

Natríum til að koma í veg fyrir niðurbrot á DNA í MALDI-MS.

Oddur Ingólfsson, Helga Dögg Flosadóttir og Michal Stano

University of Iceland, Science Institute, Reykjavik Iceland

Í Matix Assisted Laser Desorption / Ionization Mass Spectrometry (MALDI) er niðurbrot jónaðra sameinda á flugi þeirra í rafsviðslausu hluta massagreinisins oft notað til að bera kennsl á eða raðgreina prótein. Þetta niðurbrot, sem gerist sjálfkrafa ef sameindirnar hafa nægjanlega innri orku, hefur nýst vel við prótein og peptíð greiningar. Hinsvegar, hefur sama ferlið háð greiningu á DNA og DNA stubbum, þar sem skörun massa/hleðslu hlutfalla niðurbrotsefnanna við massa/hleðslu hlutfall móðurjónarinnar gerir það erfitt að ná massarófi af móðursameindinni með nægjanlegri upplausn. DNA og DNA stubbar hafa einnig sterka tilhneigingu til að skipta út prótónum fyrir natríum jónir sem rýrir upplausnina enn frekar og erfiðar túlkun massarófanna

Við höfum rannsakað niðurbrot kjarnsýrustrendinganna 5' TTXYTT, þar sem X og Y eru C, G eða A. Þetta höfum við framkvæmt með þessu kjarnsýrustrendingum, bæði þar sem hluta af eða öllum súrum prótónum hefur verið skipt út gegn natríum, og þar sem þessar þeir eru án natríums. Aðal niðurbrots ferlin leiða til myndunar svo nefndra w_3 (Y_3) og a_4 - B_4 (X_3^*) jóna, þ.e. 3' fosfatesterrof við þriðju stöðu og 3' fosfatesterrof við fjórðu stöðu þar sem basinn tapast einnig af sama sykri [1,2]. Í fyrri tilfellinu er hleðslan á 3' brotinu í seinna tilfellinu á 5' brotinu. Auk w_3 og a_4 - B_4 brotanna myndast einnig $(TTP-H)^-$ við niðurbrot allra þessara kjarnsýrustrendinga og allir mynda þeir brot þar sem einn basi hefur klofið sig frá sykrinum við fjórðu stöðu. Þegar þrjár eða fjórar af súru prótónum fosfatesteranna hefur verið skipt út gegn natríum sjáum við hinsvegar svo til engin w_3 og a_4 - B_4 brot myndast. Þegar öllum súru prótónunum hefur verið skipt út sést ekkert niðurbrot sem leiðir til myndunar þessara brota. Með þessu erindi viljum við sýna að hægt er að notfæra sér sterka tilhneigingu DNA og DNA stubba til að skipta út súru prótónum fosfatesteranna fyrir natríum, til að koma í veg fyrir niðurbrot þessara sameinda í MALDI massa greinum. Með því að skipta út öllum súrum prótónum gegn natríum í forvinnslu sýnisins ætti að vera hægt að einfalda forvinnuna, auka upplausnina og einfalda massarófin verulega þegar greina á DNA sýni. odduring@hi.is

[1] E. Nordhoff, M. et al. J. Mass Spectrom. 30 (1995), p. 99.

[2] S.A. McLuckey et al., J. Am. Soc. Mass Spectrom. 3 (1992)

Þetta verkefni var styrkt af Rannsóknamiðstöð Íslands, Rannsóknasjóði Háskóla Íslands og af prógrammi Evrópsku vísindastofnunarinnar; Electron Induced Processing at the Molecular Level (EIPAM).