

MALDI-TOF als leistungsfähiges Werkzeug in den Life Sciences



Dr. Ivana Kroslakova,
wissenschaftliche
Mitarbeiterin,
ivana.kroslakova@zhaw.ch



Dr. Christian Hinderling,
Institutsleiter ICBC,
christian.hinderling@zhaw.ch

Die MALDI-TOF-Massenspektrometrie wird am Institut für Chemie und Biologische Chemie (ICBC) für Fragestellungen aus der Proteintechnik, Medizinalchemie, Diagnostik, Polymerchemie und Mikrobiologie eingesetzt. Sie wird in interdisziplinären Projekten institutsübergreifend oder mit externen Partnern genutzt. Die Schwerpunkte liegen in der schnellen Identifikation von Mikroorganismen und der Analyse von Proteinaggregaten und Protein-Protein-Wechselwirkungen mit Hochmassen MALDI-TOF.

Traditionell für die Strukturaufklärung kleiner, inakt verdampfbarer Moleküle eingesetzt, hat sich die Massenspektrometrie durch eine Reihe von technischen Verbesserungen in den letzten Jahrzehnten zu einem zentralen Werkzeug in den Life Sciences entwickelt. Möglich wurde dies durch neue Ionisationsmethoden wie die Elektrosprayionisierung oder das MALDI (Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation), welche erstmals die Analyse von grossen und/oder hydrophilen oder gar ionischen Molekülen erlaubte.

Molekülmasse errechnen

In der MALDI-TOF-Massenspektrometrie wird die Probe mit einem UV-absorbierenden Hilfsstoff (der Matrix) gemischt und mit einem gepulsten UV-Laser schlagartig verdampft und ionisiert. Die Ionen werden im Vakuum in einem elektrischen Feld beschleunigt und nach einer Flugstrecke detektiert. Da leichte Ionen höhere Geschwindigkeit erreichen, kann aus der Flugzeit die Molekülmasse errechnet werden. Für die biologischen Anwendungen ist bedeutend, dass es sich dabei um eine «weiche» Ionisationsmethode handelt, die kaum zu Fragmentierung der Ionen führt.

Gerät mit speziellem Hochmassendetektor

Begrenzt war der zugängliche Massenbereich in der MALDI-TOF-Massenspektrometrie nach oben bislang vor allem durch die stark abnehmende Detektorempfindlichkeit ab einer Molekülmasse von ca. 100 kDa. In den Life Sciences interessante Proben besitzen aber häufig höhere Massen. Das MALDI-TOF-Gerät am

ICBC wurde daher mit einem speziellen Hochmassendetektor (CovalX) ausgerüstet und ist damit in der Lage, Moleküle bis über 1 MDa zu erfassen. Es ist gegenwärtig in der Schweiz und ausserhalb des ETH-Bereiches das einzige derartige Gerät.

Analyse von Proteinwechselwirkungen und Aggregaten

Nach der Entschlüsselung des menschlichen Genoms fokussieren sich gegenwärtig Forschungsanstrengungen stärker auf Proteine und deren Interaktionen. Proteine entfalten ihre biologische Wirkung u.a. durch hochspezifische Wechselwirkungen untereinander. Dies macht Substanzen, welche Protein-Protein-Wechselwirkungen beeinflussen, pharmazeutisch hochinteressant. Die Detektion von Proteinaggregation in Abhängigkeit von potentiellen Wirkstoffen kann daher als effizientes

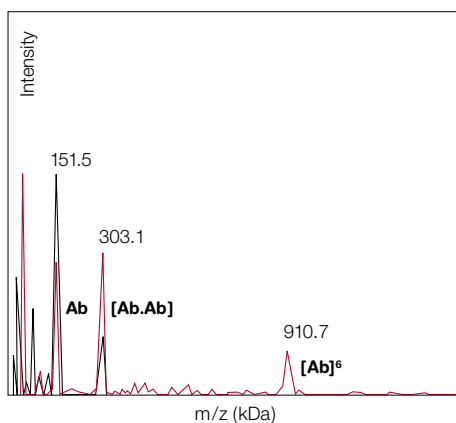


Abb. 1: Hochmassen-MALDI-TOF-Analyse einer Probe von aggregierten therapeutischen Antikörpern Hab42 vor (schwarz) und nach (rot) cross-linking.

Screening-Verfahren verwendet werden. Aber auch Proteine selber, beispielsweise in der Form von therapeutischen Antikörpern oder Antikörperkonjugaten, stellen eine stetig wichtiger werdende Klasse von Medikamenten dar. Eine Komplikation beim Einsatz therapeutischer Antikörper ist deren potentielle Aggregation in Lösung. Die Hochmassen-MALDI-TOF-Massenspektrometrie eignet sich vorzüglich zum Quantifizieren solcher unerwünschter Aggregate (Abb. 1).

Identifikation von Mikroorganismen

MALDI-TOF erlaubt die schnelle Identifikation von Mikroorganismen auf der Stufe von Genus und Spezies bei geringem Probenbedarf. Nach einer kurzen Inaktivierung der Probe dauert die eigentliche Messung weniger als eine Minute. Die Identifikation gelingt durch den Vergleich der erhaltenen komplexen Proteinmuster, eigentlichen «Fingerabdrücken», mit einer Datenbank, welche mehrere Tausend Bakterien, Hefen und Pilze enthält (Abb. 2).

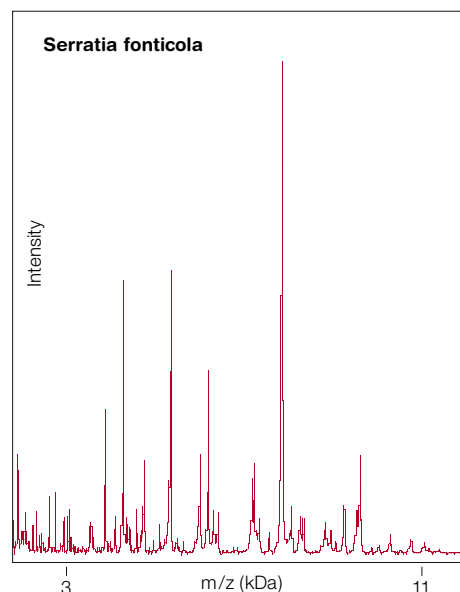


Abb. 2: MALDI-TOF-MS-«Fingerabdruck» eines Mikroorganismus. Die Signale rühren hauptsächlich von ribosomalen Proteinen her. Die Probe wurde durch Abgleich mit einer Datenbank als *Serratia fonticola* identifiziert. Messung und Identifikation dauern zusammen ca. eine Minute.