

Neue massenspektrometrische Methode zur Trennung von ^{13}C und ^{15}N -markierten Aminosäuren

Zur detaillierten Untersuchung des Stoffwechsels von Zellen sind isotonenbasierte Verfahren in der biotechnologischen und medizinischen Forschung bereits seit vielen Jahren etabliert. Für die quantitative Bestimmung intrazellulärer Stoffflüsse hat sich insbesondere die ^{13}C -basierte Stoffflussanalyse zu einer Routinemethode entwickelt. Hierbei handelt es sich um eine modellgestützte Methode, bei der die relativen Häufigkeiten angereicherter ^{13}C -Isotope in intrazellulären Metaboliten (sogenannte Isotopologe) die wesentliche Messdatengrundlage bildet. Letztere können mittels hochempfindlicher massenspektrometrischer Verfahren erfasst werden.

Das Spektrum messbarer Isotopologe konnten wir nun durch einen neuartigen analytischen Ansatz bedeutend erweitern. Dieser gestattet eine gleichzeitige Messung von ^{13}C - und ^{15}N -Isotopologen in Aminosäuren. Damit können auf Basis eines einzelnen Markierungsexperimentes um ein Vielfaches informativere Messdaten bereitgestellt werden. Die chemisch-analytische Grundlage bildet hierbei eine bisher übersehene Eigenschaft von Aminosäuren mit einem primären Amin während der kollisionsbedingten Dissoziation im Massenspektrometer. Damit kann der Anteil von ^{13}C - und ^{15}N -Isotopologen aus spezifischen Fragment-Ionen abgeleitet werden, ohne diese im Masse/Ladungs-Bereich trennen zu müssen. Obwohl eine Trennung mit empfindlicheren Massen-Analysatoren ebenfalls möglich ist, sind die damit erhaltenen Messdaten weniger quantitativ und stellen somit keinen Mehrwert für die Stoffflussanalyse dar.

Neben dem analytischen Messprotokoll wurde eine einsatzbereite Datenverarbeitungspipeline entwickelt, welche u.a. die notwendige Isotopenkorrektur sowie eine direkte Integration prozessierter Daten in die entsprechend erweiterte hauselgene Software zur Stoffflussanalyse 13CFLUX2 ermöglicht.

Die Arbeit wurde in der Fachzeitschrift Analytical Chemistry veröffentlicht und ist zugänglich unter:

<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.analchem.9b01788>