

MICHAEL KARAS, INSTITUT FÜR PHARMAZEUTISCHE CHEMIE

MALDI-Massenspektrometrie und Proteomics

Während die Anwendungen von MALDI und ESI in der Proteinanalytik, aber auch der Analytik von „kleinen Molekülen“, wie z.B. Arzneistoffen und -metaboliten, kontinuierlich wachsen, wird die **Physik und Chemie der Ionenerzeugung** auch heute noch nur von wenigen Arbeitsgruppen untersucht. Der Arbeitskreis war hier für den Bereich MALDI durch den Einsatz „chemischer Sondenverbindungen“, wie Indikatorfarbstoffen und extrem starker Säuren, sehr erfolgreich und hat die Modellvorstellungen durch die Formulierung des „Lucky-Survivor“- bzw. Clusterionisationsmodell voran getrieben [1,2]. Das Ziel dieser Arbeiten ist es, durch eine Verbesserung des Grundlagenverständnisses Fortschritte für den praktischen Einsatz der Ionisierungstechniken zu erreichen, z.B. durch gesteigerte Nachweisempfindlichkeit, optimierte Präparationsprotokolle, neue MALDI-Matrizes, aber auch systematische Limitierungen zu erkennen und zu beschreiben. Problemanalyte, wie extrem hydrophobe Peptide/Membranproteine, stellen auch heute noch analytische Herausforderungen dar, die nach deutlichen Verbesserungen der Messmethodik verlangen. Hier gelang es im Bereich neuer MALDI-Matrizes 2008 einen deutlichen Schritt nach vorn zu tun und die Stagnation in diesem Bereich zu überwinden. Durch die Synthese und den Test einer Vielzahl von modifizierten α -Cyanozimtsäuren wurde die Protonenaffinität der Matrixverbindung als wesentlicher Faktor für die MALDI-Ionenbildung definiert und durch die Kopplung zwischen molekulardynamischen Berechnungen und Experiment wurde 4-Chlor- α -Cyanozimtsäure als neue überlegene MALDI-Matrix eingeführt [3].

Auch im Bereich **Proteinanalytik/Proteomics** finden die Arbeiten der Arbeitsgruppe – neben vielfältigem Einsatz etablierter Techniken in Service- und Kooperationsprojekten – mit einem ausgeprägten methodischen Aspekt statt. Es ist das Ziel, die in konventionellen Proteomics-Ansätzen chronisch unterrepräsentierten Membranproteine durch **methodische Neuentwicklungen** besser zu erfassen. Ein erster Teilerfolg gelang hier durch die Entwicklung einer zweidimensionalen SDS-PAGE Technik [4]. Die aktuellen Arbeiten konzentrieren sich auf intakte Membranproteinkomplexe und die Fortentwicklung der Arbeitsmethodik zu ihrer Identifizierung und Charakterisierung durch den direkten Einsatz von MALDI-MS, den Einsatz von rpHPLC-MS/MS-Techniken, den Einsatz alternativer Verdauprotokolle und Verdauenzymen, den Einsatz chemischer Derivatisierungs- und Crosslinking-Techniken und neuer Bioinformatik-Werkzeuge. Der erfolgreiche Einsatz weniger spezifischer Enzyme wurde sowohl für MALDI als auch ESI eindeutig gezeigt [5]. Dazu wird auch die Kopplung zwischen rp-NanoHPLC und MALDI-MS/MS als weiterer Schritt zur Verbreiterung des Proteomics-Instrumentariums routinemäßig eingesetzt.

In einem weiteren Projekt, das im Grenzgebiet „Kleine-Moleküle/Wirkstoffe“ und Biochemie eingeordnet ist, werden neue Antibiotika aus bakteriellen Quellen gesucht und diese mittels In-Vitro ribosomaler Proteinbiosynthese und Proteomics auf ihren Funktionsmechanismus untersucht. In

MICHAEL KARAS, INSTITUTE OF PHARMAZEUTICAL CHEMISTRY

MALDI Mass Spectrometry and Proteomics

Whereas the application of MALDI and ESI for protein analysis and as well for the analysis of „small molecules“, such as pharmaceutical and their metabolites, are growing continuously, only a few research groups investigate on the physics and chemistry of ion generation. For the area of MALDI the Karas group has successfully applied chemical probes, e.g. indicator dyes and extremely strong acid, and revitalized the model discussions by presenting the „Lucky-Survivor“- and the cluster-ionization model [1,2]. It is the general goal to improve the practical use of the techniques by an improved understanding of the underlying fundamentals, such as improvements in sensitivity, sample-preparation protocols, new MALDI matrices, or alternative ESI solvent systems, but also to reveal and describe systematic limitations. Problem analytes, such as extremely hydrophobic peptides/membrane proteins, still form analytical challenges today demanding substantial progress in measuring methods. In this field a big step forward was accomplished in 2008 to overcome the stagnation. By the chemical synthesis and test of numerous modified α -cyanocinnamic acids matrix the proton affinity was revealed to be the relevant property for analyte ionization. By coupling molecular dynamic calculations and experiment 4-chloro- α -cyanocinnamic acid was introduced as a new superior matrix compound [3].

Also in the field of proteomics the research of the group – in parallel to numerous practical applications both in service and cooperation projects – works with a strong methodic orientation. It has been and is the goal to better cover membrane proteins which are notoriously underrepresented in conventional proteomics approaches. A first success was achieved by the development of a two-dimensional SDS-PAGE technique [4] and its combination to MALDI peptide mass fingerprinting for protein identification. The actual work focuses on intact membrane-protein complexes and the advancement of the working tools for their identification and characterization by direct use of MALDI-MS, the combination of nano-rpHPLC and MS/MS, the introduction of alternative digestion protocols, the use of chemical crosslinking and derivatization steps as well as new bioinformatic tools. The successful use of less specific enzymes and their superiority for membrane protein identification was recently exemplified [5]. For this purpose the coupling of rp-nanoHPLC to MALDI-MS/MS is routinely applied as proteomic tool.

In a further project located at the boundary between „small molecules/drugs“ and biochemistry new antibiotic agents are searched from biological sources, and the method of action is investigated by applying an in-vitro protein biosynthesis system and general proteomic approaches. MALDI is also successfully applied for the analysis and quantitation of small molecule metabolites or drugs, directly from biological fluids, such as brain dialysates, with no or only minor sample workup.



einer weiteren Projektstudie wird MALDI eingesetzt zur direkten Analyse und Quantifizierung von Stoffwechselmetaboliten bzw. Arzneistoffen, wobei dies häufig ohne aufwändige Probenaufarbeitung möglich ist.

LITERATUR / REFERENCES

- [1] Karas M, Glückmann M, Schäfer J., Ionization in Matrix-assisted Laser Desorption Ionization: Singly Charged Molecular Ions are the Lucky Survivors; J. Mass Spectrom. Special Feature : Perspective, 35 (2000) 1-12.
- [2] Krüger R, Karas M., Ion Formation in MALDI: The Cluster Ionization Mechanism; Chem. Rev. 103 (2003) 427-439.
- [3] Jaskolla TW., Lehmann, WD Karas M., 4-Chloro- α -Cyanocinnamic acid is an advanced, rationally designed MALDI matrix; Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105 (2008) 12200-12205.
- [4] Rais I, Karas M, Schägger H., Two-dimensional electrophoresis for the isolation of integral membrane proteins and mass spectrometric identification; Proteomics 4 (2004) 2567-2571.
- [5] Rietschel B, Arrey TN, Meyer B, Bornemann S, Schürken M, Karas M, Poetsch A., Elastase digests: New ammunition for shotgun membrane proteomics; Mol.Cell. Proteomics 8: (2009)1029-43

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Michael Karas

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
 Institut für Pharmazeutische Chemie
 Max-von-Laue-Str. 9
 D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29916
 Fax: ++49 (0)69 798-29918
 E-Mail: karas@pharmchem.uni-frankfurt.de
<http://www.iachem.de/>

Ihr Full-Service-Partner im Bereich Print

Die VMK Druckerei GmbH ist bereits ein etablierter Partner im Segment Hochschulmarketing und bietet den Hochschulen sowie Unternehmen aus Wirtschaft und Handel gleichermaßen Know-how im Bereich Offset-, Digital- sowie Vierfarbendruck an. Unser Produktportfolio beinhaltet Printpublikationen wie z.B. Vorlesungsverzeichnisse, Forschungsberichte, Hochschulzeitungen sowie -magazine für Universitäten, Hochschulen und Fachhochschulen. Des Weiteren drucken wir Unternehmensbroschüren, Flyer, Kataloge, Sach- und Fotoreportagenbücher, Technische Illustrationen und Montageanleitungen (z.B. IKEA), Kalender, Weinetiketten, Eintrittskarten, Business Cards, Karten für jegliche Anlässe, Gutscheinblöcke und vieles mehr.

Überzeugen Sie sich selbst von unserem Know-how!
 Unsere Verkaufsabteilung informiert Sie gerne über unsere Druckmöglichkeiten.

Weitere Informationen erhalten Sie auf unserer Website
www.vmk-druckerei.de.

