

Kombination von Kapillargelelektrophorese und Massenspektrometrie zur Proteinanalytik

1. Themenfeld des Projekts

Proteine gehören zu den Grundbausteinen des Lebens und rücken in jüngster Zeit auch in den Fokus der Medikamentenentwicklung. Geeignete Analysemethoden gerade auch für intakte Proteine und Antikörper sind daher nötig. Die Gelelektrophorese ist die wichtigste Technik zur Auftrennung von intakten Proteinen. Sie wird üblicherweise im Flachbett durchgeführt. Gelelektrophorese kann aber auch in einer Kapillare betrieben werden, mit den Vorteilen einer höheren Reproduzierbarkeit und insbesondere der einfachen on-line Detektion. Als wichtigste Technik zur Charakterisierung von Biomolekülen hat sich in den letzten Jahren die Massenspektrometrie entwickelt. Dabei können nicht nur „kleine“ Moleküle, sondern auch intakte Proteine sehr genau und nachweisstark beschrieben werden. Leider ist die direkte Ankopplung der Kapillargelelektrophorese mit der ESI an die Massenspektrometrie zur Analytik von Proteinen wegen der verwendeten fluiden Gele nicht möglich. Das Forschungsprojekt versucht diese Lücke zu schließen und die Massenspektrometrie als on-line Detektor für die Gelelektrophorese zu ermöglichen.

2. Ziele des Projekts

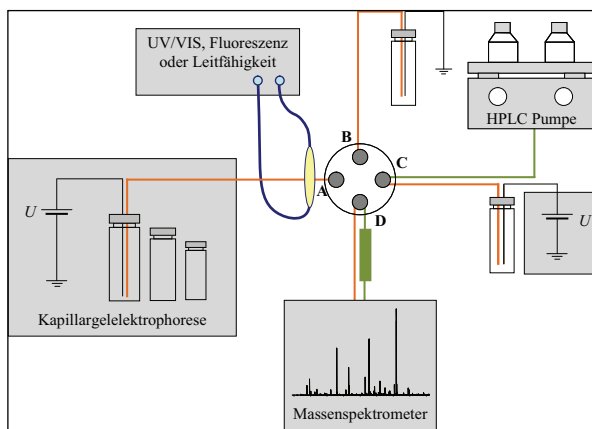
Ziel des Projekts ist es, ein Verfahren zur Analyse von intakten Proteinen zu entwickeln, basierend auf der Ankopplung von Kapillargelelektrophorese an die Massenspektrometrie. Kernaufgabe ist die Entwicklung einer geeigneten Kopplung, um die Analyte von der Gelelektrophorese (1. Dimension) über eine zweite kurze Trennstrecke zur (chromatographischen oder elektrophoretischen) Abtrennung des Gels in das Massenspektrometer (MS) zu überführen.

Um die Analyte gezielt aus der gelelektrophoretischen Trennstrecke in die zweite kurze Abtrennstrecke zu übertragen und anschließend mit dem Massenspektrometer zu analysieren, ist eine Detektion unmittelbar vor der Auskopplung nötig. Dazu sollen spektroskopische Techniken wie UV-Absorption und Fluoreszenz und/oder Leitfähigkeitsdetektion verwendet werden. Der Kooperationspartner J+M Analytik AG hat dazu geeignete

Messzellen entwickelt. Diese per Lichtleiter angebundenen Messzellen erlauben ein gezieltes Ausschleusen von interessierenden Analyten aus der ersten Trennstrecke.

3. Erwartete Ergebnisse/Verwertung

Bei Erfolg des Projekts eröffnen sich zahlreiche weitreichende Anwendungen in der Biopharmazie und der Biotechnologie, aber auch in der Medizin, wo die Analyse von intakten Proteinen und Antikörpern eine immer größere Rolle spielt. Darüber hinaus ließe sich das Prinzip auch mit anderen elektromigrativen Trenntechniken wie etwa der Isoelektrischen Fokussierung verknüpfen, ebenso werden 2-dimensionale Trennungen, etwa Flüssigkeitschromatographie-Kapillarelektrophorese (LC-CE) ermöglicht. Damit eröffnen sich auch über den biotechnologisch/pharmazeutisch bzw. klinischen Bereich hinaus neue analytische Möglichkeiten.



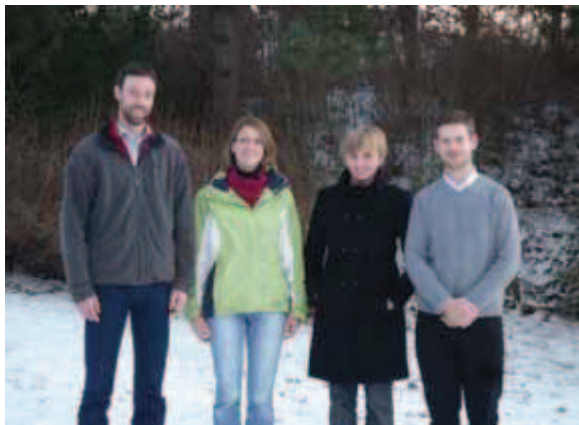
Schema des geplanten Aufbaus zur Kapillargelelektrophorese gekoppelt über Kapillarzonenlektrophorese oder Flüssigkeitschromatographie mit dem Massenspektrometer.

4. Kooperation

Dank bester Expertise in optischen Detektionsverfahren kommt der Zusammenarbeit mit J+M Analytik hinsichtlich sinnvoller 2-dimensionaler Kopplung eine große Bedeutung zu. Unterstützung erhält die Arbeitsgruppe vom Projektpartner in Form von Leihgeräten - etwa UV/VIS-Absorptionszelle und CCD-Kamera für spektroskopische Information - sowie bei der Durchführung der entsprechenden Messungen (z.B. Schulung der Software).

5. Projektleitung

Der Arbeitskreis von Prof. Dr. Christian Neusüß beschäftigt sich mit modernen instrumentellen Methoden im Bereich organischer Analytik. Dabei kommen die hochauflösende Massenspektrometrie aber auch spektroskopische Techniken in Verbindung mit chromatographischen und elektromigrativen Trennsystemen zum Einsatz. Der Schwerpunkt der Arbeiten der letzten knapp zehn Jahre liegt auf methodischen und applikativen Aspekten der CE-MS.



Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Christian Neusüß
an der HTW Aalen

6. Nachwuchskonzept

Das Projekt verbindet in idealer Weise die Studienschwerpunkte der Fakultät für Chemie „Molekulare Biotechnologie“ sowie „Analytische Chemie“ und bietet Studierenden im neuen Master-Studiengang „Analytische und Bioanalytische Chemie“ interessante Forschungseinblicke. Mehrere Studenten werden in Form von Projekt- und Abschlussarbeiten in das Projekt einbezogen oder erhalten Gelegenheit als Hilfwissenschaftler Projekterfahrung zu sammeln.

Zwei über das Projekt finanzierten wissenschaftlichen Mitarbeitern wird eine kooperative Promotion mit der Universität Jena sowie voraussichtlich der Universität Leipzig ermöglicht.

Titel

Kapillargelelektrophorese/Massenspektrometrie – neuer Ansatz zur Kopplung zweier bedeutender Techniken zur Proteincharakterisierung

Kurztitel

GEMSE

Laufzeit

01.06.2010 – 31.05.2013

Fördersumme

243.000 €

Zuwendungsempfänger

Hochschule Aalen – Technik und Wirtschaft

Projektleitung

Prof. Dr. Christian Neusüß

Kontakt

Tel.: 07361 5762399

E-Mail: christian.neusuess@htw-aalen.de

Partner

J+M Analytik AG, Aalen

Universität Jena

Weitere Informationen

<http://www.htw-aalen.de/personal/christian.neusuess/>