

## Kurzzusammenfassung

In den letzten Jahren hat sich die Kombination von chemischen Cross-Linking (XL), enzymatischer Spaltung und anschließender tandem-MS-Untersuchung als eine gute Methode zur Bestimmung von Proteinstrukturen bewährt. Am weitesten eingesetzt werden die aminreaktiven *N*-Hydroxysuccinimidester, die bevorzugt über die primären Amine von Proteinen quervernetzen. Im Verlauf dieser Arbeit konnten vier neue homobifunktionelle NHS-Ester hergestellt werden, welche sich sowohl strukturell als auch von ihrem Fragmentierungsverhalten unterscheiden. Die Reagenzien zerfallen mittels kollisionsinduzierter Dissoziation (CID) unter Verlust von Neutralteilchen und Bildung von charakteristischen Produktionen. Dieses Verhalten ermöglicht eine selektive und effektive Unterscheidung zwischen quervernetzten und unmodifizierten Peptiden. Das Fragmentierungsverhalten der neuen Cross-Linker wurde durch Derivatisierung an verschiedenen Modellpeptiden und Proteinen überprüft, wobei die anschließende tandem-massenspektrometrische Untersuchung mittels MALDI-TOF/TOF und ESI-MS/MS realisiert wurden. Die Ergebnisse zeigen, dass neben unerwartet auftretenden Fragmentierungen insbesondere das analytische Konzept von MS-spaltbaren Cross-Linker bestätigt werden konnte. Dadurch wurde die Identifizierung von verbrückten Reaktionsprodukten aus komplexen proteolytischen Mischungen stark vereinfacht.

## Abstract

In the recent decade the combination of chemical cross-linking (XL), enzymatic digestion and subsequent tandem-MS-analysis has become a powerful approach for the determination of low-resolution protein-structures. *N*-hydroxy-succinimide-esters are the most widely used reagents and allow a preferred cross-linking of the primary amines in proteins. In this work four novel structurally different homobifunctional NHS-ester-derivatives were developed, which show a different fragmentation pattern. A preferred dissociation under CID-conditions leads to the formation of characteristic constant neutral losses (CNLs) and product ions. This fragmentation behavior allows a selective and efficient identification of cross-linked and non cross-linked peptides. The reagents were tested for applicability with different model peptides and proteins and then analyzed by MALDI-TOF/TOF and ESI-MS/MS. The evaluated results reveal unexpected fragmentations but also proof the applicability of the dissociative MS-cleavable cross-linkers. The new Cross-Linking-reagents simplify the identification of modified peptides in complex mixtures and reduce the risk of identifying false-positive cross-links.