



Viele Substanzen können jetzt erstmals in einer bildgebenden MALDI-Messung sichtbar gemacht werden.



Klaus Dreisewerd, Leiter Biomedizinische Massenspektrometrie, Institut für Hygiene, Universität Münster

Die Entwicklungsgeschichte eines Chemischen Mikroskops

MS und MS – das sind zwei Dinge, die seit langem zusammengehören. Die eine Abkürzung steht für Münster, die andere für Massenspektrometrie: Ende der 1980er Jahre entwickelten Franz Hillenkamp und Michael Karas an der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster die „Matrix-unterstützte Laser-Desorptions-/Ionisations-Massenspektrometrie“, kurz: MALDI-MS. Im Internet hält sich hartnäckig das Gerücht, dass die beiden Forscher mit ihrer Entwicklung 2002 nur um Haaresbreite die Auszeichnung mit dem Nobelpreis verpasst haben.

Wie in ihrem diesjährigen Artikel in der Fachzeitschrift *Analytical Chemistry* ausführlich dargestellt, hat die Arbeitsgruppe um Prof. Klaus Dreisewerd und Dr. Jens Soltwisch in der Tradition der Münsteraner MALDI-MS-Pioniere diese Methode maßgeblich verbessert [1]. Bereits 2015 ist dem Team der entscheidende Durchbruch zu

der Technologie gelungen [2], die seit Mai dieses Jahres nun das Herzstück des kommerziellen „timsTOF fleX MALDI-2“-Systems von Bruker Daltonik darstellt und damit die Möglichkeiten der Massenspektrometrie drastisch erweitert. Ein Grund für die *GIT Labor*-Fachzeitschrift, Prof. Dreisewerd über die Vorteile und Entwicklung dieses Verfahrens näher zu befragen.

GIT: Aus welcher Motivation bzw. Anlass ist die Idee zur bildgebenden Technik der MALDI-2-Massenspektrometrie, des „chemischen Mikroskops“, als einer Weiterentwicklung der MALDI entwickelt worden?

K. Dreisewerd: Bei vielen Fragestellungen in den Lebenswissenschaften spielt die genaue Kenntnis über die lokale chemische Zusammensetzung einer Probe, also z.B. eines Gewebeschnittes, einer Biopsie, oder einer Zellkultur, eine entscheidende Rolle. Als nur ein Beispiel von hoher medizinischer Bedeutung sei die

Zellheterogenität in Tumoren genannt, die ein mögliches bösartiges Wachstumsverhalten mitbestimmen. Im Gegensatz zur klassischen Lichtmikroskopie, bei der durch Fluoreszenzmarker einzelne Biomoleküle, insbesondere Proteine, spezifisch sichtbar gemacht werden können, lassen sich mit der MALDI-Massenspektrometrie die Verteilungen von bis zu hunderten verschiedener Biomoleküle gleichzeitig darstellen. Dies gelingt über die Bestimmung des Gewichts, sprich der Masse, die jedes Molekül durch seinen individuellen atomaren Aufbau aufweist. Die Auflösung der bildgebenden MALDI liegt zurzeit standardmäßig bei etwa 10 Mikrometern. Diese wird aber aktuell ständig verbessert. Nicht zuletzt aufgrund neuer Gerätekonzepte hat die bildgebende MALDI-Massenspektrometrie in der jüngsten Vergangenheit einen enormen Aufschwung erfahren. Ein Hindernis für eine noch breitere Anwendung der Technik in der Forschung und Diagnostik stellen allerdings die für viele Substanzklassen nur geringen Ausbeu-

Klaus Dreisewerd hat Physik in Aachen und Münster studiert. Seine Doktorarbeit hat er in der Gruppe von Franz Hillenkamp und Michael Karas angefertigt und konnte so bereits die frühen MALDI-Jahre mitgestalten. Nach einem Postdoc-Aufenthalt an der Freien Universität Amsterdam kehrte er 1997 nach Münster zurück. Zusammen mit seiner interdisziplinären Arbeitsgruppe beschäftigt sich der gebürtige Westfale seitdem mit verschiedensten Facetten der MALDI, angefangen von den physikalischen Grundlagen über instrumentell-methodisch Weiterentwicklungen bis hin zu neuartigen Anwendungen.

ten an ionisierten Molekülen dar. Nur diese sind für einen Massenanalysator sichtbar. Der weitaus größere Teil der nichtionisierten (neutralen) Moleküle geht leider verloren. Somit besteht ein ausgesprochen hohes Interesse, verbesserte MALDI-Verfahren zu entwickeln. An dieser Stelle setzt unsere Idee der laser-induzierten Nachionisation (kurz MALDI-2) an.

GIT: Wie sieht das Gerätekonzept aus? Was sind die wichtigsten Leistungsmerkmale bzw. Systemkonfigurationen des MALDI-2-MS?

K. Dreisewerd: Für eine bildgebende Messung werden die mit einer MALDI-Matrix-beschichteten Proben Punkt für Punkt mit dem MALDI-Laser abgetastet. Pro bestrahltem Pixel wird ein komplettes Massenspektrum aufgenommen. Ein Computer berechnet anschließend aus den vielen diskreten Ionensignalen, die jeweils einer präzisen Masse zugeordnet sind, die gewünschten Verteilungsbilder.

Wie wir heute wissen, müssen für eine effiziente Nachionisation der durch den ersten „MALDI-Laser“ freigesetzten neutralen Substanzen einige kritische Randbedingungen in „sekundären“ MALDI-artigen Ionisationsprozessen erfüllt sein. So sollte die Teilchenexpansion und Wechselwirkung mit dem zweiten Laser in einer Gasatmosphäre von einigen mbar an Stickstoff stattfinden. Unter diesen Bedingungen wird die Materialwolke, im Gegensatz zu der bei normaler MALDI eher üblichen Expansion in ein Hochvakuum, stark abgebremst und „zusammengehalten“. Möglicherweise kommt es auch zu Rekondensationseffekten, also der Bildung von kleinen nebelartigen Tröpfchen. Im Ergebnis erhält man ein Reaktionsvolumen, in dem nach Beschuss durch den Nachionisationslaser eine Vielzahl von Stößen zwischen geladenen und neutralen Teilchen zu den gewünschten Endprodukten, den intakten geladenen Analytmolekülen führen. Technisch ist es hierbei nützlich, einen Laser mit einer hinreichend kurzen Wellenlänge zu nutzen, so dass den Matrixmolekülen durch die sukzessive Absorption von

zwei Photonen innerhalb weniger Nanosekunden ein Elektron effektiv entrissen wird. Hierfür bieten sich insbesondere leistungsstarke gütegeschaltete Nd:YAG-Laser mit UV-Wellenlängen von 266 nm an. Natürlich sollten die zeitlichen und räumlichen Abstände zwischen den beiden Laserstrahlen ebenfalls optimiert sein. Nicht zuletzt sollte die Ionenquelle mit einem gut geeigneten Massenanalysator kombiniert werden.

In Zusammenarbeit mit unserem Industriepartner Bruker Daltonik haben wir die MALDI-2-Technik in ein high-end MALDI-Ionenmobilitäts-Massenspektrometer, dem „timsTOF flex“ integriert. Solche Systeme erlauben die Bestimmung der Masse mit hoher Genauigkeit, d.h. einem Fehler von wenigen ppm (parts per million) und zusätzlich durch die integrierte Ionenmobilitätstrennung die Identifizierung von Molekülen gleicher Masse aber unterschiedlicher Struktur (Isomere). Die Nutzung eines Nd:YAG-Nachionisationslasers mit 1 kHz Repetitionsrate in dem neuen timsTOF flex MALDI-2 ermöglicht eine besonders schnelle Datenaufnahme von 10–20 Pixeln pro Sekunde. So lässt sich ein vergleichsweise hoher Probendurchsatz bei gleichzeitig hoher räumlicher Auflösung erreichen.

GIT: Wie setzt sich die Funktionsweise des neuen Hochleistungsmassenspektrometers zur bisherigen MALDI-Technologie ab? Wie sieht der Workflow für das „chemische Mikroskop“ aus?

K. Dreisewerd: Durch den Einsatz des Nachionisationslasers in der speziellen Gerätekonfiguration wird für viele Analytklassen eine Verbesserung der Nachweisgrenzen um bis zu drei Größenordnungen erreicht. Viele Substanzen können so erstmals überhaupt in einer bildgebenden MALDI-Messung sichtbar gemacht werden. Ein prägnantes Beispiel sind z.B. Sterole wie Cholesterol, die als unpolare Lipide mittels der normalen MALDI nur sehr schlecht oder höchstens nach Derivatisierung nachzuweisen sind. Wir haben in vielen Experimenten gesehen, dass die Kombination der verschiedenen Geräte Merkmale des timsTOF flex mit den erhöhten MALDI-2-Ionenflüssen wichtige neue Einblicke in wissenschaftliche Fragestellungen ermöglicht.

Die verbesserten Nachweisempfindlichkeiten erlauben es zudem, aussagekräftige Massenspektren selbst aus winzigen Probenmengen zu erhalten. Mit einer besonders ausgelegten Anregungsoptik konnten wir vor kurzem MALDI-2-Aufnahmen mit einer räumlichen Auflösung von etwa einem Mikrometer in Nature Methods [3] vorstellen. In diesem Auflösungsbereich lassen sich, z.Z. in Kulturen, einzelne Zellen in chemischer Hinsicht individuell analysieren. Für viele zellbiologische Fragestellungen ist dies von enormer Bedeutung.

Bis auf den zusätzlichen Laser, der einfach zugeschaltet werden kann, sind die Workflows für die normale MALDI und für MALDI-2 ansonsten identisch.

timsTOF **flex**



MALDI 2
TECHNOLOGY

Enhanced Sensitivity and Coverage for SpatialOMx®

With the first enhancement in ionization technology in decades, SpatialOMx enabled timsTOF flex with MALDI-2 represents an entirely unique and powerful solution for adding biological context to routine OMICS or pharma studies.

- Several orders of magnitude increase in sensitivity
- Higher information content that utilizes TIMS for enhanced peak capacity with MALDI Imaging
- Wide range of consumables and software supporting automation and providing more scientific insights

For more information please visit www.bruker.com/timstoflex

GIT: Für welche Einsatzfelder bzw. Anwendungen ist diese bildgebende Technik der MALDI-2-MS besonders geeignet und mit welcher Empfindlichkeit und Genauigkeit sind welche Substanzen lokalisierbar bzw. nachweisbar?

K. Dreisewerd: Die möglichen Einsatzfelder erstrecken sich über einen recht weiten Bereich, der von der Biochemie und Biologie über die medizinische Forschung bis in die Klinik reicht. Auch im Bereich der Lebensmittelchemie wird die bildgebende MALDI zunehmend eingesetzt. Daher würde ich auch hier einen substantiellen Gewinn durch das Nachionisationsmodul erwarten. Für viele Anwendungen und Substanzklassen stehen wir heute jedoch noch ganz am Anfang einer spannenden Entwicklung. Bereits jetzt lässt sich aber sagen, dass mittels MALDI-2 vor allem viele Lipide, wie die bereits erwähnten Sterole, aber auch Phospho- und Glykolipide und fettlösliche Vitamine sehr gut nachweisen lassen. Daneben trifft dies auch auf viele weitere kleine Moleküle, den sogenannten sekundären Metaboliten, zu. Erste Studien haben gezeigt, dass einige wichtige Arzneistoffklassen deutlich besser nachge-

wiesen werden können [4]. Dies ist natürlich ein Anwendungsgebiet mit enormer Bedeutung für das Gesundheitswesen. Beispielsweise könnten Pharmaunternehmen bei der Arzneistoffentwicklung mittels MALDI-2 ein besseres Bild über die Substanzverteilungen in den Zielorganen erhalten und über deren mögliche Transformation in entsprechende Stoffwechselprodukte. Im Unterschied zu anderen Techniken können diese mittels Massenspektrometrie aufgrund ihrer veränderten Masse erkannt werden.

GIT: Wann und wie ist Ihr industrieller Partner Bruker Daltonik auf das Konzept zum „chemischen Mikroskop“ aufmerksam geworden und wie ist die Kooperation zustande gekommen?

K. Dreisewerd: Die Firma Bruker gilt als der Weltmarktführer im Bereich der MALDI-Massenspektrometrie und von daher kennen wir uns natürlich bereits seit vielen Jahren. Einige ehemalige Kommilitonen, aber auch von mir betreute Doktor*innen sind in diesem Unternehmen tätig. Was die MALDI-2-Technik anbetrifft, denke ich, dass unsere Veröffentlichung in Sci-

ence aus dem Jahr 2015 [2] ein „game changer“ war. Wir haben dann sukzessive weitere Publikationen mit MALDI-2-Anwendungsbeispielen und Grundlagenkenntnissen veröffentlicht und diese Ergebnisse auch auf zahlreichen nationalen und internationalen Konferenzen vorgestellt. Hier gab es vielfältige Gelegenheiten zum Austausch, nicht zuletzt mit Dr. Jens Höhndorf, dem u.a. für die MALDI-Geräteentwicklung verantwortlichen F&E-Leiter unseres Industriepartners. Die Chemie hat hier von Anfang an gestimmt und irgendwann ist dann daraus ein großes, gemeinsames Konzept entstanden.

● **KONTAKT** |

Prof. Dr. Klaus Dreisewerd
Biomedizinische Massenspektrometrie
Westfälische Wilhelms-Universität Münster
Münster, Deutschland
klaus.dreisewerd@uni-muenster.de



Das Interview in voller Länge:
http://bit.ly/GIT-Interview_Dreisewerd

Die neue Wettbewerbsrunde startet

Science4Life sucht Innovationen

Life Sciences, Chemie und Energie gehören zu den zukunftsweisenden Branchen. Beim Businessplan-Wettbewerb von Science4Life werden aus Ideen konkrete Gründungsvorhaben. Einreichungsfrist der Ideenskizze ist am 23. Oktober 2020.

Eine Geschäftsidee, drei Phasen und am Ende der fertige Businessplan: Am 1. September 2020 startet die neue Wettbewerbsrunde von Science4Life. Deutschlands größter Businessplan-Wettbewerb für die Zukunftsbranchen Life Sciences, Chemie und Energie bietet angehenden Gründern die Möglichkeit, ihre Geschäftsidee marktfähig zu machen und begleitet sie auf dem Weg zum eigenen Unternehmen. Neben Preisgeldern von insgesamt 85.000 Euro profitieren die Teilnehmer von exklusiven Workshops, Zugang zu einem Netzwerk aus über 300 Branchen-Experten sowie Online-Seminaren, digitalen Events und vielem mehr. Start-ups aus den Bereichen Life Sciences und Chemie können sich online bis 23. Oktober 2020 für den Science4Life Venture Cup und Energie-Gründer für den Science4Life Energy Cup registrieren.



Die neue Wettbewerbsrunde startet mit der Ideenphase. Die Teilnahme ist einfach und schnell: Gründerteams reichen ihre dreiseitige Ideenskizze online ein und bekommen ausführliches schriftliches Feedback. Die Teilnehmer haben in dieser Phase die Möglichkeit, ihre Ideen frühzeitig von Experten checken zu lassen und daraufhin feinzustimmen. Die besten Teams werden zu den Science4Life Academy-Days nach Frankfurt am Main eingeladen. Dort haben sie die Möglichkeit, ihre Geschäftsidee mit Experten zu diskutieren und weiterzuentwickeln. Die besten Ideen werden mit einem Preisgeld von 500 Euro ausgezeichnet. Nach der Ideenphase folgen die Konzept- und Businessplanphase mit dem Ziel,

am Ende einen fertig ausgearbeiteten Businessplan als Basis für die eigene Unternehmensgründung in den Händen zu halten.

Über Science4Life

Science4Life ist eine unabhängige Gründerinitiative, die bereits 1998 als Non-Profit-Organisation ins Leben gerufen wurde. Initiatoren und Sponsoren sind die Hessische Landesregierung und das Gesundheitsunternehmen Sanofi. Seit 1998 haben mehr als 7.500 Personen am Wettbewerb teilgenommen und es wurden über 2200 Geschäftsideen eingereicht und bewertet. Die Gründerinitiative besteht aus einem Netzwerk von Branchenexperten aus mehr als 300 Unternehmen, die mit ihrem Know-how und Erfahrungen den Wettbewerbsteilnehmern zur Verfügung stehen. Über 1.200 Unternehmen wurden erfolgreich gegründet.



Mehr Informationen:
<http://bit.ly/Science-Life>