

Merkblatt zur Probenpräparation für MALDI-TOF-MS Analytik:

Um sinnvolle Messungen mittels MALDI-TOF durchführen zu können, müssen die zu bearbeitenden Proben einigen Anforderungen entsprechen:

- Probenaufarbeitung mit nicht flüchtigen Salzen, Puffern und Detergentien ist zu vermeiden, da sie die Kokristallisation von Analyt und Matrix beeinträchtigen oder verhindern. Häufig ergeben diese Substanzen auch selbst Ionensignale im Sättigungsbereich des Detektors, da sie bereits eine Ladung tragen oder sich leicht ionisieren lassen.
- Benutzen Sie keine chaotrophen Agenzien wie Urea und Guanidinium-Salze.
- Kein DMSO oder Glycerol.

Sollten solche obengenannten Chemikalien unabdingbar für die Probenaufarbeitung sein, müssen sie durch Reinigungsschritte entfernt werden!

- Wenn immer möglich, benutzen Sie bitte flüchtige Salze wie Ammoniumformiat, Ammoniumacetat, Ammoniumhydrogencarbonat.
- Flüchtige Lösungsmittel wie Wasser, Acetonitril, Methanol etc. sind zur Probenpräparation geeignet. Wenn immer möglich, säuern Sie ihre Proben an. Dafür sind leicht flüchtige organische Säuren wie Essigsäure oder Trifluoressigsäure geeignet
- Die Konzentration für Proteine sollte um 100 pMol/ul liegen, bei einem Mindestvolumen von 5 ul. Für Peptide, Oligosaccheride sowie Oligonukleotide bei 50 pMol/ul, ebenfalls in mindestens 5 ul Lösung. Bei Probenlösungen mit geringerer Konzentration können die Ionenströme die Nachweisgrenze der Detektoren unterschreiten.
- Geben Sie bitte bei gefriergetrockneten Proben Einwaagegewicht und erwartetes Molgewicht an.

Beachten Sie bitte: Auch die strikte Einhaltung der Anforderungen von Reinheit und Konzentration garantieren noch keine erfolgreiche Messung:

- eine auf einem Gel homogen erscheinende Probe kann durch Adduktbildung auf mehrere Massen verteilt sein, so daß die effektive Konzentration um ein vielfaches geringer ist. Dies ist häufig bei cysteinhaltigen Proteinen/Peptiden zu beobachten. In einem solchen Fall muß eine vorherige Blockierung der freien Thiolgruppen erfolgen.
- die Probe selbst kann auch vergleichsweise schlecht ionisierbar sein, z.B. wenn die Entfaltung eines Proteins durch Disulfidbrücken behindert wird. Mögliche Abhilfe in solchen Fällen ist eine Reduktion mit anschließender Blockierung der Thiolfunktionen.

Auskünfte über Struktur, Sequenz, Untereinheiten, biologische Aktivitäten, chemische Reaktivitäten, pH-Wert, bekannte oder vermutete Verunreinigungen und passende Lösungsmittel erleichtern das Handling der Proben und beschleunigen die Meßdauer. Bitte machen sie falls erforderlich auch Angaben über möglicherweise vorhandene Risiken wie hohe **Toxizität**, **Cancerogenität** oder **Radioaktivität**. Vor der Präparation von empfindlichen Proben (Lagerstabilität < 24h) sollte unbedingt eine Terminabsprache getroffen werden. Nur so kann Meßzeit reserviert werden, um solche Proben möglichst umgehend zu vermessen. Bei Bedarf können Sie neben einem Ausdruck des Massenspektrums die Daten der Spektren entweder im ASCII-Format (zum Einlesen in Datenverarbeitungsprogramme wie EXCEL, ORIGIN o.ä.) oder als Bitmap der Originalabbildung (für die Weiterverarbeitung in entsprechenden Grafikprogrammen) erhalten.

Ihr Ansprechpartner für alle Fragen im Zusammenhang mit MALDI-TOF ist

Dr. Markus Wunderlin

Abteilung Pharmakologie und Toxikologie

Raum 139+140 (N26, Sektion Massenspektrometrie) / 5203 (N26)

Tel.: 23156 bzw. 23874

e-mail: markus.wunderlin@medizin.uni-ulm.de