

High-mass MALDI-MS paving the way for visual proteomics

Doctoral Thesis

Author(s):

Weidmann, Simon

Publication date:

2014

Permanent link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-010075653>

Rights / license:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#)

Diss. ETH No. 21710

**High-Mass MALDI-MS:
Paving the Way for Visual Proteomics**

A thesis submitted to attain the degree of
DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH
(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

SIMON WEIDMANN

MSc ETH in Chemistry, ETH Zurich, Switzerland

born on 05.05.1983

citizen of
Bülach (ZH) & Bachs (ZH)

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Renato Zenobi, examiner
Prof. Dr. Detlef Günther, co-examiner

2014

Zusammenfassung

Proteine gehören zu den Hauptbestandteilen von Zellen und können eine Vielzahl von Aufgaben übernehmen. Neben strukturellen Funktionen sorgen sie auch für den Transport von Ionen und Metaboliten, erkennen Signalstoffe oder katalysieren chemische Reaktionen. Um solche Funktionen und das Zusammenspiel verschiedener Proteine besser verstehen zu können, wird eine Vielzahl an biochemischen Methoden verwendet. Diese Methoden können unterschiedliche Informationen liefern und haben individuelle Stärken und Schwächen. Massenspektrometrie beispielsweise ist gut dazu geeignet das Molekulargewicht kleiner Proteine zu bestimmen, während Elektronenmikroskopie ein optisches Bild grosser Proteine und Proteinkomplexe aufnehmen kann. Eine solche Kombination verschiedener Techniken wird «visuelle Proteomik» genannt. Im Rahmen dieser Dissertation wird versucht die Lücke, die zwischen den Anwendungsbereichen von Massenspektrometrie und Elektronenmikroskopie besteht, zu schliessen.

Weil im Normalfall Massenspektrometrie für Ionen mit einem hohen Masse-zu-Ladungs-Verhältnis nicht geeignet ist wurde das verwendete Matrix-unterstützte Laser-Desorptions-/Ionisations-Massenspektrometer mit einem speziellen Detektor ausgerüstet. Für die gleichzeitige Probenvorbereitung von Elektronenmikroskopie und Massenspektrometrie wurde ein System entwickelt, das zusätzlich das Potential für Hochdurchsatzmessungen mitbringt. Um möglichst präzise Informationen über die Proben zu erhalten, ist eine zuverlässige Kalibration unerlässlich. Dazu wurde ein neuartiger modularer Kalibrationsstandard für den hohen Massenbereich entwickelt. Bei der Untersuchung von Mischungen dieser Kalibrationsstandards wurde festgestellt, dass Ionen mit verschiedenen Massen unterschiedlich intensive Signale ergeben. Die Ursachen dieser Unterschiede wurden untersucht und Richtlinien festgelegt, wie solche Diskriminierungseffekte reduziert oder verhindert werden können.

Abstract

Proteins are amongst the main building blocks of cells and are involved in several cellular tasks. They are not only important for the structure of the cell, but they transport also ions and metabolites, recognize signaling compounds or catalyze chemical reactions. To understand these functions and the interactions between different proteins, a wide variety of biochemical methods can be used. These methods might yield different information and have their own strengths and weaknesses. Mass spectrometry for instance, is very well suited for the determination of the molecular weight of small molecules. Electron microscopy, on the other hand, gives an optical image of large proteins and protein complexes. A combination of such different techniques is called “visual proteomics”. The existing gap in the application ranges of mass spectrometry and electron microscopy was addressed in this thesis with the ultimate goal of closing the gap.

Usually, matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry is not suitable for ions with a high mass-to-charge ratio. Therefore, the used instrument was equipped with a special detector, specifically developed for such ions. To allow simultaneous sample preparation for both methods, electron microscopy and mass spectrometry, a microfluidic device was developed, allowing future high-throughput applications. To obtain precise information on the sample, accurate and reliable calibration is crucial. A new, modular calibration standard was developed for these high-mass applications. Investigation of mixtures of these calibration standards showed differences in the signal intensity as a function of the mass of the analyte. The reason for these differences were investigated and guidelines to reduce or avoid such discrimination effects in the future were developed.