C-Terminus am rechten Ende. Die intermolekularen Quervernetzungen aus einem Replikat (grau) oder aus wenigstens zwei Replikaten (blau) sind abgebildet. Proteine, mit welchen nur in einem Replikat Interaktionen nachgewiesen wurden, sind transparent hinterlegt.

5.5.3 Fusion mit Liposomen

Unter 5.1.5 wurde gezeigt, dass die präparierten synaptischen Vesikel mit Δ N-SNARE-Liposomen fusionieren können. Nach der Fusion steht den Proteinen synaptischer Vesikel eine größere Membran zur Verfügung, in welcher sie sich verteilen und separieren können. Stabile Interaktionen sollten jedoch intakt bleiben. Um den Einfluss dieser größeren Membran auf die Proteininteraktionen zu analysieren, wurden in diesem Experiment synaptische Vesikel mit Δ N-SNARE-Liposomen fusioniert (fusionierte synaptische Vesikel) und anschließend die Proteininteraktionen mittels chemischer Quervernetzung in Kombination mit MS identifiziert.

Eine geringe Anzahl an Synaptobrevin-2-Kopien je synaptischem Vesikel bzw. an SNAP-25- oder Syntaxin-1A-Kopien auf Seite der Proteoliposomen reicht für eine Fusion aus. Da synaptische Vesikel

durchschnittlich 80 Kopien Synaptobrevin-2 aufweisen [21], sollte nach der Fusion mit den Proteoliposomen, Synaptobrevin-2 nur im geringem Maße im SNARE-Komplex gebunden sein. Mittels BoNT B wurde dies überprüft. Hierfür wurden fusionierte synaptische Vesikel mit BoNT B inkubiert und somit freies Synaptobrevin-2 gespalten. Als Nachweis der Spaltung wurde ein Western Blot durchgeführt. Abbildung 49 zeigt, dass sowohl bei der Kontrollprobe (synaptische Vesikel und BoNT B), als auch den fusionierten synaptischen Vesikeln, Synaptobrevin-2 durch BoNT B gespalten wurde und somit frei vorlag. Die Nachweisgrenze ist nicht niedrig genug, um die wenigen Synaptobrevin-2-Kopien nachzuweisen, welche nicht gespalten werden konnten, da sie nach der Fusion im *cis*-SNARE-Komplex (3.3.4) eingebunden sind.

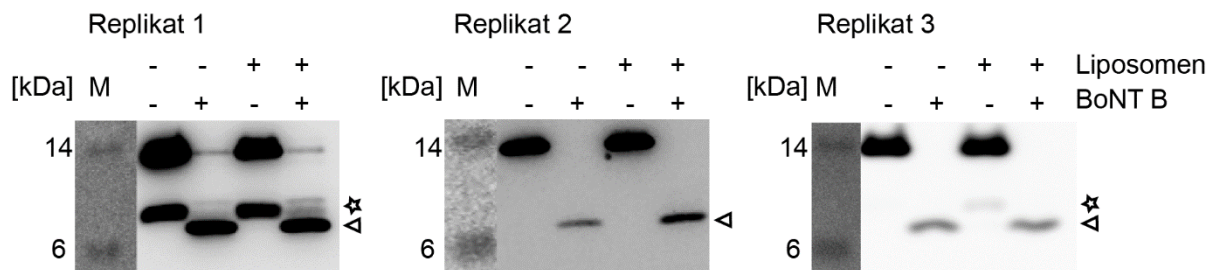


Abbildung 49: Spaltung von Synaptobrevin-2 mit BoNT B nach Fusion mit Δ N-SNARE-Liposomen.

Western Blots (Primärantikörper: anti-VAMP1/2/3) synaptischer Vesikel (- Liposomen / - BoNT B), synaptische Vesikel nach Inkubation mit BoNT B (- Liposomen / + BoNT B), synaptische Vesikel fusioniert mit Liposomen (+ Liposomen / - BoNT B), fusionierte synaptische Vesikel nach Inkubation mit BoNT B (+ Liposomen / + BoNT B). Synaptische Vesikel wurden mit Δ N-SNARE-Liposomen fusioniert. Die Spaltung durch BoNT B wurde als Nachweis durchgeführt, dass lediglich eine geringe Kopienanzahl an Synaptobrevin-2 in die Bildung von SNARE-Komplexen zur Fusion eingebunden waren. Ungeschnittenes Synaptobrevin-2 (ca. 14 kDa), das BoNT B Spaltprodukt (Pfeilspitze) und Syb(49-96) aus dem Δ N-SNARE-Komplex (Stern) wurden nachgewiesen.

Im nächsten Schritt wurden die fusionierten synaptischen Vesikel in 10 μ M BS3 quervernetzt. Die Analyse erfolgte analog zu 5.3.1. Es wurden 571 Quervernetzungen verifiziert (Tabelle A. 8). In Abbildung A. 12 sind die Quervernetzungen der drei Replikate in einem VENN-Diagramm zusammengefasst. Bei 440 Quervernetzungen handelt es sich um intramolekulare Interaktionen und bei 131 Quervernetzungen um intermolekulare Interaktionen. 278 der 431 Quervernetzungen wurden in zwei von drei Replikaten nachgewiesen.

In Abbildung 50 ist das Interaktionsnetzwerk der Proteine fusionierter synaptischer Vesikel abgebildet. Die Anzahl an Interaktionen von Synaptobrevin-2 mit anderen Proteinen synaptischer Vesikel im Verhältnis zu den unbehandelten synaptischen Vesikeln hat deutlich abgenommen. Die Interaktionen

innerhalb des V-ATPase-Komplexes sind mit den Interaktionen innerhalb des V-ATPase-Komplexes der unbehandelten synaptischen Vesikel vergleichbar. Das Netzwerkdiagramm zeigt, dass die große Anzahl an Interaktionen zwischen Synaptobrevin-2 und anderen Proteinen synaptischer Vesikel nicht mehr nachweisbar waren. Spezifische Interaktionen von Synaptobrevin-2 mit den Proteinen synaptischer Vesikel Synaptophysin, V-ATPase-a und SV2A konnten auch nach der Fusion mit den Liposomen nachgewiesen werden. Weiterhin wurden Synaptophysin-Dimere sowie Interaktionen zwischen Synaptophysin und der Isoform Synaptoporin nachgewiesen. Es wurden weiterhin Quervernetzungen innerhalb des SNARE-Komplexes nachgewiesen. Darüber hinaus wurden Interaktionen zwischen Synaptobrevin-2 mit Synaptotagmin-1 und Rab3A sowie Interaktionen zwischen Synaptophysin und Synaptogyrin-1 nachgewiesen.

Für die unbehandelten synaptischen Vesikel wurde eine zentrale Rolle von Synaptobrevin-2 im Interaktionsnetzwerk identifiziert (5.3.3). Diese zentrale Rolle zeigt sich im Interaktionsnetzwerk fusionierter synaptischer Vesikel nicht mehr. Durch die größere Oberfläche der fusionierten synaptischen Vesikel stehen den einzelnen Proteinen mehr Platz innerhalb der Membran zur Verfügung. Die Proteine wurden räumlich voneinander getrennt. Die Ergebnisse sprechen daher dafür, dass Interaktionen, welche nun nicht mehr nachweisbar waren, eher unspezifisch sind. Sie sind eher auf die hohe Flexibilität von Synaptobrevin-2 zurückzuführen, welche zu zufälligen Kontakten mit umliegenden Proteinen in der dichten Membran synaptischer Vesikel führen. Stabile Proteininteraktionen bleiben jedoch innerhalb der größeren Membran intakt. Bei den nachgewiesenen Interaktionen handelt es sich daher wahrscheinlich um spezifische Interaktionen, welche zur Funktion synaptischer Vesikel beitragen.

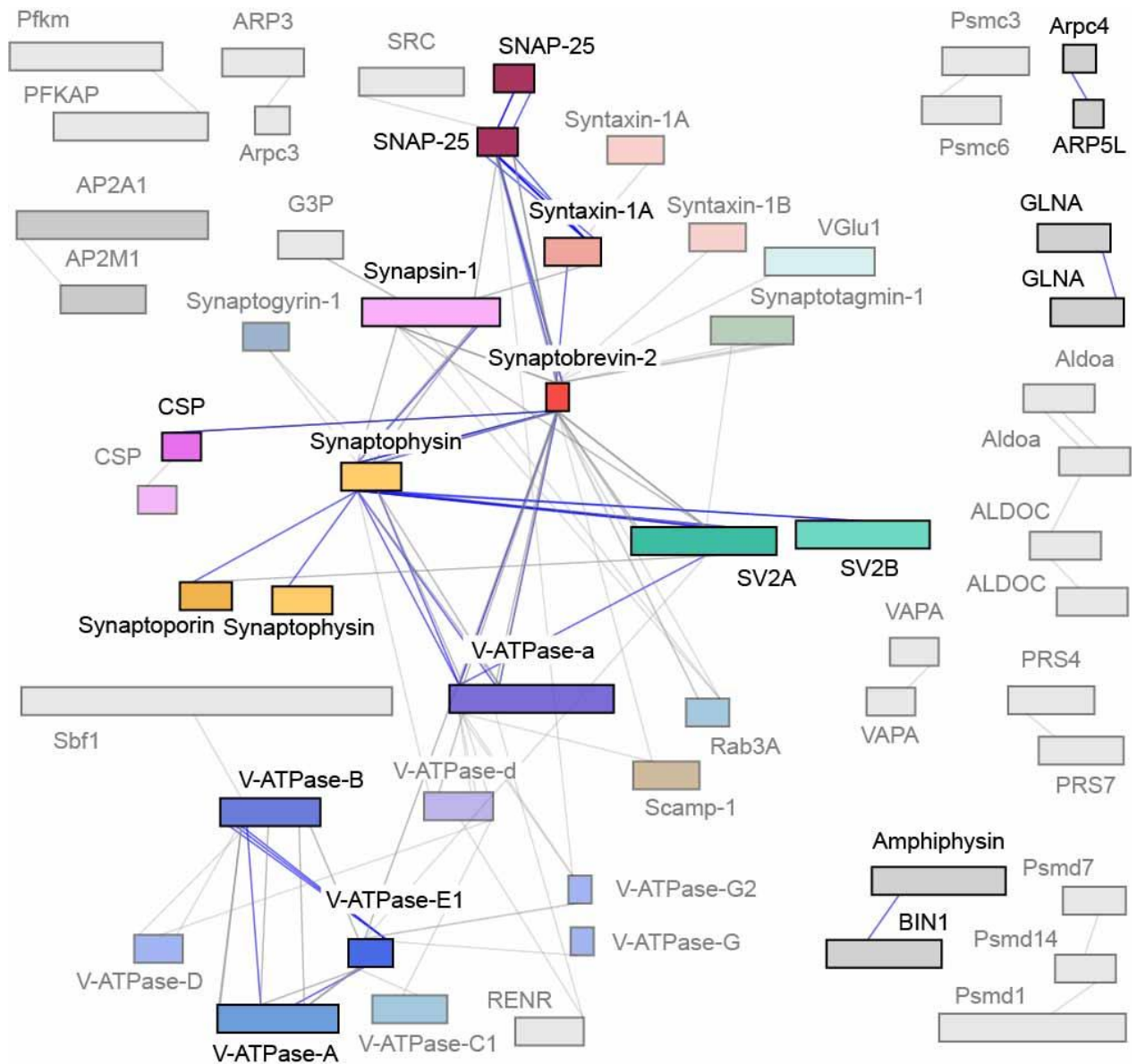


Abbildung 50: Interaktionsnetzwerk der mit Liposomen fusionierten synaptischen Vesikel.

Die Proteine synaptischer Vesikel sind als farbige Balken dargestellt, Proteinkontaminanten als graue Balken. Die Länge der Balken ist proportional zur Länge der Proteine. Der N-Terminus befindet sich jeweils am linken Ende des Balkens und entsprechend der C-Terminus am rechten Ende. Die intermolekularen Quervernetzungen aus einem Replikat (grau) oder aus wenigstens zwei Replikaten (blau) sind abgebildet. Proteine, mit welchen nur in einem Replikat Interaktionen nachgewiesen wurden, sind transparent hinterlegt.

6 Diskussion

6.1 Methodische Vorgehensweise

In dieser Arbeit wurde erstmalig Proteininteraktionsnetzwerke synaptischer Vesikel anhand identifizierter Proteininteraktionen erstellt. Dies wurde durch die Anwendung der chemischen Quervernetzung in Kombination mit MS ermöglicht. Basierend auf den identifizierten Interaktionen wurden Proteininteraktionsnetzwerke synaptischer Vesikel erstellt. Einer der größten Vorteile der chemischen Quervernetzung kombiniert mit MS ist die Identifizierung von Proteininteraktionen, die selbst bei komplexen und heterogenen Gemischen anwendbar ist. Traditionelle Techniken der Strukturbiochemie, wie Kryoelektronenmikroskopie, Kernspinresonanzspektroskopie oder Röntgenkristallographie sind aufgrund der Größe, Flexibilität oder Heterogenität von Proteinkomplexen oder gar intakter synaptischer Vesikel in ihrer Anwendung eingeschränkt. Im Vergleich zu den traditionellen Techniken können diese Herausforderungen unter Verwendung der chemischen Quervernetzung kombiniert mit Massenspektrometrie gemeistert werden [188]. Die an der Interaktion beteiligten Aminosäuren werden bestimmt, womit die Position der Interaktion auf Ebene der Primärstruktur identifiziert wird. Eine Einschränkung der Methode liegt hier in der Chemie des Quervernetzungsreagenzes und den entsprechend quervernetzbaaren Aminosäuren. In dieser Arbeit wurde das Quervernetzungsreagenz BS3 verwendet, welches überwiegend mit Lysinresten interagiert. Die Identifizierung von Proteininteraktionen synaptischer Vesikel war daher auf Interaktionen der Lysinreste und dem N-Terminus der Proteine eingeschränkt. Für die unterschiedlichen Synaptobrevin-2-Varianten konnten auf Grund der kleinen Datenbank auch Interaktionen von Serin, Threonin und Tyrosin berücksichtigt werden, welche in Nebenreaktionen mit BS3 reagieren. Da Lysin zu einer der häufig vorkommenden Aminosäuren gehört, welche für Lösungsmittel erreichbar sind und eine für die Methode gute Verteilung in Proteinen aufweisen [135] entfiel die Wahl des Quervernetzungsreagenzes auf BS3. Zudem läuft die Quervernetzungsreaktion mit BS3 unter physiologischen Bedingungen (pH 7 bis 8) ab [188]. Ein weiterer Vorteil der chemischen Quervernetzung in Kombination mit MS besteht darin, dass die Methode ohne Antikörper und Detergenzien auskommt. Dies ist deshalb von Vorteil, da sich Proteinkomplexe synaptischer Vesikel, welche unter Verwendung von Detergenzien identifiziert wurden, in ihrer Zusammensetzung unterscheiden [106; 107] und keine spezifischen Antikörper benötigt werden, welche die Analyse limitiert hätten.

Aus der Verwendung der chemischen Quervernetzung kombiniert mit MS resultiert ein identifiziertes quervernetztes Dipeptid. Die quervernetzten Dipeptide stammen überwiegend aus einem (intramolekulare Interaktionen), maximal jedoch aus zwei Proteinen (intermolekulare Interaktionen). Die identifizierte Quervernetzung ist daher auf Interaktionen von maximal zwei Proteinen eingeschränkt. Komplexe Proteinnetzwerke setzen sich jedoch aus mehr als zwei Proteinen zusammen. Solche Netzwerke müssen also mit Hilfe von anderen Methoden bestätigt werden. Eine Möglichkeit ist hier die Durchführung von Western Blots quervernetzter Proteinkomplexe oder von Pulldown-Assays. Gerade bei synaptischen Vesikeln ist dies von Relevanz, da sie während ihres Kreislaufs unterschiedliche Funktionsstadien durchlaufen. Für diese Funktionsstadien gehen die Proteine entsprechende Interaktionen ein, welche ebenfalls zwischen mehr als zwei Proteinen stattfinden. In dieser Arbeit konnten durch die zusätzlich durchgeführten biochemischen und biophysikalischen Versuche und den Ergebnissen früherer Studien verschiedene Subpopulationen synaptischer Vesikel aus den unterschiedlichen Funktionsstadien, sowie stabile Interaktionsmodule identifiziert und diese als Proteinnetzwerke dargestellt werden.

Liegen Proteine räumlich nah beieinander, weil die Dichte an Proteinen hoch ist, kann dies zu unspezifischen Quervernetzungen führen. Solche unspezifischen Quervernetzungen können bei synaptischen Vesikeln nicht ausgeschlossen werden. Bei solchen Proben kann nicht unterschieden werden, welche der Interaktionen unspezifisch sind und bei welchen Interaktionen es sich um spezifische Interaktionen von fest gebundenen Proteinen handelt. Die Unterscheidung unspezifischer Interaktionen von spezifischen Interaktionen gelang in dieser Arbeit durch die ergänzenden biochemischen und biophysikalischen Versuche. Dies wurde insbesondere durch die Bereitstellung einer vergrößerten Membran durch Fusion der synaptischen Vesikel mit Liposomen erreicht, in welcher sich die Proteine räumlich voneinander trennen. Dadurch konnten unspezifische Quervernetzung auf Grund einer zu hohen Proteindichte vermieden werden.

Native Massenspektrometrie und chemische Quervernetzung eignen sich, um das Oligomerisierungsverhalten von Proteinen zu untersuchen. Voraussetzung für unspezifische Interaktionen ist eine hohe strukturelle Flexibilität eines der involvierten Proteine. Durch die Kombination der beiden Methoden wurde gezeigt, dass Synaptobrevin-2 ein typisches Oligomerisierungsverhalten für intrinsisch ungeordnete Proteine aufweist. Mit der nativen Massenspektrometrie werden

Proteininteraktionen ohne die Verwendung eines Quervernetzungsreagenzes nachgewiesen, wodurch diese Methode die chemische Quervernetzung ideal ergänzt.

6.2 Zwei Funktionsstadien der V-ATPase

Die Ergebnisse zeigen, dass die gewonnenen synaptischen Vesikel sowohl die inaktive als auch die aktive V-ATPase aufweisen. Es konnten neue Erkenntnisse über die Regulierung der Beladung synaptischer Vesikel mit Neurotransmittern gewonnen werden.

Die Bestimmung der quantitativen Zusammensetzung der gewonnenen synaptischen Vesikel zeigt, dass die V-ATPase die Proteinuntereinheit H während der Reinigung nicht verloren hat. Die Proteinuntereinheit H der V-ATPase wurde in allen fünf Präparationen nachgewiesen. Neben einer hohen Sequenzabdeckung wurden für die Identifizierung hohe MQ-Scores, sowie für die Quantifizierung hohe relative iBAQ-Werte nachgewiesen. Die Proteinuntereinheit H ist für die volle Aktivität des V-ATPase-Komplexes notwendig [167]. In der hochaufgelösten Struktur der V-ATPase ist die Untereinheit H nicht enthalten, weil sie während der Gewinnung der V-ATPase dissoziierte [72]. Die Bedingungen, unter welchen die synaptischen Vesikel gewonnen wurden, führten somit nicht zum Verlust von Proteinuntereinheiten, wie es in anderen Studien der Fall war. Die gewählte massenspektrometrische Methode ermöglichte die Identifizierung und Quantifizierung der Proteine synaptischer Vesikel nach dem neuesten Stand der Technik. Dies zeigt auch der erstmalige massenspektrometrische Nachweis der Proteinuntereinheit c⁴, welche in den vorangehenden Studien nicht identifiziert werden konnte [72; 21]. Zudem zeigen die Ergebnisse der Proteomanalyse, dass die synaptischen Vesikel mehr Kopien der membranständigen V₀-Domäne aufweisen als von der cytosolischen V₁-Domäne der V-ATPase.

Die V-ATPase setzt sich aus der membranständigen V₀-Domäne und der cytosolischen V₁-Domäne zusammen. Ist V₁ dissoziiert, liegt der N-Terminus von V₀-ATPase-a₁ über dem c-Ring und die V-ATPase befindet sich in ihrem inaktiven Funktionsstadium (V₀-ATPase). Innerhalb des vollständigen, aktiven Komplexes V₁V₀-ATPase, liegt der cytosolische N-Terminus von a₁ in seiner offenen Konformation vor. In dieser Arbeit wurden Proteininteraktionen nachgewiesen, welche sich ausschließlich innerhalb der aktiven V₁V₀-ATPase ausbilden können, sowie Interaktionen, welche sich ausschließlich in der inaktiven V₀-ATPase ausbilden können. Damit wurde sowohl die inaktive V₀-ATPase als auch die aktive V₁V₀-ATPase nachgewiesen. Dies steht im Einklang mit der

durchgeführten Proteomanalyse, nach welcher die Untereinheiten der V_0 -Domäne höher abundant sind als die Untereinheiten der V_1 -Domäne. Auch in der Proteomanalyse von Takamori et al. [21] wurde durch quantitatives Western Blotting für V_0 -ATPase höhere Werte als für V_1 -ATPase ermittelt. Eine Dissoziation von V_1 -ATPase während der Präparation kann nicht vollständig ausgeschlossen werden. Die Untereinheit H neigt jedoch zur Dissoziation [72] und wurde mit hohen iBAQ-Werten nachgewiesen. Der Nachweis der Proteinuntereinheit H ist ein Indiz dafür, dass die Bedingungen während der Präparation nicht zu einer unerwünschten Dissoziation von Proteinen führten.

Zwei Szenarien sind mit dem Nachweis sowohl der inaktiven V_0 -ATPase als auch der aktiven V_1V_0 -ATPase vereinbar. Studien zeigten, dass ein einzelnes synaptisches Vesikel im Durchschnitt ein bis zwei V-ATPase-Komplexe aufweist [21; 27], jedoch mehr V_0 -Domänen als V_1 -Domänen [21]. Ein Szenario wäre, dass ein einzelnes synaptisches Vesikel sowohl eine aktive V-ATPase (V_1V_0 -ATPase), als auch eine inaktive V-ATPase (V_0 -ATPase) aufweist. Ein anderes Szenario wäre, dass die präparierten synaptischen Vesikel entweder jeweils nur aktive V-ATPasen (V_1V_0 -ATPase) oder inaktive V-ATPasen (V_0 -ATPase) aufweisen. Letzteres würde bedeuten, dass die präparierten synaptischen Vesikel aus unterschiedlichen Funktionsstadien ihres Kreislaufs stammen würden. Je nach Funktionsstadium liegt die V-ATPase in seiner aktiven oder inaktiven Form vor (Abbildung 51). Für das zweite Szenario sprechen zwei Studien. In der ersten Studie wurde nachgewiesen, dass synaptische Vesikel im Clathrin-Gerüst ihre Fähigkeit Protonen aufzunehmen beibehalten, somit die aktive Form der V-ATPase vorliegt und die V_1 -Domäne nicht dissoziiert ist [189]. Die zweite Studie zeigt, dass die aktive V_1V_0 -ATPase nach vollständiger Beladung der synaptischen Vesikel mit Neurotransmittern reversibel dissoziiert und damit die Exozytose reguliert [190]. Nach diesen Studien weisen synaptische Vesikel je nach Funktionsstadium entweder die aktive oder die inaktive V-ATPase auf. Die Ergebnisse dieser Arbeit sprechen gemeinsam mit den genannten Studien dafür, dass sich die präparierten synaptischen Vesikel aus verschiedenen Populationen der unterschiedlichen Funktionsstadien ihres Zyklus zusammensetzen und die V_1 -ATPase entsprechend bei einem Teil der synaptischen Vesikel dissoziiert ist.

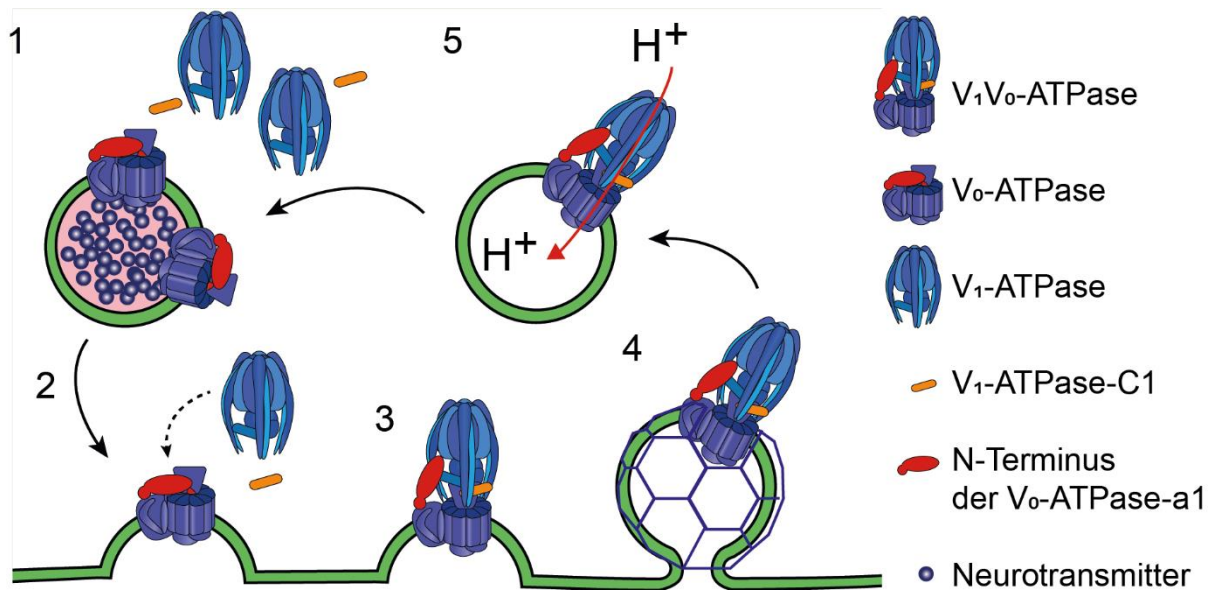


Abbildung 51: Schematische Darstellung der reversiblen Dissoziation der V-ATPase in den unterschiedlichen Funktionsstadien synaptischer Vesikel.

Die identifizierten Interaktionen weisen in den präparierten synaptischen Vesikeln die inaktive V_0 -ATPase und die aktive V_1V_0 -ATPase nach. (1) Nach vollständiger Ansäuerung und Beladung der synaptischen Vesikel mit Neurotransmittern dissoziieren die V-ATPasen in die membranständige V_0 -Domäne, die cytosolische V_1 -Domäne und die Untereinheit V_1 -ATPase-C1. Die inaktive V_0 -ATPase aus diesem Funktionsstadium synaptischer Vesikel wurde mittels chemischer Quervernetzung kombiniert mit MS nachgewiesen (2) synaptische Vesikel ohne V_1 -Domäne fusionieren mit der präsynaptischen Membran. (3) V_1 - und V_0 lagern sich wieder zusammen. (4) Das Clathringerüst baut sich für die Endozytose um die aktive V_1V_0 -ATPase auf. (5) Die aktive V-ATPase pumpt Protonen für die Neurotransmitteraufnahme in das Lumen der synaptischen Vesikel. Die aktive V_1V_0 -ATPase und somit synaptische Vesikel aus diesem Funktionsstadium wurden ebenfalls mittels chemischer Quervernetzung kombiniert mit MS nachgewiesen. Ist der pH-Wert final angestiegen, dissoziiert die V_1 -Domäne. Die Rolle der Untereinheit C1 während der reversiblen Dissoziation der V-ATPase ist nicht final geklärt. Die schematische Abbildung wurde in Anlehnung an [190] und [189] erstellt.

6.3 Oligomerisierung von Synaptobrevin-2

Durch chemische Quervernetzung kombiniert mit MS wurden Homomere der Proteine Synaptobrevin-2, Synaptophysin und CSP nachgewiesen. Darüber hinaus wurden die interagierenden Aminosäuren und somit die Position der Interaktion identifiziert. Da Interaktionen von zwei Aminosäuren, welche zu maximal zwei Proteinen gehören, nachgewiesen werden, kann durch die Methode nicht unterschieden werden, ob die Interaktion aus einem Dimer oder einem Multimer stammt. Somit könnte es sich bei den identifizierten Synaptobrevin-2-, Synaptophysin- und CSP-Interaktionen sowohl um Homodimere als auch um höhere Multimere handeln. Um dieses Defizit der Methode auszugleichen, wurde die chemische Quervernetzung mit Western Blots kombiniert. Für diese Methodenkombination werden die Proteine

nicht hydrolysiert. Die Proteinuntereinheiten sind durch das Quervernetzungsreagenz miteinander kovalent verbunden und werden während der Gelelektrophorese nicht voneinander getrennt. So können mit Hilfe der chemischen Quervernetzung in Kombination mit Western Blots auch Multimere nachgewiesen werden. Auf diese Weise kann jedoch nicht die Position der Quervernetzung bestimmt werden. Zudem ist die Nachweisgrenze deutlich höher. Durch Kombination der beiden Methoden wurden innerhalb der unbehandelten synaptischen Vesikel Synaptobrevin-2-Homomultimere bis hin zu Pentameren nachgewiesen. Da die nachgewiesenen Interaktionen der unbehandelten synaptischen Vesikel überwiegend von Synaptobrevin-2 ausgehen und Synaptobrevin-2-Pentamere nachgewiesen werden konnten, stellte sich die Frage welche Rolle die starke Flexibilität von Synaptobrevin-2 [37; 36] und welchen Einfluss die hohe Anzahl an Synaptobrevin-2-Kopien pro Vesikel [21; 28] auf die Ausbildung der Interaktionen haben.

Oligomerisierung der verschiedenen Synaptobrevin-2-Varianten

Untersuchungen der verschiedenen Synptobrevin-2-Varianten sprechen dafür, dass die Oligomerisierung von Synaptobrevin-2 auf seine unstrukturierte Form zurück geht und es sich dabei nicht um spezifische Interaktionen handelt. Die Untersuchung der exprimierten Synaptobrevin-2-Volllängenvariante (Syb(1-116)) zeigte, dass die Oligomerisierung nicht nur von der Transmembranhelix ausgeht, sondern auch auf seine unstrukturierte Struktur der cytosolischen Domäne zurückzuführen ist. So konnten keine Interaktionen von Syb(1-116) nachgewiesen werden, welches in Liposomen inkorporiert war. Dies könnte auf eine Verteilung der einzelnen Syb(1-116)-Kopien innerhalb der Lipiddoppelschicht zurückzuführen sein, da das Verhältnis von Lipid zu Protein mit 300:1 vergleichsweise hoch war. Pro Liposom waren im Schnitt 20 Kopien Syb(1-116) inkorporiert. Im Vergleich dazu liegen 70 Kopien Synaptobrevin-2 pro synaptischem Vesikel vor [21]. Die Abwesenheit von Syb(1-116)-Oligomeren in den Liposomen, welche eine native Umgebung schaffen, spricht jedoch gegen eine Oligomerisierung welche ausschließlich von der Transmembranhelix ausgeht, wie es zuvor diskutiert wurde [39]. Das Inkorporieren von Syb(1-116) in eine Lipiddoppelschicht könnte zur Ausbildung von helikalen Fragmenten nicht nur in der Transmembrandomäne, sondern auch der cytosolischen Domäne führen [36], welche einen Einfluss auf die Oligomerisierung haben könnten. Zudem könnte die Oligomerisierung abhängig von der Gegenwart eines spezifischen Lipids bzw. spezifischer Lipide sein. Für andere Proteine, wie z.B. Synaptaxin-1A wurde dies bereits nachgewiesen [191–195]. Die verwendete Lipidmischung entspricht

jedoch der Lipidzusammensetzung nativer synaptischer Vesikel [21] und wurde bereits für eine erfolgreiche *in vitro* Membranfusion eingesetzt [179], sowie auch für den Fusions-Assay in dieser Arbeit. Sie sollte daher keinen Einfluss auf die Oligomerisierung von Synaptobrevin-2 haben. Dies spricht dafür, dass die Oligomerisierung von Synaptobrevin-2 von den umgebenden Lipiden unabhängig ist. Ist die Oligomerisierung weder von den Lipiden, noch von der Transmembranhelix abhängig, spricht die Abwesenheit von Oligomeren innerhalb der Proteoliposomen dafür, dass die Oligomerisierung eher auf die unstrukturierten Regionen in der cytosolischen Domäne zurückzuführen ist.

Berücksichtigt man die Größe der verwendeten Synaptobrevin-2-Varianten, sowie die Anzahl an Lysin- sowie Serin-, Threonin- und Tyrosinresten, ist die Anzahl an nachgewiesenen Quervernetzungen sehr hoch. Dies stimmt gut mit vorangegangenen Studien überein, welche zeigten, dass die cytosolische Domäne im nativen Zustand unstrukturiert vorliegt und stark flexibel in der Abwesenheit von Lipiden oder anderen SNARE-Proteinen ist [30; 31; 36]. Die hohe Flexibilität der cytosolischen Domäne ist Grund für die Bildung vieler Quervernetzungen. Auch wenn der funktionsbereite SNARE-Komplex ein hochstrukturiertes Bündel aus vier Helices darstellt [87; 86], scheint die Flexibilität der cytosolischen Domäne wichtig für die spontane, gleichzeitig präzise und schnelle Ausbildung des SNARE-Komplexes zu sein. Wie bereits beschrieben [36], könnte das von uns durchgeführte Inkorporieren in eine Lipiddoppelschicht zur Ausbildung von helikalen Fragmenten führen. Diese Strukturelemente könnten die Flexibilität und damit die Interaktionen, welche auf die Flexibilität zurückzuführen sind, einschränken.

Vergleicht man die drei unterschiedlichen Synaptobrevin-2-Varianten in Lösung, zeigen die Ergebnisse, dass der Grad an Oligomerisierung mit der Kürze der Variante zunimmt. Insbesondere trifft dies auf die nativen Massenspektren der nicht kovalent verbundenen Oligomere zu. Während keine Oligomere für Syb(1-116) nachgewiesen wurden, wurden Pentamere für Syb(1-96) und sogar Dodecamere für Syb(49-96) nachgewiesen. Dies war in Anbetracht der Studie, welche eine starke Interaktion ausgehend von der Transmembranhelix beschreibt [39], nicht zu erwarten. Es kann jedoch auch nicht ausgeschlossen werden, dass auf Grund der Probenaufarbeitung, wie z.B. der Gelfiltration zur Entfernung der Detergenzien, keine Syb(1-116)-Oligomere nachweisbar waren. Alle drei Varianten zeigen eine Zunahme der Oligomerisierung bei Zunahme der Konzentration. Diese konzentrationsabhängige Zunahme spricht für eine aggregationsähnliche Oligomerisierung und nicht für die Ausbildung definierter Oligomere.

Syb(1-116) und Syb (1-96) weisen im Vergleich zu Syb(49-96) die „coiled coil trigger side“ [181] und ein Helixsegment [36] auf, welches eventuell zur Ausbildung von Strukturelementen in den längeren Varianten beiträgt. Syb(49-96) weist diese Strukturelemente nicht auf, liegt daher nativ unstrukturiert vor und könnte dadurch zu der starken Oligomerisierung neigen. Mittels IM-MS konnte bestätigt werden, dass Monomere, Dimere und Trimere mit niedrigem Ladungszustand, welche der Struktur in Lösung am ähnlichsten kommen, einem isotropen Kurvenverlauf folgen. Dieser Verlauf ist typisch für die Bildung von Oligomeren in Lösung intrinsisch ungeordneter Proteine [182]. Die hohe Anzahl an intra- und auch intermolekularen Quervernetzungen unterstützt diese Ergebnisse.

Es wurde eine hohe Anzahl an Quervernetzungen identifiziert, welche ausschließlich in der cytosolischen Domäne lokalisiert waren. Die Aminosäuresequenz der Transmembranhelix weist lediglich einen Tyrosinrest (Y113) und keine Lysin-, Serin- oder Threoninreste auf. Für Syb(1-116) konnten keine Quervernetzungen mit Tyrosinresten und somit auch nicht mit Y113 nachgewiesen werden. Es konnten somit keine Interaktionen mit der Transmembranhelix nachgewiesen werden. Der C-Terminus weist zwei quervernetzungsfähige Aminosäuren auf (S115 und T116). Die zwei Aminosäurereste sollten zwar trotz der Detergenzmizelle für das BS3 Quervernetzungsreagenz zugänglich sein [196], dennoch konnten keine Spektren nachgewiesen werden, welche dem C-Terminus von Synaptobrevin-2 entsprechen. Dies könnte mehrere Gründe haben. Zum einen könnte die Detergenzmizelle wider Erwarten die Erreichbarkeit für das Quervernetzungsreagenz einschränken. Zudem könnte die Proteolyse durch zu wenige Schnittstellen eingeschränkt gewesen sein, wodurch die Analyse von quervernetzten Peptidpaaren erschwert ist. Aus diesem Grund wurde mit dem gesamten Protein gearbeitet und nicht nur mit der Transmembranhelix. Mit Hilfe der chemischen Quervernetzung in Kombination mit MS wurden auch Homooligomere identifiziert und darüber hinaus die Interaktionspositionen der Oligomerisierung identifiziert.

In dieser Arbeit konnte mittels nativer MS und durch die Kombination von nativer MS mit IM gezeigt werden, dass die Oligomerisierung von Synaptobrevin-2 mit steigender Konzentration zunimmt. Die Oligomerisierung findet tendenziell in additiver Weise und somit aggregationsähnlich statt und nicht durch Ausbildung definierter Strukturen. Das chemische Quervernetzen der Synaptobrevin-2-Varianten ermöglichte komplementierend die Identifizierung der Interaktionsposition. Gelelektrophorese und Western Blots der quervernetzten Synaptobrevin-2-Varianten erlaubten zusätzlich eine Abschätzung

des Grades der Oligomerisierung. In manchen Fällen können durch Quervernetzung transiente oder gering vorkommende Proteininteraktionen nachgewiesen werden, was von Vorteil ist, da hier die native MS technisch limitiert ist. Bezieht man die identifizierten Proteininteraktionen mit ein, welche zwischen einzelnen Proteinuntereinheiten der Oligomere nachgewiesen wurden (z.B. intermolekulare Quervernetzungen), wurden keine Interaktionen zwischen definierten Abschnitten der Synaptobrevin-2-Varianten, sondern eher eine willkürliche Verteilung der Quervernetzungen identifiziert. Die willkürliche Verteilung der chemischen Quervernetzungen spricht in Kombination mit den Ergebnissen der nativen MS für die Ausbildung von unstrukturierten Oligomeren. Auch hier muss beachtet werden, dass Quervernetzungen ausschließlich binäre Proteininteraktionen nachweisen können. Die identifizierten Quervernetzungen der Synaptobrevin-2-Varianten repräsentieren daher eine gemischte Population von Interaktionen zwischen monomeren Struktureinheiten unterschiedlicher Konformationen. Durch Kombination der nativen Massenspektrometrie und chemischer Quervernetzung konnte das Oligomerisierungsverhalten von Synaptobrevin-2 untersucht werden und Unterschiede innerhalb der drei Synaptobrevin-2-Varianten identifiziert werden. Das Entfernen der Membranhelix erhöhte die Quervernetzungsrate in Lösung, was durch die nativen Massenspektren sowie durch Gelelektrophorese und Western Blots bestätigt wurde. Die Ergänzung aus Ergebnissen der chemischen Quervernetzung kombiniert mit MS und Ergebnissen der nativen MS zeigte sich für die Strukturanalyse von Homooligomeren als geeignet, da sie die Bestimmung des Oligomerisierungsgrades und der Proteininteraktionen ermöglicht.

Chemische Quervernetzung kombiniert mit MS ermöglicht die Identifizierung von intermolekularen Interaktionen von Homooligomeren nur, wenn die monomeren Untereinheiten parallel oder antiparallel zueinander liegen [197; 198] oder sich globulär und unstruktuiert anordnen. Synaptobrevin-2 liegt in der Abwesenheit der anderen SNARE-Komplex-Proteine SNAP-25 und Syntaxin-1A unstrukturiert vor. Auf Grund der durchgeführten IM-MS Experimente und der erhaltenen Quervernetzungsmuster, sowie seiner unstrukturierten Konformation in der Abwesenheit der anderen SNARE-Komplex-Proteine, kann geschlossen werden, dass die Oligomerisierung von Synaptobrevin-2 auf seine intrinsisch ungeordnete Struktur zurückgeht.

6.4 Oligomerisierung von Synaptophysin

Synaptophysin-Homomere

Synaptophysin-Homomere wurden sowohl für die unbehandelten synaptischen Vesikel, als auch nach der Fixierung von Synaptobrevin-2 im SNARE-Komplex und auch nach der Fusion mit Liposomen mittels chemischer Quervernetzung kombiniert mit MS nachgewiesen. Die Oligomerisierung von Synaptophysin wurde anhand von Western Blots quervernetzter unbehandelter, synaptischer Vesikel bestätigt. Durch die Anfertigung von Western Blots konnten jedoch keine höheren Homomultimere nachgewiesen werden. Durch chemische Quervernetzung mit anschließendem Western Blot wurden in anderen Studien auch höhere Oligomere von Synaptophysin nachgewiesen [59; 61; 60]. Die große Anzahl an identifizierten intermolekularen Interaktionen von Synaptophysin, sowie die hohe Anzahl an intramolekularen Interaktionen, bei welchen es sich wie bereits beschrieben auch um intermolekulare Interaktionen handeln könnte, führen zu der Annahme der Ausbildung höherer Synaptophysin-Oligomere. Elektronenmikroskopische Aufnahmen gaben Hinweise auf eine Ausbildung von donut- oder rosettenförmigen Poren aus Synaptophysin-Oligomeren mit einem zentralen Hohlraum. In diesem Hohlraum sammelten sich Uranylalze, welche in der Negativfärbung elektronenmikroskopisch nachgewiesen wurden [61]. Zwei weitere Studien lassen schlussfolgern, dass Synaptophysin einen hexameren Komplex ausbildet [105; 104]. Eine Ausbildung solcher Oligomere konnte durch die Ergebnisse dieser Arbeit nicht bestätigt werden.

Synaptophysin und Synaptoporin

In den unbehandelten synaptischen Vesikeln wurde eine Quervernetzung zwischen Synaptophysin und seiner Isoform Synaptoporin (Synaptophysin^{K83}-Synaptoporin^{K64}) in allen vier biologischen Replikaten nachgewiesen. Synaptophysin und Synaptoporin interagieren demnach reproduzierbar und damit spezifisch miteinander. Dieses Ergebnis steht im Kontrast zu einer publizierten Studie, in welcher geschlossen wird, dass Synaptophysin und Synaptoporin nicht miteinander interagieren [177]. Die identifizierte Interaktion (Synaptophysin^{K83}-Synaptoporin^{K64}) wurde zwischen zwei Lysinresten nachgewiesen, welche sich in Proteindomänen mit ähnlicher Aminosäuresequenz befinden. In der gleichen Domäne wurden auch die Interaktionen identifiziert, welche für die Dimerisierung oder wie angenommen auch die Multimerisierung von Synaptophysin verantwortlich sind. Dies ist ein Nachweis dafür, dass Synaptoporin und Synaptophysin Homomere ausbilden und ein Indiz dafür, dass die beiden Proteine Multimere ausbilden könnten. Auch wenn eine Sequenzalignierung der beiden Proteine für

eine Ähnlichkeit in der entsprechenden Region spricht [199], wurden keine Interaktionen zwischen Synaptoporin und den anderen Interaktionspartnern von Synaptophysin identifiziert. Dies spricht dafür, dass es sich bei der Interaktion eher um eine spezifische Interaktion von Synaptoporin und Synaptophysin handelt. Synaptoporin ist jedoch auch weniger abundant. Interaktionen von Synaptoporin wären entsprechend niederabundant und könnten deshalb nicht erfasst worden sein. Vergleichbare Interaktionen wurden für das strukturell ähnliche Protein Synaptogyrin-1 identifiziert. Die Interaktionen zwischen Synaptogyrin-1 und den Interaktionspartnern von Synaptophysin wurden ebenfalls nur vereinzelt nachgewiesen. Bei diesem Protein könnte die geringe Anzahl an identifizierten Interaktionen jedoch auch auf die geringe Anzahl an Quervernetzungsmöglichkeiten und Trypsinschnittstellen in der Sequenz zurückzuführen sein.

6.5 Proteinnetzwerk synaptischer Vesikel

In dieser Arbeit wurde ein Netzwerk aus reproduzierbar, identifizierten Interaktionen der Proteine synaptischer Vesikel erstellt. Interaktionen mit Kontaminanten waren hingegen nicht reproduzierbar und wurden jeweils in nur einem von vier biologischen Replikaten nachgewiesen. Innerhalb der reproduzierbaren Interaktionen sticht Synaptobrevin-2 dominant hervor. In der Summe konnten Interaktionen zwischen Synaptobrevin-2 und 33 Proteinen synaptischer Vesikel nachgewiesen werden. Synaptobrevin-2 interagiert unter anderem mit Synaptophysin, dem AP2-Komplex, Rab3A, VGlut1 und CSP. Neben den nachgewiesenen Interaktionen innerhalb der V-ATPase, zeigen auch andere Interaktionen, dass die präparierten synaptischen Vesikel aus unterschiedlichen Funktionsstadien des Kreislaufs synaptischer Vesikel stammen.

Synaptobrevin-2 als Cargoprotein des AP2-Komplexes

Der AP2-Komplex lagert sich während der Clathrin-vermittelten Endozytose an synaptische Vesikel an. Synaptobrevin-2 hat wiederum über verschiedene Motive eine Signalwirkung auf den Funktionsapparat der Endozytose, damit es in ausreichender Menge rückgewonnen werden kann [20]. Die nachgewiesenen Interaktionen zwischen Synaptobrevin-2 und dem AP2-Komplex sind somit ein Indiz dafür, dass Synaptobrevin-2 ein Cargoprotein des AP2-Komplexes ist. Zudem ist die Interaktion ein Nachweis, dass die synaptischen Vesikel auch Populationen aus dem Funktionsstadium der Endozytose enthalten in welchem die synaptischen Vesikel noch mit dem AP2-Komplex interagieren.

Rab3A

Eine weitere reproduzierbare Interaktion findet zwischen Rab3A und Synaptobrevin-2 statt. Bei Rab3A handelt es sich um eine kleine GTPase welche an die Membran synaptischer Vesikeln des Reservepools gebunden ist und sich während der Freisetzung der Neurotransmitter wieder ablöst [97; 4; 98]. Da diese Interaktion unter anderen experimentellen Bedingungen nicht mehr nachweisbar war, handelt es sich wahrscheinlich um eine unspezifische Interaktion. Dennoch bestätigt die Interaktion die Bindung von Rab3A an die synaptischen Vesikel und somit, dass die synaptischen Vesikel auch aus Populationen der entsprechenden Stadien des Kreislaufs bestehen.

CSP

CSP (engl. Cystein string protein) ist ein Ko-Chaperon welches zur Aufrechterhaltung einer korrekten Proteinfaltung beiträgt [101]. Die Interaktion mit Synaptobrevin-2 konnte auch nach Fusion der synaptischen Vesikel mit Liposomen reproduzierbar identifiziert werden. Die Ergebnisse dieser Arbeit sprechen daher für eine spezifische Interaktion von Synaptobrevin-2 und CSP. Bestätigt wird dieses Ergebnis auch durch andere Studien [200; 201; 101].

Synapsin-1 und VGlut1

Zudem wurden Interaktionen von Synaptobrevin-2 mit Synapsin-1, welches die Clusterbildung von synaptischen Vesikeln in der aktiven Zone reguliert [93–96] identifiziert. Synaptobrevin-2 interagiert zudem mit dem Transportprotein VGlut1, welches den Neurotransmitter Glutamat in das Lumen der synaptischen Vesikel transportiert [202; 203]. Die Interaktion zwischen Synaptobrevin-2 und Synapsin-1 bzw. VGlut1 konnten in den Versuchen zur Unterscheidung von unspezifischen und spezifischen Interaktionen nicht mehr reproduzierbar nachgewiesen werden.

6.6 Die Unterscheidung von spezifischen und unspezifischen Interaktionen

Die Ergebnisse der isolierten Untersuchung von verschiedenen Synaptobrevin-2-Varianten zeigten, dass die Ausbildung von Synaptobrevin-2-Homooligomeren auf seine Flexibilität zurückgeht. Die starke Flexibilität könnte somit auch der Grund für die identifizierten Interaktionen synaptischer Vesikel sein. Die zusätzlichen biochemischen und biophysikalischen Verfahren sprechen ebenfalls dafür, dass es sich bei einem Teil der Interaktionen um unspezifische Interaktionen handelt.

Durch Inkubation der synaptischen Vesikel mit dem löslichen Δ N-SNARE-Komplex bildete dieser mit vesikulärem Synaptobrevin-2, SNARE-Komplexe aus. Zwischen diesen SNARE-Komplexen wurden Interaktionen mit den gleichen Proteinen nachgewiesen, welche zuvor bei den unbehandelten synaptischen Vesikeln mit Synaptobrevin-2 interagiert haben. Wenn es sich um spezifische Interaktionen von Synaptobrevin-2 und diesen Proteinen handeln würde, so wären die Interaktionen mit dem SNARE-Komplex nicht nachweisbar. Die Spaltung von Synaptobrevin-2 mit BoNT B führt zu einer signifikanten Abnahme der intermolekularen Proteininteraktionen. Die starke Abnahme an nachweisbaren Proteininteraktionen deutet darauf hin, dass Synaptobrevin-2 eine Schlüsselrolle innerhalb der Proteininteraktionen synaptischer Vesikel spielt. Liegt Synaptobrevin-2 gebunden im SNARE-Komplex vor, kann es nicht durch BoNT B gespalten werden [45]. Eine Interaktion von Synaptobrevin-2 mit einem anderen Protein, welche eine Spaltung durch BoNT B verhindert, konnte nicht nachgewiesen werden. Nach Fusion der synaptischen Vesikel mit Liposomen und die dadurch entstandene, vergrößerte Membran, bleiben die Interaktionen zu den Hauptproteinkomponenten bestehen. Lediglich Interaktionen mit einzelnen Proteinen gehen verloren.

Synaptobrevin-2 und Synaptophysin

Mit Hilfe der chemischen Quervernetzung kombiniert mit MS wurden Interaktionen von Synaptobrevin-2 mit Synaptophysin identifiziert. Die Interaktionen wurden für die unbehandelten synaptischen Vesikel nachgewiesen und durch chemische Quervernetzung mit anschließendem Western Blot bestätigt. Die Interaktionen der beiden Proteine konnten ebenfalls in einer vorangegangenen Studie durch chemische Quervernetzung mit anschließendem Western Blot identifiziert werden [103]. In dieser Studie wurde die Funktion von Synaptophysin als Kontrollmechanismus für Synaptobrevin-2 beschrieben, bei dem sich Synaptobrevin-2 zunächst aus der Interaktion mit Synaptophysin lösen muss um *ad hoc* den SNARE-Komplex ausbilden zu können [103]. Die Funktion von Synaptophysin ist dennoch weitestgehend ungeklärt. Sowohl inhibierende als auch aktivierende Funktionen während der Exozytose werden diskutiert [52; 204]. Nach einer weiteren Theorie, finden die Interaktionen innerhalb eines hexameren Komplexes aus Synaptobrevin-2 und Synaptophysin (2:1) statt [104]. Nach Fusion der synaptischen Vesikel mit Liposomen wurde die Interaktion auch in der vergrößerten Membran nachgewiesen, womit ein starkes Indiz für eine spezifische Interaktion gegeben ist. In dieser Arbeit wurde gezeigt, dass ein Überschuss an löslichem Δ N-SNARE-Komplex, sowie die Spaltung durch BoNT B, die Freisetzung von Synaptobrevin-2 aus diesem Komplex zur Folge hat. Dies spricht für einen

von einem vorgeformten Komplex ausgehenden Kontrollmechanismus, welcher durch dynamische Interaktionen ausgebildet wird. Diese dynamischen Interaktionen könnten ermöglichen, dass der Komplex je nach Funktionsstadium der synaptischen Vesikel zerfällt und sich auch wieder zusammenfügen kann. Ein schwaches Signal im Western Blot spricht für eine geringe Häufigkeit der Interaktion dieses Komplexes. Die Interaktion könnte jedoch auf Grund der Handhabung abgenommen haben, da der Komplex durch Einfrieren instabil werden soll [106]. Ein teilweiser Zerfall des Komplexes kann daher nicht ausgeschlossen werden (4.2.1.6). Die vorgeschlagene 2:1 (Synaptobrevin-2:Synaptophysin) Stöchiometrie für den Komplex konnte durch die durchgeführten Experimente nicht bestätigt werden. In dieser Arbeit wurde jedoch das erste Mal die Position der Interaktion nachgewiesen.

Die identifizierten intermolekularen Interaktionen geben Hinweise auf vier ternäre Unternetzwerke in welchen Synaptobrevin-2 und Synaptophysin, entweder mit V-ATPase- α 1, SV2A, Synapsin-1 oder CSP interagieren. Die Ergebnisse sprechen dafür, dass die Proteine jeweils Bestandteil eines ternären Proteinkomplexes sind. Diese kleinen Netzwerke bleiben zumindest teilweise nach Fusionierung mit Liposomen bestehen, womit diese Proteine trotz Möglichkeit einer räumlichen Trennung fest verbunden bleiben und nicht dissoziieren. Daher sollten sie als spezifische Interaktionen in Betracht gezogen werden. Eines dieser Netzwerke besteht aus Synaptobrevin-2, Synaptophysin und V_0 -ATPase. Die Interaktionen dieser drei Proteine wurde auch durch das Lösen synaptischer Vesikel in Detergenzien und anschließender Immunpräzipitation sowie Ko-Sedimentation identifiziert [106]. In der Studie von Bennett et al. wurden Komplexe unterschiedlicher Zusammensetzung identifiziert, welche neben Synaptobrevin-2 und Synaptophysin auch Synaptotagmin-1 und/oder V_0 -ATPase enthalten. Die Komplexe zeigten jedoch eine starke Abhängigkeit vom verwendeten Detergenz [107]. In dieser Arbeit konnten die Interaktionen erstmals ohne Verwendung von Detergenzien nachgewiesen werden. Synaptotagmin-1 ist in den ternären Netzwerken dieser Arbeit unterrepräsentiert. Die identifizierten Interaktionen der ternären Netzwerke sind auch nach Fusion mit Liposomen nachweisbar. Aus den Ergebnissen kann geschlossen werden, dass die Mehrzahl an Proteininteraktionen von Synaptobrevin-2, Synaptophysin/Synaptoporin, SV2A (SV2B) und dem V-ATPase Komplex ausgehen und es sich dabei um spezifische Interaktionen handelt.

6.7 Synaptophysin und strukturell ähnliche Proteine synaptischer Vesikel

Zu den Hauptproteinen synaptischer Vesikel gehören Synaptophysin/Synaptoporin, Synaptogyrin-1 und SV2A/SV2B. Diese integralen Membranproteine weisen vier (Synaptophysin/Synaptoporin und Synaptogyrin-1) oder zwölf (SV2A/B) Transmembranhelices auf. Die Helices sind über unterschiedlich große Schlaufen miteinander verbunden. Diese Schlaufen sind flexibel und sowohl im Cytosol als auch im Lumen lokalisiert. Die genaue Betrachtung der interagierenden Aminosäuren dieser Proteine zeigt, dass reproduzierbare Interaktionen zwischen den cytosolischen Schlaufen, zwischen den luminalen Schlaufen und auch zwischen cytosolischen und luminalen Schlaufen identifiziert wurden. Dies war nicht zu erwarten, da das polare Quervernetzungsreagenz BS3 nicht in der Lage ist, Lipiddoppelschichten einer Membran zu passieren, was Voraussetzung ist, um mit luminalen Aminosäuren reagieren zu können. Die Zugänglichkeit der luminalen Aminosäurereste für polare Lösungsmittel bestätigte sich in einem unabhängigen Proteinmodifizierungsexperiment mit zwei unterschiedlichen Reagenzien (Sulfo-NHS-Acetate und DEPC). Mittels Proteinmodifizierung kombiniert mit MS konnte gezeigt werden, dass andere Proteine lediglich Modifikationen in cytosolischen Proteinabschnitten aufweisen. Invertierte sowie deformierte Vesikel konnten durch den BoNT B-Assay und die elektronenmikroskopischen Aufnahmen nicht nachgewiesen werden. Die Orientierung der Proteine innerhalb der Membran der präparierten synaptischen Vesikel ist demnach richtig (5.1.3). Zudem zeigten sich die präparierten synaptischen Vesikel im Fusions-Assay insofern als funktionsfähig, dass sie mit Δ N-SNARE-Liposomen fusionieren können. Es bleibt daher die Frage offen, warum die luminalen Proteinschlaufen an Interaktionen beteiligt sind.

Eine Integration der luminalen Schlaufen in die Membran der synaptischen Vesikel würde die identifizierten Interaktionen erklären. Dadurch wären sie für das polare und somit membranundurchgängige Quervernetzungsreagenz, sowie die Proteinmodifizierungsreagenzien zugänglich. Diese These wird durch EM-Experimente gestützt, in welchen Synaptophysin rosettenförmige Poren mit einem zentrierten Hohlraum in einer Phospholipiddoppelschicht ausbildete [61]. Die großen, luminalen und dynamischen Schlaufen würden in struktureller Analogie zu Kationen-Kanälen in einem Synaptophysin-Multimer einen inneren Hohlraum auskleiden, welcher dem Cytosol ausgesetzt ist.

Es zeigte sich, dass synaptische Vesikel bei der Beladung mit Neurotransmittern in der Lage sind ihre Oberfläche reversibel um ca. 50 % zu vergrößern [9]. Ähnlich wie Virushüllen, können sie sich je nach Anforderung vergrößern und wieder verkleinern. Da Vesikel ohne SV2A unter gleichen Bedingungen ihr Volumen nicht vergrößern [9], liegt ein Zusammenhang zwischen Konformationsänderungen von SV2A und der Vergrößerung der Oberfläche synaptischer Vesikel nahe. Dies könnte auch für die strukturell ähnlichen Proteine Synaptophysin, Synaptoporin und Synaptogyrin-1 gelten. Die Proteine könnten eine unkonventionelle strukturelle Neuordnung der luminalen Proteindomänen einer Teilpopulation der synaptischen Vesikel durchlaufen, welche sie vom Cytosol aus zugänglich machen. Diese Annahme wird unterstützt durch Interaktionen zwischen den luminalen Schlaufen von Synaptophysin mit den cytosolischen Schlaufen von SV2A, sowie mit der cytosolischen Domäne von Synaptobrevin-2. Bestätigend wurden auch Interaktionen der luminalen Schlaufe von Synaptophysin und der cytosolischen Domäne der Isoform SV2B identifiziert. Die Ergebnisse der Quervernetzungsexperimente geben zudem Hinweise auf die Bildung von Heteromultimeren durch strukturähnliche Proteine. Die Funktionen von Synaptophysin und den anderen vesikulären Tetraspannern, sowie SV2A sind jedoch noch nicht abschließend geklärt. Thesen zu den möglichen Funktionen variieren zwischen Fusionsporenbildung und Regulierung der Exo- und Endozytose. Zieht man die Ergebnisse dieser Arbeit in Betracht, könnten Synaptophysin und SV2A auch eine Funktion während der reversiblen Vergrößerung synaptischer Vesikel ausüben. Zukünftig gilt es auch herauszufinden, welchen Einfluss die Membranlipide auf die Proteininteraktionen haben, da diese zu einer dynamischen und interaktiven Oberfläche beitragen [205].

7 Literaturverzeichnis

- [1] S. Herculano-Houzel, *The human brain in numbers: a linearly scaled-up primate brain*, *Frontiers in human neuroscience* **2009**, 3, 31.
- [2] E. R. Kandel, *Nerve cells and behavior*, *Principles of neural science* **1991**, 3, 18–32.
- [3] J. Dietel, *Aufbau eines Neurons* **2012**, <https://www.dasgehirn.info/grundlagen/kommunikation-der-zellen/bild-aufbau-eines-neurons>. Zuletzt geprüft am: 05.01.2023.
- [4] T. C. Sudhof, *The synaptic vesicle cycle*, *Annu Rev Neurosci* **2004**, 27, 509–547.
- [5] B. Katz, *THE RELEASE OF NEURAL TRANSMITTER SUBSTANCES*, *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry* **1969**, 32, 638.
- [6] J. J. Chua, S. Kindler, J. Boyken und R. Jahn, *The architecture of an excitatory synapse*, *J Cell Sci* **2010**, 123, 819–823.
- [7] R. Jahn und D. Fasshauer, *Molecular machines governing exocytosis of synaptic vesicles*, *Nature* **2012**, 490, 201–207.
- [8] J. Preobraschenski, J.-F. Zander, T. Suzuki, G. Ahnert-Hilger und R. Jahn, *Vesicular glutamate transporters use flexible anion and cation binding sites for efficient accumulation of neurotransmitter*, *Neuron* **2014**, 84, 1287–1301.
- [9] K. L. Budzinski, R. W. Allen, B. S. Fujimoto, P. Kensel-Hammes, D. M. Belnap, S. M. Bajjalieh und D. T. Chiu, *Large structural change in isolated synaptic vesicles upon loading with neurotransmitter*, *Biophysical journal* **2009**, 97, 2577–2584.
- [10] E. G. Gray, *Electron microscopy of presynaptic organelles of the spinal cord*, *J Anat* **1963**, 97, 101–106.
- [11] M. Verhage und J. B. Sørensen, *Vesicle docking in regulated exocytosis*, *Traffic* **2008**, 9, 1414–1424.
- [12] R. Jahn und R. H. Scheller, *SNAREs--engines for membrane fusion*, *Nat Rev Mol Cell Biol* **2006**, 7, 631–643.
- [13] M. E. Bowen, D. M. Engelman und A. T. Brunger, *Mutational analysis of synaptobrevin transmembrane domain oligomerization*, *Biochemistry* **2002**, 41, 15861–15866.
- [14] J. Rizo und J. Xu, *The Synaptic Vesicle Release Machinery*, *Annual review of biophysics* **2015**, 44, 339–367.
- [15] Y. Park und J. K. Ryu, *Models of synaptotagmin-1 to trigger Ca(2+) -dependent vesicle fusion*, *FEBS Lett* **2018**, 592, 3480–3492.
- [16] W. A. Catterall und A. P. Few, *Calcium channel regulation and presynaptic plasticity*, *Neuron* **2008**, 59, 882–901.
- [17] R. M. Evans und G. W. Zamponi, *Presynaptic Ca²⁺ channels--integration centers for neuronal signaling pathways*, *Trends Neurosci* **2006**, 29, 617–624.
- [18] J. E. Gerst, *SNARE regulators: matchmakers and matchbreakers*, *Biochim Biophys Acta* **2003**, 1641, 99–110.
- [19] I. Milosevic, *Revisiting the Role of Clathrin-Mediated Endocytosis in Synaptic Vesicle Recycling*, *Front Cell Neurosci* **2018**, 12, 27.
- [20] Y. Mori und S. Takamori, *Molecular Signatures Underlying Synaptic Vesicle Cargo Retrieval*, *Front Cell Neurosci* **2017**, 11, 422.
- [21] S. Takamori, M. Holt, K. Stenius, E. A. Lemke, M. Gronborg, D. Riedel, H. Urlaub, S. Schenck, B. Brugger, P. Ringler, S. A. Muller, B. Rammner, F. Gräter, J. S. Hub, B. L. de Groot, G. Mieskes, Y. Moriyama, J. Klingauf, H. Grubmüller, J. Heuser, F. Wieland und R. Jahn, *Molecular anatomy of a trafficking organelle*, *Cell* **2006**, 127, 831–846.

- [22] J. Burré, T. Beckhaus, H. Schägger, C. Corvey, S. Hofmann, M. Karas, H. Zimmermann und W. Volkandt, *Analysis of the synaptic vesicle proteome using three gel-based protein separation techniques*, *Proteomics* **2006**, *6*, 6250–6262.
- [23] M. Morciano, J. Burré, C. Corvey, M. Karas, H. Zimmermann und W. Volkandt, *Immunoisolation of two synaptic vesicle pools from synaptosomes: a proteomics analysis*, *J Neurochem* **2005**, *95*, 1732–1745.
- [24] J. Boyken, M. Grønborg, D. Riedel, H. Urlaub, R. Jahn und J. J. Chua, *Molecular profiling of synaptic vesicle docking sites reveals novel proteins but few differences between glutamatergic and GABAergic synapses*, *Neuron* **2013**, *78*, 285–297.
- [25] F. Blondeau, B. Ritter, P. D. Allaire, S. Wasiak, M. Girard, N. K. Hussain, A. Angers, V. Legendre-Guillemain, L. Roy, D. Boismenu, R. E. Kearney, A. W. Bell, J. J. Bergeron und P. S. McPherson, *Tandem MS analysis of brain clathrin-coated vesicles reveals their critical involvement in synaptic vesicle recycling*, *Proc Natl Acad Sci U S A* **2004**, *101*, 3833–3838.
- [26] M. Grønborg, N. J. Pavlos, I. Brunk, J. J. Chua, A. Münster-Wandowski, D. Riedel, G. Ahnert-Hilger, H. Urlaub und R. Jahn, *Quantitative comparison of glutamatergic and GABAergic synaptic vesicles unveils selectivity for few proteins including MAL2, a novel synaptic vesicle protein*, *J Neurosci* **2010**, *30*, 2–12.
- [27] S. A. Mutch, P. Kensel-Hammes, J. C. Gadd, B. S. Fujimoto, R. W. Allen, P. G. Schiro, R. M. Lorenz, C. L. Kuyper, J. S. Kuo, S. M. Bajjalieh und D. T. Chiu, *Protein quantification at the single vesicle level reveals that a subset of synaptic vesicle proteins are trafficked with high precision*, *J Neurosci* **2011**, *31*, 1461–1470.
- [28] B. G. Wilhelm, S. Mandad, S. Truckenbrodt, K. Kröhnert, C. Schäfer, B. Rammner, S. J. Koo, G. A. Claßen, M. Krauss, V. Haucke, H. Urlaub und S. O. Rizzoli, *Composition of isolated synaptic boutons reveals the amounts of vesicle trafficking proteins*, *Science* **2014**, *344*, 1023–1028.
- [29] J. Hesselbarth und C. Schmidt, *Disorder-to-order transition of Synaptobrevin-2: Tracing the conformational diversity of a synaptic SNARE protein*, *J Struct Biol* **2022**, *214*, 107824.
- [30] D. Fasshauer, H. Otto, W. K. Eliason, R. Jahn und A. T. Brünger, *Structural changes are associated with soluble N-ethylmaleimide-sensitive fusion protein attachment protein receptor complex formation*, *J Biol Chem* **1997**, *272*, 28036–28041.
- [31] J. Hazzard, T. C. Südhof und J. Rizo, *NMR analysis of the structure of synaptobrevin and of its interaction with syntaxin*, *Journal of biomolecular NMR* **1999**, *14*, 203–207.
- [32] K. M. Fiebig, L. M. Rice, E. Pollock und A. T. Brünger, *Folding intermediates of SNARE complex assembly*, *Nature structural biology* **1999**, *6*, 117–123.
- [33] M. Bowen und A. T. Brünger, *Conformation of the synaptobrevin transmembrane domain*, *Proc Natl Acad Sci U S A* **2006**, *103*, 8378–8383.
- [34] D. Langosch, J. M. Crane, B. Brosig, A. Hellwig, L. K. Tamm und J. Reed, *Peptide mimics of SNARE transmembrane segments drive membrane fusion depending on their conformational plasticity*, *Journal of molecular biology* **2001**, *311*, 709–721.
- [35] D.-H. Kweon, C. S. Kim und Y.-K. Shin, *Regulation of neuronal SNARE assembly by the membrane*, *Nature structural biology* **2003**, *10*, 440–447.
- [36] J. F. Ellena, B. Liang, M. Wiktor, A. Stein, D. S. Cafiso, R. Jahn und L. K. Tamm, *Dynamic structure of lipid-bound synaptobrevin suggests a nucleation-propagation mechanism for trans-SNARE complex formation*, *Proc Natl Acad Sci U S A* **2009**, *106*, 20306–20311.
- [37] N. A. Lakomek, H. Yavuz, R. Jahn und A. Perez-Lara, *Structural dynamics and transient lipid binding of synaptobrevin-2 tune SNARE assembly and membrane fusion*, *Proc Natl Acad Sci U S A* **2019**, *116*, 8699–8708.
- [38] R. Gurezka, R. Laage, B. Brosig und D. Langosch, *A heptad motif of leucine residues found in membrane proteins can drive self-assembly of artificial transmembrane segments*, *J Biol Chem* **1999**, *274*, 9265–9270.

- [39] J. Han, K. Pluhackova und R. A. Böckmann, *Exploring the Formation and the Structure of Synaptobrevin Oligomers in a Model Membrane*, Biophysical journal **2016**, 110, 2004–2015.
- [40] R. Laage und D. Langosch, *Dimerization of the synaptic vesicle protein synaptobrevin (vesicle-associated membrane protein) II depends on specific residues within the transmembrane segment*, Eur J Biochem **1997**, 249, 540–546.
- [41] R. Laage, J. Rohde, B. Brosig und D. Langosch, *A conserved membrane-spanning amino acid motif drives homomeric and supports heteromeric assembly of presynaptic SNARE proteins*, J Biol Chem **2000**, 275, 17481–17487.
- [42] G. G. Schiavo, F. Benfenati, B. Poulain, O. Rossetto, P. P. de Laureto, B. R. DasGupta und C. Montecucco, *Tetanus and botulinum-B neurotoxins block neurotransmitter release by proteolytic cleavage of synaptobrevin*, Nature **1992**, 359, 832–835.
- [43] R. Jahn, *Neuroscience. A neuronal receptor for botulinum toxin*, Science **2006**, 312, 540–541.
- [44] M. R. Baldwin und J. T. Barbieri, *Association of botulinum neurotoxins with synaptic vesicle protein complexes*, Toxicon : official journal of the International Society on Toxinology **2009**, 54, 570–574.
- [45] T. Hayashi, H. McMahon, S. Yamasaki, T. Binz, Y. Hata, T. C. Südhof und H. Niemann, *Synaptic vesicle membrane fusion complex: action of clostridial neurotoxins on assembly*, Embo j **1994**, 13, 5051–5061.
- [46] Y. Goda und T. C. Südhof, *Calcium regulation of neurotransmitter release: reliably unreliable?*, Curr Opin Cell Biol **1997**, 9, 513–518.
- [47] K. Hübner, R. Windoffer, H. Hutter und R. E. Leube, *Tetraspan vesicle membrane proteins: Synthesis, subcellular localization, and functional properties*, Int Rev Cytol **2002**, 103–159.
- [48] R. E. Leube, P. Kaiser, A. Seiter, R. Zimbelmann, W. W. Franke, H. Rehm, P. Knaus, P. Prior, H. Betz und H. Reinke, *Synaptophysin: molecular organization and mRNA expression as determined from cloned cDNA*, Embo j **1987**, 6, 3261–3268.
- [49] P. A. Johnston, Jahn R. und T. C. Südhof, *Transmembrane Topography and Evolutionary Conservation of Synaptophysin*, Journal of Biological Chemistry **1989**, 1268–1273.
- [50] N. K. Haass, M. A. Kartenbeck und R. E. Leube, *Pantophysin is a ubiquitously expressed synaptophysin homologue and defines constitutive transport vesicles*, J Cell Biol **1996**, 134, 731–746.
- [51] R. Janz, T. C. Südhof, R. E. Hammer, V. Unni, S. A. Siegelbaum und V. Y. Bolshakov, *Essential roles in synaptic plasticity for synaptogyrin I and synaptophysin I*, Neuron **1999**, 24, 687–700.
- [52] M. K. Raja, J. Preobraschenski, S. Del Olmo-Cabrera, R. Martinez-Turrillas, R. Jahn, I. Perez-Otano und J. F. Wesseling, *Elevated synaptic vesicle release probability in synaptophysin/gyrin family quadruple knockouts*, Elife **2019**, 8.
- [53] S. L. Gordon, R. E. Leube und M. A. Cousin, *Synaptophysin is required for synaptobrevin retrieval during synaptic vesicle endocytosis*, J Neurosci **2011**, 31, 14032–14036.
- [54] R. Rajappa, A. Gauthier-Kemper, D. Böning, J. Hüve und J. Klingauf, *Synaptophysin 1 Clears Synaptobrevin 2 from the Presynaptic Active Zone to Prevent Short-Term Depression*, Cell Rep **2016**, 14, 1369–1381.
- [55] C. Daly, M. Sugimori, J. E. Moreira, E. B. Ziff und R. Llinás, *Synaptophysin regulates clathrin-independent endocytosis of synaptic vesicles*, Proc Natl Acad Sci U S A **2000**, 97, 6120–6125.
- [56] C. Daly und E. B. Ziff, *Ca²⁺-dependent formation of a dynamin-synaptophysin complex: potential role in synaptic vesicle endocytosis*, J Biol Chem **2002**, 277, 9010–9015.
- [57] S. E. Kwon und E. R. Chapman, *Synaptophysin regulates the kinetics of synaptic vesicle endocytosis in central neurons*, Neuron **2011**, 70, 847–854.
- [58] C.-W. Chang, Y.-T. Hsiao und M. B. Jackson, *Synaptophysin Regulates Fusion Pores and Exocytosis Mode in Chromaffin Cells*, J Neurosci **2021**, 41, 3563–3578.
- [59] P. A. Johnston und T. C. Südhof, *The multisubunit structure of synaptophysin. Relationship between disulfide bonding and homo-oligomerization*, J Biol Chem **1990**, 265, 8869–8873.

- [60] H. Rehm, B. Wiedenmann und H. Betz, *Molecular characterization of synaptophysin, a major calcium-binding protein of the synaptic vesicle membrane*, *Embo j* **1986**, 5, 535–541.
- [61] L. Thomas, K. Hartung, D. Langosch, H. Rehm, E. Bamberg, W. W. Franke und H. Betz, *Identification of synaptophysin as a hexameric channel protein of the synaptic vesicle membrane*, *Science* **1988**, 242, 1050–1053.
- [62] L. G. Eshkind und R. E. Leube, *Mice lacking synaptophysin reproduce and form typical synaptic vesicles*, *Cell and tissue research* **1995**, 282, 423–433.
- [63] H. T. McMahon, V. Y. Bolshakov, R. Janz, R. E. Hammer, S. A. Siegelbaum und T. C. Südhof, *Synaptophysin, a major synaptic vesicle protein, is not essential for neurotransmitter release*, *Proc Natl Acad Sci U S A* **1996**, 93, 4760–4764.
- [64] T. J. Siddiqui, O. Vites, A. Stein, R. Heintzmann, R. Jahn und D. Fasshauer, *Determinants of synaptobrevin regulation in membranes*, *Molecular biology of the cell* **2007**, 18, 2037–2046.
- [65] S. L. Gordon und M. A. Cousin, *X-linked intellectual disability-associated mutations in synaptophysin disrupt synaptobrevin II retrieval*, *J Neurosci* **2013**, 33, 13695–13700.
- [66] R. Janz, Y. Goda, M. Geppert, M. Missler und T. C. Südhof, *SV2A and SV2B function as redundant Ca²⁺ regulators in neurotransmitter release*, *Neuron* **1999**, 24, 1003–1016.
- [67] O. Bartholome, P. van den Ackerveken, J. Sánchez Gil, O. de La Brassinne Bonardeaux, P. Leprince, R. Franzen und B. Rogister, *Puzzling Out Synaptic Vesicle 2 Family Members Functions*, *Frontiers in molecular neuroscience* **2017**, 10, 148.
- [68] R. Rossi, S. Arjmand, S. L. Bærentzen, A. Gjedde und A. M. Landau, *Synaptic Vesicle Glycoprotein 2A: Features and Functions*, *Frontiers in neuroscience* **2022**, 16, 864514.
- [69] J. W. Hell, P. R. Maycox, H. Stadler und R. Jahn, *Uptake of GABA by rat brain synaptic vesicles isolated by a new procedure*, *Embo j* **1988**, 7, 3023–3029.
- [70] P. R. Maycox, T. Deckwerth, J. W. Hell und R. Jahn, *Glutamate uptake by brain synaptic vesicles. Energy dependence of transport and functional reconstitution in proteoliposomes*, *J Biol Chem* **1988**, 263, 15423–15428.
- [71] Y. Murata, G.-H. Sun-Wada, T. Yoshimizu, A. Yamamoto, Y. Wada und M. Futai, *Differential Localization of the Vacuolar H⁺ Pump with G Subunit Isoforms (G1 and G2) in Mouse Neurons*, *J Biol Chem* **2002**, 277, 36296–36303.
- [72] Y. M. Abbas, D. Wu, S. A. Bueler, C. V. Robinson und J. L. Rubinstein, *Structure of V-ATPase from the mammalian brain* **2020**, 367, 1240–1246.
- [73] Y. Y. Sautin, M. Lu, A. Gaugler, L. Zhang und S. L. Gluck, *Phosphatidylinositol 3-kinase-mediated effects of glucose on vacuolar H⁺-ATPase assembly, translocation, and acidification of intracellular compartments in renal epithelial cells*, *Mol Cell Biol* **2005**, 25, 575–589.
- [74] K. Tabke, A. Albertmelcher, O. Vitavska, M. Huss, H. P. Schmitz und H. Wiczorek, *Reversible disassembly of the yeast V-ATPase revisited under in vivo conditions*, *Biochem J* **2014**, 462, 185–197.
- [75] M. Voss, O. Vitavska, B. Walz, H. Wiczorek und O. Baumann, *Stimulus-induced phosphorylation of vacuolar H(+)-ATPase by protein kinase A*, *J Biol Chem* **2007**, 282, 33735–33742.
- [76] P. M. Kane, *Disassembly and Reassembly of the Yeast Vacuolar H⁺-ATPase in Vivo*, *J Biol Chem* **1995**, 270, 17025–17032.
- [77] J. P. Sumner, J. A. Dow, F. G. Earley, U. Klein, D. Jäger und H. Wiczorek, *Regulation of plasma membrane V-ATPase activity by dissociation of peripheral subunits*, *J Biol Chem* **1995**, 270, 5649–5653.
- [78] M. Forgac, *Vacuolar ATPases: rotary proton pumps in physiology and pathophysiology*, *Nat Rev Mol Cell Biol* **2007**, 8, 917–929.
- [79] F. Supek, L. Supekova, S. Mandiyan, Y. C. Pan, H. Nelson und N. Nelson, *A novel accessory subunit for vacuolar H(+)-ATPase from chromaffin granules*, *J Biol Chem* **1994**, 269, 24102–24106.

- [80] S. H. Roh, N. J. Stam, C. F. Hryc, S. Couoh-Cardel, G. Pintilie, W. Chiu und S. Wilkens, *The 3.5-Å CryoEM Structure of Nanodisc-Reconstituted Yeast Vacuolar ATPase V(o) Proton Channel*, *Mol Cell* **2018**, 69, 993–1004.e3.
- [81] K. Cotter, L. Stransky, C. McGuire und M. Forgac, *Recent Insights into the Structure, Regulation, and Function of the V-ATPases*, *Trends Biochem Sci* **2015**, 40, 611–622.
- [82] M. T. Mazhab-Jafari, A. Rohou, C. Schmidt, S. A. Bueler, S. Benlekbir, C. V. Robinson und J. L. Rubinstein, *Atomic model for the membrane-embedded VO motor of a eukaryotic V-ATPase*, *Nature* **2016**, 539, 118–122.
- [83] K. J. Parra, K. L. Keenan und P. M. Kane, *The H subunit (Vma13p) of the yeast V-ATPase inhibits the ATPase activity of cytosolic V1 complexes*, *J Biol Chem* **2000**, 275, 21761–21767.
- [84] T. Vasanthakumar, S. A. Bueler, Di Wu, V. Beilsten-Edmands, C. V. Robinson und J. L. Rubinstein, *Structural comparison of the vacuolar and Golgi V-ATPases from Saccharomyces cerevisiae*, *Proc Natl Acad Sci U S A* **2019**, 116, 7272–7277.
- [85] T. Söllner, S. W. Whiteheart, M. Brunner, H. Erdjument-Bromage, S. Geromanos, P. Tempst und J. E. Rothman, *SNAP receptors implicated in vesicle targeting and fusion*, *Nature* **1993**, 362, 318–324.
- [86] R. B. Sutton, D. Fasshauer, R. Jahn und A. T. Brunger, *Crystal structure of a SNARE complex involved in synaptic exocytosis at 2.4 Å resolution*, *Nature* **1998**, 395, 347–353.
- [87] A. Stein, G. Weber, M. C. Wahl und R. Jahn, *Helical extension of the neuronal SNARE complex into the membrane*, *Nature* **2009**, 460, 525–528.
- [88] M. Holt, D. Riedel, A. Stein, C. Schuette und R. Jahn, *Synaptic vesicles are constitutively active fusion machines that function independently of Ca²⁺*, *Curr Biol* **2008**, 18, 715–722.
- [89] N. Upmanyu, J. Jin, H. von der Emde, M. Ganzella, L. Bösche, V. N. Malviya, E. Zhuleku, A. Z. Politi, M. Ninov, I. Silbern, M. Leutenegger, H. Urlaub, D. Riedel, J. Preobraschenski, I. Milosevic, S. W. Hell, R. Jahn und S. Sambandan, *Colocalization of different neurotransmitter transporters on synaptic vesicles is sparse except for VGLUT1 and ZnT3*, *Neuron* **2022**, 110, 1483–1497.e7.
- [90] Z. Farsi, R. Jahn und A. Woehler, *Proton electrochemical gradient: Driving and regulating neurotransmitter uptake*, *BioEssays : news and reviews in molecular, cellular and developmental biology* **2017**, 39.
- [91] M. Martineau, R. E. Guzman, C. Fahlke und J. Klingauf, *VGLUT1 functions as a glutamate/proton exchanger with chloride channel activity in hippocampal glutamatergic synapses*, *Nat Commun* **2017**, 8, 2279.
- [92] T. Hori und S. Takamori, *Physiological Perspectives on Molecular Mechanisms and Regulation of Vesicular Glutamate Transport: Lessons From Calyx of Held Synapses*, *Front Cell Neurosci* **2021**, 15, 811892.
- [93] M. Zhang und G. J. Augustine, *Synapsins and the Synaptic Vesicle Reserve Pool: Floats or Anchors?*, *Cells* **2021**, 10.
- [94] P. de Camilli, R. Cameron und P. Greengard, *Synapsin I (protein I), a nerve terminal-specific phosphoprotein. I. Its general distribution in synapses of the central and peripheral nervous system demonstrated by immunofluorescence in frozen and plastic sections*, *J Cell Biol* **1983**, 96, 1337–1354.
- [95] P. de Camilli, S. M. Harris, W. B. Huttner und P. Greengard, *Synapsin I (Protein I), a nerve terminal-specific phosphoprotein. II. Its specific association with synaptic vesicles demonstrated by immunocytochemistry in agarose-embedded synaptosomes*, *J Cell Biol* **1983**, 96, 1355–1373.
- [96] K. E. Fouke, M. E. Wegman, S. A. Weber, E. B. Brady, C. Román-Vendrell und J. R. Morgan, *Synuclein Regulates Synaptic Vesicle Clustering and Docking at a Vertebrate Synapse*, *Frontiers in cell and developmental biology* **2021**, 9, 774650.
- [97] N. J. Pavlos, M. Grønberg, D. Riedel, J. J. E. Chua, J. Boyken, T. H. Kloepper, H. Urlaub, S. O. Rizzoli und R. Jahn, *Quantitative analysis of synaptic vesicle Rabs uncovers distinct yet overlapping roles for Rab3a and Rab27b in Ca²⁺-triggered exocytosis*, *J Neurosci* **2010**, 30, 13441–13453.
- [98] B. Binotti, R. Jahn und J. J. E. Chua, *Functions of Rab Proteins at Presynaptic Sites*, *Cells* **2016**, 5.

- [99] Y. Takai, T. Sasaki, H. Shirataki und H. Nakanishi, *Rab3A small GTP-binding protein in Ca(2+)-dependent exocytosis*, *Genes to cells : devoted to molecular & cellular mechanisms* **1996**, 1, 615–632.
- [100] M. Geppert, Y. Goda, C. F. Stevens und T. C. Südhof, *The small GTP-binding protein Rab3A regulates a late step in synaptic vesicle fusion*, *Nature* **1997**, 387, 810–814.
- [101] R. D. Burgoyne und A. Morgan, *Cysteine string protein (CSP) and its role in preventing neurodegeneration*, *Seminars in cell & developmental biology* **2015**, 40, 153–159.
- [102] M. A. Gonzalez-Lozano, F. Koopmans, P. F. Sullivan, J. Protze, G. Krause, M. Verhage, K. W. Li, F. Liu und A. B. Smit, *Stitching the synapse: Cross-linking mass spectrometry into resolving synaptic protein interactions*, *Sci Adv* **2020**, 6, eaax5783.
- [103] L. Edelmann, P. I. Hanson, E. R. Chapman und R. Jahn, *Synaptobrevin binding to synaptophysin: a potential mechanism for controlling the exocytotic fusion machine*, *Embo j* **1995**, 14, 224–231.
- [104] D. J. Adams, C. P. Arthur und M. H. Stowell, *Architecture of the Synaptophysin/Synaptobrevin Complex: Structural Evidence for an Entropic Clustering Function at the Synapse*, *Sci Rep* **2015**, 5, 13659.
- [105] C. P. Arthur und M. H. Stowell, *Structure of synaptophysin: a hexameric MARVEL-domain channel protein*, *Structure* **2007**, 15, 707–714.
- [106] T. Galli, P. S. McPherson und P. de Camilli, *The V0 sector of the V-ATPase, synaptobrevin, and synaptophysin are associated on synaptic vesicles in a Triton X-100-resistant, freeze-thawing sensitive, complex*, *J Biol Chem* **1996**, 271, 2193–2198.
- [107] M. K. Bennett, N. Calakos, T. Kreiner und R. H. Scheller, *Synaptic vesicle membrane proteins interact to form a multimeric complex*, *J Cell Biol* **1992**, 116, 761–775.
- [108] J. Di Giovanni, S. Boudkkazi, S. Mochida, A. Bialowas, N. Samari, C. Lévêque, F. Youssouf, A. Brechet, C. Iborra, Y. Maulet, N. Moutot, D. Debanne, M. Seagar und O. El Far, *V-ATPase membrane sector associates with synaptobrevin to modulate neurotransmitter release*, *Neuron* **2010**, 67, 268–279.
- [109] J. Griffiths, *A brief history of mass spectrometry*, *Anal Chem* **2008**, 80, 5678–5683.
- [110] A. Leitner, *Cross-linking and other structural proteomics techniques: how chemistry is enabling mass spectrometry applications in structural biology*, *Chem Sci* **2016**, 7, 4792–4803.
- [111] S. Mehmood, T. M. Allison und C. V. Robinson, *Mass spectrometry of protein complexes: from origins to applications*, *Annu Rev Phys Chem* **2015**, 66, 453–474.
- [112] R. Aebersold und M. Mann, *Mass-spectrometric exploration of proteome structure and function*, *Nature* **2016**, 537, 347–355.
- [113] A. Shevchenko, M. Wilm, O. Vorm und M. Mann, *Mass spectrometric sequencing of proteins silver-stained polyacrylamide gels*, *Anal Chem* **1996**, 68, 850–858.
- [114] A. Shevchenko, H. Tomas, J. Havlis, J. V. Olsen und M. Mann, *In-gel digestion for mass spectrometric characterization of proteins and proteomes*, *Nat Protoc* **2006**, 1, 2856–2860.
- [115] J. V. Olsen, S. E. Ong und M. Mann, *Trypsin cleaves exclusively C-terminal to arginine and lysine residues*, *Mol Cell Proteomics* **2004**, 3, 608–614.
- [116] J. V. Olsen und M. Mann, *Improved peptide identification in proteomics by two consecutive stages of mass spectrometric fragmentation*, *Proc Natl Acad Sci U S A* **2004**, 101, 13417–13422.
- [117] V. H. Wysocki, K. A. Resing, Q. Zhang und G. Cheng, *Mass spectrometry of peptides and proteins*, *Methods* **2005**, 35, 211–222.
- [118] M. Wilm und M. Mann, *Analytical properties of the nanoelectrospray ion source*, *Anal Chem* **1996**, 68, 1–8.
- [119] J. B. Fenn, M. Mann, C. K. Meng, S. F. Wong und C. M. Whitehouse, *Electrospray ionization for mass spectrometry of large biomolecules*, *Science* **1989**, 246, 64–71.
- [120] J. V. Olsen, B. Macek, O. Lange, A. Makarov, S. Horning und M. Mann, *Higher-energy C-trap dissociation for peptide modification analysis*, *Nat Methods* **2007**, 4, 709–712.

- [121] A. Michalski, E. Damoc, J. P. Hauschild, O. Lange, A. Wieghaus, A. Makarov, N. Nagaraj, J. Cox, M. Mann und S. Horning, *Mass spectrometry-based proteomics using Q Exactive, a high-performance benchtop quadrupole Orbitrap mass spectrometer*, *Mol Cell Proteomics* **2011**, *10*, M111.011015.
- [122] UniProtConsortium, *UniProt: a worldwide hub of protein knowledge*, *Nucleic Acids Res* **2019**, *47*, D506-d515.
- [123] J. K. Eng, A. L. McCormack und J. R. Yates, *An approach to correlate tandem mass spectral data of peptides with amino acid sequences in a protein database*, *J Am Soc Mass Spectrom* **1994**, *5*, 976–989.
- [124] D. N. Perkins, D. J. Pappin, D. M. Creasy und J. S. Cottrell, *Probability-based protein identification by searching sequence databases using mass spectrometry data*, *Electrophoresis* **1999**, *20*, 3551–3567.
- [125] J. Cox und M. Mann, *MaxQuant enables high peptide identification rates, individualized p.p.b.-range mass accuracies and proteome-wide protein quantification*, *Nat Biotechnol* **2008**, *26*, 1367–1372.
- [126] J. Cox und M. Mann, *Computational principles of determining and improving mass precision and accuracy for proteome measurements in an Orbitrap*, *J Am Soc Mass Spectrom* **2009**, *20*, 1477–1485.
- [127] J. Cox, A. Michalski und M. Mann, *Software lock mass by two-dimensional minimization of peptide mass errors*, *J Am Soc Mass Spectrom* **2011**, *22*, 1373–1380.
- [128] J. Cox, M. Y. Hein, C. A. Luber, I. Paron, N. Nagaraj und M. Mann, *Accurate proteome-wide label-free quantification by delayed normalization and maximal peptide ratio extraction, termed MaxLFQ*, *Mol Cell Proteomics* **2014**, *13*, 2513–2526.
- [129] C. Schaab, T. Geiger, G. Stoehr, J. Cox und M. Mann, *Analysis of high accuracy, quantitative proteomics data in the MaxQB database*, *Mol Cell Proteomics* **2012**, *11*, M111.014068.
- [130] S. Tyanova, T. Temu, A. Carlson, P. Sinitcyn, M. Mann und J. Cox, *Visualization of LC-MS/MS proteomics data in MaxQuant*, *Proteomics* **2015**, *15*, 1453–1456.
- [131] J. Cox, N. Neuhauser, A. Michalski, R. A. Scheltema, J. V. Olsen und M. Mann, *Andromeda: a peptide search engine integrated into the MaxQuant environment*, *J Proteome Res* **2011**, *10*, 1794–1805.
- [132] B. Schwanhauser, D. Busse, N. Li, G. Dittmar, J. Schuchhardt, J. Wolf, W. Chen und M. Selbach, *Global quantification of mammalian gene expression control*, *Nature* **2011**, *473*, 337–342.
- [133] C. Clegg und D. Hayes, *Identification of neighbouring proteins in the ribosomes of Escherichia coli. A topographical study with the cross-linking reagent dimethyl suberimidate*, *Eur J Biochem* **1974**, *42*, 21–28.
- [134] J. Rappsilber, S. Siniosoglou, E. C. Hurt und M. Mann, *A generic strategy to analyze the spatial organization of multi-protein complexes by cross-linking and mass spectrometry*, *Anal Chem* **2000**, *72*, 267–275.
- [135] J. Rappsilber, *The beginning of a beautiful friendship: cross-linking/mass spectrometry and modelling of proteins and multi-protein complexes*, *J Struct Biol* **2011**, *173*, 530–540.
- [136] B. Schilling, R. H. Row, B. W. Gibson, X. Guo und M. M. Young, *MS2Assign, automated assignment and nomenclature of tandem mass spectra of chemically crosslinked peptides*, *J Am Soc Mass Spectrom* **2003**, *14*, 834–850.
- [137] S. H. Giese, L. Fischer und J. Rappsilber, *A Study into the Collision-induced Dissociation (CID) Behavior of Cross-Linked Peptides*, *Mol Cell Proteomics* **2016**, *15*, 1094–1104.
- [138] M. Götze, J. Pettelkau, S. Schaks, K. Bosse, C. H. Ihling, F. Krauth, R. Fritzsche, U. Kühn und A. Sinz, *StavroX--a software for analyzing crosslinked products in protein interaction studies*, *J Am Soc Mass Spectrom* **2012**, *23*, 76–87.
- [139] B. Yang, Y. J. Wu, M. Zhu, S. B. Fan, J. Lin, K. Zhang, S. Li, H. Chi, Y. X. Li, H. F. Chen, S. K. Luo, Y. H. Ding, L. H. Wang, Z. Hao, L. Y. Xiu, S. Chen, K. Ye, S. M. He und M. Q. Dong, *Identification of cross-linked peptides from complex samples*, *Nat Methods* **2012**, *9*, 904–906.

- [140] Z. L. Chen, J. M. Meng, Y. Cao, J. L. Yin, R. Q. Fang, S. B. Fan, C. Liu, W. F. Zeng, Y. H. Ding, D. Tan, L. Wu, W. J. Zhou, H. Chi, R. X. Sun, M. Q. Dong und S. M. He, *A high-speed search engine pLink 2 with systematic evaluation for proteome-scale identification of cross-linked peptides*, *Nat Commun* **2019**, *10*, 3404.
- [141] M. L. Mendes, L. Fischer, Z. A. Chen, M. Barbon, F. J. O'Reilly, S. H. Giese, M. Bohlke-Schneider, A. Belsom, T. Dau, C. W. Combe, M. Graham, M. R. Eisele, W. Baumeister, C. Speck und J. Rappsilber, *An integrated workflow for crosslinking mass spectrometry*, *Molecular systems biology* **2019**, *15*, e8994.
- [142] C. Iacobucci, C. Piotrowski, R. Aebersold, B. C. Amaral, P. Andrews, K. Bernfur, C. Borchers, N. I. Brodie, J. E. Bruce, Y. Cao, S. Chaignepain, J. D. Chavez, S. Claverol, J. Cox, T. Davis, G. Degliesposti, M. Q. Dong, N. Edinger, C. Emanuelsson, M. Gay, M. Gotze, F. Gomes-Neto, F. C. Gozzo, C. Gutierrez, C. Haupt, A. J. R. Heck, F. Herzog, L. Huang, M. R. Hoopmann, N. Kalisman, O. Klykov, Z. Kukacka, F. Liu, M. J. MacCoss, K. Mechtler, R. Mesika, R. L. Moritz, N. Nagaraj, V. Nesati, A. G. C. Neves-Ferreira, R. Ninnis, P. Novak, F. J. O'Reilly, M. Pelzing, E. Petrotchenko, L. Piersimoni, M. Plasencia, T. Pukala, K. D. Rand, J. Rappsilber, D. Reichmann, C. Sailer, C. P. Sarnowski, R. A. Scheltema, C. Schmidt, D. C. Schriemer, Y. Shi, J. M. Skehel, M. Slavin, F. Sobott, V. Solis-Mezarino, H. Stephanowitz, F. Stengel, C. E. Stieger, E. Trabjerg, M. Trnka, M. Vilaseca, R. Viner, Y. Xiang, S. Yilmaz, A. Zelter, D. Ziemianowicz, A. Leitner und A. Sinz, *First Community-Wide, Comparative Cross-Linking Mass Spectrometry Study*, *Anal Chem* **2019**, *91*, 6953–6961.
- [143] V. L. Mendoza und R. W. Vachet, *Protein Surface Mapping Using Diethylpyrocarbonate with Mass Spectrometric Detection*, *Anal Chem* **2008**, *80*, 2895–2904.
- [144] M. Barth, J. Bender, T. Kundlacz und C. Schmidt, *Evaluation of NHS-Acetate and DEPC labelling for determination of solvent accessible amino acid residues in protein complexes*, *J Proteomics* **2020**, *222*, 103793.
- [145] H. Hernandez und C. V. Robinson, *Determining the stoichiometry and interactions of macromolecular assemblies from mass spectrometry*, *Nat Protoc* **2007**, *2*, 715–726.
- [146] A. J. R. Heck, *Native mass spectrometry: a bridge between interactomics and structural biology*, *Nat Methods* **2008**, *5*, 927–933.
- [147] F. Sobott, H. Hernández, M. G. McCammon, M. A. Tito und C. V. Robinson, *A tandem mass spectrometer for improved transmission and analysis of large macromolecular assemblies*, *Anal Chem* **2002**, *74*, 1402–1407.
- [148] M. Barth und C. Schmidt, *Native mass spectrometry-A valuable tool in structural biology*, *J Mass Spectrom* **2020**, *55*, e4578.
- [149] N. Morgner und C. V. Robinson, *Massign: an assignment strategy for maximizing information from the mass spectra of heterogeneous protein assemblies*, *Anal Chem* **2012**, *84*, 2939–2948.
- [150] S. Warnke, G. von Helden und K. Pagel, *Analyzing the higher order structure of proteins with conformer-selective ultraviolet photodissociation*, *Proteomics* **2015**, *15*, 2804–2812.
- [151] A. Marchand, S. Livet, F. Rosu und V. Gabelica, *Drift Tube Ion Mobility: How to Reconstruct Collision Cross Section Distributions from Arrival Time Distributions?*, *Anal Chem* **2017**, *89*, 12674–12681.
- [152] E. A. Mason und H. W. Schamp, *Mobility of gaseous ions in weak electric fields*, *Annals of Physics* **1958**, *4*, 233–270, <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0003491658900496>.
- [153] J. N. Dodds und E. S. Baker, *Ion Mobility Spectrometry: Fundamental Concepts, Instrumentation, Applications, and the Road Ahead*, *J Am Soc Mass Spectrom* **2019**, *30*, 2185–2195.
- [154] M. Grimm, T. Zimniak, A. Kahraman und F. Herzog, *xVis: a web server for the schematic visualization and interpretation of crosslink-derived spatial restraints*, *Nucleic Acids Res* **2015**, *43*, W362-9.
- [155] S. Tyanova, T. Temu, P. Sinitcyn, A. Carlson, M. Y. Hein, T. Geiger, M. Mann und J. Cox, *The Perseus computational platform for comprehensive analysis of (prote)omics data*, *Nat Methods* **2016**, *13*, 731–740.
- [156] J. Cox und M. Mann, *1D and 2D annotation enrichment: a statistical method integrating quantitative proteomics with complementary high-throughput data*, *BMC Bioinformatics* **2012**, *13 Suppl 16*, S12.

- [157] J. Bender und C. Schmidt, *The CroCo cross-link converter: a user-centred tool to convert results from crosslinking mass spectrometry experiments*, *Bioinformatics* **2019**.
- [158] Z.-F. Yuan, C. Liu, H.-P. Wang, R.-X. Sun, Y. Fu, J.-F. Zhang, L.-H. Wang, H. Chi, Y. Li, L.-Y. Xiu, W.-P. Wang und S.-M. He, *pParse: a method for accurate determination of monoisotopic peaks in high-resolution mass spectra*, *Proteomics* **2012**, *12*, 226–235.
- [159] R. Olivella, C. Chiva, M. Serret, D. Mancera, L. Cozzuto, A. Hermoso, E. Borràs, G. Espadas, J. Morales, O. Pastor, A. Solé, J. Ponomarenko und E. Sabidó, *QCloud2: An Improved Cloud-based Quality-Control System for Mass-Spectrometry-based Proteomics Laboratories*, *J Proteome Res* **2021**, *20*, 2010–2013.
- [160] W. B. Huttner, W. Schiebler, P. Greengard und P. de Camilli, *Synapsin I (protein I), a nerve terminal-specific phosphoprotein. III. Its association with synaptic vesicles studied in a highly purified synaptic vesicle preparation*, *J Cell Biol* **1983**, *96*, 1374–1388.
- [161] A. Nagy, R. R. Baker, S. J. Morris und V. P. Whittaker, *The preparation and characterization of synaptic vesicles of high purity*, *Brain Res* **1976**, *109*, 285–309.
- [162] J. V. Olsen, L. M. de Godoy, G. Li, B. Macek, P. Mortensen, R. Pesch, A. Makarov, O. Lange, S. Horning und M. Mann, *Parts per million mass accuracy on an Orbitrap mass spectrometer via lock mass injection into a C-trap*, *Mol Cell Proteomics* **2005**, *4*, 2010–2021.
- [163] C. Haupt, T. Hofmann, S. Wittig, S. Kostmann, A. Politis und C. Schmidt, *Combining Chemical Cross-linking and Mass Spectrometry of Intact Protein Complexes to Study the Architecture of Multi-subunit Protein Assemblies*, *J Vis Exp* **2017**.
- [164] Y. Perez-Riverol, A. Csordas, J. Bai, M. Bernal-Llinares, S. Hewapathirana, D. J. Kundu, A. Inuganti, J. Griss, G. Mayer, M. Eisenacher, E. Pérez, J. Uszkoreit, J. Pfeuffer, T. Sachsenberg, S. Yilmaz, S. Tiwary, J. Cox, E. Audain, M. Walzer, A. F. Jarnuczak, T. Ternent, A. Brazma und J. A. Vizcaino, *The PRIDE database and related tools and resources in 2019: improving support for quantification data*, *Nucleic Acids Res* **2019**, *47*, D442-D450.
- [165] A. J. B. Kreutzberger, V. Kiessling, C. Stroupe, B. Liang, J. Preobraschenski, M. Ganzella, M. A. B. Kreutzberger, R. Nakamoto, R. Jahn, J. D. Castle und L. K. Tamm, *In vitro fusion of single synaptic and dense core vesicles reproduces key physiological properties*, *Nat Commun* **2019**, *10*, 3904.
- [166] D. Vuckovic, L. F. Dagley, A. W. Purcell und A. Emili, *Membrane proteomics by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Analytical approaches and challenges*, *Proteomics* **2013**, *13*, 404–423.
- [167] Z. Zhou, S. B. Peng, B. P. Crider, P. Andersen, X. S. Xie und D. K. Stone, *Recombinant SFD isoforms activate vacuolar proton pumps*, *J Biol Chem* **1999**, *274*, 15913–15919.
- [168] R. Jahn und T. C. Sudhof, *Synaptic vesicles and exocytosis*, *Annu Rev Neurosci* **1994**, *17*, 219–246.
- [169] A. Leitner, R. Reischl, T. Walzthoeni, F. Herzog, S. Bohn, F. Forster und R. Aebersold, *Expanding the chemical cross-linking toolbox by the use of multiple proteases and enrichment by size exclusion chromatography*, *Mol Cell Proteomics* **2012**, *11*, M111.014126.
- [170] A. Linden, M. Deckers, I. Parfentev, R. Pflanz, B. Homberg, P. Neumann, R. Ficner, P. Rehling und H. Urlaub, *A cross-linking mass spectrometry approach defines protein interactions in yeast mitochondria*, *Mol Cell Proteomics* **2020**.
- [171] M. Zhou, A. Politis, R. Davies, I. Liko, K.-J. Wu, A. G. Stewart, D. Stock und C. V. Robinson, *Ion mobility-mass spectrometry of a rotary ATPase reveals ATP-induced reduction in conformational flexibility*, *Nat Chem* **2014**, *6*, 208–215.
- [172] K. Tabke, A. Albertmelcher, O. Vitavska, M. Huss, H. P. Schmitz und H. Wieczorek, *Reversible disassembly of the yeast V-ATPase revisited under in vivo conditions*, *Biochem J* **2014**, *462*, 185–197.

- [173] S. Wittig, M. Ganzella, M. Barth, S. Kostmann, D. Riedel, Á. Pérez-Lara, R. Jahn und C. Schmidt, *Cross-linking mass spectrometry uncovers protein interactions and functional assemblies in synaptic vesicle membranes*, *Nat Commun* **2021**, *12*, 858.
- [174] E. D. Merkley, S. Rysavy, A. Kahraman, R. P. Hafen, V. Daggett und J. N. Adkins, *Distance restraints from crosslinking mass spectrometry: mining a molecular dynamics simulation database to evaluate lysine-lysine distances*, *Protein Sci* **2014**, *23*, 747–759.
- [175] J.-I. Kishikawa, A. Nakanishi, A. Furuta, T. Kato, K. Namba, M. Tamakoshi, K. Mitsuoka und K. Yokoyama, *Mechanical inhibition of isolated V_o from V/A -ATPase for proton conductance*, *Elife* **2020**, *9*.
- [176] A. G. Stewart, M. Sobti, R. P. Harvey und D. Stock, *Rotary ATPases: models, machine elements and technical specifications*, *Bioarchitecture* **2013**, *3*, 2–12.
- [177] E. M. Fykse, K. Takei, C. Walch-Solimena, M. Geppert, R. Jahn, P. de Camilli und T. C. Südhof, *Relative properties and localizations of synaptic vesicle protein isoforms: the case of the synaptophysins*, *J Neurosci* **1993**, *13*, 4997–5007.
- [178] S. Kalkhof und A. Sinz, *Chances and pitfalls of chemical cross-linking with amine-reactive N -hydroxysuccinimide esters*, *Anal Bioanal Chem* **2008**, *392*, 305–312.
- [179] J. M. Hernandez, A. J. B. Kreuzberger, V. Kiessling, L. K. Tamm und R. Jahn, *Variable cooperativity in SNARE-mediated membrane fusion*, *Proc Natl Acad Sci U S A* **2014**, *111*, 12037–12042.
- [180] K. Bacia, C. G. Schuette, N. Kahya, R. Jahn und P. Schwille, *SNAREs prefer liquid-disordered over "raft" (liquid-ordered) domains when reconstituted into giant unilamellar vesicles*, *J Biol Chem* **2004**, *279*, 37951–37955.
- [181] K. Wiederhold, T. H. Kloepper, A. M. Walter, A. Stein, N. Kienle, J. B. Sørensen und D. Fasshauer, *A coiled coil trigger site is essential for rapid binding of synaptobrevin to the SNARE acceptor complex*, *J Biol Chem* **2010**, *285*, 21549–21559.
- [182] C. Bleiholder, N. F. Dupuis, T. Wyttenbach und M. T. Bowers, *Ion mobility-mass spectrometry reveals a conformational conversion from random assembly to β -sheet in amyloid fibril formation*, *Nat Chem* **2011**, *3*, 172–177.
- [183] S. Wittig, C. Haupt, W. Hoffmann, S. Kostmann, K. Pagel und C. Schmidt, *Oligomerisation of Synaptobrevin-2 Studied by Native Mass Spectrometry and Chemical Cross-Linking*, *J Am Soc Mass Spectrom* **2019**, *30*, 149–160.
- [184] A. V. Pobbati, A. Stein und D. Fasshauer, *N - to C -terminal SNARE complex assembly promotes rapid membrane fusion*, *Science* **2006**, *313*, 673–676.
- [185] D. Fasshauer, D. Bruns, B. Shen, R. Jahn und A. T. Brünger, *A structural change occurs upon binding of syntaxin to SNAP-25*, *J Biol Chem* **1997**, *272*, 4582–4590.
- [186] Q. Zhou, P. Zhou, A. L. Wang, D. Wu, M. Zhao, T. C. Südhof und A. T. Brunger, *The primed SNARE-complexin-synaptotagmin complex for neuronal exocytosis*, *Nature* **2017**, *548*, 420–425.
- [187] M. Zerial und H. McBride, *Rab proteins as membrane organizers*, *Nat Rev Mol Cell Biol* **2001**, *2*, 107–117.
- [188] X. Tang, H. H. Wippel, J. D. Chavez und J. E. Bruce, *Crosslinking mass spectrometry: A link between structural biology and systems biology*, *Protein Sci* **2021**, *30*, 773–784.
- [189] Z. Farsi, S. Gowrisankaran, M. Kronic, B. Rammner, A. Woehler, E. M. Lafer, C. Mim, R. Jahn und I. Milosevic, *Clathrin coat controls synaptic vesicle acidification by blocking vacuolar ATPase activity*, *Elife* **2018**, *7*.
- [190] A. Bodzeta, M. Kahms und J. Klingauf, *The Presynaptic v -ATPase Reversibly Disassembles and Thereby Modulates Exocytosis but Is Not Part of the Fusion Machinery*, *Cell Rep* **2017**, *20*, 1348–1359.
- [191] T. M. Khuong, R. L. P. Habets, S. Kuenen, A. Witkowska, J. Kasproicz, J. Swerts, R. Jahn, G. van den Bogaart und P. Verstreken, *Synaptic $PI(3,4,5)P_3$ is required for Syntaxin1A clustering and neurotransmitter release*, *Neuron* **2013**, *77*, 1097–1108.

- [192] T. Lang, D. Bruns, D. Wenzel, D. Riedel, P. Holroyd, C. Thiele und R. Jahn, *SNAREs are concentrated in cholesterol-dependent clusters that define docking and fusion sites for exocytosis*, *Embo j* **2001**, *20*, 2202–2213.
- [193] D. H. Murray und L. K. Tamm, *Molecular mechanism of cholesterol- and polyphosphoinositide-mediated syntaxin clustering*, *Biochemistry* **2011**, *50*, 9014–9022.
- [194] D. H. Murray und L. K. Tamm, *Clustering of syntaxin-1A in model membranes is modulated by phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate and cholesterol*, *Biochemistry* **2009**, *48*, 4617–4625.
- [195] G. van den Bogaart, K. Meyenberg, H. J. Risselada, H. Amin, K. I. Willig, B. E. Hubrich, M. Dier, S. W. Hell, H. Grubmüller, U. Diederichsen und R. Jahn, *Membrane protein sequestering by ionic protein-lipid interactions*, *Nature* **2011**, *479*, 552–555.
- [196] C. Schmidt, M. Zhou, H. Marriott, N. Morgner, A. Politis und C. V. Robinson, *Comparative cross-linking and mass spectrometry of an intact F-type ATPase suggest a role for phosphorylation*, *Nat Commun* **2013**, *4*, 1985.
- [197] L. Fonseca-Ornelas, C. Schmidt, A. R. Camacho-Zarco, C. O. Fernandez, S. Becker und M. Zweckstetter, *Small-Molecule-Induced Soluble Oligomers of α -Synuclein with Helical Structure*, *Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)* **2017**, *23*, 13010–13014.
- [198] A. Scacioc, C. Schmidt, T. Hofmann, H. Urlaub, K. Kühnel und Á. Pérez-Lara, *Structure based biophysical characterization of the PROPPIN Atg18 shows Atg18 oligomerization upon membrane binding*, *Sci Rep* **2017**, *7*, 14008.
- [199] P. Knaus, B. Marquèze-Pouey, H. Scherer und H. Betzt, *Synaptoporin, a novel putative channel protein of synaptic vesicles*, *Neuron* **1990**, *5*, 453–462.
- [200] F. Boal, H. Zhang, C. Tessier, P. Scotti und J. Lang, *The variable C-terminus of cysteine string proteins modulates exocytosis and protein-protein interactions*, *Biochemistry* **2004**, *43*, 16212–16223.
- [201] M. Seagar, C. Lévêque, N. Charvin, B. Marquèze, N. Martin-Moutot, J. A. Boudier, J. L. Boudier, Y. Shoji-Kasai, K. Sato und M. Takahashi, *Interactions between proteins implicated in exocytosis and voltage-gated calcium channels*, *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* **1999**, *354*, 289–297.
- [202] S. Takamori, J. S. Rhee, C. Rosenmund und R. Jahn, *Identification of a vesicular glutamate transporter that defines a glutamatergic phenotype in neurons*, *Nature* **2000**, *407*, 189–194.
- [203] E. E. Bellocchio, R. J. Reimer, R. T. Fremeau und R. H. Edwards, *Uptake of glutamate into synaptic vesicles by an inorganic phosphate transporter*, *Science* **2000**, *289*, 957–960.
- [204] M. A. Cousin, *Synaptophysin-dependent synaptobrevin-2 trafficking at the presynapse-Mechanism and function*, *J Neurochem* **2021**, *159*, 78–89.
- [205] S. Hallal, Á. Túzesi, G. E. Grau, M. E. Buckland und K. L. Alexander, *Understanding the extracellular vesicle surface for clinical molecular biology*, *Journal of extracellular vesicles* **2022**, *11*, e12260.

8 Anhang

8.1 Anhangsverzeichnis

8	Anhang	137
8.1	Anhangsverzeichnis	137
8.1.1	Verzeichnis der Abbildungen im Anhang	138
8.1.2	Verzeichnis der Tabellen im Anhang	139
8.2	Ergänzende Abbildungen	140
8.3	Ergänzende Tabellen	148
8.3.1	Identifizierung der Proteine synaptischer Vesikel.	148
8.3.2	Proteininteraktionen synaptischer Vesikel.	185
8.3.3	Abstände der quervernetzten Aminosäuren innerhalb der V-ATPase.	203
8.3.4	Modifizierte Aminosäurereste der Proteine synaptischer Vesikel.....	207
8.3.5	Identifizierte Quervernetzungen der Synaptobrevin-2-Varianten.	214
8.3.6	Identifizierte Quervernetzungen nach Spaltung von Synaptobrevin-2 mit BoNT B.....	216
8.3.7	Identifizierte Quervernetzungen nach Inkubation der synaptischen Vesikel mit einem Überschuss an löslichem Δ N-SNARE-Komplex.	225
8.3.8	Identifizierte Quervernetzungen nach Fusion der synaptischen Vesikel mit Proteoliposomen.	241
	Danksagung	263
	Publikationen	265
	Präsentationen	266
	Posterpräsentationen	267
	Lebenslauf	268
	Eidesstattliche Erklärung	269

8.1.1 Verzeichnis der Abbildungen im Anhang

Abbildung A. 1: Elektronenmikroskopische Aufnahmen von präparierten synaptischen Vesikeln. ...	140
Abbildung A. 2: Ergebnisse der Western Blots als Nachweis der Hauptproteinkomponenten synaptischer Vesikel.	140
Abbildung A. 3: Fusion von synaptischen Vesikeln mit „leeren“ Liposomen.	141
Abbildung A. 4: Abgleich der identifizierten Quervernetzungen des V ATPase Komplexes mit dem Strukturmodell.	142
Abbildung A. 5: Verteilung willkürlicher Quervernetzungen des V ATPase Komplexes.	142
Abbildung A. 6: Modifizierung der Proteine synaptischer Vesikel.	143
Abbildung A. 7: Intermolekulare Interaktion zwischen zwei Syb(1-116) Kopien.	143
Abbildung A. 8: Massenspektrum von Syb(49-96).	144
Abbildung A. 9: Ergebnisse der IM-MS-Messung von Syb(49-96).	145
Abbildung A. 10: Venn Diagramm der identifizierten Quervernetzungen nach Spaltung von Synaptobrevin 2 synaptischer Vesikel mit BoNT B.	146
Abbildung A. 11: Venn-Diagramm der identifizierten Quervernetzungen nach Inkubation mit dem löslichen Δ N SNARE Komplex.	146
Abbildung A. 12: Venn-Diagramm der identifizierten Quervernetzungen fusionierter synaptischer Vesikel.	147

8.1.2 Verzeichnis der Tabellen im Anhang

Tabelle A. 1:	Proteinidentifizierung synaptischer Vesikel.	150
Tabelle A. 2:	Proteininteraktionen unbehandelter synaptischer Vesikel.	187
Tabelle A. 3:	C α -C α Abstände der identifizierten Quervernetzungen innerhalb des V-ATPase Komplexes.	205
Tabelle A. 4:	Modifizierte Aminosäurereste der Proteine synaptischer Vesikel.	209
Tabelle A. 5:	Identifizierte Quervernetzungen der Synaptobrevin-2-Varianten.	216
Tabelle A. 6:	Identifizierte Quervernetzungen nach Spaltung von Synaptobrevin-2 mit BoNT B... ..	218
Tabelle A. 7:	Identifizierte Quervernetzungen nach Inkubation der synaptischen Vesikel mit einem Überschuss an löslichem Δ N-SNARE Komplex.	227
Tabelle A. 8:	Identifizierte Quervernetzungen nach Fusion der synaptischen Vesikel mit Proteoliposomen.	244

8.2 Ergänzende Abbildungen

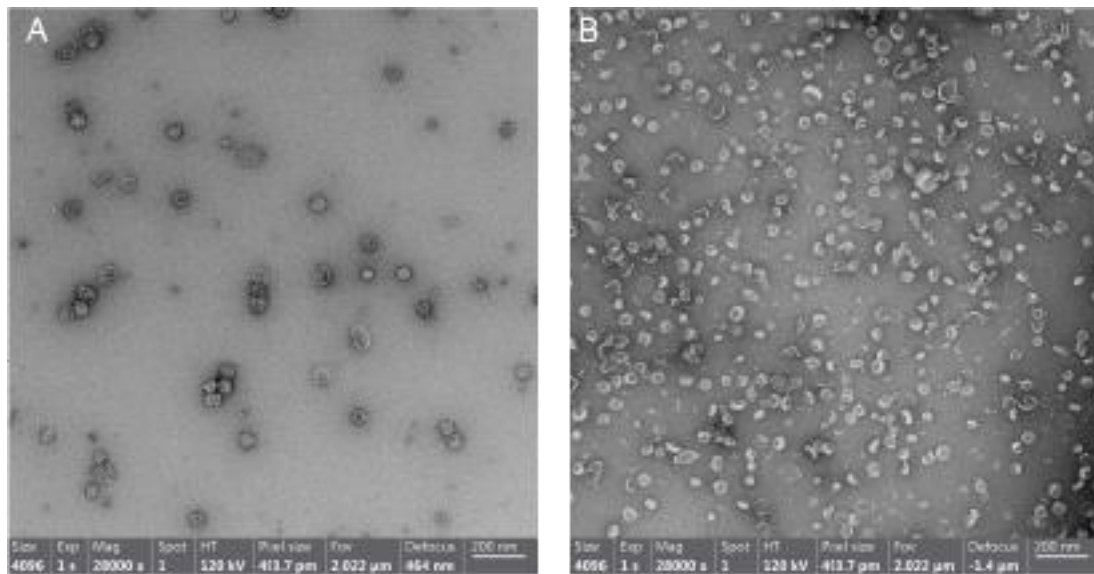


Abbildung A. 1: Elektronenmikroskopische Aufnahmen von präparierten synaptischen Vesikeln.

A: Synaptische Vesikel vor Anreicherung mittels Größenausschlusschromatographie. B: Synaptische Vesikel nach Anreicherung mittels Größenausschlusschromatographie. Nach der Größenausschlusschromatographie ist die Anzahl unversehrter synaptischer Vesikel deutlich erhöht.



Abbildung A. 2: Ergebnisse der Western Blots als Nachweis der Hauptproteinkomponenten synaptischer Vesikel.

Detektierte Banden der Hauptproteinkomponenten von synaptischen Vesikeln mit 4 µg Gesamtprotein mit Hilfe spezifischer Antikörper gegen die Hauptproteinkomponenten (siehe Annotation) sind gezeigt. Sekundär-Antikörper: anti-Rabbit IgG (Gesamtmolekül)-Peroxidase Antikörper gegen anti-V-ATPase-a und anti-Mouse IgG (Gesamtmolekül)-Peroxidase AK gegen die anderen Primärantikörper.

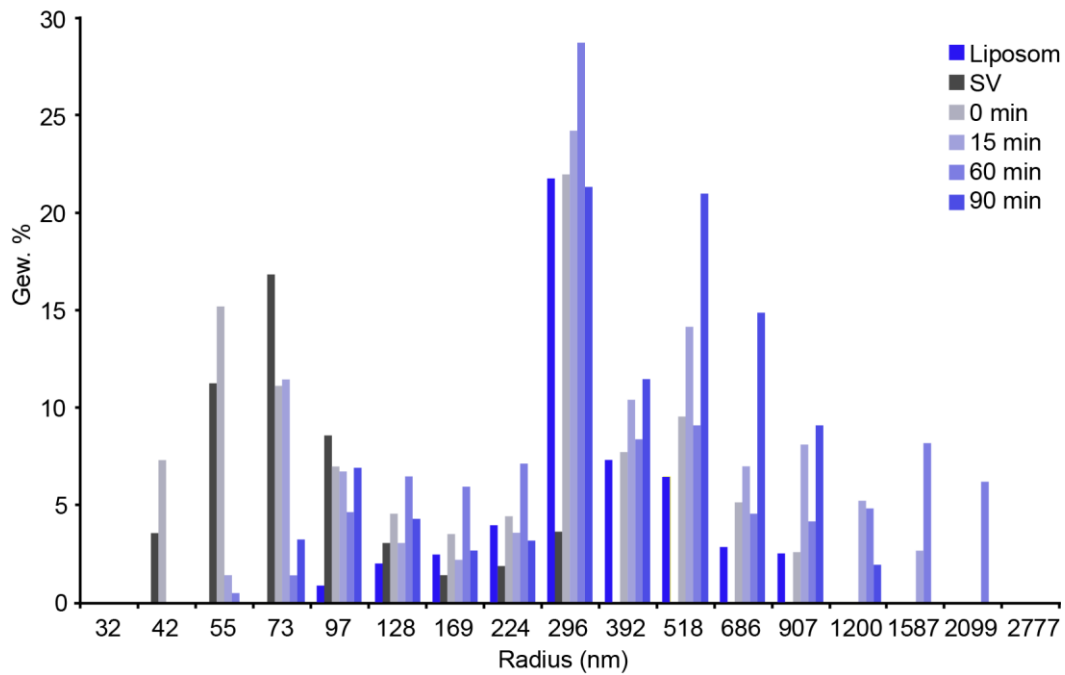


Abbildung A. 3: Fusion von synaptischen Vesikeln mit „leeren“ Liposomen.

Synaptische Vesikel (SV; grau) wurden mit Δ N-SNARE-Liposomen (blau) inkubiert. Die Fusion wurde mittels dynamischer Lichtstreuung zu unterschiedlichen Zeitpunkten (0, 15, 60 und 90 min) verfolgt. Die Maxima verschieben sich nach 60 min zu einem Radius von 224 nm bis 296 nm, während das Signal synaptischer Vesikel (SV) bei 55 nm bis 73 nm deutlich geringer ist. Die Messwerte eines Replikates sind aufgezeigt.

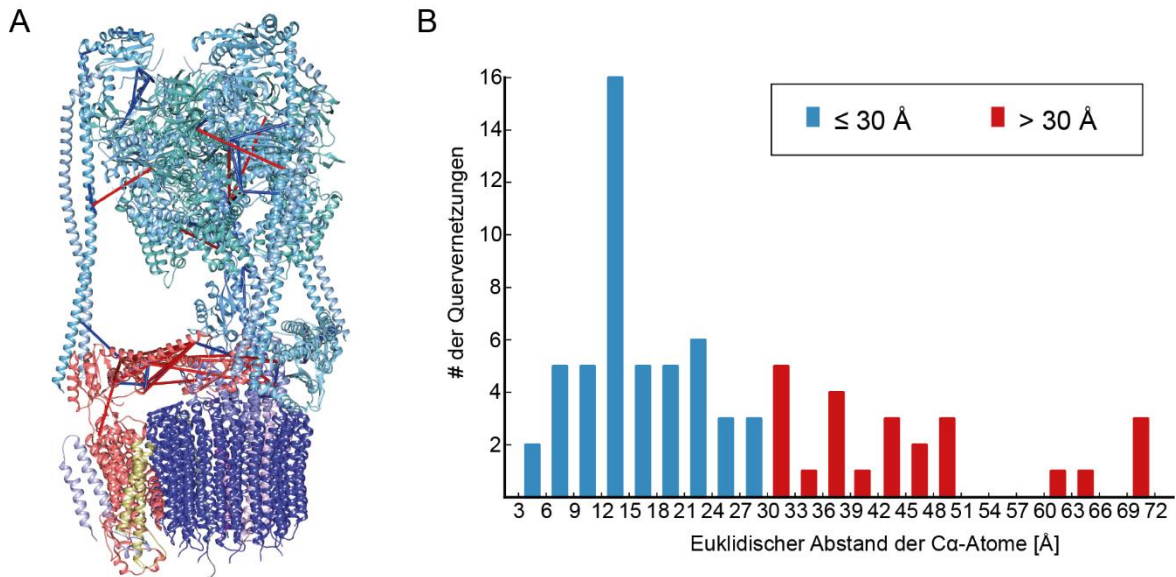


Abbildung A. 4: Abgleich der identifizierten Quervernetzungen des V-ATPase-Komplexes mit dem Strukturmodell.

(A) Darstellung der hochaufgelösten Struktur des V-ATPase-Komplexes aus Rattenhirn (PDB ID 6VQ6) mit 74 der 78 identifizierten Quervernetzungen. Quervernetzungen mit einem Abstand ≤ 30 Å (blau) und Quervernetzungen mit einem Abstand > 30 Å (rot) sind gezeigt. Quervernetzungen größerer Abstände (rot) befinden sich überwiegend in flexiblen Bereichen. (B) Die Vernetzungsabstände sind gegen die Anzahl an Quervernetzungen aufgetragen. 50 Quervernetzungen weisen einen Abstand ≤ 30 Å (blau) und 24 Quervernetzungen einen Abstand > 30 Å (rot) auf. Quervernetzungen, für welche mehrere Spektren erhalten wurden, sind nur einmal angegeben.

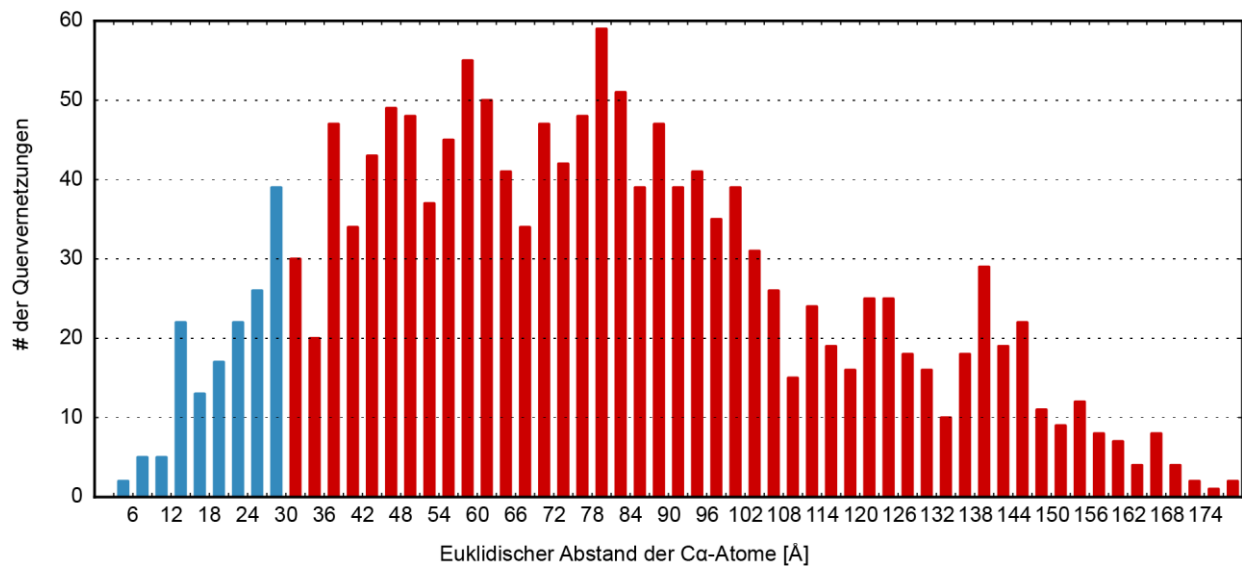


Abbildung A. 5: Verteilung willkürlicher Quervernetzungen des V-ATPase-Komplexes.

Die theoretisch möglichen Vernetzungsabstände zwischen allen Lysinresten, für welche eine identifizierte Quervernetzung nachgewiesen wurde, wurden berechnet. Die Verteilung der zufälligen Vernetzungsabstände ist breiter und die Abstände sind länger als bei experimentell identifizierten Vernetzungen. Theoretisch mögliche Vernetzungsabstände ≤ 30 Å (blau) und > 30 Å (rot) sind gegeben.

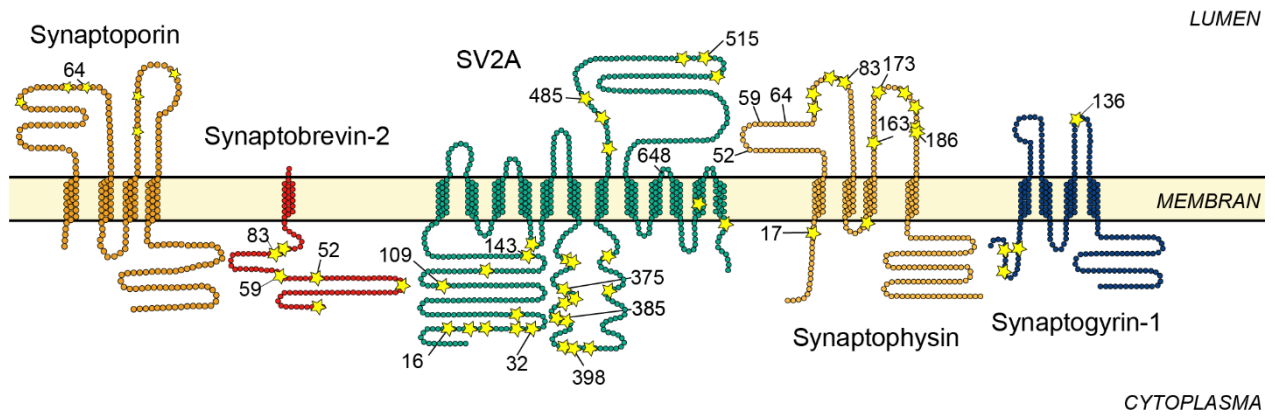


Abbildung A. 6: Modifizierung der Proteine synaptischer Vesikel.

Modifizierte Aminosäuren sind hervorgehoben (gelber Stern). Aminosäurereste zu welchen eine Quervernetzung identifiziert wurde sind nummeriert. Es wurden Modifikationen der luminalen Domänen von Synaptoporin, SV2A, Synaptophysin und Synptogyrin-1 nachgewiesen.

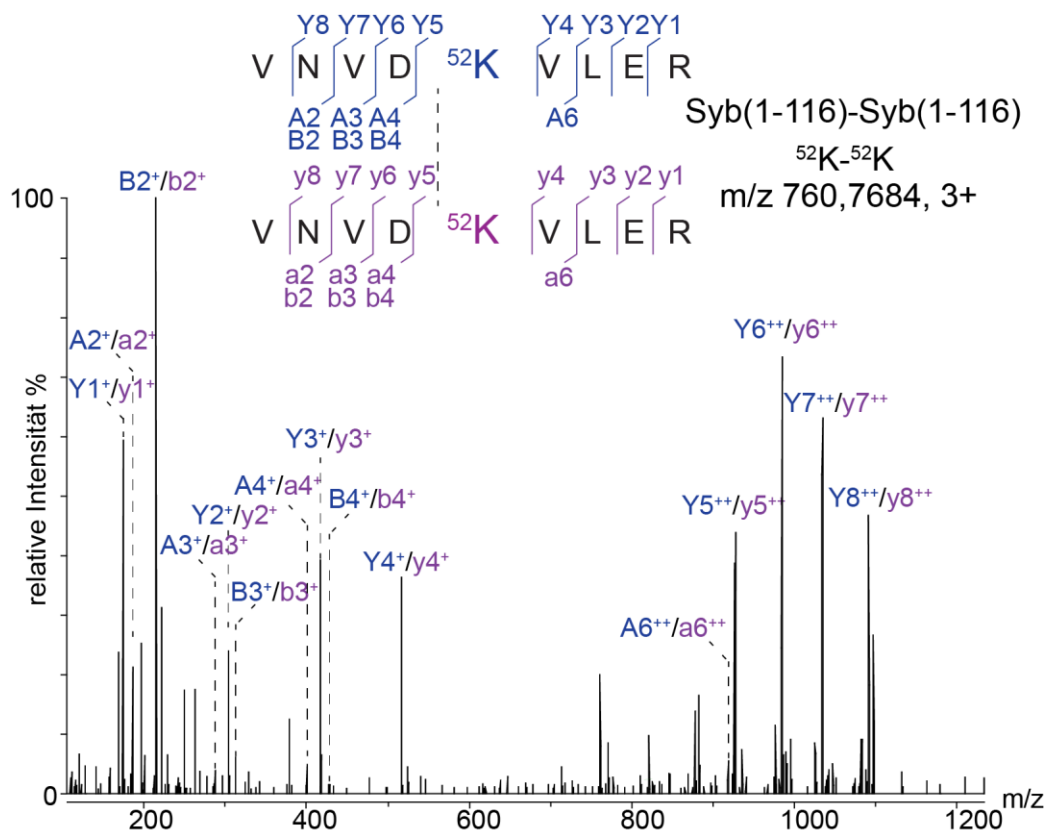


Abbildung A. 7: Intermolekulare Interaktion zwischen zwei Syb(1-116) Kopien.

Massenspektrum eines quervernetzten Peptidpaars einer intermolekularen Quervernetzung eines Homooligomers. Y-/y-Ionen und B-/b-Ionen sowie A-/a-Ionen des quervernetzten Peptidpaars (blau und lila) sind zugeordnet. Das m/z des Vorläuferions und der Ladungszustand sind angegeben.

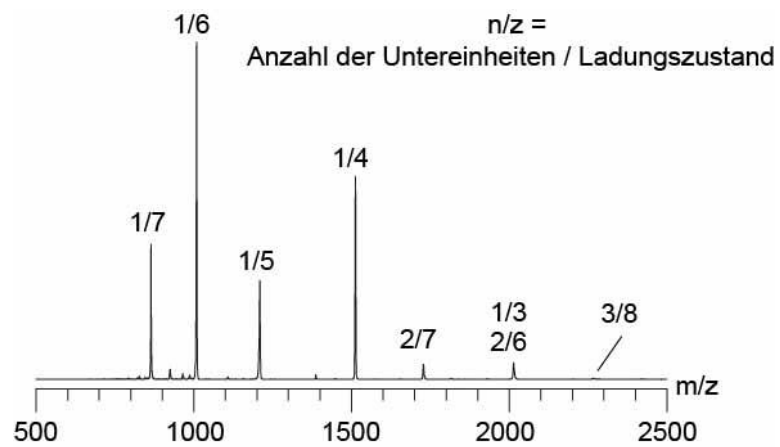


Abbildung A. 8: Massenspektrum von Syb(49-96).

Massenspektrum von Syb(49-96) am Driftzelleninstrument gemessen [149]. Die Signallerien für das Monomer, Dimer und Trimer sind mit der Anzahl an Syb(49-96) Untereinheiten und dem Ladungszustand (n/z) gekennzeichnet.

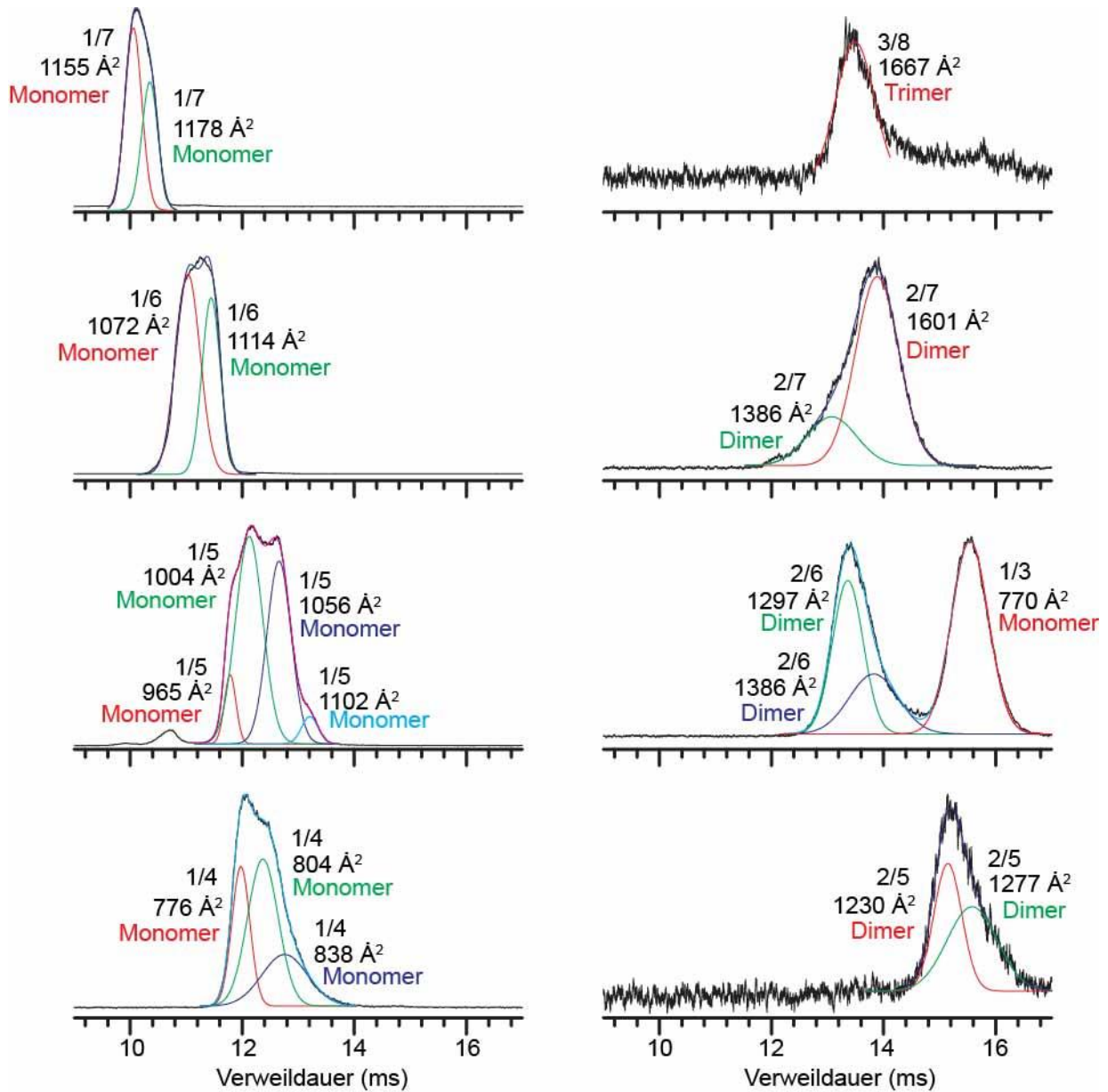


Abbildung A. 9: Ergebnisse der IM-MS-Messung von Syb(49-96).

Die ATDs für jeden Zustand sind gegeben. Es ist mehr als eine Konformation für ein und denselben Oligomerisierungszustand gegeben. Der daraus resultierende Kollisionsquerschnitt und die Anzahl an Untereinheiten/Ladungszustand (n/z) sind angegeben.

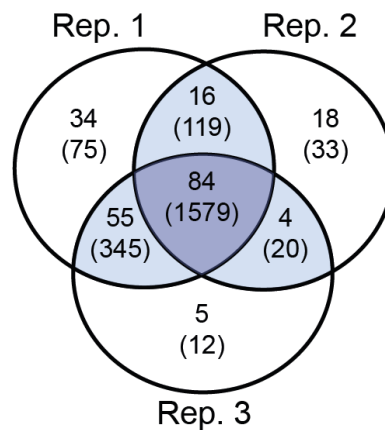


Abbildung A. 10: Venn-Diagramm der identifizierten Quervernetzungen nach Spaltung von Synaptobrevin-2 synaptischer Vesikel mit BoNT B.

Das Venn-Diagramm zeigt die Anzahl an identifizierten Quervernetzungen. In drei Replikaten wurden 216 Quervernetzungen identifiziert. Die Anzahl an identifizierten Spektren ist in Klammern angegeben. In mindestens zwei Replikaten wurden 159 Quervernetzungen (hell- und dunkelblau) identifiziert und in drei Replikaten wurden 84 Quervernetzungen (dunkelblau) nachgewiesen.

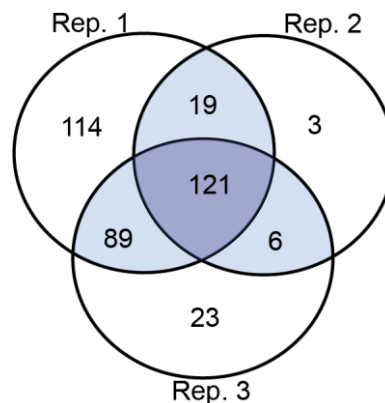


Abbildung A. 11: Venn-Diagramm der identifizierten Quervernetzungen nach Inkubation mit dem löslichen ΔN-SNARE-Komplex.

In drei Replikaten wurden 375 Quervernetzungen durch manuelle Überprüfung der Massenspektren validiert. Das Venn-Diagramm zeigt die Anzahl an identifizierten Quervernetzungen. 235 Quervernetzungen wurden in zwei Replikaten (hell- und dunkelblau) und 121 Quervernetzungen in drei Replikaten (dunkelblau) nachgewiesen.

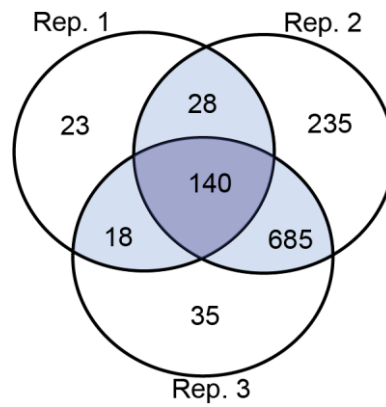


Abbildung A. 12: Venn-Diagramm der identifizierten Quervernetzungen fusionierter synaptischer Vesikel.

In drei Replikaten wurden 571 Quervernetzungen durch manuelle Überprüfung der Massenspektren validiert. Das Venn-Diagramm zeigt die Anzahl an identifizierten Quervernetzungen. In mindestens zwei Replikaten wurden 278 Quervernetzungen (hell- und dunkelblau) identifiziert und in drei Replikaten wurden 140 Quervernetzungen (dunkelblau) nachgewiesen.

8.3 Ergänzende Tabellen

8.3.1 Identifizierung der Proteine synaptischer Vesikel.

Tabelle A. 1: Proteinidentifizierung synaptischer Vesikel.

Proteinname (Protein), Akzessionsnummer der Datenbank UniProt (UP-Nr), Sequenzabdeckung (SA) in %, MQ-Wert, die iBAQ-Werte für fünf Replikate (iBAQ 1 bis iBAQ 5), der mediane iBAQ (Med. iBAQ), der Mittelwert des relativen iBAQ-Wertes (MW rel. iBAQ) und die Standardabweichung des relativen iBAQ-Wertes (SA rel. iBAQ) gelistet.

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Synaptobrevin-2	P63045	81	323,31	6,71E+10	6,37E+10	1,27E+11	3,70E+10	9,17E+10	6,71E+10	1,08E-01	1,30E-02
V-ATPase-c1	P63081	99,4	277,95	5,84E+10	1,69E+10	8,32E+10	1,92E+10	4,39E+10	4,39E+10	5,81E-02	1,56E-02
Synaptophysin	P07825, A0A0G2KAD8	72	323,31	6,55E+10	3,29E+10	5,55E+10	2,23E+10	4,09E+10	4,09E+10	6,31E-02	1,58E-02
Synaptogyrin-1	Q62876, A0A0U1RRP1, A0A0G2K3P9	28,2	310,04	3,95E+10	2,00E+10	4,28E+10	1,26E+10	3,24E+10	3,24E+10	4,08E-02	6,37E-03
CSP	P60905, A0A0G2JX56	58,6	323,31	4,22E+10	2,30E+10	5,25E+10	1,23E+10	3,06E+10	3,06E+10	4,38E-02	7,88E-03
V-ATPase-a1	Q216B2, Q216B5, P25286-2, P25286	55,3	323,31	2,76E+10	1,42E+10	2,71E+10	9,34E+09	2,12E+10	2,12E+10	2,82E-02	5,12E-03
Synaptotagmin-1	P21707	74,6	323,31	1,38E+10	2,09E+10	3,44E+10	1,57E+10	3,18E+10	2,09E+10	3,47E-02	1,04E-02
V-ATPase-d1	Q5M7T6	78,9	323,31	2,12E+10	1,32E+10	2,87E+10	8,66E+09	1,83E+10	1,83E+10	2,53E-02	2,86E-03
SV2A	Q02563	54,2	323,31	1,60E+10	1,08E+10	1,47E+10	6,90E+09	1,75E+10	1,47E+10	1,92E-02	3,51E-03
Synaptogyrin-3	D4ABK1	82,9	323,31	1,50E+10	8,40E+09	2,40E+10	6,63E+09	1,42E+10	1,42E+10	1,87E-02	1,96E-03
V-ATPase-A	D4A133	99	323,31	1,69E+10	9,60E+09	1,30E+10	6,11E+09	1,24E+10	1,24E+10	1,71E-02	4,20E-03
V-ATPase-B2	P62815	95,3	323,31	1,49E+10	7,56E+09	1,66E+10	4,04E+09	1,23E+10	1,23E+10	1,51E-02	2,67E-03
V-ATPase-E1	G3V7L8, Q6PCU2	88,1	323,31	1,21E+10	9,33E+09	1,66E+10	3,59E+09	1,20E+10	1,20E+10	1,47E-02	2,69E-03
VGlu1	Q62634, Q62634-2	57	323,31	1,59E+10	9,16E+09	1,43E+10	5,72E+09	1,15E+10	1,15E+10	1,65E-02	3,57E-03
Rab3A	P63012	88,2	323,31	1,50E+09	1,06E+10	2,38E+10	5,60E+09	1,28E+10	1,06E+10	1,50E-02	6,98E-03
Synapsin-1	P09951	95,2	323,31	3,06E+08	7,38E+09	2,29E+10	1,02E+10	2,14E+10	1,02E+10	1,79E-02	1,03E-02
G3P	P04797, M0R590, D3ZGY4, M0R660	97,6	323,31	8,85E+09	7,40E+09	2,54E+10	9,62E+09	2,38E+10	9,62E+09	2,08E-02	6,63E-03
GLNA	P09606	81,2	323,31	8,88E+09	5,40E+09	1,48E+10	2,36E+09	1,12E+10	8,88E+09	1,10E-02	1,94E-03
SV2B	Q63564	51,7	323,31	9,54E+09	5,51E+09	8,65E+09	4,28E+09	7,67E+09	7,67E+09	1,06E-02	2,33E-03
RAC1	Q6RUV5, A0A0G2K0X4	63	268,9	6,14E+09	3,51E+09	8,96E+09	1,61E+09	6,43E+09	6,14E+09	7,00E-03	1,11E-03
Syntaxin-1B	P61265	76,4	323,31	5,81E+09	3,46E+09	1,54E+10	2,90E+09	7,40E+09	5,81E+09	8,98E-03	2,09E-03
Aldoa	P05065	90,7	323,31	5,78E+09	4,89E+09	1,36E+10	2,14E+09	8,90E+09	5,78E+09	9,12E-03	1,74E-03

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
VIAAT	O35458	49	323,31	5,70E+09	3,89E+09	8,83E+09	2,86E+09	6,86E+09	5,70E+09	7,87E-03	4,78E-04
AP2M1	P84092, A0A140TAH5	94	323,31	5,47E+09	2,66E+09	6,94E+09	2,37E+09	6,18E+09	5,47E+09	6,54E-03	7,80E-04
VGlu2	G3V851, Q9JI12	61,7	323,31	5,92E+09	3,29E+09	7,40E+09	1,96E+09	5,13E+09	5,13E+09	6,51E-03	7,92E-04
Synaptobrevin-1	Q63666-3, Q63666-2, Q63666, Q63666-4	75	323,31	5,09E+09	3,23E+09	1,83E+10	2,65E+09	8,85E+09	5,09E+09	9,35E-03	3,25E-03
V-ATPase-C1	Q5FVI6	93,7	323,31	5,60E+09	3,48E+09	7,18E+09	2,10E+09	4,63E+09	4,63E+09	6,45E-03	8,34E-04
Thy1	P01830	46	323,31	4,67E+09	2,33E+09	7,93E+09	1,49E+09	4,58E+09	4,58E+09	5,47E-03	8,56E-04
Rab2A	P05712	77,8	323,31	4,98E+08	4,08E+09	8,01E+09	1,31E+09	5,47E+09	4,08E+09	5,15E-03	2,63E-03
Rab1A	Q6NYB7, E9PU16, A0A0G2K235	91,7	323,31	1,11E+09	4,03E+09	9,33E+09	2,12E+09	6,38E+09	4,03E+09	6,22E-03	2,44E-03
V-ATPase-G2	Q8R2H0, A0A0G2K2R1	82,2	323,31	4,02E+09	1,83E+09	4,10E+09	8,12E+08	4,72E+09	4,02E+09	4,06E-03	1,10E-03
V-ATPase-H	A0A0G2K9J2, E9PTI1	85,7	323,31	4,90E+09	1,98E+09	5,72E+09	1,21E+09	3,99E+09	3,99E+09	4,71E-03	1,00E-03
KCC2A	P11275, F1LZG4, A0A0G2JUV8	78	323,31	2,40E+09	3,94E+09	1,01E+10	9,29E+08	1,31E+10	3,94E+09	7,41E-03	4,23E-03
AP2B1	P62944, P62944-2	80,5	323,31	3,69E+09	3,32E+09	5,10E+09	3,91E+09	6,58E+09	3,91E+09	7,06E-03	2,71E-03
Zinc transporter 3	Q6QIX3, Q6QIX3-2	42,8	323,31	3,77E+09	2,27E+09	6,71E+09	1,60E+09	4,31E+09	3,77E+09	5,00E-03	3,67E-04
Rab6A	Q9WVB1	79,3	323,31	2,00E+09	3,70E+09	5,88E+09	1,13E+09	5,81E+09	3,70E+09	5,01E-03	1,79E-03
V-ATPase-D	Q6P503	72,9	323,31	3,61E+09	1,73E+09	6,38E+09	7,39E+08	3,89E+09	3,61E+09	4,06E-03	1,09E-03
Synaptoporin	P22831, A0A0G2K1H2	26	238,77	5,55E+09	3,28E+09	6,53E+09	1,37E+09	3,45E+09	3,45E+09	5,53E-03	1,39E-03
TPRGL	A8WCF8, A0A0G2K272	88,3	323,31	3,42E+09	2,65E+09	6,46E+09	1,19E+09	3,73E+09	3,42E+09	4,64E-03	7,03E-04
Vat1	Q3MIE4	77,7	323,31	3,40E+09	2,59E+09	5,63E+09	1,83E+09	3,93E+09	3,40E+09	4,91E-03	4,67E-04
SNAP-25	P60881	81,1	323,31	3,79E+09	1,71E+09	4,96E+09	1,08E+09	3,40E+09	3,40E+09	3,97E-03	6,34E-04
Rab14	B0BMW0, P61107	89,8	323,31	7,00E+08	3,37E+09	9,56E+09	1,51E+09	5,70E+09	3,37E+09	5,36E-03	2,47E-03
AP2A1	D3ZUY8	77,6	323,31	3,34E+09	2,45E+09	4,28E+09	2,67E+09	4,91E+09	3,34E+09	5,34E-03	1,55E-03
V-ATPase-F	P50408	83,2	241,13	3,54E+09	2,08E+09	3,74E+09	7,56E+08	3,29E+09	3,29E+09	3,62E-03	8,43E-04
AP2S1	P62744	62	111,44	3,20E+09	1,95E+09	7,69E+09	2,01E+09	5,04E+09	3,20E+09	5,30E-03	1,01E-03
Pfkm	Q52KS1, A0A0G2KBC7	69,6	323,31	3,05E+09	1,63E+09	3,68E+09	8,89E+08	3,37E+09	3,05E+09	3,39E-03	4,73E-04
Rab3d	Q63942	59,4	116,21	5,31E+08	2,85E+09	5,24E+09	1,58E+09	4,30E+09	2,85E+09	4,10E-03	1,76E-03
Scamp-3	E9PTW1	56,6	323,31	2,83E+09	2,59E+09	7,10E+09	1,72E+09	4,50E+09	2,83E+09	5,06E-03	7,17E-04
Ferritin	Q66HI5, P19132	76,4	323,31	2,66E+09	2,93E+09	7,44E+08	1,57E+08	2,93E+09	2,66E+09	2,77E-03	2,04E-03
RS27A	P62982, F1LML2, P62986, P0CG51, Q63429, F1LU69	66,7	157,1	2,61E+09	1,49E+09	4,03E+09	1,25E+09	3,38E+09	2,61E+09	3,50E-03	2,84E-04

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Tubulin α -1B	Q6P9V9	78	323,31	2,58E+09	1,21E+09	5,14E+09	7,44E+08	4,19E+09	2,58E+09	3,44E-03	9,49E-04
NSF	F1LQ81, A0A0G2K6U1, Q9QUL6	91,4	323,31	2,00E+09	2,53E+09	4,52E+09	1,84E+09	4,65E+09	2,53E+09	4,49E-03	1,09E-03
Rab11b	O35509, A0A0G2JZR4	85,8	323,31	2,47E+09	1,76E+09	4,54E+09	8,08E+08	3,00E+09	2,47E+09	3,30E-03	4,53E-04
Atp8a1	F1LUT4	61,9	323,31	3,11E+09	1,57E+09	2,95E+09	1,14E+09	2,36E+09	2,36E+09	3,20E-03	6,18E-04
PFKAP	P47860, A0A0A0MXY5	68,5	323,31	2,42E+09	1,21E+09	2,33E+09	1,44E+09	3,44E+09	2,33E+09	3,18E-03	8,88E-04
S6A17	P31662	49	323,31	2,29E+09	1,59E+09	2,94E+09	1,17E+09	2,41E+09	2,29E+09	3,01E-03	3,96E-04
GPM6A	Q812E9, Q812E9-2, A0A1B0GWN8	38,8	323,31	2,29E+09	1,23E+09	5,37E+09	7,91E+08	2,85E+09	2,29E+09	3,14E-03	7,59E-04
Scamp-1	P56603, A0A0G2K1I6, A0A0G2JY82	58,9	323,31	1,89E+09	2,25E+09	5,42E+09	1,14E+09	3,34E+09	2,25E+09	3,77E-03	7,58E-04
Cct7	D4AC23	84	323,31	3,17E+09	1,11E+09	2,95E+09	1,11E+09	2,24E+09	2,24E+09	2,97E-03	7,55E-04
EF1A1	P62630, M0R757, F1M6C2	76,6	323,31	2,22E+09	1,43E+09	5,10E+09	1,41E+09	4,86E+09	2,22E+09	3,97E-03	9,30E-04
Rab10	Q5RKJ9, P35281	79,5	323,31	2,72E+09	2,08E+09	3,06E+09	9,46E+08	2,12E+09	2,12E+09	3,14E-03	7,00E-04
Synaptotagmin-2	G3V6M3, P29101	62,3	323,31	1,11E+09	2,10E+09	5,30E+09	1,86E+09	5,21E+09	2,10E+09	4,34E-03	1,55E-03
Tubulin β -2A	P85108	80,9	323,31	2,08E+09	7,64E+08	4,22E+09	4,67E+08	3,62E+09	2,08E+09	2,67E-03	1,04E-03
Synapsin-2	G3V733, Q63537, Q63537-2	75,3	323,31	2,40E+08	1,98E+09	4,62E+09	1,43E+09	4,99E+09	1,98E+09	3,63E-03	1,75E-03
Wdfy1	A0A0G2K3L8	81,7	323,31	2,38E+09	1,14E+09	2,95E+09	6,33E+08	1,94E+09	1,94E+09	2,42E-03	4,31E-04
AP2A2	Q66HM2	80,6	323,31	1,90E+09	1,43E+09	2,55E+09	1,43E+09	2,55E+09	1,90E+09	2,97E-03	7,66E-04
Slc6a7	G3V8F1, P28573, A0A0G2K7A6, A0A0G2JX52	30,8	323,31	2,02E+09	9,33E+08	2,37E+09	7,20E+08	1,84E+09	1,84E+09	2,17E-03	2,92E-04
REEP5	B2RZ37	48,1	130,09	2,18E+09	3,63E+08	3,45E+09	2,82E+08	1,82E+09	1,82E+09	1,89E-03	9,52E-04
Rab3C	P62824	83,3	323,31	1,17E+08	1,78E+09	4,66E+09	1,04E+09	2,30E+09	1,78E+09	2,69E-03	1,35E-03
Actin	P63259	80,8	323,31	1,74E+09	1,06E+09	4,84E+09	8,59E+08	2,61E+09	1,74E+09	2,82E-03	6,82E-04
TM163	A9CMA6	35,8	323,31	1,69E+09	1,51E+09	4,13E+09	7,74E+08	2,39E+09	1,69E+09	2,77E-03	4,53E-04
Atp1a3	P06687	59,1	323,31	2,07E+09	7,53E+08	1,51E+09	6,07E+08	1,69E+09	1,51E+09	1,86E-03	5,08E-04
AAK1	F1LRI7, P0C1X8	75,8	323,31	4,69E+08	8,77E+08	4,02E+09	1,46E+09	2,37E+09	1,46E+09	2,58E-03	1,33E-03
Syntaxin-1A	P32851	73,3	323,31	1,33E+09	1,45E+09	5,60E+09	9,52E+08	2,83E+09	1,45E+09	3,10E-03	9,44E-04
Rab5b	A1L1J8	82,8	323,31	1,44E+09	1,32E+09	3,64E+09	7,26E+08	2,67E+09	1,44E+09	2,57E-03	4,29E-04
WDR7	Q9ERH3, Q9ERH3-2	75,3	323,31	4,60E+08	1,42E+09	1,99E+09	9,80E+08	2,65E+09	1,42E+09	2,23E-03	9,43E-04
Rab7a	P09527, A0A0G2K930	87,4	323,31	1,41E+09	1,29E+09	2,44E+09	4,43E+08	1,98E+09	1,41E+09	2,02E-03	4,09E-04
Plp1	P60203	31,4	109,38	1,63E+09	5,03E+08	1,86E+09	4,28E+08	1,40E+09	1,40E+09	1,53E-03	3,83E-04
Reticulon-1	Q64548	58,7	323,31	2,41E+09	2,05E+08	2,33E+09	2,84E+08	1,32E+09	1,32E+09	1,59E-03	9,76E-04

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
TCPD	Q7TPB1	87,2	323,31	1,30E+09	9,13E+08	2,80E+09	9,24E+08	2,17E+09	1,30E+09	2,24E-03	4,00E-04
Ldha	P04642	93,4	323,31	1,20E+09	3,41E+08	1,75E+09	9,12E+08	2,79E+09	1,20E+09	1,93E-03	8,86E-04
Arl8a	D3ZPP2	64	323,31	1,20E+09	8,91E+08	1,76E+09	2,57E+08	1,43E+09	1,20E+09	1,46E-03	3,48E-04
Atp1b1	P07340	48	317,73	1,61E+09	4,20E+08	2,18E+09	3,38E+08	1,16E+09	1,16E+09	1,43E-03	4,92E-04
CC50A	A0A0G2JXG3, Q6AY41	47,3	323,31	1,62E+09	9,28E+08	1,49E+09	5,92E+08	1,12E+09	1,12E+09	1,67E-03	3,70E-04
CN37	P13233	76,9	323,31	1,11E+09	5,10E+08	1,65E+09	4,18E+08	1,80E+09	1,11E+09	1,44E-03	3,12E-04
GNAO	P59215	76	323,31	1,25E+09	5,54E+08	2,09E+09	4,36E+08	1,09E+09	1,09E+09	1,42E-03	2,53E-04
Cct6a	Q3MHS9	82,9	323,31	1,03E+09	6,79E+08	2,36E+09	7,26E+08	1,69E+09	1,03E+09	1,77E-03	3,40E-04
MBP	P02688-2, P02688, P02688-4, P02688-3	53,3	205,78	9,58E+08	1,02E+09	4,03E+09	7,06E+08	2,17E+09	1,02E+09	2,27E-03	6,81E-04
Rasal1	D3ZHY9	76,5	323,31	9,89E+08	6,31E+08	1,22E+09	3,41E+08	1,10E+09	9,89E+08	1,18E-03	1,21E-04
Tecpr1	Q3ZBA0	53,5	323,31	8,11E+08	9,54E+08	1,00E+09	4,35E+08	1,12E+09	9,54E+08	1,29E-03	3,64E-04
ALDOC	P09117, A0A0G2K3Q6	98,3	323,31	6,63E+08	9,43E+08	2,64E+09	5,45E+08	1,95E+09	9,43E+08	1,77E-03	4,82E-04
Trappc3	Q5U1Z2	55	144,07	9,32E+08	8,67E+08	1,03E+09	3,86E+08	1,48E+09	9,32E+08	1,34E-03	3,21E-04
Syntaxin-binding-protein-1	P61765	80,5	323,31	1,26E+09	4,75E+08	9,13E+08	5,86E+08	1,65E+09	9,13E+08	1,41E-03	4,48E-04
Psm1	P18420	63,1	167,05	9,15E+08	5,59E+08	8,99E+08	4,86E+07	1,46E+09	8,99E+08	9,76E-04	4,93E-04
Rab1b	G3V6H0, P10536	88,1	323,31	5,28E+08	1,03E+09	1,12E+09	2,09E+08	8,60E+08	8,60E+08	1,07E-03	5,27E-04
PTN9	Q641Z2, A0A0G2K6A2	63,7	323,31	1,10E+09	6,40E+08	9,53E+08	4,43E+08	8,58E+08	8,58E+08	1,18E-03	2,56E-04
RALA	P63322	50,5	319,76	1,47E+09	8,49E+08	1,13E+09	2,47E+08	8,10E+08	8,49E+08	1,26E-03	4,89E-04
Psm1	Q6PDW4, P18421	54,2	323,31	9,39E+08	5,80E+08	8,34E+08	4,97E+07	2,02E+09	8,34E+08	1,11E-03	6,89E-04
PGRC1	P70580, A0A0H2UHK2	65,1	323,31	1,43E+09	1,14E+08	1,25E+09	1,55E+08	8,34E+08	8,34E+08	9,22E-04	5,82E-04
Psm5	G3V7Q6, P28075	66,5	323,31	8,33E+08	6,67E+08	8,82E+08	5,89E+07	1,68E+09	8,33E+08	1,05E-03	5,63E-04
Dynam1n-1	P21575, P21575-2, P21575-3	81,9	323,31	7,83E+08	4,78E+08	8,04E+08	9,73E+08	3,39E+09	8,04E+08	1,89E-03	1,24E-03
PSA3	P18422	63,9	286,06	8,33E+08	5,72E+08	7,91E+08	3,90E+07	1,66E+09	7,91E+08	9,81E-04	5,70E-04
Psm5	Q6P9V6, P34064	71,4	271,7	7,80E+08	4,25E+08	8,87E+08	4,81E+07	1,39E+09	7,80E+08	8,68E-04	4,49E-04
Gpx4	A0A0G2K398, F8WFK6, P36970-2, P36970, P36970-3	59,7	110,32	7,73E+08	5,52E+08	1,67E+09	2,28E+08	9,67E+08	7,73E+08	1,07E-03	2,27E-04
Psm7	A0A0G2K0W9, P48004-2, P48004	72,6	323,31	7,54E+08	5,76E+08	8,48E+08	5,69E+07	1,70E+09	7,54E+08	9,91E-04	5,59E-04
Rabphilin-3A	F1LPB9, P47709	73,7	323,31	2,91E+07	5,77E+08	1,93E+09	7,46E+08	2,47E+09	7,46E+08	1,57E-03	9,34E-04
Psm4	P21670	73,6	244,01	7,33E+08	4,96E+08	7,66E+08	6,06E+07	1,38E+09	7,33E+08	8,69E-04	4,40E-04

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Arhgap1	D4A6C5	82	323,31	7,16E+08	4,37E+08	1,30E+09	3,47E+08	9,33E+08	7,16E+08	1,01E-03	7,50E-05
Psmid2	Q4FZT9	80,8	323,31	8,62E+08	7,06E+08	3,06E+08	9,57E+07	9,32E+08	7,06E+08	8,34E-04	4,74E-04
PFKAL	P30835	64,9	323,31	6,85E+08	3,52E+08	8,26E+08	3,08E+08	9,81E+08	6,85E+08	8,72E-04	1,46E-04
Myosin-Va	A0A0G2K4Y7, A0A0G2K9X3, A0A0G2K9S4	64,8	323,31	6,77E+08	2,76E+08	1,48E+09	1,73E+08	1,10E+09	6,77E+08	8,93E-04	3,06E-04
Reticulon-3	Q6RJR6	69,6	323,31	1,01E+09	9,86E+07	1,29E+09	1,12E+08	6,65E+08	6,65E+08	7,46E-04	4,38E-04
PsmA6	P60901, A0A0G2K0D7	76,4	166,3	6,57E+08	4,38E+08	7,29E+08	4,30E+07	1,37E+09	6,57E+08	8,07E-04	4,48E-04
PsmB6	A0A0G2JSL0, P28073	36,6	102,86	6,56E+08	5,03E+08	6,56E+08	3,53E+07	1,21E+09	6,56E+08	7,79E-04	4,18E-04
Atp2a2	P11507, P11507-2	53,9	323,31	1,05E+09	1,37E+08	6,55E+08	1,75E+08	7,86E+08	6,55E+08	7,30E-04	3,89E-04
ARP2	Q5M7U6	60,2	323,31	6,79E+08	3,34E+08	6,50E+08	3,98E+08	2,33E+09	6,50E+08	1,19E-03	7,29E-04
PsmB2	P40307	56,7	323,31	6,49E+08	5,60E+08	7,71E+08	4,80E+07	1,29E+09	6,49E+08	8,45E-04	4,33E-04
Syntaxin-12	A0A0G2JVB6, G3V7P1, A0A0G2K4U8	68,1	323,31	5,32E+08	6,49E+08	1,48E+09	3,60E+08	1,05E+09	6,49E+08	1,11E-03	2,10E-04
Rogdi	Q4V7D2	76	323,31	1,77E+08	6,32E+08	1,15E+09	3,12E+08	1,25E+09	6,32E+08	9,65E-04	4,00E-04
Acly	G3V888, A0A0G2K5E7, G3V9G4, P16638, P16638-2	70,8	323,31	6,15E+08	4,46E+08	1,11E+09	3,72E+08	1,30E+09	6,15E+08	1,05E-03	2,20E-04
Dmx-like-2	F1M3W5	63,8	323,31	2,15E+08	6,07E+08	1,12E+09	3,72E+08	1,49E+09	6,07E+08	1,05E-03	4,43E-04
D3ZSU3	A0A0G2K1G8, D3ZSU3	32,3	323,31	6,02E+08	6,02E+08	9,96E+08	4,48E+08	9,53E+08	6,02E+08	1,06E-03	2,19E-04
PsmB4	G3V8U9, P34067	55,6	216,78	5,98E+08	4,99E+08	8,20E+08	5,15E+07	1,39E+09	5,98E+08	8,41E-04	4,48E-04
Btbd17	D4A8L9	66,5	323,31	1,01E+09	1,16E+08	8,67E+08	5,37E+07	5,92E+08	5,92E+08	6,27E-04	4,25E-04
LAMP5	Q5PPI4	42,1	172,52	9,26E+08	3,32E+08	9,17E+08	2,50E+08	5,82E+08	5,82E+08	8,20E-04	2,18E-04
V-ATPase-G1	B2GUV5	61	323,31	6,65E+08	4,86E+08	7,25E+08	2,00E+08	5,79E+08	5,79E+08	7,49E-04	1,59E-04
PSA2	P17220	79,1	323,31	5,70E+08	4,00E+08	6,24E+08	4,85E+07	1,12E+09	5,70E+08	6,98E-04	3,57E-04
Endophilin-B1	Q6AYE2, A0A0G2K714	49,3	323,31	6,19E+08	3,99E+08	7,05E+08	2,43E+08	5,53E+08	5,53E+08	7,19E-04	9,89E-05
Arpc2	A0A0G2K9A2, P85970, A0A0G2K905, A0A0G2K2J1	84	323,31	7,23E+08	3,23E+08	5,43E+08	2,93E+08	2,23E+09	5,43E+08	1,09E-03	7,07E-04
Synaptotagmin-12	P97610	76,5	323,31	1,44E+08	5,40E+08	2,17E+09	5,04E+08	1,24E+09	5,40E+08	1,21E-03	5,61E-04
Gnb1	P54311	62,4	323,31	9,06E+08	3,46E+08	1,37E+09	1,83E+08	5,08E+08	5,08E+08	8,39E-04	2,88E-04
Rab27b	Q99P74	77,1	323,31	5,07E+08	3,22E+08	8,86E+08	1,39E+08	5,10E+08	5,07E+08	6,14E-04	1,11E-04
Arl8b	Q66HA6	56,5	107,74	4,96E+08	4,26E+08	9,62E+08	1,98E+08	8,53E+08	4,96E+08	7,79E-04	1,24E-04
Rab35	Q5U316	78,1	267,19	4,94E+08	4,90E+08	1,09E+09	2,09E+08	7,42E+08	4,94E+08	8,07E-04	1,38E-04

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Rab5a	M0RC99	80,9	323,31	4,84E+08	4,87E+08	1,48E+09	2,83E+08	9,46E+08	4,87E+08	9,60E-04	1,98E-04
Rab5c	B0BNK1	78,7	323,31	3,69E+08	4,80E+08	1,65E+09	2,57E+08	1,13E+09	4,80E+08	9,80E-04	3,20E-04
Neurotrimin	G3V964	38,1	323,31	4,78E+08	1,95E+08	7,17E+08	1,34E+08	5,95E+08	4,78E+08	5,43E-04	1,14E-04
EF1A2	P62632	76,5	323,31	4,52E+08	1,10E+08	7,05E+08	9,94E+07	6,24E+08	4,52E+08	4,84E-04	1,84E-04
OPCM	A0A0G2K657, P32736-2, P32736, F1M2I5	43,5	263,69	4,49E+08	1,73E+08	6,57E+08	1,52E+08	4,51E+08	4,49E+08	4,95E-04	8,57E-05
Endophilin-B2	Q5PPJ9, D4A7V1	57,9	323,31	6,66E+08	3,25E+08	7,36E+08	2,23E+08	4,49E+08	4,49E+08	6,72E-04	1,29E-04
F1LUE2	F1LUE2	62,2	323,31	1,03E+08	4,47E+08	1,39E+09	1,39E+08	1,79E+09	4,47E+08	9,23E-04	6,36E-04
Rpl7a	F1M013, D3ZU22, D3ZPL5, P62425, M0R3M3, D4A6B9, D3ZJH5	46	284,19	4,54E+08	5,39E+06	5,44E+08	7,64E+06	4,40E+08	4,40E+08	3,18E-04	2,51E-04
SV2C	Q9Z2I6	26,1	323,31	4,29E+08	2,48E+08	5,86E+08	1,66E+08	4,60E+08	4,29E+08	5,18E-04	2,92E-05
Arpc3	B2GV73	38,2	102,69	4,26E+08	2,72E+08	4,47E+08	1,96E+08	1,66E+09	4,26E+08	7,88E-04	5,29E-04
KCRU	Q5BJT9, P25809	75,1	323,31	6,09E+08	1,76E+08	2,11E+09	1,50E+08	4,23E+08	4,23E+08	7,77E-04	5,26E-04
Mblac2	D4A249	70,6	323,31	4,51E+08	3,05E+08	6,29E+08	9,18E+07	4,23E+08	4,23E+08	5,01E-04	1,22E-04
Vamp7	Q9JHW5	72,3	180,63	4,19E+08	2,74E+08	7,54E+08	1,48E+08	4,69E+08	4,19E+08	5,46E-04	6,00E-05
PRR	Q6AXS4	39,1	310,99	7,37E+08	2,64E+08	6,99E+08	1,38E+08	4,18E+08	4,18E+08	6,00E-04	2,03E-04
Rab3b	Q63941	58	242,73	3,32E+08	4,94E+08	1,13E+09	2,76E+08	4,17E+08	4,17E+08	7,42E-04	2,41E-04
Reticulon-4	F1LQN3, Q9JK11	69,7	323,31	5,02E+08	4,52E+07	9,30E+08	7,20E+07	3,97E+08	3,97E+08	4,42E-04	2,62E-04
Psm11	F1LMZ8, A0A0G2JWX1, D3Z950	71,1	323,31	3,97E+08	3,91E+08	9,71E+08	1,28E+08	1,04E+09	3,97E+08	7,38E-04	2,62E-04
Psmb3	P40112	64,9	163,57	3,92E+08	2,56E+08	5,70E+08	3,20E+07	1,02E+09	3,92E+08	5,50E-04	3,28E-04
TCPG	Q6P502	71,2	323,31	1,75E+08	3,67E+08	1,06E+09	3,91E+08	1,05E+09	3,91E+08	8,47E-04	3,49E-04
ATLA1	Q6PST4	67,6	323,31	7,88E+08	7,13E+07	4,83E+08	7,01E+07	3,79E+08	3,79E+08	4,49E-04	3,22E-04
KPCG	P63319	75,9	323,31	3,76E+08	2,71E+08	1,35E+09	1,17E+08	6,59E+08	3,76E+08	6,57E-04	2,70E-04
FIS1	P84817, P84817-3, P84817-2	48	284,33	3,74E+08	2,98E+08	7,59E+08	1,54E+08	5,56E+08	3,74E+08	5,67E-04	6,64E-05
Rpl10a	P62907, F1LYQ7	41	127,58	4,58E+08	1,95E+07	4,97E+08	1,57E+07	3,69E+08	3,69E+08	3,06E-04	2,26E-04
Psm13	B0BN93	78,5	323,31	3,67E+08	3,64E+08	6,24E+08	9,27E+07	7,48E+08	3,67E+08	5,74E-04	1,91E-04
PRS7	G3V7L6, Q63347	78,5	323,31	3,64E+08	3,00E+08	7,93E+08	1,03E+08	7,43E+08	3,64E+08	5,81E-04	1,70E-04
TPD54	Q6PCT3	67,7	323,31	4,83E+08	2,46E+08	4,76E+08	1,10E+08	3,62E+08	3,62E+08	4,58E-04	1,08E-04
Rhob	P62747	52,6	179,66	3,62E+08	2,79E+08	6,42E+08	9,23E+07	5,32E+08	3,62E+08	4,93E-04	1,10E-04
Ncam1	A0A0G2K0M8	56,3	323,31	3,61E+08	1,87E+08	4,93E+08	9,83E+07	4,71E+08	3,61E+08	4,21E-04	7,71E-05

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
CD9	P40241	15,5	134,29	4,17E+08	1,49E+08	6,98E+08	7,78E+07	3,60E+08	3,60E+08	4,18E-04	1,38E-04
HSP7C	P63018, D4A4S3, M0RCB1, F1LZ11, M0R8M9, A0A0G2JVI3	59	323,31	3,56E+08	2,15E+08	7,02E+08	1,86E+08	5,97E+08	3,56E+08	5,47E-04	8,04E-05
Hba1	P01946	71,8	182,51	3,52E+08	2,67E+08	1,23E+09	3,20E+08	6,91E+08	3,52E+08	7,60E-04	2,27E-04
Pick1	Q6GQQ2, Q9EP80	58,7	323,31	4,05E+08	1,98E+08	5,66E+08	1,47E+08	3,50E+08	3,50E+08	4,53E-04	5,65E-05
Psmb7	Q9JHW0, A0A0G2JUN8	35,7	125,26	4,01E+08	2,66E+08	3,50E+08	2,13E+07	6,05E+08	3,50E+08	4,21E-04	2,15E-04
Psmd3	Q5U2S7	67,9	323,31	3,47E+08	2,95E+08	4,85E+08	9,45E+07	7,86E+08	3,47E+08	5,26E-04	1,97E-04
Arpc4	B2RZ72	69	124,43	6,09E+08	2,57E+08	3,44E+08	2,73E+08	2,55E+09	3,44E+08	1,06E-03	9,02E-04
Psmd7	D4AEH3	66,2	323,31	3,40E+08	3,22E+08	5,57E+08	7,41E+07	7,18E+08	3,40E+08	5,20E-04	1,92E-04
Pdia3	A0A0H2UHM5, P11598	63,3	323,31	4,84E+08	3,22E+07	3,38E+08	6,14E+07	3,35E+08	3,35E+08	3,12E-04	1,97E-04
Synapsin-3	O70441, A0A096MIT7	80,5	323,31	1,14E+07	3,33E+08	8,78E+08	3,25E+08	8,73E+08	3,33E+08	6,79E-04	3,55E-04
Tubb5	P69897	80,2	323,31	3,30E+08	1,16E+08	5,70E+08	6,37E+07	4,18E+08	3,30E+08	3,64E-04	1,22E-04
Psmd6	Q6PCT9	74,6	323,31	3,22E+08	3,25E+08	6,43E+08	8,43E+07	8,28E+08	3,25E+08	5,62E-04	2,20E-04
Negr1	A0A0G2K293, D4A2V0, Q9Z0J8	56,8	323,31	3,24E+08	1,89E+08	7,56E+08	1,50E+08	4,51E+08	3,24E+08	4,83E-04	8,60E-05
Ap1b1	A0A0G2K2V2, G3V9N8, P52303-2, P52303	71,2	323,31	1,47E+08	3,24E+08	4,42E+08	2,18E+08	3,68E+08	3,24E+08	4,61E-04	1,81E-04
Dnpep	Q4V8H5	58,3	323,31	3,76E+08	9,90E+07	3,18E+08	5,55E+07	5,49E+08	3,18E+08	3,50E-04	1,73E-04
Cadm3	A0A0G2K872, Q1WIM3	51,6	323,31	3,14E+08	9,69E+07	1,06E+09	1,46E+08	3,92E+08	3,14E+08	4,79E-04	2,27E-04
Glud1	P10860	69,4	323,31	3,12E+08	5,49E+07	4,16E+08	1,28E+08	4,42E+08	3,12E+08	3,53E-04	1,28E-04
Psmd12	Q5XIC6	62,7	323,31	3,10E+08	2,39E+08	4,45E+08	7,94E+07	5,01E+08	3,10E+08	4,15E-04	1,04E-04
VAPA	Q9Z270, A0A0G2K8E6	65,5	323,31	3,09E+08	1,11E+08	1,48E+09	1,47E+08	7,77E+08	3,09E+08	6,39E-04	3,67E-04
Hdac11	B2GUW3	77,5	323,31	3,79E+08	1,53E+08	3,19E+08	8,32E+07	3,08E+08	3,08E+08	3,37E-04	9,11E-05
Rab30	A0A0G2JTT4, Q5BK72	70,4	232,18	3,08E+08	2,65E+08	6,19E+08	1,30E+08	3,90E+08	3,08E+08	4,61E-04	5,78E-05
Rpl18	A0A0H2UHS7, P12001	43,9	109,67	3,57E+08	5,01E+06	5,09E+08	7,39E+06	3,08E+08	3,08E+08	2,56E-04	2,01E-04
Arpc1a	Q99PD4, D3ZXP7	73	323,31	3,42E+08	2,09E+08	3,07E+08	1,90E+08	1,65E+09	3,07E+08	7,10E-04	5,66E-04
Rab39a	D3ZZP2	65	270,31	2,21E+08	3,07E+08	4,82E+08	5,21E+07	5,23E+08	3,07E+08	4,13E-04	1,72E-04
Trappc5	B0BNE3	35,6	323,31	3,07E+08	2,51E+08	4,53E+08	1,33E+08	5,31E+08	3,07E+08	4,60E-04	7,66E-05
Mfsd6	D3ZCJ3	28,2	323,31	2,99E+08	1,82E+08	4,57E+08	1,54E+08	3,70E+08	2,99E+08	4,08E-04	3,56E-05
Syt5	P47861	63,7	113,89	3,34E+08	1,99E+08	2,95E+08	2,05E+08	3,60E+08	2,95E+08	4,26E-04	1,22E-04
Trappc4	A0A0G2JSL2, Q69BT7, A0A0G2JX69	72,1	182,05	2,95E+08	2,91E+08	7,89E+08	2,65E+08	7,01E+08	2,95E+08	6,48E-04	1,49E-04

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Contactin-1	Q63198	55,9	323,31	2,95E+08	1,11E+08	4,33E+08	1,13E+08	2,98E+08	2,95E+08	3,32E-04	5,84E-05
Arfp1	A0A0G2JYA2, Q9JHU5	66	323,31	4,18E+08	2,56E+08	2,95E+08	1,41E+08	3,50E+08	2,95E+08	4,30E-04	1,10E-04
Rab33a	D3ZCU8	80,6	170,79	1,26E+08	2,93E+08	7,51E+08	1,33E+08	4,36E+08	2,93E+08	4,58E-04	1,65E-04
Rpl7	B0K031, P05426	60,8	168,24	3,76E+08	5,90E+06	3,79E+08	5,80E+06	2,86E+08	2,86E+08	2,34E-04	1,91E-04
Rpl4	Q6P3V9, P50878	50,4	268,79	3,02E+08	2,47E+06	4,52E+08	2,76E+06	2,83E+08	2,83E+08	2,23E-04	1,79E-04
Syntaxin-7	O70257, M0R930, A0A0G2K6Y9	70,5	323,31	5,71E+07	2,82E+08	7,22E+08	1,78E+08	5,10E+08	2,82E+08	4,74E-04	2,00E-04
Trappc6b	D3ZES2	79,1	176,64	2,80E+08	2,33E+08	4,18E+08	1,44E+08	4,81E+08	2,80E+08	4,35E-04	6,45E-05
Hemoglobin subunit beta-2	P11517	89,8	157,15	2,79E+08	2,54E+08	1,19E+09	2,49E+08	4,98E+08	2,79E+08	6,42E-04	2,20E-04
Gpm6b	A0A0G2JZB8	32,6	169,49	2,79E+08	7,28E+07	5,66E+08	6,43E+07	4,58E+08	2,79E+08	3,41E-04	1,45E-04
Vps33b	Q63616	65,5	323,31	2,87E+08	2,02E+08	2,78E+08	1,42E+08	3,34E+08	2,78E+08	3,67E-04	6,98E-05
Hras	P20171	64	149,79	2,79E+08	1,48E+08	4,67E+08	7,17E+07	2,74E+08	2,74E+08	3,18E-04	6,18E-05
Ldhb	P42123	50	118,63	2,73E+08	6,91E+07	2,73E+08	6,22E+07	2,85E+08	2,73E+08	2,49E-04	8,19E-05
Mfsd4	A0A0G2K6P5, D4A6P2	14,9	212,41	3,79E+08	2,16E+08	5,25E+08	1,19E+08	2,71E+08	2,71E+08	4,12E-04	7,20E-05
LSAMP	Q62813, Q62813-2, A0A0H2UHY3, A0A0H2UHW7	45,3	323,31	5,32E+08	1,94E+08	2,71E+08	1,94E+08	3,67E+08	2,71E+08	4,68E-04	1,70E-04
Arfp2	Q6AY65	64,2	323,31	8,21E+08	4,16E+08	1,98E+08	1,23E+08	2,69E+08	2,69E+08	5,58E-04	3,55E-04
Trappc1	Q2KMM2	81,4	134,75	2,65E+08	1,74E+08	4,10E+08	1,29E+08	3,88E+08	2,65E+08	3,76E-04	3,14E-05
Psmc1	G3V8B6, A0A0G2JTW5, O88761	67,2	323,31	2,35E+08	2,98E+08	2,61E+08	7,26E+07	5,55E+08	2,61E+08	3,96E-04	1,78E-04
Rab4a	P05714	80,3	323,31	1,87E+07	2,61E+08	7,97E+08	1,52E+08	5,25E+08	2,61E+08	4,55E-04	2,25E-04
Epb41l2	D3ZDT1, A0A0G2K162, D3ZAY7, D3ZM69, D3ZAY2	24,7	104,38	2,61E+08	1,25E+08	5,77E+08	1,01E+08	3,36E+08	2,61E+08	3,54E-04	7,78E-05
Snx2	B2RYP4	59,2	323,31	8,99E+08	2,71E+08	2,51E+08	1,53E+08	2,61E+08	2,61E+08	5,46E-04	3,52E-04
DYHC1	M0R9X8, F1LRT9, P38650	61,5	323,31	2,60E+08	1,51E+08	5,86E+08	1,19E+08	8,29E+08	2,60E+08	4,86E-04	2,23E-04
Psmc6	G3V6W6	65	323,31	2,60E+08	2,20E+08	4,72E+08	7,30E+07	5,21E+08	2,60E+08	3,99E-04	1,15E-04
Sirpa	P97710	36	323,31	2,58E+08	1,38E+08	3,89E+08	1,93E+08	3,42E+08	2,58E+08	3,85E-04	1,09E-04
Pcyox1	Q99ML5	65,3	323,31	4,30E+08	2,90E+07	3,11E+08	3,90E+07	2,54E+08	2,54E+08	2,60E-04	1,80E-04
PUR6	P51583, F8WFR8, A0A0G2K5S4	70,6	323,31	1,67E+08	2,53E+08	7,76E+08	1,54E+08	5,29E+08	2,53E+08	4,90E-04	1,47E-04
60S ribosomal protein L12	P23358, A0A140TAC5, D3ZJE2	60	150,32	2,75E+08	1,85E+07	4,30E+08	1,67E+07	2,51E+08	2,51E+08	2,20E-04	1,47E-04
Alg2	G3V6U3	63,9	304,46	2,85E+08	2,62E+07	2,95E+08	3,89E+07	2,50E+08	2,50E+08	2,16E-04	1,17E-04

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Psmc5	P62198	77,3	323,31	2,47E+08	2,07E+08	4,86E+08	8,80E+07	6,20E+08	2,47E+08	4,23E-04	1,41E-04
Psmc14	Q4V8E2	66,1	221,76	2,45E+08	2,26E+08	6,31E+08	6,04E+07	6,20E+08	2,45E+08	4,38E-04	1,71E-04
Vti1a	F1LT41, Q9JI51	63,7	230,26	1,51E+08	2,40E+08	7,75E+08	1,41E+08	3,12E+08	2,40E+08	4,25E-04	1,50E-04
Rps3	P62909, D3ZVH2	84,8	153,12	2,40E+08	3,60E+07	6,07E+08	2,84E+07	4,04E+08	2,40E+08	2,88E-04	1,81E-04
Actr3	A0A0G2K1C0, Q4V7C7	70,6	323,31	2,41E+08	1,15E+08	2,38E+08	1,24E+08	1,09E+09	2,38E+08	4,69E-04	3,74E-04
KPCB	P68403-2, F1LS42, A0A0G2K5Q0	66,9	323,31	2,04E+08	1,99E+08	1,23E+09	2,38E+08	7,48E+08	2,38E+08	6,55E-04	2,80E-04
Cpne4	F1M0Z3	67,9	323,31	2,90E+08	8,94E+07	2,89E+08	7,47E+07	2,32E+08	2,32E+08	2,60E-04	6,96E-05
Cisd2	D4AAE9	63,7	153,43	3,71E+08	2,93E+07	3,68E+08	3,58E+07	2,28E+08	2,28E+08	2,46E-04	1,56E-04
Canx	P35565	56,9	323,31	4,18E+08	3,70E+07	2,34E+08	5,88E+07	2,26E+08	2,26E+08	2,53E-04	1,64E-04
Dpp6	F1LMR7, P46101-2	64,3	323,31	3,64E+08	1,66E+08	2,25E+08	8,50E+07	3,36E+08	2,25E+08	3,30E-04	1,01E-04
Rab6b	A0A0G2JT78, F1LVC3	72,1	145,93	2,24E+08	1,65E+08	4,53E+08	7,51E+07	2,43E+08	2,24E+08	3,04E-04	5,25E-05
Ehd3	Q8R491, A0A0G2JTH6	76,4	323,31	2,31E+08	1,10E+08	2,23E+08	1,35E+08	3,02E+08	2,23E+08	2,94E-04	8,09E-05
Actr3b	F1LY09	57,5	238,86	2,23E+08	1,04E+08	2,35E+08	8,82E+07	5,03E+08	2,23E+08	3,07E-04	1,29E-04
Pygb	G3V6Y6	66,1	323,31	2,84E+08	9,57E+07	2,22E+08	1,13E+08	2,97E+08	2,22E+08	2,88E-04	8,11E-05
Dnajc6	A0A0G2JY26, D4A0I5	57,6	323,31	6,36E+08	1,20E+08	2,21E+08	9,13E+07	3,29E+08	2,21E+08	3,86E-04	2,41E-04
Atp1a1	P06685	52,3	323,31	2,69E+08	7,83E+07	2,29E+08	6,66E+07	2,20E+08	2,20E+08	2,32E-04	6,98E-05
Nceh1	B2GV54	53,4	323,31	3,39E+08	1,35E+07	2,68E+08	4,28E+07	2,17E+08	2,17E+08	2,16E-04	1,42E-04
Ppm1h	Q5M821	70	323,31	1,20E+08	2,33E+08	2,16E+08	1,28E+08	3,62E+08	2,16E+08	3,22E-04	1,26E-04
Snap47	Q6P6S0	77,3	323,31	1,48E+08	2,16E+08	4,39E+08	1,05E+08	3,45E+08	2,16E+08	3,42E-04	8,07E-05
Rab18	Q5EB77	69,9	210,98	2,16E+08	1,87E+08	7,38E+08	9,17E+07	4,95E+08	2,16E+08	4,24E-04	1,38E-04
Rpl30	P62890, A0A0G2K5E6	69,6	104,43	2,14E+08	9,51E+06	3,53E+08	7,05E+06	2,29E+08	2,14E+08	1,76E-04	1,28E-04
RGD621098	G3V7W8, O08654, A0A0G2JWC6	58,1	323,31	2,20E+08	1,20E+08	3,06E+08	7,61E+07	2,12E+08	2,12E+08	2,53E-04	2,28E-05
Rab15	P35289	69,8	323,31	1,96E+08	2,10E+08	4,94E+08	8,61E+07	2,93E+08	2,10E+08	3,39E-04	7,13E-05
Ap3s1	G3V9Y9	39,5	115,94	4,17E+08	7,83E+07	2,97E+08	5,48E+07	2,07E+08	2,07E+08	2,73E-04	1,48E-04
Rpl6	F1LQS3, P21533, A0A0G2KBA1	44,3	244,46	3,83E+08	3,21E+06	3,12E+08	3,24E+06	2,06E+08	2,06E+08	2,04E-04	1,88E-04
Rab4b	P51146	75,1	323,31	5,80E+06	2,06E+08	6,11E+08	1,10E+08	3,87E+08	2,06E+08	3,41E-04	1,76E-04
Trappc8	F1M9W9	61,4	323,31	2,02E+08	1,40E+08	2,25E+08	1,12E+08	2,44E+08	2,02E+08	2,72E-04	4,94E-05
Psmc8	F1LMQ3	42,8	280,55	1,80E+08	1,97E+08	4,39E+08	7,08E+07	4,72E+08	1,97E+08	3,50E-04	1,11E-04
Rdh14	D3ZUY0	63,5	323,31	1,96E+08	8,85E+07	2,61E+08	4,82E+07	2,01E+08	1,96E+08	2,07E-04	3,95E-05

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Rplp0	P19945	59	258,31	1,95E+08	1,42E+07	3,97E+08	9,31E+06	2,09E+08	1,95E+08	1,77E-04	1,26E-04
Sacm1l	Q9ES21	68,5	323,31	4,71E+08	2,74E+07	2,29E+08	4,00E+07	1,93E+08	1,93E+08	2,43E-04	2,02E-04
ARP5L	A1L108, A1L108-2	63,4	186,21	1,92E+08	8,48E+07	1,92E+08	1,37E+08	9,11E+08	1,92E+08	4,03E-04	3,15E-04
Ap3m2	P53678, V9GZ82	82,1	323,31	2,33E+08	5,54E+07	1,91E+08	3,65E+07	2,49E+08	1,91E+08	1,95E-04	8,37E-05
Cyfp2	A0A0G2JT63, D3ZX82	61,9	323,31	5,91E+08	5,91E+07	1,87E+08	7,60E+07	3,03E+08	1,87E+08	3,28E-04	2,44E-04
Capzb	Q5XI32, A0A0G2JYB1	75	323,31	2,69E+07	1,86E+08	7,08E+08	1,39E+08	4,39E+08	1,86E+08	3,85E-04	1,89E-04
Kcnab2	P62483, A0A0G2K670	66,5	247,02	1,86E+08	4,97E+07	3,55E+08	3,10E+07	1,93E+08	1,86E+08	1,92E-04	8,13E-05
Rps4x	X1WI37, A0A0H2UHX3, P62703, D3ZX01	69,5	180,19	1,83E+08	2,45E+07	4,31E+08	1,09E+07	3,12E+08	1,83E+08	2,07E-04	1,41E-04
Nckap1	P55161	56	323,31	5,54E+08	6,25E+07	1,82E+08	5,60E+07	2,82E+08	1,82E+08	3,02E-04	2,30E-04
Ap3d1	B5DFK6	54	323,31	5,88E+08	6,41E+07	1,82E+08	4,32E+07	2,35E+08	1,82E+08	2,93E-04	2,53E-04
RS7	P62083	64,9	171,2	1,82E+08	2,53E+07	3,51E+08	1,64E+07	2,35E+08	1,82E+08	1,80E-04	1,07E-04
Rps3a	P49242, M0R6L4	55,3	268,18	1,81E+08	1,95E+07	2,98E+08	1,34E+07	2,19E+08	1,81E+08	1,63E-04	1,01E-04
Rab12	P35284, D4A376	77	148,51	3,48E+07	1,81E+08	4,50E+08	7,39E+07	2,76E+08	1,81E+08	2,65E-04	1,22E-04
Synaptotagmin-17	A0A0G2K9H6, A0A0U1RRS2, A0A0U1RRV6	77,2	323,31	3,12E+07	1,81E+08	4,45E+08	1,09E+08	3,14E+08	1,81E+08	2,93E-04	1,27E-04
Rps8	P62243, M0R7Q5, D3ZIE1, Q6TXJ0	59,1	231,71	1,81E+08	2,35E+07	4,01E+08	1,33E+07	2,99E+08	1,81E+08	2,00E-04	1,32E-04
Cyb5r3	P20070-3, P20070, P20070-2	69,8	323,31	2,97E+08	2,30E+07	3,44E+08	2,21E+07	1,79E+08	1,79E+08	2,00E-04	1,33E-04
Cd47	P97829-2, P97829	18,6	106,91	1,78E+08	1,13E+08	5,35E+08	1,15E+08	2,56E+08	1,78E+08	3,12E-04	8,30E-05
Cadm2	A0A0G2K5U6, A0A0A0MY16, Q1WIM2-2, Q1WIM2	45,2	229,66	1,78E+08	5,41E+07	3,46E+08	6,57E+07	1,98E+08	1,78E+08	2,12E-04	5,96E-05
Rap2a	A0A0G2JTW1	68,9	193,36	2,22E+08	9,27E+07	3,05E+08	7,66E+07	1,77E+08	1,77E+08	2,35E-04	4,06E-05
Psmc4	Q63570	87,1	323,31	1,77E+08	1,42E+08	4,34E+08	8,60E+07	5,91E+08	1,77E+08	3,62E-04	1,51E-04
Cd81	Q6P9V1, Q62745	28,4	323,31	1,76E+08	5,26E+07	3,32E+08	4,03E+07	2,18E+08	1,76E+08	1,98E-04	6,91E-05
Dync1li1	G3V7G0, Q9QXU8	74,2	323,31	1,73E+08	1,11E+08	3,27E+08	9,07E+07	3,79E+08	1,73E+08	2,86E-04	6,94E-05
Capza2	Q3T1K5	79	323,31	3,51E+07	1,73E+08	8,14E+08	1,51E+08	5,02E+08	1,73E+08	4,21E-04	2,17E-04
Lmbrd2	D3ZUP8	24,1	323,31	2,09E+08	9,17E+07	1,93E+08	8,22E+07	1,73E+08	1,73E+08	2,15E-04	4,43E-05
Hacd3	D4ABI7	28,2	155,31	3,45E+08	1,73E+07	2,22E+08	2,96E+07	1,73E+08	1,73E+08	1,94E-04	1,47E-04
Tubb3	Q4QRB4	70,4	323,31	1,70E+08	9,17E+07	5,57E+08	4,83E+07	4,49E+08	1,70E+08	3,06E-04	1,47E-04
Calr	P18418	62,5	323,31	2,91E+08	1,70E+07	1,68E+08	2,41E+07	2,05E+08	1,68E+08	1,74E-04	1,27E-04
Rdh11	Q6AXX5, Q6TUD3	40,8	136,38	1,83E+08	1,47E+07	2,08E+08	1,49E+07	1,66E+08	1,66E+08	1,36E-04	8,38E-05

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Tuba4a	Q5XIF6	71	206,85	1,64E+08	4,53E+07	3,06E+08	5,14E+07	3,17E+08	1,64E+08	2,16E-04	8,78E-05
Tubb4b	G3V7C6, Q6P9T8	75,7	241,66	1,64E+08	6,74E+07	3,83E+08	4,67E+07	3,18E+08	1,64E+08	2,35E-04	8,90E-05
PRS4	P62193	61,6	323,31	1,06E+08	1,63E+08	4,67E+08	6,86E+07	5,02E+08	1,63E+08	3,27E-04	1,44E-04
Clavesin-1	F1LRF3, A0A0G2K5H2, A6JFQ6	50,3	147,69	2,12E+08	1,06E+08	1,62E+08	4,25E+07	1,71E+08	1,62E+08	1,91E-04	5,63E-05
Por	P00388	61,5	323,31	2,60E+08	3,00E+07	1,74E+08	2,99E+07	1,62E+08	1,62E+08	1,65E-04	1,00E-04
Psmc3	Q6P6U2	76,7	323,31	1,34E+08	1,61E+08	4,61E+08	8,15E+07	5,13E+08	1,61E+08	3,43E-04	1,32E-04
Trappc13	Q5M887	44,7	187,5	2,07E+08	9,52E+07	1,78E+08	7,49E+07	1,59E+08	1,59E+08	2,05E-04	4,45E-05
Vipas39	A0A0G2K5Y1, Q5PQN6	64	323,31	1,59E+08	1,08E+08	2,09E+08	6,08E+07	2,56E+08	1,59E+08	2,16E-04	3,69E-05
Ica1	Q6AZ05, Q63054	52,3	323,31	1,58E+08	1,18E+08	2,00E+08	6,64E+07	1,99E+08	1,58E+08	2,09E-04	2,35E-05
Gpd1l	D3ZAP9	75,5	227,2	1,58E+08	1,14E+08	2,87E+08	8,63E+07	2,20E+08	1,58E+08	2,39E-04	1,73E-05
BIP	P06761	54,3	323,31	1,95E+08	2,60E+07	1,57E+08	4,20E+07	1,67E+08	1,57E+08	1,52E-04	6,92E-05
Rpl3	P21531	43,7	106,32	2,46E+08	2,64E+06	1,69E+08	3,77E+06	1,57E+08	1,57E+08	1,33E-04	1,20E-04
Trappc11	D3ZH18, A0A0G2K1K5	67,3	323,31	2,02E+08	1,13E+08	1,55E+08	9,92E+07	1,94E+08	1,55E+08	2,30E-04	5,87E-05
PYGM	G3V8V3, P09812	69,8	323,31	3,15E+08	8,87E+07	1,55E+08	1,25E+08	3,60E+08	1,55E+08	3,03E-04	1,22E-04
Cpne5	D3ZGN2	68,6	323,31	2,04E+08	1,53E+08	2,63E+08	7,32E+07	1,48E+08	1,53E+08	2,39E-04	5,02E-05
Actr1a	P85515	66	323,31	1,30E+08	1,49E+08	3,35E+08	5,16E+07	4,43E+08	1,49E+08	2,81E-04	1,18E-04
Wfs1	E9PT53	40	323,31	1,48E+08	1,69E+07	1,63E+08	3,32E+07	1,50E+08	1,48E+08	1,28E-04	5,64E-05
Vsnl1	P62762	85,9	141,37	1,47E+08	6,63E+07	4,48E+08	6,51E+07	2,41E+08	1,47E+08	2,35E-04	8,27E-05
Dnajc13	D3ZN27	56,4	323,31	1,44E+08	9,60E+07	2,37E+08	3,43E+07	2,13E+08	1,44E+08	1,86E-04	4,29E-05
Dpysl2	P47942	70,3	323,31	1,44E+08	6,67E+07	1,62E+08	5,62E+07	1,68E+08	1,44E+08	1,65E-04	2,42E-05
Slc10a4	F1LQG5, Q5PT56	16,5	128,11	1,96E+08	6,41E+07	1,43E+08	3,93E+07	1,50E+08	1,43E+08	1,60E-04	5,42E-05
Pura	F1LPS8, P86252	51,9	323,31	1,41E+08	3,47E+07	3,35E+08	2,37E+07	3,87E+08	1,41E+08	2,08E-04	1,35E-04
Tecr	Q64232	35,7	119,99	3,03E+08	7,88E+06	1,70E+08	1,07E+07	1,41E+08	1,41E+08	1,51E-04	1,40E-04
Ggt7	Q99MZ4	53,8	323,31	2,24E+08	9,48E+07	1,41E+08	4,83E+07	1,95E+08	1,41E+08	1,95E-04	6,26E-05
Amphiphysin	O08838, A0A0G2JX32, F1LPP0, A0A0G2K5Z4	61,5	323,31	3,05E+07	1,75E+08	1,30E+08	1,39E+08	3,55E+08	1,39E+08	2,65E-04	1,58E-04
Dynactin-150	D4A8U7, P28023	68,1	323,31	2,33E+07	1,37E+08	5,52E+08	1,18E+08	4,24E+08	1,37E+08	3,21E-04	1,61E-04
Trappc10	F1MAQ4	49,8	323,31	5,52E+07	1,37E+08	2,25E+08	1,06E+08	2,31E+08	1,37E+08	2,24E-04	8,68E-05
Anxa4	Q5U362, P55260	77,4	323,31	1,36E+08	9,43E+06	1,15E+09	5,62E+07	3,92E+08	1,36E+08	3,56E-04	3,36E-04
Snx5	B1H267	52	323,31	3,91E+08	1,02E+08	1,67E+08	6,50E+07	1,35E+08	1,35E+08	2,45E-04	1,43E-04

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Acsf6	A0A0A6YYM0, P33124-2, P33124	64,4	323,31	2,54E+08	1,90E+07	1,64E+08	2,67E+07	1,34E+08	1,34E+08	1,50E-04	1,04E-04
Rpsa	P38983	60,7	323,31	1,78E+08	3,65E+06	2,13E+08	3,49E+07	1,33E+08	1,33E+08	1,36E-04	7,73E-05
Itpr1	F1LQX8, P29994-4, C7E1V2, F1LNT1, P29994-8, P29994-6, P29994-3, A0A0A0MY31, P29994-7, P29994-5	54,3	323,31	1,57E+08	1,23E+07	1,41E+08	1,21E+07	1,32E+08	1,32E+08	1,08E-04	6,93E-05
Sccpdh	Q6AY30	64,6	323,31	2,72E+08	1,77E+07	2,24E+08	2,31E+07	1,29E+08	1,29E+08	1,61E-04	1,15E-04
Tmx2	Q5XIK2	59	141,19	1,58E+08	1,30E+07	2,02E+08	1,80E+07	1,29E+08	1,29E+08	1,21E-04	7,00E-05
Mgll	Q8R431, A0A0G2JYI5	70,6	244,5	1,29E+08	1,32E+08	2,00E+08	5,88E+07	1,12E+08	1,29E+08	1,83E-04	4,71E-05
Rplp2	D4A4D5, P02401, D3ZN03	75,7	145,12	1,86E+08	4,18E+07	2,93E+08	9,66E+06	1,28E+08	1,28E+08	1,51E-04	8,75E-05
Cds2	G3V8W2, Q91XU8	27,7	139,76	2,70E+08	1,33E+07	1,69E+08	2,12E+07	1,27E+08	1,27E+08	1,48E-04	1,17E-04
Vdac1	Q9Z2L0	74,2	323,31	1,27E+08	2,04E+07	3,64E+08	3,34E+07	1,38E+08	1,27E+08	1,55E-04	8,85E-05
Annexin	Q6IMZ3, P48037	80,1	323,31	1,24E+08	4,19E+06	1,76E+09	1,05E+08	4,03E+08	1,24E+08	4,86E-04	5,22E-04
RS4	B0BN81, P24050, A0A0G2K200	45,6	108,09	1,24E+08	1,68E+07	2,97E+08	1,60E+07	2,48E+08	1,24E+08	1,55E-04	9,92E-05
Prps1	P60892, A0A0G2JSV3, M0RBK1	62,3	323,31	1,23E+08	8,61E+07	3,63E+08	5,37E+07	3,07E+08	1,23E+08	2,30E-04	7,64E-05
Dnm3	Q08877-10, Q08877-11, Q08877-7, Q08877-12, Q08877-9, Q08877-13, Q08877-3, Q08877-4, Q08877, Q08877-5, Q08877-2, Q08877-6, Q08877-8	64,7	323,31	5,20E+07	6,67E+07	1,79E+08	1,22E+08	4,79E+08	1,22E+08	2,52E-04	1,72E-04
Snap29	Q9JI56, Q9Z2P6	69,3	172,39	1,02E+08	1,21E+08	2,95E+08	3,80E+07	2,27E+08	1,21E+08	2,00E-04	5,98E-05
Trappc12	D3ZE49	54,6	323,31	2,10E+08	1,19E+08	1,14E+08	1,16E+08	2,14E+08	1,19E+08	2,42E-04	8,47E-05
Rpl23	P62832	49,3	115,78	1,30E+08	2,82E+06	2,21E+08	8,81E+05	1,19E+08	1,19E+08	1,00E-04	8,04E-05
Hectd3	F1LVZ9	62,6	323,31	1,23E+08	1,19E+08	3,88E+07	6,72E+06	1,25E+08	1,19E+08	1,19E-04	8,29E-05
Hnrmpa2b1	F1LNF1, A7VJC2, F1LM82, A7VJC2- 4, A7VJC2-2, A7VJC2-3	68,2	323,31	1,18E+08	5,66E+07	5,77E+08	1,54E+07	5,51E+08	1,18E+08	2,83E-04	2,22E-04
Gad2	Q05683	58,1	323,31	6,56E+07	1,16E+08	1,56E+08	6,37E+07	1,97E+08	1,16E+08	1,74E-04	5,54E-05
Snx6	B5DEY8	54,2	306,86	4,82E+08	1,05E+08	1,16E+08	5,19E+07	1,17E+08	1,16E+08	2,49E-04	2,03E-04
Trappc9	D3ZJK6	44,1	323,31	7,25E+07	1,16E+08	1,72E+08	9,11E+07	1,91E+08	1,16E+08	1,94E-04	6,49E-05
Idh2	P56574, A0A0G2JUF6	50,9	217,28	1,18E+08	2,40E+07	1,87E+08	3,52E+07	1,13E+08	1,13E+08	1,20E-04	4,04E-05
Apoe	A0A0G2K151, P02650	44,8	318,64	1,36E+08	5,48E+07	2,10E+08	4,16E+07	1,12E+08	1,12E+08	1,45E-04	2,96E-05
Iglon5	F1LVR0	42,9	323,31	1,22E+08	4,64E+07	1,33E+08	3,06E+07	1,12E+08	1,12E+08	1,18E-04	2,57E-05
Lancl2	Q68FQ9	60,2	323,31	1,12E+08	6,84E+07	1,94E+08	5,38E+07	1,46E+08	1,12E+08	1,56E-04	1,00E-05

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
BIN1	O08839-2, O08839, F1LMX1, O08839-5, D4A4P1, Q5HZA7, O08839-6, O08839-3	56,4	323,31	2,05E+07	1,17E+08	1,11E+08	9,38E+07	2,20E+08	1,11E+08	1,78E-04	9,97E-05
Gnb2	P54313	61,2	323,31	1,11E+08	6,10E+07	2,48E+08	3,18E+07	1,32E+08	1,11E+08	1,45E-04	3,70E-05
Syntaxin-6	Q63635	75,3	323,31	2,24E+07	1,10E+08	6,46E+08	8,98E+07	3,71E+08	1,10E+08	2,97E-04	1,74E-04
Pgrmc2	Q5XIU9	72,8	126,27	1,75E+08	7,90E+06	2,87E+08	2,59E+07	1,09E+08	1,09E+08	1,39E-04	8,84E-05
Sec22b	Q4KM74	51,2	146,72	1,08E+08	3,59E+07	5,56E+08	5,23E+07	3,45E+08	1,08E+08	2,46E-04	1,52E-04
Gdpd5	G3V9L7	27,9	235,75	1,82E+08	1,06E+08	1,07E+08	4,57E+07	1,59E+08	1,07E+08	1,73E-04	5,44E-05
Fasn	P12785	47,8	323,31	1,06E+08	4,56E+07	1,06E+08	1,61E+07	2,17E+08	1,06E+08	1,23E-04	6,55E-05
Cct5	Q68FQ0	76,5	323,31	3,43E+07	7,73E+07	2,21E+08	1,05E+08	1,91E+08	1,05E+08	1,85E-04	8,96E-05
Tmem33	A0A0H2UHA6, Q9Z142	44,7	112,95	1,40E+08	1,34E+07	2,16E+08	1,96E+07	1,04E+08	1,04E+08	1,15E-04	6,41E-05
Serinc1	Q7TNK0	17,7	323,31	1,04E+08	4,51E+07	1,54E+08	1,97E+07	1,05E+08	1,04E+08	1,07E-04	2,85E-05
Slc9a6	D3ZJ86	26,8	196,46	1,02E+08	5,10E+07	1,10E+08	4,44E+07	1,02E+08	1,02E+08	1,17E-04	1,78E-05
Pi4k2a	Q99M64	69,7	323,31	1,02E+08	4,07E+07	1,78E+08	3,60E+07	1,02E+08	1,02E+08	1,19E-04	2,35E-05
Dpp10	Q6Q629, F1LPW1	50,8	323,31	1,40E+08	6,92E+07	1,01E+08	3,96E+07	1,10E+08	1,01E+08	1,32E-04	3,35E-05
Ryanodine R2	B0LPN4, B0LPN4-2, F1LS89, F1LRZ1	51	323,31	1,42E+08	1,12E+07	1,17E+08	1,77E+07	1,01E+08	1,01E+08	9,56E-05	5,71E-05
Nptx1	A0A0H2UHC1, P47971	36,5	323,31	1,01E+08	5,11E+07	2,09E+08	3,92E+07	1,22E+08	1,01E+08	1,34E-04	2,42E-05
Gnb2l1	P63245, A0A0G2JZE6	72,2	309,9	1,38E+08	3,53E+06	1,94E+08	1,61E+07	1,01E+08	1,01E+08	1,03E-04	6,73E-05
KPYM	P11980-2, A0A0G2JVG3, M0RD14	72,7	323,31	1,01E+08	5,22E+07	1,06E+08	4,58E+07	2,24E+08	1,01E+08	1,44E-04	5,51E-05
Pld3	Q5FVH2	27,3	214,59	9,95E+07	5,80E+07	1,06E+08	7,53E+07	4,00E+08	9,95E+07	2,03E-04	1,28E-04
RGD1305455	A0A0G2KAX2	49,3	323,31	7,13E+07	9,95E+07	9,91E+07	6,72E+07	1,71E+08	9,91E+07	1,55E-04	5,41E-05
Vcp	P46462	69,6	323,31	9,76E+07	1,38E+08	7,75E+07	1,56E+07	2,64E+08	9,76E+07	1,63E-04	1,04E-04
Cacng8	F1M7K7, Q8VHW5	44,9	323,31	9,76E+07	7,83E+07	1,26E+08	2,36E+07	1,04E+08	9,76E+07	1,17E-04	2,86E-05
Becn1	Q91XJ1	56,2	323,31	1,47E+08	7,36E+07	1,39E+08	3,26E+07	9,72E+07	9,72E+07	1,34E-04	3,55E-05
Slc24a2	O54701, O54701-2	14,2	118,25	1,09E+08	1,08E+08	7,24E+07	3,55E+07	9,69E+07	9,69E+07	1,28E-04	5,26E-05
GDPD1	A0A0G2K8E7, Q0VGK4, A0A0G2K080	52,1	169,12	1,19E+08	8,52E+06	1,75E+08	1,31E+07	9,67E+07	9,67E+07	9,43E-05	5,67E-05
Al314180	F1M446	59,5	323,31	9,59E+07	6,73E+07	1,18E+08	1,22E+07	1,45E+08	9,59E+07	1,13E-04	4,22E-05
Calmodulin-1	P0DP31, P0DP30, P0DP29, D4ABV5	59,1	279,15	9,55E+07	4,19E+07	3,22E+08	2,82E+07	4,04E+08	9,55E+07	2,03E-04	1,39E-04
Cpe	P15087, D4A8X4	47,5	323,31	1,04E+08	3,88E+07	1,60E+08	2,40E+07	9,51E+07	9,51E+07	1,06E-04	2,75E-05
Vps45	O08700	56	323,31	7,08E+07	9,50E+07	2,14E+08	8,01E+07	2,01E+08	9,50E+07	1,87E-04	5,15E-05

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Them6	Q5XIE1	57	117,19	1,11E+08	9,35E+06	1,43E+08	1,02E+07	9,40E+07	9,40E+07	8,47E-05	5,08E-05
Bcap31	Q6AY58	41,2	154,95	3,00E+08	2,40E+07	1,34E+08	7,94E+06	9,39E+07	9,39E+07	1,38E-04	1,36E-04
Nf1	F1LM28	48,3	323,31	1,07E+08	2,64E+07	1,34E+08	8,79E+06	9,33E+07	9,33E+07	8,81E-05	4,21E-05
Cltc	F1M779, P11442	61,1	323,31	6,37E+07	9,26E+07	1,66E+08	1,93E+07	1,68E+08	9,26E+07	1,32E-04	5,19E-05
Napepld	Q769K2, A0A0G2K5Y7	63,1	323,31	1,51E+08	6,38E+07	1,30E+08	3,03E+07	9,22E+07	9,22E+07	1,27E-04	3,95E-05
SRC	Q9WUD9-2, Q9WUD9	56,6	323,31	1,72E+07	9,09E+07	1,19E+08	6,85E+07	2,21E+08	9,09E+07	1,52E-04	8,02E-05
Rab8a	P35280	50,2	119,52	3,47E+07	9,00E+07	2,23E+08	4,56E+07	1,65E+08	9,00E+07	1,48E-04	5,35E-05
Ndr3	Q6AYR2	60	323,31	8,96E+07	3,82E+07	1,85E+08	3,13E+07	1,13E+08	8,96E+07	1,15E-04	2,68E-05
Hnrnpa3	Q6URK4	47,2	298,73	8,94E+07	3,20E+07	3,42E+08	8,80E+06	3,82E+08	8,94E+07	1,85E-04	1,49E-04
Atp2c1	Q64566, Q64566-2	51,3	323,31	8,88E+07	8,40E+07	8,88E+07	3,61E+07	1,08E+08	8,88E+07	1,19E-04	3,05E-05
Itfg1	Q5U355, Q8R4E1	33,9	250,82	1,02E+08	5,76E+07	8,87E+07	2,12E+07	9,80E+07	8,87E+07	1,00E-04	2,65E-05
Hexb	Q6AXR4, F1LR87	33,3	116,32	1,08E+08	3,46E+07	1,09E+08	1,81E+07	8,86E+07	8,86E+07	9,20E-05	3,04E-05
Tmx4	G3V912	39,6	287,47	9,69E+07	7,88E+06	1,38E+08	2,09E+07	8,79E+07	8,79E+07	8,47E-05	4,08E-05
Tppp	D3ZQL7, A0A0G2K2D6	42,2	323,31	1,83E+07	4,60E+07	2,57E+08	8,77E+07	3,16E+08	8,77E+07	1,91E-04	1,17E-04
Rtcb	Q6AYT3	63	252,75	8,69E+07	1,25E+07	1,77E+08	1,33E+07	1,25E+08	8,69E+07	9,41E-05	5,11E-05
Cisd1	B0K020	54,6	204,86	1,06E+08	1,81E+07	1,76E+08	2,42E+07	8,66E+07	8,66E+07	9,94E-05	4,19E-05
Atp2b2	P11506-8, P11506-6, P11506-7, P11506-1, D4A8B3, P11506-5, P11506-12, P11506-3, P11506-10, P11506-4, P11506-11, P11506-2, P11506-9	37,8	323,31	8,66E+07	3,32E+07	1,46E+08	3,49E+07	1,10E+08	8,66E+07	1,07E-04	2,06E-05
Hpcal1	P62749	66,8	263,93	8,65E+07	6,21E+07	1,84E+08	2,40E+07	1,03E+08	8,65E+07	1,17E-04	2,63E-05
Ehd1	Q641Z6	74,9	323,31	8,21E+07	6,94E+07	1,81E+08	8,60E+07	2,02E+08	8,60E+07	1,78E-04	5,67E-05
Rab21	Q6AXT5	62,3	323,31	1,58E+07	8,55E+07	4,44E+08	6,91E+07	2,82E+08	8,55E+07	2,19E-04	1,22E-04
Camk2g	P11730, P11730-2	66,2	323,31	3,17E+07	8,51E+07	5,39E+08	3,47E+07	5,30E+08	8,51E+07	2,72E-04	2,10E-04
Sbf1	M0RAP5	54,1	323,31	8,51E+07	4,21E+07	2,57E+08	2,67E+07	2,83E+08	8,51E+07	1,62E-04	8,97E-05
RGD1305587	B0BMZ1, M0R549	38,3	146,16	8,49E+07	1,72E+07	2,36E+08	2,49E+07	1,36E+08	8,49E+07	1,15E-04	5,69E-05
Abi1	A2VD09, Q9QZM5	33,3	165,12	1,43E+08	9,48E+06	8,46E+07	1,23E+07	1,25E+08	8,46E+07	9,16E-05	6,43E-05
Cyp46a1	F7EN52, A0A0G2JWG7	64,6	312,75	1,56E+08	7,26E+06	1,15E+08	1,55E+07	8,42E+07	8,42E+07	9,24E-05	6,59E-05
VAPB	Q9Z269	58	254,63	1,09E+07	4,78E+07	1,01E+09	8,37E+07	5,23E+08	8,37E+07	3,60E-04	3,13E-04
Mtor	A0A0G2JX74, P42346	55,4	323,31	8,33E+07	5,45E+07	1,39E+08	2,31E+07	1,94E+08	8,33E+07	1,25E-04	4,74E-05

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Aldh3a2	G3V9W6, A0A0G2JY43, P30839	43,6	168,31	8,43E+07	7,88E+06	1,54E+08	2,25E+07	8,20E+07	8,20E+07	8,38E-05	3,97E-05
Vdac2	P81155	60,7	192,37	8,25E+07	1,79E+07	2,19E+08	2,59E+07	8,19E+07	8,19E+07	1,00E-04	4,88E-05
Napb	F8WFM2, P85969	84,6	323,31	8,13E+07	4,90E+07	1,70E+08	2,88E+07	1,27E+08	8,13E+07	1,16E-04	2,18E-05
Fam65b	Q7TP54	10,8	323,31	8,03E+07	1,37E+08	3,05E+07	4,70E+06	1,38E+08	8,03E+07	1,15E-04	9,57E-05
Rab2b	Q3B7V5	78,1	202,87	2,53E+07	8,00E+07	3,51E+08	5,56E+07	2,99E+08	8,00E+07	1,99E-04	1,06E-04
Pcyox1l	B5DEI0	35	165,69	1,25E+08	1,39E+07	9,41E+07	1,66E+07	7,78E+07	7,78E+07	8,23E-05	4,72E-05
Hsd17b12	Q6P7R8, D3ZPU3	59,3	105,01	1,54E+08	7,95E+06	1,82E+08	4,70E+06	7,74E+07	7,74E+07	9,53E-05	7,59E-05
Nptn	P97546, P97546-3	33,1	146,99	1,02E+08	2,73E+07	1,21E+08	2,16E+07	7,73E+07	7,73E+07	8,93E-05	2,89E-05
Abhd17b	Q6AY17	62,5	158,14	7,71E+07	6,97E+07	1,68E+08	1,63E+07	8,92E+07	7,71E+07	1,07E-04	3,39E-05
Dhrs7	D4A0T8	48,5	151,45	8,92E+07	1,30E+07	1,36E+08	1,35E+07	7,66E+07	7,66E+07	7,74E-05	3,78E-05
Mlst8	G3V7F1, Q9Z2K5	50,6	225,03	7,60E+07	4,54E+07	1,12E+08	1,73E+07	1,33E+08	7,60E+07	9,77E-05	2,99E-05
Synaptojanin-1	D4ABN3, Q62910-2, Q62910, Q62910-5, Q62910-4, Q62910-3, Q62910-6	55,5	323,31	1,73E+07	2,32E+07	1,61E+08	7,53E+07	2,28E+08	7,53E+07	1,38E-04	9,27E-05
Ptpn2	Q63475	39,5	323,31	7,50E+07	7,24E+07	1,90E+08	5,69E+07	1,56E+08	7,50E+07	1,51E-04	2,71E-05
Tcp1	P28480, A0A096MJA0	81,3	323,31	6,55E+07	7,35E+07	2,10E+08	4,51E+07	2,07E+08	7,35E+07	1,56E-04	4,62E-05
Tpd52l1	A0A0G2K8M7, Q499Q2	69,4	178,75	7,35E+07	7,07E+07	1,97E+08	4,27E+07	8,54E+07	7,35E+07	1,27E-04	2,73E-05
Abhd12	Q6AYT7	56,5	216,34	1,12E+08	7,35E+06	1,16E+08	8,99E+06	7,35E+07	7,35E+07	7,44E-05	4,93E-05
Tpd52	A0A0G2K865, F1MAB9	53,8	209,54	1,18E+08	7,35E+07	1,27E+08	1,32E+07	6,44E+07	7,35E+07	1,05E-04	4,50E-05
Cdh13	F1M7X3, Q8R490	27,9	323,31	7,34E+07	3,28E+07	1,12E+08	1,79E+07	8,01E+07	7,34E+07	8,07E-05	1,69E-05
Kif5c	G3V6L4, A0A0G2K070	64,2	323,31	7,33E+07	4,51E+07	9,04E+07	2,23E+07	1,05E+08	7,33E+07	9,01E-05	1,65E-05
Prrt2	D3ZFB6	37,5	323,31	4,77E+07	9,59E+07	7,30E+07	4,28E+07	1,97E+08	7,30E+07	1,34E-04	6,44E-05
Endod1	D3ZIP8	51,9	323,31	3,24E+08	8,36E+06	1,94E+08	1,69E+07	7,27E+07	7,27E+07	1,50E-04	1,51E-04
Eef1g	Q68FR6	59,5	323,31	1,15E+07	7,21E+07	6,90E+08	4,67E+07	2,50E+08	7,21E+07	2,33E-04	1,93E-04
Hspa12a	D3ZC55	53,9	323,31	7,19E+07	4,56E+07	1,17E+08	4,83E+07	1,40E+08	7,19E+07	1,18E-04	2,75E-05
Asphd2	Q5HZW3	53,4	131,79	9,10E+07	1,25E+07	1,19E+08	1,61E+07	7,18E+07	7,18E+07	7,53E-05	3,47E-05
Bsg	P26453-2, P26453	33,1	111,56	8,44E+07	3,58E+07	7,16E+07	1,34E+07	7,34E+07	7,16E+07	7,37E-05	2,39E-05
Lnp	A0JN29	47,3	205,18	7,13E+07	7,19E+06	1,94E+08	2,96E+07	9,64E+07	7,13E+07	9,43E-05	4,76E-05
Rab8b	P70550	55,1	108,28	7,11E+07	6,81E+07	1,65E+08	2,59E+07	1,08E+08	7,11E+07	1,14E-04	2,35E-05
Pik3r4	P0C0R5	53,8	323,31	7,10E+07	6,06E+07	1,65E+08	3,62E+07	1,01E+08	7,10E+07	1,16E-04	1,47E-05

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Mthfd1	G3V6S5, P27653, D3ZZM8	65,2	323,31	7,28E+07	5,11E+07	7,03E+07	4,81E+07	1,57E+08	7,03E+07	1,16E-04	4,00E-05
Gde1	Q9JL55, M0R5Q9	42	155,71	1,14E+08	9,72E+06	7,59E+07	1,46E+07	6,99E+07	6,99E+07	7,19E-05	4,52E-05
Frrs1l	D3ZE85	36,5	101,47	9,62E+07	1,98E+07	9,19E+07	1,07E+07	6,98E+07	6,98E+07	7,13E-05	3,43E-05
Sirt2	A0A0G2JWM2, Q5RJQ4	63,7	323,31	6,96E+07	3,60E+07	1,13E+08	2,01E+07	1,17E+08	6,96E+07	9,05E-05	2,29E-05
Adrm1	Q9JMB5	20,4	190,01	4,09E+07	6,91E+07	7,51E+07	1,41E+07	1,15E+08	6,91E+07	8,57E-05	3,97E-05
Zzef1	D3ZG78	49,4	323,31	7,44E+07	6,88E+07	6,18E+07	5,20E+06	1,03E+08	6,88E+07	8,43E-05	4,44E-05
Svop	Q9Z2I7, A0A0G2JZX3	23,4	227,18	6,78E+07	3,53E+07	8,81E+07	1,85E+07	7,54E+07	6,78E+07	7,54E-05	1,15E-05
Anxa11	Q5XI77	38,6	294,14	8,19E+07	6,21E+06	9,36E+07	2,40E+07	6,77E+07	6,77E+07	7,00E-05	3,17E-05
Ddx3y	A0A0G2K719, D3ZN21, D4ADE8	55,6	323,31	8,52E+07	9,47E+06	6,76E+07	1,45E+07	8,54E+07	6,76E+07	6,59E-05	3,42E-05
Ap3b2	D4AE00	51,9	323,31	1,82E+08	3,88E+07	6,72E+07	1,50E+07	9,08E+07	6,72E+07	1,05E-04	7,20E-05
Uvrag	D3ZKE1	44,8	299,67	6,55E+07	4,14E+07	1,02E+08	2,13E+07	6,58E+07	6,55E+07	7,92E-05	8,74E-06
Ccln3	P51792, P51792-2, A0A0G2K2K6	28,7	179,78	6,55E+07	2,91E+07	9,60E+07	2,80E+07	6,93E+07	6,55E+07	7,81E-05	1,04E-05
Dnajb4	Q5XIP0	46,3	136,62	6,47E+07	3,26E+07	1,05E+08	1,95E+07	9,76E+07	6,47E+07	8,18E-05	1,71E-05
Apmap	A0A0G2K6G2, Q7TP48, Q7TP48-2, D3ZGQ3	65,5	296,6	1,03E+08	6,87E+06	1,05E+08	1,95E+07	6,47E+07	6,47E+07	7,44E-05	4,02E-05
Cct2	Q5XIM9	70,8	323,31	1,36E+07	3,25E+07	1,49E+08	6,43E+07	1,13E+08	6,43E+07	1,06E-04	6,08E-05
C2cd2l	Q5U2P5, A0A0G2K2V4	55,9	323,31	6,33E+07	1,41E+07	1,08E+08	2,19E+07	1,37E+08	6,33E+07	8,46E-05	3,98E-05
Numbl	A0A0G2K9C5, A1L1I3	35,1	147,96	3,47E+07	3,62E+07	1,42E+08	6,32E+07	1,21E+08	6,32E+07	1,14E-04	5,11E-05
Camk2d	P15791, P15791-6, P15791-2, P15791-3, P15791-5	62,9	323,31	3,24E+07	6,25E+07	2,76E+08	3,05E+07	3,89E+08	6,25E+07	1,85E-04	1,37E-04
Gad1	P18088, B3VQJ0	40,6	323,31	1,97E+07	5,97E+07	1,39E+08	6,24E+07	1,16E+08	6,24E+07	1,17E-04	5,28E-05
Abhd16a	Q6MG55, A0A0G2K0X5, A0A0G2K4N8	39,6	253,86	1,38E+08	6,75E+06	1,13E+08	1,46E+07	6,22E+07	6,22E+07	8,17E-05	5,85E-05
Nptxr	O35764, F1LSY2	43,9	183,76	6,39E+07	4,27E+07	1,09E+08	1,92E+07	6,22E+07	6,22E+07	7,85E-05	1,25E-05
Eprs	A0A0G2JZI2, Q6TXE9	48,5	323,31	7,50E+07	2,73E+07	8,30E+07	4,55E+06	6,19E+07	6,19E+07	6,17E-05	2,81E-05
Pik3c3	O88763	60,2	323,31	3,96E+07	6,19E+07	7,01E+07	3,08E+07	8,89E+07	6,19E+07	8,62E-05	2,68E-05
Reep2	M0R8C1, A0A0G2K1L5	48,4	188,43	6,14E+07	8,30E+06	1,52E+08	5,72E+06	9,27E+07	6,14E+07	6,95E-05	4,51E-05
Igsf8	A0A140TAA1	35,7	323,31	6,09E+07	2,06E+07	9,22E+07	2,55E+07	6,53E+07	6,09E+07	7,04E-05	1,46E-05
Tmx3	M0R402	33,3	237,99	1,34E+08	4,81E+06	8,68E+07	1,46E+07	6,07E+07	6,07E+07	7,50E-05	5,71E-05
Rab22a	B0BN19, A0A0G2K3Z3	77,8	128,59	1,01E+07	6,04E+07	1,34E+08	1,45E+07	9,56E+07	6,04E+07	7,98E-05	4,30E-05
Tubb4a	B4F7C2	81,1	315,91	5,99E+07	3,18E+07	1,19E+08	2,25E+07	1,05E+08	5,99E+07	8,61E-05	1,94E-05

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Pgd	P85968, A0A0G2K7Q8	52,4	323,31	4,41E+07	4,16E+07	2,26E+08	5,96E+07	1,81E+08	5,96E+07	1,44E-04	5,93E-05
Septin-7	F1LMC7, A0A0G2JZT5, D4A0F5, Q9WVC0	47,7	319,11	2,81E+07	5,95E+07	1,79E+08	2,99E+07	1,43E+08	5,95E+07	1,12E-04	4,38E-05
Snx1	Q99N27	47,5	280,39	2,57E+08	5,92E+07	3,95E+07	2,96E+07	6,69E+07	5,92E+07	1,33E-04	1,10E-04
Brsk2	D3ZML2-2, D3ZML2, M9MMM8	45,8	323,31	1,59E+07	5,89E+07	1,36E+08	5,36E+07	1,25E+08	5,89E+07	1,12E-04	4,84E-05
Atp1b2	Q5M9H4, P13638	25,9	286,28	9,67E+07	1,50E+07	9,47E+07	2,12E+07	5,86E+07	5,86E+07	7,40E-05	3,23E-05
Cpne7	H1UBN0, D3ZWR4	79	323,31	5,86E+07	5,58E+06	1,13E+09	5,37E+07	3,00E+08	5,86E+07	3,08E-04	3,40E-04
Gsk3b	A0A0G2JSH4, P18266	61,7	323,31	4,69E+07	4,99E+07	2,57E+08	5,85E+07	1,84E+08	5,85E+07	1,53E-04	6,01E-05
Gnaq	D4AE68, P82471	55,4	200,74	8,09E+07	3,27E+07	1,15E+08	1,88E+07	5,83E+07	5,83E+07	7,88E-05	2,01E-05
Mapt	D4A1Q2, F1LST4, P19332-2, P19332, P19332-8	35,1	287,42	1,80E+07	3,98E+07	1,67E+08	5,81E+07	1,88E+08	5,81E+07	1,26E-04	6,64E-05
Csnk1d	Q06486, Q06486-2	43,9	190,79	5,66E+07	2,11E+07	1,41E+08	1,60E+07	6,69E+07	5,66E+07	7,22E-05	2,69E-05
Dlst	G3V6P2, Q01205	37,9	177,81	5,64E+07	3,57E+07	1,77E+08	2,62E+07	1,31E+08	5,64E+07	1,05E-04	3,48E-05
Tubg1	P83888	83,6	323,31	5,63E+07	1,81E+07	9,76E+07	1,53E+07	1,36E+08	5,63E+07	7,83E-05	3,96E-05
Gnai2	P04897	63,1	323,31	5,62E+07	1,89E+07	1,07E+08	1,78E+07	5,88E+07	5,62E+07	6,47E-05	1,76E-05
Baiap2	Q6GMN2-2, Q6GMN2	63,2	323,31	6,05E+07	1,97E+07	5,61E+07	2,29E+07	8,15E+07	5,61E+07	6,58E-05	1,92E-05
Cadm4	F1M7V6, Q1WIM1	33,8	323,31	5,58E+07	1,73E+07	1,88E+08	3,14E+07	9,78E+07	5,58E+07	9,47E-05	4,07E-05
Acs1l	P18163	57,4	278,85	1,25E+08	4,05E+07	8,77E+07	1,90E+07	5,55E+07	5,55E+07	8,88E-05	4,06E-05
Syncrip	M0R735, A0A0G2K9J1, Q7TP47	41,8	323,31	5,41E+07	6,97E+06	9,81E+07	5,08E+06	7,61E+07	5,41E+07	5,39E-05	3,21E-05
Prkca	F1M2P8, F1LS98, P05696	60,4	323,31	5,34E+07	3,14E+07	2,09E+08	2,73E+07	1,16E+08	5,34E+07	1,05E-04	4,22E-05
Ina	P23565	62	323,31	2,08E+07	4,67E+07	8,96E+07	5,30E+07	3,28E+08	5,30E+07	1,45E-04	1,17E-04
Rab37	D4A0G7	75,8	145,15	5,29E+07	3,12E+07	9,39E+07	1,49E+07	6,46E+07	5,29E+07	6,62E-05	1,13E-05
Cyfip1	D4A8H8	50,8	225,19	1,08E+08	1,17E+07	5,29E+07	1,37E+07	7,08E+07	5,29E+07	6,68E-05	4,30E-05
Trappc9	E9PU02	33,3	111,61	3,42E+07	5,26E+07	5,73E+07	3,46E+07	8,22E+07	5,26E+07	7,96E-05	2,72E-05
Ephx1	P07687, F1LTS8	59,3	158,09	8,00E+07	4,50E+06	8,81E+07	1,30E+07	5,24E+07	5,24E+07	5,77E-05	3,29E-05
Gsk3a	P18265, A0A0G2K7W7	53,8	284,96	5,20E+07	3,34E+07	1,59E+08	2,58E+07	1,75E+08	5,20E+07	1,09E-04	4,84E-05
Adrbk1	P26817	54	323,31	6,42E+07	4,11E+07	5,19E+07	1,95E+07	6,99E+07	5,19E+07	7,01E-05	1,60E-05
Agpat1	Q6MG85	25,7	141,04	1,26E+08	6,44E+06	1,16E+08	5,04E+06	5,17E+07	5,17E+07	7,06E-05	5,84E-05
Tnr	A0A096MJE6, F1LQ63, Q05546, Q05546-2	39,7	323,31	1,73E+07	5,06E+07	3,36E+08	2,17E+07	9,81E+07	5,06E+07	1,17E-04	8,88E-05
Enpp5	P84039	47,6	173,9	5,05E+07	2,01E+07	1,21E+08	2,05E+07	7,69E+07	5,05E+07	7,18E-05	2,08E-05

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Psd3	D4A404, D3ZFY7, D4A2Q3	27,4	192,15	5,23E+07	8,93E+06	8,49E+07	1,40E+07	5,05E+07	5,05E+07	5,18E-05	1,98E-05
Cpne6	D4ACG7	83,1	323,31	3,62E+07	4,16E+06	7,16E+08	5,00E+07	2,22E+08	5,00E+07	2,12E-04	2,13E-04
Pla2g6	P97570-2	52,1	323,31	5,66E+07	4,95E+07	4,88E+07	2,40E+07	5,30E+07	4,95E+07	7,00E-05	1,97E-05
Cdk5	Q03114	58,6	107,75	4,94E+07	3,17E+07	1,00E+08	2,25E+07	9,78E+07	4,94E+07	7,85E-05	1,63E-05
Ogdh	Q5X178	51,1	323,31	1,15E+07	4,94E+07	1,08E+08	2,65E+07	1,41E+08	4,94E+07	8,88E-05	4,48E-05
Mark2	A0A0G2K6X6, O08679	51,8	323,31	2,32E+07	4,92E+07	1,02E+08	3,41E+07	1,17E+08	4,92E+07	9,02E-05	3,28E-05
Brsk1	B2DD29	55,5	323,31	4,92E+07	4,88E+07	1,11E+08	3,65E+07	1,12E+08	4,92E+07	9,90E-05	1,96E-05
Hexa	Q641X3	32	141,62	4,89E+07	1,45E+07	9,24E+07	1,32E+07	7,53E+07	4,89E+07	5,94E-05	2,10E-05
Cct8	D4ACB8	60,2	114,76	1,38E+07	1,89E+07	9,79E+07	9,15E+07	4,88E+07	4,88E+07	9,49E-05	9,55E-05
Tpbp	Q5PQV5	29,6	202,35	6,27E+07	3,36E+07	5,99E+07	1,47E+07	4,87E+07	4,87E+07	6,04E-05	1,41E-05
Vac14	Q80W92	57,9	323,31	9,02E+07	2,23E+07	4,84E+07	7,21E+06	8,38E+07	4,84E+07	6,44E-05	3,66E-05
Faah	P97612	52	323,31	1,17E+08	6,96E+06	7,97E+07	9,67E+06	4,83E+07	4,83E+07	6,43E-05	4,99E-05
Alcam	O35112	41,9	202,44	4,81E+07	1,08E+07	8,28E+07	1,78E+07	6,18E+07	4,81E+07	5,59E-05	1,77E-05
Dync1li2	Q5D023, A0A096MIY2, Q62698, A0A096MKA1	67,3	323,31	4,80E+07	2,17E+07	1,51E+08	2,48E+07	1,69E+08	4,80E+07	9,99E-05	5,15E-05
Gpd1	O35077	68,5	175,03	4,78E+07	1,85E+07	1,13E+08	2,53E+07	7,18E+07	4,78E+07	7,08E-05	1,93E-05
Syntaxin 16	A0A0G2K528	52,8	323,31	4,76E+07	4,22E+07	8,85E+07	2,24E+07	7,70E+07	4,76E+07	7,56E-05	8,59E-06
Dlat	P08461	41	169,17	4,75E+07	1,94E+07	1,16E+08	2,84E+07	6,28E+07	4,75E+07	7,17E-05	2,03E-05
Dclk1	A0A1W2Q6Q2	47,2	323,31	4,73E+07	3,31E+07	1,62E+08	1,74E+07	2,10E+08	4,73E+07	1,11E-04	6,74E-05
Cad	D4A8A0	52,2	323,31	4,73E+07	4,19E+07	1,10E+08	1,38E+07	1,56E+08	4,73E+07	9,11E-05	4,40E-05
Prpsap2	O08618, Q6AZ40	64,5	323,31	4,68E+07	3,24E+07	1,54E+08	1,80E+07	1,63E+08	4,68E+07	9,87E-05	4,85E-05
Fam134a	A0A0G2K1U5, Q3MHU5	47,1	212,94	5,48E+07	3,19E+06	5,82E+07	1,12E+07	4,67E+07	4,67E+07	4,31E-05	2,21E-05
Slc3a2	A0A0H2UHQ0	43,3	235,04	5,24E+07	1,69E+07	6,43E+07	1,14E+07	4,65E+07	4,65E+07	4,91E-05	1,34E-05
Ugp2	Q4V8I9, A0A0G2K542	56,9	285,61	4,54E+07	4,50E+07	2,07E+08	2,18E+07	9,73E+07	4,54E+07	1,00E-04	4,08E-05
Dctn2	A0A0G2JUC7, Q6AYH5	56,7	323,31	1,78E+06	4,52E+07	1,94E+08	1,69E+07	1,56E+08	4,52E+07	9,64E-05	6,50E-05
Sptan1	A0A0G2JZ69, P16086, A0A0G2K1E7, Q6IRK8	69,4	323,31	1,10E+07	4,47E+07	2,18E+08	1,85E+07	1,18E+08	4,47E+07	9,53E-05	5,84E-05
Phkb	A0A0G2K9C8	50	323,31	4,43E+07	3,27E+07	7,89E+07	2,99E+07	1,35E+08	4,43E+07	8,67E-05	3,31E-05
Elmo2	G3V982	51,5	323,31	9,41E+07	1,48E+07	4,41E+07	7,63E+06	5,36E+07	4,41E+07	5,52E-05	3,75E-05
Asah1	A0A0G2K8T0, Q6P7S1	27,6	137,2	4,84E+07	1,45E+07	4,47E+07	6,44E+06	4,40E+07	4,40E+07	4,01E-05	1,56E-05

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Hmox2	P23711	74,3	323,31	4,38E+07	7,94E+06	2,40E+08	1,94E+07	1,18E+08	4,38E+07	9,35E-05	6,57E-05
Ywhaz	P63102, A0A0G2JV65	65,3	323,31	4,38E+07	2,37E+07	1,34E+08	1,16E+07	7,89E+07	4,38E+07	6,86E-05	2,80E-05
Dnaja1	P63036	60,5	161,73	4,38E+07	1,41E+07	8,27E+07	1,36E+07	7,06E+07	4,38E+07	5,54E-05	1,81E-05
AcsI3	Q63151-2, Q63151	50,8	156,32	1,10E+08	9,65E+06	4,34E+07	3,87E+06	5,31E+07	4,34E+07	5,49E-05	4,92E-05
Septin-5	D3ZDH8, Q9JJM9-2	50,3	237,01	2,67E+07	4,33E+07	1,19E+08	2,31E+07	1,17E+08	4,33E+07	8,49E-05	3,09E-05
Ncam1	F1LNY3, P13596	57,1	206,87	5,02E+07	2,05E+07	9,15E+07	1,45E+07	4,32E+07	4,32E+07	5,57E-05	1,41E-05
Dnm2	P39052-2	56	256,72	3,27E+07	1,47E+07	5,83E+07	4,31E+07	8,23E+07	4,31E+07	6,93E-05	3,76E-05
Ddx6	D3ZD73	61,7	267,83	4,27E+07	6,53E+06	1,99E+08	7,26E+06	3,43E+08	4,27E+07	1,28E-04	1,37E-04
Ddx5	Q6AY11	39,8	196,21	4,26E+07	3,50E+06	6,78E+07	2,32E+06	5,38E+07	4,26E+07	3,76E-05	2,49E-05
M6pr	Q6AY20	30,6	323,31	5,69E+07	2,12E+07	8,31E+07	1,86E+07	4,23E+07	4,23E+07	5,87E-05	1,29E-05
Faf2	A0A0G2JTA0, Q5BK32	53,9	255,18	4,47E+07	3,34E+06	7,28E+07	1,01E+07	4,18E+07	4,18E+07	4,11E-05	2,04E-05
Ganab	D3ZAN3	42	323,31	7,40E+07	7,11E+06	4,13E+07	9,25E+06	6,36E+07	4,13E+07	4,94E-05	3,10E-05
Vps11	D3ZTB4	54,3	323,31	8,73E+07	2,68E+07	4,13E+07	1,44E+07	7,79E+07	4,13E+07	6,73E-05	3,03E-05
AtI2	F1LQ09	47,7	323,31	6,74E+07	6,78E+06	4,12E+07	1,10E+07	4,40E+07	4,12E+07	4,43E-05	2,56E-05
Cend1	Q5FVI4	57,7	323,31	1,87E+07	4,10E+07	1,03E+08	1,15E+07	5,05E+07	4,10E+07	5,74E-05	2,49E-05
Atg9a	Q5FWU3	46,2	215,64	3,39E+07	4,09E+07	7,44E+07	1,98E+07	8,34E+07	4,09E+07	6,88E-05	1,66E-05
Idh3B	Q68FX0	54,5	112,43	4,08E+07	2,04E+07	8,83E+07	2,10E+07	6,87E+07	4,08E+07	6,22E-05	1,29E-05
Rps10	P63326, F1LT36, A0A0H2UI18, D3ZJY5	38,8	108,08	4,06E+07	7,35E+06	1,43E+08	4,05E+06	1,32E+08	4,06E+07	6,95E-05	5,44E-05
Ap3s2	F1LVM4, A0A0G2K302	34,7	155,31	4,04E+07	2,85E+07	1,07E+08	1,91E+07	1,14E+08	4,04E+07	7,73E-05	2,73E-05
Actr1b	B2RYJ7	70,2	323,31	2,91E+07	4,04E+07	9,00E+07	8,73E+06	1,32E+08	4,04E+07	7,40E-05	4,17E-05
Enpp6	B0BND0, D3ZRI1	40,2	241,4	4,00E+07	1,42E+07	8,55E+07	1,83E+07	6,63E+07	4,00E+07	5,68E-05	1,61E-05
Pacs1	F1LPG3, O88588	44,4	213,94	3,99E+07	1,26E+07	1,09E+08	2,08E+07	1,28E+08	3,99E+07	7,53E-05	3,93E-05
Apip	D3ZUI1	66,4	117,31	1,80E+06	3,97E+07	6,43E+07	1,01E+07	7,93E+07	3,97E+07	5,12E-05	3,16E-05
Dip2b	A0A0G2JY22	47,6	323,31	3,91E+07	1,36E+07	6,10E+07	1,16E+07	5,87E+07	3,91E+07	4,64E-05	1,31E-05
P4hb	P04785	61,5	272,27	6,51E+07	3,64E+06	3,90E+07	7,93E+06	4,30E+07	3,90E+07	3,99E-05	2,70E-05
Sbds	Q5RK30	55,2	158,68	6,18E+07	4,49E+06	6,73E+07	3,52E+06	3,83E+07	3,83E+07	4,04E-05	2,81E-05
Dpysl4	F1LNT0, Q62951	53,8	323,31	1,67E+07	7,30E+06	4,75E+07	3,83E+07	6,78E+07	3,83E+07	5,40E-05	3,80E-05
Klc2	B2GV74	60	323,31	3,82E+07	2,72E+07	8,93E+07	1,59E+07	6,80E+07	3,82E+07	6,12E-05	1,17E-05
Wasf1	Q5BJU7	29	114,25	6,93E+07	6,11E+06	3,80E+07	9,71E+06	7,21E+07	3,80E+07	4,94E-05	3,12E-05

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Fxyd6	Q91XV6-2, Q91XV6, A0A0G2K1I7	43	202,63	3,79E+07	1,25E+07	4,46E+07	6,99E+06	4,05E+07	3,79E+07	3,60E-05	1,12E-05
Csnk2a1	P19139	49,4	323,31	3,78E+07	2,21E+07	1,57E+08	1,70E+07	1,28E+08	3,78E+07	8,43E-05	4,31E-05
Gnaz	P19627	49,9	174,7	6,44E+07	2,47E+07	6,01E+07	1,66E+07	3,78E+07	3,78E+07	5,61E-05	1,56E-05
Kif2a	Q9WV63-2, Q9WV63, F1M8L1	35,4	139,02	8,06E+07	4,40E+06	3,77E+07	4,10E+06	4,94E+07	3,77E+07	4,32E-05	3,63E-05
Slc27a4	G3V7V3	53,7	322,61	9,29E+07	4,47E+06	4,91E+07	6,64E+06	3,77E+07	3,77E+07	4,75E-05	4,06E-05
Vps13d	A0A0G2JYD4	43,6	323,31	3,74E+07	3,23E+07	4,40E+07	1,08E+07	4,79E+07	3,74E+07	4,78E-05	1,16E-05
Ywhae	P62260	69,8	227,83	3,74E+07	3,70E+07	1,51E+08	2,48E+07	8,27E+07	3,74E+07	8,40E-05	2,54E-05
Prkcd	A0A140UHX0, D4A0U0, P09215	55,3	323,31	4,65E+07	2,83E+07	3,70E+07	1,33E+07	7,44E+07	3,70E+07	5,48E-05	1,76E-05
Cpne2	F1M1L9	37,7	233,45	3,69E+07	5,14E+06	5,90E+07	1,00E+07	4,39E+07	3,69E+07	3,78E-05	1,55E-05
Elp3	D4ACM1	51,4	164,29	3,69E+07	2,15E+07	3,92E+07	4,83E+06	9,87E+07	3,69E+07	5,00E-05	3,17E-05
Fry	E9PTY6	38,3	323,31	3,67E+07	8,38E+06	4,79E+07	2,76E+06	3,94E+07	3,67E+07	3,17E-05	1,60E-05
Alb	P02770, A0A0G2JSH5	54,3	276,38	5,24E+07	2,37E+07	3,79E+07	2,20E+07	3,66E+07	3,66E+07	5,17E-05	1,50E-05
Gnai1	P10824	61,9	263,64	4,80E+07	1,64E+07	6,75E+07	9,98E+06	3,64E+07	3,64E+07	4,51E-05	1,33E-05
Crmp1	Q62950	61,4	225,07	4,37E+07	1,73E+07	3,64E+07	9,93E+06	5,39E+07	3,64E+07	4,29E-05	1,33E-05
Bcas1	A0A0G2K079, Q3ZB98-5, F1LN49, Q3ZB98, Q3ZB98-4	46,7	204,88	4,07E+06	3,59E+07	7,14E+07	1,97E+07	5,68E+07	3,59E+07	5,24E-05	2,39E-05
Cpne9	Q5BJS7, A0A140TAJ0	57,5	323,31	3,59E+07	2,54E+07	4,89E+07	1,52E+07	3,78E+07	3,59E+07	4,59E-05	3,92E-06
Purb	A0A0G2JUX5, Q68A21	64,7	195,52	3,58E+07	1,09E+07	1,18E+08	8,79E+06	1,07E+08	3,58E+07	6,29E-05	3,88E-05
Emc2	B0BNG0, A0A0A0MXU4	44,4	150,77	5,03E+07	2,78E+06	3,98E+07	3,84E+06	3,58E+07	3,58E+07	3,16E-05	2,20E-05
Cacna2d1	Q9ERS3, D3ZKP9, A0A0G2K7E5, P54290, A0A0G2K8L7	40,3	323,31	4,64E+07	1,43E+07	5,47E+07	1,44E+07	3,58E+07	3,58E+07	4,43E-05	1,08E-05
Spg20	E9PT90	29,1	323,31	2,55E+07	3,74E+07	5,66E+07	1,72E+07	3,57E+07	3,57E+07	5,00E-05	1,45E-05
Prkra	G3V7J2, Q4V8C7	41,2	140,15	5,02E+07	1,89E+06	6,97E+07	2,57E+06	3,57E+07	3,57E+07	3,55E-05	2,59E-05
Ptprr	G3V6L5, O08617, A0A0G2JYG7, O08617-2, O08617-3, O08617-4	59	323,31	3,42E+07	3,54E+07	1,02E+08	2,74E+07	6,17E+07	3,54E+07	7,13E-05	1,45E-05
Stxbp5	Q9WU70-2, Q9WU70, Q9WU70-3	40,1	323,31	1,84E+06	3,52E+07	1,09E+08	3,42E+07	8,01E+07	3,52E+07	7,20E-05	3,64E-05
Nbas	F1M0U5	45,1	323,31	4,14E+07	1,25E+07	4,60E+07	4,47E+06	3,51E+07	3,51E+07	3,45E-05	1,41E-05
Slc18a2	A0A0G2JSJ6, Q01827	12,2	101,83	4,80E+07	1,82E+07	5,18E+07	1,21E+07	3,49E+07	3,49E+07	4,42E-05	1,05E-05
Septin-11	A0A0G2JUL7, B3GNI6-3, B3GNI6, B3GNI6-2	49,4	153,47	1,31E+07	3,43E+07	5,93E+07	1,08E+07	7,45E+07	3,43E+07	5,05E-05	2,34E-05
Esyt1	Q9Z1X1	44,3	323,31	5,28E+07	6,09E+06	4,35E+07	7,89E+06	3,39E+07	3,39E+07	3,63E-05	1,96E-05

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Iqsec1	A0A0G2JUG7	32	323,31	7,18E+07	1,37E+07	3,70E+07	4,95E+06	3,38E+07	3,38E+07	4,16E-05	2,83E-05
Armc8	F1M943	55,6	207,52	3,33E+07	1,35E+07	3,64E+07	5,48E+06	5,00E+07	3,33E+07	3,50E-05	1,34E-05
Mlec	A0A0G2K121, Q5FVQ4	47,3	167,04	5,32E+07	2,82E+06	3,96E+07	4,11E+06	3,32E+07	3,32E+07	3,20E-05	2,30E-05
Ocr1	R9PXS2, D3ZGS3	48,5	261,31	1,50E+07	3,57E+07	3,31E+07	2,24E+07	4,16E+07	3,31E+07	4,70E-05	2,10E-05
Vwa5b1	D3ZP60	44,5	323,31	1,09E+07	3,30E+07	6,64E+07	2,55E+07	6,02E+07	3,30E+07	5,65E-05	2,21E-05
Dync1i2	Q6AZ35, Q62871-2, D3ZU74, G3V9V3, Q62871-3, Q62871	50	323,31	3,29E+07	1,43E+07	5,54E+07	1,05E+07	8,70E+07	3,29E+07	4,97E-05	2,41E-05
Eif2s3	P81795, C9WPN6	43	129,2	8,40E+07	4,51E+06	3,38E+07	3,15E+06	3,25E+07	3,25E+07	3,92E-05	3,82E-05
Got2	P00507	47,4	168,49	3,24E+07	6,64E+06	5,02E+07	2,57E+07	9,39E+07	3,24E+07	5,64E-05	3,15E-05
Acot11	F1LX28	41,2	217,7	1,18E+07	3,24E+07	8,47E+07	2,32E+07	5,93E+07	3,24E+07	5,79E-05	2,12E-05
Vps33a	Q63615	55,3	292,1	3,81E+07	7,60E+06	3,24E+07	1,11E+07	6,73E+07	3,24E+07	4,05E-05	2,04E-05
L1cam	D3ZPC4, Q05695-2	30,7	323,31	3,20E+07	1,34E+07	9,58E+07	1,77E+07	5,99E+07	3,20E+07	5,44E-05	1,85E-05
Serotransferrin	A0A0G2QC06	46,4	322,03	3,62E+07	1,24E+07	7,33E+07	7,68E+06	3,19E+07	3,19E+07	3,89E-05	1,46E-05
Sarm1	D3ZUM2	54,3	323,31	3,36E+07	1,75E+07	3,18E+07	1,18E+07	5,55E+07	3,18E+07	4,10E-05	1,17E-05
Atp9a	M0R6E0	32,1	272,15	4,41E+07	2,19E+07	4,40E+07	8,96E+06	3,18E+07	3,18E+07	4,07E-05	1,07E-05
Slc8a2	A0A0G2JZK7, F1M9A2, P48768	34,5	278,25	3,16E+07	2,87E+07	6,74E+07	9,45E+06	4,88E+07	3,16E+07	4,81E-05	1,10E-05
Gria2	F1LNE4	43,7	303,86	7,59E+07	8,33E+06	3,15E+07	1,01E+07	5,87E+07	3,15E+07	4,83E-05	3,13E-05
Septin 6	B5DFG5, A0A0U1RRT8	52,9	253,36	1,55E+07	3,15E+07	8,39E+07	1,41E+07	9,64E+07	3,15E+07	6,11E-05	2,86E-05
Abhd6	Q5XI64	43,9	114,34	4,21E+07	3,23E+06	3,88E+07	2,96E+06	3,14E+07	3,14E+07	2,79E-05	1,84E-05
Acaca	P11497, P11497-2	50,1	323,31	3,13E+07	1,50E+07	5,39E+07	1,36E+07	7,21E+07	3,13E+07	4,79E-05	1,66E-05
Dock3	F1M4N6	39,3	323,31	4,81E+07	6,43E+06	3,12E+07	3,03E+06	3,57E+07	3,12E+07	3,06E-05	2,01E-05
Coro1c	G3V624	47,3	172,04	1,53E+05	3,12E+07	8,46E+07	5,49E+06	3,27E+07	3,12E+07	3,76E-05	2,70E-05
Psm4	O88321	37,4	240,4	3,10E+07	2,98E+07	5,46E+07	5,50E+06	8,04E+07	3,10E+07	5,08E-05	2,36E-05
Slc17a8	Q7TSF2	28,6	308,16	3,09E+07	2,20E+07	4,33E+07	9,81E+06	3,84E+07	3,09E+07	3,91E-05	5,19E-06
Herc1	A0A0G2JTT6	36,5	323,31	3,36E+07	1,48E+07	3,07E+07	2,86E+06	5,82E+07	3,07E+07	3,48E-05	1,87E-05
Scyl2	D4A1Y0, A0A0G2JVC2	40,4	260,18	6,55E+07	2,07E+07	3,07E+07	2,77E+07	1,28E+08	3,07E+07	7,63E-05	4,02E-05
Napg	A0A0G2K350, D4A0E2	48,1	123,36	3,05E+07	2,29E+07	8,60E+07	2,05E+07	5,69E+07	3,05E+07	5,72E-05	1,17E-05
Hectd4	F1LZX5	43,8	323,31	3,03E+07	1,11E+07	3,98E+07	2,38E+06	6,69E+07	3,03E+07	3,56E-05	2,22E-05
Slc2a13	Q921A2	18,5	323,31	3,03E+07	1,83E+07	5,95E+07	1,76E+07	4,11E+07	3,03E+07	4,55E-05	6,13E-06

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Abce1	D3ZD23	49,4	323,31	2,17E+07	8,41E+06	5,24E+07	3,02E+07	6,75E+07	3,02E+07	5,16E-05	2,82E-05
Cfl1	P45592	54,2	115,26	3,00E+07	2,65E+07	1,08E+08	2,01E+07	9,15E+07	3,00E+07	6,97E-05	2,29E-05
Adap1	O88768, A0A0G2K7U5	57,8	152,62	3,00E+07	2,20E+07	1,20E+08	1,83E+07	1,06E+08	3,00E+07	7,20E-05	3,13E-05
Vdac3	Q9R1Z0-2, A0A0G2JSR0, Q9R1Z0	54,2	106,95	2,99E+07	4,93E+06	7,76E+07	6,93E+06	3,44E+07	2,99E+07	3,50E-05	1,89E-05
Cpt1c	F1LN46	32,3	309,7	3,67E+07	2,03E+06	3,80E+07	7,17E+06	2,98E+07	2,98E+07	2,81E-05	1,48E-05
Stxbp5l	D3ZU84	41,2	206,64	1,69E+06	2,97E+07	6,04E+07	1,33E+07	5,77E+07	2,97E+07	4,36E-05	2,22E-05
Hepacam	D3ZEI4	33,1	218,27	2,97E+07	3,05E+06	6,31E+07	1,14E+07	5,99E+07	2,97E+07	4,01E-05	2,01E-05
Git1	Q9Z272, A0A0G2K527	65,1	323,31	2,96E+07	1,77E+07	1,06E+08	1,22E+07	1,09E+08	2,96E+07	6,45E-05	3,42E-05
RGD1304704	F7EMB2, Q6QI16	66,4	164,72	2,91E+07	8,99E+06	9,34E+07	7,27E+06	7,04E+07	2,91E+07	4,72E-05	2,63E-05
Pycl	Q5PQJ6	31,4	123,13	1,52E+07	2,91E+07	1,14E+08	2,27E+07	9,58E+07	2,91E+07	7,02E-05	3,02E-05
lkbkap	F1LP76, Q8VHU4	40,3	323,31	2,91E+07	2,27E+07	5,36E+07	6,83E+06	9,75E+07	2,91E+07	5,18E-05	2,93E-05
Dync1i1	G3V792, Q63100-3, Q63100, Q63100-4	43,5	306,96	2,89E+07	1,51E+07	5,41E+07	6,70E+06	6,99E+07	2,89E+07	4,25E-05	1,92E-05
Syntaxin-17	Q9Z158	62,1	120,41	1,58E+07	2,89E+07	6,06E+07	8,50E+06	4,06E+07	2,89E+07	4,04E-05	1,44E-05
Cc2d1a	Q66HA5, Q66HA5-2	44	256,93	2,88E+07	1,72E+07	4,26E+07	1,14E+07	3,28E+07	2,88E+07	3,61E-05	1,38E-06
Lancl1	Q9QX69	34,8	128,36	5,24E+07	2,18E+07	2,88E+07	1,18E+07	1,21E+08	2,88E+07	6,18E-05	3,90E-05
Rab31	A0A0G2JSZ1, Q6GQP4	75,9	180,86	2,32E+07	2,87E+07	8,36E+07	7,22E+06	5,50E+07	2,87E+07	4,86E-05	1,86E-05
Ddx1	Q641Y8	59,7	323,31	2,86E+07	1,08E+07	9,48E+07	1,14E+07	8,04E+07	2,86E+07	5,28E-05	2,65E-05
Sh3gl2	O35179	50,3	107,84	1,98E+07	2,59E+07	7,03E+07	2,86E+07	4,77E+07	2,86E+07	5,58E-05	1,96E-05
Ttpal	D3ZGM8	58,3	192,55	7,33E+07	2,08E+07	4,53E+07	1,59E+07	2,85E+07	2,85E+07	5,18E-05	2,40E-05
Phka1	F1LLZ7, A0A096MJF7, A0A096MJV9, Q64649	46,6	323,31	2,00E+07	1,14E+07	6,58E+07	2,85E+07	9,47E+07	2,85E+07	5,95E-05	3,23E-05
Pde2a	A0A0G2K876, F8WFW5, Q01062	53,9	323,31	2,06E+07	3,01E+07	3,63E+07	1,07E+07	2,84E+07	2,84E+07	3,67E-05	1,23E-05
Elmo1	D3ZY46, G8CYZ7, A0A0G2K4S6	44,4	208,93	5,25E+07	1,68E+07	2,81E+07	6,43E+06	3,76E+07	2,81E+07	3,79E-05	1,80E-05
Wasf3	M0R7F3, A0A0U1RRY0	27,5	198,97	3,14E+07	6,92E+06	2,75E+07	9,10E+06	3,16E+07	2,75E+07	2,84E-05	9,61E-06
Epha4	D3ZZK3	36,7	323,31	3,25E+07	1,56E+07	3,73E+07	8,47E+06	2,71E+07	2,71E+07	3,25E-05	5,89E-06
Sptbn1	G3V6S0, A0A0G2K8W9, A0A0G2JZY6	63,3	323,31	8,13E+06	2,70E+07	1,14E+08	7,14E+06	6,45E+07	2,70E+07	5,10E-05	3,13E-05
Dnajb1	B0K030, D3ZUU5	36,5	108,89	2,69E+07	9,43E+06	4,08E+07	9,52E+06	3,10E+07	2,69E+07	3,06E-05	6,18E-06
Nampt	Q80Z29, A0A0G2K0I3	58	190,74	2,69E+07	9,22E+06	7,63E+07	1,79E+07	5,66E+07	2,69E+07	4,73E-05	1,75E-05
Hapln4	D3Z9H2	47	182,59	2,64E+07	6,89E+06	5,57E+07	6,55E+06	3,58E+07	2,64E+07	3,12E-05	1,23E-05

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Atp2b1	P11505-4, P11505-1, P11505-6, P11505, P11505-5, P11505-2	33,2	220,72	2,64E+07	8,40E+06	4,42E+07	9,21E+06	3,82E+07	2,64E+07	3,20E-05	8,70E-06
Copa	G3V6T1	52,5	323,31	2,61E+07	1,09E+07	4,06E+07	9,70E+06	5,53E+07	2,61E+07	3,65E-05	1,31E-05
Clptm1	B2RYF6	29,7	272,38	7,24E+07	3,24E+06	2,60E+07	3,64E+06	3,11E+07	2,60E+07	3,43E-05	3,29E-05
Vcpip1	Q8CF97	56,8	323,31	2,59E+07	1,87E+07	5,72E+07	1,58E+07	7,79E+07	2,59E+07	5,11E-05	1,82E-05
Psme2	Q63798	52,9	103,29	2,59E+07	2,91E+07	1,71E+07	3,62E+06	6,50E+07	2,59E+07	3,82E-05	2,39E-05
Dock2	F7F7H4	44,6	129,42	3,39E+07	1,61E+07	2,59E+07	4,10E+06	2,62E+07	2,59E+07	2,83E-05	1,10E-05
Dmxl1	D4AA13	38,9	323,31	2,29E+07	2,57E+07	5,38E+07	1,52E+07	6,17E+07	2,57E+07	4,86E-05	1,20E-05
Map6	Q63560, F1LQZ9, Q63560-2	59,3	323,31	6,60E+05	2,06E+07	5,06E+07	2,57E+07	1,07E+08	2,57E+07	5,65E-05	3,94E-05
Dpysl5	Q9JHU0, A0A0G2K8Y5	63,5	214,39	3,50E+07	2,29E+07	2,02E+07	2,56E+07	6,30E+07	2,56E+07	5,17E-05	2,14E-05
Rps6ka1	F1LXV0, Q63531	50,7	319,89	2,54E+07	2,34E+07	3,99E+07	1,30E+07	5,25E+07	2,54E+07	4,26E-05	9,14E-06
Anxa2	Q07936, Q07936-2	60,2	103,23	3,37E+07	1,18E+07	4,32E+07	1,51E+07	2,53E+07	2,53E+07	3,60E-05	8,98E-06
Fuk	A0A0G2JV14, D3ZDZ7	36,8	323,31	1,74E+07	2,48E+07	4,73E+07	2,53E+07	7,47E+07	2,53E+07	5,47E-05	2,24E-05
Prkacb	P68182	35,9	139,9	2,46E+07	1,49E+07	6,36E+07	1,78E+07	4,64E+07	2,46E+07	4,46E-05	1,07E-05
Pcbp2	Q6AYU5, Q4V8F6	46,6	209,04	2,45E+07	1,08E+07	1,15E+08	6,77E+06	9,38E+07	2,45E+07	5,52E-05	3,70E-05
Cntnap1	P97846	35,7	323,31	2,44E+07	7,99E+06	5,72E+07	6,65E+06	4,04E+07	2,44E+07	3,25E-05	1,27E-05
Wdfy3	A0A0G2K9M4	38,8	323,31	2,43E+07	1,23E+07	2,97E+07	9,09E+06	6,50E+07	2,43E+07	3,65E-05	1,79E-05
Clcn4	Q56A19, P51794	31,3	191,06	3,56E+07	1,59E+07	2,42E+07	1,27E+07	2,91E+07	2,42E+07	3,43E-05	8,99E-06
Eno1	M0R5J4, P04764	43,1	144,65	2,42E+07	3,79E+06	6,43E+07	1,03E+07	3,40E+07	2,42E+07	3,28E-05	1,50E-05
Snx4	E9PU13	57,6	203,6	2,98E+07	1,60E+07	3,14E+07	8,44E+06	2,42E+07	2,42E+07	3,03E-05	5,40E-06
Ckb	P07335	59,3	145,93	2,41E+07	8,37E+06	6,22E+07	8,26E+06	4,03E+07	2,41E+07	3,43E-05	1,28E-05
Copb1	P23514	46,1	323,31	2,41E+07	8,15E+06	2,44E+07	6,65E+06	5,27E+07	2,41E+07	2,96E-05	1,52E-05
Slc1a2	P31596, P31596-2	28,8	166,87	2,40E+07	2,41E+06	4,35E+07	9,41E+06	4,21E+07	2,40E+07	2,98E-05	1,38E-05
Ube3b	M0R8Z5, A0A0G2K0E7	35,2	323,31	2,38E+07	1,20E+07	4,71E+07	8,16E+06	4,13E+07	2,38E+07	3,34E-05	8,25E-06
Pitpnm2	F1LXD6, A0A0G2JW50	41,4	323,31	3,63E+07	9,58E+06	3,45E+07	1,09E+07	2,38E+07	2,38E+07	3,15E-05	9,81E-06
Actr10	Q5M9F7	65,2	323,31	1,48E+07	2,36E+07	7,00E+07	7,44E+06	7,43E+07	2,36E+07	4,64E-05	2,32E-05
Farsa	Q505J8	47,8	323,31	1,57E+07	2,34E+07	1,08E+08	1,76E+07	9,16E+07	2,34E+07	6,29E-05	2,93E-05
Ranbp9	F1LVV3	38,9	260,2	2,35E+07	1,17E+07	2,33E+07	3,40E+06	4,37E+07	2,33E+07	2,67E-05	1,27E-05
Exoc7	O54922	57,3	267,2	2,33E+07	1,52E+07	4,50E+07	1,61E+07	7,89E+07	2,33E+07	4,74E-05	2,10E-05

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Exoc3	Q62825	34,4	307,74	2,33E+07	8,93E+06	3,18E+07	1,16E+07	5,25E+07	2,33E+07	3,40E-05	1,33E-05
Ncam2	F1M8G9, A0A0G2K7P9, A0A0G2K7R3	41,1	323,31	2,31E+07	9,85E+06	6,69E+07	1,81E+07	4,96E+07	2,31E+07	4,36E-05	1,52E-05
Neurexin-3	Q07310-19, Q07310-18, Q07310-3, Q07310-17, Q07310, Q07310-14, Q07310-13, Q07310-12, Q07310-11, Q07310-16, Q07310-15, Q07310-10, Q07310-9, Q07310-8, Q07310-6, Q07310-5, Q07310-4, Q07310-7, Q07310-2	29,7	167,31	2,30E+07	1,23E+07	4,49E+07	8,02E+06	2,81E+07	2,30E+07	2,99E-05	4,86E-06
Eef1b2	B5DEN5	64	130,13	3,47E+06	2,30E+07	1,47E+08	6,38E+06	4,53E+07	2,30E+07	4,90E-05	4,11E-05
Dctn4	Q9QUR2-2, Q9QUR2	55,9	199,65	1,58E+07	2,29E+07	8,17E+07	6,28E+06	9,63E+07	2,29E+07	5,24E-05	3,25E-05
Wdr37	D3ZQ02	50,6	211,62	2,22E+07	2,29E+07	1,65E+08	1,85E+07	1,74E+08	2,29E+07	9,30E-05	6,24E-05
Atp1a2	P06686	52,8	240,11	2,40E+07	5,04E+06	2,49E+07	5,57E+06	2,27E+07	2,27E+07	2,11E-05	7,37E-06
Lman2	B0BNG3	39,4	100,93	4,06E+07	2,56E+06	2,26E+07	3,59E+06	2,32E+07	2,26E+07	2,31E-05	1,72E-05
Coronin	F1LMV9	50,6	136,06	1,77E+07	1,63E+07	1,20E+08	2,23E+07	8,85E+07	2,23E+07	6,49E-05	3,20E-05
Huntingtin	G3V9P7, P51111	41,9	323,31	3,97E+07	7,90E+06	2,22E+07	4,22E+06	4,02E+07	2,22E+07	2,91E-05	1,64E-05
Emc3	Q5U2V8	28,7	169,53	2,22E+07	7,03E+05	3,28E+07	2,21E+06	2,37E+07	2,22E+07	1,84E-05	1,18E-05
Ilvbl	D4ACG2	54,9	304,56	5,43E+07	1,90E+06	3,60E+07	3,16E+06	2,21E+07	2,21E+07	2,83E-05	2,43E-05
Hnrnpa1;Hnrpa1	Q6P6G9, Q5I0M7, P04256	57,2	141,95	2,20E+07	1,64E+07	1,57E+08	4,32E+06	1,72E+08	2,20E+07	7,96E-05	6,92E-05
Ndrp1	Q6JE36	37,3	110,89	1,95E+07	2,20E+07	6,37E+07	6,18E+06	2,27E+07	2,20E+07	3,37E-05	1,32E-05
Ndrp4	Q9Z2L9-5, D3Z831, Q9Z2L9-4, Q9Z2L9-2, Q9Z2L9-6, G3V7P8, D3ZUT8, Q9Z2L9, Q9Z2L9-3	48,8	105,12	2,16E+07	1,12E+07	8,05E+07	1,41E+07	2,82E+07	2,16E+07	3,89E-05	1,60E-05
Nrcam	Q6PW38, A0A1W5DU98, A0A1W2Q6M6, Q6PW34, A0A0G2K498, A0A0G2K3Q5, P97686-2, P97686	33,7	323,31	2,15E+07	1,01E+07	5,35E+07	7,89E+06	2,94E+07	2,15E+07	3,03E-05	8,51E-06
Adsl	D3ZW08	45,5	142,56	1,74E+07	6,14E+06	3,95E+07	2,15E+07	8,31E+07	2,15E+07	4,54E-05	2,93E-05
Cadm1	A0A0G2JUT1, Q6AYP5, Q6AYP5-2	47,8	323,31	2,07E+07	1,02E+07	1,08E+08	2,15E+07	5,68E+07	2,15E+07	5,38E-05	2,62E-05
Ctbp1	F7FG31, A0A0H2UI20, Q9Z2F5	30,5	118,6	2,15E+07	8,41E+06	1,47E+07	2,25E+07	2,95E+07	2,15E+07	3,20E-05	2,00E-05
Lrrc47	F1LT49	47,1	323,31	2,15E+07	1,38E+07	6,08E+07	1,56E+07	5,41E+07	2,15E+07	4,31E-05	1,26E-05
Vps52	O55166	41,8	209,33	3,49E+07	7,22E+06	8,77E+06	2,14E+07	9,92E+07	2,14E+07	4,89E-05	3,70E-05
Itsn1	D3ZV52	35,1	267	2,13E+07	8,78E+05	2,45E+07	4,54E+06	2,65E+07	2,13E+07	1,88E-05	1,02E-05
Lpcat4	D3ZR52	50,8	113,39	3,98E+07	2,31E+06	4,11E+07	3,18E+06	2,12E+07	2,12E+07	2,52E-05	1,76E-05

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Wdr26	F1LTR1	42,2	106,66	2,20E+07	9,49E+06	2,11E+07	2,11E+06	3,26E+07	2,11E+07	2,18E-05	1,02E-05
Ralgapa1	O55007	30,3	244,33	1,47E+06	2,79E+06	2,11E+07	2,26E+07	3,00E+07	2,11E+07	2,56E-05	2,44E-05
Hexokinase-1	P05708	49,9	323,31	7,54E+07	1,67E+07	1,74E+07	2,10E+07	4,23E+07	2,10E+07	5,22E-05	2,94E-05
Neurofascin	D3ZW56, D3ZNW5, P97685-3	37,2	223,05	2,10E+07	5,29E+06	7,21E+07	1,13E+07	4,01E+07	2,10E+07	3,58E-05	1,67E-05
Crtac1	F1LQP7, A0A096MJG4, A0A096MJM0	31,3	107,62	3,12E+07	1,24E+07	2,09E+07	1,00E+07	2,12E+07	2,09E+07	2,78E-05	8,20E-06
Rpn1	Q6P7A7, P07153	48	223,16	3,45E+07	3,72E+06	2,09E+07	6,89E+06	2,61E+07	2,09E+07	2,43E-05	1,30E-05
Hyou1	Q6P136, Q63617	34,2	323,31	2,09E+07	2,58E+06	2,18E+07	6,53E+06	2,23E+07	2,09E+07	1,93E-05	7,79E-06
Vps16	Q642A9	43,9	290,77	4,39E+07	1,32E+07	2,08E+07	6,15E+06	4,15E+07	2,08E+07	3,36E-05	1,62E-05
Hnrnp1	F1LQ48, F2Z3R2, F1LQ48-2	53,8	323,31	6,78E+06	2,07E+07	1,41E+08	6,78E+06	2,25E+08	2,07E+07	8,78E-05	8,87E-05
Tubgcp3	A0A0G2JUJ7, D3ZMR7	49,8	323,31	3,47E+07	7,57E+06	2,06E+07	6,05E+06	6,24E+07	2,06E+07	3,33E-05	2,11E-05
Ubr4	A0A0G2JU89, F1LQI5, Q2TL32	36,6	323,31	1,26E+07	2,05E+07	5,52E+07	5,38E+06	5,94E+07	2,05E+07	3,75E-05	1,87E-05
Phgdh	O08651	41,5	162,34	2,05E+07	7,87E+06	5,35E+07	9,98E+06	4,46E+07	2,05E+07	3,37E-05	1,21E-05
Nt5c1a	D3ZVD3	48,3	153,13	1,76E+07	2,02E+07	4,39E+07	1,18E+07	4,09E+07	2,02E+07	3,66E-05	7,20E-06
Uggt1	Q9JLA3	42,6	301,76	2,16E+07	1,86E+06	2,31E+07	2,35E+06	2,01E+07	2,01E+07	1,64E-05	9,46E-06
Gfpt1	A0A0G2KB56, P82808	55,4	266,15	2,01E+07	1,82E+07	2,57E+07	4,77E+06	2,27E+07	2,01E+07	2,51E-05	7,30E-06
RGD1310127	G3V8P5, Q499P8	26,6	108,75	3,77E+07	1,74E+06	3,31E+07	1,90E+06	2,01E+07	2,01E+07	2,20E-05	1,71E-05
Prkcsh	B1WC34	32,8	102,15	6,35E+07	6,01E+06	1,99E+07	6,16E+06	4,09E+07	1,99E+07	3,57E-05	2,73E-05
Gdi1	P50398	53	238,42	1,99E+07	7,37E+06	5,44E+07	1,22E+07	3,05E+07	1,99E+07	3,18E-05	1,04E-05
Sacs	D4A1D3	43,5	323,31	1,97E+07	1,03E+07	2,60E+07	3,12E+06	3,20E+07	1,97E+07	2,28E-05	8,33E-06
Emc1	D4A994	37,2	115,33	3,53E+07	1,17E+06	1,97E+07	4,86E+06	2,11E+07	1,97E+07	2,09E-05	1,49E-05
Fnbp1l	Q2HWF0-3, Q2HWF0, Q2HWF0-2	36,8	132,91	3,62E+06	1,96E+07	1,56E+07	2,31E+07	4,66E+07	1,96E+07	3,61E-05	2,44E-05
Dock9	F1LSM8, A0A0G2K2I6	39,3	323,31	1,96E+07	4,42E+06	2,23E+07	3,76E+06	1,98E+07	1,96E+07	1,75E-05	6,42E-06
Csnk2a2	B4F7A9	47,4	172,95	1,94E+07	8,91E+06	6,69E+07	8,12E+06	6,18E+07	1,94E+07	3,88E-05	1,98E-05
Arhgef2	A0A1B0GWY5, A0A0G2K0V4, Q5FVC2	41,3	289,25	1,18E+07	9,90E+06	2,89E+07	1,92E+07	4,21E+07	1,92E+07	3,32E-05	1,67E-05
Esyt2	D3ZJ32	41,7	246,75	2,32E+07	2,42E+06	2,33E+07	4,56E+06	1,91E+07	1,91E+07	1,82E-05	8,63E-06
RGD1562301	Q66H61	57,7	269,75	2,08E+07	1,91E+07	8,74E+06	1,86E+06	2,84E+07	1,91E+07	2,22E-05	1,33E-05
Maea	Q5RKJ1	38,1	115,12	1,90E+07	8,87E+06	2,58E+07	1,19E+06	2,29E+07	1,90E+07	1,89E-05	8,09E-06
Vps51	F1M4I4	46,5	254,95	3,36E+07	8,86E+06	1,90E+07	6,44E+06	6,63E+07	1,90E+07	3,44E-05	2,21E-05

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Vars	Q04462	42,2	323,31	8,67E+05	1,90E+07	5,70E+07	5,41E+06	4,26E+07	1,90E+07	3,03E-05	1,84E-05
Madd	A0A0G2KA27	38,8	323,31	2,87E+07	3,61E+07	1,42E+07	4,11E+06	1,90E+07	1,90E+07	3,15E-05	2,30E-05
Napa	P54921	81,4	295,8	1,90E+07	7,31E+06	5,55E+07	7,26E+06	4,45E+07	1,90E+07	3,17E-05	1,37E-05
Pdzd8	D3ZXY2	34,4	193	2,33E+07	9,94E+05	3,64E+07	4,36E+06	1,90E+07	1,90E+07	1,97E-05	1,10E-05
Ptpn23	F1M951, O88902	36,7	323,31	7,12E+06	1,19E+06	3,16E+07	1,89E+07	7,54E+07	1,89E+07	3,60E-05	3,04E-05
Capza1	B2GUZ5	78	213,5	4,50E+06	1,77E+07	7,35E+07	1,87E+07	5,62E+07	1,87E+07	4,47E-05	2,16E-05
Gap43	P07936	35,4	109,69	1,86E+07	1,34E+07	6,60E+07	7,36E+06	3,32E+07	1,86E+07	3,34E-05	1,21E-05
Gart	G3V918	46,1	323,31	1,58E+07	1,84E+07	2,91E+07	1,25E+07	5,40E+07	1,84E+07	3,63E-05	1,35E-05
Gba	B2RYC9	30,1	134,19	4,14E+07	1,21E+07	1,83E+07	3,78E+06	2,49E+07	1,83E+07	2,69E-05	1,54E-05
Syngap1	Q9QUH6-2, Q9QUH6, D3ZCL8, F1LQW8, Q9QUH6-4, Q9QUH6-3	44,4	323,31	1,83E+07	7,97E+06	3,67E+07	2,03E+06	2,86E+07	1,83E+07	2,19E-05	9,61E-06
Map2	F1LNK0	68,5	323,31	4,39E+06	9,08E+06	3,25E+08	1,83E+07	1,23E+08	1,83E+07	9,82E-05	9,91E-05
Sptbn2	F1MA36, Q9QWN8	60,9	323,31	4,46E+06	1,81E+07	8,48E+07	9,55E+06	5,46E+07	1,81E+07	4,08E-05	2,32E-05
Clavesin-2	A6JUQ6	46,8	168,62	1,84E+07	8,25E+06	1,80E+07	6,23E+06	2,58E+07	1,80E+07	2,09E-05	5,01E-06
Pi4ka	O08662, A0A140TAJ5	42,3	323,31	1,79E+07	5,52E+06	2,03E+07	3,02E+06	3,36E+07	1,79E+07	1,97E-05	1,01E-05
Dock4	F1LZ81, M0R6K4	36,7	323,31	3,75E+07	6,00E+06	1,78E+07	2,21E+06	2,17E+07	1,78E+07	2,17E-05	1,54E-05
Arhgap26	A0A0G2K5D5, D3ZMS4	41,6	188,5	1,78E+07	8,29E+06	1,87E+07	1,18E+07	4,41E+07	1,78E+07	2,83E-05	1,25E-05
Kif5b	Q2PQA9	53,7	323,31	1,77E+07	9,26E+06	2,51E+07	4,66E+06	2,50E+07	1,77E+07	2,11E-05	4,48E-06
Basp1	Q05175, A0A0G2K1L8	58,6	280,71	4,78E+07	8,80E+06	1,24E+08	1,53E+07	1,77E+07	1,77E+07	5,07E-05	3,23E-05
Prpsap1	G3V7B5, Q63468	41,6	134,69	1,76E+07	5,31E+06	4,09E+07	7,80E+06	4,32E+07	1,76E+07	2,81E-05	1,23E-05
Mars	D3Z941	52,2	323,31	1,38E+07	1,76E+07	3,88E+07	8,49E+06	6,37E+07	1,76E+07	3,67E-05	1,78E-05
Transketolase	G3V826, P50137	37,7	100,28	1,76E+07	1,08E+07	1,74E+07	1,93E+07	3,65E+07	1,76E+07	3,20E-05	1,60E-05
Fam98a	Q5FWT1	23,7	111,98	1,75E+07	3,40E+06	2,35E+07	1,49E+06	2,02E+07	1,75E+07	1,54E-05	8,03E-06
Cdc23	F1LRQ6	46,1	210,62	2,22E+07	1,10E+07	1,74E+07	2,12E+06	4,21E+07	1,74E+07	2,40E-05	1,36E-05
Hnrnpc	A0A0G2K7B3, A0A140TAI3, G3V9R8	45,7	132,01	4,90E+06	1,71E+07	1,95E+08	4,38E+06	1,63E+08	1,71E+07	7,99E-05	7,63E-05
Pebp1	P31044	57,2	198,84	1,70E+07	7,83E+06	2,65E+07	8,66E+06	2,37E+07	1,70E+07	2,28E-05	3,85E-06
Soga3	D4A0A1	33,8	214,69	1,70E+07	5,98E+06	9,60E+07	7,40E+06	5,79E+07	1,70E+07	4,05E-05	2,69E-05
Cdc42bpb	Q7TT49, A0A0G2KB58	42,8	323,31	1,70E+07	1,12E+07	3,37E+07	6,44E+06	4,09E+07	1,70E+07	2,78E-05	9,12E-06
Semaphorin-4F	Q9Z143	27,8	189,06	1,82E+07	1,30E+07	1,69E+07	5,97E+06	2,33E+07	1,69E+07	2,18E-05	4,72E-06

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Mpp6	B5DFE0	54,1	129,59	1,68E+07	6,60E+06	4,86E+07	1,05E+07	2,56E+07	1,68E+07	2,75E-05	9,27E-06
Flotillin-1	Q9Z1E1, Q9Z1E1-2	68,2	188,19	1,66E+07	1,66E+07	8,15E+07	1,58E+07	3,80E+07	1,66E+07	4,30E-05	1,56E-05
Ccdc132	F1LSG8	43,2	194,09	2,19E+07	8,99E+06	3,52E+07	2,75E+06	1,66E+07	1,66E+07	2,08E-05	7,99E-06
Atp5a1	P15999, F1LP05, A0A0G2K099	51,5	323,31	1,63E+07	5,54E+06	7,15E+07	1,62E+07	3,33E+07	1,63E+07	3,60E-05	1,79E-05
Cpne3	D3ZLA3	45,2	206,76	1,59E+07	3,08E+05	1,69E+08	1,10E+07	6,50E+07	1,59E+07	5,41E-05	5,01E-05
Ckap5	F1M949	43,1	323,31	1,58E+07	9,84E+06	3,76E+07	1,22E+07	4,07E+07	1,58E+07	3,11E-05	9,52E-06
Cntfr	M0R9L2, Q08406	32,8	134,39	1,58E+07	5,89E+06	2,87E+07	2,78E+06	1,85E+07	1,58E+07	1,73E-05	5,99E-06
Skiv2l	A0A0G2QC02	49,7	323,31	1,73E+07	4,21E+06	1,58E+07	4,94E+06	2,61E+07	1,58E+07	1,78E-05	7,24E-06
Inpp5j	Q9JMC1	35,1	288,86	1,01E+06	6,40E+06	4,00E+07	1,58E+07	2,58E+07	1,58E+07	2,50E-05	1,64E-05
Zfyve1	D4A3T4	45,7	323,31	9,90E+06	1,57E+07	3,02E+07	1,02E+07	3,11E+07	1,57E+07	2,72E-05	7,56E-06
Neurexin-1	Q63372-13, Q63372-1, Q63372-7, Q63372-9, Q63372-6, Q63372-10, Q63372-8, Q63372-5, Q63372-4, Q63372-12, Q63372-3, Q63372, Q63372-11, MORBN6	25,3	192,39	1,56E+07	5,20E+06	3,29E+07	3,85E+06	1,75E+07	1,56E+07	1,81E-05	6,32E-06
Ywhag	P61983	31,2	264,79	1,55E+07	1,09E+07	4,32E+07	4,60E+06	3,62E+07	1,55E+07	2,67E-05	9,85E-06
Exoc5	P97878	51,6	323,31	1,55E+07	1,06E+07	2,84E+07	1,39E+07	5,54E+07	1,55E+07	3,40E-05	1,58E-05
Ddx17	E9PT29, A0A096MIX2	38,2	126,01	1,54E+07	1,83E+06	1,79E+07	4,66E+05	2,49E+07	1,54E+07	1,37E-05	9,88E-06
Rae1	Q3SWS8	57,3	111,19	1,50E+07	8,55E+06	4,52E+07	4,26E+06	4,88E+07	1,50E+07	2,85E-05	1,53E-05
Dnaja2	Q5M9H7, O35824	33	259,19	1,49E+07	6,49E+06	3,89E+07	5,37E+06	1,70E+07	1,49E+07	2,03E-05	6,73E-06
Pvrl1	F1LNP8	27,4	185,08	1,49E+07	7,63E+06	2,63E+07	6,15E+06	1,81E+07	1,49E+07	1,93E-05	2,20E-06
C1ql3	D4A3T5	37,3	115,23	1,66E+07	6,32E+06	4,08E+07	5,84E+06	1,49E+07	1,49E+07	2,08E-05	7,48E-06
Trim3	G3V8D6, O70277	46,1	323,31	1,49E+07	3,60E+06	3,22E+07	4,14E+06	2,93E+07	1,49E+07	1,99E-05	9,13E-06
Ldah	Q5HZX7	41,8	154,7	1,47E+07	8,14E+06	3,00E+07	5,63E+06	2,57E+07	1,47E+07	2,15E-05	4,64E-06
Baiap3	F1LVS1	35,9	323,31	1,20E+07	6,41E+06	5,29E+07	1,47E+07	6,24E+07	1,47E+07	3,76E-05	2,07E-05
Mtmr1	D3ZKK5, A0A0G2JUZO	35,8	156,43	1,46E+07	1,27E+07	7,21E+07	1,28E+07	7,20E+07	1,46E+07	4,50E-05	2,23E-05
Mark3	F1M836, A0A0G2JU56, Q8VHF0, A0A1B0GWN5	47,3	271,39	1,33E+07	1,44E+07	1,71E+07	7,00E+06	2,42E+07	1,44E+07	2,19E-05	5,45E-06
Tsc2	D3ZLW4, A0A0G2JSL4, P49816-3, P49816-4, P49816, P49816-2	43,1	289,78	1,43E+07	5,58E+06	3,32E+07	2,56E+06	2,29E+07	1,43E+07	1,83E-05	7,77E-06
Atp2b4	Q64542-3, Q64542-2, Q64542-4, Q64542	33,6	152,56	1,43E+07	5,44E+06	3,06E+07	6,18E+06	1,82E+07	1,43E+07	1,90E-05	4,72E-06
Herc2	A0A0G2JUC9, D4ACN3	33,5	323,31	1,54E+07	8,56E+06	1,42E+07	2,10E+06	3,27E+07	1,42E+07	1,85E-05	1,00E-05

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Ppp1ca	P62138, A0A0G2JYS8	71,8	323,31	1,21E+07	1,22E+07	1,45E+08	1,41E+07	8,16E+07	1,41E+07	5,94E-05	4,06E-05
Atp9b	D4ABB8, A0A0G2K3M6	23,7	139,64	1,41E+07	8,91E+06	1,86E+07	6,32E+06	1,56E+07	1,41E+07	1,79E-05	1,31E-06
Exoc4	M0RBF8, Q62824, M0R649	46,9	286,73	1,40E+07	8,55E+06	1,81E+07	8,04E+06	3,80E+07	1,40E+07	2,36E-05	9,65E-06
Grm3	A0A0G2JV93, P31422	22,9	110,64	1,40E+07	4,75E+06	2,15E+07	2,46E+06	1,42E+07	1,40E+07	1,40E-05	4,55E-06
Rasgrf1	P28818, A0A0G2JZ23, F1LM43	41,6	323,31	1,39E+07	9,62E+06	2,46E+07	6,14E+06	2,12E+07	1,39E+07	2,03E-05	1,74E-06
Atp2b3	A0A0G2K9Q6, Q64568-7, Q64568-8, Q64568-6, Q64568, Q64568-10, Q64568-3, Q64568-9, Q64568-2, Q64568-5, Q64568-4, Q64568-12, Q64568-11	35,7	240,46	1,38E+07	6,75E+06	4,45E+07	8,59E+06	2,65E+07	1,38E+07	2,51E-05	8,34E-06
Acsl4	O35547	46	114,83	4,00E+07	2,15E+06	1,77E+07	1,09E+06	1,38E+07	1,38E+07	1,83E-05	1,84E-05
Csrp1	P47875	56	205,42	7,71E+06	5,45E+06	6,87E+07	1,38E+07	7,90E+07	1,38E+07	4,18E-05	2,92E-05
Scfd2	Q5U2R9	40,2	199,93	1,37E+07	1,08E+07	4,44E+07	6,28E+06	2,66E+07	1,37E+07	2,53E-05	7,23E-06
Dars	P15178	58,3	213,21	1,36E+07	1,22E+07	3,62E+07	5,90E+06	7,16E+07	1,36E+07	3,42E-05	2,29E-05
Dera	F1M1H0	50,6	156,77	1,35E+07	1,32E+07	2,35E+07	2,65E+06	1,73E+07	1,35E+07	1,84E-05	5,94E-06
Mesdc1	Q5BJV3	48,3	104,75	8,48E+06	1,35E+07	1,98E+07	1,06E+07	1,65E+07	1,35E+07	2,12E-05	7,64E-06
Emerin	Q6PCU4, Q63190	77,3	283,43	8,08E+06	4,37E+06	1,06E+08	1,35E+07	6,56E+07	1,35E+07	4,47E-05	3,24E-05
Mdh2	P04636	59,2	133,28	1,34E+07	3,08E+06	1,78E+07	9,51E+06	7,34E+07	1,34E+07	2,99E-05	2,66E-05
C2cd4c	D3ZLU0	47,6	175,94	7,71E+06	1,33E+07	4,33E+07	9,53E+06	2,98E+07	1,33E+07	2,72E-05	9,05E-06
Tpi1	P48500, A0A0G2JWJ4, A0A0G2JWU1	75,9	171,08	1,33E+07	9,91E+06	4,55E+07	3,99E+06	3,04E+07	1,33E+07	2,45E-05	9,90E-06
Epb4113	A0A0G2K1Q9, Q9JMB3, A3E0T0	51,8	323,31	1,32E+07	4,59E+06	5,39E+07	1,30E+07	3,40E+07	1,32E+07	3,00E-05	1,39E-05
Pip4k2b	O88377	40,1	225,2	8,01E+06	1,32E+07	9,88E+07	1,31E+07	7,56E+07	1,32E+07	4,89E-05	2,97E-05
Tomm34	Q3KRD5	56	207,17	9,15E+06	1,30E+07	6,90E+07	1,31E+07	5,35E+07	1,31E+07	3,92E-05	1,82E-05
Lingo1	G3V881	20,2	167,13	1,30E+07	7,31E+06	2,80E+07	4,32E+06	1,55E+07	1,30E+07	1,73E-05	3,55E-06
Acadvl	Q5M9H2, P45953	53	189,62	2,46E+07	8,47E+06	1,68E+07	1,19E+07	1,29E+07	1,29E+07	2,31E-05	9,75E-06
Susd2	A0A0G2K0Q8, D3ZEV8, A0A0G2K518	22,3	176,03	2,15E+07	5,34E+06	2,09E+07	3,44E+06	1,28E+07	1,28E+07	1,64E-05	6,74E-06
Asap1	Q1AAU6, A0A0G2JX76, Q1AAU6-2, Q1AAU6-3, A0A0G2JZQ0, A0A0G2K451	32,9	174,14	1,28E+07	2,75E+06	1,92E+07	2,48E+06	1,56E+07	1,28E+07	1,28E-05	5,08E-06
Gnb5	M0RAX4, D3ZZ54, P62882	32,2	118,14	1,28E+07	6,50E+06	3,27E+07	4,56E+06	2,45E+07	1,28E+07	1,98E-05	6,29E-06
Rptor	D3ZDU2	38,6	323,31	1,28E+07	1,14E+07	2,41E+07	5,75E+06	4,93E+07	1,28E+07	2,66E-05	1,41E-05

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Synaptotagmin-6	A0A0G2JW68, Q62746-2, Q62746	52,2	194,36	1,27E+07	3,43E+06	8,48E+07	7,21E+06	2,91E+07	1,27E+07	3,00E-05	2,24E-05
Mpp2	D3ZAA9	51,1	286,81	1,27E+07	1,22E+07	4,28E+07	7,07E+06	2,94E+07	1,27E+07	2,64E-05	6,97E-06
Mycbp2	D4A2D3	35,7	323,31	1,25E+07	7,12E+06	3,23E+07	3,37E+06	3,52E+07	1,25E+07	2,16E-05	1,03E-05
Plcb1	P10687, F1M084, R9PXY3	36,8	278,98	4,62E+06	3,56E+06	1,35E+07	1,24E+07	1,84E+07	1,24E+07	1,66E-05	1,18E-05
Pnma2	D4A068	30,2	145,69	6,39E+06	1,81E+07	1,24E+07	6,30E+06	2,37E+07	1,24E+07	2,03E-05	1,04E-05
Eefsec	B5DEJ5, D3Z9S4	56,8	204,2	1,23E+07	5,71E+06	3,03E+07	7,29E+06	2,45E+07	1,23E+07	2,06E-05	5,79E-06
Catenin beta-1	A0A0G2JT93, Q9WU82	46	323,31	8,21E+06	1,23E+07	3,64E+07	8,48E+06	2,22E+07	1,23E+07	2,35E-05	6,61E-06
Gys1	A2RRU1	31	120,87	1,22E+07	2,29E+06	1,36E+07	8,62E+05	1,75E+07	1,22E+07	1,09E-05	6,46E-06
Exoc2	F1LMB9, O54921, A0A0G2K888, A0A0G2K1K8	41,6	188,95	1,21E+07	8,43E+06	2,36E+07	8,16E+06	4,16E+07	1,21E+07	2,49E-05	1,09E-05
Anapc7	D3ZIT4	43,4	164,33	1,95E+07	7,11E+06	1,17E+07	9,02E+05	2,32E+07	1,17E+07	1,58E-05	9,05E-06
Ccdc136	D4AAR7	20,5	323,31	2,83E+07	4,22E+05	3,14E+07	1,08E+06	1,17E+07	1,17E+07	1,63E-05	1,41E-05
Lipe	G3V8R5, P15304-2, P15304	37,6	220,7	1,17E+07	1,09E+07	2,18E+07	5,83E+06	1,73E+07	1,17E+07	1,86E-05	2,07E-06
Tubgcp2	B2RYP8	58,3	323,31	1,52E+07	6,50E+06	1,16E+07	6,99E+06	6,02E+07	1,16E+07	2,63E-05	2,05E-05
Iars	A0A0G2JVL8, F1LS86	40,5	323,31	6,62E+06	1,16E+07	2,96E+07	3,93E+06	3,80E+07	1,16E+07	2,23E-05	1,17E-05
Unc13a	Q62768-2, Q62768-3, Q62768	29,4	182,63	2,17E+07	5,36E+06	1,35E+07	9,83E+05	1,15E+07	1,15E+07	1,34E-05	8,56E-06
Gelsolin	Q68FP1-2, Q68FP1	34,1	191,64	1,15E+07	5,59E+06	3,89E+07	6,21E+06	3,30E+07	1,15E+07	2,30E-05	9,85E-06
Jup	Q6P0K8	44,3	105,21	1,33E+07	1,15E+07	1,92E+07	1,08E+07	1,08E+07	1,15E+07	2,05E-05	7,28E-06
Map3k5	D3ZW27, D3ZZH6	41,9	323,31	6,08E+06	5,60E+06	3,44E+07	1,15E+07	2,76E+07	1,15E+07	2,29E-05	1,10E-05
Ccdc22	P86182	57,6	277,35	2,80E+07	7,97E+06	4,04E+06	1,13E+07	4,88E+07	1,13E+07	2,91E-05	1,76E-05
Clasp2	Q99JD4	46,9	323,31	1,13E+07	6,52E+06	4,82E+07	2,99E+06	2,98E+07	1,13E+07	2,22E-05	1,23E-05
Plxna4a	D3ZES7	35,7	290,1	1,13E+07	5,46E+06	2,35E+07	2,99E+06	1,71E+07	1,13E+07	1,48E-05	4,19E-06
Fh	P14408-2, P14408, Q5M964	48,6	141,66	2,61E+07	1,99E+06	1,12E+07	1,02E+07	7,01E+07	1,12E+07	3,15E-05	2,59E-05
RGD1564420	F1M1B3	46,5	233,33	2,77E+07	3,34E+06	1,11E+07	2,45E+06	1,24E+07	1,11E+07	1,49E-05	1,14E-05
Slk	G3V7I8	40,8	323,31	7,36E+06	1,11E+07	4,68E+07	9,08E+06	3,47E+07	1,11E+07	2,76E-05	1,09E-05
Septin-8	A0A0G2K7G7, G3V9Z6, B0BNF1, A0A0G2JVY6	47,4	240,52	2,99E+06	7,41E+06	5,61E+07	1,11E+07	3,29E+07	1,11E+07	2,73E-05	1,56E-05
Snd1	Q66X93, D4A8Y5	37,5	267,64	1,10E+07	8,00E+06	1,31E+07	2,57E+06	1,99E+07	1,10E+07	1,44E-05	4,78E-06
Vps18	B5DFJ4	42,9	323,31	2,31E+07	1,08E+07	8,97E+06	1,10E+07	5,49E+07	1,10E+07	3,10E-05	1,74E-05
Eef1d	Q68FR9-2	29,5	191,64	2,57E+05	1,10E+07	6,43E+07	4,02E+06	3,38E+07	1,10E+07	2,53E-05	1,89E-05

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Ruvbl1	P60123, A0A0G2K0H9	53,3	183,71	1,08E+07	8,19E+06	2,99E+07	5,35E+06	3,59E+07	1,08E+07	2,25E-05	9,33E-06
Ccdc93	Q5BJT7	52,1	314,87	4,01E+07	7,98E+06	7,88E+06	1,08E+07	5,99E+07	1,08E+07	3,52E-05	2,23E-05
Map1b	F1LRL9, P15205	57,7	323,31	3,30E+06	6,24E+06	1,47E+08	1,08E+07	8,66E+07	1,08E+07	5,40E-05	4,74E-05
Eef2	P05197	36,8	115,57	1,30E+07	5,95E+06	7,53E+06	1,07E+07	2,28E+07	1,07E+07	1,88E-05	9,40E-06
Anapc5	A0A0H2UH97, A1L1K3	36,2	270,16	1,07E+07	2,90E+06	1,33E+07	1,22E+06	2,54E+07	1,07E+07	1,26E-05	8,57E-06
Myo18a	A0A0G2JY08, D3ZFD0	52,2	323,31	5,23E+06	1,05E+07	8,32E+07	3,77E+06	8,27E+07	1,05E+07	4,03E-05	3,40E-05
Vps35	G3V8A5	35,7	220,08	2,73E+07	7,12E+06	1,05E+07	4,41E+06	1,06E+07	1,05E+07	1,70E-05	9,96E-06
Stim1	A0A0G2K5C8, P84903, A0A1B0GWQ1	34,4	200,45	3,47E+07	2,34E+06	1,05E+07	2,24E+06	2,07E+07	1,05E+07	1,80E-05	1,56E-05
Sema7a	D3ZQP6	27,5	118,05	1,28E+07	3,15E+06	1,29E+07	1,81E+06	1,05E+07	1,05E+07	1,03E-05	4,17E-06
Atic	O35567	63	317,67	1,13E+05	1,05E+07	5,00E+07	7,03E+06	2,37E+07	1,05E+07	2,23E-05	1,34E-05
Wdr48	D3Z8C7, A0A0G2KAW5	47,3	121,41	1,34E+07	5,65E+06	1,04E+07	3,48E+06	1,85E+07	1,04E+07	1,39E-05	4,49E-06
Cpne8	B5DEX3	46,8	133,4	1,28E+07	1,03E+07	1,47E+07	4,03E+06	9,14E+06	1,03E+07	1,46E-05	3,90E-06
Ywhaq	P68255	46,9	268,41	1,03E+07	8,30E+06	1,19E+07	1,32E+06	1,64E+07	1,03E+07	1,26E-05	5,07E-06
Cul9	A0A0G2K652, D3ZZP8	36,5	323,31	7,61E+06	1,02E+07	2,12E+07	1,97E+06	2,78E+07	1,02E+07	1,71E-05	8,58E-06
Map4	A0A0G2JW88	21,9	273,77	7,06E+04	2,08E+06	3,22E+07	1,02E+07	2,01E+07	1,02E+07	1,70E-05	1,25E-05
Ank2	F1M9N9	33	323,31	1,02E+07	2,47E+06	3,93E+07	1,85E+06	1,92E+07	1,02E+07	1,57E-05	1,05E-05
Map1a	P34926	49	323,31	1,01E+07	2,55E+06	1,33E+08	4,36E+06	4,08E+07	1,01E+07	3,80E-05	3,98E-05
Unc13c	Q62770, A0A0G2K3J2, A0A0G2KAK7	24,9	168,4	1,14E+07	1,66E+06	1,01E+07	5,80E+05	1,03E+07	1,01E+07	8,05E-06	4,99E-06
Cacna2d3	F1LSR8, Q8CFG5	26,2	156,53	1,42E+07	6,43E+06	1,43E+07	2,78E+06	9,96E+06	9,96E+06	1,27E-05	3,49E-06
Fam120a	D4AB03	35,7	323,31	9,79E+06	1,76E+06	3,37E+07	2,80E+06	1,92E+07	9,79E+06	1,50E-05	8,88E-06
Slc12a6	G3V6N7, A0A0G2K6T0	21,7	115,95	1,84E+07	9,74E+06	1,43E+07	2,97E+06	8,27E+06	9,74E+06	1,50E-05	6,23E-06
Upf1	F1LY19, A0A0U1RS25	45,1	323,31	9,66E+06	8,58E+06	3,90E+07	4,50E+06	3,29E+07	9,66E+06	2,27E-05	9,90E-06
Slc1a3	A0A0G2K611, A0A0G2KAS7, G3V846, P24942, A0A0G2JSU1, P24942-2	24,8	112,31	9,64E+06	3,43E+05	3,66E+07	5,50E+06	1,02E+07	9,64E+06	1,46E-05	9,79E-06
Srcin1	Q9QXY2-2, Q9QXY2	61,4	323,31	3,46E+06	9,41E+06	7,67E+07	9,62E+06	1,10E+08	9,62E+06	4,78E-05	4,16E-05
Myo1c	Q63355	43,3	133,36	9,61E+06	5,71E+06	2,18E+07	2,20E+06	1,08E+07	9,61E+06	1,23E-05	3,72E-06
Gpc1	Q6P7Q2, P35053	25,6	123,86	9,58E+06	5,11E+06	1,42E+07	1,98E+06	9,76E+06	9,58E+06	1,04E-05	2,35E-06
Ampd3	F1M7Q5, O09178	35,6	186,98	9,55E+06	6,26E+06	3,36E+07	4,26E+06	3,61E+07	9,55E+06	2,14E-05	1,10E-05
Ampd2	Q02356, A0A0G2K3U1	32,4	115,26	2,46E+06	6,05E+06	1,35E+07	9,50E+06	3,30E+07	9,50E+06	1,85E-05	1,23E-05

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Pip5k1c	Q3MID5, F1M8H6, Q516B8	36,3	108,27	2,16E+07	1,04E+06	1,05E+07	3,78E+06	9,47E+06	9,47E+06	1,24E-05	8,90E-06
Exoc1	A0A0G2K2V5	41,3	135,26	9,40E+06	4,09E+06	1,34E+07	3,45E+06	2,10E+07	9,40E+06	1,32E-05	5,17E-06
Commd9	Q3MIE7	59,1	111,15	2,64E+07	8,41E+06	9,34E+06	3,46E+06	4,25E+07	9,34E+06	2,36E-05	1,51E-05
Mark1	O08678, A0A0G2K7H9	46,2	149,83	6,57E+05	9,26E+06	1,39E+07	4,91E+06	2,48E+07	9,26E+06	1,48E-05	8,69E-06
Got1	P13221	35,8	138,22	9,10E+06	3,21E+06	1,92E+07	3,83E+06	9,73E+06	9,10E+06	1,15E-05	3,11E-06
Prmt5	D4A0E8	19,9	139,6	4,95E+06	9,07E+06	1,17E+07	1,40E+06	1,55E+07	9,07E+06	1,13E-05	5,60E-06
Dnm1l	O35303, O35303-5, O35303-4, O35303-2, O35303-6, O35303-3	54,3	322,03	9,06E+06	2,33E+06	1,45E+07	5,89E+06	2,33E+07	9,06E+06	1,46E-05	6,98E-06
Protocadherin 1	A0A0G2K6T9	28,5	164,34	8,96E+06	3,96E+06	3,00E+07	3,91E+06	1,61E+07	8,96E+06	1,50E-05	6,00E-06
Mtmr6	A0A0G2JXT6, D3ZC22	46,4	168,41	1,37E+07	5,81E+06	5,12E+06	8,86E+06	3,77E+07	8,86E+06	2,07E-05	1,29E-05
nicht charakterisiertes Protein	Q4G008	34,9	116	6,63E+05	8,79E+06	2,30E+07	8,79E+06	2,04E+07	8,79E+06	1,75E-05	8,89E-06
Nicastrin	Q8CGU6, B3DM90	17,8	171,5	1,53E+07	8,32E+06	8,69E+06	5,18E+06	9,36E+06	8,69E+06	1,42E-05	4,76E-06
Kars	Q5XIM7	23,6	110,96	1,87E+07	1,41E+07	8,31E+06	3,35E+05	8,66E+06	8,66E+06	1,43E-05	1,07E-05
Ywhah	A0A0G2K2B8, P68511	31	247,71	8,66E+06	4,95E+06	2,08E+07	1,96E+06	1,55E+07	8,66E+06	1,25E-05	4,38E-06
Dhx9	D4A9D6	37,8	295,49	8,60E+06	4,07E+06	5,75E+07	1,08E+06	4,93E+07	8,60E+06	2,52E-05	2,17E-05
Pdhb	A0A0G2KAM3, P49432	46,1	207,34	3,50E+06	8,57E+06	6,02E+07	7,07E+06	2,84E+07	8,57E+06	2,52E-05	1,54E-05
Dock7	A0A0G2K3H2	29	195,59	8,55E+06	2,21E+06	1,36E+07	1,18E+06	1,49E+07	8,55E+06	9,52E-06	4,82E-06
Gpi	Q6P6V0	30,3	106,09	8,49E+06	1,67E+06	1,53E+07	4,24E+06	1,29E+07	8,49E+06	1,10E-05	3,91E-06
Inpp4a	D3ZBL5, Q62784-2, Q62784	45,6	278,14	6,62E+06	8,47E+06	1,55E+07	4,93E+06	3,77E+07	8,47E+06	1,92E-05	1,16E-05
Cap1	Q08163	53,4	271,79	1,47E+06	8,47E+06	3,20E+07	5,10E+06	8,63E+07	8,47E+06	3,14E-05	3,29E-05
Vps39	E9PT04, A0A0G2KA50	45,7	235,97	1,66E+07	3,88E+06	8,41E+06	4,19E+06	2,46E+07	8,41E+06	1,55E-05	7,97E-06
Hnrnpu	Q6IMY8, A0A0G2JZ52	37,6	323,31	8,41E+06	7,45E+06	9,02E+07	8,01E+06	1,04E+08	8,41E+06	4,83E-05	4,05E-05
Klc1	A0A140TAB3, P37285-2, P37285-3, P37285	48,7	129,9	3,12E+07	4,97E+06	8,31E+06	3,60E+06	2,31E+07	8,31E+06	1,91E-05	1,30E-05
Rasgrp2	R9PXW6, P0C643	37,2	109,78	8,27E+06	6,94E+06	1,60E+07	4,02E+06	1,63E+07	8,27E+06	1,38E-05	2,33E-06
Vps35l	A0A0G2JUM2	49,9	264,89	2,47E+07	5,38E+06	3,15E+06	8,11E+06	4,32E+07	8,11E+06	2,39E-05	1,60E-05
Ppp2r1a	Q5XI34	42,6	110,96	7,70E+06	7,96E+06	1,50E+07	3,82E+06	1,65E+07	7,96E+06	1,38E-05	2,90E-06
Eef1e1	B2RYN3	52,3	149,12	3,44E+06	7,87E+06	2,36E+07	1,74E+06	2,99E+07	7,87E+06	1,58E-05	1,05E-05
Pabpc1	Q9EPH8, A0A0G2JZS2	42,9	161,45	7,87E+06	4,09E+05	4,11E+07	2,67E+06	2,87E+07	7,87E+06	1,72E-05	1,35E-05
Caskin-1	D3ZE17, Q8VHK2	43,6	323,31	1,77E+06	6,63E+05	9,77E+07	7,86E+06	3,80E+07	7,86E+06	3,05E-05	3,01E-05

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Scf1	Q62991	44,4	134,14	3,72E+06	7,83E+06	2,20E+07	4,57E+06	2,54E+07	7,83E+06	1,63E-05	7,42E-06
Osbp18	A0A0G2JXN8	47,6	323,31	7,82E+06	1,50E+06	2,90E+07	4,70E+06	2,67E+07	7,82E+06	1,64E-05	9,53E-06
Ubxn4	Q5HZY0	30	168,51	7,74E+06	3,82E+06	1,66E+07	2,85E+06	1,40E+07	7,74E+06	1,13E-05	2,98E-06
Lgi3	D3ZN61	24,5	149,98	8,63E+06	7,31E+05	7,71E+06	7,59E+05	1,07E+07	7,71E+06	6,75E-06	4,40E-06
Usp9x	D3ZC84, A0A0G2K2C7	30,9	311,91	6,39E+06	7,64E+06	1,01E+07	2,84E+06	2,08E+07	7,64E+06	1,29E-05	5,72E-06
Srr	Q76EQ0	49,8	108,91	2,15E+06	7,59E+06	1,22E+07	3,07E+06	8,16E+06	7,59E+06	9,40E-06	3,99E-06
Ophn1	P0CAX5	34,2	182,89	1,26E+07	7,47E+06	7,57E+06	5,98E+06	1,35E+07	7,57E+06	1,44E-05	4,18E-06
Slc8a1	Q01728-2, M0R3V7, Q01728, Q01728-3, Q01728-4, Q01728-6, Q01728-7, Q01728-5	22,2	190,71	4,11E+06	7,42E+06	2,10E+07	3,16E+06	1,01E+07	7,42E+06	1,18E-05	4,26E-06
Zw10	Q4V8C2	41,7	323,31	7,39E+06	6,33E+06	2,64E+07	2,87E+06	2,02E+07	7,39E+06	1,52E-05	5,89E-06
Hnrmp1	A0A0G2JTG7, Q8VHV7, G3V9Q3, Q8VHV7-2, Q8VHV7-3	25,8	123,18	7,26E+06	1,83E+06	2,21E+07	1,05E+05	2,09E+07	7,26E+06	1,11E-05	8,63E-06
Gnao1	P59215-2	71,2	106,02	7,20E+06	2,89E+06	1,62E+07	2,18E+06	9,01E+06	7,20E+06	9,17E-06	2,76E-06
Arfgef2	Q7TSU1	32,9	205,04	1,95E+07	1,57E+06	7,18E+06	7,43E+05	9,66E+06	7,18E+06	9,67E-06	8,74E-06
Cacna2d2	A0A0G2K0J2, F1M9X7, Q8CFG6	24,3	115,66	7,87E+06	2,48E+06	1,06E+07	2,16E+06	7,10E+06	7,10E+06	7,80E-06	1,89E-06
Mvp	Q62667, A0A140TAE0	48,9	185,38	3,60E+06	7,00E+06	3,71E+07	2,72E+06	1,66E+07	7,00E+06	1,54E-05	9,24E-06
Ptprz1	F1LMY3, Q62656, Q62656-3, Q62656-2	10,2	293,01	2,37E+06	6,97E+06	4,24E+07	3,70E+06	1,07E+07	6,97E+06	1,53E-05	1,09E-05
Pigs	Q5XI31	31	323,31	8,78E+06	3,62E+05	9,26E+06	1,29E+06	6,94E+06	6,94E+06	6,39E-06	3,76E-06
Ctnna2	D4A6H8	51,1	323,31	2,74E+06	6,93E+06	1,37E+07	6,50E+06	2,03E+07	6,93E+06	1,43E-05	6,60E-06
Sos1	D4A3T0	29,6	152,55	4,63E+06	1,87E+06	1,21E+07	6,89E+06	1,57E+07	6,89E+06	1,17E-05	6,57E-06
Syntenin-1	Q9JI92	47,3	323,31	6,88E+06	4,65E+06	3,85E+07	5,75E+06	1,69E+07	6,88E+06	1,75E-05	8,50E-06
Camsap3	D3ZXQ2, A0A0G2K5C0	36,2	234,17	3,46E+06	6,22E+06	2,10E+07	6,84E+06	1,63E+07	6,84E+06	1,48E-05	5,76E-06
Trim2	D3ZQG6, A0A0G2K2M8, D3ZM62	32	288,81	1,42E+07	5,62E+05	9,66E+06	4,63E+05	6,81E+06	6,81E+06	7,47E-06	6,52E-06
Rasgrf2	Q99JE4	37,7	283,59	6,80E+06	6,33E+06	2,39E+07	6,31E+06	2,03E+07	6,80E+06	1,68E-05	4,98E-06
Arhgef7	A0A0G2QC21	57,5	323,31	1680000	6785700	5,22E+07	3,17E+06	6,19E+07	6,79E+06	2,76E-05	2,48E-05
Marcks	P30009, F1LMW7	57,9	323,31	10509000	2948300	6,74E+06	4,22E+06	9,01E+06	6,74E+06	9,74E-06	3,46E-06
Glb1	D3ZUM4	26,4	116,29	3569400	6155200	3,42E+07	6,69E+06	2,28E+07	6,69E+06	1,84E-05	8,73E-06
LOC100912698	D3ZH14	20,5	172,06	13928000	609710	1,33E+07	8,37E+05	6,67E+06	6,67E+06	8,21E-06	6,33E-06
Agap2	Q8CGU4, A0A0G2JVS4	36,8	323,31	4289400	3036500	5,14E+07	6,62E+06	4,60E+07	6,62E+06	2,53E-05	1,87E-05

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Pgk1	P16617, M0R6Y8	42,4	161,49	6620800	975590	2,05E+07	4,09E+06	9,01E+06	6,62E+06	1,01E-05	5,01E-06
Pacsin1	Q9Z0W5, A0A0G2JWR2	52,6	323,31	307590016	5323900	9,50E+06	2,88E+06	6,59E+06	6,59E+06	8,96E-05	1,62E-04
Cdc42bpa	G3V6C9, O54874, A0A0G2K5Z1	36,8	323,31	6574200	2401000	2,16E+07	1,83E+06	1,36E+07	6,57E+06	1,05E-05	5,28E-06
Exoc6b	A0A0G2JYR1	37,8	196,87	6539900	4938500	9,17E+06	4,26E+06	2,45E+07	6,54E+06	1,33E-05	7,07E-06
Snx25	F1M998	34,9	114,14	13908000	1157700	6,51E+06	1,01E+06	6,70E+06	6,51E+06	7,40E-06	5,91E-06
Rab11fip5	A0A0G2K4A0	35,5	148,17	530740	556920	1,64E+07	6,47E+06	1,19E+07	6,47E+06	9,74E-06	7,58E-06
Epb4111	D4A9L5, D3ZMI4, A0A0G2K0F3, Q9WTP0, Q9WTP0-2, A0A0G2K0B2, D4ACZ4	36,3	122,87	5510700	1981800	2,25E+07	6,42E+06	1,71E+07	6,42E+06	1,38E-05	6,71E-06
Map4k3	R9PXT4, Q924I2, A0A0G2JYP2, A0A0G2JVZ8	29	116,45	7549600	986560	6,40E+06	1,31E+06	8,67E+06	6,40E+06	6,23E-06	3,15E-06
Mapk8ip3	E9PSK7	28,9	126,38	1470500	6359600	1,37E+07	2,11E+06	1,10E+07	6,36E+06	9,01E-06	4,18E-06
Scai	F1M3P6	31,2	102,28	2531800	2612200	2,35E+07	6,35E+06	1,87E+07	6,35E+06	1,37E-05	7,70E-06
Kcmf1	F1LRJ0, A0A0G2JX46	42	314,45	0	6261100	2,13E+07	2,02E+06	2,48E+07	6,26E+06	1,29E-05	9,45E-06
Anapc2	B2RYJ1	30,4	119,67	9827600	6174400	6,00E+06	7,80E+05	1,83E+07	6,17E+06	1,07E-05	6,32E-06
Ccdc92	D3ZBX9	51	149,72	6169800	3663400	3,00E+07	4,09E+06	4,19E+07	6,17E+06	2,00E-05	1,46E-05
Synaptopodin	Q9Z327-3, Q9Z327-2, A0A0H2UHQ9, Q9Z327	52,2	323,31	1290500	2021200	5,92E+07	6,14E+06	4,89E+07	6,14E+06	2,57E-05	2,23E-05
Ogt	A0A0G2K3V4	32,8	120,62	4281100	3638100	1,13E+07	6,13E+06	1,61E+07	6,13E+06	1,18E-05	5,41E-06
Ttc37	D3ZL50	35	262,98	8,44E+05	6,04E+06	2,50E+07	3,97E+06	2,85E+07	6,04E+06	1,56E-05	1,01E-05
Atg2a	D3ZT64	34,5	187,32	2,18E+06	5,25E+06	1,96E+07	5,97E+06	1,25E+07	5,97E+06	1,25E-05	5,44E-06
Paralemm-1	Q920Q0	25,1	200,64	3,48E+06	3,57E+06	2,11E+07	5,94E+06	9,60E+06	5,94E+06	1,17E-05	5,50E-06
Tgfbrap1	A0A0G2JV19, D3ZXT8	28,3	125,94	1,66E+07	5,84E+06	1,53E+06	1,96E+06	1,43E+07	5,84E+06	1,14E-05	7,32E-06
Tsc1	Q9Z136	34,7	108,46	5,82E+06	7,10E+05	8,04E+06	1,99E+06	7,83E+06	5,82E+06	6,16E-06	2,51E-06
Ntrk2	A0A0G2K5X6, Q63604	20,5	120,2	5,77E+06	2,60E+06	1,78E+07	2,54E+06	8,55E+06	5,77E+06	9,05E-06	3,27E-06
Elavl4	A0A140TAF2, O09032	46,8	187,23	4,38E+06	3,41E+06	1,06E+08	5,73E+06	6,22E+07	5,73E+06	3,77E-05	3,47E-05
Gcn111	F1LRI5	42,5	323,31	5,72E+06	4,83E+06	2,48E+07	3,04E+06	1,98E+07	5,72E+06	1,39E-05	6,12E-06
Psme4	A0A0G2K9R9, A0A0G2KAX0	27,4	221,38	7,22E+06	3,00E+06	5,65E+06	3,39E+05	1,07E+07	5,65E+06	6,69E-06	3,78E-06
Sipa111	A0A0G2KAW2, O35412, F1LS65	50,3	323,31	3,05E+06	5,63E+06	4,88E+07	3,75E+06	5,35E+07	5,63E+06	2,55E-05	2,11E-05
Akt1s1	D3ZH75	30	129,13	3,45E+06	5,61E+06	1,29E+07	1,41E+06	2,06E+07	5,61E+06	1,08E-05	6,68E-06
Dsp	F1LMV6	17,9	147,61	5,73E+06	4,80E+06	6,97E+06	5,58E+06	3,38E+06	5,58E+06	8,84E-06	4,61E-06
Adrbk2	P26819	39,4	111,93	5,48E+06	4,32E+06	1,05E+07	1,81E+06	9,75E+06	5,48E+06	8,26E-06	1,73E-06

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Jakmip2	D3ZQE7, A0A0G2JT21	33,9	227,86	5,46E+06	8,76E+05	8,13E+06	3,04E+06	1,09E+07	5,46E+06	7,46E-06	3,37E-06
Smap	D3ZKE6, A0A0G2JWA5, B5DF63, P0C219	36,5	170,42	1,53E+07	4,39E+05	5,46E+06	3,10E+05	8,02E+06	5,46E+06	7,17E-06	7,30E-06
Myo1b	Q05096, Q05096-3, Q05096-2	34,7	137,29	5,29E+06	2,16E+06	1,15E+07	2,06E+06	7,82E+06	5,29E+06	7,24E-06	1,85E-06
Matrin-3	A0A0G2JSR7, P43244	44,4	323,31	5,28E+06	3,91E+06	5,64E+07	2,27E+06	7,59E+07	5,28E+06	3,07E-05	3,08E-05
Eif4g2	F1LN59	36,6	264,16	4,72E+06	4,48E+06	2,10E+07	5,27E+06	2,30E+07	5,27E+06	1,50E-05	6,74E-06
nicht charakterisiertes Protein	A0A0G2JY03	50,6	100,07	2,74E+06	5,24E+06	2,94E+07	2,41E+06	9,27E+06	5,24E+06	1,14E-05	7,20E-06
Mon1a	B1WC06	44,1	100,82	5,16E+06	3,97E+06	9,90E+06	1,86E+06	8,57E+06	5,16E+06	7,71E-06	1,28E-06
Annexin A3	P14669	74,7	272,66	2,78E+06	1,61E+05	4,42E+08	5,11E+06	5,69E+06	5,11E+06	7,98E-05	1,47E-04
Doc2a	P70611	45,4	102,44	5,09E+06	2,84E+06	2,64E+07	4,25E+06	1,34E+07	5,09E+06	1,26E-05	5,99E-06
Anapc1	F1M801	30,1	323,31	5,06E+06	4,46E+06	1,01E+07	7,42E+05	2,35E+07	5,06E+06	1,05E-05	8,07E-06
Eif3l	G3V7G9	39,3	119,82	2,38E+07	1,84E+06	4,92E+06	9,51E+05	9,39E+06	4,92E+06	1,06E-05	1,10E-05
Sfpq	A0A0G2K8K0	27	165,17	4920700	2503600	24361000	7,60E+05	8,11E+07	4,92E+06	2,48E-05	3,29E-05
Anxa5	P14668, Q66HH8	50,5	107,32	4890400	676060	16210000	3,51E+06	7,89E+06	4,89E+06	8,23E-06	4,16E-06
Erc2	Q8K3M6, Q8K3M6-2	30,2	136,13	25608000	1912600	4876500	5,81E+05	2,77E+07	4,88E+06	1,50E-05	1,44E-05
Lpin1	Q5XIM8, A0A0G2JW03	25,5	119,64	4734300	4844900	10880000	2,43E+06	5,82E+06	4,84E+06	7,86E-06	1,43E-06
Mogs	G3V743, A0A0G2K8S6, O88941	24,8	124,98	14194000	876530	4793700	6,85E+05	5,00E+06	4,79E+06	6,50E-06	6,42E-06
Tanc2	A0A0G2K9J0, F1LTE0	23,7	101,37	4245900	760720	7256900	8,22E+05	7,85E+06	4,25E+06	4,91E-06	2,58E-06
Ptpns	Q64605-2, Q64605, M0RA99, M0R711, A0A0G2K1N1	22,8	180,44	4224200	1827800	6553100	1,12E+06	6,47E+06	4,22E+06	5,10E-06	1,37E-06
Rab3gap2	Q5U1Z0	26,3	139,66	2209800	1829600	18299000	4,12E+06	1,05E+07	4,12E+06	9,29E-06	5,02E-06
Lss	A0A0G2JVC8, P48450	31,1	108,62	10081000	1376000	8871900	4,04E+04	4,09E+06	4,09E+06	5,69E-06	4,59E-06
Etf1	Q5U2Q7	31,4	183,73	12950000	4032200	1320000	3,84E+06	4,18E+07	4,03E+06	1,69E-05	1,55E-05
Aldh111	P28037, A0A0G2K0D8, M0R8T2	43,7	186,04	5335500	3966500	1265300	2,43E+05	1,80E+07	3,97E+06	7,38E-06	6,94E-06
Plcb4	D4A8C5, Q9QW07-3, Q9QW07, F1LNK2, D3ZCI6, Q9QW07-2	29,2	105,65	658940	1115800	6418400	3,96E+06	5,45E+06	3,96E+06	5,35E-06	3,91E-06
Snmp200	M3ZCQ2, F1LNJ2	34,3	309,8	3928800	545420	5865000	1,37E+05	1,11E+07	3,93E+06	4,81E-06	4,22E-06
Comm5	Q9ERR2	46,9	110,89	13328000	1910400	3880900	3,81E+06	2,75E+07	3,88E+06	1,34E-05	1,00E-05
Alox5	A0A0G2JU29, F1LMM5, P12527	27,9	132,33	3871100	1289800	17322000	2,09E+06	6,16E+06	3,87E+06	7,13E-06	4,03E-06
Pc	A0A0G2JTL5, P52873	33,7	167,86	1192900	131570	9499100	3,87E+06	9,82E+06	3,87E+06	6,52E-06	4,76E-06

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Cand1	P97536	30,5	118,78	5402500	1956200	3844600	8,57E+05	1,26E+07	3,84E+06	6,20E-06	4,17E-06
Nos1	F1LQL1, D3ZEW7, P29476, P29476-3, P29476-2	36	219,55	31116	266480	23858000	3,84E+06	1,16E+07	3,84E+06	9,07E-06	7,73E-06
Eno2	P07323	49,5	163,15	3786700	1276200	22781000	2,12E+06	8,09E+06	3,79E+06	8,47E-06	5,77E-06
Neogenin	P97603, F1M0Z6	35,7	113,1	3757100	2344500	10764000	1,23E+06	6,49E+06	3,76E+06	5,97E-06	1,91E-06
Cope	G3V8Q1	60,4	108,75	3725600	1609400	23775000	1,82E+06	2,44E+07	3,73E+06	1,22E-05	9,53E-06
Sec23a	A0A0G2JZM2, B5DFC3	32,4	203,58	24576000	3540000	3718500	1,46E+06	8,72E+06	3,72E+06	1,15E-05	1,10E-05
Plxna1	D3Z981	33,9	194,33	3417500	3552400	13033000	1,29E+06	9,79E+06	3,55E+06	7,52E-06	2,97E-06
Kif21a	D4A1V5, D3ZJJ7, D3ZSN6, D3ZYN2, D3ZCG2	18,7	135,1	3524100	1055300	7652400	3,87E+05	1,11E+07	3,52E+06	5,35E-06	3,91E-06
Akap5	F1LPP6, P24587	22,7	128,07	3519000	2020300	9856300	2,70E+06	9,00E+06	3,52E+06	7,08E-06	2,26E-06
Khdrbs1	Q91V33	21,2	143,7	3299100	3512500	49656000	5,87E+05	5,06E+07	3,51E+06	2,22E-05	2,23E-05
Prpf8	G3V6H2	23,5	112,43	3431600	647810	3973300	1,63E+05	9,13E+06	3,43E+06	3,97E-06	3,38E-06
Ralgapb	A0A0G2K0K8, A0A0G2KA57, R9PXV2	40,1	323,31	3426600	3027500	30950000	3,29E+06	2,74E+07	3,43E+06	1,54E-05	1,06E-05
Vps13c	D4A4K4	28,8	232,38	3348400	2822700	5005900	1,39E+06	8,66E+06	3,35E+06	5,66E-06	2,03E-06
Dgki	F1MAB7	25,1	177,04	3335300	475100	13187000	7,14E+05	8,49E+06	3,34E+06	5,63E-06	3,98E-06
Myosin-10	G3V9Y1, Q9JLT0	53,4	323,31	2950300	3330500	60097000	2,30E+06	4,34E+07	3,33E+06	2,33E-05	2,13E-05
Dync2h1	Q9JJ79, D3ZBB8	24	210,28	3307300	1557200	4374800	5,76E+05	4,95E+06	3,31E+06	3,71E-06	1,24E-06
Dld	Q6P6R2	37,5	147,97	289780	1759400	35846000	3,17E+06	2,45E+07	3,17E+06	1,42E-05	1,22E-05
Rasgrp1	Q9R1K8	30,9	116,53	1624600	3141200	10296000	1,53E+06	7,00E+06	3,14E+06	5,94E-06	2,31E-06
Fryl	D3ZQY4	15,7	108,37	3109500	1522800	4837500	1,20E+06	6,59E+06	3,11E+06	4,46E-06	1,45E-06
Ppp2ca	A0A0G2JYA4, P63331, P62716	37,5	159,55	3059200	1709200	22716000	2,38E+06	1,90E+07	3,06E+06	1,10E-05	7,54E-06
Protein bassoon	G3V984, O88778, A0A0G2K1X6	25,2	323,31	138460	1913600	16956000	3,06E+06	1,37E+07	3,06E+06	8,57E-06	5,80E-06
Rictor	F1M4J0	27,6	199,84	3023600	1467700	11739000	1,08E+06	9,01E+06	3,02E+06	6,04E-06	3,19E-06
Ptpa	Q66HJ7, A0A0G2JVR0	31,2	126,33	2899500	1664000	17848000	2,14E+06	1,12E+07	2,90E+06	8,26E-06	4,68E-06
Ahi1	F1M9F9, Q6DTM3	37,9	131,04	1383100	2311600	16729000	2,68E+06	2,27E+07	2,68E+06	1,08E-05	8,23E-06
Celf2	Z4YNP1, Q792H5-2, Q792H5-3, Q792H5, Q792H5-4	26,4	130,17	2644600	1176700	58669000	8,44E+05	3,60E+07	2,64E+06	1,96E-05	2,07E-05
Birc6	F1LY70, A0A0G2JZ53	23	283,99	2287600	2623200	3812100	4,93E+05	1,00E+07	2,62E+06	4,83E-06	3,33E-06
Rock2	F1LQT3, A0A0G2K5N6, Q62868	30,5	181,13	277620	560640	9313200	2,56E+06	8,02E+06	2,56E+06	5,22E-06	3,67E-06
Myo6	D4A5I9	46,6	323,31	2553700	1539400	52363000	1,79E+06	1,55E+07	2,55E+06	1,47E-05	1,56E-05

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Spred1	Q3C2P9	19,6	118,96	398280	2529200	12254000	1,56E+06	4,76E+06	2,53E+06	5,21E-06	3,11E-06
Pclo	Q9JKS6, Q9JKS6-3, Q9JKS6-2	16,7	276,62	405740	2476500	11180000	1,81E+06	7,59E+06	2,48E+06	5,79E-06	3,10E-06
Sec24b	D3ZW15	25,6	130,17	21142000	2450600	588030	6,28E+05	3,70E+06	2,45E+06	7,97E-06	1,03E-05
Dock11	F1LQ91	21,9	131,06	2349300	867510	4190900	1,25E+06	4,21E+06	2,35E+06	3,39E-06	9,51E-07
Lphn1	O88917-4, O88917, D4A144, O88917-2, O88917-3	16,5	114,15	2330800	2064000	4372100	1,96E+06	3,38E+06	2,33E+06	4,15E-06	9,92E-07
Edc4	Q3ZAV8	26,9	292,53	2319900	175040	25864000	7,57E+05	5,54E+06	2,32E+06	6,75E-06	7,77E-06
Trim46	A0A0G2JXN2	27,3	106,28	2316400	224820	5299200	3,74E+05	4,02E+06	2,32E+06	2,72E-06	1,66E-06
Clasp1	F1LNR1, F1LNQ9, A0A0G2JTD7, F1LNR0, A0A0G2JUI5, A0A1B0GWS3	31,1	155,19	2294100	315770	12114000	1,03E+06	3,90E+06	2,29E+06	4,28E-06	3,21E-06
Prkar2b	P12369, Q4KLG5, A0A0G2K5G0	41,8	135,36	2219300	603310	15538000	1,68E+06	7,68E+06	2,22E+06	6,19E-06	4,23E-06
Tenascin C	A0A0G2K1L0	24	194,14	872290	2185700	23263000	7,27E+05	6,36E+06	2,19E+06	6,90E-06	6,68E-06
Rbmxml	P84586, A0A0G2K8K9, D4AE41, A0A0A0MXW9	28,6	105,56	1864200	2067000	49174000	1,35E+05	5,71E+07	2,07E+06	2,23E-05	2,54E-05
Lrp1	G3V928	15,1	208,78	1890900	710310	3939400	4,80E+05	3,98E+06	1,89E+06	2,64E-06	1,13E-06
Camk2g	F1M3F8	52	108,81	0	1880700	20165000	1,42E+06	1,72E+07	1,88E+06	8,84E-06	7,66E-06
Ptpn5	A0A0G2QC31, P35234	39,4	140,76	1831900	287570	22471000	1,65E+06	8,25E+06	1,83E+06	7,24E-06	6,53E-06
Neurabin-2	O35274	23,6	127	467110	1135100	16627000	1,75E+06	7,87E+06	1,75E+06	6,21E-06	4,79E-06
Tpp2	Q64560	28,1	130,13	1744600	3927400	1365200	6,86E+05	7,78E+06	1,74E+06	4,43E-06	3,17E-06
Ptp2	Q66H20, Q66H20-2	51	240,88	1632800	598100	53044000	6,11E+05	4,38E+07	1,63E+06	1,97E-05	2,20E-05
LOC291543	F1LUV3	23,6	115,48	0	18460000	13570000	6,11E+05	1,54E+06	1,54E+06	1,05E-05	1,41E-05
Myotubularin	Q6AXQ4, Q6AXQ4-2, A0A140TAI5	18,6	105,34	1509500	258010	19209000	7,86E+05	3,56E+06	1,51E+06	5,03E-06	5,71E-06
Vigilin	Q3KRF2, Q9Z1A6	33	146,52	450680	803780	18282000	1,40E+06	1,09E+07	1,40E+06	6,80E-06	5,89E-06
RGD1307100	A0A096MJT6, F1LVK0	17,7	192,36	1241200	1385500	2850100	5,18E+05	2,72E+06	1,39E+06	2,30E-06	5,77E-07
Plxnb2	D3ZQ57	13,6	106,45	1319500	251940	2595000	3,25E+05	1,69E+06	1,32E+06	1,47E-06	6,18E-07
Sbf2	B5DEJ9	30,8	168,04	1297400	835060	6934700	6,46E+05	9,05E+06	1,30E+06	4,25E-06	3,27E-06
Arfgef3	D3ZF86	19,9	125,55	525000	1237500	2423200	4,26E+05	5,33E+06	1,24E+06	2,49E-06	1,80E-06
Hnrnp	Q566E4	29,9	152,37	1214800	393590	24161000	1,15E+05	1,85E+07	1,21E+06	8,72E-06	9,56E-06
Trio	F1M0Z1, A0A1P0PBZ6	13,7	126,44	1995900	262990	1217100	9,26E+04	1,21E+06	1,21E+06	1,17E-06	8,38E-07
Hnrnp	Q5D059, P61980, M0R9K1	32,1	114,85	192130	1077700	37802000	1,16E+06	2,21E+07	1,16E+06	1,25E-05	1,31E-05

Protein	UP-Nr.	SQ [%]	MQ-Wert	iBAQ 1	iBAQ 2	iBAQ 3	iBAQ 4	iBAQ 5	Med. iBAQ	MW rel. iBAQ	SA rel. iBAQ
Plec	Q6S399, Q6S3A3, Q6S3A4, F7F9U6, Q6S395, Q6S396, Q6S3A5, Q6S3A0, A0A0G2K1J5, P30427-3, P30427-2, P30427-4, P30427	27,3	202,82	1068500	244080	2011800	1,84E+05	4,63E+06	1,07E+06	1,86E-06	1,69E-06
Gpr158	A0A0A0MY13, D4A6L0	12,4	135,29	1051600	196110	10749000	9,47E+05	4,80E+06	1,05E+06	3,82E-06	3,11E-06
Rims1	Q9JIR4-2, Q9JIR4	40,7	323,31	247130	771070	44757000	1,03E+06	1,94E+07	1,03E+06	1,29E-05	1,47E-05
Wdr81	D4A929	24,5	115,86	52988	984490	3246300	2,72E+05	6,45E+06	9,84E+05	2,55E-06	2,46E-06
Tubgcp6	D4A709	18,7	102,64	951510	587900	3120600	9,68E+05	7,50E+06	9,68E+05	3,27E-06	2,60E-06
Neurabin-1	O35867	30,9	128,93	60185	0	16153000	9,16E+05	5,61E+06	9,16E+05	4,55E-06	5,08E-06
Farp1	F1LYQ8	20,9	131,39	368450	374060	3648500	8,73E+05	4,54E+06	8,73E+05	2,41E-06	1,65E-06
Rasal2	A0A0G2JTA7, D4AAY3	19,4	101,93	356690	211160	8232100	8,46E+05	5,89E+06	8,46E+05	3,39E-06	2,84E-06
Hnrnpm	F1LV13, F1M3D3, Q62826, Q62826-2	32,2	139,33	841350	713460	21043000	5,55E+05	2,75E+07	8,41E+05	1,05E-05	1,18E-05
Mttr12	Q5FVM6, Q5FVM6-2	24,7	107,86	113120	95087	826570	1,59E+06	8,80E+06	8,27E+05	3,13E-06	3,73E-06
Macf1	A0A0G2JWA8, M9MMM9, A0A0G2JU82, A0A0G2K9T4, D3ZHV2	17,2	190,4	651430	86633	2619800	8,78E+04	2,04E+06	6,51E+05	1,16E-06	9,11E-07
nicht charakterisiertes Protein	A0A0G2JW65	41,5	116,91	0	0	3811800	5,61E+05	2,05E+06	5,61E+05	1,44E-06	1,27E-06
Cnot1	G3V7M0	22,6	184,9	5,47E+05	3,92E+05	7,11E+06	4,30E+05	9,16E+06	5,47E+05	3,79E-06	3,72E-06
Safb	M0RBF0, A0A0G2JZI0, O88453, A0A0G2JW97	23,3	109,23	5,36E+05	0,00E+00	1,21E+07	0,00E+00	5,84E+06	5,36E+05	3,47E-06	4,14E-06
Ank1	D3Z9Z0	23	103,17	1,00E+05	3,39E+04	9,37E+06	4,66E+05	4,20E+06	4,66E+05	2,84E-06	3,03E-06
Rb1cc1	D3ZHK4	26,9	142,88	2,35E+04	2,77E+05	6,52E+06	4,13E+05	5,87E+06	4,13E+05	2,77E-06	2,68E-06
Shank1	Q9WV48-5, Q9WV48-3, Q9WV48-4, Q9WV48	13,7	120,19	6,77E+04	2,21E+05	9,69E+06	3,27E+05	3,13E+06	3,27E+05	2,64E-06	3,01E-06
Ralgapb	P86410	38,8	111,64	3,00E+05	0,00E+00	2,04E+06	0,00E+00	6,62E+05	3,00E+05	5,71E-07	6,37E-07
LOC100911597;Myh9	G3V6P7, Q62812	31,8	180,19	2,97E+05	2,79E+05	4,45E+06	2,01E+04	2,43E+06	2,97E+05	1,49E-06	1,46E-06
Atp2b2	P11506-14, P11506	37,1	131,42	0,00E+00	2,40E+05	1,39E+06	2,16E+05	7,08E+05	2,40E+05	6,21E-07	3,84E-07
Drg1	Q5I0F0	46,9	132,41	0,00E+00	6,63E+04	9,46E+06	2,32E+05	8,50E+06	2,32E+05	3,64E-06	4,15E-06
Myosin-4	A0A0G2K484, F1LMU0, Q29RW1	26,3	180,21	1,06E+06	0,00E+00	1,33E+05	2,34E+07	2,14E+05	2,14E+05	1,48E-05	2,86E-05
Ccdc88a	D3ZYD7	12,9	122,38	0,00E+00	1,56E+04	2,92E+06	1,39E+05	1,54E+06	1,39E+05	9,25E-07	9,88E-07
Reticulon	M0R608	45	120,5	6,87E+05	0,00E+00	1,19E+08	0,00E+00	0,00E+00	0,00E+00	2,03E-05	4,01E-05

8.3.2 Proteininteraktionen synaptischer Vesikel.

Tabelle A. 2: Proteininteraktionen unbehandelter synaptischer Vesikel.

Die Proteinennamen (Protein 1/Protein 2), Akzessionsnummer der Datenbank UniProt (UP-Nr. 1/ UP-Nr. 2), die Position der Quervernetzungen in den Proteinen (QPos 1/ QPos 2), der Wert der Datenbanksuchmaschine für die identifizierte Quervernetzung (Wert), die Nummer der Replikate, in welcher die Quervernetzung identifiziert wurde (Repl.), die Anzahl an Spektren des quervernetzten Peptidpaars (#Spektren) und die Sequenz der quervernetzten Peptide (Peptidsequenz 1/Peptidsequenz 2) ist gelistet. Innerhalb der Peptidsequenzen ist die quervernetzte Aminosäure hervorgehoben.

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Wert	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
homomultimere Quervernetzung										
Synaptobrevin-2	Synaptobrevin-2	P63045	P63045	52	52	3,45E-03	1,2,3,4	26	VNV D KVLERDQK	VNV D KVLER
Synaptobrevin-2	Synaptobrevin-2	P63045	P63045	59	59	1,48E-02	1,2,3,4	26	DQ K LSELD DD R	DQ K LSELD DD R
Syntaxin-1B	Syntaxin-1B	P61265	P61265	116	116	6,12E-01	1	1	KTQHSTLSR	KTQHSTLSR
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	83	83	5,26E-07	1,2,3,4	122	LHQVYFDAPSCV K GGT TK	LHQVYFDAPSCV K GGT TK
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	186	186	3,80E-01	2	3	QTG N TCKELR	QTG N TCKELR
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	1	1	3,88E-01	3	1	MDVV N QLVAGGQFR	MDVV N QLVAGGQFR
SV2A	SV2A	Q02563	Q02563	109	109	1,51E-01	2	1	AES G GKGER	AES G GKGER
CSP	CSP	P60905	P60905	46	46	9,55E-04	1,3,4	10	YHPD K NPDPNPEAADKFK	YHPD K NPDPNPEAADK
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	255	255	5,47E-03	2	2	KEMAS G VNTR	KEMAS G VNTR
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	111	111	1,95E-10	1,2,3	7	VD K GVVPLAGTNGETTTQGLD GLSER	VD K GVVPLAGTNGETTTQGLD LSER
Dynamamin-1	Dynamamin-1	P21575	P21575	113	113	9,39E-02	2	1	VTGT N KGISPVPINLR	VTGT N KGISPVPINLR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	291	291	5,96E-02	2	6	AYDP K GGLDNAR	AYDP K GGLDNAR
GPM6A	GPM6A	Q812E9	Q812E9	257	257	7,56E-05	1	4	S K EEQELHDIHSTR	S K EEQELHDIHSTR
GPM6A	GPM6A	Q812E9	Q812E9	190	190	1,14E-04	2	14	KICTV S ENFLR	KICTV S ENFLR
GPM6A	GPM6A	Q812E9	Q812E9	257	255	1,16E-02	1	3	S K EEQELHDIHSTR	YEDI K SK
Myosin-Va	Myosin-Va	AOA0G2K4Y 7	AOA0G2K4 Y7	1232	1232	7,91E-06	2,3	7	AL S E K SAPEVTAPGAPAYR	AL S E K SAPEVTAPGAPAYR
Myosin-Va	Myosin-Va	AOA0G2K4Y 7	AOA0G2K4 Y7	1277	1277	1,03E-01	2	2	SQLV S Q K EAIQPK	SQLV S Q K EAIQPK
PFKAL	PFKAL	P30835	P30835	727	727	2,84E-02	1,3	4	KETD F EHR	KETD F EHR
RS27A	RS27A	P62982	P62982	48	48	9,95E-02	2	2	LIFAG K QLEDGR	LIFAG K QLEDGR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Wert	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
intermolekulare Quervernetzungen										
Synaptobrevin-2	Syntaxin-1B	P63045	P61265	52	116	7,12E-04	1,3,4	10	VNVDKVLER	KTQHSTLSR
Synaptobrevin-2	Syntaxin-1B	P63045	P61265	59	116	4,87E-03	3	1	DQKSELDDR	KTQHSTLSR
Synaptobrevin-1	Synaptobrevin-2	Q63666	P63045	85	52	1,73E-02	1	2	ADALQAGASVFESSAAKLLK	VNVDKVLER
Synaptobrevin-2	Synaptotagmin-1	P63045	P21707	52	107	1,92E-03	1,3,4	9	VNVDKVLER	DVKDLGK
Synaptobrevin-2	SV2A	P63045	Q02563	59	385	2,07E-07	1,2,3,4	18	DQKSELDDR	AKGHPER
Synaptobrevin-2	SV2A	P63045	Q02563	83	385	6,36E-07	1,2,3,4	14	ADALQAGASQFETSAAKLLK	AKGHPER
Synaptobrevin-2	SV2A	P63045	Q02563	52	385	5,91E-05	1,2,3,4	32	VNVDKVLER	AKGHPER
Synaptobrevin-2	SV2A	P63045	Q02563	59	485	9,53E-03	2,3,4	6	DQKSELDDR	TKVFPGER
Synaptobrevin-2	SV2A	P63045	Q02563	52	109	7,10E-05	1,2	23	VNVDKVLER	AESGGKGER
Synaptobrevin-2	SV2A	P63045	Q02563	52	16	6,79E-03	1,4	6	VNVDKVLER	GAKDIAK
Synaptobrevin-2	SV2A	P63045	Q02563	52	32	1,98E-02	1,4	8	VNVDKVLER	VVKGLDR
Synaptobrevin-2	SV2A	P63045	Q02563	59	16	2,34E-01	1,4	3	DQKSELDDR	GAKDIAK
Synaptobrevin-2	SV2A	P63045	Q02563	52	20	2,35E-02	1	2	VNVDKVLER	DIAKEVK
Synaptobrevin-2	SV2A	P63045	Q02563	83	16	3,93E-01	1	1	ADALQAGASQFETSAAKLLK	GAKDIAK
Synaptobrevin-2	SV2B	P63045	Q63564	52	328	1,68E-03	1,2,3	6	VNVDKVLER	AKGTPEK
SV2A	Synaptobrevin-2	Q02563	P63045	143	52	1,72E-04	1,2,3,4	23	KDREELAQQYETILR	VNVDKVLER
SV2A	Synaptobrevin-2	Q02563	P63045	143	59	5,46E-05	1,2,3	12	KDREELAQQYETILR	DQKSELDDR
SV2A	Synaptobrevin-2	Q02563	P63045	375	52	1,52E-03	1	1	HDEAWMVLKQVHDTNMR	VNVDKVLER
SV2A	Synaptobrevin-2	Q02563	P63045	515	59	1,52E-02	2	2	GGQYFNDKFIGLR	DQKSELDDR
Synaptobrevin-2	Synaptophysin	P63045	P07825	59	186	1,33E-02	1,2,3	10	DQKSELDDR	QTGNTCKELR
Synaptobrevin-2	Synaptophysin	P63045	P07825	59	17	3,04E-03	3,4	4	DQKSELDDR	VVKEPLGFVK
Synaptobrevin-2	Synaptophysin	P63045	P07825	83	163	3,31E-04	1	1	ADALQAGASQFETSAAKLLK	GLSDVKMATDPENIIK
Synaptophysin	Synaptobrevin-2	P07825	P63045	83	59	4,31E-12	1,2,3,4	19	LHQVYFDAPSCVKGTTK	DQKSELDDR
Synaptophysin	Synaptobrevin-2	P07825	P63045	83	52	1,38E-05	1,2,3,4	19	LHQVYFDAPSCVKGTTK	VNVDKVLER
Synaptophysin	Synaptobrevin-2	P07825	P63045	83	83	1,48E-04	1,3,4	8	LHQVYFDAPSCVKGTTK	ADALQAGASQFETSAAKLLK
Synaptophysin	Synaptobrevin-2	P07825	P63045	17	52	1,31E-01	1,3,4	5	VVKEPLGFVK	VNVDKVLER

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Wert	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
Synaptophysin	Synaptobrevin-2	P07825	P63045	163	52	1,45E-02	2,4	4	GLSDVKMATDPENIIK	VNVDKVLER
Synaptophysin	Synaptobrevin-2	P07825	P63045	173	59	1,39E-01	1,2	2	MATDPENIIKEMPMCR	DQKLSSEDDR
Synaptophysin	Synaptobrevin-2	P07825	P63045	186	52	3,36E-01	2,3	5	QTGNTCKELR	VNVDKVLER
Synaptophysin	Synaptobrevin-2	P07825	P63045	163	59	1,26E-01	2	2	GLSDVKMATDPENIIK	DQKLSSEDDR
Synaptophysin	Synaptobrevin-2	P07825	P63045	173	52	2,26E-01	1	1	MATDPENIIKEMPMCR	VNVDKVLER
Synaptobrevin-2	VGlu1	P63045	Q62634	52	25	3,75E-01	1,2	2	VNVDKVLER	LLEKR
Synaptobrevin-2	VGlu1	P63045	Q62634	83	272	2,58E-02	3	1	ADALQAGASQFETSAAKLLK	KYIEDAIGESAK
Synaptobrevin-2	VGlu2	P63045	Q9JI12	52	34	4,71E-05	4	4	VNVDKVLER	KQDNR
VGlu2	Synaptobrevin-2	Q9JI12	P63045	376	59	3,01E-01	3	1	SKQILSTTTVR	DQKLSSEDDR
Synaptogyrin-1	Synaptobrevin-2	Q62876	P63045	136	59	2,38E-02	3	1	PKDNPLNEGTAAR	DQKLSSEDDR
Synaptogyrin-1	Synaptobrevin-2	Q62876	P63045	136	52	1,82E-01	1	1	PKDNPLNEGTAAR	VNVDKVLER
Synaptobrevin-2	Scamp-1	P63045	P56603	59	97	2,34E-04	2	5	DQKLSSEDDR	KAAELDR
Synaptobrevin-2	Scamp-1	P63045	P56603	52	97	8,66E-04	2	6	VNVDKVLER	KAAELDR
Synaptobrevin-2	Scamp-3	P63045	E9PTW1	59	112	1,70E-04	2	4	DQKLSSEDDR	KAAELDR
Synaptobrevin-2	Scamp-3	P63045	E9PTW1	52	112	7,36E-03	2	1	VNVDKVLER	KAAELDR
Synaptobrevin-2	Scamp-3	P63045	E9PTW1	52	105	7,53E-03	2	1	VNVDKVLER	KQEELNR
Synaptobrevin-2	V-ATPase-a	P63045	P25286	52	50	4,43E-05	1,2,3,4	13	VNVDKVLER	KFVNEVR
Synaptobrevin-2	V-ATPase-a	P63045	P25286	52	70	7,70E-02	1,3,4	5	VNVDKVLER	FVEKEIR
Synaptobrevin-2	V-ATPase-a	P63045	P25286	59	50	8,66E-05	1,3	3	DQKLSSEDDR	KFVNEVR
Synaptobrevin-2	V-ATPase-a	P63045	P25286	83	255	1,15E-02	1,2	3	ADALQAGASQFETSAAKLLK	KEMASGVNTR
Synaptobrevin-2	V-ATPase-a	P63045	P25286	52	235	7,23E-02	3,4	4	VNVDKVLER	KICEGFR
Synaptobrevin-2	V-ATPase-a	P63045	P25286	59	70	2,07E-01	1,3	3	DQKLSSEDDR	FVEKEIR
Synaptobrevin-2	V-ATPase-a	P63045	P25286	59	255	9,55E-06	2	25	DQKLSSEDDR	KEMASGVNTR
Synaptobrevin-2	V-ATPase-a	P63045	P25286	59	288	2,05E-05	2	15	DQKLSSEDDR	VLQAAAKNIR
Synaptobrevin-2	V-ATPase-a	P63045	P25286	83	50	1,79E-03	3	1	ADALQAGASQFETSAAKLLK	KFVNEVR
Synaptobrevin-2	V-ATPase-a	P63045	P25286	83	235	1,17E-02	3	1	ADALQAGASQFETSAAKLLK	KICEGFR
Synaptobrevin-2	V-ATPase-a	P63045	P25286	52	296	1,53E-01	2	2	VNVDKVLER	VWFIKVR
Synaptobrevin-2	V-ATPase-d	P63045	Q5M7T6	52	322	3,70E-01	3	1	VNVDKVLER	LKEQECR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Wert	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
Synaptobrevin-2	V-ATPase-E1	P63045	Q6PCU2	59	82	1,61E-01	1,4	6	DQKLSLDDR	LKVLK
Synaptobrevin-2	V-ATPase-G2	P63045	Q8R2H0	52	21	3,36E-03	2	2	VNVDKVLK	AAEKVADAR
V-ATPase-a	Synaptobrevin-2	P25286	P63045	255	52	1,13E-05	1,2	38	KEMASGVNTR	VNVDKVLK
V-ATPase-a	Synaptobrevin-2	P25286	P63045	288	52	8,06E-05	2,3	14	VLQAAAKNIR	VNVDKVLK
V-ATPase-B2	Synaptobrevin-2	P62815	P63045	460	52	9,29E-02	3	1	FEKNFITQGPYENR	VNVDKVLK
V-ATPase-E1	Synaptobrevin-2	Q6PCU2	P63045	191	52	1,87E-01	3	1	IKVSNTLESR	VNVDKVLK
Synapsin-1	Synaptobrevin-2	P09951	P63045	179	52	2,77E-03	1,4	8	SLKPDFVLIR	VNVDKVLK
Synapsin-1	Synaptobrevin-2	P09951	P63045	574	59	1,22E-01	1,2	2	QASISGPAPPKRVSGASPGGQQ R	DQKLSLDDR
Synapsin-1	Synaptobrevin-2	P09951	P63045	574	52	3,87E-01	1,2	2	QASISGPAPPKRVSGASPGGQQ R	VNVDKVLK
Synapsin-1	Synaptobrevin-2	P09951	P63045	591	52	4,96E-01	1,2	4	QGPPQKPPGPAGPIR	VNVDKVLK
Synapsin-1	Synaptobrevin-2	P09951	P63045	591	59	3,11E-01	1	1	QGPPQKPPGPAGPIR	DQKLSLDDR
Synaptobrevin-2	Synapsin-1	P63045	P09951	59	179	1,76E-02	1,4	3	DQKLSLDDR	SLKPDFVLIR
Synaptobrevin-2	Synapsin-1	P63045	P09951	52	173	2,09E-01	1	2	VNVDKVLK	NGVKVVR
Synaptobrevin-2	Synapsin-1	P63045	P09951	52	134	3,26E-01	1	2	VNVDKVLK	KIHGEIDIK
Rab3A	Synaptobrevin-2	P63012	P63045	173	52	8,64E-02	1,4	4	DNINVKQTFER	VNVDKVLK
Synaptobrevin-2	Rab3A	P63045	P63012	52	62	1,13E-02	1,2,4	7	VNVDKVLK	VKTIYR
Synaptobrevin-2	Rab3A	P63045	P63012	59	62	2,94E-02	2,4	3	DQKLSLDDR	VKTIYR
CSP	Synaptobrevin-2	P60905	P63045	46	59	1,58E-02	1,3,4	6	YHPDKNPDNPEAADK	DQKLSLDDR
CSP	Synaptobrevin-2	P60905	P63045	46	52	7,85E-02	1,3,4	6	YHPDKNPDNPEAADK	VNVDKVLK
Synaptobrevin-2	AP2A1	P63045	D3ZUY8	52	962	3,07E-03	1,2	3	VNVDKVLK	TSKEPVS
Synaptobrevin-2	AP2M1	P63045	P84092	52	59	1,67E-01	1	1	VNVDKVLK	TSFFHVKR
AP2A1	Synaptobrevin-2	D3ZUY8	P63045	117	52	1,14E-02	2,3	6	LINNAIKNDLASR	VNVDKVLK
AP2A1	Synaptobrevin-2	D3ZUY8	P63045	117	59	8,31E-02	2,3	4	LINNAIKNDLASR	DQKLSLDDR
AP2S1	Synaptobrevin-2	P62744	P63045	45	52	1,20E-01	1,3	3	DAKHTNFVEFR	VNVDKVLK
Synaptobrevin-2	Arl8b	P63045	Q66HA6	59	103	6,07E-03	2	4	DQKLSLDDR	EKIEASR
Synaptobrevin-2	Arl8b	P63045	Q66HA6	52	103	8,36E-03	2	4	VNVDKVLK	EKIEASR
Synaptobrevin-2	G3P	P63045	P04797	52	2	2,60E-01	3	1	VNVDKVLK	VKVGNGFGR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Wert	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
Synaptobrevin-2	PFKAP	P63045	P47860	52	737	9,29E-02	3	1	VNVDKVLER	KATDFEHR
RAC1	Synaptobrevin-2	Q6RUV5	P63045	166	59	1,01E-02	3	1	GLKTVFDEAIR	DQKLSLDDR
RAC1	Synaptobrevin-2	Q6RUV5	P63045	166	52	9,67E-02	3	1	GLKTVFDEAIR	VNVDKVLER
RS27A	Synaptobrevin-2	P62982	P63045	48	59	1,20E-02	2	1	LIFAGKQLEDGR	DQKLSLDDR
RS27A	Synaptobrevin-2	P62982	P63045	48	52	1,75E-02	2	2	LIFAGKQLEDGR	VNVDKVLER
Atp1a3	Synaptobrevin-2	P06687	P63045	27	52	8,30E-02	1	1	KEVAMTEHK	VNVDKVLER
Cct7	Synaptobrevin-2	D4AC23	P63045	199	52	2,70E-01	3	1	KVQGGALEESR	VNVDKVLER
G3P	Synaptobrevin-2	P04797	P63045	261	52	3,19E-04	1,3,4	9	VVKQAAEGPLK	VNVDKVLER
G3P	Synaptobrevin-2	P04797	P63045	213	52	1,48E-01	1	1	GAAQNIIPASTGAAKAVGK	VNVDKVLER
G3P	Synaptobrevin-2	P04797	P63045	70	52	4,04E-01	3	1	LVINGKPITIFQER	VNVDKVLER
TPRGL	Synaptobrevin-2	A8WCF8	P63045	55	52	3,63E-01	3	1	VKEYFVFR	VNVDKVLER
Syntaxin-1A	Synaptotagmin-17	P32851	A0A0G2K9H6	46	244	6,76E-02	1	1	GFIDKIAENVVEVKR	QTGVKQR
Synaptogyrin-1	SV2A	Q62876	Q02563	136	485	5,06E-01	2	1	PKDNPLNEGTDAAAR	TKVFPGER
Synaptogyrin-1	Synaptophysin	Q62876	P07825	136	186	1,23E-01	1,2	4	PKDNPLNEGTDAAAR	QTGNTCKELR
Synaptophysin	Synaptogyrin-1	P07825	Q62876	83	136	2,69E-06	3,4	6	LHQVYFDAPSCVKGTTK	PKDNPLNEGTDAAAR
Synaptophysin	SV2A	P07825	Q02563	83	485	6,29E-10	2,3,4	14	LHQVYFDAPSCVKGTTK	TKVFPGER
Synaptophysin	SV2A	P07825	Q02563	83	385	1,91E-04	1,3,4	9	LHQVYFDAPSCVKGTTK	AKGHPER
Synaptophysin	SV2A	P07825	Q02563	83	515	9,26E-10	2,3	3	LHQVYFDAPSCVKGTTK	GGQYFNDKFIGLR
Synaptophysin	SV2A	P07825	Q02563	17	385	9,86E-04	3,4	3	VVKEPLGFVK	AKGHPER
Synaptophysin	SV2A	P07825	Q02563	186	485	2,18E-02	2,3	6	QTGNTCKELR	TKVFPGER
Synaptophysin	SV2A	P07825	Q02563	83	143	1,61E-08	3	1	LHQVYFDAPSCVKGTTK	KDREELAQYETILR
Synaptophysin	SV2A	P07825	Q02563	173	485	9,28E-02	2	1	MATDPENIEMPMCR	TKVFPGER
Synaptophysin	SV2A	P07825	Q02563	17	485	1,09E-01	3	1	VVKEPLGFVK	TKVFPGER
Synaptophysin	SV2A	P07825	Q02563	163	385	4,79E-01	1	1	GLSDVKMATDPENIIR	AKGHPER
Synaptophysin	SV2B	P07825	Q63564	83	341	5,38E-02	1,3,4	5	LHQVYFDAPSCVKGTTK	VFTVSHIKTPK
Synaptophysin	SV2B	P07825	Q63564	83	333	3,14E-07	3,4	4	LHQVYFDAPSCVKGTTK	GTPEKVFTVSHIK
Synaptophysin	Synaptoporin	P07825	P22831	83	64	6,51E-09	1,2,3,4	16	LHQVYFDAPSCVKGTTK	LHQVTFEPTCEGKER

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Wert	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
Synaptophysin	Synaptoporin	P07825	P22831	83	143	5,68E-02	3	1	LHQVYFDAPSCVKGGTTK	GLSDVKVATDPK
VGlu1	SV2A	Q62634	Q02563	272	385	1,64E-02	3	1	KYIEDAIGESAK	AKGHPER
SV2A	Synapsin-1	Q02563	P09951	515	591	6,83E-01	1	1	GGQYFNDKFIGLR	QGPPQKPPGPAGPIR
Synapsin-1	SV2A	P09951	Q02563	179	385	1,93E-02	4	2	SLKPDFVLIR	AKGHPER
Synapsin-1	SV2A	P09951	Q02563	311	385	3,06E-01	1	1	TYATAEPFIDAKYDVR	AKGHPER
Synapsin-1	SV2A	P09951	Q02563	134	385	5,44E-01	1	1	KIHGEIDIK	AKGHPER
Synaptophysin	Synapsin-1	P07825	P09951	83	591	1,57E-02	1,4	3	LHQVYFDAPSCVKGGTTK	QGPPQKPPGPAGPIR
Synaptophysin	Synapsin-1	P07825	P09951	163	591	4,27E-02	1	1	GLSDVKMATDPENIIK	QGPPQKPPGPAGPIR
Synapsin-1	Synaptophysin	P09951	P07825	574	163	2,75E-03	1	2	QASISGPAPPK ^R VSGASPGGQQ	GLSDVKMATDPENIIK
Synaptophysin	CSP	P07825	P60905	83	46	5,96E-08	3,4	3	LHQVYFDAPSCVKGGTTK	YHPDKNPDNPEAADK
Synaptophysin	V-ATPase-a	P07825	P25286	186	50	1,21E-06	1,3,4	9	QTGNTCKELR	KFVNEVR
Synaptophysin	V-ATPase-a	P07825	P25286	83	50	5,31E-05	1,3,4	8	LHQVYFDAPSCVKGGTTK	KFVNEVR
Synaptophysin	V-ATPase-a	P07825	P25286	186	255	2,12E-01	1,2	3	QTGNTCKELR	KEMASGVNTR
Synaptophysin	V-ATPase-a	P07825	P25286	163	50	8,14E-02	1	3	GLSDVKMATDPENIIK	KFVNEVR
Synaptophysin	V-ATPase-a	P07825	P25286	163	70	1,64E-01	1	2	GLSDVKMATDPENIIK	FVEKEIR
V-ATPase-a	Scamp-1	P25286	P56603	255	97	1,46E-03	2	1	KEMASGVNTR	KAAELDR
Synapsin-1	V-ATPase-a	P09951	P25286	574	255	2,08E-01	1	2	QASISGPAPPK ^R VSGASPGGQQ	KEMASGVNTR
V-ATPase-B2	V-ATPase-E1	P62815	Q6PCU2	48	191	5,67E-31	1,2,3,4	29	LTYKTVSGVNGPLVILDHVK	IKVSNTLESR
V-ATPase-B2	V-ATPase-E1	P62815	Q6PCU2	81	191	1,02E-13	1,2,3,4	23	YAEIVHLTLPDGTKR	IKVSNTLESR
V-ATPase-G2	V-ATPase-E1	Q8R2H0	Q6PCU2	37	52	1,45E-06	1,3	10	QAKKEAQMEVEQYR	LKIMEYYEK
V-ATPase-B2	V-ATPase-E1	P62815	Q6PCU2	109	191	2,14E-04	3,4	4	KTSCEFTGDILR	IKVSNTLESR
V-ATPase-B2	V-ATPase-D	P62815	Q6P503	137	24	1,04E-01	1,3	3	VFNGSGKPIDR	LKGAQTGR
V-ATPase-G2	V-ATPase-E1	Q8R2H0	Q6PCU2	58	62	3,90E-02	1,4	3	EQEFQSKQQAAMGSQGNLSA EVEQATR	EKQIEQQK
V-ATPase-F	V-ATPase-D	P50408	Q6P503	110	49	2,48E-02	2	9	AKGMFTAEDLR	QILKK
V-ATPase-A	V-ATPase-E1	D4A133	Q6PCU2	393	82	2,72E-02	2	2	VKCLGNPER	LKVLR
V-ATPase-A	V-ATPase-D	D4A133	Q6P503	393	24	1,29E-01	3	1	VKCLGNPER	LKGAQTGR
V-ATPase-A	V-ATPase-D	D4A133	Q6P503	467	24	3,66E-01	3	1	ALDEYYDKHFTEFVPLR	LKGAQTGR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Wert	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
V-ATPase-A	V-ATPase-E1	D4A133	Q6PCU2	467	62	6,17E-03	3	1	ALDEYYDKHFTEFVPLR	EKQIEQQK
V-ATPase-B2	V-ATPase-E1	P62815	Q6PCU2	188	62	4,44E-03	3	1	GQKIPIFSAAGLPHNEIAAQICR	EKQIEQQK
V-ATPase-d1	V-ATPase-a1	Q5M7T6	P25286	265	50	1,03E-02	3	1	ADDYEQVKNVADYYPEYK	KFVNEVR
V-ATPase-d1	V-ATPase-a1	Q5M7T6	P25286	288	235	2,14E-02	3	1	LLFEGAGSNPGDKTLEDR	KICEGFR
V-ATPase-d1	V-ATPase-a1	Q5M7T6	P25286	265	235	2,46E-02	3	1	ADDYEQVKNVADYYPEYK	KICEGFR
V-ATPase-d1	V-ATPase-a1	Q5M7T6	P25286	288	50	2,54E-02	3	1	LLFEGAGSNPGDKTLEDR	KFVNEVR
V-ATPase-d1	V-ATPase-a1	Q5M7T6	P25286	77	70	3,91E-02	1	1	EKMVVEFR	FVEKEIR
V-ATPase-E1	V-ATPase-A	Q6PCU2	D4A133	69	165	2,27E-02	1	1	KIQMSNLNMNQR	HKIMLPPR
V-ATPase-G2	V-ATPase-a1	Q8R2H0	P25286	21	70	2,21E-01	3	1	AAEKVADAR	FVEKEIR
V-ATPase-G1	V-ATPase-a1	B2GUV5	P25286	21	50	4,80E-01	3	1	AAEKVSEAR	KFVNEVR
V-ATPase-a1	PRR	P25286	Q6AXS4	70	346	2,07E-01	2	4	FVEKEIR	MTNQKIR
V-ATPase-d1	PRR	Q5M7T6	Q6AXS4	239	346	1,36E-02	2	8	AKLFPHCGR	MTNQKIR
Synaptophysin	LSAMP	P07825	Q62813	83	198	2,42E-02	3	1	LHQVYFDAPSCVKGGTTK	YECKAANEVSSADVK
Synaptophysin	TM163	P07825	A9CMA6	83	76	5,38E-03	3	1	LHQVYFDAPSCVKGGTTK	LKPHEAQNYR
Rab39a	Rab3A	D3ZZP2	P63012	63	62	2,15E-02	4	2	IKLQLWDTAGQER	VKTIYR
AP2A2	AP2B1	Q66HM2	P62944	570	420	8,08E-03	2	4	SDSQLKNADVELQQR	KYPNK
AP2M1	AP2A1	P84092	D3ZUY8	59	26	2,94E-03	1,2	10	TSFFHVKR	SKEAEIK
AP2S1	AP2B1	P62744	P62944	45	12	1,24E-05	2	3	DAKHTNFVEFR	KGEIFELK
ARP2	Actr3b	Q5M7U6	F1LY09	46	245	9,25E-04	2	2	STTKVGNIEIK	LKLSQELSGGR
Arpc4	ARP5L	B2RZ72	A1L108	44	69	8,01E-03	2	10	SSKELLQPVITISR	NSPINTKNQAVK
Psmc6	Psmc3	G3V6W6	Q6P6U2	86	128	3,13E-01	3	1	FIVKATNGPR	CAVIKTSTR
intramolekulare Quervernetzung										
Synaptobrevin-2	Synaptobrevin-2	P63045	P63045	83	59	5,53E-24	1,2,3,4	49	ADALQAGASQFETSAAKLK	DQKLSLDDR
Synaptobrevin-2	Synaptobrevin-2	P63045	P63045	83	52	4,42E-13	1,2,3,4	48	ADALQAGASQFETSAAKLK	VNVDKVLER
Synaptobrevin-2	Synaptobrevin-2	P63045	P63045	59	52	5,66E-11	1,2,3,4	496	DQKLSLDDR	VNVDKVLER
Syntaxin-1A	Syntaxin-1A	P32851	P32851	126	55	3,40E-07	2	15	KFVEVMSEYNATQSDYR	IAENVEEVKR
Syntaxin-1A	Syntaxin-1A	P32851	P61265	46	88	1,04E-02	1,2,3	11	GFIDKIAENVEEVK	TANKVR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Wert	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
Syntaxin-1A	Syntaxin-1A	P32851	P61265	12	117	3,43E-06	2	15	TAKDSDDDDVTVTVDR	KTQHSTLSR
Syntaxin-1B	Syntaxin-1B	P61265	P61265	255	251	1,78E-08	1,2,3,4	24	AVKYQSK	AVSDTKK
Syntaxin-1B	Syntaxin-1B	P61265	P61265	93	116	3,84E-05	1,2,3,4	15	LKAIQESIEQEEGLNR	KTQHSTLSR
Syntaxin-1B	Syntaxin-1B	P61265	P61265	12	116	6,26E-11	1,2,3	27	SAKDSDEEEVHVDR	KTQHSTLSR
Syntaxin-1B	Syntaxin-1B	P61265	P61265	116	87	1,67E-04	1,3	8	KTQHSTLSR	TANKVR
Syntaxin-1B	Syntaxin-1B	P61265	P61265	139	55	6,22E-07	2	6	FVEVMTEYNATQSKYR	KQHSAILAAPNPDEK
Syntaxin-1B	Syntaxin-1B	P61265	P61265	125	116	1,53E-04	1	3	KFVEVMTEYNATQSK	KTQHSTLSR
Syntaxin-6	Syntaxin-6	Q63635	Q63635	77	89	2,62E-06	2	2	KFNLDATELSIR	KAFITSTR
Syntaxin-binding-protein-1	Syntaxin-binding-protein-1	P61765	P61765	321	308	4,80E-07	2	12	MNTGEKTTMR	SLKDFSSSK
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	103	96	2,62E-05	1,2,3,4	17	KAWGNNQDGVVASQPAR	LKSSDAYK
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	103	72	6,66E-03	1,2	6	KAWGNNQDGVVASQPAR	DMKEAEK
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	69	76	7,24E-03	1,2	2	IEEGMDQINKDMK	EAEKNLTDLGK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	200	196	2,86E-10	1,2,3,4	38	KTLNPFVNEQFTFK	FETKVHR
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	267	189	1,77E-05	1,2,3,4	19	DLQSAEKKEEQEK	VFLLPDKK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	267	236	1,92E-05	1,2,3,4	25	DLQSAEKKEEQEK	FSKHDIIGFEK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	267	192	1,50E-04	1,2,3,4	28	DLQSAEKKEEQEK	KFETK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	133	141	1,63E-03	1,2,3,4	32	DQALKDDDAETGLTDGEEKEE PK	EEEKLGK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	236	189	2,76E-09	1,3,4	24	FSKHDIIGFEK	VFLLPDKK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	189	192	2,19E-08	1,3,4	38	VFLLPDKK	KFETK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	236	192	2,75E-08	1,3,4	39	FSKHDIIGFEK	KFETK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	114	107	5,51E-05	1,2,4	28	TMKDQALK	DVKDLGK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	200	192	1,87E-04	1,3,4	10	KTLNPFVNEQFTFK	KFETK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	375	107	2,84E-03	1,3,4	12	NDAIGKVFVGYNSTGAELR	DVKDLGK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	189	196	5,42E-03	1,3,4	18	VFLLPDKK	FETKVHR
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	244	192	4,44E-12	1,4	7	HDIIGFEKVPMMNTVDFGHVTEE WR	KFETK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	98	107	7,84E-05	1,4	11	GGKNAINMK	DVKDLGK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	267	107	5,03E-04	1,4	5	DLQSAEKKEEQEK	DVKDLGK

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Wert	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	267	297	9,73E-04	1,3	3	DLQSAEKKEEQEK	LTVVILEAKNLK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	190	192	2,32E-03	1,4	3	VFLLPDKKK	KFETK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	236	107	9,27E-03	3,4	5	FSKHDIIGEFK	DVKDLGK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	267	137	9,44E-03	1,4	9	DLQSAEKKEEQEK	EEPKEEEK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	313	369	5,96E-06	1	4	MDVGGLSDPYVKIHLMQNGK	IGKNDIAIGK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	375	192	4,48E-04	1	1	NDAIGKVFVGYNSTGAELR	KFETK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	190	196	4,19E-02	1	1	VFLLPDKKK	FETKVHR
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	297	192	4,34E-02	1	1	LTVVILEAKNLK	KFETK
Synaptotagmin-2	Synaptotagmin-2	P29101	P29101	268	193	1,63E-03	1,4	6	DLQGGKEKEPEK	KYETK
Synaptotagmin-2	Synaptotagmin-2	P29101	P29101	190	193	1,03E-05	1,3,4	11	VFLLPDKK	KYETK
SV2A	SV2A	Q02563	Q02563	515	485	3,01E-08	1,2,3,4	33	GGQYFNDKFIGLR	TKVFPGER
SV2A	SV2A	Q02563	Q02563	485	385	5,51E-06	1,3,4	11	TKVFPGER	AKGHPER
SV2A	SV2A	Q02563	Q02563	143	109	4,52E-04	1,2,4	34	KDREELAQQYETILR	AESGGKGER
SV2A	SV2A	Q02563	Q02563	143	385	9,60E-04	1,3,4	14	KDREELAQQYETILR	AKGHPER
SV2A	SV2A	Q02563	Q02563	375	385	7,71E-09	1,4	14	HDEAWMVLKQVHDTNMR	AKGHPER
SV2A	SV2A	Q02563	Q02563	385	16	6,48E-06	1,4	11	AKGHPER	GAKDIAK
SV2A	SV2A	Q02563	Q02563	143	515	1,29E-12	3	1	KDREELAQQYETILR	GGQYFNDKFIGLR
SV2A	SV2A	Q02563	Q02563	398	485	4,15E-05	3	1	VFSVTHIKTIHQEDELIEIQSDTG TWYQR	TKVFPGER
SV2A	SV2A	Q02563	Q02563	109	385	1,30E-04	1	10	AESGGKGER	AKGHPER
SV2A	SV2A	Q02563	Q02563	32	16	5,41E-03	1	3	VVKGLDR	GAKDIAK
SV2A	SV2A	Q02563	Q02563	143	16	2,11E-02	1	1	KDREELAQQYETILR	GAKDIAK
SV2B	SV2B	Q63564	Q63564	341	328	2,22E-04	1,3,4	21	VFTVSHIKTPK	AKGTPEK
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	83	163	2,05E-20	1,2,3,4	12	LHQVYFDAPSCVKGTTK	GLSDVKMATDPENIIK
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	83	186	5,54E-09	1,2,3,4	38	LHQVYFDAPSCVKGTTK	QTGNTCKELR
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	163	186	2,63E-05	1,2,3,4	34	GLSDVKMATDPENIIK	QTGNTCKELR
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	83	17	3,17E-23	1,3,4	22	LHQVYFDAPSCVKGTTK	VVKEPLGFVK
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	186	17	1,91E-03	1,3,4	13	QTGNTCKELR	VVKEPLGFVK

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Wert	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	173	186	2,30E-03	1,2,4	32	MATDPENIIKEMPMCR	QTGNTCKELR
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	163	17	1,21E-09	1,4	4	GLSDVKMATDPENIIK	VVKEPLGFVK
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	83	173	2,00E-04	1,2	5	LHQVYFDAPSCVKGTTK	MATDPENIIKEMPMCR
VGlu2	VGlu2	Q9JI12	Q9JI12	22	34	8,96E-09	1,2,3,4	20	NFAGKSLGQIYR	KQDNR
VGlu2	VGlu2	Q9JI12	Q9JI12	13	34	7,84E-07	1,4	7	ILAPGKEGIK	KQDNR
VGlu2	VGlu2	Q9JI12	Q9JI12	17	34	1,32E-06	1,4	3	EGIKNFAGK	KQDNR
Scamp-1	Scamp-1	P56603	P56603	89	97	1,59E-06	1,2,3,4	22	EHALAQAEELLKR	KAAELDR
Scamp-3	Scamp-3	E9PTW1	E9PTW1	105	112	1,17E-14	1,2,3,4	84	KQEELNR	KAAELDR
Scamp-3	Scamp-3	E9PTW1	E9PTW1	105	77	5,54E-06	1,4	9	KQEELNR	KLSPAEPK
Scamp-3	Scamp-3	E9PTW1	E9PTW1	104	112	2,35E-03	1,4	3	NYGSYSTQATAAAATAELLKK	KAAELDR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	179	173	3,36E-06	1,2,3,4	36	SLKPDFVLIR	NGVKVVR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	134	131	8,57E-05	1,2,3,4	43	KIHGEIDIK	YFKGK
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	574	591	8,19E-07	1,2,4	74	QASISGPAPPKVS ^R GASPGGQQ	QGPPQKPPGPAGPIR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	134	173	2,69E-05	1,3,4	20	KIHGEIDIK	NGVKVVR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	128	173	1,97E-10	1,4	9	VLLVIDEPHTDWAKYFK	NGVKVVR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	179	134	4,91E-09	1,4	10	SLKPDFVLIR	KIHGEIDIK
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	311	318	7,99E-05	1,4	21	TYATAEPFIDAKYDVR	VQKIGQNYK
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	632	574	1,28E-04	1,4	2	PTKPKLAQKPSQDVPPPIIAA GGPPHPQLNK	QASISGPAPPKVS ^R GASPGGQQ
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	179	131	5,14E-04	1,4	13	SLKPDFVLIR	YFKGK
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	179	318	6,11E-04	1,4	5	SLKPDFVLIR	VQKIGQNYK
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	318	173	7,65E-04	1,4	7	VQKIGQNYK	NGVKVVR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	574	173	3,84E-03	1,2	3	QASISGPAPPKVS ^R GASPGGQQ	NGVKVVR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	574	179	4,34E-03	1,2	4	QASISGPAPPKVS ^R GASPGGQQ	SLKPDFVLIR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	238	173	6,88E-07	1	2	KLGT ^R EEFLIDQTFYPNHK	NGVKVVR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	238	318	1,14E-05	1	2	KLGT ^R EEFLIDQTFYPNHK	VQKIGQNYK
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	281	318	4,15E-05	1	2	VKVDNQHDFQDIASVVALTK	VQKIGQNYK
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	318	134	1,19E-04	1	4	VQKIGQNYK	KIHGEIDIK

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Wert	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	311	279	1,79E-03	1	1	TYATAEPFIDAKYDVR	MGHAHSGMGKVK
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	311	324	4,00E-02	1	1	TYATAEPFIDAKYDVR	IGQNYKAYMR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	574	131	4,02E-02	1	1	QASISGPAPPK ^R VSGASPGGQQ	YFKGK
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	336	173	1,18E-01	1	2	TSVSGNWK ^{SDR} TNTGSAMLEQIAM	NGVKVVR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	336	131	2,60E-01	1	2	TSVSGNWK ^{SDR} TNTGSAMLEQIAM	YFKGK
CSP	CSP	P60905	P60905	58	46	2,41E-25	1,3,4	9	FKEINNAHAILTDATK	YHPDKNPDNPEAADK
CSP	CSP	P60905	P60905	56	41	1,39E-09	1,3,4	30	NPDNPEAADKFK	LALKYHPDK
CSP	CSP	P60905	P60905	46	32	5,98E-03	1,3,4	24	YHPDKNPDNPEAADK	NATSDDIKK
CSP	CSP	P60905	P60905	58	32	7,18E-02	1,3	3	FKEINNAHAILTDATK	NATSDDIKK
CSP	CSP	P60905	P60905	41	58	8,96E-05	3	1	LALKYHPDKNPDNPEAADK	FKEINNAHAILTDATK
Rab1A	Rab1A	Q6NYB7	Q6NYB7	125	132	4,88E-05	1,2,4	13	LLVGNKCDLTTK	KVVDYTTAK
Rab1B	Rab1B	P10536	P10536	122	129	1,75E-05	1,3,4	16	LLVGNKSDLTTK	KVVDNTTAK
Rab35	Rab35	Q5U316	Q5U316	121	128	1,90E-06	1,2,3	11	ILVGNKNDPPER	KVVETEDAYK
Rab3A	Rab3A	P63012	P63012	173	62	1,03E-04	1,2,4	18	DNINVKQTFER	VKTIYR
Rab3A	Rab3A	P63012	P63012	12	62	2,18E-04	1,2,4	8	YGQKESDQNFDMFK	VKTIYR
Rab3A	Rab3A	P63012	P63012	72	62	3,06E-03	1,2	2	IKLQIWDTAGQER	VKTIYR
Rab3A	Rab3A	P63012	P63012	72	173	7,35E-05	4	2	IKLQIWDTAGQER	DNINVKQTFER
Rab14	Rab14	P61107	P63012	193	61	1,70E-08	1,3,4	11	IYQNIQDGS ^{PSAPQGGR} LDLNAAESGVQHK	IKLQIWDTAGQER
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133	D4A133	596	587	1,13E-07	1,2,3,4	25	DGEAKIK	FKDPVK
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133	D4A133	139	165	2,82E-04	1,2,4	49	WEFIPSKNLR	HKIMLPPR
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133	D4A133	220	393	6,09E-24	3,4	5	QVRPVTEKLPANHPLLTGQR	VKCLGNPER
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133	D4A133	220	467	1,21E-28	3	1	QVRPVTEKLPANHPLLTGQR	ALDEYYDKHFTEFVPLR
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133	D4A133	498	516	1,78E-28	3	1	EILQEEEDLAEIVQLVGKASLAE ^{TDK}	LIKDDFLQQNGYTPYDR
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133	D4A133	467	393	2,30E-17	2,3	7	ALDEYYDKHFTEFVPLR	VKCLGNPER
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133	D4A133	498	513	2,01E-20	3	1	EILQEEEDLAEIVQLVGKASLAE ^{TDK}	ITLEVAKLIK
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	74	70	2,07E-17	1,2,3,4	194	KANIPIMDTGENPEVPFPR	FVEKEIR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Wert	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	109	70	1,36E-16	1,2,3,4	81	IENELKEINTNQEALKR	FVEKEIR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	255	70	3,46E-06	1,2,3,4	16	KEMASGVNTR	FVEKEIR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	288	296	1,01E-04	1,2,3,4	35	VLQAAAKNIR	VWFIKVR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	119	70	5,43E-04	1,2,3,4	15	EINTNQEALKR	FVEKEIR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	288	70	3,89E-03	1,2,3,4	20	VLQAAAKNIR	FVEKEIR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	74	109	8,78E-21	1,3,4	8	KANIPIMDTGENPEVPFPR	IENELKEINTNQEALK
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	74	119	3,75E-11	1,2,3	15	KANIPIMDTGENPEVPFPR	EINTNQEALKR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	255	235	1,97E-06	1,3,4	11	KEMASGVNTR	KICEGFR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	119	50	8,52E-06	1,3,4	10	EINTNQEALKR	KFVNEVR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	235	50	3,65E-05	1,3,4	8	KICEGFR	KFVNEVR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	70	50	6,31E-05	1,3,4	9	FVEKEIR	KFVNEVR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	119	255	7,26E-05	1,2,4	11	EINTNQEALKR	KEMASGVNTR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	109	50	6,76E-04	1,3,4	7	IENELKEINTNQEALK	KFVNEVR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	288	50	4,48E-03	1,3,4	8	VLQAAAKNIR	KFVNEVR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	255	50	4,70E-07	1,4	5	KEMASGVNTR	KFVNEVR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	255	288	3,76E-06	1,4	3	KEMASGVNTR	VLQAAAKNIR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	74	255	3,83E-06	1,2	5	KANIPIMDTGENPEVPFPR	KEMASGVNTR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	109	288	2,33E-03	3,4	6	IENELKEINTNQEALK	VLQAAAKNIR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	369	50	4,07E-16	3	1	TNKFTHGFQNIVDAYGIGTYR	KFVNEVR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	109	255	4,09E-03	1	1	IENELKEINTNQEALK	KEMASGVNTR
V-ATPase-B2	V-ATPase-B2	P62815	P62815	81	109	2,83E-25	1,2,3,4	21	YAEIVHLTLPDGTKR	KTSCEFTGDILR
V-ATPase-B2	V-ATPase-B2	P62815	P62815	81	137	5,86E-10	1,2,3,4	33	YAEIVHLTLPDGTKR	VFNGSGKPIDR
V-ATPase-B2	V-ATPase-B2	P62815	P62815	48	109	2,09E-52	2,3,4	21	LTYKTVSGVNGPLVILDHVK	KTSCEFTGDILR
V-ATPase-B2	V-ATPase-B2	P62815	P62815	48	81	2,71E-15	3,4	8	LTYKTVSGVNGPLVILDHVK	YAEIVHLTLPDGTKR
V-ATPase-B2	V-ATPase-B2	P62815	P62815	48	108	5,22E-19	3	1	LTYKTVSGVNGPLVILDHVK	AVVQVFEGTSGIDAKK
V-ATPase-B2	V-ATPase-B2	P62815	P62815	109	137	1,21E-01	3	1	KTSCEFTGDILR	VFNGSGKPIDR
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	156	245	4,15E-07	1,2,3,4	11	KNAGSLLTR	ENKFIVR
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	147	156	7,25E-06	1,2,3,4	17	ASAYNNLKGNLQNLER	KNAGSLLTR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Wert	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	245	232	1,37E-05	1,2,3,4	11	ENKFIVR	KAVDDFR
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	156	171	1,15E-04	1,3,4	5	KNAGSLLTR	SLAEIVKK
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	262	156	4,67E-08	1,2	70	ADKEEMNR	KNAGSLLTR
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	156	232	3,24E-05	3,4	3	KNAGSLLTR	KAVDDFR
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	262	245	8,65E-04	1,4	3	ADKEEMNR	ENKFIVR
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	156	274	8,92E-04	3	1	KNAGSLLTR	KQFGPLVR
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	262	171	1,12E-07	2	68	ADKEEMNR	SLAEIVKK
V-ATPase-D	V-ATPase-D	Q6P503	Q6P503	20	24	1,34E-05	1,2,3,4	89	MAQTIMKAR	LKGAQTGR
V-ATPase-D	V-ATPase-D	Q6P503	Q6P503	36	24	4,28E-05	1,3,4	9	KSDALTLR	LKGAQTGR
V-ATPase-d1	V-ATPase-d1	Q5M7T6	Q5M7T6	288	300	3,50E-21	1,2,3,4	67	LLFEGAGSNPGDKTLEDR	FFEHEVKLNK
V-ATPase-d1	V-ATPase-d1	Q5M7T6	Q5M7T6	265	288	6,50E-21	1,2,3,4	17	ADDYEQVKNVADYYPEYK	LLFEGAGSNPGDKTLEDR
V-ATPase-d1	V-ATPase-d1	Q5M7T6	Q5M7T6	24	300	1,86E-33	3,4	4	GLKAGVLSQADYLNLVQCETLE DLK	FFEHEVKLNK
V-ATPase-d1	V-ATPase-d1	Q5M7T6	Q5M7T6	187	239	8,62E-06	2,3	8	NTLYKAYLESFYK	AKLFPHCGR
V-ATPase-E1	V-ATPase-E1	Q6PCU2	Q6PCU2	99	107	5,30E-11	1,3,4	34	ARDDLITDLLNEAKQR	VVKDTR
V-ATPase-E1	V-ATPase-E1	Q6PCU2	Q6PCU2	69	62	4,43E-06	1,2,4	20	KIQMSNLMNQAR	EKQIEQQK
V-ATPase-E1	V-ATPase-E1	Q6PCU2	Q6PCU2	59	62	2,31E-05	1,4	11	IMEYYEKK	EKQIEQQK
V-ATPase-E1	V-ATPase-E1	Q6PCU2	Q6PCU2	138	107	6,27E-03	3,4	4	KQDFPLVK	VVKDTR
V-ATPase-E1	V-ATPase-E1	Q6PCU2	Q6PCU2	145	156	4,85E-05	1	9	KQDFPLVKAHVQK	AIPMYKIATK
V-ATPase-E1	V-ATPase-E1	Q6PCU2	Q6PCU2	69	60	3,23E-03	1	2	KIQMSNLMNQAR	KEKQIEQQK
V-ATPase-F	V-ATPase-F	P50408	P50408	102	110	1,23E-07	1,2,3,4	35	EHPYDAAKDSILR	AKGMFTAEDLR
V-ATPase-F	V-ATPase-F	P50408	P50408	94	110	4,92E-05	1,4	3	SIPAVLEIPSKHEHPYDAAK	AKGMFTAEDLR
AP2A1	AP2A1	D3ZUY8	D3ZUY8	35	31	6,41E-05	1,2,3,4	61	INKELANIR	EAEIKR
AP2A1	AP2A1	D3ZUY8	D3ZUY8	35	48	2,84E-05	1,3	4	INKELANIR	GDKALDGYSK
AP2A1	AP2A1	D3ZUY8	D3ZUY8	299	296	8,44E-05	1	7	KVQHSNAK	AQEPPKSK
AP2A1	AP2A1	D3ZUY8	D3ZUY8	177	217	2,17E-02	1	2	LYKASPDLPVPMGEWTAR	KNPDDFK
AP2A1	AP2A1	D3ZUY8	D3ZUY8	856	962	1,28E-01	1	1	YGGTAQSLTLKLPVTINK	TSKEPVSR
AP2A2	AP2A2	Q66HM2	Q66HM2	858	924	2,32E-02	1	1	AKHPMDTEITK	TSKDTVSQR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Wert	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
AP2B1	AP2B1	P62944	P62944	117	139	3,12E-03	3,4	3	VDKITEYLCEPLR	KTAAVCVAK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	405	256	2,31E-07	1,2,3,4	19	YLVFEPK	LSKFDSEK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	410	167	8,42E-07	1,2,3,4	63	VFEPKLNYSDDHVIK	EGIKYR
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	256	224	1,80E-06	1,2,3,4	25	LSKFDSEK	IVIEKQK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	227	256	1,28E-04	1,2,3,4	14	QGKGTADSEK	LSKFDSEK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	281	256	1,08E-03	1,2,3,4	15	TTKDIILPFR	LSKFDSEK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	235	256	4,78E-06	1,3,4	10	GTADEKSKGK	LSKFDSEK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	235	224	6,95E-06	1,3,4	8	GTADEKSKGK	IVIEKQK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	238	227	2,27E-05	1,3,4	11	SGKQSIADDCTFHQCVK	QGKGTADSEK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	420	405	4,03E-05	1,3,4	10	LNYSDDHVIKWVK	YLVFEPK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	281	224	2,21E-04	1,2,3	10	TTKDIILPFR	IVIEKQK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	281	227	1,23E-03	1,3,4	6	TTKDIILPFR	QGKGTADSEK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	238	281	3,72E-30	3,4	4	SGKQSIADDCTFHQCVK	TTKDIILPFR
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	59	256	1,40E-07	2,3	21	TSFFHVKK	LSKFDSEK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	238	405	1,69E-07	3,4	5	SGKQSIADDCTFHQCVK	YLVFEPK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	235	405	7,85E-05	1,3	5	GTADEKSKGK	YLVFEPK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	238	256	8,47E-04	3,4	5	SGKQSIADDCTFHQCVK	LSKFDSEK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	312	281	1,00E-03	3,4	3	SNFKPSLLAQK	TTKDIILPFR
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	219	227	2,74E-03	1,4	3	FGMNDKIVIEK	QGKGTADSEK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	219	312	4,29E-02	1,2	2	FGMNDKIVIEK	SNFKPSLLAQK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	281	59	1,96E-07	2	19	TTKDIILPFR	TSFFHVKK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	219	256	1,65E-05	1	3	FGMNDKIVIEK	LSKFDSEK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	312	227	4,70E-04	1	1	SNFKPSLLAQK	QGKGTADSEK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	213	405	2,30E-03	1	3	SYLSGMPECKFGMNDK	YLVFEPK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	281	405	3,32E-03	3	1	TTKDIILPFR	YLVFEPK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	400	312	6,68E-03	4	1	WARPPISMNFVPPFAPSGLKV R	SNFKPSLLAQK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	410	256	7,15E-03	3	1	VFEPKLNYSDDHVIK	LSKFDSEK

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Wert	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
AP2S1	AP2S1	P62744	P62744	45	56	6,25E-05	1,2,3,4	16	DAKHTNFVEFR	NFKIIYR
AP2S1	AP2S1	P62744	P62744	30	56	2,23E-06	1	2	QKLIEEVHAVVTVR	NFKIIYR
Arcp4	Arcp4	B2RZ72	B2RZ72	77	58	2,08E-04	2	12	VSIYVKAQDEIEK	NEKEK
Atp1a3	Atp1a3	P06687	P06687	595	344	2,54E-05	2,3	13	AAVPAVGVKCR	KNCLVK
Atp1b1	Atp1b1	P07340	P07340	14	7	3,11E-07	1,3,4	6	KFIWNSEK	AKEEGSWK
Atp1b1	Atp1b1	P07340	P07340	14	22	4,61E-06	3,4	5	KFIWNSEK	KEFLGR
Atp8a1	Atp8a1	F1LUT4	F1LUT4	319	393	5,00E-28	3	1	DGEKIIYQAASPDEGALVR	LYCKGADTVIYER
Bcap31	Bcap31	Q6AY58	Q6AY58	191	184	7,51E-03	3	1	LKDELASTK	ILKTDLK
Cct6a	Cct6a	Q3MHS9	Q3MHS9	265	273	9,53E-13	3,4	5	KFIEDR	KIVELK
Cct7	Cct7	D4AC23	D4AC23	277	250	1,90E-25	3	1	VHTVEDYQAIVDAEWNILYDKL EK	AEKDNAEIR
Cct7	Cct7	D4AC23	D4AC23	199	250	5,32E-03	3	1	KVQGGALEESR	AEKDNAEIR
CD9	CD9	P40241	P40241	129	133	8,21E-05	1,2,3	12	DTYQKLR	NKDEPQR
CN37	CN37	P13233	P13233	203	196	1,36E-07	1,3,4	12	KAGQVFLEELGNHK	KSSETLR
Contactin-1	Contactin-1	Q63198	Q63198	785	758	1,67E-08	1	7	YVHKDETMTPTAFQVKVK	KVTVTNPDTGR
Contactin-1	Contactin-1	Q63198	Q63198	758	787	2,21E-04	1	3	KVTVTNPDTGR	VKAFNNK
Cyfp2	Cyfp2	D3ZX82	D3ZX82	392	377	4,89E-12	3	1	LEAKYAPLHLVPLIER	VYIKGER
DYHC1	DYHC1	P38650	P38650	3469	3223	2,14E-04	1,3,4	5	ADLAAVEAKVNR	IKSQELEVK
Dynamin-1	Dynamin-1	P21575	P21575	257	246	1,05E-07	1,2	6	KFFLSHPSYR	KDITAALAAER
Dynamin-1	Dynamin-1	P21575	P21575	414	421	2,12E-04	1,3	3	TGLFTPDLAFEATVKK	LKEPSIK
Dynamin-1	Dynamin-1	P21575	P21575	562	598	2,28E-06	1	7	KYMLSDNLK	NVYKDYR
Dynamin-1	Dynamin-1	P21575	P21575	223	191	1,07E-05	2	3	DVLENKLLPLR	IAKEVDPQGQR
Dynamin-1	Dynamin-1	P21575	P21575	206	191	1,91E-03	1	1	TIGVITKLDLMDDEGTDAR	IAKEVDPQGQR
Endophilin-B2	Endophilin-B2	Q5PPJ9	Q5PPJ9	173	180	3,63E-05	3,4	8	LDLDACKAR	AKAAEAK
G3P	G3P	P04797	P04797	261	257	6,14E-07	1,2,3,4	52	VVKQAAEGPLK	YDDIKK
G3P	G3P	P04797	P04797	257	249	3,35E-06	1,2,3,4	28	YDDIKK	LEKPAK
G3P	G3P	P04797	P04797	70	59	1,06E-02	1,3,4	6	LVINGKPITIFQER	FNGTVKAENGK
G3P	G3P	P04797	P04797	59	3	4,38E-02	3	1	FNGTVKAENGK	VKVGVNGFGR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Wert	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
G3P	G3P	P04797	P04797	213	249	4,64E-02	1	1	GAAQNIIPASTGAAKAVGK	LEKPAK
GLNA	GLNA	P09606	P09606	372	107	2,73E-08	1,2,3,4	45	TCLLNETGDEPFQYKN	KPAETNLR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	103	107	6,86E-08	1,2,3,4	21	LVFCEVFKYNR	KPAETNLR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	291	107	2,41E-07	1,2,3,4	35	AYDPKGGGLDNAR	KPAETNLR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	291	334	8,61E-06	1,2,3,4	15	AYDPKGGGLDNAR	KGYFEDR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	291	333	1,26E-03	1,2,3,4	32	AYDPKGGGLDNAR	IVGQEKK
GLNA	GLNA	P09606	P09606	107	334	1,16E-08	1,3,4	18	KPAETNLR	KGYFEDR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	372	291	2,61E-04	1,2,3	11	TCLLNETGDEPFQYKN	AYDPKGGGLDNAR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	372	334	3,18E-04	1,3,4	9	TCLLNETGDEPFQYKN	KGYFEDR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	372	118	3,32E-05	2	20	TCLLNETGDEPFQYKN	HSCKR
Glud1	Glud1	P10860	P10860	415	390	1,78E-03	2	4	IIAEGANGPTTPEADKIFLER	QLTKSNAPR
GNAO	GNAO	P59215	P59215	24	17	7,72E-05	1,2,3,4	15	NLKEDGISAAK	SKAIEK
GPM6A	GPM6A	Q812E9	Q812E9	257	250	1,56E-09	1,2,3,4	53	SKEEQELHDIHSTR	MQKYEDIK
HSP7C	HSP7C	P63018	P63018	531	535	7,15E-05	2,4	3	AEDEKQR	DKVSSK
Hacd3	Hacd3	D4ABI7	D4ABI7	113	130	5,29E-06	1,2,3,4	22	AKEEER	LNKLR
ITPR1	ITPR1	P29994-5	P29994-5	77	70	1,34E-03	1,3	3	AAKPGANSTTDAVLLNK	YSAQKQFWK
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	344	347	3,07E-03	1,2,3,4	18	ESSESTNTTIEDTKVR	KQEIIK
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	56	47	1,64E-03	1,3,4	9	DHQKLER	IINTKK
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	68	56	5,87E-03	1,3	5	LLKHPNIVR	DHQKLER
KCRU	KCRU	P25809	P25809	332	403	6,22E-04	1,3,4	7	AGVHVKLPLLSK	LEKGQDIR
KCRU	KCRU	P25809	P25809	332	276	6,83E-02	1	1	AGVHVKLPLLSK	VISMEKGGNMK
KPCB	KPCB	P68403-2	P68403-2	309	304	1,00E-02	1,2	5	AKIGQGTK	QKFER
KPCB	KPCB	P68403-2	P68403-2	320	309	9,87E-04	1	3	APEEKTANTISK	AKIGQGTK
MBP	MBP	P02688	P02688	166	159	3,35E-03	1,3,4	14	GFKGAYDAQGTLISK	ASDYKSAHK
Myosin-Va	Myosin-Va	A0A0G2K4Y7	A0A0G2K4Y7	994	997	4,67E-07	2,3,4	13	VLSLQEEIAKLR	KDLEQTR
Myosin-Va	Myosin-Va	A0A0G2K4Y7	A0A0G2K4Y7	1207	1216	2,55E-01	3	1	GAELEYESLKR	QELESENKK
Neurotrimin	Neurotrimin	G3V964	G3V964	210	242	2,43E-05	1,3,4	8	GTGVPVGQKGLQCEASAVPS AEFQWFK	GVKVENR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Wert	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
NSF	NSF	Q9QUL6	Q9QUL6	198	202	1,84E-07	1,2,3,4	24	AENSSLNLIGKAK	TKENR
NSF	NSF	Q9QUL6	Q9QUL6	293	304	5,08E-07	1,3,4	5	VVNGPEILNKYVGESEANIR	KLFADAEIEEQR
NSF	NSF	Q9QUL6	Q9QUL6	283	275	3,32E-03	1,4	5	EPKVVNGPEILNK	QIGKMLNAR
NSF	NSF	Q9QUL6	Q9QUL6	469	458	1,31E-02	1	2	VEVDMEKAESLQVTR	HIKASTK
PFKAP	PFKAP	P47860	P47860	730	737	2,43E-13	1,2,3,4	29	DLLFKPVAELR	KATDFEHR
Pfkm	Pfkm	Q52KS1	Q52KS1	372	365	1,84E-04	1,2,4	5	FDEAIKLR	AMDEKR
PGRC1	PGRC1	P70580	P70580	105	102	4,84E-03	2,3	3	KFYGPEGYPYGVFAGR	VFDVTKGR
PTN9	PTN9	Q641Z2	Q641Z2	81	74	4,99E-04	1,3,4	7	LKPHEEPLR	KEGIVK
RAC1	RAC1	Q6RUV5	Q6RUV5	116	96	7,98E-02	3	1	HHCNPNTPIILVGTKLDLR	AKWYPEVR
RALA	RALA	P63322	P63322	159	134	1,92E-02	2,3,4	15	ADQWNVNYYVETSAKTR	SDLEDKR
Rasal1	Rasal1	D3ZHY9	D3ZHY9	576	574	6,22E-07	1,2,3,4	25	KEEPASLATR	EGFLLKR
Rasal1	Rasal1	D3ZHY9	D3ZHY9	604	576	7,94E-06	2	7	DLSYSKTPPEWQVHSSIPLSCIR	KEEPASLATR
REEP5	REEP5	B2RZ37	B2RZ37	157	164	1,53E-03	3	1	HESQVDSVVKDVK	AKETADAISK
Reticulon-3	Reticulon-3	Q6RJR6	Q6RJR6	906	921	1,50E-04	3	1	YKTQIDHYVGIAR	DQTKSIVEK
Reticulon-3	Reticulon-3	Q6RJR6	Q6RJR6	921	930	9,27E-04	3	1	DQTKSIVEK	IQAKLPGIAK
RS27A	RS27A	P62982	P62982	33	48	2,30E-04	2	2	IQDKKEGIPPDQQR	LIFAGKQLEDGR
S6A17	S6A17	P31662	P31662	679	662	5,54E-11	2	25	FILSKVPSEAPSPMPTHR	MMKDISNLEENDETR
Sbf1	Sbf1	M0RAP5	M0RAP5	1146	1203	3,60E-07	2	1	AKSEPFR	SKAVLLR
Synaptojanin-1	Synaptojanin-1	Q62910	Q62910	1159	1166	9,73E-06	2	8	EMEAPKSPGTAR	KDNIGR
Synaptojanin-1	Synaptojanin-1	Q62910	Q62910	659	710	1,67E-03	2	3	DVAVDTVKTGMGGATGNK	KLSFPMGR
Synaptojanin-1	Synaptojanin-1	Q62910	Q62910	1137	1166	4,93E-03	2	5	KEFGVGAPPSPGVTR	KDNIGR
Synaptojanin-1	Synaptojanin-1	Q62910	Q62910	1137	1159	5,73E-03	2	6	KEFGVGAPPSPGVTR	EMEAPKSPGTAR
TCPD	TCPD	Q7TPB1	Q7TPB1	21	29	2,86E-06	1,2,4	21	GKGAYQDR	DKPAQIR
TCPD	TCPD	Q7TPB1	Q7TPB1	42	29	1,24E-04	2,4	4	FSNISAAKAVADAIR	DKPAQIR
TCPD	TCPD	Q7TPB1	Q7TPB1	21	2	1,54E-06	2	5	GKGAYQDR	PENVASR
Tppp	Tppp	D3ZQL7	D3ZQL7	155	176	1,23E-01	1	5	APVISGVTKAVSSPTVSR	FTGSHKER
Trappc10	Trappc10	F1MAQ4	F1MAQ4	157	149	1,88E-06	2	5	NDFCNKQSDR	TSIVDKIR
VAPA	VAPA	Q9Z270	Q9Z270	125	52	6,87E-02	1	5	EAKPDELMDSKLR	VKTTAPR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Wert	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
VAPB	VAPB	Q9Z269	Q9Z269	118	45	1,28E-01	1	3	EAKPEDLMDSKLR	VKTTAPR
AAK1	AAK1	P0C1X8	P0C1X8	178	169	1,75E-16	1,3	4	DLKVENILLHDR	LHQCKTPIIHR
ACLY	ACLY	P16638	P16638	1076	1079	5,56E-03	1,2,4	5	SMGFIGHYLDQKR	LKQGLYR
ACLY	ACLY	P16638	P16638	779	731	7,24E-04	2	4	NQALKEAGVFVPR	GIKEGR
Actin	Actin	P63259	P63259	315	328	2,97E-03	1	2	MQKEITALAPSTMK	IKIIAPPER
Actin	Actin	P63259	P63259	291	328	1,15E-02	1	1	KDLYANTVLSGGTTMYPGIADR	IKIIAPPER
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	208	13	3,47E-34	1,3,4	23	CQYVTEKVLAAVYK	PHPYPALTPEQKK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	312	318	9,80E-05	1,3,4	12	ALQASALKAWGGK	KENLK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	147	108	4,32E-04	1,3,4	6	DGADFAKWR	GGVVGIKVDK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	99	147	1,65E-02	1,3,4	5	ADDGRPPFQVIKSK	DGADFAKWR
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	28	147	4,78E-04	3,4	4	IVAPGKGILAADESTGSIK	DGADFAKWR
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	28	101	2,71E-03	3,4	3	IVAPGKGILAADESTGSIK	SKGGVVGIK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	111	28	2,70E-25	3	1	VDKGVVPLAGTNGETTTQGLD GLSER	IVAPGKGILAADESTGSIK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	42	312	4,30E-09	2	14	GILAADESTGSIK	ALQASALKAWGGK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	99	140	7,23E-08	2	59	ADDGRPPFQVIKSK	KDGADFAK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	28	322	9,43E-05	3	1	IVAPGKGILAADESTGSIK	ENLKAAQEEYIK
Annexin	Annexin	Q6IMZ3	Q6IMZ3	224	354	7,16E-04	2	12	TTGKPIEASIR	VELKGTVR
VIAAT	VIAAT	O35458	O35458	296	304	1,01E-04	1,3,4	8	DWAWEKVK	FYIDVKK
VIAAT	VIAAT	O35458	O35458	8	23	2,70E-06	1,4	9	SKLTVNATSVSNK	SQAKVSGMFAR
VTI1A	VTI1A	Q9JI51	Q9JI51	78	89	5,64E-04	1,2	7	SYKQEMGK	LETDFKR
Wdfy1	Wdfy1	A0A0G2K3L8	A0A0G2K3L8	352	316	1,22E-06	2	3	VCDSCYDSIKDEDR	KCGQAVCGK

8.3.3 Abstände der quervernetzten Aminosäuren innerhalb der V-ATPase.

Tabelle A. 3: Ca-Ca-Abstände der identifizierten Quervernetzungen innerhalb des V-ATPase-Komplexes.

Die Proteinennamen (Protein 1/Protein 2), Akzessionsnummer der Datenbank UniProt (UP-Nr. 1/ UP-Nr. 2), die Position der Quervernetzungen in den Proteinen (QPos 1/ QPos 2), der Abstand der Ca-Atome innerhalb der Struktur des V-ATPase-Komplexes [Å] (Ca-Ca Abstand [Å]) und die Art der Quervernetzung („intra“ für intramolekular/„inter“ für intermolekular) sind gelistet.

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Ca-Ca Abstand [Å]	Art
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133;A0A1W2Q6N0	D4A133;A0A1W2Q6N0	139	165	13,5440841	intra
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133;A0A1W2Q6N0	D4A133;A0A1W2Q6N0	220	393	6,372416339	intra
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133;A0A1W2Q6N0	D4A133;A0A1W2Q6N0	220	467	23,38749397	intra
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133;A0A1W2Q6N0	D4A133;A0A1W2Q6N0	467	393	23,11345145	intra
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133;A0A1W2Q6N0	D4A133;A0A1W2Q6N0	498	513	38,25619481	intra
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133;A0A1W2Q6N0	D4A133;A0A1W2Q6N0	498	516	19,36001173	intra
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133;A0A1W2Q6N0	D4A133;A0A1W2Q6N0	596	587	9,19307658	intra
V-ATPase-A	V-ATPase-D	D4A133;A0A1W2Q6N0	Q6P503	393	24	49,98249679	inter
V-ATPase-A	V-ATPase-D	D4A133;A0A1W2Q6N0	Q6P503	467	24	44,16145696	inter
V-ATPase-A	V-ATPase-E1	D4A133;A0A1W2Q6N0	G3V7L8;Q6PCU2;D3ZJ78	165	69	42,15834972	inter
V-ATPase-A	V-ATPase-E1	D4A133;A0A1W2Q6N0	G3V7L8;Q6PCU2;D3ZJ78	393	82	25,3061961	inter
V-ATPase-A	V-ATPase-E1	D4A133;A0A1W2Q6N0	G3V7L8;Q6PCU2;D3ZJ78	467	62	16,62867093	inter
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	70	50	31,50122969	intra
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	74	70	6,215949646	intra
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	74	109	14,25089938	intra
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	74	119	19,12344273	intra
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	74	255	41,73603035	intra
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	109	50	32,62545879	intra
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	109	70	12,01816396	intra
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	109	255	37,4977702	intra
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	109	288	18,72540352	intra

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Ca-Ca Abstand [Å]	Art
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	119	50	47,58332744	intra
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	119	70	21,51559012	intra
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	119	255	23,55794492	intra
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	235	50	62,95398836	intra
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	255	50	69,37386611	intra
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	255	70	44,92668636	intra
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	255	235	27,92244203	intra
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	255	288	49,89269537	intra
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	288	50	32,61466554	intra
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	288	70	14,03676116	intra
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	288	296	13,07957346	intra
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	369	50	38,48484816	intra
V-ATPase-a1	V-ATPase-d1	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	Q5M7T6	50	265	71,37521836	inter
V-ATPase-a1	V-ATPase-d1	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	Q5M7T6	50	288	71,36738054	inter
V-ATPase-a1	V-ATPase-d1	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	Q5M7T6	70	77	65,95983145	inter
V-ATPase-a1	V-ATPase-d1	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	Q5M7T6	235	265	36,61713214	inter
V-ATPase-a1	V-ATPase-d1	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	Q5M7T6	235	288	46,50151444	inter
V-ATPase-B2	V-ATPase-B2	P62815	P62815	48	81	14,41996352	intra
V-ATPase-B2	V-ATPase-B2	P62815	P62815	48	108	6,315904211	intra
V-ATPase-B2	V-ATPase-B2	P62815	P62815	48	109	5,878769004	intra
V-ATPase-B2	V-ATPase-B2	P62815	P62815	81	109	13,15820265	intra
V-ATPase-B2	V-ATPase-B2	P62815	P62815	81	137	13,48430955	intra
V-ATPase-B2	V-ATPase-B2	P62815	P62815	109	137	26,42086359	intra
V-ATPase-B2	V-ATPase-D	P62815	Q6P503	137	24	48,3326402	inter

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Ca-Ca Abstand [Å]	Art
V-ATPase-B2	V-ATPase-E1	P62815	G3V7L8;Q6PCU2;D3ZJ78	48	191	8,690941031	inter
V-ATPase-B2	V-ATPase-E1	P62815	G3V7L8;Q6PCU2;D3ZJ78	81	191	17,76500076	inter
V-ATPase-B2	V-ATPase-E1	P62815	G3V7L8;Q6PCU2;D3ZJ78	109	191	12,82237189	inter
V-ATPase-B2	V-ATPase-E1	P62815	G3V7L8;Q6PCU2;D3ZJ78	188	62	35,70983394	inter
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	147	156	14,08831676	intra
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	156	171	18,66935674	intra
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	156	232	31,05612025	intra
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	156	245	24,73096731	intra
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	156	274	22,76908468	intra
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	245	232	21,04809542	intra
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	262	156	11,57490644	intra
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	262	171	13,85240954	intra
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	262	245	31,77910929	intra
V-ATPase-D	V-ATPase-D	Q6P503	Q6P503	20	24	6,174966316	intra
V-ATPase-D	V-ATPase-D	Q6P503	Q6P503	36	24	18,37616902	intra
V-ATPase-D	V-ATPase-F	Q6P503	P50408;B2GUW7	49	110	13,48069765	inter
V-ATPase-d1	V-ATPase-d1	Q5M7T6	Q5M7T6	24	300	14,55807975	intra
V-ATPase-d1	V-ATPase-d1	Q5M7T6	Q5M7T6	187	239	9,067056303	intra
V-ATPase-d1	V-ATPase-d1	Q5M7T6	Q5M7T6	265	288	16,46679328	intra
V-ATPase-d1	V-ATPase-d1	Q5M7T6	Q5M7T6	288	300	17,12885697	intra
V-ATPase-E1	V-ATPase-E1	G3V7L8;Q6PCU2;D3ZJ78	G3V7L8;Q6PCU2;D3ZJ78	59	62	5,135019085	intra
V-ATPase-E1	V-ATPase-E1	G3V7L8;Q6PCU2;D3ZJ78	G3V7L8;Q6PCU2;D3ZJ78	69	60	14,49513912	intra
V-ATPase-E1	V-ATPase-E1	G3V7L8;Q6PCU2;D3ZJ78	G3V7L8;Q6PCU2;D3ZJ78	69	62	10,42259282	intra
V-ATPase-E1	V-ATPase-E1	G3V7L8;Q6PCU2;D3ZJ78	G3V7L8;Q6PCU2;D3ZJ78	99	107	12,60288935	intra
V-ATPase-E1	V-ATPase-E1	G3V7L8;Q6PCU2;D3ZJ78	G3V7L8;Q6PCU2;D3ZJ78	138	107	14,70096442	intra
V-ATPase-E1	V-ATPase-E1	G3V7L8;Q6PCU2;D3ZJ78	G3V7L8;Q6PCU2;D3ZJ78	145	156	16,92347393	intra
V-ATPase-F	V-ATPase-F	P50408;B2GUW7	P50408;B2GUW7	94	110	28,64350073	intra
V-ATPase-F	V-ATPase-F	P50408;B2GUW7	P50408;B2GUW7	102	110	11,79964156	intra

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Ca-Ca Abstand [Å]	Art
V-ATPase-G1	V-ATPase-a1	B2GUV5	Q2I6B2;Q2I6B5;P25286-2;P25286;G3V887	21	50	27,83326431	inter

8.3.4 Modifizierte Aminosäurereste der Proteine synaptischer Vesikel.

Tabelle A. 4: Modifizierte Aminosäurereste der Proteine synaptischer Vesikel.

Proteinname (Protein), Akzessionsnummer der Datenbank UniProt (UP-Nr.), die Position der modifizierten Aminosäure (Pos. Mod.), der modifizierte Aminosäurerest (Mod. AS), die Art der Modifikation nach Barth et al. [144] (Acetylierung/CEt_HKCYTS/Urethan_CEt_H/DEPC_H) und der maximale MaxQuant-Wert für das Peptid (Max. Wert) sind für 5 mM und 10 mM S-NHS-Acetat sowie 5 mM und 10 mM DEPC gelistet. Der MaxQuant-Wert für die Wahrscheinlichkeit der Modifikation der angegebenen Aminosäure im Peptid (Wahrsch.) und der MaxQuant-Wert für das Peptid (Wert) ist ebenfalls gegeben.

Protein	UP-Nr.	Pos. Mod.	Mod. AS	Modifikation	Max. Wert	Wahrsch.	Wert	Wahrsch.	Wert	Wahrsch.	Wert	Wahrsch.	Wert
S-NHS-Acetat						[5 mM]				[10 mM]			
						Replik #1		Replik #2		Replik #1		Replik #2	
Protein	UP-Nr.	Pos. Mod.	Mod. AS	Modifikation	Max. Wert	Wahrsch.	Wert	Wahrsch.	Wert	Wahrsch.	Wert	Wahrsch.	Wert
Synaptophysin	P07825	17	K	Acetylierung	130,33	1,0000	117.6	1,0000	100.1	1,0000	130.33	1,0000	108.74
Synaptophysin	P07825	80	S	Acetylierung	117,7					1,0000	117.7		
Synaptophysin	P07825	83	K	Acetylierung	198,16	1,0000	198.16	1,0000	140.82	1,0000	175.15	1,0000	128.87
Synaptophysin	P07825	132	K	Acetylierung	132,78	1,0000	85.745			1,0000	132.78		
Synaptophysin	P07825	163	K	Acetylierung	230,59	1,0000	195.77	1,0000	203.51	1,0000	230.59	1,0000	193.15
Synaptophysin	P07825	173	K	Acetylierung	284,12					1,0000	284.12		
Synaptophysin	P07825	186	K	Acetylierung	217,64	1,0000	189.38	1,0000	181.55	1,0000	200.54	1,0000	217.64
Synaptoporin	P22831	64	K	Acetylierung	124,25	1,0000	84.289			1,0000	124.25	1,0000	95.236
Synaptoporin	P22831	143	K	Acetylierung	121,36	1,0000	100.69			1,0000	121.36	1,0000	113.69
Synaptoporin	P22831	149	K	Acetylierung	90,731					1,0000	90.731		
Synaptoporin	P22831	159	K	Acetylierung	112,15							1,0000	112.15
SV2A	Q02563	29	K	Acetylierung	134,48							1,0000	134.48
SV2A	Q02563	32	K	Acetylierung	134,48	1,0000	80.098			1,0000	114.78	1,0000	134.48
SV2A	Q02563	143	K	Acetylierung	258,81	1,0000	142.54	1,0000	118.2	1,0000	258.81	1,0000	144.88
SV2A	Q02563	288	K	Acetylierung	129,78	1,0000	89.829					1,0000	129.78
SV2A	Q02563	366	K	Acetylierung	125,28	1,0000	94.461			1,0000	125.28		
SV2A	Q02563	375	K	Acetylierung	201,04	1,0000	84.035			1,0000	201.04	1,0000	123.97
SV2A	Q02563	485	K	Acetylierung	128,61	1,0000	102.51	1,0000	106.93	1,0000	128.61	1,0000	121.09

Protein	UP-Nr.	Pos. Mod.	Mod. AS	Modifikation	Max. Wert	Wahrsch.	Wert	Wahrsch.	Wert	Wahrsch.	Wert	Wahrsch.	Wert
SV2A	Q02563	515	K	Acetylierung	176,33	1,0000	119.22	1,0000	112.04	1,0000	176.33	1,0000	110.39
SV2A	Q02563	522	K	Acetylierung	115,58							1,0000	115.58
SV2A	Q02563	694	K	Acetylierung	94,802	1,0000	94.802						
SV2A	Q02563	732	K	Acetylierung	220,61	1,0000	115.55			1,0000	127.28	1,0000	220.61
Synaptogyrin-1	Q62876	10	K	Acetylierung	206,63	1,0000	126.48			1,0000	206.63	1,0000	84.762
Synaptogyrin-1	Q62876	136	K	Acetylierung	270,85	1,0000	260.57	1,0000	210.15	1,0000	270.85	1,0000	233.32
Synaptobrevin-2	P63045	83	K	Acetylierung	251,63	1,0000	251.63	1,0000	226.23	1,0000	232.5	1,0000	209.79
Synaptobrevin-2	P63045	85	K	Acetylierung	124,77					1,0000	83.063	1,0000	124.77
V-ATPase-a1	P25286	27	S	Acetylierung	298,69	0,9986	298.69	0,9690	98.7	0,9963	221.49	0,9941	146.78
V-ATPase-a1	P25286	34	K	Acetylierung	82,65							1,0000	82.65
V-ATPase-a1	P25286	50	K	Acetylierung	158,12	1,0000	148.33	1,0000	158.12	1,0000	130.77	1,0000	153.73
V-ATPase-a1	P25286	70	K	Acetylierung	129,4	1,0000	128.48	1,0000	119.56	1,0000	129.4	1,0000	128.48
V-ATPase-a1	P25286	74	K	Acetylierung	252,08	1,0000	156.8	1,0000	109.18	1,0000	252.08	1,0000	123.95
V-ATPase-a1	P25286	103	K	Acetylierung	237,48	1,0000	204.13	1,0000	139.78	1,0000	237.48	1,0000	187.11
V-ATPase-a1	P25286	109	K	Acetylierung	275,35	1,0000	205.72	1,0000	84.14	1,0000	275.35	1,0000	179.93
V-ATPase-a1	P25286	119	K	Acetylierung	234,05	1,0000	154.56	1,0000	234.05	1,0000	214.13	1,0000	218.55
V-ATPase-a1	P25286	129	K	Acetylierung	190,86					1,0000	190.86		
V-ATPase-a1	P25286	134	K	Acetylierung	170,18	1,0000	104.09			1,0000	170.18	1,0000	144.23
V-ATPase-a1	P25286	218	S	Acetylierung	135,86					1,0000	135.86		
V-ATPase-a1	P25286	230	K	Acetylierung	158,05	1,0000	135.99			1,0000	158.05		
V-ATPase-a1	P25286	235	K	Acetylierung	185,22	1,0000	168.74	1,0000	143.02	1,0000	178.84	1,0000	185.22
V-ATPase-a1	P25286	255	K	Acetylierung	178,22	1,0000	151.83			1,0000	172.59	1,0000	178.22
V-ATPase-a1	P25286	288	K	Acetylierung	186,13	1,0000	145.63	1,0000	170.66	1,0000	155.75	1,0000	186.13
V-ATPase-a1	P25286	296	K	Acetylierung	133,99	1,0000	133.99	1,0000	118.06	1,0000	133.99	1,0000	112.56
V-ATPase-a1	P25286	299	K	Acetylierung	206,64					1,0000	206.64		
V-ATPase-a1	P25286	301	K	Acetylierung	234,67	1,0000	197.09	1,0000	136.66	1,0000	234.67	1,0000	148.22
V-ATPase-a1	P25286	366	K	Acetylierung	120,2					1,0000	120.2		
V-ATPase-a1	P25286	369	K	Acetylierung	171,98	1,0000	155.53	1,0000	135.91	1,0000	171.98	1,0000	155.53

Protein	UP-Nr.	Pos. Mod.	Mod. AS	Modifikation	Max. Wert	Wahrsch.	Wert	Wahrsch.	Wert	Wahrsch.	Wert	Wahrsch.	Wert
V-ATPase-a1	P25286	537	K	Acetylierung	138,4					1,0000	138.4		
V-ATPase-a1	P25286	666	K	Acetylierung	171,62					1,0000	171.62	1,0000	104.17
V-ATPase-a1	P25286	667	K	Acetylierung	171,62	1,0000	102.4	1,0000	127.87	1,0000	171.62	1,0000	123.67
V-ATPase-a1	P25286	822	K	Acetylierung	155,63					1,0000	155.63	1,0000	80.07
V-ATPase-d1	Q5M7T6	24	K	Acetylierung	188,3	1,0000	128.52			1,0000	188.3	1,0000	158.94
V-ATPase-d1	Q5M7T6	73	K	Acetylierung	182,64					1,0000	182.64	1,0000	139.16
V-ATPase-d1	Q5M7T6	77	K	Acetylierung	182,39	1,0000	109.48	1,0000	136.8	1,0000	182.39	1,0000	167.24
V-ATPase-d1	Q5M7T6	187	K	Acetylierung	178,81	1,0000	145.91			1,0000	178.81	1,0000	119.76
V-ATPase-d1	Q5M7T6	239	K	Acetylierung	112,17	1,0000	112.17			1,0000	86.205	1,0000	82.75
V-ATPase-d1	Q5M7T6	248	Y	Acetylierung	163,99	1,0000	149.65			1,0000	163.99	1,0000	113.71
V-ATPase-d1	Q5M7T6	265	K	Acetylierung	215,87	1,0000	103.21			1,0000	215.87	1,0000	122.45
V-ATPase-d1	Q5M7T6	275	K	Acetylierung	121,5					1,0000	108.55	1,0000	121.5
V-ATPase-d1	Q5M7T6	288	K	Acetylierung	258	1,0000	249.66	1,0000	148.68	1,0000	258	1,0000	178.67
V-ATPase-d1	Q5M7T6	300	K	Acetylierung	182,39	1,0000	182.39			1,0000	163.88	1,0000	159.4
V-ATPase-d1	Q5M7T6	303	K	Acetylierung	87,85							1,0000	87.85
V-ATPase-d1	Q5M7T6	343	K	Acetylierung	125,31	1,0000	125.31			1,0000	125.31	1,0000	110.12
DEPC						[5 mM]				[10 mM]			
						Replik #1		Replik #2		Replik #1		Replik #2	
Protein	UP-Nr.	Pos. Mod.	Mod. AS	Modifikation	Max. Peptidwert	Wahrsch.	Wert	Wahrsch.	Wert	Wahrsch.	Wert	Wahrsch.	Wert
Synaptophysin	P07825	72	H	CEt_HKCYTS	147,72	1,0000	147.72			1,0000	103.34		
Synaptophysin	P07825	72	H	Urethan_CE_H	152,47	1,0000	152.47			1,0000	118.37		
Synaptophysin	P07825	75	Y	CEt_HKCYTS	110,38	1,0000	110.38			0,9957	92.856		
Synaptophysin	P07825	80	S	CEt_HKCYTS	117,4	0,9991	117.4			0,9962	80.738		
Synaptophysin	P07825	83	K	CEt_HKCYTS	126,88	0,9552	126.88	0,9961	109.42	0,9092	106.94	0,9638	83.905
Synaptophysin	P07825	163	K	CEt_HKCYTS	299,91	1,0000	299.91	0,9972	114.56	1,0000	242.41		
Synaptophysin	P07825	173	K	CEt_HKCYTS	299,91	1,0000	299.91	1,0000	114.56	1,0000	242.41		
Synaptophysin	P07825	178	C	CEt_HKCYTS	225,55	1,0000	225.55			1,0000	138.87		
Synaptophysin	P07825	181	T	CEt_HKCYTS	107,15	1,0000	83.948			1,0000	107.15		

Protein	UP-Nr.	Pos. Mod.	Mod. AS	Modifikation	Max. Wert	Wahrsch.	Wert	Wahrsch.	Wert	Wahrsch.	Wert	Wahrsch.	Wert
Synaptophysin	P07825	185	C	CEt_HKCYTS	199,8	1,0000	199.8	0,8916	100.93	1,0000	181.66	0,9150	83.182
Synaptophysin	P07825	186	K	CEt_HKCYTS	229	1,0000	229	1,0000	187.31	1,0000	212.2	1,0000	186.24
Synaptophysin	P07825	237	K	CEt_HKCYTS	92,051	1,0000	92.051			1,0000	88.819		
Synaptoporin	P22831	52	H	CEt_HKCYTS	105,46					0,9982	105.46		
Synaptoporin	P22831	61	C	CEt_HKCYTS	87,498	0,8490	87.498						
Synaptoporin	P22831	64	K	CEt_HKCYTS	115,26	0,9999	112.1	0,9917	100.43	1,0000	115.26	0,9981	98.281
Synaptoporin	P22831	143	K	CEt_HKCYTS	97,456	0,9975	97.456						
SV2A	Q02563	29	K	CEt_HKCYTS	124,67	1,0000	124.67	1,0000	107.06				
SV2A	Q02563	32	K	CEt_HKCYTS	124,67	1,0000	124.67	1,0000	107.06				
SV2A	Q02563	41	Y	CEt_HKCYTS	121,29	0,9669	111.73	0,9950	93.262	0,9925	121.29		
SV2A	Q02563	109	K	CEt_HKCYTS	155	1,0000	155	1,0000	107.06			1,0000	138.76
SV2A	Q02563	127	S	CEt_HKCYTS	94,122	1,0000	81.338			1,0000	94.122		
SV2A	Q02563	143	K	CEt_HKCYTS	274,47	1,0000	274.47	1,0000	124.16	1,0000	204.13	1,0000	144.29
SV2A	Q02563	288	K	CEt_HKCYTS	92,147	1,0000	92.147			1,0000	90.694		
SV2A	Q02563	366	K	CEt_HKCYTS	100,76	1,0000	92.336			1,0000	100.76		
SV2A	Q02563	367	H	Urethan_CEt_H	90,653					1,0000	90.653		
SV2A	Q02563	375	K	CEt_HKCYTS	100,76	0,9995	92.336			1,0000	100.76		
SV2A	Q02563	378	H	Urethan_CEt_H	140,35	1,0000	140.35			1,0000	100.76		
SV2A	Q02563	380	T	CEt_HKCYTS	123,11	1,0000	123.11						
SV2A	Q02563	385	K	CEt_HKCYTS	125,71	1,0000	125.71	1,0000	102.06	1,0000	119.68	1,0000	118.71
SV2A	Q02563	387	H	CEt_HKCYTS	83,753					1,0000	83.753		
SV2A	Q02563	387	H	Urethan_CEt_H	125,71	1,0000	125.71	1,0000	102.06	1,0000	119.68	1,0000	118.71
SV2A	Q02563	396	H	Urethan_CEt_H	144,65	1,0000	144.65	1,0000	102.06				
SV2A	Q02563	398	K	CEt_HKCYTS	115,63	0,9534	96.009			0,9105	115.63		
SV2A	Q02563	401	H	Urethan_CEt_H	115,63					1,0000	115.63		
SV2A	Q02563	426	S	CEt_HKCYTS	102,37	1,0000	102.37						
SV2A	Q02563	438	C	CEt_HKCYTS	250,31	0,9860	246.86			0,8464	250.31	0,8453	93.494
SV2A	Q02563	440	S	CEt_HKCYTS	154,19	0,8242	154.19						

Protein	UP-Nr.	Pos. Mod.	Mod. AS	Modifikation	Max. Wert	Wahrsch.	Wert	Wahrsch.	Wert	Wahrsch.	Wert	Wahrsch.	Wert
SV2A	Q02563	474	H	CEt_HKCYTS	169,77	1,0000	169.77	1,0000	135.71	1,0000	161.79	1,0000	124.23
SV2A	Q02563	474	H	Urethan_CEt_H	151,83	1,0000	133.23			1,0000	151.83		
SV2A	Q02563	480	Y	CEt_HKCYTS	130,66	1,0000	130.66	1,0000	91.867	1,0000	130.66	1,0000	83.948
SV2A	Q02563	485	K	CEt_HKCYTS	151,27	0,9926	147.95	0,8988	151.27	0,8988	151.27	0,8988	151.27
SV2A	Q02563	511	Y	CEt_HKCYTS	145,81	1,0000	128.68	1,0000	131.06	1,0000	145.81	1,0000	113.24
SV2A	Q02563	515	K	CEt_HKCYTS	238,2	1,0000	231.66	1,0000	150.21	1,0000	238.2	1,0000	152.38
SV2A	Q02563	522	K	CEt_HKCYTS	157,55					0,8382	157.55		
SV2A	Q02563	732	K	CEt_HKCYTS	90,884					0,9962	90.884		
Synaptogyrin-1	Q62876	6	Y	CEt_HKCYTS	160,78	1,0000	159.22			1,0000	160.78		
Synaptogyrin-1	Q62876	10	K	CEt_HKCYTS	257,04	1,0000	257.04	1,0000	225.85	1,0000	251.91	1,0000	139.3
Synaptogyrin-1	Q62876	18	Y	CEt_HKCYTS	196,33	0,8811	158.81			0,8614	196.33		
Synaptogyrin-1	Q62876	25	H	Urethan_CEt_H	134,44	1,0000	134.44			1,0000	125.31	1,0000	102.51
Synaptogyrin-1	Q62876	136	K	CEt_HKCYTS	90,653	1,0000	90.653						
Synaptobrevin-2	P63045	35	T	CEt_HKCYTS	122,42			1,0000	122.42				
Synaptobrevin-2	P63045	59	K	CEt_HKCYTS	155,42	0,9999	87.001			0,9999	155.42	1,0000	143.03
Synaptobrevin-2	P63045	83	K	CEt_HKCYTS	230,69	0,9991	180.97	0,9988	102.21	1,0000	230.69		
Synaptobrevin-2	P63045	85	K	CEt_HKCYTS	230,69	0,9999	180.97	0,9999	102.21	1,0000	230.69		
V-ATPase-a1	P25286	50	K	CEt_HKCYTS	168,74	1,0000	168.74	1,0000	148.21	1,0000	135.87	1,0000	158.38
V-ATPase-a1	P25286	58	C	CEt_HKCYTS	157,86	1,0000	155.88			1,0000	157.86		
V-ATPase-a1	P25286	70	K	CEt_HKCYTS	154,49	1,0000	154.49	1,0000	154.49	1,0000	153.08	1,0000	144.12
V-ATPase-a1	P25286	74	K	CEt_HKCYTS	171,76	1,0000	162.41			1,0000	171.76		
V-ATPase-a1	P25286	103	K	CEt_HKCYTS	247,93	1,0000	247.93			1,0000	168.31		
V-ATPase-a1	P25286	109	K	CEt_HKCYTS	168,07	1,0000	168.07			1,0000	100.79		
V-ATPase-a1	P25286	119	K	CEt_HKCYTS	247,93	1,0000	247.93	1,0000	218.94	1,0000	189.7	1,0000	116.52
V-ATPase-a1	P25286	129	K	CEt_HKCYTS	206,84	1,0000	187.97			1,0000	206.84	0,9996	129.7
V-ATPase-a1	P25286	234	K	CEt_HKCYTS	169,93	1,0000	157.78	1,0000	115.18	1,0000	169.93	1,0000	127.42
V-ATPase-a1	P25286	235	K	CEt_HKCYTS	169,93	1,0000	157.78	1,0000	115.18	1,0000	169.93	1,0000	127.42
V-ATPase-a1	P25286	237	C	CEt_HKCYTS	169,93	1,0000	138.22	1,0000	96.113	1,0000	169.93	1,0000	92.439

Protein	UP-Nr.	Pos. Mod.	Mod. AS	Modifikation	Max. Wert	Wahrsch.	Wert	Wahrsch.	Wert	Wahrsch.	Wert	Wahrsch.	Wert
V-ATPase-a1	P25286	247	C	CEt_HKCYTS	188,04	1,0000	169.37	1,0000	169.37	1,0000	188.04	1,0000	157.78
V-ATPase-a1	P25286	255	K	CEt_HKCYTS	179,1	1,0000	169.09	1,0000	109.72	1,0000	179.1	1,0000	99.5
V-ATPase-a1	P25286	278	H	CEt_HKCYTS	134,9	0,9991	124.45			0,9981	134.9		
V-ATPase-a1	P25286	278	H	Urethan_CEt_H	301,48	1,0000	270.97	1,0000	140.81	1,0000	301.48		
V-ATPase-a1	P25286	288	K	CEt_HKCYTS	176,33	1,0000	176.33	1,0000	163.64	1,0000	175.93	1,0000	161.63
V-ATPase-a1	P25286	296	K	CEt_HKCYTS	140,98	1,0000	120.76			1,0000	140.98		
V-ATPase-a1	P25286	325	C	CEt_HKCYTS	113,65	0,9999	113.65						
V-ATPase-a1	P25286	341	T	CEt_HKCYTS	376,77	1,0000	376.77	1,0000	272.94	1,0000	368.53	1,0000	246.08
V-ATPase-a1	P25286	343	H	Urethan_CEt_H	226,29	1,0000	205.96	1,0000	157.52	1,0000	226.29	1,0000	144.27
V-ATPase-a1	P25286	346	S	CEt_HKCYTS	115,8	0,9945	115.8	0,8809	98.421	0,9241	109.84		
V-ATPase-a1	P25286	347	T	CEt_HKCYTS	99,055	0,9421	99.055						
V-ATPase-a1	P25286	350	S	CEt_HKCYTS	119,66	1,0000	119.66	0,9998	107.53	0,9992	115.34	0,9972	84.297
V-ATPase-a1	P25286	363	T	CEt_HKCYTS	116,94	0,8696	116.94						
V-ATPase-a1	P25286	364	Y	CEt_HKCYTS	139,54	0,8704	116.94						
V-ATPase-a1	P25286	369	K	CEt_HKCYTS	177,39			0,8496	84.842	0,9129	139.54		
V-ATPase-a1	P25286	372	H	Urethan_CEt_H	220,69	1,0000	220.69	1,0000	145.71	1,0000	180.84		
V-ATPase-a1	P25286	666	K	CEt_HKCYTS	179,93	1,0000	175.33	1,0000	139.43	1,0000	179.93	1,0000	98.249
V-ATPase-a1	P25286	667	K	CEt_HKCYTS	179,93	1,0000	175.33	1,0000	139.43	1,0000	179.93	1,0000	98.249
V-ATPase-a1	P25286	668	H	DEPC_H	94,692	1,0000	94.692			1,0000	90.15		
V-ATPase-a1	P25286	668	H	CEt_HKCYTS	175,33	1,0000	175.33	1,0000	139.43	1,0000	171.74	1,0000	85.355
V-ATPase-a1	P25286	668	H	Urethan_CEt_H	179,93	1,0000	160.18	1,0000	125.28	1,0000	179.93	1,0000	98.249
V-ATPase-a1	P25286	822	K	CEt_HKCYTS	104,2	0,8098	104.2						
V-ATPase-a1	P25286	827	S	CEt_HKCYTS	82,362	1,0000	82.362						
V-ATPase-a1	P25286	830	H	Urethan_CEt_H	137,89	1,0000	137.89	1,0000	81.865				
V-ATPase-d1	Q5M7T6	2	S	CEt_HKCYTS	86,467	0,9999	86.467						
V-ATPase-d1	Q5M7T6	24	K	CEt_HKCYTS	139,67	0,9999	139.67	0,9917	81.373				
V-ATPase-d1	Q5M7T6	75	K	CEt_HKCYTS	146,57	1,0000	146.57						
V-ATPase-d1	Q5M7T6	77	K	CEt_HKCYTS	172,15	1,0000	172.15			1,0000	107.21		

Protein	UP-Nr.	Pos. Mod.	Mod. AS	Modifikation	Max. Wert	Wahrsch.	Wert	Wahrsch.	Wert	Wahrsch.	Wert	Wahrsch.	Wert
V-ATPase-d1	Q5M7T6	209	C	CEt_HKCYTS	132,14	0,9972	132.14						
V-ATPase-d1	Q5M7T6	234	K	CEt_HKCYTS	278,41	0,8677	229.97	0,8639	184.1	0,8686	278.41	0,9160	159.64
V-ATPase-d1	Q5M7T6	239	K	CEt_HKCYTS	142	1,0000	142			1,0000	133.23		
V-ATPase-d1	Q5M7T6	243	H	CEt_HKCYTS	92,925					1,0000	92.925		
V-ATPase-d1	Q5M7T6	243	H	Urethan_CEt_H	142	1,0000	142	1,0000	81.297	1,0000	133.23		
V-ATPase-d1	Q5M7T6	244	C	CEt_HKCYTS	102,07	1,0000	102.07			1,0000	93.649		
V-ATPase-d1	Q5M7T6	248	Y	CEt_HKCYTS	153,78	1,0000	153.78			1,0000	149.65		
V-ATPase-d1	Q5M7T6	265	K	CEt_HKCYTS	122,06	0,9997	122.06			0,9923	99.987		
V-ATPase-d1	Q5M7T6	275	K	CEt_HKCYTS	150,95	0,9165	150.95			0,9487	133.71		
V-ATPase-d1	Q5M7T6	288	K	CEt_HKCYTS	148,68	0,8834	148.68			0,8396	134.2		
V-ATPase-d1	Q5M7T6	322	K	CEt_HKCYTS	151,44	1,0000	151.44	1,0000	128.69	1,0000	131.06		
V-ATPase-d1	Q5M7T6	326	C	CEt_HKCYTS	93,262	1,0000	93.262						
V-ATPase-d1	Q5M7T6	335	C	CEt_HKCYTS	301,92	1,0000	258.52	1,0000	123.86	1,0000	301.92	1,0000	98.353
V-ATPase-d1	Q5M7T6	343	K	CEt_HKCYTS	138,25	1,0000	138.25			1,0000	115.91		
PRR (RENr)	Q6AXS4	346	K	CEt_HKCYTS	185,47	1,0000	158.56	1,0000	159.65	1,0000	185.47	1,0000	142.63

8.3.5 Identifizierte Quervernetzungen der Synaptobrevin-2-Varianten.

Tabelle A. 5: Identifizierte Quervernetzungen der Synaptobrevin-2-Varianten.

Die zwei Aminosäurereste sind für jede identifizierte und validierte Quervernetzung gegeben. Die Nummerierung der Reste erfolgte anhand der Sequenz von Syb(1-116). Der höchste Score und die Anzahl an erzielten Massenspektren (# Spektren) für jede Quervernetzung und Variante ist angegeben. Quervernetzungen welche eindeutig einer intermolekularen Quervernetzung zugeordnet wurden sind grau hinterlegt. Auf Grund der unterschiedlichen Peptidlänge nach der enzymatischen Hydrolyse und der unterschiedlichen Länge der Synaptobrevin-2-Varianten kann es sich bei einem Teil der Quervernetzungen sowohl um intermolekulare als auch intramolekulare Quervernetzungen handeln.

Aminosäurerest		Syb(49-96)		Syb(1-96)		Syb(1-116)	
Rest 1	Rest 2	Score	# Spektren	Score	# Spektren	Score	# Spektren
K87	K91			6,88E-09	1		
K85	K91			2,47E-12	3		
K85	K87	2,30E-10	3	5,20E-10	2		
K85	K85	3,12E-02	1				
K83	K91	6,17E-10	11	3,67E-11	15		
K83	K87	8,98E-13	6	6,83E-14	20		
K83	K83	6,01E-03	4	2,85E-06	12	2,13E-03	2
K83	S61			3,49E-08	4	4,97E-07	4
S80	K85	8,70E-04	4				
S80	K83	8,27E-05	5				
T79	K85	1,27E-03	7			3,64E-04	2
T79	K83	1,95E-05	11	1,14E-06	11		
T79	T79	6,44E-05	8	4,32E-05	5	2,16E-04	4
S75	K85	1,78E-03	1				
S75	K83	2,52E-03	1				
S61	S61	2,48E-03	3				
K59	K91			8,70E-13	6		
K59	K87			1,96E-08	16		
K59	K83			3,27E-16	12	1,50E-15	16
K59	S80			9,57E-06	1	1,88E-07	4
K59	T79	2,60E-06	9	4,33E-05	1	1,33E-10	10
K59	S75	1,23E-06	2				
K59	S61	7,01E-04	1				
K59	K59	1,49E-07	5	2,04E-10	4		
K52	K91			3,17E-19	6		
K52	K87			8,43E-13	11		
K52	K83			1,96E-13	14	4,54E-15	32
K52	S80					3,66E-11	13
K52	T79					5,03E-11	14
K52	S61					1,54E-11	13
K52	K59			2,96E-18	18	2,73E-19	87
K52	K52			2,13E-11	15	7,10E-10	13
T35	K85			1,52E-11	2	1,31E-15	5
T35	T35					5,92E-05	1
T7	S80					2,02E-08	5
T7	S61					2,25E-10	8
T7	T7			7,53E-15	193	3,10E-02	5
T4	K85					1,29E-08	2
T4	K83			2,42E-08	13	4,05E-09	6
T4	T4			6,07E-12	15		
S2	K85			4,65E-10	3		
S2	T79			9,02E-08	3		
S2	K59			1,50E-11	14	1,38E-09	9
S2	T7			2,78E-18	33		
S2	T4			6,05E-17	6		
S2	S2			1,15E-24	32		
N-Ser	K91			2,84E-06	24		
N-Ser	K87	7,36E-04	3	9,01E-13	32		
N-Ser	K85			2,57E-09	8		
N-Ser	K83	2,76E-11	42				
N-Ser	T79	5,57E-06	21				
N-Ser	S61	7,32E-05	6				
N-Ser	K59	8,02E-15	57	5,59E-16	51	6,93E-14	23
N-Ser	K52	2,25E-11	19			2,33E-08	40
N-Ser	T7			1,34E-17	20		
N-Ser	T4			3,81E-25	21		
N-Ser	S2			4,08E-24	29		
N-Ser	N-Ser	2,61E-14	259	5,86E-25	131		

Aminosäurerest		Syb(49-96)		Syb(1-96)		Syb(1-116)	
Rest 1	Rest 2	Score	# Spektren	Score	# Spektren	Score	# Spektren
N-Term	K94	2,55E-06	30				
N-Term	K87	6,51E-13	5				
N-Term	K85			6,11E-09	2		
N-Term	K83	4,67E-10	7				
N-Term	S80	2,37E-12	1				
N-Term	S61	5,93E-11	14				
N-Term	K59	2,36E-15	55	3,22E-09	5		
N-Term	K52	5,84E-11	24				
N-Term	T7			3,90E-08	3		
N-Term	S2			9,49E-15	5		
N-Term	N-Ser	9,35E-11	30				
N-Term	N-Term	1,07E-18	377	1,01E-16	16		

8.3.6 Identifizierte Quervernetzungen nach Spaltung von Snyaptobrevin-2 mit BoNT B.

Tabelle A. 6: Identifizierte Quervernetzungen nach Spaltung von Snyaptobrevin-2 mit BoNT B.

Die Proteinennamen (Protein 1/Protein 2), Akzessionsnummer der Datenbank UniProt (UP-Nr. 1/ UP-Nr. 2), die Position der Quervernetzungen in den Proteinen (QPos 1/ QPos 2), der Wert der Datenbanksuchmaschine für die identifizierte Quervernetzung (Wert), die Nummer der Replikate, in welcher die Quervernetzung identifiziert wurde (Repl.), die Anzahl an Spektren des quervernetzten Peptidpaars (#Spektren) und die Sequenz der quervernetzten Peptide (Peptidsequenz 1/Peptidsequenz 2) ist gelistet. Innerhalb der Peptidsequenzen ist die quervernetzte Aminosäure hervorgehoben.

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
homomultimere Quervernetzung										
Syntaxin-1A	Syntaxin-1A	P32851	P32851	57	57	2,45E-01	2	1	K HSAILASPNPDEK	K HSAILASPNPDEK
PFKAL	PFKAL	P30835	P30835	727	727	7,65E-03	1,3	5	K ETDFEHR	K ETDFEHR
CSP	CSP	P60905	P60905	46	46	3,04E-04	1,3	6	Y HPDKNPDNPEADKFK	Y HPDKNPDNPEADK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	111	111	4,40E-02	1	2	V DKGVVPLAGTNGETTTQGL DGLSER	V DKGVVPLAGTNGETTTQGL LDGLSER
intermolekulare Quervernetzungen										
CSP	Snyaptobrevin-2	P60905	P63045	46	59	9,32E-03	1,3	4	Y HPDKNPDNPEADK	D QKLSLDDR
Snyaptobrevin-2	SV2A	P63045	Q02563	52	385	1,57E-01	1	1	V NVDKVLER	A KGHPER
Synaptogyrin-1	Synaptophysin	Q62876	P07825	136	186	2,11E-01	1,2,3	4	P KDNPLNEGTDAAAR	Q TGNTCKELR
Synaptophysin	Synaptogyrin-1	P07825	Q62876	163	136	1,03E-04	3	1	G LSDV K MATDPENIIK	P KDNPLNEGTDAAAR
Synaptophysin	SV2A	P07825	Q02563	186	385	1,79E-01	3	2	Q TGNTCKELR	A KGHPER
Synaptophysin	SV2B	P07825	Q63564	186	328	2,39E-02	1	2	Q TGNTCKELR	A KGTPEK
V-ATPase-a	SV2A	P25286	Q02563	255	385	8,97E-02	1	1	K EMASGVNTR	A KGHPER
V-ATPase-a	SV2A	P25286	Q02563	50	385	2,80E-03	1	3	K FVNEVR	A KGHPER
Synaptophysin	V-ATPase-a	P07825	P25286	186	255	2,31E-01	1	2	Q TGNTCKELR	K EMASGVNTR
Synaptophysin	V-ATPase-a	P07825	P25286	163	50	6,76E-02	1,3	2	G LSDV K MATDPENIIK	K FVNEVR
Synaptophysin	V-ATPase-a	P07825	P25286	186	50	3,18E-02	2,3	2	Q TGNTCKELR	K FVNEVR
V-ATPase-A	V-ATPase-E1	D4A133	Q6PCU2	467	62	2,13E-01	3	1	A LDEYYD K HFTEFVPLR	E KQIEQQK
V-ATPase-B	V-ATPase-E1	P62815	Q6PCU2	109	191	3,61E-03	1,3	4	K TSCFTGDILR	I KVSNTLESR
V-ATPase-B	V-ATPase-D	P62815	Q6P503	93	218	4,39E-02	2	1	S GQVLE V SG S KAVVQVFEGT SGIDAK	S EKDLER
V-ATPase-d	V-ATPase-a	Q5M7T6	P25286	265	70	1,22E-01	1,3	4	A DDYEQV K NVADYYPEYK	F VEKEIR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
V-ATPase-d	V-ATPase-a	Q5M7T6	P25286	73	70	5,99E-02	1,3	2	LHLQSTDYGNFLANEASPLTV SVIDDKLK	FVEKEIR
V-ATPase-G	V-ATPase-E1	B2GUV5	Q6PCU2	37	52	5,86E-04	1,2,3	3	QAKEEAQAEIEQYR	LKIMEYYEK
V-ATPase-G	V-ATPase-E1	B2GUV5	Q6PCU2	58	62	1,38E-01	1	2	AKEAAALGSHGSCSSEVEK	EKQIEQQK
V-ATPase-G2	V-ATPase-E1	Q8R2H0	Q6PCU2	37	52	3,64E-07	1,2,3	12	QAKEEAQMEVEQYR	LKIMEYYEK
KCC2A	SV2A	P11275	Q02563	56	385	4,03E-02	1	1	DHQKLER	AKGHPER
AP2M1	AP2A1	P84092	D3ZUY8	59	26	2,57E-01	2	1	TSFFHVKR	SKEAEIK
ALDOC	Aldoa	P09117	P05065	111	111	1,05E-04	1,2	3	VDKGVVPLAGTDGETTTQGL DGLLER	VDKGVVPLAGTNGETTTQGL LDGLSER
Arpc3	ARP3	B2GV73	Q4V7C7	61	348	6,91E-04	1,3	2	NYEIKNEADR	LKLSEELSGGR
Pfkm	PFKAL	Q52KS1	P30835	727	727	1,72E-01	1	1	ALVFQPVELKQDQDFEHR	KETDFEHR
Psm14	Psm1	Q4V8E2	G3V8B6	209	574	7,71E-03	1,3	4	KNELEQK	DKDPILR
Psm7	Psm14	D4AEH3	Q4V8E2	180	209	1,96E-01	3	2	DIKDTTVGTLSQR	KNELEQK
intramolekulare Quervernetzung										
Synaptobrevin-2	Synaptobrevin-2	P63045	P63045	59	52	1,35E-08	1,2,3	33	DQKSELDDR	VNVDKVLER
Synaptobrevin-2	Synaptobrevin-2	P63045	P63045	83	59	2,01E-05	1,2	10	ADALQAGASQFETSAAKLK	DQKSELDDR
Synaptobrevin-2	Synaptobrevin-2	P63045	P63045	83	52	3,10E-03	1	4	ADALQAGASQFETSAAKLK	VNVDKVLER
Syntaxin-1A	Syntaxin-1A	P32851	P32851	46	88	8,03E-05	1,2,3	18	GFIDKIAENVEEVKR	TANKVR
Syntaxin-1A	Syntaxin-1A	P32851	P32851	94	117	1,40E-10	1,2	7	LKSIEQSIEQEGLNR	KTQHSTLSR
Syntaxin-1A	Syntaxin-1A	P32851	P32851	204	117	7,86E-07	2	2	HSEIIKLENSIR	KTQHSTLSR
Syntaxin-1A	Syntaxin-1A	P32851	P32851	12	57	2,66E-04	2	2	TAKSDDDDDVTVTVDR	KHSAILASPNPDEK
Syntaxin-1A	Syntaxin-1A	P32851	P32851	57	55	1,81E-02	2	1	KHSAILASPNPDEK	IAENVEEVKR
Syntaxin-1A	Syntaxin-1A	P32851	P32851	94	12	5,76E-03	2	2	LKSIEQSIEQEGLNR	TAKSDDDDDVTVTVDR
Syntaxin-1A	Syntaxin-1A	P32851	P32851	12	117	1,54E-06	2	5	TAKSDDDDDVTVTVDR	KTQHSTLSR
Syntaxin-1A	Syntaxin-1A	P32851	P32851	57	252	9,01E-03	2	2	KHSAILASPNPDEK	AVSDTKK
Syntaxin-1A	Syntaxin-1A	P32851	P32851	204	256	1,91E-05	2	1	HSEIIKLENSIR	AVKYQSK
Syntaxin-1A	Syntaxin-1A	P32851	P32851	57	256	1,33E-06	2	1	KHSAILASPNPDEK	AVKYQSK
Syntaxin-1A	Syntaxin-1A	P32851	P32851	57	88	1,15E-04	2	2	KHSAILASPNPDEK	TANKVR
Syntaxin-1B	Syntaxin-1B	P61265	P61265	139	54	3,90E-03	1,2,3	10	FVEVMTEYNATQSKYR	LSEDVEQVKK

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
Syntaxin-1B	Syntaxin-1B	P61265	P61265	255	251	6,66E-05	1,2,3	10	AVKYQSK	AVSDTKK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	133	141	6,91E-05	1,2,3	48	DDDAETGLTDGEEKEEPK	EEEKLGK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	189	192	2,38E-09	1,2,3	44	VLLPDKK	KFETK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	236	192	3,45E-09	1,2,3	51	FSKHDIIGFEK	KFETK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	267	137	1,31E-03	1,2,3	12	DLQSAEKKEEQEK	EEPKEEEK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	267	141	5,52E-03	1,2,3	18	DLQSAEKKEEQEK	EEPKEEEKLGK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	267	189	4,41E-08	1,2,3	24	DLQSAEKKEEQEK	VLLPDKK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	267	192	3,56E-06	1,2,3	37	DLQSAEKKEEQEK	KFETK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	267	236	4,66E-05	1,2,3	13	DLQSAEKKEEQEK	FSKHDIIGFEK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	313	369	3,32E-05	1,2,3	10	MDVGGLSDPYVKIHLMQNGK	IGKNDIAGK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	313	375	4,96E-08	1,2,3	6	MDVGGLSDPYVKIHLMQNGK	NDAIGKVFVGYNSTGAELR
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	114	107	2,24E-06	1,3	18	TMKDQALK	DVKDLGK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	244	192	4,65E-06	1,2	6	HDIIGFEKVPMMNTVDFGHVTE EWR	KFETK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	267	107	2,51E-03	1,3	5	DLQSAEKKEEQEK	DVKDLGK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	133	267	5,38E-02	1,3	5	DDDAETGLTDGEEKEEPKEE EK	DLQSAEKKEEQEK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	267	297	5,66E-06	1,3	10	DLQSAEKKEEQEK	LTVVILEAKNLK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	267	301	1,91E-04	1,3	4	DLQSAEKKEEQEK	KMDVGGLSDPYVK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	375	192	9,88E-04	1,3	6	NDAIGKVFVGYNSTGAELR	KFETK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	98	107	1,64E-02	1	1	GGKNAINMK	DVKDLGK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	107	192	8,10E-04	1	1	DVKDLGK	KFETK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	244	267	2,35E-03	2	3	HDIIGFEKVPMMNTVDFGHVTE EWR	DLQSAEKKEEQEK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	272	192	2,05E-03	2	1	DLQSAEKKEEQEKLGDICFSLR	KFETK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	297	107	1,04E-02	1	1	LTVVILEAKNLK	DVKDLGK
Synaptotagmin-2	Synaptotagmin-2	P29101	P29101	190	193	3,43E-06	1,2,3	14	VLLPDKK	KYETK
Synaptotagmin-2	Synaptotagmin-2	P29101	P29101	237	193	6,07E-06	1,2,3	9	FSKHDIIGEVK	KYETK
Synaptotagmin-2	Synaptotagmin-2	P29101	P29101	268	193	3,22E-06	1,2,3	12	DLQGGEEKPEEK	KYETK
SV2A	SV2A	Q02563	Q02563	143	385	4,57E-03	1,2,3	10	KDREELAQQYETILR	AKGHPER

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
SV2A	SV2A	Q02563	Q02563	515	485	1,41E-02	1,2,3	12	GGQYFNDKFIGLR	TKVFPGER
SV2A	SV2A	Q02563	Q02563	143	485	3,49E-02	1	4	KDREELAQQYETILR	TKVFPGER
SV2A	SV2A	Q02563	Q02563	485	385	4,08E-05	1	6	TKVFPGER	AKGHPER
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	163	186	1,64E-07	1,2,3	56	GLSDVKMATDPENIIK	QTGNTCKELR
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	186	17	7,80E-03	1,2,3	10	QTGNTCKELR	VVKEPLGFVK
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	173	186	4,92E-04	1,3	8	MATDPENIIKEMPMCR	QTGNTCKELR
Scamp-3	Scamp-3	E9PTW1	E9PTW1	105	112	1,79E-08	1,3	9	KQEELNR	KAEELDR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	134	131	1,51E-05	1,2,3	50	KIHGEIDIK	YFKGK
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	134	173	2,62E-07	1,2,3	23	KIHGEIDIK	NGVKVVR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	179	173	4,51E-06	1,2,3	10	SLKPDFVLIR	NGVKVVR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	179	134	2,61E-06	1,3	5	SLKPDFVLIR	KIHGEIDIK
Rab14	Rab14	P61107	P61107	193	61	2,63E-06	1,2,3	13	IYQNIQDGSLDLNAAESGVQH KPSAPQGGR	IKLQIWDTAGQER
Rab1A	Rab1A	Q6NYB7	Q6NYB7	125	132	5,12E-05	1,2,3	13	LLVGNKCDLTTK	KVVDYTTAK
Rab1B	Rab1B	P10536	P10536	122	129	1,07E-04	1,3	9	LLVGNKSDLTTK	KVVDNTTAK
Rab35	Rab35	Q5U316	Q5U316	121	128	6,05E-04	1,3	5	ILVGNKNDDPER	KVVETEDAYK
Rab3A	Rab3A	P63012	P63012	12	72	1,06E-03	2	1	YGQKESSDQNFDMFK	IKLQIWDTAGQER
V-ATPase-a	V-ATPase-a	P25286	P25286	109	50	2,09E-05	1,2,3	13	IENELKEINTNQEALK	KFVNEVR
V-ATPase-a	V-ATPase-a	P25286	P25286	109	70	6,12E-09	1,2,3	87	IENELKEINTNQEALK	FVEKEIR
V-ATPase-a	V-ATPase-a	P25286	P25286	119	50	4,17E-07	1,2,3	15	EINTNQEALKR	KFVNEVR
V-ATPase-a	V-ATPase-a	P25286	P25286	119	70	4,84E-04	1,2,3	17	EINTNQEALKR	FVEKEIR
V-ATPase-a	V-ATPase-a	P25286	P25286	74	119	3,36E-06	1,2,3	19	KANIPIMDTGENPEVPFPR	EINTNQEALKR
V-ATPase-a	V-ATPase-a	P25286	P25286	255	235	3,30E-11	1,2,3	11	KEMASGVNTR	KICEGFR
V-ATPase-a	V-ATPase-a	P25286	P25286	255	50	3,47E-08	1,2,3	9	KEMASGVNTR	KFVNEVR
V-ATPase-a	V-ATPase-a	P25286	P25286	74	70	4,73E-05	1,2,3	76	KANIPIMDTGENPEVPFPR	FVEKEIR
V-ATPase-a	V-ATPase-a	P25286	P25286	70	835	3,93E-03	1,2,3	14	FVEKEIR	EGKFDE
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133	D4A133	498	516	2,17E-07	1,2,3	11	EILQEEEDLAEIVQLVGKASLA ETDK	LIKDDFLQQNGYTPYDR
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133	D4A133	596	587	2,81E-05	1,2,3	20	DGEAKIK	FKDPVK

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
V-ATPase-a	V-ATPase-a	P25286	P25286	70	235	1,92E-01	1,3	2	FVEKEIR	KICEGFR
V-ATPase-a	V-ATPase-a	P25286	P25286	255	70	1,58E-05	1,3	9	KEMASGVNTR	FVEKEIR
V-ATPase-a	V-ATPase-a	P25286	P25286	288	70	7,54E-02	1,3	3	VLQAAAKNIR	FVEKEIR
V-ATPase-a	V-ATPase-a	P25286	P25286	70	50	2,60E-03	1,3	12	FVEKEIR	KFVNEVR
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133	D4A133	498	513	1,15E-06	2,3	3	EILQEEEDLAEIVQLVGVKASLA ETDK	ITLEVAKLIK
V-ATPase-a	V-ATPase-a	P25286	P25286	103	70	1,20E-01	1	1	DMIDLEANFEKIENELK	FVEKEIR
V-ATPase-a	V-ATPase-a	P25286	P25286	74	109	7,14E-03	2	2	KANIPIMDTGENPEVPFPR	IENELKEINTNQEALK
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133	D4A133	580	587	2,50E-02	1	1	EHMGEILYKLSSMK	FKDPVK
V-ATPase-B	V-ATPase-B	P62815	P62815	81	137	1,21E-02	1,2,3	12	YAEIVHLTLPDGTKR	VFNGSGKPIDR
V-ATPase-B	V-ATPase-B	P62815	P62815	48	109	9,91E-10	1,2	12	LTYKTVSGVNGPLVILDHVK	KTSCEFTGDILR
V-ATPase-B	V-ATPase-B	P62815	P62815	81	109	9,94E-06	1,3	6	YAEIVHLTLPDGTKR	KTSCEFTGDILR
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	245	232	1,30E-06	1,3	2	ENKFIVR	KAVDDFR
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	262	156	5,03E-06	1,3	4	ADKEEMNR	KNAGSLLTR
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	262	171	3,16E-03	1,3	3	ADKEEMNR	SLAEIVKK
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	262	245	8,54E-02	1,3	3	ADKEEMNR	ENKFIVR
V-ATPase-d	V-ATPase-d	Q5M7T6	Q5M7T6	24	300	4,69E-10	1,2,3	21	GLKAGVLSQADYLNLVQCETL EDLK	FFEHEVKLNK
V-ATPase-d	V-ATPase-d	Q5M7T6	Q5M7T6	288	300	3,47E-07	1,2,3	83	LLFEGAGSNPGDKTLEDR	FFEHEVKLNK
V-ATPase-d	V-ATPase-d	Q5M7T6	Q5M7T6	300	322	2,00E-05	1,2,3	6	FFEHEVKLNK	LKEQECCR
V-ATPase-d	V-ATPase-d	Q5M7T6	Q5M7T6	288	343	2,91E-02	1,2,3	5	LLFEGAGSNPGDKTLEDR	AKIDNYIPIF
V-ATPase-d	V-ATPase-d	Q5M7T6	Q5M7T6	265	300	1,01E-03	1,3	6	ADDYEQVKNVADYYPEYK	FFEHEVKLNK
V-ATPase-d	V-ATPase-d	Q5M7T6	Q5M7T6	275	300	3,99E-04	2	4	NVADYYPEYKLLFEGAGSNP GDK	FFEHEVKLNK
V-ATPase-E1	V-ATPase-E1	Q6PCU2	Q6PCU2	99	107	1,29E-05	1,2,3	17	DDLITDLLNEAKQR	VVKDTTR
V-ATPase-E1	V-ATPase-E1	Q6PCU2	Q6PCU2	107	82	1,15E-01	1	1	VVKDTTR	LKVLRL
V-ATPase-F	V-ATPase-F	P50408	P50408	102	110	6,83E-04	1,3	7	EHPYDAAKDSILR	AKGMFTAEDLR
AP2A1	AP2A1	D3ZUY8	D3ZUY8	35	31	4,61E-05	1,2,3	11	INKELANIR	EAEIKR
AP2B1	AP2B1	P62944	P62944	383	318	1,78E-06	1,2,3	7	CAIKVEQSAER	RPEILKQEI
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	235	224	1,94E-05	1,2,3	5	GTADETSKSGK	IVIEKQGK

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	238	227	2,13E-09	1,2,3	11	SGKQSIADDCTFHQCVR	QGKGTADETSK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	256	224	4,19E-05	1,2,3	12	LSKFDSER	IVIEKQ GK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	227	256	1,83E-05	1,2,3	9	QGKGTADETSK	LSKFDSER
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	405	256	2,12E-05	1,2,3	11	YLVVFEPK	LSKFDSER
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	410	167	5,23E-05	1,2,3	38	VFEPKLNYSHDHVIK	EGIKYR
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	420	405	1,45E-01	1,2,3	7	LNYSHDHVIKWVR	YLVVFEPK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	213	256	1,72E-05	1,3	14	SYLSGMPECKFGMNDK	LSKFDSER
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	235	256	2,35E-07	1,3	4	GTADETSKSGK	LSKFDSER
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	213	405	2,38E-01	1	2	SYLSGMPECKFGMNDK	YLVVFEPK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	227	405	2,02E-03	1	2	QGKGTADETSK	YLVVFEPK
ACLY	ACLY	P16638	P16638	177	166	6,88E-01	1	1	HLLVHAPEDKK	LNAEDIKR
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	99	140	5,37E-02	1,2,3	4	ADDGRPFQVIKSK	KDGADFAK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	147	139	3,26E-05	1,2	4	DGADFAKWR	CAQYKK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	99	42	8,31E-02	2,3	2	ADDGRPFQVIKSK	GILAADESTGSIKR
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	330	318	5,27E-03	1	2	AAQEEYIKR	KENLK
Amphiphysin	Amphiphysin	O08838	O08838	175	141	1,45E-08	1,2,3	19	AEEEFQKAQK	KLVDYDSAR
Amphiphysin	Amphiphysin	O08838	O08838	159	161	9,31E-07	1,3	7	HHLEALQSSKR	KDESR
Amphiphysin	Amphiphysin	O08838	O08838	168	161	2,67E-04	1	2	ISKAEEEFQK	KDESR
Annexin	Annexin	Q6IMZ3	Q6IMZ3	620	446	5,04E-02	2	1	GAGTDEKTLTR	KAMEGAGTDEK
Arpc4	Arpc4	B2RZ72	B2RZ72	77	58	1,12E-02	1,3	3	VSIQVKADEIEK	NEKEK
ATLA1	ATLA1	Q6PST4	Q6PST4	241	238	1,98E-01	1,2	3	LKVSQNGHEELQNVN	FLEKR
Atp1b1	Atp1b1	P07340	P07340	278	222	2,27E-05	2,3	13	IECKAYGENIGYSEK	DEDKDK
Atp8a1	Atp8a1	F1LUT4	F1LUT4	319	393	1,13E-04	1,3	3	DGEKIYQAASPDEGALVR	LYCKGADTVIYER
Atp8a1	Atp8a1	F1LUT4	F1LUT4	415	408	8,09E-02	1,2	7	EITLKHLEQFATEGLR	LAESSKYK
Bcap31	Bcap31	Q6AY58	Q6AY58	191	184	1,66E-03	1	2	LKDELASTK	ILKTDLK
CC50A	CC50A	Q6AY41	Q6AY41	119	100	1,15E-02	1,2,3	8	DDSQLNGDPSALLNPSKECE PYR	YVKS R
Cct6a	Cct6a	Q3MHS9	Q3MHS9	265	261	2,30E-05	1,3	7	KFIEDR	LVKAER

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
Cct6a	Cct6a	Q3MHS9	Q3MHS9	265	273	6,38E-12	1,3	2	KFIEDR	KIVELK
Cct6a	Cct6a	Q3MHS9	Q3MHS9	280	273	3,10E-07	1,3	5	KVCGDSDK	KIVELK
Cct7	Cct7	D4AC23	D4AC23	148	144	1,17E-05	1,3	8	QDKVEQR	EIAVTVKK
Cct7	Cct7	D4AC23	D4AC23	199	250	1,30E-04	1,3	3	KVQGGALEESR	AEKDNAEIR
Cd47	Cd47	P97829	P97829	122	59	1,48E-06	1,2,3	14	EGKTVIELK	WKLNK
CN37	CN37	P13233	P13233	203	196	2,17E-06	1,2,3	6	KAGQVFLEELGNHK	KSSETLR
CN37	CN37	P13233	P13233	260	401	4,15E-04	1,3	6	FCDYGKATGAEYYAQQDVVR	GKPVVHGSR
CSP	CSP	P60905	P60905	46	32	1,33E-04	1,2,3	28	YHPDKNPDNPEAADK	NATSDDIKK
CSP	CSP	P60905	P60905	56	41	8,31E-07	1,2,3	55	NPDNPEAADKFK	LALKYHPDK
CSP	CSP	P60905	P60905	58	32	8,15E-03	1,3	7	FKEINNAHAILTDATK	NATSDDIKK
DYHC1	DYHC1	P38650	P38650	3469	3223	3,00E-10	1,2,3	15	ADLAAVEAKVNR	IKSQELEVK
Dynactin-150	Dynactin-150	P28023	P28023	68	38	1,67E-04	1,2	10	GKNDGTVQGR	VEVIGKGHR
Dynamin-1	Dynamin-1	P21575	P21575	246	240	4,46E-05	1,3	6	KDITAALAAER	SQKIDIDGK
EF1A1	EF1A1	P62630	P62630	386	378	2,33E-05	1,3	5	KLEDGPK	EKIDR
Endophilin-B1	Endophilin-B1	Q6AYE2	Q6AYE2	176	183	6,69E-05	1,3	8	LDLDAAKTR	AKAAETK
Endophilin-B2	Endophilin-B2	Q5PPJ9	Q5PPJ9	173	180	2,70E-02	1,3	4	RLDLACKAR	AKAAEAK
F1LUE2	F1LUE2	F1LUE2	F1LUE2	43	57	6,33E-05	1,2,3	12	LCTGHEYAAKIINTK	DHQKLER
F1LUE2	F1LUE2	F1LUE2	F1LUE2	227	188	4,66E-06	1,2	10	LYQQIKAGAYDFPSPEWDTVT PEAK	KEAYGK
G3P	G3P	P04797	P04797	261	257	1,71E-04	1,2,3	19	VVKQAAEGLPK	YDDIKK
G3P	G3P	P04797	P04797	59	111	3,90E-02	1,3	5	FNGTVKAENGK	AGAHLKGGAK
GLNA	GLNA	P09606	P09606	291	107	2,85E-05	1,2,3	18	AYDPKGGLDNAR	KPAETNLR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	372	107	4,45E-10	1,2,3	28	TCLLNETGDEPFQYKN	KPAETNLR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	103	107	4,90E-04	1,2	5	LVFCEVFKYNR	KPAETNLR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	276	107	1,19E-07	1,3	11	CIEEAIKLSK	KPAETNLR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	291	333	7,70E-05	1,3	9	AYDPKGGLDNAR	IVGQEKK
GLNA	GLNA	P09606	P09606	107	334	4,35E-07	1,3	12	KPAETNLR	KGYFEDR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	291	334	3,10E-05	1,3	8	AYDPKGGLDNAR	KGYFEDR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
GNAO	GNAO	P59215	P59215	24	17	5,59E-03	1,2	4	NLKEDGISAAC	SKAIEK
GPM6A	GPM6A	Q812E9	Q812E9	257	250	2,55E-10	1,2,3	41	SKEEQELHDIHSTR	MQKYEDIK
HSP7C	HSP7C	P63018	P63018	531	535	2,44E-04	1,3	4	AEDEKQR	DKVSSK
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	137	56	1,68E-04	1,2,3	10	DLKPENLLLASK	DHQKLER
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	137	148	4,60E-04	1,2,3	6	DLKPENLLLASK	LKGAAVK
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	347	323	2,63E-07	1,2,3	7	KQEIIK	KNDGVK
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	328	347	1,12E-06	1,2,3	7	NDGVKESSESTNTTIEDEDTK	KQEIIK
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	344	347	1,52E-09	1,2,3	27	ESSESTNTTIEDEDTKVR	KQEIIK
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	42	56	5,95E-04	1,2,3	13	VLAQEYAAKIINTK	DHQKLER
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	56	47	6,35E-05	1,2,3	18	DHQKLER	IINTKK
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	226	187	5,74E-06	1,2	23	LYQQIKAGAYDFPSPEWDTV PEAK	KDPYGK
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	317	323	5,46E-05	1,3	10	NFSGGKSGGNK	KNDGVK
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	226	56	1,57E-02	1	4	LYQQIKAGAYDFPSPEWDTV PEAK	DHQKLER
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	56	292	3,33E-03	1	3	DHQKLER	KFNAR
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	32	56	1,61E-03	1	3	CVKVLAQEYAAK	DHQKLER
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	68	56	8,00E-03	1	2	LLKHPNIVR	DHQKLER
KPCB	KPCB	P68403-2	P68403-2	315	304	6,99E-03	1,2,3	3	IGQGTKAPEEK	QKFER
KPYM	KPYM	P11980-2	P11980-2	247	256	1,16E-11	3	6	KAADVHEVR	KVLGEK
LSAMP	LSAMP	Q62813	Q62813	58	88	2,83E-03	1,2,3	7	CVVEDKNSK	VELEKR
Myosin-Va	Myosin-Va	A0A0G2K4Y 7	A0A0G2K4Y7	994	997	7,99E-04	1,2	5	VLSLQEEIAKLR	KDLEQTR
NSF	NSF	Q9QUL6	Q9QUL6	198	202	5,37E-06	1,2,3	23	AENSSLNLIGKAK	TKENR
OPCM	OPCM	P32736	P32736	230	275	1,19E-04	1,2,3	9	AKNTGVSQGQK	IENKGR
PFKAP	PFKAP	P47860	P47860	730	737	7,91E-07	1,2,3	15	DLLFKPVAELR	KATDFEHR
PRS4	PRS4	P62193	P62193	91	98	9,89E-03	1,3	5	NQEQMKPLEEKQEEER	SKVDDL
PSA2	PSA2	P17220	P17220	53	64	5,02E-04	1	8	QKSILYDER	SVHKVEPITK
PSA3	PSA3	P18422	P18422	65	230	9,15E-05	1,2,3	11	LYEEGSNKR	HEIVPKDVR
PSA3	PSA3	P18422	P18422	230	238	4,37E-03	1	5	HEIVPKDVR	EAEKYAK

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
PsmA4	PsmA4	P21670	P21670	246	238	4,34E-04	1	3	HEEEEEAKAER	EVEQLIKK
PsmC3	PsmC3	Q6P6U2	Q6P6U2	73	77	4,88E-03	1,3	4	VTHELQAMKDK	IKENSEK
PsmC6	PsmC6	G3V6W6	G3V6W6	48	41	3,07E-03	1,2,3	6	EQLKELTK	LKELR
PsmC6	PsmC6	G3V6W6	G3V6W6	34	41	1,03E-01	1,3	11	LLEHKEIDGR	LKELR
PsmD3	PsmD3	Q5U2S7	Q5U2S7	219	178	3,57E-03	1,2	7	VYEFLDKLDVVR	YKEAQK
REEP5	REEP5	B2RZ37	B2RZ37	157	164	3,17E-06	1,2	3	HESQVDSVVKDVK	AKETADAISK
VAPA	VAPA	Q9Z270	Q9Z270	125	52	4,67E-02	1,2,3	14	EAKPDELMDSKLR	VKTTAPR
VIAAT	VIAAT	O35458	O35458	113	261	1,45E-02	1,2,3	4	DQAVGAGGEFGGHDKPK	NLKAVSK
Wfs1	Wfs1	E9PT53	E9PT53	800	681	3,40E-02	1	1	GHEEDDITKDIVLR	AWKETNMAR

8.3.7 Identifizierte Quervernetzungen nach Inkubation der synaptischen Vesikel mit einem Überschuss an löslichem ΔN-SNARE-Komplex.

Tabelle A. 7: Identifizierte Quervernetzungen nach Inkubation der synaptischen Vesikel mit einem Überschuss an löslichem ΔN-SNARE-Komplex.

Die Proteinennamen (Protein 1/Protein 2), Akzessionsnummer der Datenbank UniProt (UP-Nr. 1/ UP-Nr. 2), die Position der Quervernetzungen in den Proteinen (QPos 1/ QPos 2), der Wert der Datenbanksuchmaschine für die identifizierte Quervernetzung (Wert), die Nummer der Replikate, in welcher die Quervernetzung identifiziert wurde (Repl.), die Anzahl an Spektren des quervernetzten Peptidpaars (#Spektren) und die Sequenz der quervernetzten Peptide (Peptidsequenz 1/Peptidsequenz 2) ist gelistet. Innerhalb der Peptidsequenzen ist die quervernetzte Aminosäure hervorgehoben.

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
homomultimere Quervernetzungen										
Synaptobrevin-2	Synaptobrevin-2	P63045	P63045	91	87	2,42E-20	1,2,3	63	KYWWK N LK	KY W WK
Synaptobrevin-2	Synaptobrevin-2	P63045	P63045	87	87	3,80E-05	1,3	5	RKY W WK	KY W WK
Synaptobrevin-2	Synaptobrevin-2	P63045	P63045	85	87	2,78E-04	2	1	ADALQAGASQ F ETSAAKLKR	RKY W WK
Syntaxin-1A	Syntaxin-1A	P32851	P32851	204	204	2,25E-03	2,3	2	HSEI I KLENSIR	HSEI I KLENSIR
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	96	102	9,91E-11	1,2,3	28	LKSS D AYK	SS D AYKK
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	103	102	6,20E-11	1,2,3	46	KAWG N NQDGVVASQPAR	SS D AYKK
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	184	189	5,92E-11	1,2,3	31	IMEK A DSNK	AD S NKTR
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	102	102	8,63E-02	1,3	3	SS D AYKK	SS D AYKK
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	96	96	8,84E-04	1,3	6	LKSS D AYKK	LKSS D AYK
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	103	103	1,25E-01	1	2	KAWG N NQDGVVASQPAR	KAWG N NQDGVVASQPAR
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	184	184	1,42E-01	3	2	IMEK A DSNK	IMEK A DSNK
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	40	40	5,44E-01	3	1	RMLQLV E ESKDAGIR	MLQLV E ESKDAGIR
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	83	83	2,66E-02	1	2	LHQVYFDAP S CVKGGTTK	LHQVYFDAP S CVKGGTTK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	111	111	2,35E-01	1	4	VDKGVVPLAGT N GETTTQGLD GLSER	VDKGVVPLAGT N GETTTQGLD LSER
G3P	G3P	P04797	P04797	64	70	2,68E-01	1	1	AENG K LVI N GKPITIFQER	LVI N GKPITIFQER
PFKAL	PFKAL	P30835	P30835	727	727	1,20E-01	1	1	K E TDFEHR	K E TDFEHR
intermolekulare Quervernetzungen										
SNAP-25	Synaptobrevin-2	P60881	P63045	103	59	9,72E-08	1,2,3	32	KAWG N NQDGVVASQPAR	DQ K LSE L DDR
SNAP-25	Synaptobrevin-2	P60881	P63045	103	87	6,03E-08	1,2,3	47	KAWG N NQDGVVASQPAR	KY W WK
SNAP-25	Synaptobrevin-2	P60881	P63045	103	91	1,30E-04	1,2,3	15	KAWG N NQDGVVASQPAR	KY W W K N L K
SNAP-25	Synaptobrevin-2	P60881	P63045	184	87	2,98E-11	1,2,3	14	IMEK A DSNK	KY W WK

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
SNAP-25	Synaptobrevin-2	P60881	P63045	96	87	1,75E-15	1,2,3	29	LKSSDAYK	KYWWK
SNAP-25	Synaptobrevin-2	P60881	P63045	40	87	9,54E-14	1,2,3	77	MLQLVEESKDAGIR	KYWWK
SNAP-25	Synaptobrevin-2	P60881	P63045	40	91	1,09E-02	1,2,3	6	MLQLVEESKDAGIR	KYWWKNLK
SNAP-25	Synaptobrevin-2	P60881	P63045	40	59	1,26E-01	1,2	2	MLQLVEESKDAGIR	DQKLSLDDR
Synaptobrevin-2	SNAP-25	P63045	P60881	83	102	6,91E-03	1,2,3	10	ADALQAGASQFETSAAKLLK	SSDAYKK
Synaptobrevin-2	SNAP-25	P63045	P60881	87	102	5,28E-10	1,2,3	18	KYWWK	SSDAYKK
Synaptobrevin-2	SNAP-25	P63045	P60881	83	103	2,50E-05	1,2,3	27	ADALQAGASQFETSAAKLLK	KAWGNNQDGVVASQPAR
Synaptobrevin-2	SNAP-25	P63045	P60881	87	189	3,02E-15	1,2,3	18	KYWWK	ADSNKTR
Synaptobrevin-2	SNAP-25	P63045	P60881	59	96	4,05E-03	1,2,3	5	DQKLSLDDR	LKSSDAYK
Synaptobrevin-2	SNAP-25	P63045	P60881	83	96	1,05E-05	1,2,3	21	ADALQAGASQFETSAAKLLK	LKSSDAYK
Synaptobrevin-2	SNAP-25	P63045	P60881	83	40	2,55E-04	1,2,3	20	ADALQAGASQFETSAAKLLK	MLQLVEESKDAGIR
Synaptobrevin-2	SNAP-25	P63045	P60881	59	102	2,02E-02	1,3	3	DQKLSLDDR	SSDAYKK
Synaptobrevin-2	SNAP-25	P63045	P60881	59	184	2,70E-01	1,3	3	DQKLSLDDR	IMEKADSNK
Synaptobrevin-2	SNAP-25	P63045	P60881	83	184	1,98E-03	1,2	3	ADALQAGASQFETSAAKLLK	IMEKADSNK
Synaptobrevin-2	SNAP-25	P63045	P60881	91	189	1,10E-01	3	1	YWWKNLK	ADSNKTR
Synaptobrevin-2	Syntaxin-1A	P63045	P32851	83	204	2,44E-07	1,2,3	39	ADALQAGASQFETSAAKLLK	HSEIIKLENSIR
Synaptobrevin-2	Syntaxin-1A	P63045	P32851	87	252	1,73E-09	1,2,3	20	KYWWK	AVSDTKK
Synaptobrevin-2	Syntaxin-1A	P63045	P32851	59	252	2,77E-02	1,3	2	DQKLSLDDR	AVSDTKK
Synaptobrevin-2	Syntaxin-1A	P63045	P32851	83	252	6,49E-05	1,2	3	ADALQAGASQFETSAAKLLK	AVSDTKK
Synaptobrevin-2	Syntaxin-1A	P63045	P32851	91	252	1,65E-01	1,3	3	KYWWKNLK	AVSDTKK
Syntaxin-1A	Synaptobrevin-2	P32851	P63045	204	59	2,03E-03	1,2,3	15	HSEIIKLENSIR	DQKLSLDDR
Syntaxin-1A	Synaptobrevin-2	P32851	P63045	204	87	1,65E-17	1,2,3	55	HSEIIKLENSIR	KYWWK
Syntaxin-1A	Synaptobrevin-2	P32851	P63045	204	91	2,52E-02	1,2,3	11	HSEIIKLENSIR	KYWWKNLK
SNAP-25	Syntaxin-1A	P60881	P32851	103	204	8,11E-08	1,2,3	54	KAWGNNQDGVVASQPAR	HSEIIKLENSIR
SNAP-25	Syntaxin-1A	P60881	P32851	40	204	1,37E-08	1,2,3	75	MLQLVEESKDAGIR	HSEIIKLENSIR
SNAP-25	Syntaxin-1A	P60881	P32851	102	252	9,07E-09	1,2,3	9	SSDAYKK	AVSDTKK
SNAP-25	Syntaxin-1A	P60881	P32851	103	252	6,71E-04	1,2,3	8	KAWGNNQDGVVASQPAR	AVSDTKK
SNAP-25	Syntaxin-1A	P60881	P32851	184	252	2,14E-06	1,2,3	11	IMEKADSNK	AVSDTKK

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
SNAP-25	Syntaxin-1A	P60881	P32851	189	252	3,42E-04	1,2,3	7	ADSNKTR	AVSDTKK
SNAP-25	Syntaxin-1A	P60881	P32851	96	252	1,70E-08	1,3	7	LKSSDAYK	AVSDTKK
Syntaxin-1A	SNAP-25	P32851	P60881	204	102	2,37E-07	1,2,3	19	HSEIIKLENSIR	SSDAYKK
Syntaxin-1A	SNAP-25	P32851	P60881	204	184	3,73E-04	1,2,3	20	HSEIIKLENSIR	IMEKADSNK
Syntaxin-1A	SNAP-25	P32851	P60881	204	96	7,31E-06	1,2,3	33	HSEIIKLENSIR	LKSSDAYK
Synaptobrevin-2	Synaptotagmin-1	P63045	P21707	83	200	2,43E-01	1	1	ADALQAGASQFETSAAKLK	KTLNPVFNEQFTFK
Synaptobrevin-2	SV2A	P63045	Q0256 3	87	16	3,07E-04	1,3	3	KYWWK	GAKDIK
Synaptobrevin-2	Synapsin-1	P63045	P09951	87	173	2,64E-05	1,3	3	KYWWK	NGVKVVR
Synaptobrevin-2	Synapsin-1	P63045	P09951	83	179	1,01E-01	1,3	3	ADALQAGASQFETSAAKLK	SLKPDFVLIR
Synaptobrevin-2	Synapsin-1	P63045	P09951	59	179	1,61E-01	1	1	DQKLSLDDR	SLKPDFVLIR
Synapsin-1	Synaptobrevin-2	P09951	P63045	179	87	9,58E-04	1,2,3	8	SLKPDFVLIR	KYWWK
Synapsin-1	Synaptobrevin-2	P09951	P63045	311	87	4,23E-03	1	3	TYATAEPFIDAKYDVR	KYWWK
Synapsin-1	Synaptobrevin-2	P09951	P63045	574	87	8,82E-02	1	2	QASISGPAPPKVGSGSPGGQQ R	KYWWK
Synapsin-1	Synaptobrevin-2	P09951	P63045	574	83	2,00E-01	1	1	QASISGPAPPKVGSGSPGGQQ R	ADALQAGASQFETSAAKLK
Synaptobrevin-2	Rab3A	P63045	P63012	83	173	7,56E-02	1	1	ADALQAGASQFETSAAKLK	DNINVKQTFER
Synaptobrevin-2	V-ATPase-E1	P63045	Q6PCU 2	87	82	2,33E-04	1,2,3	4	KYWWK	LKVLR
V-ATPase-a	Synaptobrevin-2	P25286	P63045	255	87	2,69E-05	1,3	3	KEMASGVNTR	KYWWK
V-ATPase-a	Synaptobrevin-2	P25286	P63045	50	87	4,82E-03	1	2	KFVNEVR	KYWWK
V-ATPase-a	Synaptobrevin-2	P25286	P63045	70	87	3,03E-01	1	2	FVEKEIR	KYWWK
Synaptobrevin-2	G3P	P63045	P04797	87	249	1,60E-01	1	2	KYWWK	LEKPAK
Aldoa	Synaptobrevin-2	P05065	P63045	140	87	5,62E-03	1	1	KDGADFAK	KYWWK
Synaptotagmin-1	SNAP-25	P21707	P60881	332	103	1,73E-04	1	1	KNTLNPYYNESFSFEVPEFIQ K	KAWGNNQDGVVASQPAR
SNAP-25	Synaptotagmin-1	P60881	P21707	40	192	3,33E-01	1	1	MLQLVEESKDAGIR	KFETK
SNAP-25	Synaptotagmin-1	P60881	P21707	40	107	3,83E-01	1	1	MLQLVEESKDAGIR	DVKDLGK
Synaptotagmin-1	SNAP-25	P21707	P60881	375	96	1,17E-03	1	2	NDAIGKVFVGYNSTGAELR	LKSSDAYK
SNAP-25	Synaptophysin	P60881	P07825	103	186	3,73E-01	3	1	KAWGNNQDGVVASQPAR	QTGNTCKELR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
Synaptophysin	SNAP-25	P07825	P60881	186	96	1,18E-01	1,3	2	QTGNTCKELR	LKSSDAYK
Synaptophysin	SNAP-25	P07825	P60881	83	103	1,93E-03	1,2	6	LHQVYFDAPSCVKGGTTK	KAWGNNQDGVVASQPAR
Synaptophysin	SNAP-25	P07825	P60881	83	96	4,66E-02	1	3	LHQVYFDAPSCVKGGTTK	LKSSDAYK
SNAP-25	SV2A	P60881	Q0256 3	40	385	7,41E-03	1,3	3	MLQLVEESKDAGIR	AKGHPER
SNAP-25	SV2A	P60881	Q0256 3	103	385	4,95E-02	1	2	KAWGNNQDGVVASQPAR	AKGHPER
SNAP-25	SV2A	P60881	Q0256 3	103	485	2,45E-01	1	1	KAWGNNQDGVVASQPAR	TKVFPGER
SNAP-25	SV2A	P60881	Q0256 3	40	16	2,83E-01	1	1	MLQLVEESKDAGIR	GAKDIAK
SNAP-25	Synapsin-1	P60881	P09951	103	179	4,29E-02	1,2,3	4	KAWGNNQDGVVASQPAR	SLKPDFVLIR
SNAP-25	Synapsin-1	P60881	P09951	103	591	5,56E-01	3	1	KAWGNNQDGVVASQPAR	QGPPQKPPGPAGPIR
Synapsin-1	SNAP-25	P09951	P60881	179	96	1,13E-01	1,3	2	SLKPDFVLIR	LKSSDAYK
Synapsin-1	SNAP-25	P09951	P60881	574	96	1,17E-02	1,3	3	QASISGPAPPK ^R VSGASPGGQQ	LKSSDAYK
Synapsin-1	SNAP-25	P09951	P60881	574	40	1,40E-01	1	3	QASISGPAPPK ^R VSGASPGGQQ	MLQLVEESKDAGIR
Synapsin-1	SNAP-25	P09951	P60881	591	96	2,54E-01	1	1	QGPPQKPPGPAGPIR	LKSSDAYK
Synapsin-1	SNAP-25	P09951	P60881	574	103	3,27E-01	1	1	QASISGPAPPK ^R VSGASPGGQQ	KAWGNNQDGVVASQPAR
CSP	SNAP-25	P60905	P60881	41	96	3,04E-01	1	1	LALKYHPDKNPDNPEAADK	LKSSDAYK
CSP	SNAP-25	P60905	P60881	46	96	3,81E-01	1	1	YHPDKNPDNPEAADK	LKSSDAYK
SNAP-25	Rab1A	P60881	Q6NYB 7	103	61	6,83E-03	1	1	KAWGNNQDGVVASQPAR	TIKLQIWDTAGQER
SNAP-25	Rab39a	P60881	D3ZZP 2	103	63	2,61E-01	1	1	KAWGNNQDGVVASQPAR	IKLQIWDTAGQER
SNAP-25	Rab3A	P60881	P63012	40	62	7,65E-02	1	2	MLQLVEESKDAGIR	VKTIYR
SNAP-25	Rab3A	P60881	P63012	40	72	1,00E-01	1	1	MLQLVEESKDAGIR	IKLQIWDTAGQER
SNAP-25	V-ATPase-a	P60881	P25286	103	255	2,60E-02	1,3	5	KAWGNNQDGVVASQPAR	KEMASGVNTR
SNAP-25	V-ATPase-a	P60881	P25286	96	50	4,48E-04	1,3	3	LKSSDAYK	KFVNEVR
SNAP-25	V-ATPase-a	P60881	P25286	103	235	5,35E-02	1	1	KAWGNNQDGVVASQPAR	KICEGFR
SNAP-25	V-ATPase-a	P60881	P25286	40	255	7,67E-02	3	1	MLQLVEESKDAGIR	KEMASGVNTR
SNAP-25	V-ATPase-a	P60881	P25286	103	50	2,12E-01	1	1	KAWGNNQDGVVASQPAR	KFVNEVR
SNAP-25	V-ATPase-a	P60881	P25286	40	50	3,16E-01	3	1	MLQLVEESKDAGIR	KFVNEVR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
SNAP-25	V-ATPase-B	P60881	P62815	103	109	2,11E-01	1	1	KAWGNNQDGVVASQPAR	KTSCEFTGDILR
SNAP-25	V-ATPase-G2	P60881	Q8R2H 0	40	21	4,04E-01	1	1	MLQLVEESKDAGIR	AAEKVADAR
SNAP-25	V-ATPase-G2	P60881	Q8R2H 0	103	21	5,04E-01	3	1	KAWGNNQDGVVASQPAR	AAEKVADAR
V-ATPase-a	SNAP-25	P25286	P60881	255	102	4,65E-02	3	2	KEMASGVNTR	SSDAYKK
V-ATPase-a	SNAP-25	P25286	P60881	255	96	8,69E-02	1	4	KEMASGVNTR	LKSSDAYK
GLNA	SNAP-25	P09606	P60881	107	96	3,22E-01	1	2	KPAETNLR	LKSSDAYK
SNAP-25	AP2A1	P60881	D3ZUY 8	103	35	2,62E-01	1	1	KAWGNNQDGVVASQPAR	INKELANIR
SNAP-25	G3P	P60881	P04797	103	261	2,26E-03	1,3	4	KAWGNNQDGVVASQPAR	VVKQAAEGLPK
SNAP-25	G3P	P60881	P04797	40	261	1,46E-02	1	1	MLQLVEESKDAGIR	VVKQAAEGLPK
SNAP-25	G3P	P60881	P04797	103	217	1,50E-01	1	1	KAWGNNQDGVVASQPAR	AVGKVIPELNGK
SNAP-25	G3P	P60881	P04797	103	70	2,86E-01	1	1	KAWGNNQDGVVASQPAR	LVINGKPITIFQER
SNAP-25	GLNA	P60881	P09606	40	107	6,36E-03	1,2,3	3	MLQLVEESKDAGIR	KPAETNLR
SNAP-25	GLNA	P60881	P09606	103	291	2,11E-01	1,2	2	KAWGNNQDGVVASQPAR	AYDPKGGLDNAR
SNAP-25	GLNA	P60881	P09606	40	291	4,20E-01	1	1	MLQLVEESKDAGIR	AYDPKGGLDNAR
SNAP-25	MBP	P60881	P02688	40	100	2,39E-01	1	1	MLQLVEESKDAGIR	TTHYGLSLPQKSQR
Syntaxin-1A	Synaptotagmin-1	P32851	P21707	204	107	2,69E-01	1	1	HSEIIKLENSIR	DVKDLGK
Syntaxin-1A	SV2A	P32851	Q0256 3	204	385	1,60E-02	1	1	HSEIIKLENSIR	AKGHPER
Synaptophysin	Syntaxin-1A	P07825	P32851	83	204	2,36E-01	1,3	2	LHQVYFDAPSCVKGTTK	HSEIIKLENSIR
Synaptophysin	Syntaxin-1A	P07825	P32851	163	204	2,99E-01	3	1	GLSDVKMATDPENIIK	HSEIIKLENSIR
Syntaxin-1A	Synaptophysin	P32851	P07825	204	186	3,13E-01	3	1	HSEIIKLENSIR	QTGNTCKELR
Syntaxin-1A	Synapsin-1	P32851	P09951	204	179	6,78E-02	2,3	3	HSEIIKLENSIR	SLKPDFVLIR
Syntaxin-1A	Synapsin-1	P32851	P09951	204	318	2,76E-01	1	1	HSEIIKLENSIR	VQKIGQNYK
Synapsin-1	Syntaxin-1A	P09951	P32851	591	204	8,33E-04	1,2,3	4	QGPPQKPPGAPGPIR	HSEIIKLENSIR
Synapsin-1	Syntaxin-1A	P09951	P32851	574	204	1,55E-01	1,2	2	QASISGPAPPK _R VSGASPGGQQ	HSEIIKLENSIR
Synapsin-1	Syntaxin-1A	P09951	P32851	311	204	3,13E-01	1	1	TYATAEPFIDAKYDVR	HSEIIKLENSIR
Syntaxin-1A	V-ATPase-a	P32851	P25286	204	255	2,21E-01	1,3	2	HSEIIKLENSIR	KEMASGVNTR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
Syntaxin-1A	V-ATPase-a	P32851	P25286	204	50	2,27E-01	1	2	HSEIIKLENSIR	KFVNEVR
Syntaxin-1A	V-ATPase-G2	P32851	Q8R2H 0	204	21	1,33E-01	1	1	HSEIIKLENSIR	AAEKVADAR
Syntaxin-1A	G3P	P32851	P04797	204	261	2,17E-04	1	2	HSEIIKLENSIR	VVKQAAEGLPK
Syntaxin-1A	G3P	P32851	P04797	204	249	3,82E-01	1	1	HSEIIKLENSIR	LEKPAK
Synaptophysin	SV2A	P07825	Q0256 3	83	385	9,23E-04	1	3	LHQVYFDAPSCVKGGTTK	AKGHPER
Synaptophysin	Synaptogyrin-1	P07825	Q6287 6	163	136	1,40E-04	1	1	GLSDVKMATDPENIIK	PKDNPLNEGTDAAAR
Synaptophysin	Synaptogyrin-1	P07825	Q6287 6	83	136	7,17E-02	1	1	LHQVYFDAPSCVKGGTTK	PKDNPLNEGTDAAAR
Synapsin-1	Synaptophysin	P09951	P07825	574	163	2,38E-02	1	1	QASISGPAPPKVS R	GLSDVKMATDPENIIK
Synaptophysin	V-ATPase-a	P07825	P25286	83	50	2,50E-03	1	1	LHQVYFDAPSCVKGGTTK	KFVNEVR
V-ATPase-d	Synaptophysin	Q5M7T6	P07825	24	83	5,11E-03	1	1	GLKAGVLSQADYLN DLK	LHQVYFDAPSCVKGGTTK
V-ATPase-a	SV2A	P25286	Q0256 3	50	385	1,57E-01	1,3	2	KFVNEVR	AKGHPER
V-ATPase-A	V-ATPase-B	D4A133	P62815	443	403	4,79E-01	3	1	KHFPSVNWLSYSK	LMKSAIGEGMTR
V-ATPase-B	V-ATPase-E1	P62815	Q6PCU 2	48	191	1,02E-10	1,2,3	10	LTYKTVSGVNGPLV LDHVK	IKVSNTLESR
V-ATPase-B	V-ATPase-E1	P62815	Q6PCU 2	81	191	1,61E-02	1,2	2	YAEIVHLTLPDGT KTR	IKVSNTLESR
V-ATPase-B	V-ATPase-E1	P62815	Q6PCU 2	109	191	4,01E-03	1	4	KTSCEFTGDILR	IKVSNTLESR
V-ATPase-G	V-ATPase-E1	B2GUV5	Q6PCU 2	37	52	3,85E-04	1	1	QAKEEAQAEIEQYR	LKIMEYYEK
V-ATPase-G2	V-ATPase-E1	Q8R2H0	Q6PCU 2	37	52	7,54E-05	1,3	3	QAKEEAQMEVEQYR	LKIMEYYEK
ALDOC	Aldoa	P09117	P05065	111	111	4,12E-03	1	3	VDKGVVPLAGTDG GLLER	VDKGVVPLAGTNG GLDGLSER
Arcp4	ARP5L	B2RZ72	A1L108	44	69	4,74E-01	3	1	SSKELLQPVTISR	NSPINTKNQAVK
PRS4	PRS7	P62193	Q6334 7	69	58	2,35E-04	1	2	IKDYLLMEEEFIR	KINELTGK
Psmd14	Psmd7	Q4V8E2	D4AEH 3	152	180	1,58E-01	1	1	AVAVVVDPIQSVK GK	DIKDTTVGTL SQR
intramolekulare Quervernetzung										
Synaptobrevin-2	Synaptobrevin-2	P63045	P63045	59	52	1,06E-03	1,2,3	7	DQKLSLDDR	VNVDKVLER
Synaptobrevin-2	Synaptobrevin-2	P63045	P63045	83	59	2,31E-09	1,2,3	29	ADALQAGASQFET SAAK	DQKLSLDDR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
Synaptobrevin-2	Synaptobrevin-2	P63045	P63045	59	87	1,30E-16	1,2,3	35	DQKLSLDDR	KYWWK
Synaptobrevin-2	Synaptobrevin-2	P63045	P63045	83	87	1,21E-21	1,2,3	219	ADALQAGASQFETSAAKLK	KYWWK
Synaptobrevin-2	Synaptobrevin-2	P63045	P63045	59	91	1,26E-05	1,2,3	21	DQKLSLDDR	KYWWKLNK
Synaptobrevin-2	Synaptobrevin-2	P63045	P63045	83	91	4,31E-07	1,2,3	145	ADALQAGASQFETSAAKLK	KYWWKLNK
Synaptobrevin-2	Synaptobrevin-2	P63045	P63045	85	91	3,16E-01	2,3	2	ADALQAGASQFETSAAKLKR	YWWKLNK
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	40	102	1,52E-10	1,2,3	66	MLQLVEESKDAGIR	SSDAYKK
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	102	76	3,63E-01	1,2,3	4	SSDAYKKAWGNNQDGVVASQ PAR	DMKEAEKNLTLGK
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	103	40	1,80E-10	1,2,3	99	KAWGNNQDGVVASQPAR	MLQLVEESKDAGIR
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	72	103	3,39E-01	1,2,3	6	IIEGMDQINKDMKEAEK	KAWGNNQDGVVASQPAR
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	103	76	2,16E-01	1,2,3	7	KAWGNNQDGVVASQPAR	EAEKNLTLGK
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	103	96	7,62E-20	1,2,3	72	KAWGNNQDGVVASQPAR	LKSSDAYK
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	184	102	3,33E-16	1,2,3	56	IMEKADSNK	SSDAYKK
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	103	184	4,94E-12	1,2,3	80	KAWGNNQDGVVASQPAR	IMEKADSNK
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	40	184	2,09E-06	1,2,3	51	MLQLVEESKDAGIR	IMEKADSNK
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	184	96	6,38E-18	1,2,3	62	IMEKADSNK	LKSSDAYK
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	102	189	2,54E-18	1,2,3	16	SSDAYKK	ADSNKTR
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	103	189	2,62E-10	1,2,3	46	KAWGNNQDGVVASQPAR	ADSNKTR
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	40	189	5,84E-03	1,2,3	11	MLQLVEESKDAGIR	ADSNKTR
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	96	189	7,85E-18	1,2,3	59	LKSSDAYK	ADSNKTR
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	103	201	1,09E-03	1,2,3	11	KAWGNNQDGVVASQPAR	ATKMLGSG
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	40	96	2,06E-10	1,2,3	67	MLQLVEESKDAGIR	LKSSDAYK
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	96	72	4,41E-01	3	2	FCGLVCPCNKLKSSDAYK	DMKEAEK
Syntaxin-1A	Syntaxin-1A	P32851	P32851	204	252	3,39E-08	1,2,3	30	HSEIIKLENSIR	AVSDTKK
Syntaxin-1A	Syntaxin-1A	P32851	P32851	204	260	1,68E-02	1,2	7	HSEIIKLENSIR	YQSKAR
Syntaxin-1B	Syntaxin-1B	P61265	P61265	45	87	4,11E-03	1,2	4	GCIEKLSERVEDVQVK	TANKVR
Syntaxin-1B	Syntaxin-1B	P61265	P61265	139	54	1,98E-02	3	1	FVEVMTEYNATQSKYR	LSEDVEQVKK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	114	107	1,20E-08	1,2,3	18	TMKDQALK	DVKDLGK

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	189	192	4,21E-10	1,2,3	29	VFLLPDKK	KFETK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	236	189	4,21E-04	1,2,3	19	FSKHDIIGFEK	VFLLPDKK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	236	192	3,24E-08	1,2,3	28	FSKHDIIGFEK	KFETK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	244	189	9,64E-05	1,2,3	9	HDIIGFEKVPMMNTVDFGHVTEE WR	VFLLPDKK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	244	192	3,82E-09	1,2,3	25	HDIIGFEKVPMMNTVDFGHVTEE WR	KFETK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	267	236	6,66E-04	1,2,3	11	DLQSAEKKEEQEK	FSKHDIIGFEK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	98	107	5,17E-03	1,3	10	GGKNAINMK	DVKDLGK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	200	196	1,04E-04	1,3	6	KTLNPFVNEQFTFK	FETKVHR
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	267	189	2,21E-02	1,3	8	DLQSAEKKEEQEK	VFLLPDKK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	267	192	2,00E-03	1,3	4	DLQSAEKKEEQEK	KFETK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	244	267	1,85E-06	1,3	8	HDIIGFEKVPMMNTVDFGHVTEE WR	DLQSAEKKEEQEK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	313	369	3,55E-08	1,3	10	MDVGGLSDPYVKIHLMQNGK	IGKNDAIGK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	313	375	3,14E-13	1,3	17	MDVGGLSDPYVKIHLMQNGK	NDAIGKVFVGYNSTGAELR
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	375	236	3,37E-06	1	4	NDAIGKVFVGYNSTGAELR	FSKHDIIGFEK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	272	192	5,00E-05	1	13	DLQSAEKKEEQEKLGDICFSLR	KFETK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	375	107	6,78E-05	1	3	NDAIGKVFVGYNSTGAELR	DVKDLGK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	236	191	6,95E-05	1	3	FSKHDIIGFEK	KKFETK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	332	366	1,59E-03	1	1	KNTLNPPYYNESFSFEVPEFIQ K	VQVVVTVLDYDKIGK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	133	141	1,70E-03	1	8	DQALKDDDAETGLTDGEEKEE PK	EEEKLGK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	236	107	5,20E-02	1	3	FSKHDIIGFEK	DVKDLGK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	272	189	1,73E-01	1	3	EEQEKLGDICFSLR	VFLLPDKK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	104	111	2,25E-01	3	1	NAINMKDVK	DLGKTMK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	196	107	2,96E-01	1	2	FETKVHR	DVKDLGK
Synaptotagmin-2	Synaptotagmin-2	P29101	P29101	190	193	6,38E-04	1,3	8	VFLLPDKK	KYETK
Synaptotagmin-2	Synaptotagmin-2	P29101	P29101	245	193	1,81E-05	1,3	4	HDIIGEVKVPMMNTVDLGQPIEE WR	KYETK
Synaptotagmin-2	Synaptotagmin-2	P29101	P29101	314	376	1,64E-03	1,3	3	MDVGGLSDPYVKIHLMQNGK	NEAIGKIFVGSNATGTELR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
Synaptotagmin-2	Synaptotagmin-2	P29101	P29101	245	190	2,68E-02	1	1	HDIIGEIVKVPMTVDLGGPIEE WR	VFLLPDKK
SV2A	SV2A	Q02563	Q0256 3	485	385	2,09E-06	1,2,3	4	TKVFPGER	AKGHPER
SV2A	SV2A	Q02563	Q0256 3	515	485	1,08E-05	1,2,3	11	GGQYFNDKFIGLR	TKVFPGER
SV2A	SV2A	Q02563	Q0256 3	288	385	1,30E-05	2,3	2	LLSGVGIGGSIPIVFSYFSEFLA QEKR	AKGHPER
SV2A	SV2A	Q02563	Q0256 3	375	385	5,12E-05	1,3	3	HDEAWMVLKQVHDTNMR	AKGHPER
SV2A	SV2A	Q02563	Q0256 3	143	485	3,00E-03	1,2	3	KDREELAQQYETILR	TKVFPGER
SV2A	SV2A	Q02563	Q0256 3	109	16	2,19E-04	1	3	AESGGKGER	GAKDIAK
SV2B	SV2B	Q63564	Q6356 4	341	328	1,15E-02	1,3	5	VFTVSHIKTPK	AKGTPEK
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	163	186	1,59E-04	1,2,3	21	GLSDVKMATDPENIIK	QTGNTCKELR
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	186	17	2,00E-04	1,2,3	8	QTGNTCKELR	VVKEPLGFVK
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	173	186	2,78E-03	1,2,3	14	MATDPENIIKEMPMCR	QTGNTCKELR
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	163	17	1,58E-07	1,3	3	GLSDVKMATDPENIIK	VVKEPLGFVK
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	83	163	6,55E-08	1,2	7	LHQVYFDAPSCVKGTTK	GLSDVKMATDPENIIK
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	83	173	3,26E-02	1,3	2	LHQVYFDAPSCVKGTTK	MATDPENIIKEMPMCR
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	83	186	1,26E-03	1,3	15	LHQVYFDAPSCVKGTTK	QTGNTCKELR
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	83	17	2,41E-07	1,3	10	LHQVYFDAPSCVKGTTK	VVKEPLGFVK
VGlu2	VGlu2	Q9JI12	Q9JI12	22	34	1,92E-05	1,3	6	NFAGKSLGQIYR	KQDNR
Scamp-1	Scamp-1	P56603	P56603	89	97	4,52E-06	1	1	EHALAQAEELLKR	KAAELDR
Scamp-3	Scamp-3	E9PTW1	E9PTW 1	105	112	1,24E-13	1,2,3	25	KQEELNR	KAAELDR
Scamp-3	Scamp-3	E9PTW1	E9PTW 1	77	112	5,20E-04	1	1	KLSPAEPK	KAAELDR
Rab11b	Rab11b	O35509	O3550 9	24	61	5,34E-04	1	1	VVLIGDSGVGKSNLLSR	TIKAQIWDTAGQER
Rab14	Rab14	P61107	P61107	193	61	5,24E-03	1,3	4	IYQNIQDGSLDLNAAESGVQHK PSAPQGGR	IKLQIWDTAGQER
Rab1A	Rab1A	Q6NYB7	Q6NYB 7	125	132	6,50E-05	1,2,3	7	LLVGNKCDLTTK	KVVDYTTAK
Rab1A	Rab1A	Q6NYB7	Q6NYB 7	119	132	1,14E-01	1,3	2	YASENVNKLIVGNK	KVVDYTTAK
Rab1B	Rab1B	P10536	P10536	122	129	5,56E-03	1,2,3	6	LLVGNKSDLTTK	KVVDNTTAK

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
Rab1B	Rab1B	P10536	P10536	116	129	1,04E-01	1	1	YASENVNKLIVGNK	KVVDNTTAK
Rab3A	Rab3A	P63012	P63012	35	62	1,31E-02	1,3	2	ILIGNSSVGGKTSFLFR	VKTIYR
Rab3A	Rab3A	P63012	P63012	12	62	7,49E-04	1	3	YGQKESSDQNFDMFK	VKTIYR
Rab3A	Rab3A	P63012	P63012	12	72	7,23E-03	3	2	YGQKESSDQNFDMFK	IKLQIWDTAGQER
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	134	131	2,63E-04	1,2,3	29	KIHGEIDIK	YFKGK
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	179	134	5,04E-07	1,2,3	10	SLKPDFVLIR	KIHGEIDIK
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	179	173	1,99E-08	1,2,3	34	SLKPDFVLIR	NGVKVVR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	574	591	7,83E-04	1,2,3	21	QASISGPAPPKIVSGASPGGQQ R	QGPPQKPPGPAGPIR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	173	131	9,42E-02	1,3	3	NGVKVVR	YFKGK
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	134	173	5,69E-04	1,3	10	KIHGEIDIK	NGVKVVR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	179	318	5,58E-05	1,3	3	SLKPDFVLIR	VQKIGQNYK
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	324	179	7,08E-04	1,3	2	IGQNYKAYMR	SLKPDFVLIR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	238	311	1,28E-07	1	1	KLGTEEFPLIDQTFYPNHK	TYATAEPFIDAKYDVR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	311	179	2,91E-07	1	5	TYATAEPFIDAKYDVR	SLKPDFVLIR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	238	179	1,18E-06	1	1	KLGTEEFPLIDQTFYPNHK	SLKPDFVLIR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	281	179	1,90E-06	1	2	VKVDNQHDFQDIASVVALTK	SLKPDFVLIR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	281	318	4,06E-05	1	2	VKVDNQHDFQDIASVVALTK	VQKIGQNYK
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	281	311	1,48E-04	1	2	VKVDNQHDFQDIASVVALTK	TYATAEPFIDAKYDVR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	311	318	3,00E-04	1	6	TYATAEPFIDAKYDVR	VQKIGQNYK
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	574	179	3,82E-04	1	2	QASISGPAPPKIVSGASPGGQQ R	SLKPDFVLIR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	336	311	2,49E-02	3	1	TSVSGNWKTNLTGSAMLEQIAM SDR	TYATAEPFIDAKYDVR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	281	173	2,54E-02	1	1	VKVDNQHDFQDIASVVALTK	NGVKVVR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	591	179	5,60E-02	1	2	QGPPQKPPGPAGPIR	SLKPDFVLIR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	318	173	1,68E-01	1	1	VQKIGQNYK	NGVKVVR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	336	173	4,69E-01	1	1	TSVSGNWKTNLTGSAMLEQIAM SDR	NGVKVVR
V-ATPase-a	V-ATPase-a	P25286	P25286	109	70	2,31E-06	1,2,3	34	IENELKEINTNQEALK	FVEKEIR
V-ATPase-a	V-ATPase-a	P25286	P25286	255	235	2,68E-08	1,2,3	8	KEMASGVNTR	KICEGFR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
V-ATPase-a	V-ATPase-a	P25286	P25286	288	296	1,05E-08	1,2,3	17	VLQAAAKNIR	VWFIKVR
V-ATPase-a	V-ATPase-a	P25286	P25286	70	50	1,48E-03	1,2,3	6	FVEKEIR	KFVNEVR
V-ATPase-a	V-ATPase-a	P25286	P25286	74	70	5,71E-07	1,2,3	37	KANIPIMDTGENPEVPFPR	FVEKEIR
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133	D4A133	163	139	9,67E-05	1,2,3	18	VGSHITGGDIYGIVNENSLIKHK	WEFIPSKNLR
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133	D4A133	598	591	2,92E-05	1,2,3	9	IKADYAQLLEDMQNAFR	FKDPVKDGEAK
V-ATPase-a	V-ATPase-a	P25286	P25286	119	70	2,43E-01	1,2	2	EINTNQEALKR	FVEKEIR
V-ATPase-a	V-ATPase-a	P25286	P25286	74	119	6,03E-06	1,3	6	KANIPIMDTGENPEVPFPR	EINTNQEALKR
V-ATPase-a	V-ATPase-a	P25286	P25286	255	70	4,36E-02	1,3	2	KEMASGVNTR	FVEKEIR
V-ATPase-a	V-ATPase-a	P25286	P25286	288	70	5,15E-01	1,3	4	VLQAAAKNIR	FVEKEIR
V-ATPase-a	V-ATPase-a	P25286	P25286	70	835	8,99E-02	1,3	4	FVEKEIR	EGKFDE
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133	D4A133	139	165	7,16E-05	1,3	35	WEFIPSKNLR	HKIMLPPR
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133	D4A133	498	513	5,50E-07	1,2	5	EILQEEEDLAEIVQLVGKASLAE TDK	ITLEVAKLIK
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133	D4A133	498	516	3,64E-10	1,2	8	EILQEEEDLAEIVQLVGKASLAE TDK	LIKDDFLQQNGYTPYDR
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133	D4A133	596	587	4,54E-04	1,3	3	DGEAKIK	FKDPVK
V-ATPase-a	V-ATPase-a	P25286	P25286	129	255	2,61E-03	2	1	NFLELTELKFILR	KEMASGVNTR
V-ATPase-a	V-ATPase-a	P25286	P25286	103	288	9,68E-03	3	3	DMIDLEANFEKIENELK	VLQAAAKNIR
V-ATPase-a	V-ATPase-a	P25286	P25286	109	50	1,97E-02	1	1	IENELKEINTNQEALK	KFVNEVR
V-ATPase-a	V-ATPase-a	P25286	P25286	103	70	1,10E-01	3	1	DMIDLEANFEKIENELK	FVEKEIR
V-ATPase-a	V-ATPase-a	P25286	P25286	70	235	1,29E-01	1	1	FVEKEIR	KICEGFR
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133	D4A133	84	8	5,04E-01	1	1	TGKPLSVELGPGIMGAIFDGIQR PLSDISSQTQSIYIPR	LPKIR
V-ATPase-B	V-ATPase-B	P62815	P62815	48	108	4,14E-08	1,2,3	13	LTYKTVSGVNGPLVILDHVK	AVVQVFEGTSGIDAKK
V-ATPase-B	V-ATPase-B	P62815	P62815	48	109	1,54E-19	1,2,3	30	LTYKTVSGVNGPLVILDHVK	KTSCEFTGDILR
V-ATPase-B	V-ATPase-B	P62815	P62815	81	109	5,76E-07	1,2,3	6	YAEIVHLTLPDGTKR	KTSCEFTGDILR
V-ATPase-B	V-ATPase-B	P62815	P62815	81	137	2,41E-02	1,2,3	10	YAEIVHLTLPDGTKR	VFNGSGKPIDR
V-ATPase-B	V-ATPase-B	P62815	P62815	48	81	1,51E-06	1,2,3	10	LTYKTVSGVNGPLVILDHVK	YAEIVHLTLPDGTKR
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	147	156	9,92E-03	1,3	4	ASAYNNLKGNLQNLER	KNAGSLLTR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	156	245	2,22E-03	1	1	KNAGSLLTR	ENKFIVR
V-ATPase-d	V-ATPase-d	Q5M7T6	Q5M7T6 6	24	300	1,77E-09	1,2,3	21	GLKAGVLSQADYLNLVQCETLE DLK	FFEHEVKLNK
V-ATPase-d	V-ATPase-d	Q5M7T6	Q5M7T6 6	288	300	1,67E-06	1,2,3	26	LLFEGAGSNPGDKTLEDR	FFEHEVKLNK
V-ATPase-D	V-ATPase-D	Q6P503	Q6P503 3	20	24	1,34E-06	1,2,3	14	MAQTIMKAR	LKGAQTGR
V-ATPase-d	V-ATPase-d	Q5M7T6	Q5M7T6 6	288	343	6,29E-02	2,3	2	LLFEGAGSNPGDKTLEDR	AKIDNYPIF
V-ATPase-d	V-ATPase-d	Q5M7T6	Q5M7T6 6	73	77	4,51E-09	1,2	4	LHLQSTDYGNFLANEASPLTVS VIDDKLK	EKMVVEFR
V-ATPase-d	V-ATPase-d	Q5M7T6	Q5M7T6 6	275	300	1,55E-07	1	6	NVADYYPEYKLLFEGAGSNPG DK	FFEHEVKLNK
V-ATPase-D	V-ATPase-D	Q6P503	Q6P503 3	36	24	2,67E-03	1	2	KSDALTLR	LKGAQTGR
V-ATPase-E1	V-ATPase-E1	Q6PCU2	Q6PCU2 2	99	107	1,61E-06	1,2,3	20	DDLITDLLNEAKQR	VVKDTR
V-ATPase-E1	V-ATPase-E1	Q6PCU2	Q6PCU2 2	69	62	6,80E-07	1,2,3	11	KIQMSNLNMNQR	EKQIEQQK
V-ATPase-E1	V-ATPase-E1	Q6PCU2	Q6PCU2 2	99	104	3,63E-03	1,3	3	ARDDLITDLLNEAKQR	LSKVVK
V-ATPase-F	V-ATPase-F	P50408	P50408	102	110	9,30E-05	1,3	9	EHPYDAAKDSILR	AKGMFTAEDLR
AP2A1	AP2A1	D3ZUY8	D3ZUY8 8	35	31	3,01E-05	1,2,3	12	INKELANIR	EAEIKR
AP2B1	AP2B1	P62944	P62944	117	139	1,32E-06	1	1	VDKITEYLCEPLR	KTAAVCVAK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	256	224	4,99E-03	1,2,3	11	LSKFDSER	IVIEKQGK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	281	224	4,12E-04	1,2,3	12	TTKDIILPFR	IVIEKQGK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	400	312	5,08E-10	1,2,3	27	WARPPISMNFEVFPAPSGLKVR	SNFKPSLLAQK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	405	256	2,68E-04	1,2,3	8	YLVFEPK	LSKFDSER
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	235	224	2,85E-03	1,3	2	GTADETSKSGK	IVIEKQGK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	213	256	5,36E-02	1,3	9	SYLSGMPECKFGMNDK	LSKFDSER
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	227	256	3,64E-05	1,3	5	QGKGTADETSK	LSKFDSER
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	235	256	1,82E-03	1,3	4	GTADETSKSGK	LSKFDSER
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	219	281	6,21E-03	1,3	5	FGMNDKIVIEK	TTKDIILPFR
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	281	256	8,77E-03	1,2	4	TTKDIILPFR	LSKFDSER
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	400	235	6,22E-03	1,3	3	WARPPISMNFEVFPAPSGLKVR	GTADETSKSGK

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	420	405	3,85E-01	1,3	3	LNYSDDHDIKWVR	YLKVFEPK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	238	405	2,74E-06	1	3	SGKQSIADDCTFHQCVR	YLKVFEPK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	238	281	3,92E-06	1	3	SGKQSIADDCTFHQCVR	TTKDIILPFR
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	238	227	1,04E-05	1	4	SGKQSIADDCTFHQCVR	QGKGTADETSK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	238	256	2,38E-04	1	5	SGKQSIADDCTFHQCVR	LSKFDSER
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	238	224	2,73E-03	1	3	SGKQSIADDCTFHQCVR	IVIEKQGG
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	281	235	3,87E-02	1	3	TTKDIILPFR	GTADETSKSGK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	139	256	1,28E-01	1	1	TFITQQGIKSQHQTK	LSKFDSER
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	219	256	2,07E-01	1	1	FGMNDKIVIEK	LSKFDSER
AP2S1	AP2S1	P62744	P62744	45	56	1,68E-04	1,2,3	12	DAKHTNFVEFR	NFKIIYR
AP2S1	AP2S1	P62744	P62744	30	56	9,86E-06	1	5	QKLIEEVHAVVTVR	NFKIIYR
AAK1	AAK1	P0C1X8	P0C1X8	178	169	2,61E-07	1,2	9	DLKVENILLHDR	LHQCKTPIIHR
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	147	108	4,08E-04	1,2,3	7	DGADFAKWR	GGVVGIVKVDK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	312	318	4,30E-03	1,2,3	10	ALQASALKAWGGK	KENLK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	147	101	5,00E-04	1,3	7	DGADFAKWR	SKGGVVGIIK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	147	139	5,60E-05	1	4	DGADFAKWR	CAQYKK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	111	147	6,02E-05	1	2	VDKGVVPLAGTNGETTTQGLD GLSER	DGADFAKWR
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	42	101	7,64E-05	1	6	GILAADESTGSIKR	SKGGVVGIIK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	208	13	8,42E-05	1	11	CQYVTEKVLAAVYK	PHPYPALTPEQKK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	200	13	2,00E-04	1	7	YASICQQNGIVIVEPEILPDGD HDLKR	PHPYPALTPEQKK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	28	322	5,47E-04	1	1	IVAPGKGILAADESTGSIKR	ENLKAAQEEYIK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	111	312	1,30E-03	1	1	VDKGVVPLAGTNGETTTQGLD GLSER	ALQASALKAWGGK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	99	42	1,42E-03	1	2	ADDGRPFQVIKSK	GILAADESTGSIKR
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	28	147	1,73E-03	1	4	IVAPGKGILAADESTGSIKR	DGADFAKWR
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	101	318	2,24E-03	1	2	SKGGVVGIIK	KENLK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	322	312	3,82E-03	1	3	ENLKAAQEEYIK	ALQASALKAWGGK

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
Amphiphysin	Amphiphysin	O08838	O08838	175	141	6,33E-03	1	1	AEEEFQKAQK	KLVDYDSAR
Annexin	Annexin	Q6IMZ3	Q6IMZ3	377	370	1,10E-04	2,3	3	AMKGIGTDEATIIDIITQR	AANDFNPDADAKALR
Atp1b1	Atp1b1	P07340	P07340	14	22	1,48E-08	1,3	4	KFIWNSEK	KEFLGR
Atp1b1	Atp1b1	P07340	P07340	278	217	1,85E-02	1	5	IECKAYGENIGYSEK	YNPNVLPVQCTGKR
Atp8a1	Atp8a1	F1LUT4	F1LUT4	319	337	6,30E-13	1,2,3	9	DGEKIIYQAASPDEGALVR	AAKQLNFVFTGR
Atp8a1	Atp8a1	F1LUT4	F1LUT4	415	408	2,58E-02	1,3	5	EITLKHLEQFATEGLR	LAESSKYK
Atp8a1	Atp8a1	F1LUT4	F1LUT4	319	393	2,78E-05	1	2	DGEKIIYQAASPDEGALVR	LYCKGADTVIYER
Calmodulin-1	Calmodulin-1	P0DP29	P0DP29	22	95	2,00E-04	1	2	EAFSLFDKDGDTITTK	VFDKDGNGYISAAELR
CC50A	CC50A	Q6AY41	Q6AY41	179	100	4,79E-06	1,2	4	NVKFR	YVKSR
Cct6a	Cct6a	Q3MHS9	Q3MHS9	265	261	1,22E-06	1,2,3	10	KFIEDR	LVKAER
Cct6a	Cct6a	Q3MHS9	Q3MHS9	265	273	4,45E-05	1	2	KFIEDR	KIVELK
Cd47	Cd47	P97829	P97829	122	59	3,59E-04	1,3	6	EGKTVIELK	WKLNK
CN37	CN37	P13233	P13233	203	196	2,04E-09	1,3	3	KAGQVFLEELGNHK	KSSETLR
CSP	CSP	P60905	P60905	56	41	8,83E-08	1,2,3	19	NPDNPEAADKFK	LALKYHPDK
Dmx-like-2	Dmx-like-2	F1M3W5	F1M3W5	1884	1877	9,97E-06	1	3	KLFFTTANAHFK	NIADKINLIER
Dmx-like-2	Dmx-like-2	F1M3W5	F1M3W5	1869	1877	3,41E-01	2	1	NLASPEGLATLGLKTEK	NIADKINLIER
Dynamamin-1	Dynamamin-1	P21575	P21575	257	246	7,78E-05	1,3	3	KFFLSHPSYR	KDITAALAAER
Dynamamin-1	Dynamamin-1	P21575	P21575	393	382	1,83E-02	1,3	3	EISYAIKNIHGIR	MEFDEKELR
Dynamamin-1	Dynamamin-1	P21575	P21575	414	421	3,45E-04	1,3	5	TGLFTPDLAFEATVKK	LKEPSIK
Dynamamin-1	Dynamamin-1	P21575	P21575	562	598	1,50E-05	1,3	10	KYMLSVDNLK	NVYKDYR
Dynamamin-1	Dynamamin-1	P21575	P21575	393	415	4,15E-01	1	1	EISYAIKNIHGIR	KQVQK
EF1A1	EF1A1	P62630	P62630	386	378	3,87E-03	1	3	KLEDGPK	EKIDR
FIS1	FIS1	P84817	P84817	85	92	1,17E-05	1,2,3	4	LKEYEK	ALKYVR
G3P	G3P	P04797	P04797	257	249	1,21E-05	1,2,3	21	YDDIKK	LEKPAK
G3P	G3P	P04797	P04797	261	257	5,70E-12	1,2,3	24	VVKQAAEGPLK	YDDIKK

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
G3P	G3P	P04797	P04797	213	225	8,59E-05	1,3	7	GAAQNIIPASTGAAKAVGK	VIPELNGKLTGMAFR
G3P	G3P	P04797	P04797	225	249	9,36E-02	1,3	3	VIPELNGKLTGMAFR	LEKPAK
G3P	G3P	P04797	P04797	70	59	2,44E-03	1,3	6	LVINGKPITIFQER	FNGTVKAENGK
G3P	G3P	P04797	P04797	225	261	9,91E-05	1	1	VIPELNGKLTGMAFR	VVKQAAEGPLK
G3P	G3P	P04797	P04797	70	2	3,92E-04	1	4	LVINGKPITIFQER	VKVGVNGFGR
G3P	G3P	P04797	P04797	261	252	1,35E-02	1	3	VVKQAAEGPLK	PAKYDDIKK
G3P	G3P	P04797	P04797	70	192	6,56E-02	1	2	LVINGKPITIFQER	TVDGSPSGKLWR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	103	107	9,58E-06	1,2,3	14	LVFCEVFKYNR	KPAETNLR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	372	107	8,67E-04	1,2,3	14	TCLLNETGDEPFQYKN	KPAETNLR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	276	107	2,20E-03	1,2	5	CIEEAIDKLSK	KPAETNLR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	107	334	4,66E-04	1,3	3	KPAETNLR	KGYFEDR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	372	291	2,52E-04	1	1	TCLLNETGDEPFQYKN	AYDPKGGLDNAR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	103	334	4,65E-02	1	1	LVFCEVFKYNR	KGYFEDR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	291	334	6,65E-02	1	1	AYDPKGGLDNAR	KGYFEDR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	291	107	7,43E-02	1	2	AYDPKGGLDNAR	KPAETNLR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	103	291	4,80E-01	1	3	LVFCEVFKYNR	AYDPKGGLDNAR
GNAO	GNAO	P59215	P59215	24	17	1,15E-03	1	2	NLKEDGISAAC	SKAIEK
GPM6A	GPM6A	Q812E9	Q812E9 9	257	250	1,06E-06	1,2,3	13	SKEEQELHDIHSTR	MQKYEDIK
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	68	56	2,09E-01	1,3	3	LLKHPNIVR	DHQKLER
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	267	137	8,74E-06	1	3	ITAAEALKHPWISHR	DLKPENLLLASK
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	42	56	4,20E-03	1	4	VLAGQEYAAKIINTK	DHQKLER
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	344	347	2,91E-02	1	4	ESSESTNTTIEDEDTKVR	KQEIIK
KCRU	KCRU	P25809	P25809	332	403	5,96E-08	1,2,3	16	AGVHVKLPKLSK	LEKGQDIR
KCRU	KCRU	P25809	P25809	332	276	1,94E-02	1,3	4	AGVHVKLPKLSK	VISMEKGGNMK
KPCB	KPCB	P68403-2	P68403-2	607	611	1,86E-02	1,3	2	YIDWEKLER	KEIQPPYKPK
KPCG	KPCG	P63319	P63319	28	37	1,71E-02	1,3	2	QKV/VHEVK	SHKFTAR
LAMP5	LAMP5	Q5PPI4	Q5PPI4 4	118	96	1,02E-02	1,2,3	7	AYTLKMLFVK	GAEVKGR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
LSAMP	LSAMP	Q62813	Q62813	58	88	3,52E-01	3	1	CVVEDKNSK	VELEKR
MBP	MBP	P02688	P02688	166	159	3,24E-02	1,3	2	GFKGAYDAQGTLISK	ASDYKSAHK
Myosin-Va	Myosin-Va	A0A0G2K4Y7	A0A0G2K4Y7	994	997	9,23E-04	1,2,3	4	VLSLQEEIAKLR	KDLEQTR
NSF	NSF	Q9QUL6	Q9QUL6	198	202	2,74E-04	1,2,3	7	AENSSLNLIGKAK	TKENR
NSF	NSF	Q9QUL6	Q9QUL6	283	275	5,50E-04	1	2	EPKVVNGPEILNK	QIGKMLNAR
NSF	NSF	Q9QUL6	Q9QUL6	304	275	9,54E-02	3	1	KLFADAEIEEQR	QIGKMLNAR
OPCM	OPCM	P32736	P32736	230	275	1,72E-02	1,3	6	AKNTGVSVGQK	IENKGR
PFKAP	PFKAP	P47860	P47860	730	737	7,64E-10	1,2,3	20	DLLFKPVAELR	KATDFEHR
PFKAP	PFKAP	P47860	P47860	730	688	8,32E-02	1	1	DLLFKPVAELR	NFGTKISAK
PSA2	PSA2	P17220	P17220	53	64	7,04E-03	1	4	QKSILYDER	SVHKVEPITK
PSA3	PSA3	P18422	P18422	230	238	2,84E-02	1	3	HEIVPKDVR	EEAEKYAK
Psmc6	Psmc6	G3V6W6	G3V6W6	34	41	2,75E-02	1	5	LLEHKEIDGR	LKELR
PTN9	PTN9	Q641Z2	Q641Z2	81	74	1,32E-04	1,3	3	LKPHEEPLR	KEGIVK
RAC1	RAC1	Q6RUV5	Q6RUV5	116	128	1,39E-04	1,2,3	7	HHCPNTPILVGTKLDLR	DDKDTIEKLLK
RAC1	RAC1	Q6RUV5	Q6RUV5	153	166	1,64E-04	1	1	EIGAVKYLECSALTQR	GLKTVFDEAIR
Rasal1	Rasal1	D3ZHY9	D3ZHY9	576	574	9,91E-09	1,2,3	13	KEEPASLATR	EGFLLKR
RS27A	RS27A	P62982	P62982	1	29	4,39E-05	1,3	4	MQIFVK	AKIQDK
TCPD	TCPD	Q7TPB1	Q7TPB1	21	29	1,34E-03	1,3	4	GKGAYQDR	DKPAQIR
TCPD	TCPD	Q7TPB1	Q7TPB1	42	29	1,21E-01	1,3	2	FSNISAAKAVADAIR	DKPAQIR
VAPA	VAPA	Q9Z270	Q9Z270	125	52	3,17E-01	1,3	3	EAKPDELMDSKLR	VKTTAPR
VIAAT	VIAAT	O35458	O35458	8	23	5,68E-06	1,3	8	SKLTVNATSVSNK	SQAKVSGMFAR
WDR7	WDR7	Q9ERH3	Q9ERH3	862	868	1,41E-04	1	3	LLQAKAEAGR	KGPATESVGK
Wfs1	Wfs1	E9PT53	E9PT53	800	836	1,97E-06	1,3	3	GHEEDDITKDIVLR	LGSKWPVFELK
Wfs1	Wfs1	E9PT53	E9PT53	800	681	4,50E-02	3	2	GHEEDDITKDIVLR	AWKETNMAR

8.3.8 Identifizierte Quervernetzungen nach Fusion der synaptischen Vesikel mit Proteoliposomen.

Tabelle A. 8: Identifizierte Quervernetzungen nach Fusion der synaptischen Vesikel mit Proteoliposomen.

Die Proteinennamen (Protein 1/Protein 2), Akzessionsnummer der Datenbank UniProt (UP-Nr. 1/ UP-Nr. 2), die Position der Quervernetzungen in den Proteinen (QPos 1/ QPos 2), der Wert der Datenbanksuchmaschine für die identifizierte Quervernetzung (Wert), die Nummer der Replikate, in welcher die Quervernetzung identifiziert wurde (Repl.), die Anzahl an Spektren des quervernetzten Peptidpaars (#Spektren) und die Sequenz der quervernetzten Peptide (Peptidsequenz 1/Peptidsequenz 2) ist gelistet. Innerhalb der Peptidsequenzen ist die quervernetzte Aminosäure hervorgehoben.

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
homomultimere Quervernetzungen										
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	103	102	3,16E-04	1,2,3	14	K AWGNNQDGVVASQPAR	SSDAY K
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	103	103	8,95E-03	1,2,3	6	K AWGNNQDGVVASQPAR	K AWGNNQDGVVASQPAR
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	184	189	3,15E-04	1,3	3	IME K ADSNK	ADSN K TR
Syntaxin-1A	Syntaxin-1A	P32851	P32851	204	204	1,10E-04	1	5	HSEI I KLENSIR	HSEI I KLENSIR
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	83	83	6,90E-02	1,2	3	LHQVYFDAPSCV K GGTTK	LHQVYFDAPSCV K GGTTK
CSP	CSP	P60905	P60905	46	46	2,73E-06	2	5	YHPD K NPDPNPEAADKFK	YHPD K NPDPNPEAADK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	200	2,00E+02	7,95E-02	2	1	YASICQQNGIVPIVEPEILPDGDHD L K R	YASICQQNGIVPIVEPEILPDG DHDL K R
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	111	111	1,12E-03	2	4	VD K GVVPLAGTNGETTTQGLDGL SER	VD K GVVPLAGTNGETTTQGL DGLSER
ALDOC	ALDOC	P09117	P09117	111	111	4,03E-04	2	1	VD K GVVPLAGTDGETTTQGLDGL LER	VD K GVVPLAGTDGETTTQGL DGLLER
GLNA	GLNA	P09606	P09606	334	333	1,70E-02	1,2,3	4	K GYFEDR	IVG Q EKK
VAPA	VAPA	Q9Z270	Q9Z270	205	211	1,05E-03	2	2	K VAHSDKPGSTSAVSFR	VAHSD K PGSTSAVSFR
intermolekulare Quervernetzungen										
Synaptobrevin-2	SNAP-25	P63045	P60881	52	96	3,01E-01	3	1	VNV D KVLER	LKSSDAY K
Synaptobrevin-2	SNAP-25	P63045	P60881	59	184	1,83E-01	3	1	D Q KLSELDDR	IME K ADSNK
Synaptobrevin-2	SNAP-25	P63045	P60881	83	96	4,07E-02	2	1	ADALQAGASQFETS A AKLK	LKSSDAY K
Synaptobrevin-2	SNAP-25	P63045	P60881	52	184	1,57E-02	2	1	VNV D KVLER	IME K ADSNK
Synaptobrevin-2	SNAP-25	P63045	P60881	83	103	3,80E-04	1,2,3	5	ADALQAGASQFETS A AKLK	K AWGNNQDGVVASQPAR
Syntaxin-1B	Synaptobrevin-2	P61265	P63045	93	52	3,80E-01	2	1	L K AIEQSIEQEELNR	VNV D KVLER
Synaptotagmin-1	Synaptobrevin-2	P21707	P63045	288	59	3,30E-01	2	1	YVPTAG K LTVVILEAK	D Q KLSELDDR
Synaptotagmin-1	Synaptobrevin-2	P21707	P63045	332	59	2,13E-02	2	1	K NTLNPYYNESFSFVPEFIQK	D Q KLSELDDR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
Synaptotagmin-1	Synaptobrevin-2	P21707	P63045	375	59	1,38E-02	2	3	NDAIGKVFVGYNSTGAELR	DQKLSLDDR
Synaptobrevin-2	CSP	P63045	P60905	52	32	2,85E-01	3	1	VNVDKVLER	NATSDDIKK
CSP	Synaptobrevin-2	P60905	P63045	46	52	4,16E-01	2	1	YHPDKNPDNPEAADK	VNVDKVLER
CSP	Synaptobrevin-2	P60905	P63045	46	59	5,84E-03	2,3	2	YHPDKNPDNPEAADK	DQKLSLDDR
Synaptobrevin-2	RAB3A	P63045	P63012	59	62	3,88E-01	2	1	DQKLSLDDR	VKTIYR
Synaptobrevin-2	RAB3A	P63045	P63012	52	62	2,45E-01	2	2	VNVDKVLER	VKTIYR
RAB3A	Synaptobrevin-2	P63012	P63045	173	52	9,90E-02	2	2	DNINVKQTFER	VNVDKVLER
Synaptobrevin-2	Scamp-1	P63045	P56603	59	97	1,21E-01	3	1	DQKLSLDDR	KAAELDR
SNAP-25	Synaptobrevin-2	P60881	P63045	103	87	2,41E-01	2	1	KAWGNNQDGVVASQPAR	KYWWK
SNAP-25	Synaptobrevin-2	P60881	P63045	103	59	5,25E-03	2,3	5	KAWGNNQDGVVASQPAR	DQKLSLDDR
Synaptobrevin-2	SV2A	P63045	Q02563	52	16	2,24E-01	2	3	VNVDKVLER	GAKDIAK
Synaptobrevin-2	SV2A	P63045	Q02563	52	32	1,79E-01	2	2	VNVDKVLER	VVKGLDR
Synaptobrevin-2	SV2A	P63045	Q02563	59	385	1,43E-01	2,3	2	DQKLSLDDR	AKGHPER
Synaptobrevin-2	SV2A	P63045	Q02563	52	385	1,24E-01	2,3	4	VNVDKVLER	AKGHPER
Synaptobrevin-2	Synapsin-1	P63045	P09951	59	179	4,56E-03	2	2	DQKLSLDDR	SLKPDFLIR
Synapsin-1	Synaptobrevin-2	P09951	P63045	179	52	5,82E-02	2	4	SLKPDFLIR	VNVDKVLER
Synaptobrevin-2	Synaptophysin	P63045	P07825	59	186	5,41E-02	2,3	2	DQKLSLDDR	QTGNTCKELR
Synaptophysin	Synaptobrevin-2	P07825	P63045	163	52	4,27E-02	2	1	GLSDVKMATDPENIHK	VNVDKVLER
Synaptophysin	Synaptobrevin-2	P07825	P63045	83	52	3,83E-03	2	2	LHQVYFDAPSCVKGTTK	VNVDKVLER
Synaptophysin	Synaptobrevin-2	P07825	P63045	83	83	2,87E-04	2	3	LHQVYFDAPSCVKGTTK	ADALQAGASQFETSAAKLLK
Synaptophysin	Synaptobrevin-2	P07825	P63045	83	59	1,27E-04	2,3	5	LHQVYFDAPSCVKGTTK	DQKLSLDDR
Synaptobrevin-2	Synaptotagmin-1	P63045	P21707	52	192	1,29E-01	2	1	VNVDKVLER	KFETK
Synaptobrevin-2	Syntaxin-1B	P63045	P61265	52	116	6,92E-02	2,3	3	VNVDKVLER	KTQHSTLSR
Synaptobrevin-2	V-ATPase-a1	P63045	P25286	59	70	3,23E-01	2	1	DQKLSLDDR	FVEKEIR
Synaptobrevin-2	V-ATPase-a1	P63045	P25286	59	50	1,02E-01	3	1	DQKLSLDDR	KFVNEVR
Synaptobrevin-2	V-ATPase-a1	P63045	P25286	52	50	4,24E-02	2,3	3	VNVDKVLER	KFVNEVR
Synaptobrevin-2	V-ATPase-a1	P63045	P25286	59	255	3,94E-02	2,3	4	DQKLSLDDR	KEMASGVNTR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
Synaptobrevin-2	V-ATPase-a1	P63045	P25286	52	235	8,53E-03	2	1	VNVDKVLER	KICEGFR
Synaptobrevin-2	V-ATPase-E1	P63045	Q6PCU2	59	82	2,73E-01	2	1	DQKLSLEDDR	LKVLR
V-ATPase-a1	Synaptobrevin-2	P25286	P63045	255	52	5,57E-03	3	2	KEMASGVNTR	VNVDKVLER
Synaptobrevin-2	VGlu1	P63045	Q62634	52	25	2,58E-01	2	2	VNVDKVLER	LLEKR
SNAP-25	Syntaxin-1A	P60881	P32851	103	204	5,18E-11	1,2,3	15	KAWGNNQDGVVASQPAR	HSEIIKLENSIR
SNAP-25	Syntaxin-1A	P60881	P32851	40	204	2,06E-13	1,2,3	28	MLQLVEESKDAGIR	HSEIIKLENSIR
SNAP-25	Syntaxin-1B	P60881	P61265	102	251	2,84E-02	1,3	2	SSDAYKK	AVSDTKK
SNAP-25	V-ATPase-G2	P60881	Q8R2H0	103	21	3,69E-01	1	2	KAWGNNQDGVVASQPAR	AAEKVADAR
SNAP-25	SRC	P60881	Q9WUD9	40	5	5,29E-01	1	1	MLQLVEESKDAGIR	MGSNKSK
Syntaxin-1A	SNAP-25	P32851	P60881	204	102	1,11E-01	1,3	3	HSEIIKLENSIR	SSDAYKK
Syntaxin-1A	SNAP-25	P32851	P60881	204	184	5,04E-02	1,3	2	HSEIIKLENSIR	IMEKADSNK
Syntaxin-1A	SNAP-25	P32851	P60881	204	96	6,27E-03	1,3	7	HSEIIKLENSIR	LKSSDAYK
SV2A	Synaptotagmin-1	Q02563	P21707	385	107	1,31E-01	2	1	AKGHPER	DVKDLGK
Synapsin-1	Syntaxin-1A	P09951	P32851	591	204	2,91E-01	3	1	QGPPQKPPGPAGPIR	HSEIIKLENSIR
Synapsin-1	SNAP-25	P09951	P60881	574	103	3,85E-01	2	1	QASISGPAPPKVGASPGGQQR	KAWGNNQDGVVASQPAR
Synapsin-1	SV2A	P09951	Q02563	179	385	8,28E-02	3	1	SLKPDFVLIR	AKGHPER
Synapsin-1	Synaptophysin	P09951	P07825	574	83	2,10E-04	2	3	QASISGPAPPKVGASPGGQQR	LHQVYFDAPSCVKGGTTK
Synapsin-1	Synaptophysin	P09951	P07825	574	163	2,46E-06	2	2	QASISGPAPPKVGASPGGQQR	GLSDVKMATDPENIIK
Synaptogyrin-1	Synaptophysin	Q62876	P07825	136	186	3,46E-01	2	1	PKDNPLNEGDAAR	QTGNTCKELR
Synaptophysin	SV2A	P07825	Q02563	186	485	2,68E-01	1,2	4	QTGNTCKELR	TKVFPGER
Synaptophysin	SV2A	P07825	Q02563	186	385	1,53E-02	1	2	QTGNTCKELR	AKGHPER
Synaptophysin	SV2A	P07825	Q02563	83	515	2,41E-05	1,2	5	LHQVYFDAPSCVKGGTTK	GGQYFNDKFIGLR
Synaptophysin	SV2A	P07825	Q02563	83	385	4,70E-06	1,2,3	13	LHQVYFDAPSCVKGGTTK	AKGHPER
Synaptophysin	SV2A	P07825	Q02563	83	485	3,06E-06	1,2,3	12	LHQVYFDAPSCVKGGTTK	TKVFPGER
Synaptophysin	SV2B	P07825	Q63564	83	328	3,15E-01	2	1	LHQVYFDAPSCVKGGTTK	AKGTPEK
Synaptophysin	SV2B	P07825	Q63564	186	328	7,93E-03	1,2	3	QTGNTCKELR	AKGTPEK
Synaptophysin	Synapsin-1	P07825	P09951	83	591	9,46E-02	2,3	2	LHQVYFDAPSCVKGGTTK	QGPPQKPPGPAGPIR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
Synaptophysin	Synapsin-1	P07825	P09951	83	179	2,09E-03	2	2	LHQVYFDAPSCVKGGTTK	SLKPDFVLIR
Synaptophysin	Synaptogyrin-1	P07825	Q62876	83	136	1,75E-01	3	2	LHQVYFDAPSCVKGGTTK	PKDNPLNEGTDAAAR
Synaptophysin	Synaptoporin	P07825	P22831	83	64	5,50E-08	1,2	5	LHQVYFDAPSCVKGGTTK	LHQVTFEVPTCEGKER
Synaptoporin	SV2A	P22831	Q02563	64	485	8,67E-03	1	2	LHQVTFEVPTCEGKER	TKVFPGER
Synaptophysin	V-ATPase-a1	P07825	P25286	186	70	3,24E-01	1	1	QTGNTCKELR	FVEKEIR
Synaptophysin	V-ATPase-a1	P07825	P25286	186	50	5,22E-02	1,2,3	7	QTGNTCKELR	KFVNEVR
Synaptophysin	V-ATPase-a1	P07825	P25286	83	255	3,08E-02	3	1	LHQVYFDAPSCVKGGTTK	KEMASGVNTR
Synaptophysin	V-ATPase-a1	P07825	P25286	186	255	2,50E-02	2	3	QTGNTCKELR	KEMASGVNTR
Synaptophysin	V-ATPase-a1	P07825	P25286	83	50	1,57E-03	1,2,3	8	LHQVYFDAPSCVKGGTTK	KFVNEVR
Synaptophysin	V-ATPase-a1	P07825	P25286	83	235	2,78E-04	2,3	4	LHQVYFDAPSCVKGGTTK	KICEGFR
SV2A	V-ATPase-E1	Q02563	Q6PCU2	385	82	8,33E-02	2	1	AKGHPER	LKVLR
V-ATPase-a1	SV2A	P25286	Q02563	50	385	3,85E-03	1,2,3	9	KFVNEVR	AKGHPER
Synapsin-1	G3P	P09951	P04797	179	249	2,96E-01	2	1	SLKPDFVLIR	LEKPAK
Synapsin-1	RAB3A	P09951	P63012	311	173	2,72E-01	2	1	TYATAEPFIDAKYDVR	DNINVKQTFER
RAB3A	Synapsin-1	P63012	P09951	173	179	1,07E-01	2	2	DNINVKQTFER	SLKPDFVLIR
V-ATPase-d1	Synaptophysin	Q5M7T6	P07825	24	83	8,42E-07	2	1	GLKAGVLSQADYLNLVQCETLED LK	LHQVYFDAPSCVKGGTTK
V-ATPase-a1	PRR (RENr)	P25286	Q6AXS4	235	346	4,26E-03	2	2	KICEGFR	MTNQKIR
V-ATPase-d1	PRR (RENr)	Q5M7T6	Q6AXS4	187	346	2,57E-01	2	1	NTLYKAYLESFYK	MTNQKIR
V-ATPase-d1	V-ATPase-a1	Q5M7T6	P25286	77	70	2,56E-01	2	1	EKMVVEFR	FVEKEIR
V-ATPase-d1	V-ATPase-a1	Q5M7T6	P25286	322	70	1,20E-01	1	1	LKEQECR	FVEKEIR
V-ATPase-d1	V-ATPase-a1	Q5M7T6	P25286	239	50	7,88E-02	1	1	AKLFPHCGR	KFVNEVR
V-ATPase-d1	V-ATPase-a1	Q5M7T6	P25286	265	50	9,61E-03	1	4	ADDYEQVKNVADYYPEYK	KFVNEVR
V-ATPase-d1	V-ATPase-a1	Q5M7T6	P25286	73	70	4,78E-03	2	8	LHLQSTDYGNFLANEASPLTVSVI DDKLK	FVEKEIR
V-ATPase-G2	V-ATPase-a1	Q8R2H0	P25286	21	70	1,59E-01	1	2	AAEKVADAR	FVEKEIR
V-ATPase-G2	V-ATPase-a1	Q8R2H0	P25286	21	50	1,45E-02	1	7	AAEKVADAR	KFVNEVR
V-ATPase-B2	V-ATPase-A	P62815	D4A133	109	8	2,97E-01	2	2	KTSCEFTGDILR	LPKIR
V-ATPase-B2	V-ATPase-A	P62815	D4A133	245	220	1,08E-05	2	6	FFKSDFEENGSMNDVCLFLNLAN DPTIER	PVTEKLPANHPLLTGQR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
V-ATPase-A	V-ATPase-B2	D4A133	P62815	14	109	3,58E-03	2	1	IRDEDKESTFGYVHGVSGPVVTA CDMAGAAMYELVR	KTSCEFTGDILR
V-ATPase-A	V-ATPase-B2	D4A133	P62815	443	403	3,50E-03	2	1	KHFPSVNWLSYSK	LMKSAIGEGMTR
V-ATPase-A	V-ATPase-B2	D4A133	P62815	220	137	1,50E-06	1,2	8	QVRPVEKLPANHPLLTGQR	VFNGSGKPIDR
V-ATPase-d1	V-ATPase-C1	Q5M7T6	Q5FVI6	343	156	8,64E-03	2	2	AKIDNYIPIF	KNAGSLLTR
V-ATPase-E1	V-ATPase-C1	Q6PCU2	Q5FVI6	26	232	1,41E-03	2	2	HMMAFIEQEANEKAEIDAK	KAVDDFR
V-ATPase-d1	V-ATPase-D	Q5M7T6	Q6P503	343	133	3,80E-01	2	1	AKIDNYIPIF	GGEQLAKLK
V-ATPase-B2	V-ATPase-D	P62815	Q6P503	137	24	1,27E-01	1	2	VFNGSGKPIDR	LKGAQTGR
V-ATPase-B2	V-ATPase-D	P62815	Q6P503	93	218	8,35E-02	2	1	SGQVLEVSGSKAVVQVFEGTSGI DAK	SEKDLER
V-ATPase-A	V-ATPase-E1	D4A133	Q6PCU2	393	82	4,74E-02	1,2	4	VKCLGNPER	LKVLR
V-ATPase-A	V-ATPase-E1	D4A133	Q6PCU2	467	62	2,40E-02	2	4	ALDEYYDKHFTEFVPLR	EKQIEQQK
V-ATPase-A	V-ATPase-E1	D4A133	Q6PCU2	467	52	2,25E-02	2	1	ALDEYYDKHFTEFVPLR	LKIMEYYEK
V-ATPase-A	V-ATPase-E1	D4A133	Q6PCU2	220	82	5,80E-04	1	6	QVRPVEKLPANHPLLTGQR	LKVLR
V-ATPase-B2	V-ATPase-E1	P62815	Q6PCU2	109	191	2,53E-03	1,2	4	KTSCEFTGDILR	IKVSNTLESR
V-ATPase-B2	V-ATPase-E1	P62815	Q6PCU2	460	52	2,03E-03	2	3	FEKNFITQGPYENR	LKIMEYYEK
V-ATPase-B2	V-ATPase-E1	P62815	Q6PCU2	81	191	1,14E-12	1,2,3	29	YAEIVHLTLPDGTKR	IKVSNTLESR
V-ATPase-B2	V-ATPase-E1	P62815	Q6PCU2	48	191	1,54E-24	1,2	41	LTYKTVSGVNGPLVILDHVKFPFR	IKVSNTLESR
V-ATPase-G2	V-ATPase-E1	B2GUV5	Q6PCU2	37	52	4,48E-04	2	3	QAKEEAQAEIEQYR	LKIMEYYEK
V-ATPase-G2	V-ATPase-E1	Q8R2H0	Q6PCU2	58	62	3,90E-01	2	1	EQEFQSKQQAAMGSQGNLSAEV EQATR	EKQIEQQK
V-ATPase-G2	V-ATPase-E1	Q8R2H0	Q6PCU2	37	52	9,48E-05	2	3	QAKEEAQMEVEQYR	LKIMEYYEK
V-ATPase-a1	Scamp-1	P25286	P56603	50	97	9,15E-02	1	1	KFVNEVR	KAAELDR
V-ATPase-B2	Sbf1	P62815	M0RAP5	109	883	4,87E-01	2	1	KTSCEFTGDILR	PKLLR
AP2M1	AP2A1	P84092	D3ZUY8	11	26	3,97E-01	2	3	MIGGLFIYNHKGVLISR	SKEAEIK
ALDOC	Aldoa	P09117	P05065	111	111	3,83E-08	2	3	VDKGVVPLAGTDGETTTQGLDGL LER	VDKGVVPLAGTNGETTTQGL DGLSER
Arpc3	ARP3	B2GV73	Q4V7C7	61	348	2,06E-02	3	1	NYEIKNEADR	LKLSEELSGGR
Arpc4	ARP5L	B2RZ72	A1L108	44	69	6,40E-02	2,3	5	SSKELLQLPVTISR	NSPINTKNQAVK
BIN1	Amphiphysin	O08839	O08838	211	141	1,42E-06	1,3	4	NQAEELIKAQK	KLVDYDSAR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
Pfkm	PFKAP	Q52KS1	P47860	727	747	1,33E-01	2	1	ALVFQPVTELEKQDTDFEHR	IPKQQWWLK
PRS7	PRS4	Q63347	P62193	84	98	3,89E-01	2	1	ESDTGLAPPALWDLAADKQTLQS EQPLQVAR	SKVDDLR
Psmc6	Psmc3	G3V6W6	Q6P6U2	86	128	7,31E-03	2	2	FIVKATNGPR	CAVIKTSTR
Psmd14	Psmd7	Q4V8E2	D4AEH3	152	180	5,40E-02	2	2	AVAVVVDPIQSVKGG	DIKDTTVGTLTSQR
Psmd14	Psmd1	Q4V8E2	G3V8B6	209	574	8,75E-03	2	1	KNELEQK	DKDPILR
intramolekulare Quervernetzung										
Synaptobrevin-2	Synaptobrevin-2	P63045	P63045	52	87	2,39E-01	2,3	2	VNVDKVLER	KYWWK
Synaptobrevin-2	Synaptobrevin-2	P63045	P63045	83	87	3,29E-04	1,2,3	10	ADALQAGASQFETSAAKLK	KYWWK
Synaptobrevin-2	Synaptobrevin-2	P63045	P63045	83	52	8,95E-05	2,3	21	ADALQAGASQFETSAAKLK	VNVDKVLER
Synaptobrevin-2	Synaptobrevin-2	P63045	P63045	83	59	4,74E-06	2,3	26	ADALQAGASQFETSAAKLK	DQKLSLDDR
Synaptobrevin-2	Synaptobrevin-2	P63045	P63045	59	52	2,27E-06	1,2,3	125	DQKLSLDDR	VNVDKVLER
Synaptobrevin-1	Synaptobrevin-1	Q63666	Q63666	85	54	2,65E-03	2	5	ADALQAGASVFESSAAKLK	VNVDKVLER
Synaptobrevin-1	Synaptobrevin-1	Q63666	Q63666	85	61	1,75E-04	2	5	ADALQAGASVFESSAAKLK	DQKLSLDDR
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	103	189	2,15E-02	1,2,3	18	KAWGNNQDGVVASQPAR	ADSNKTR
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	103	201	3,09E-03	2,3	7	KAWGNNQDGVVASQPAR	ATKMLGSG
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	40	102	2,36E-03	1,2,3	7	MLQLVEESKDAGIR	SSDAYKK
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	40	184	1,22E-03	1,2,3	3	MLQLVEESKDAGIR	IMEKADSNK
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	184	96	1,21E-03	2,3	5	IMEKADSNK	LKSSDAYK
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	103	184	3,36E-05	1,2,3	10	KAWGNNQDGVVASQPAR	IMEKADSNK
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	40	96	1,07E-05	1,2,3	10	MLQLVEESKDAGIR	LKSSDAYK
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	103	96	3,22E-08	1,2,3	45	KAWGNNQDGVVASQPAR	LKSSDAYK
SNAP-25	SNAP-25	P60881	P60881	103	40	3,47E-12	1,2,3	25	KAWGNNQDGVVASQPAR	MLQLVEESKDAGIR
Syntaxin-1A	Syntaxin-1A	P32851	P32851	204	252	1,09E-02	1,3	12	HSEIIKLENSIR	AVSDTKK
Syntaxin-1A	Syntaxin-1A	P32851	P32851	204	256	8,68E-04	1	2	HSEIIKLENSIR	AVKYQSK
Syntaxin-1A	Syntaxin-1A	P32851	P32851	46	88	1,83E-02	2	8	GFIDKIAENVEEVKR	TANKVR
Syntaxin-1B	Syntaxin-1B	P61265	P61265	45	87	7,40E-02	1,2	14	GCIEKLSLSEDVEQVKK	TANKVR
Syntaxin-1B	Syntaxin-1B	P61265	P61265	255	251	1,72E-03	1,2,3	22	AVKYQSK	AVSDTKK

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
Syntaxin-1B	Syntaxin-1B	P61265	P61265	139	55	6,77E-04	2	3	FVEVMTEYNATQSKYR	KQHSAILAAPNPDEK
Syntaxin-1B	Syntaxin-1B	P61265	P61265	259	251	4,73E-12	1,3	15	YQSKAR	AVSDTKK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	98	111	2,39E-01	2	1	GGKNAINMK	DLGKTMK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	267	137	5,31E-02	1,3	6	DLQSAEKEEQEK	EEPKEEEK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	332	366	4,45E-02	2	1	KNTLNPPYYNESFSFEVPFEQIQK	VQVVVTVLDYDKIGK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	267	141	3,60E-02	1,3	6	DLQSAEKEEQEK	EEPKEEEKLGG
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	267	107	3,35E-02	1,2,3	6	DLQSAEKEEQEK	DVKDLGK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	272	189	3,17E-02	2	8	DLQSAEKEEQEKLGDCFSLR	VFLPDKK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	375	189	3,12E-02	2	2	NDAIGKVFVGYNSTGAELR	VFLPDKK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	107	192	2,82E-02	2	1	DVKDLGK	KFETK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	133	114	2,66E-02	2,3	2	DDDAETGLTDGEEKEEPKEEEK	TMKDQALK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	190	192	2,47E-02	2	2	VFLPDKKK	KFETK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	196	107	2,16E-02	1,3	4	FETKVHR	DVKDLGK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	189	107	1,57E-02	2	3	VFLPDKK	DVKDLGK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	332	107	1,46E-02	2	6	KNTLNPPYYNESFSFEVPFEQIQK	DVKDLGK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	236	107	6,64E-03	2,3	4	FSKHDIIGFEK	DVKDLGK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	104	111	3,10E-03	2	1	NAINMKDVK	DLGKTMK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	267	192	3,10E-03	1,2	12	DLQSAEKEEQEKLGDCFSLR	KFETK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	375	107	2,42E-03	2	7	NDAIGKVFVGYNSTGAELR	DVKDLGK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	200	196	2,18E-03	1,2,3	7	KTLNPFVNEQFTFK	FETKVHR
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	133	141	9,75E-04	1,2,3	16	DQALKDDDAETGLTDGEEKEEPK	EEEKLGK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	267	297	9,46E-04	2	4	DLQSAEKEEQEK	LTVVILEAKNLK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	297	192	5,94E-04	2	2	LTVVILEAKNLK	KFETK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	375	98	4,91E-04	2	3	NDAIGKVFVGYNSTGAELR	GGKNAINMK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	267	236	3,82E-04	1,2,3	21	DLQSAEKEEQEK	FSKHDIIGFEK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	267	189	2,14E-04	2,3	13	DLQSAEKEEQEK	VFLPDKK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	236	189	1,60E-04	2	14	FSKHDIIGFEK	VFLPDKK

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	272	192	1,40E-04	1,2	18	EEQEKLGDICFSLR	KFETK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	98	107	1,21E-04	1,2,3	10	GGKNAINMK	DVKDLGK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	244	189	1,11E-04	2	21	HDIIGEFKVPMTVDFGHVTEEW R	VLLPDKK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	313	369	3,10E-06	2,3	11	MDVGGLSDPYVVKIHLMQNGK	IGKNDIAIGK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	272	301	2,85E-06	2	1	DLQSAEKEEQEKLGDICFSLR	KMDVGGLSDPYVK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	189	192	1,30E-06	1,2,3	34	VLLPDKK	KFETK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	236	192	1,11E-06	1,2,3	31	FSKHDIIGEFK	KFETK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	375	236	1,83E-07	2	9	NDAIGKVFVGYNSTGAELR	FSKHDIIGEFK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	244	267	2,14E-08	2	10	HDIIGEFKVPMTVDFGHVTEEW R	DLQSAEKEEQEK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	114	107	1,45E-08	1,2,3	28	TMKDQALK	DVKDLGK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	244	192	1,25E-09	2	28	HDIIGEFKVPMTVDFGHVTEEW R	KFETK
Synaptotagmin-1	Synaptotagmin-1	P21707	P21707	313	375	4,36E-13	2,3	86	MDVGGLSDPYVVKIHLMQNGK	NDAIGKVFVGYNSTGAELR
Synaptotagmin-2	Synaptotagmin-2	P29101	P29101	190	193	5,70E-09	2,3	10	VLLPDKK	KYETK
Synaptotagmin-2	Synaptotagmin-2	P29101	P29101	314	376	5,26E-09	2	8	MDVGGLSDPYVVKIHLMQNGK	NEAIGKIFVGSNATGTELR
Synaptotagmin-2	Synaptotagmin-2	P29101	P29101	245	190	5,71E-03	2	8	HDIIGEVKVPMTVDLGGPIEEWR	VLLPDKK
Synaptotagmin-2	Synaptotagmin-2	P29101	P29101	268	193	2,54E-02	2,3	3	DLQGGKEEPEK	KYETK
Synaptotagmin-2	Synaptotagmin-2	P29101	P29101	273	193	2,24E-03	2	4	DLQGGKEEPEKLGDICTSLR	KYETK
Synaptotagmin-2	Synaptotagmin-2	P29101	P29101	237	193	1,96E-03	2	3	FSKHDIIGEVK	KYETK
Synaptotagmin-2	Synaptotagmin-2	P29101	P29101	245	193	1,61E-05	2	7	HDIIGEVKVPMTVDLGGPIEEWR	KYETK
SV2A	SV2A	Q02563	Q02563	385	32	1,21E-01	2	1	AKGHPER	VVKGLDR
SV2A	SV2A	Q02563	Q02563	143	109	8,69E-02	1,2,3	8	KDREELAQQYETILR	AESGGKGER
SV2A	SV2A	Q02563	Q02563	32	16	1,91E-02	2	1	VVKGLDR	GAKDIAK
SV2A	SV2A	Q02563	Q02563	109	16	1,59E-03	1,2,3	6	AESGGKGER	GAKDIAK
SV2A	SV2A	Q02563	Q02563	143	385	1,30E-03	1,2,3	6	KDREELAQQYETILR	AKGHPER
SV2A	SV2A	Q02563	Q02563	143	485	3,74E-04	1,2,3	9	KDREELAQQYETILR	TKVFPGER
SV2A	SV2A	Q02563	Q02563	375	385	2,49E-04	2,3	4	HDEAWMVLKQVHDTNMR	AKGHPER
SV2A	SV2A	Q02563	Q02563	485	109	1,36E-04	1,2,3	11	TKVFPGER	AESGGKGER

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
SV2A	SV2A	Q02563	Q02563	485	385	5,69E-05	1,2,3	21	TKVFPGER	AKGHPER
SV2A	SV2A	Q02563	Q02563	515	485	4,22E-05	1,2,3	19	GGQYFNDKFIGLR	TKVFPGER
SV2A	SV2A	Q02563	Q02563	288	385	3,35E-13	1	1	LLSGVGIGGSIPVFSYFSEFLAQE KR	AKGHPER
SV2B	SV2B	Q63564	Q63564	318	341	1,95E-03	2	2	HDEAWMILKQVHDTNMR	VFTVSHIKTPK
SV2B	SV2B	Q63564	Q63564	318	328	1,23E-03	2	2	HDEAWMILKQVHDTNMR	AKGTPEK
SV2B	SV2B	Q63564	Q63564	341	328	9,94E-04	1,2,3	15	VFTVSHIKTPK	AKGTPEK
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	311	318	7,45E-03	2,3	6	TYATAEPFIDAKYDVR	VQKIGQNYK
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	128	173	7,03E-03	2	3	VLLVIDEPHTDWAKYFK	NGVKVVR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	574	632	3,99E-03	3	1	QASISGPAPPKVGASPGGQQR	PTKPQLAQK
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	591	632	3,43E-03	2,3	2	QGPPQKPPGPAGPIR	PTKPQLAQK
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	574	179	2,68E-03	3	1	QASISGPAPPKVGASPGGQQR	SLKPDFVLIR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	238	173	1,35E-03	2	1	KLGTEEFPLIDQTFYPNHK	NGVKVVR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	336	179	9,67E-04	2	3	TSVSGNWKNTGMSAMLEQIAMSD R	SLKPDFVLIR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	574	591	2,47E-04	1,2,3	43	QASISGPAPPKVGASPGGQQR	QGPPQKPPGPAGPIR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	281	179	1,54E-04	2	2	VKVDNQHDFQDIASVVALTK	SLKPDFVLIR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	311	179	1,15E-04	2	8	TYATAEPFIDAKYDVR	SLKPDFVLIR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	179	318	2,01E-05	2,3	4	SLKPDFVLIR	VQKIGQNYK
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	134	173	1,56E-05	2,3	12	KIHGEIDIK	NGVKVVR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	336	311	5,12E-06	2	9	TSVSGNWKNTGMSAMLEQIAMSD R	TYATAEPFIDAKYDVR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	179	134	3,01E-06	2,3	11	SLKPDFVLIR	KIHGEIDIK
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	179	173	3,26E-07	1,2,3	25	SLKPDFVLIR	NGVKVVR
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	134	131	7,26E-08	2,3	23	KIHGEIDIK	YFKGK
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	173	131	1,53E-08	2,3	8	NGVKVVR	YFKGK
Synapsin-1	Synapsin-1	P09951	P09951	238	179	1,47E-10	2	3	KLGTEEFPLIDQTFYPNHK	SLKPDFVLIR
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	173	186	1,33E-02	1,2,3	23	MATDPENIIKEMPMCR	QTGNTCKELR
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	163	17	1,22E-05	2	2	GLSDVKMATDPENIIK	VVKEPLGFVK
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	163	186	7,90E-06	1,2,3	29	GLSDVKMATDPENIIK	QTGNTCKELR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	186	17	1,50E-06	1,2,3	9	QTGNTCKELR	VVKEPLGFVK
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	83	173	1,53E-08	2,3	7	LHQVYFDAPSCVKGGTTK	MATDPENIIKEMPMCR
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	83	163	4,73E-09	1,2,3	20	LHQVYFDAPSCVKGGTTK	GLSDVKMATDPENIIK
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	83	186	7,02E-10	1,2,3	43	LHQVYFDAPSCVKGGTTK	QTGNTCKELR
Synaptophysin	Synaptophysin	P07825	P07825	83	17	1,04E-18	1,2,3	20	LHQVYFDAPSCVKGGTTK	VVKEPLGFVK
Rab14	Rab14	P61107	P61107	193	61	3,75E-10	1,2,3	20	IYQNIQDGSLLDNLAAESGVQHKPS APQGGR	IKLQIWDTAGQER
RAB1A	RAB1A	Q6NYB7	Q6NYB7	119	132	5,21E-02	2	3	YASENVNKLVLGNK	KVVDYTTAK
RAB1A	RAB1A	Q6NYB7	Q6NYB7	125	132	1,68E-05	1,2,3	17	LLVGNKCDLTTK	KVVDYTTAK
Rab1B	Rab1B	P10536	P10536	116	129	1,11E-02	2	2	YASENVNKLVLGNK	KVVDNTTAK
RAB1B	RAB1B	P10536	P10536	122	129	8,46E-05	1,2,3	16	LLVGNKSDLTTK	KVVDNTTAK
RAB35	RAB35	Q5U316	Q5U316	121	128	1,36E-05	2,3	3	ILVGNKNDDPER	KVVETEDAYK
RAB3A	RAB3A	P63012	P63012	35	62	1,01E-01	2	3	ILIIGNSSVGKTSFLFR	VKTIYR
RAB3A	RAB3A	P63012	P63012	173	62	4,33E-02	2	3	DNINVKQTFER	VKTIYR
RAB3A	RAB3A	P63012	P63012	72	62	3,20E-02	1,2	2	IKLQIWDTAGQER	VKTIYR
RAB3A	RAB3A	P63012	P63012	12	62	2,76E-03	2,3	5	YGQKESSDQNFDMFK	VKTIYR
RAB3A	RAB3A	P63012	P63012	12	72	1,43E-05	2	3	YGQKESSDQNFDMFK	IKLQIWDTAGQER
Rab3C	Rab3C	P62824	P62824	181	70	9,70E-02	2	1	DNINVKQTFER	VKTVFK
Rab3C	Rab3C	P62824	P62824	80	70	3,46E-03	2,3	8	IKLQIWDTAGQER	VKTVFK
CSP	CSP	P60905	P60905	46	32	7,48E-03	1,2,3	21	YHPDKNPDNPEAADK	NATSDDIKK
CSP	CSP	P60905	P60905	56	41	6,77E-05	1,2,3	25	NPDNPEAADKFK	LALKYHPDK
CSP	CSP	P60905	P60905	58	46	2,55E-06	1,2,3	8	FKEINNAHAILTDATKR	YHPDKNPDNPEAADK
VGlu2	VGlu2	Q9JI12	Q9JI12	48	22	7,03E-04	2	1	ETIELTEDGKPLEVPEK	NFAGKSLGQIYR
VGlu2	VGlu2	Q9JI12	Q9JI12	13	34	2,23E-04	1,2	10	ILAPGKEGIK	KQDNR
VGlu2	VGlu2	Q9JI12	Q9JI12	17	34	1,64E-05	1,2	6	EGIKNFAGK	KQDNR
VGlu2	VGlu2	Q9JI12	Q9JI12	22	13	5,67E-06	1,2,3	10	NFAGKSLGQIYR	ILAPGKEGIK
VGlu2	VGlu2	Q9JI12	Q9JI12	22	34	8,81E-12	1,2,3	19	NFAGKSLGQIYR	KQDNR
Scamp-1	Scamp-1	P56603	P56603	89	97	9,08E-07	1,2,3	23	EHALAQAEALLKR	KAAELDR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
Scamp3	Scamp3	E9PTW1	E9PTW1	84	105	3,19E-01	2	1	LSPAEPKNYGSSYSTQATAAAATA ELLK	KQEELNR
Scamp3	Scamp3	E9PTW1	E9PTW1	77	112	8,93E-04	2	2	KLSPAEPK	KAEELDR
Scamp3	Scamp3	E9PTW1	E9PTW1	104	112	4,52E-05	2,3	2	NYGSSYSTQATAAAATAELLKK	KAEELDR
Scamp3	Scamp3	E9PTW1	E9PTW1	105	77	2,19E-09	2,3	4	KQEELNR	KLSPAEPK
Scamp3	Scamp3	E9PTW1	E9PTW1	105	112	6,96E-17	1,2,3	48	KQEELNR	KAEELDR
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133	D4A133	163	139	1,35E-10	1,2,3	24	VGSHITGGDIYGIVNENSLIKHK	DIKWEFIPSKNLR
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133	D4A133	498	516	9,97E-10	1,2	7	EILQEEEDLAEIVQLVGKASLAETD K	LIKDDFLQQNGYTPYDR
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133	D4A133	220	393	2,20E-09	1,3	13	QVRPVTEKLPANHPLLTGQR	VKCLGNPER
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133	D4A133	467	393	8,13E-08	1,2	3	ALDEYDVKHFTEFVPLR	VKCLGNPER
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133	D4A133	498	513	1,02E-07	2	1	EILQEEEDLAEIVQLVGKASLAETD K	ITLEVAKLIK
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133	D4A133	598	591	6,78E-06	2	16	IKADYAQLLEDMQNAFR	FKDPVKDGEAK
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133	D4A133	596	587	4,44E-05	1,2,3	10	DGEAKIK	FKDPVK
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133	D4A133	139	165	1,23E-04	2,3	43	DIKWEFIPSKNLR	HKIMLPPR
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133	D4A133	580	587	9,44E-04	2	2	EHMGEILYKLSSMK	FKDPVK
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133	D4A133	498	467	1,32E-01	2	1	EILQEEEDLAEIVQLVGKASLAETD K	ALDEYYDKHFTEFVPLR
V-ATPase-A	V-ATPase-A	D4A133	D4A133	84	8	3,33E-01	1,2	2	TGKPLSVELGPGIMGAIFDGIQR	LPKIR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	235	50	2,32E-18	1,2,3	13	KICEGFR	KFVNEVR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	255	235	2,58E-17	1,2,3	15	KEMASGVNTR	KICEGFR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	109	70	7,93E-13	1,2,3	72	IENELKEINTNQEALKR	FVEKEIR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	74	70	5,15E-10	1,2,3	63	KANIPIMDTGENPEVPFPR	FVEKEIR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	255	50	7,30E-09	1,2,3	15	KEMASGVNTR	KFVNEVR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	74	109	1,23E-06	2	2	KANIPIMDTGENPEVPFPR	IENELKEINTNQEALK
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	255	70	1,94E-06	1,2,3	8	KEMASGVNTR	FVEKEIR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	119	255	6,18E-05	1,2,3	6	EINTNQEALKR	KEMASGVNTR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	134	255	7,23E-05	2	4	KTQQFFDEADPDLLESSSLLLE PNEMGR	KEMASGVNTR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	288	296	8,52E-05	1,2,3	14	VLQAAAKNIR	VWFIKVR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	74	119	1,10E-04	1,2,3	9	KANIPIMDTGENPEVPFPR	EINTNQEALKR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	70	50	1,22E-04	1,2,3	18	FVEKEIR	KFVNEVR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	129	255	1,64E-04	2	9	NFLELTELKFILR	KEMASGVNTR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	119	50	2,78E-04	1,2,3	10	EINTNQEALKR	KFVNEVR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	288	235	4,41E-04	2,3	4	VLQAAAKNIR	KICEGFR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	103	288	6,83E-04	2	4	DMIDLEANFEKIENELK	VLQAAAKNIR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	288	50	1,41E-03	2,3	2	VLQAAAKNIR	KFVNEVR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	134	235	2,03E-03	2	1	KTQQFFDEMADPDLLEESSLLE PNEMGR	KICEGFR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	70	835	2,09E-03	1,2,3	18	FVEKEIR	EGKFDE
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	109	50	2,66E-03	2,3	3	IENELKEINTNQEALK	KFVNEVR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	369	50	3,02E-03	2	2	TNKFTHGFGQNIWDAYGIGTYR	KFVNEVR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	230	235	5,05E-03	2	4	SVFIIFQGDQLKNR	KICEGFR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	119	235	5,71E-03	1,2,3	6	EINTNQEALKR	KICEGFR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	119	70	7,69E-03	1,2,3	16	EINTNQEALKR	FVEKEIR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	288	70	1,46E-02	1,2,3	9	VLQAAAKNIR	FVEKEIR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	70	235	3,04E-02	1,2,3	3	FVEKEIR	KICEGFR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	109	288	8,14E-02	3	1	IENELKEINTNQEALK	VLQAAAKNIR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	119	288	1,36E-01	3	1	EINTNQEALKR	VLQAAAKNIR
V-ATPase-a1	V-ATPase-a1	P25286	P25286	134	50	1,74E-01	2	1	KTQQFFDEMADPDLLEESSLLE PNEMGR	KFVNEVR
V-ATPase-B2	V-ATPase-B2	P62815	P62815	48	109	6,90E-31	1,2,3	54	LTYKTVSGVNGPLVILDHVK	KTSCEFTGDILR
V-ATPase-B2	V-ATPase-B2	P62815	P62815	81	109	7,45E-14	1,2,3	22	YAEIVHLTPDGTKR	KTSCEFTGDILR
V-ATPase-B2	V-ATPase-B2	P62815	P62815	48	108	2,45E-11	1,2	27	LTYKTVSGVNGPLVILDHVK	AVVQVFEGTSGIDAKK
V-ATPase-B2	V-ATPase-B2	P62815	P62815	48	81	4,31E-10	1,2	14	LTYKTVSGVNGPLVILDHVK	YAEIVHLTPDGTKR
V-ATPase-B2	V-ATPase-B2	P62815	P62815	81	137	4,54E-10	1,2,3	23	YAEIVHLTPDGTKR	VFNGSGKPIDR
V-ATPase-B2	V-ATPase-B2	P62815	P62815	188	137	1,50E-06	1,3	6	GQKIPIFSAAGLPHNEIAAQICR	VFNGSGKPIDR
V-ATPase-B2	V-ATPase-B2	P62815	P62815	460	403	3,90E-05	2	2	FEKNFITQGPYENR	LMKSAIGEGMTR
V-ATPase-B2	V-ATPase-B2	P62815	P62815	81	108	5,43E-03	3	1	YAEIVHLTPDGTKR	AVVQVFEGTSGIDAKK

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	147	156	5,47E-05	1,2,3	8	ASAYNNLKGNLQNLER	KNAGSLLTR
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	156	171	7,83E-05	3	2	KNAGSLLTR	SLAEIVKK
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	262	156	2,79E-04	1,3	4	ADKEEMNR	KNAGSLLTR
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	156	245	9,11E-04	1,2,3	6	KNAGSLLTR	ENKFIVR
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	245	232	3,15E-03	2,3	6	ENKFIVR	KAVDDFR
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	262	274	5,54E-03	2,3	2	ADKEEMNR	KQFGPLVR
V-ATPase-C1	V-ATPase-C1	Q5FVI6	Q5FVI6	262	245	2,09E-02	3	1	ADKEEMNR	ENKFIVR
V-ATPase-D	V-ATPase-D	Q6P503	Q6P503	20	24	7,11E-05	1,2	15	MAQTIMKAR	LKGAQTGR
V-ATPase-d1	V-ATPase-d1	Q5M7T6	Q5M7T6	288	300	9,12E-15	1,2,3	52	LLFEGAGSNPGDKTLEDR	FFEHEVKLNK
V-ATPase-d1	V-ATPase-d1	Q5M7T6	Q5M7T6	24	300	1,06E-12	1,2,3	42	GLKAGVLSQADYLNLVQCETLED LK	FFEHEVKLNK
V-ATPase-d1	V-ATPase-d1	Q5M7T6	Q5M7T6	73	77	1,55E-09	2	10	LHLQSTDYGNFLANEASPLTVSVI DDKLLK	EKMVVEFR
V-ATPase-d1	V-ATPase-d1	Q5M7T6	Q5M7T6	265	239	1,86E-05	1	5	ADDYEQVKNVADYYPEYK	AKLFPHCGR
V-ATPase-d1	V-ATPase-d1	Q5M7T6	Q5M7T6	187	239	2,34E-05	2	3	NTLYKAYLESFYK	AKLFPHCGR
V-ATPase-d1	V-ATPase-d1	Q5M7T6	Q5M7T6	275	300	7,07E-05	2	12	NVADYYPEYKLLFEGAGSNPGDK	FFEHEVKLNK
V-ATPase-d1	V-ATPase-d1	Q5M7T6	Q5M7T6	265	288	1,24E-04	2	5	ADDYEQVKNVADYYPEYK	LLFEGAGSNPGDKTLEDR
V-ATPase-d1	V-ATPase-d1	Q5M7T6	Q5M7T6	288	343	3,40E-02	1,2	5	LLFEGAGSNPGDKTLEDR	AKIDNYIPIF
V-ATPase-E1	V-ATPase-E1	Q6PCU2	Q6PCU2	69	62	3,33E-06	1,2,3	16	KIQMSNLMNQAR	EKQIEQQK
V-ATPase-E1	V-ATPase-E1	Q6PCU2	Q6PCU2	99	107	1,66E-03	2,3	18	DDLITDLLNEAKQR	VVKDTTR
V-ATPase-E1	V-ATPase-E1	Q6PCU2	Q6PCU2	99	104	8,84E-03	2	3	ARDDLITDLLNEAKQR	LSKVVK
V-ATPase-V1F	V-ATPase-V1F	P50408	P50408	102	110	3,37E-04	1,2,3	15	EHPYDAAKDSILR	AKGMFTAEDLR
Syntaxin-binding-protein-1	Syntaxin-binding-protein-1	P61765	P61765	321	314	3,15E-01	2,3	3	MNTGEKTTMR	DFSSSKR
Syntaxin-binding-protein-1	Syntaxin-binding-protein-1	P61765	P61765	120	125	6,18E-02	2	1	AAHVFTDSCPDALFNLVKSQR	AAKVIK
Syntaxin-binding-protein-1	Syntaxin-binding-protein-1	P61765	P61765	294	308	2,10E-03	3	1	HKHIAEVSQEVTR	SLKDFSSSK
AP2A1	AP2A1	D3ZUY8	D3ZUY8	856	880	8,12E-03	2	2	YGGTAQSLTLKLPVTINK	WKQLSLPLQEAQK
AP2A1	AP2A1	D3ZUY8	D3ZUY8	35	31	6,94E-04	1,2,3	12	INKELANIR	EAEIKR
AP2A2	AP2A2	Q66HM2	Q66HM2	869	858	8,67E-09	2	6	AKIIGFGSALLEVDPNPANFVGA GIIHTK	AKHPMDTEITK

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
AP2B1	AP2B1	P62944	P62944	383	318	8,61E-04	2,3	4	CAIKVEQSAER	RPEILKQEIK
AP2B1	AP2B1	P62944	P62944	131	139	1,93E-05	2,3	6	CLKDEDPYVR	KTAAVCVAK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	213	224	4,94E-01	2	1	SYLSGMPECKFGMNDK	IVIEKQ GK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	227	405	8,37E-02	2	4	QGKGTADETSK	YLKVFEPK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	213	405	6,08E-02	2	7	SYLSGMPECKFGMNDK	YLKVFEPK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	235	224	4,83E-02	2	3	GTADETSKSGK	IVIEKQ GK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	405	224	4,65E-02	2,3	3	YLKVFEPK	IVIEKQ GK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	238	224	7,38E-03	2,3	4	SGKQSIADDCTFHQCVR	IVIEKQ GK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	219	312	6,92E-03	2	1	FGMNDKIVIEK	SNFKPSLLAQK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	219	281	2,79E-03	2	3	FGMNDKIVIEK	TTKDIILPFR
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	238	308	2,57E-03	2	2	SGKQSIADDCTFHQCVR	VVIKSNFKPSLLAQK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	235	405	2,35E-03	2	2	GTADETSKSGK	YLKVFEPK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	281	235	1,95E-03	1,2,3	10	TTKDIILPFR	GTADETSKSGK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	281	256	1,67E-03	2,3	2	TTKDIILPFR	LSKFDSER
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	256	224	1,36E-03	1,2,3	20	LSKFDSER	IVIEKQ GK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	213	256	5,87E-04	2,3	16	SYLSGMPECKFGMNDK	LSKFDSER
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	238	256	1,11E-04	1,2,3	7	SGKQSIADDCTFHQCVR	LSKFDSER
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	227	256	1,05E-04	1,2,3	9	QGKGTADETSK	LSKFDSER
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	281	224	9,46E-05	1,2,3	14	TTKDIILPFR	IVIEKQ GK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	281	227	8,59E-05	2,3	3	TTKDIILPFR	QGKGTADETSK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	405	256	5,41E-06	1,2,3	25	YLKVFEPK	LSKFDSER
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	238	227	3,06E-07	2,3	9	SGKQSIADDCTFHQCVR	QGKGTADETSK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	238	405	2,86E-08	1,2,3	12	SGKQSIADDCTFHQCVR	YLKVFEPK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	238	312	9,66E-09	2	9	SGKQSIADDCTFHQCVR	SNFKPSLLAQK
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	238	281	3,50E-10	1,2,3	18	SGKQSIADDCTFHQCVR	TTKDIILPFR
AP2M1	AP2M1	P84092	P84092	400	312	2,73E-11	2,3	30	WARPPISMNFEVFPFAPSGLKVR	SNFKPSLLAQK
AP2S1	AP2S1	P62744	P62744	45	56	7,27E-04	1,2,3	10	DAKHTNFVEFR	NFKIIYR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
AAK1	AAK1	P0C1X8	P0C1X8	178	169	2,87E-09	1,2,3	14	DLKVENILLHDR	LHQCKTPIIHR
Actin	Actin	P63259	P63259	291	328	4,56E-02	2	2	KDLYANTVLSGGTTMYPGIADR	IKIIPPER
Actin	Actin	P63259	P63259	315	328	4,75E-03	2	2	MQKEITALAPSTMK	IKIIPPER
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	312	330	1,97E-01	2	1	ALQASALKAWGGK	AAQEEYIKR
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	101	318	3,60E-02	2	1	SKGGVVGK	KENLK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	99	42	2,87E-02	2	2	ADDGRPFQVIKSK	GILAADESTGSIKR
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	322	312	3,21E-03	2	2	ENLKAAQEEYIK	ALQASALKAWGGK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	28	147	1,96E-03	2	4	IVAPGKGILAADESTGSIK	DGADFAKWR
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	147	108	1,81E-03	2,3	5	DGADFAKWR	GGVVGKIVDK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	28	108	1,50E-03	2	1	IVAPGKGILAADESTGSIK	GGVVGKIVDK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	330	318	1,42E-03	1,2,3	6	AAQEEYIKR	KENLK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	42	108	6,81E-04	2	6	GILAADESTGSIKR	GGVVGKIVDK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	147	101	3,00E-04	1,2,3	6	DGADFAKWR	SKGGVVGK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	312	318	2,20E-04	1,2,3	14	ALQASALKAWGGK	KENLK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	140	101	1,03E-05	2	1	KDGADFAK	SKGGVVGK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	42	312	3,37E-06	2	8	GILAADESTGSIKR	ALQASALKAWGGK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	28	101	7,17E-07	2	3	IVAPGKGILAADESTGSIK	SKGGVVGK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	208	13	3,70E-07	2,3	15	CQYVTEKVLAAVYK	PHPYPALTPEQKK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	111	28	3,02E-08	2	2	VDKGVVPLAGTNGETTTQGLDGL SER	IVAPGKGILAADESTGSIK
Aldoa	Aldoa	P05065	P05065	147	139	1,07E-08	1,2,3	12	DGADFAKWR	CAQYKK
Amphiphysin	Amphiphysin	O08838	O08838	159	161	1,00E-04	3	1	HHLEALQSSKR	KDESR
Amphiphysin	Amphiphysin	O08838	O08838	175	141	4,53E-05	1,2	9	AEEEFQKAQK	KLVDYDSAR
Annexin	Annexin	Q6IMZ3	Q6IMZ3	247	262	9,27E-02	2	2	LMLAVVKCIR	LFKAMK
Annexin	Annexin	Q6IMZ3	Q6IMZ3	247	296	6,71E-02	2	1	LMLAVVKCIR	TKYEK
Annexin	Annexin	Q6IMZ3	Q6IMZ3	262	296	8,33E-03	2	2	LFKAMK	TKYEK
Annexin	Annexin	Q6IMZ3	Q6IMZ3	418	446	4,04E-05	2	2	DLMADLKSEISGDLAR	KAMEGAGTDEK
Annexin	Annexin	Q6IMZ3	Q6IMZ3	377	370	7,07E-07	2	6	AMKIGTDEATIIDIITQR	AANDFNPDAKALR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
Arhgap1	Arhgap1	D4A6C5	D4A6C5	80	84	1,21E-03	1	2	HQIVEVAGDDKYGR	KIIVFSACR
ARP2	ARP2	Q5M7U6	Q5M7U6	331	339	2,21E-03	3	6	VLKGDVEK	LSKFK
ARP2	ARP2	Q5M7U6	Q5M7U6	381	388	3,51E-05	3	3	QEYQEKGVR	VLEKLGVTVR
Arpc4	Arpc4	B2RZ72	B2RZ72	77	58	4,79E-02	3	3	VSIAVKQADEIEK	NEKEK
Arpc4	Arpc4	B2RZ72	B2RZ72	77	35	8,49E-03	3	1	VSIAVKQADEIEK	HNKPEVEVR
Arpc4	Arpc4	B2RZ72	B2RZ72	44	35	1,85E-04	3	3	SSKELLQPVTISR	HNKPEVEVR
AT2B2	AT2B2	P11506-1	P11506-1	944	938	4,44E-11	1,2	4	NKPLISR	KPYGR
Atp1a3	Atp1a3	P06687	P06687	477	202	3,76E-05	2	4	VAEIPFNSTNKYQLSIHETEDPND NR	IISAHGCKVDNSSLTGESEPPQ TR
Atp1b1	Atp1b1	P07340	P07340	217	222	6,19E-01	1	2	YNPNVLPVQCTGKR	DEKDK
Atp1b1	Atp1b1	P07340	P07340	278	222	4,13E-02	1,2,3	6	IECKAYGENIGYSEK	DEKDK
Atp8a1	Atp8a1	F1LUT4	F1LUT4	337	387	8,95E-02	1	5	AAKQLNFVFTGR	TPSGKLR
Atp8a1	Atp8a1	F1LUT4	F1LUT4	393	387	2,34E-02	3	2	LYCKGADTVIYER	TPSGKLR
Atp8a1	Atp8a1	F1LUT4	F1LUT4	415	408	1,15E-03	1,2	7	EITLKHLEQFATEGLR	LAESSKYK
Atp8a1	Atp8a1	F1LUT4	F1LUT4	922	932	1,81E-04	2	2	SQDPGAVVLGKSLTER	AQLLKNVFK
Atp8a1	Atp8a1	F1LUT4	F1LUT4	509	393	3,14E-05	2	5	IWILTGDKQETAINIGHSCR	LYCKGADTVIYER
Atp8a1	Atp8a1	F1LUT4	F1LUT4	319	393	3,35E-06	1,2,3	7	DGEKIIYQAASPDEGALVR	LYCKGADTVIYER
Atp8a1	Atp8a1	F1LUT4	F1LUT4	319	337	1,03E-10	1,2	13	DGEKIIYQAASPDEGALVR	AAKQLNFVFTGR
Bcap31	Bcap31	Q6AY58	Q6AY58	191	184	1,71E-02	2	3	LKDELASTK	ILKTDLK
Calmodulin-1	Calmodulin-1	P0DP29	P0DP29	22	95	2,13E-04	2	4	EAFSLFDKDGDTITTK	VFDKDGNGYISAAELR
CC50A	CC50A	Q6AY41	Q6AY41	24	34	2,50E-01	1	2	DEVDDGGPTGPPGGAAKTR	RPDNTAFKQQR
CC50A	CC50A	Q6AY41	Q6AY41	179	100	2,93E-06	1,2,3	11	NVKFR	YVKSR
Cct6a	Cct6a	Q3MHS9	Q3MHS9	280	273	6,11E-05	2,3	6	KVCGDSDK	KIVELK
Cct6a	Cct6a	Q3MHS9	Q3MHS9	265	273	1,39E-05	2,3	4	KFIEDR	KIVELK
Cct6a	Cct6a	Q3MHS9	Q3MHS9	265	261	1,00E-10	1,2,3	18	KFIEDR	LVKAER
Cct7	Cct7	D4AC23	D4AC23	199	250	6,88E-03	2	3	KVQGGALEESR	AEKDNAEIR
Cct7	Cct7	D4AC23	D4AC23	148	144	4,20E-04	1,2,3	8	QDKVEQR	EIAVTVKK
Cd47	Cd47	P97829	P97829	122	59	2,67E-06	2,3	9	EGKTVIELK	WKLNK

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
CD9	CD9	P40241	P40241	129	133	8,60E-04	3	1	DTYQKLR	NKDEPQR
CN37	CN37	P13233	P13233	203	196	4,22E-03	2	2	KAGQVFLEELGNHK	KSSETLR
Contactin-1	Contactin-1	Q63198	Q63198	758	787	1,30E-06	2	7	KVTVTNPDTGR	VKAFNNK
Contactin-1	Contactin-1	Q63198	Q63198	785	758	9,60E-09	2	10	YVHKDETMTPESTAFQVKVK	KVTVTNPDTGR
D3ZSU3	D3ZSU3	D3ZSU3	D3ZSU3	93	91	1,51E-02	2	2	KEGILADCEK	FLSEEHTKK
Dmx-like-2	Dmx-like-2	F1M3W5	F1M3W5	1869	1877	1,48E-02	2	2	NLASPEGLATLGLKTEK	NIADKINLIER
DPP6	DPP6	P46101-2	P46101-2	379	383	1,09E-01	1,3	2	QNEEPVFSKDGR	KFFFVR
DPP6	DPP6	P46101-2	P46101-2	331	359	1,85E-04	2	4	WATSTKVAVTWLNLR	KHEDESEAWLHR
DYHC1	DYHC1	P38650	P38650	3469	3223	2,04E-07	1,2,3	8	ADLAAVEAKVNR	IKSQELEVK
Dynactin-150	Dynactin-150	P28023	P28023	246	242	2,26E-02	2,3	4	LKELEK	SEDKAK
Dynactin-150	Dynactin-150	P28023	P28023	452	242	2,02E-02	2	1	NLNLEEKVR	SEDKAK
Dynactin-150	Dynactin-150	P28023	P28023	68	38	3,44E-03	2	2	GKNDGTVQGR	VEVIGKGR
Dynactin-150	Dynactin-150	P28023	P28023	1041	1033	1,57E-05	2,3	3	LNSQSKR	TELKQR
Dynamamin-1	Dynamamin-1	P21575	P21575	510	508	3,13E-01	2,3	2	KTSGNQDEILVIR	SNQMNNK
Dynamamin-1	Dynamamin-1	P21575	P21575	393	382	9,47E-02	3	1	EISYAIKNIHGIR	MEFDEKELR
Dynamamin-1	Dynamamin-1	P21575	P21575	87	90	2,47E-02	2	1	RPLVLQLVNSTTEYAEFLHCKGK	KFTDFEEVR
Dynamamin-1	Dynamamin-1	P21575	P21575	393	415	1,68E-02	3	1	EISYAIKNIHGIR	KQVQK
Dynamamin-1	Dynamamin-1	P21575	P21575	414	421	3,79E-03	2	1	TGLFTPDLAFEATVKK	LKEPSIK
Dynamamin-1	Dynamamin-1	P21575	P21575	257	246	1,34E-04	1,3	2	KFFLSHPSYR	KDITAALAAER
Dynamamin-1	Dynamamin-1	P21575	P21575	257	240	3,77E-05	3	1	KFFLSHPSYR	SQKDIDGK
Dynamamin-1	Dynamamin-1	P21575	P21575	562	598	1,14E-05	1,2,3	9	KYMLSVDNLK	NVYKDYR
Dynamamin-1	Dynamamin-1	P21575	P21575	246	240	6,13E-06	1,2,3	10	KDITAALAAER	SQKDIDGK
EF1A1	EF1A1	P62630	P62630	386	378	8,66E-09	2,3	7	KLEDGPK	EKIDR
EF1A2	EF1A2	P62632	P62632	439	386	3,12E-02	2	4	QTVAVGVIKNVEK	KLEDNPK
Endophilin-B1	Endophilin-B1	Q6AYE2	Q6AYE2	176	183	3,27E-02	2	2	RLDLDAKTR	AKAAETK
Endophilin-B2	Endophilin-B2	Q5PPJ9	Q5PPJ9	173	180	3,82E-02	2,3	4	RLDLDAKTR	AKAAEAK
FIS1	FIS1	P84817	P84817	85	92	5,97E-04	1,2,3	7	LKEYEK	ALKYVR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
F1LUE2	F1LUE2	F1LUE2	F1LUE2	268	57	6,81E-01	2	1	ITAHEALKHPWVCQR	DHQKLER
F1LUE2	F1LUE2	F1LUE2	F1LUE2	69	57	4,82E-02	2	1	LLKHSNIVR	DHQKLER
F1LUE2	F1LUE2	F1LUE2	F1LUE2	43	57	1,95E-03	2	5	LCTGHEYAAKIINTK	DHQKLER
F1LUE2	F1LUE2	F1LUE2	F1LUE2	227	188	1,36E-06	2	4	LYQQIKAGAYDFPSPWDTVTPE AK	KEAYGK
G3P	G3P	P04797	P04797	192	249	2,46E-01	2,3	3	TVDGPGSKLWR	LEKPAK
G3P	G3P	P04797	P04797	111	249	1,48E-01	2	2	AGAHLKGGAK	LEKPAK
G3P	G3P	P04797	P04797	59	111	3,45E-02	2	6	FNGTVKAENGK	AGAHLKGGAK
G3P	G3P	P04797	P04797	213	70	1,83E-02	2	2	GAAQNIIPASTGAAKAVGK	LVINGKPITIFQER
G3P	G3P	P04797	P04797	225	249	7,35E-03	2	1	VIPELNGKLTGMAFR	LEKPAK
G3P	G3P	P04797	P04797	70	59	2,71E-03	1,2,3	8	LVINGKPITIFQER	FNGTVKAENGK
G3P	G3P	P04797	P04797	225	70	2,38E-03	2	1	VIPELNGKLTGMAFR	LVINGKPITIFQER
G3P	G3P	P04797	P04797	261	257	3,01E-05	1,2,3	29	VVKQAAEGPLK	YDDIKK
G3P	G3P	P04797	P04797	257	249	1,44E-08	1,2,3	21	YDDIKK	LEKPAK
GDPD1	GDPD1	Q0VVK4	Q0VVK4	115	92	4,41E-02	2	1	YCELPPYLCKLDVFPQR	DEQVVVSHDANLKR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	103	291	1,62E-02	1,2	5	LVFCEVFKYNR	AYDPKGGLDNAR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	291	333	8,04E-04	1,2,3	12	AYDPKGGLDNAR	IVGQEKK
GLNA	GLNA	P09606	P09606	291	107	7,84E-04	1,2,3	14	AYDPKGGLDNAR	KPAETNLR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	276	334	4,14E-04	2	4	CIEEAIDKLSK	KGYFEDR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	372	291	3,26E-04	1,2,3	6	TCLLNETGDEPFQYKN	AYDPKGGLDNAR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	372	334	8,84E-05	2,3	4	TCLLNETGDEPFQYKN	KGYFEDR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	372	107	2,85E-05	1,2,3	20	TCLLNETGDEPFQYKN	KPAETNLR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	276	107	1,13E-05	2,3	7	CIEEAIDKLSK	KPAETNLR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	107	334	6,28E-06	1,2,3	10	KPAETNLR	KGYFEDR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	107	118	3,74E-06	1,3	11	KPAETNLR	HSCCKR
GLNA	GLNA	P09606	P09606	103	107	7,86E-11	1,2,3	31	LVFCEVFKYNR	KPAETNLR
GNAO	GNAO	P59215	P59215	24	17	1,76E-03	1,2,3	7	NLKEDGISAAC	SKAIEK
GPM6A	GPM6A	Q812E9	Q812E9	257	250	1,31E-08	1,2,3	29	SKEEQELHDIHSTR	MQKYEDIK

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
Hacd3	Hacd3	D4ABI7	D4ABI7	123	130	8,13E-07	1,2,3	8	AKEEER	LNKLR
HSP7C	HSP7C	P63018	P63018	531	535	4,47E-04	3	1	AEDEKQR	DKVSSK
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	258	56	1,54E-01	2	1	MLTINPSKR	DHQKLER
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	267	258	1,28E-01	2	8	ITAAEALKHPWISHR	MLTINPSKR
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	461	317	3,41E-02	2	1	DGKWQIVHFHR	NFSGGKSGGNK
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	317	56	2,30E-02	2,3	5	NFSGGKSGGNK	DHQKLER
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	137	292	1,53E-02	2	1	DLKPENLLLASK	KFNAR
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	42	56	1,01E-02	2,3	13	VLAGEYAAKIINTK	DHQKLER
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	461	292	7,44E-03	2	1	DGKWQIVHFHR	KFNAR
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	267	56	2,94E-03	1,2,3	10	ITAAEALKHPWISHR	DHQKLER
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	68	292	1,31E-03	1,2	5	LLKHPNIVR	KFNAR
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	317	347	1,17E-03	2,3	7	NFSGGKSGGNK	KQEIIK
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	267	292	7,14E-04	2	4	ITAAEALKHPWISHR	KFNAR
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	137	148	6,38E-04	1,2,3	12	DLKPENLLLASK	LKGAAVK
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	68	56	3,32E-04	1,2,3	17	LLKHPNIVR	DHQKLER
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	344	347	2,36E-04	1,2,3	17	ESSESTNTTIEDEDTKVR	KQEIIK
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	42	137	9,58E-05	2	3	VLAGEYAAKIINTK	DLKPENLLLASK
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	226	56	7,90E-05	2,3	9	LYQQIKAGAYDFPSPEWDTVTPE AK	DHQKLER
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	317	292	3,30E-05	2	2	NFSGGKSGGNK	KFNAR
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	347	292	2,68E-05	2	1	KQEIIK	KFNAR
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	137	56	1,86E-05	1,2,3	8	DLKPENLLLASK	DHQKLER
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	148	292	1,20E-05	2	1	LKGAAVK	KFNAR
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	226	137	1,51E-06	2	7	LYQQIKAGAYDFPSPEWDTVTPE AK	DLKPENLLLASK
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	56	292	1,37E-06	1,2,3	5	DHQKLER	KFNAR
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	267	68	2,59E-08	1,2	2	ITAAEALKHPWISHR	LLKHPNIVR
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	317	323	8,14E-09	1,2,3	9	NFSGGKSGGNK	KNDGVK
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	258	292	4,78E-09	2	3	MLTINPSKR	KFNAR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	56	47	1,46E-09	1,2,3	14	DHQLKER	IINTKK
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	347	323	4,08E-10	2,3	6	KQEIIK	KNDGVK
KCC2A	KCC2A	P11275	P11275	323	292	8,69E-12	2	1	KNDGVK	KFNAR
KCRU	KCRU	P25809	P25809	332	403	1,32E-04	2,3	15	AGVHVKLPPLSK	LEKGQDIR
KCRU	KCRU	P25809	P25809	257	276	2,79E-05	2	3	GIWHNNEKSFLIWWNEEDHTR	VISMEKGGNMK
KPCB	KPCB	P68403-2	P68403-2	315	304	2,40E-02	2,3	3	IGQGTKAPEEK	QKFER
KPCB	KPCB	P68403-2	P68403-2	320	309	1,90E-02	1,2	3	APEEKTANTISK	AKIGQGTK
KPCB	KPCB	P68403-2	P68403-2	355	362	5,82E-03	2	2	GSFGKVMLSER	KGTDELYAVK
KPCB	KPCB	P68403-2	P68403-2	309	304	5,49E-04	1,2,3	10	AKIGQGTK	QKFER
KPCB	KPCB	P68403-2	P68403-2	29	38	5,44E-04	2,3	9	QKNVHEVK	NHKFTAR
KPCG	KPCG	P63319	P63319	384	380	3,70E-02	2	3	KDVIVQDDVDCTLVEK	GSELYAIIKILK
KPCG	KPCG	P63319	P63319	28	37	4,02E-03	2	4	QKVVHEVK	SHKFTAR
KPYM	KPYM	P11980-2	P11980-2	247	256	2,27E-06	3	5	KAADVHEVR	KVLGEK
LAMP5	LAMP5	Q5PPI4	Q5PPI4	118	96	7,58E-03	1,2,3	17	AYTLKMLFVK	GAEVKGR
LSAMP	LSAMP	Q62813	Q62813	58	88	4,13E-06	1,2,3	5	CVVEDKNSK	VELEKR
MBP	MBP	P02688	P02688	166	159	2,25E-02	2,3	4	GFKGAYDAQGTLISK	ASDYKSAHK
MBP	MBP	P02688	P02688	115	100	1,95E-04	1,2	7	TQDENPVVHFFKNIVTPR	TTHYGSLPQKSQR
MBP	MBP	P02688	P02688	14	100	8,07E-05	2	1	HGSKYLATASTMDHAR	TTHYGSLPQKSQR
Myosin-Va	Myosin-Va	A0A0G2K4Y7	A0A0G2K4Y7	994	997	4,90E-03	1,2	4	VLSLQEEIAKLR	KDLEQTR
Myosin-Va	Myosin-Va	A0A0G2K4Y7	A0A0G2K4Y7	909	902	6,34E-07	2	7	LKIEAR	MMAKR
NSF	NSF	Q9QUL6	Q9QUL6	293	275	6,66E-03	2	6	VVNGPEILNKYVGESEANIR	QIGKMLNAR
NSF	NSF	Q9QUL6	Q9QUL6	266	304	6,24E-03	2	1	GILLYGPPGCGKTLAR	KLFADAEEEQR
NSF	NSF	Q9QUL6	Q9QUL6	427	458	4,46E-04	2	1	GHQLLSADVDIKELAVETK	HIKASTK
NSF	NSF	Q9QUL6	Q9QUL6	198	202	1,03E-04	1,2,3	20	AENSSLNLIGKAK	TKENR
NSF	NSF	Q9QUL6	Q9QUL6	283	304	9,85E-05	2,3	2	EPKVVNGPEILNK	KLFADAEEEQR
NSF	NSF	Q9QUL6	Q9QUL6	283	275	2,90E-05	2,3	7	EPKVVNGPEILNK	QIGKMLNAR
NSF	NSF	Q9QUL6	Q9QUL6	293	304	5,75E-06	1,2	6	VVNGPEILNKYVGESEANIR	KLFADAEEEQR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
OPCM	OPCM	P32736	P32736	239	275	6,67E-01	2	2	NTGVSVGQKKGILSCEASAVPMAE FQWFK	IENKGR
OPCM	OPCM	P32736	P32736	230	275	9,69E-06	1,2,3	11	AKNTGVSVGQK	IENKGR
PFKAP	PFKAP	P47860	P47860	395	381	3,26E-02	1,2	3	SFEGNLNTYKR	FDEAVKLR
PFKAP	PFKAP	P47860	P47860	747	737	1,55E-03	2	2	IPKQQWWLK	KATDFEHR
PFKAP	PFKAP	P47860	P47860	730	737	4,53E-11	1,2,3	33	DLLFKPVAELR	KATDFEHR
Pfkm	Pfkm	Q52KS1	Q52KS1	272	285	1,90E-02	2,3	5	NGKPITSEDIK	NLVVKKR
Pfkm	Pfkm	Q52KS1	Q52KS1	144	107	5,75E-03	2	4	DGKITAEATK	AAHNLVKKR
Pfkm	Pfkm	Q52KS1	Q52KS1	727	738	5,21E-04	2	3	ALVFQPVTELKQDTDFEHR	IPKEQWWLK
Pfkm	Pfkm	Q52KS1	Q52KS1	107	90	6,46E-07	2,3	3	AAHNLVKKR	CKDFR
PRS4	PRS4	P62193	P62193	91	98	2,24E-02	2	1	NQEQMKPLEEKQEEER	SKVDDLRL
PRS7	PRS7	Q63347	Q63347	340	356	1,53E-12	1	4	KIEFSLPDLEGR	THIFKIHR
PSA3	PSA3	P18422	P18422	65	230	1,92E-01	1,2	6	LYEEGSNKR	HEIVPKDVR
Psmc3	Psmc3	Q6P6U2	Q6P6U2	73	77	7,58E-02	2	1	VTHELQAMKDK	IKENSEK
Psmc6	Psmc6	G3V6W6	G3V6W6	34	41	5,02E-02	1,2,3	7	LLEHKEIDGR	LKELR
PTN9	PTN9	Q641Z2	Q641Z2	176	55	3,12E-02	2	1	VLNLLKGAFPAR	KFDVLR
PUR6	PUR6	P51583	P51583	19	12	3,20E-04	1	3	TKEVYELLDSPGR	KLYEGK
RAC1	RAC1	Q6RUV5	Q6RUV5	153	166	5,96E-05	2	2	EIGAVKYLECSALTQR	GLKTVFDEAIR
RAC1	RAC1	Q6RUV5	Q6RUV5	116	128	1,60E-07	1,2,3	21	HHCNTPPIILVGTKLDLR	DDKDTIEKLNK
RAC1	RAC1	Q6RUV5	Q6RUV5	116	123	6,78E-11	1,2,3	9	HHCNTPPIILVGTKLDLR	DDKDTIEK
Rasal1	Rasal1	D3ZHY9	D3ZHY9	576	589	2,12E-04	2	5	KEEPASLATR	FAFKK
Rasal1	Rasal1	D3ZHY9	D3ZHY9	604	574	7,71E-06	2	9	DLSYSKTPPEWQVHSSIPLSCIR	EGFLLKR
Rasal1	Rasal1	D3ZHY9	D3ZHY9	576	574	3,12E-08	1,2,3	29	KEEPASLATR	EGFLLKR
Rasal1	Rasal1	D3ZHY9	D3ZHY9	604	576	3,87E-12	1,2,3	12	DLSYSKTPPEWQVHSSIPLSCIR	KEEPASLATR
Reticulon-3	Reticulon-3	Q6RJR6	Q6RJR6	926	936	9,75E-02	2	4	SIVEKIQAK	LPGIANK
RS27A	RS27A	P62982	P62982	1	29	1,23E-06	2,3	6	MQIFVK	AKIQDK
RS4	RS4	P24050	P24050	193	201	2,45E-04	1,3	4	KDELER	VAKSNR
RS7	RS7	P62083	P62083	155	147	1,97E-02	3	2	LIKVHLDK	VKLDGSR

Protein 1	Protein 2	UP-Nr. 1	UP-Nr. 2	QPos 1	QPos 2	Score	Repl.	#Spektren	Peptidsequenz 1	Peptidsequenz 2
Ryanodine R2	Ryanodine R2	B0LPN4	B0LPN4	1246	834	8,80E-02	2	1	DITMWLSKR	EYKQER
TCPD	TCPD	Q7TPB1	Q7TPB1	213	209	4,01E-05	2	9	KLGGTIDDCELVEGLVLTQK	DIKIVK
TCPD	TCPD	Q7TPB1	Q7TPB1	21	29	1,22E-08	1,2,3	18	GKGAYQDR	DKPAQIR
TCPG	TCPG	Q6P502	Q6P502	222	234	3,99E-01	3	1	GVMINKDVTHPR	YIKNPR
TCPG	TCPG	Q6P502	Q6P502	181	191	2,86E-02	2	1	WSSLACNIALDAVKTVQFEENGR	KEIDIK
TCPG	TCPG	Q6P502	Q6P502	222	191	1,33E-02	2,3	2	GVMINKDVTHPR	KEIDIK
TCPG	TCPG	Q6P502	Q6P502	527	529	2,55E-07	2,3	3	IDDIVSGHKK	KGDDQNR
TPD54	TPD54	Q6PCT3	Q6PCT3	70	78	1,70E-01	1,2,3	5	QVLAAKER	HCGELKR
Trappc10	Trappc10	F1MAQ4	F1MAQ4	157	149	5,88E-01	3	1	NDFCNKQSDR	TSIVDKIR
VAPA	VAPA	Q9Z270	Q9Z270	125	52	8,72E-02	2	7	EAKPDELMDSKLR	VKTTAPR
VAPB	VAPB	Q9Z269	Q9Z269	118	45	2,74E-01	2	7	EAKPDELMDSKLR	VKTTAPR
VIAAT	VIAAT	O35458	O35458	8	23	1,13E-04	2,3	7	SKLTVVATSVSNK	SQAKVSGMFAR
WDR7	WDR7	Q9ERH3	Q9ERH3	877	862	2,14E-04	2	3	GPATESVGGKTYTVSR	LLQAKAEAGR
Wfs1	Wfs1	E9PT53	E9PT53	800	681	4,89E-03	2	2	GHEEDDITKDIVLR	AWKETNMAR
Wfs1	Wfs1	E9PT53	E9PT53	800	836	8,26E-04	2	2	GHEEDDITKDIVLR	LGSKWPVFELK
Wfs1	Wfs1	E9PT53	E9PT53	836	681	3,13E-04	2	1	LGSKWPVFELK	AWKETNMAR

Danksagung

Dir liebe Prof. Carla Schmidt möchte ich als erstes von ganzen Herzen Danken. Du hast mir dieses spannende und herausfordernde Thema anvertraut und mich fachlich begleitet. In vielen gemeinsamen Gesprächen hast du mir die Strukturelle Massenspektrometrie in Diskussionen und Erklärungen nahegebracht. Durch dein stetes Engagement hast du es mir ermöglicht weltweit Wissenschaft zu erleben: in Israel, Spanien, Indiana, Florida, Italien, England, Österreich und Deutschland durfte ich an Erfahrungen wachsen, welche mich immer begleiten werden. Dir Herr Prof. Henning Urlaub möchte ich nicht nur für die Übernahme des Drittgutachtens danken, sondern auch für deine kulinarische Fürsorge und Unterstützung beim Networking auf gemeinsamen Konferenzen. Ihnen Herr PD Dr. Hauke Lilie danke ich für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Euch liebe Arbeitsgruppe, gilt ein riesiger Dank. Nichts ist wie es auf den ersten Blick scheint, weshalb ich hier etwas klarstellen möchte: Tommy trinkt den Latte Macchiato mit extra viel Vanillesirup und ich den Filterkaffee, Whiskey on the Rocks bin ich jedoch nicht dabei. Erst waren es nur Tommy und Ich; einfach das beste Duo! Dann kamst du Caro dazu, dir danke ich für Kuchen (laktosefrei) und die Proteine. Melissa und Marie, ihr wart die nächsten und gleich so schnell, dass ihr mich überholt habt. Marie, danke für deine große Unterstützung und wertvolle Freundschaft. Als nächstes kamst du Julian dazu. Mit keinem renne ich lieber vor einem T-Rex davon. Sven, Marie E., Susann, Karolin, Patrick, Amelie, Julia, Konstantin, Til, Christian und das Wahlgruppenmitglied Mona, wegen euch ist man einfach immer gerne in den Tierstall oder das Proteinzentrum gekommen. Danke an euch, die Projektkoordination, Ulla, Marie und Rosi für reibungslose Abläufe.

Ohne die Kollaborationspartner wäre diese Arbeit nicht zu Stande gekommen. Vielen Dank an die Arbeitsgruppe Prof. Reinhard Jahn. Insbesondere: Prof. Jahn selbst, Marcelo Ganzella und Momchil Ninov. Ein weiterer Dank geht an die Arbeitsgruppe Prof. Ralf Seidel mit Marius Rutkauskas und die Gruppe von Prof. Kai Tittmann mit dem herzlich gastfreundlichem Sabin Prajapati. Danke auch für die gelungenen und spaßigen Konferenzen durch Euere Teilnahme der Mitglieder der Arbeitsgruppen von Prof. Henning Urlaub, sowie der Arbeitsgruppen von Prof. Milton Stubbs, Prof. Jochen Balbach und Prof. Kirsten Bacia.

264 | DANKSAGUNG

Was die Familie und Freunde angeht: sie haben Verständnis dafür, dass ich hier nicht alle namentlich nenne. Die Anzahl an Seiten einer Doktorarbeit ist nun mal beschränkt. Ohne euch wäre ich nicht da, wo ich jetzt bin: eine große Familie, viele Freunde, viel Liebe, ihr gibt mir immer Halt. Christoph, du bleibst in liebender Erinnerung, danke für die unbezahlbaren Momente. Zuletzt komme ich zu dir, Chris. Du bist mein Begleiter, meine bessere Hälfte und ich bin dein größter Fan.

Publikationen

6. **Wittig S**, Ganzella M, Barth M, Kostmann S, Riedel D, Pérez-Lara Á, Jahn R, Schmidt C, (2021) Cross-linking mass spectrometry uncovers protein interactions and functional assemblies in synaptic vesicle membranes, **Nature Communications**, 12(1):858.
5. **Wittig S**, Songailiene I, Schmidt C, (2020) Formation and Stoichiometry of CRISPR-Cascade Complexes with Varying Spacer Lengths Revealed by Native Mass Spectrometry, **Journal of the American Society for Mass Spectrometry** 31(3):538-546.
4. Songailiene I, Rutkauskas M, Sinkunas T, Manakova E, **Wittig S**, Schmidt C, Siksnyš V, Seidel R, (2019) Decision-Making in Cascade Complexes Harboring crRNAs of Altered Length, **Cell Reports** 28(12):3157-3166.
3. Prajapati S, Haselbach D, **Wittig S**, Patel MS, Chari A, Schmidt C, Stark H, Tittmann K, (2019) Structural and Functional Analyses of the Human PDH Complex Suggest a "Division-of-Labor" Mechanism by Local E1 and E3 Clusters, **Structure** 27(7):1124-1136.
2. **Wittig S**, Haupt C, Hoffmann W, Kostmann S, Pagel K, Schmidt C, (2019) Oligomerisation of Synaptobrevin-2 Studied by Native Mass Spectrometry and Chemical Cross-Linking, **Journal of the American Society for Mass Spectrometry** 30(1):149-160.
1. Haupt C^{#1}, Hofmann T^{#1}, **Wittig S**^{#1}, Kostmann S, Politis A, Schmidt C, (2017) Combining Chemical Cross-linking and Mass Spectrometry of Intact Protein Complexes to Study the Architecture of Multi-subunit Protein Assemblies, **Journal of Visualized Experiments** 28;(129):56747.

Präsentationen

6. **HALOmem Retreat**, Goslar, Deutschland (16.–17.05.2019)
Heterogeneous protein networks in synaptic vesicles mediate signal transduction in neurons
5. **Sanibel conference der ASMS "Chemical Cross-linking and Covalent Labeling: From Proteins to Cellular Networks"**, St. Petersburg, Florida, USA (24.–27.01.2019)
Heterogeneous protein complexes in synaptic vesicles mediate signal transduction in neurons
(Ausgewählter Kurzvortrag)
4. **Status Seminar HALOmem**, Halle, Deutschland (8.11.2018)
Heterogeneous protein networks in synaptic vesicles mediate signal transduction in neurons.
3. **Ringberg Retreat (Retreat der AGs Jahn, Urlaub und Stein des MPIIbpc)**, Kreuth, Deutschland (29.5.–2.6.2018)
Protein interactions in synaptic vesicles.
2. **HALOmem Retreat**, Gohrisch, Deutschland (24.–26.5.2018)
Oligomerisation of Synaptobrevin-2 studied by native mass spectrometry and chemical cross-linking
1. **7th Symposium on Structural Proteomics**, Wien, Österreich (23.–25.10.2017)
Native Mass Spectrometry to Identify Stoichiometries and Stability of Protein-Ligand Complexes.
(Ausgewählter Kurzvortrag)

Posterpräsentationen

9. **9th Symposium on Structural Proteomics**, Göttingen, Deutschland (3.–6. 11.2019)
Protein interaction networks of synaptic vesicles examined by chemical cross-linking.

8. **Celebration of Native Mass Spectrometry**, Oxford, Vereinigtes Königreich (24.–26.03.2019)
Heterogeneous protein networks in synaptic vesicles mediate signal transduction in neurons.

7. **Sanibel conference der ASMS "Chemical Cross-linking and Covalent Labeling: From Proteins to Cellular Networks"** St. Petersburg, Florida, USA (24.–27.01.2019)
Heterogeneous protein complexes in synaptic vesicles mediate signal transduction in neurons.
(Travel Award)

6. **XXII International Mass Spectrometry Conference**, Florenz, Italien (26.–31.08.2018)
Native Mass Spectrometry to Identify Stoichiometries and Stability of CRISPR-Cascade Complexes.

5. **EMBO workshop: "Exocytosis and endocytosis: From synaptic vesicles to nanodiscs"**, Teneriffa, Spanien (16.–20.01.2018)
Poster: *Protein interaction networks in synaptic vesicles.* **(EMBO Student Travel Grant)**

4. **7th Symposium on Structural Proteomics**, Wien, Österreich (23.–25.10.2017)
Native Mass Spectrometry to Identify Stoichiometries and Stability of Protein-Ligand Complexes

3. **Structural Mass Spectrometry Workshop**, Weizmann Institute, Rehovot, Israel (3.–8.5.2017)
Identification of protein interaction networks in synaptic vesicles using cross-linking and mass spectrometry

2. **65th ASMS Conference, American Society for Mass Spectrometry (ASMS)**, Indianapolis, Indiana, USA (4.–8.06.2017)
Native Mass Spectrometry to Identify Stoichiometries and Stability of Protein-Ligand Complexes

1. **50. Jahrestagung der DGMS**, Kiel, Deutschland (5.–8.03.2017)
Development of a protein interaction network in synaptic vesicles using cross-linking and mass spectrometry.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name:	Sabine Wittig, geb. Zurhorst
Geburtsdatum, -ort:	████████████████████
Familienstand:	██████████
Staatsangehörigkeit	██████████
Qualifikation:	staatl. geprüfte Lebensmittelchemikerin mit Diplom in Lebensmittelchemie

Persönlicher Werdegang

Praktische Tätigkeiten

Seit 01.09.2020	Consultant Scientific and Regulatory Affairs bei RDA Scientific Consultants GmbH, München Aufgabenbereich: Bearbeitung toxikologische und lebensmittelrechtliche Fragestellungen
01.09.2016 – 29.02.2020	Wissenschaftliche Mitarbeiterin an der MLU Halle-Wittenberg
01.09.2014 – 31.08.2016	Sicherheitsbewerterin und Leitung kosmetischer Studien bei Dermatest GmbH, Münster Aufgabenbereich: Erstellen von Sicherheitsbewertungen gemäß VO (EG) 1223/2009, Leitung kosmetischer Studien
01.08.2011 - 31.12.2012	Tätigkeit als Tutorin an der Universität Hamburg Aufgabenbereich: Betreuung und Vorbereitung des Praktikums Lebensmittelmikrobiologie/-hygiene UHH

Staatliche Ausbildung

26.06.2014	Zweite lebensmittelchemische Staatsprüfung
01.11.2013 - 30.04.2014	Praktikum im Rahmen des 2. Staatsexamens am Amt für Umwelt und Hygiene
01.05.2013 - 31.10.2013	Praktikum im Rahmen des 2. Staatsexamens bei der SGS Germany GmbH

Universitärer Werdegang

25.03.2013	Erste lebensmittelchemische Staatsprüfung
15.03.2012 - 15.11.2012	Anfertigung der Diplomarbeit „Untersuchung zur Bildung von Reuterin durch <i>Lactobacillus reuteri</i> “ – Entwicklung einer GC-MS für Reuterin
04.11.2010	Lebensmittelchemische Vorprüfung
01.11.2008	Studienbeginn der Lebensmittelchemie „Universität Hamburg“

Schule

18.06.2008	Erwerb der allgemeinen Hochschulreife „Maria-Merian-Schule“ Ernährungswissenschaftliches Gymnasium in Waiblingen
------------	--

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe angefertigt und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe. Die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Stellen sind als solche kenntlich gemacht. Ebenfalls sind alle von anderen Personen bereitgestellten Materialien oder erbrachten Experimente als solche gekennzeichnet. Die eingereichte schriftliche Fassung der Arbeit entspricht der auf dem elektronischen Speichermedium. Weiterhin versichere ich, dass die vorliegende Promotionsarbeit noch nicht als Abschlussarbeit an anderer Stelle eingereicht wurde. Ich habe vor dieser Arbeit keine andere Promotionsarbeit eingereicht.

Flintsbach am Inn, den

Sabine Wittig