



Doctoral Thesis

Applying MALDI-ToF mass spectrometry to study non-covalent interactions

Author(s):

Chen, Fan

Publication Date:

2014

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-010159010> →

Rights / License:

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

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH NO. 21806

Applying MALDI-ToF Mass Spectrometry to Study Non-covalent Interactions

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

presented by
FAN CHEN

Mphil, The Chinese University of Hong Kong, Hong Kong

born on 15.08.1986
citizen of
China

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Renato Zenobi, examiner
Prof. Dr. Kaspar Locher, co-examiner

2014

V. Abstract

Non-covalent interactions are ubiquitous for the structural organization of biomacromolecules and play an important role in molecular recognition processes, such as the interactions between proteins, glycans, lipids, DNA and RNA. With the advent of soft ionization, namely electrospray ionization (ESI) and matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI), mass spectrometry (MS) has become an indispensable tool to investigate non-covalent interactions. Nowadays, native-ESI MS is heavily used in studies of non-covalent interactions and to understand the architecture of biomolecular complexes. Compared with native ESI-MS, MALDI-MS has contributed significantly less to the studies of biomolecular complexes. The primary reason for this is that MALDI causes dissociation of non-covalent interactions, either during sample preparation or the ionization process, and can sometimes also induce formation of nonspecific aggregates.

However, due to its high salt/detergent tolerance and the simplicity of data interpretation, MALDI-MS is also becoming increasingly useful in this realm. Our studies of membrane proteins highlight the potential of MALDI-MS. Currently, there are two major approaches to carry out studies on non-covalent complexes with MALDI-MS. In the first approach, different experimental and instrumental parameters are fine-tuned, such as the use of non-acidic matrices, or collecting first-shot spectra. With this approach, we were able to study non-covalent interactions in the complexes formed between single stranded DNA and a single stranded DNA binding protein, as well as those in several protein-aptamer complexes. Alternatively, interacting species can be stabilized by chemical crosslinking. We used this approach to study the stoichiometries of several membrane protein complexes, using both glutaraldehyde and chemically more specific cross-linkers, such as NHS esters. Both approaches have advantages to study non-covalently bound biomolecules. In summary, this work gives detailed insight into applications of MALDI-MS for investigating non-covalent interactions.

VI. Zusammenfassung

Nichtkovalente Wechselwirkungen sind allgegenwärtig in der strukturellen Organisation von Biomakromolekülen und spielen eine wichtige Rolle für molekulare Erkennungsprozesse, wie z.B. Wechselwirkungen zwischen Proteinen, Polysacchariden, Lipiden, sowie DNA- und RNA-Molekülen. Durch die Entwicklung weicher Ionisationsmethoden wie der Elektrospray-Ionisation (ESI) und der matrix-unterstützten Laser-Desorption/Ionisation (MALDI), konnte sich die Massenspektrometrie (MS) als eine unverzichtbare Methode für die Untersuchung nichtkovalenter Wechselwirkungen etablieren. Heutzutage wird insbesondere sogenannte „native“ ESI-MS eingesetzt, um den Aufbau von biomolekularen Komplexen zu verstehen. Im Vergleich zu nativer ESI-MS wurden deutlich weniger Studien mit MALDI-MS durchgeführt. Der Hauptgrund dafür liegt darin, dass der MALDI-Prozess - entweder bedingt durch die Probenpräparation oder den eigentlichen Ionisationsvorgang - die Dissoziation nichtkovalenter Wechselwirkungen herbeiführen kann. Darüber hinaus werden oft nichtspezifische Aggregate gebildet. Dennoch nimmt die Bedeutung von MALDI-MS auf diesem Gebiet aufgrund der hohen Toleranz gegenüber Salzen/Detergenzien sowie der einfachen Dateninterpretation zu. Unsere Untersuchungen von Membranproteinen veranschaulichen das Potential von MALDI-MS. Aktuell werden hauptsächlich die folgenden zwei Ansätze für die Analyse von nichtkovalenten Komplexen mit MALDI-MS verwendet: Einerseits können experimentelle und instrumentelle Parameter optimiert, nicht-azide Matrices verwendet oder so genannte „first-shot“-Spektren akkumuliert werden. Mit diesen Ansätzen wurden in dieser Arbeit Einzelstrang-DNA-Protein-Komplexe, sowie verschiedene Protein-Aptamer-Komplexe nachgewiesen. Andererseits können die Wechselwirkungen zwischen interagierenden Biomolekülen durch chemische Quervernetzung stabilisiert werden. In dieser Arbeit wurde diese Methode für Untersuchungen zur Stöchiometrie von mehreren Membranproteinkomplexen mit Hilfe von Glutaraldehyd und spezifischeren Quervernetzern, wie z.B. NHS-Estern, verwendet. Zusammenfassend gibt diese Dissertation detaillierte Einblicke in Anwendungen von MALDI-MS für die Untersuchung von nichtkovalenten Wechselwirkungen.