

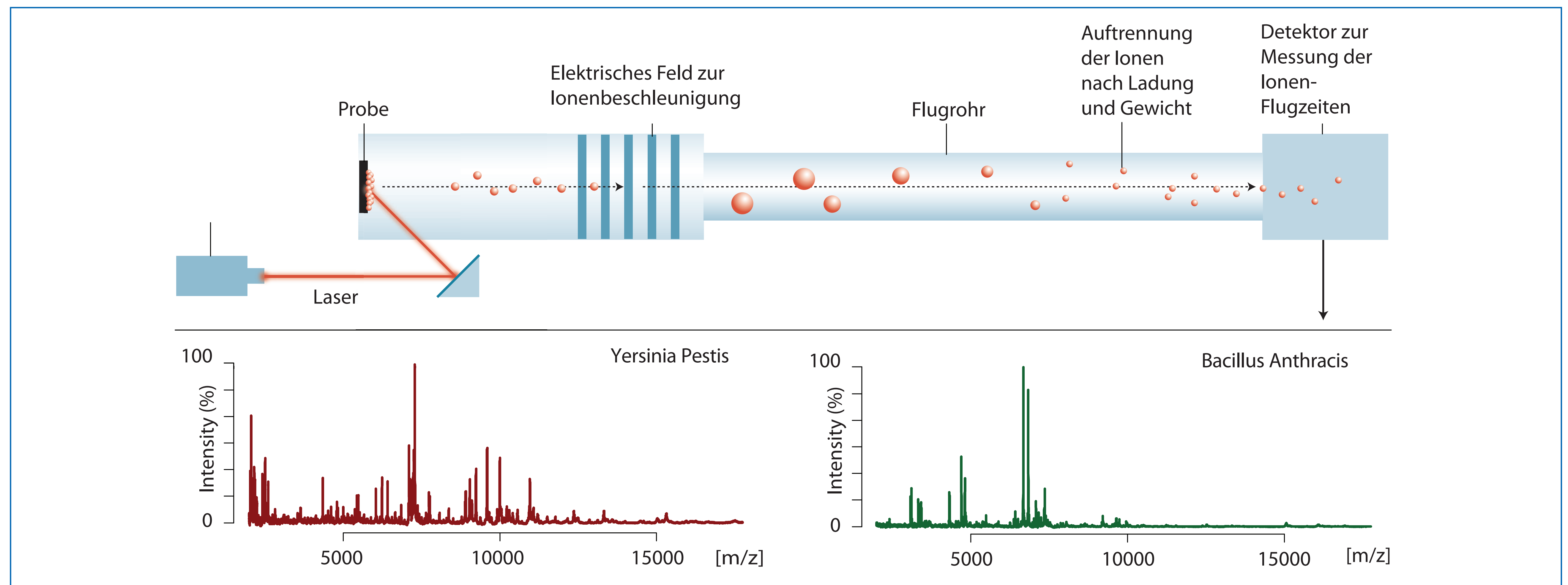


Identifikation von Bakterien durch MALDI TOF MS

Dr. Matthias Wittwer

Matrixunterstützte Laser-Desorption / Ionisation (MALDI) ist ein Ionisations-Verfahren, das in der Massenspektrometrie verwendet wird. Dank seiner «sanften» Weise der Ionisation erwies sich MALDI seit seiner Entwicklung in den 1980er Jahren als besonders effektiv für die Massenspektrometrie von grossen Biomolekülen wie z. B. Proteine, Peptide und Zucker.

Prinzip der MALDI-TOF Analytik



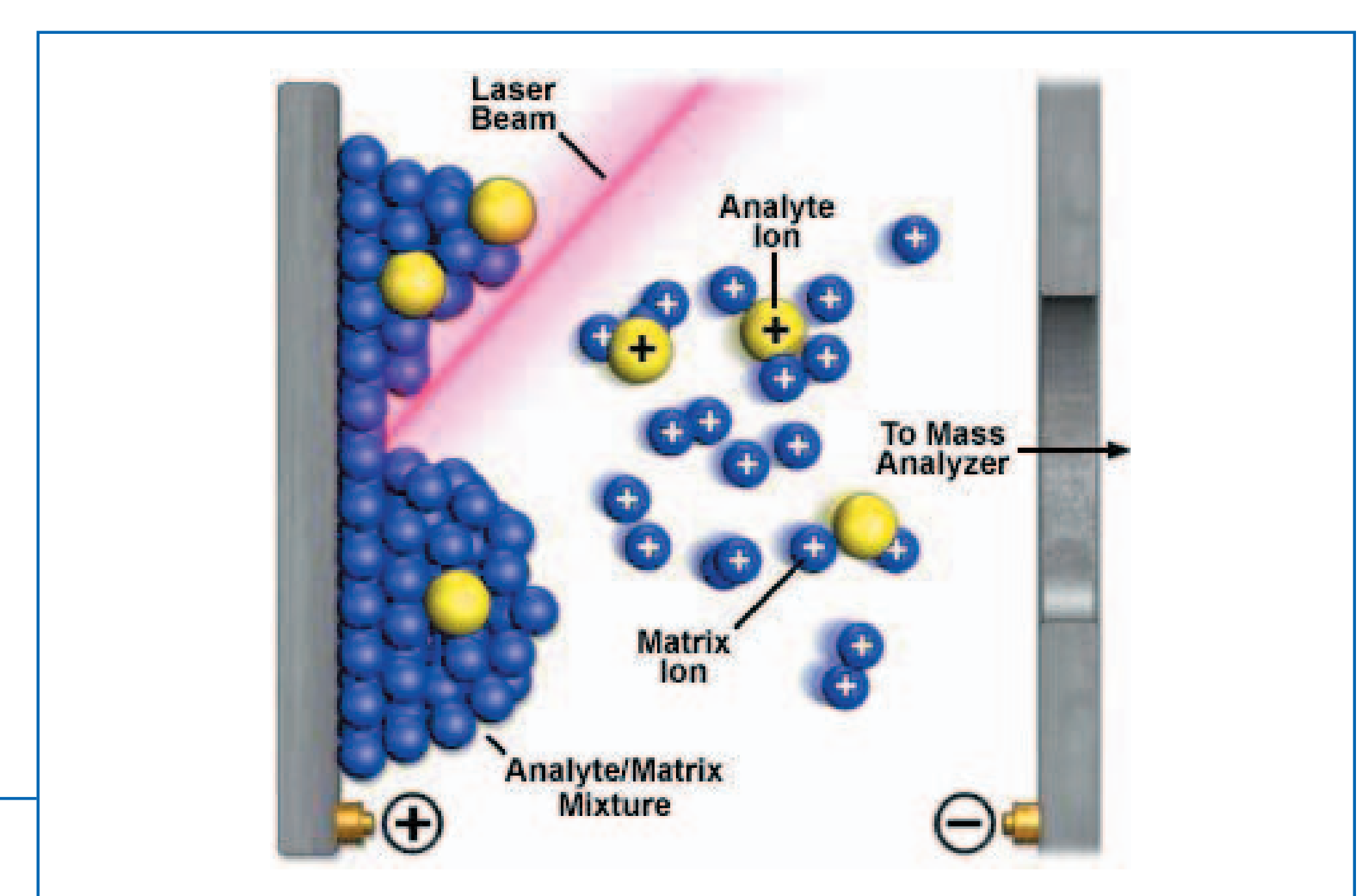
Bei der TOF (Time Of Flight) Massenspektrometrie wird das Masse/Ladungsverhältnis eines Moleküls mittels dessen Flugzeit in einem vakuierten Flugrohr ermittelt. Die ionisierten / desorbierten Moleküle werden vor dem Eintritt in das Flugrohr in einem starken elektrischen Feld beschleunigt. Die Flugzeit wird am Ende des Flugrohrs von einem Detektor gemessen, der mit der Pulsfrequenz des Lasers synchronisiert ist. Die Messdaten werden in sog. Spektren dargestellt, bei denen auf der x-Achse die Flugzeit abgebildet ist und auf der y-Achse die Anzahl der detektierten Moleküle.

Laser

Die Matrix mit der eingeschlossenen Probesubstanz wird mit dem Laser beschossen. Die von der Matrix absorbierte Laserenergie wird an die Probe weitergegeben. Dieser Energietransfer führt zu einer Ionisation und Desorption der zu analysierenden Moleküle. Als Desorption wird bezeichnet, wenn Moleküle die Oberfläche eines Festkörpers verlassen.

Matrix

Damit die Laserenergie auf die zu analysierende Substanz übertragen werden kann, bedarf es einer sog. Matrix. Die Matrix besteht aus ringförmigen organischen Molekülen, die Laserlicht bei einer gewissen Wellenlänge stark absorbieren. Die Matrix wird vorgängig zur Analyse mit der Probe vermischt und auf die MALDI Probenplatte (Target) aufgetragen. Beim trocknen kommt es zu einer Auskristallisierung der Matrix.



Identifikation von Bakterien

Das Massenspektrum eines Bakteriums ist vergleichbar mit einem menschlichen Fingerabdruck. Die im Spektrum ersichtlichen Signale stammen von Molekülen die im Bakterium in hoher Konzentration vorkommen wie ribosomale Proteine, metabolische Enzyme und Oberflächenproteine.

Um ein Bakterium anhand seines Massenspektrums identifizieren zu können bedarf es, analog zur Forensik, einer Datenbank in der für jede Bakterienspezies Referenzspektren zum Vergleich abgelegt sind.

Die vom LABOR SPIEZ verwendete kommerzielle Datenbank SARAMIS umfasst über 80'000 Spektren von etwa 1500 verschiedenen Bakteriengattungen.

