

# Wenn Zellsortierung auf Massenspektrometrie trifft

Mit der zunehmenden Verbreitung von Mikroorganismen mit multiplen Resistenzen gegenüber Antibiotika oder anderen Wirkstoffen droht der Rückfall in die präantibiotische Ära. Die Suche nach neuen Optionen zur effektiven Bekämpfung von Infektionskrankheiten gewinnt daher immer mehr an Bedeutung. Erst vor gut einem Jahr wurde von der WHO eine Liste mit den zehn gefährlichsten Mikroorganismen veröffentlicht, zu denen Vertreter der Gattungen *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* oder *Enterobacter* gehören. Leider hat der kontinuierliche Fortschritt auf dem Gebiet der Analytik und der damit verbundene Erkenntnisgewinn in den vergangenen Jahren nicht zur erhofften Zulassung neuer Impfstoffe, Antiinfektiva beziehungsweise Antibiotika geführt, die diese Erreger wirkungsvoll in Schach halten könnten.

Mit Hilfe der Proteomik können heute mit den Genomsequenzen als Grundlage durch das Monitoring der Proteine, ihrer Modifikationen und Interaktionen die Funktionen von Zellen insgesamt betrachtet werden. Dabei wurden in Bezug auf die Massenspektrometrie zur Identifizierung und Quantifizierung von Proteinen beachtliche Fortschritte erzielt. Allerdings stößt man bei der Analyse von Wirt-Pathogen-Interaktionen aufgrund des zahlenmäßig ungünstigen Verhältnisses von Wirts- und Pathogenproteinen immer noch schnell an analytische Grenzen.

Ein Bakterium wie *S. aureus* enthält etwa siebenmal weniger proteinkodierende Sequenzen als humane Zellen, die 20.457 Gene aufweisen. Außerdem dominieren die Wirtsproteine auch durch ihren quantitativen Überschuss die massenspektrometrische Analyse, so dass eine exakte Quantifizierung von bakteriellen Proteinen nur schwer möglich ist. Eine Möglichkeit, die Komplexität zu verringern, ist die sogenannte Durchflusszytometrie. Sie ist eine zuverlässige Methode zum Sortieren und Anreichern bestimmter Zellpopulationen und basiert auf einer spezifischen Fluoreszenzmarkierung, beispielsweise unter Verwendung des Grün-fluoreszierenden Protein. Falls für Infektionsexperimente Bakterienstämme verfügbar sind, die kontinuierlich ein fluoreszierendes Protein exprimieren, ist es durch die Kombination

von Zellsortierung und hochauflösender Massenspektrometrie nun möglich, geringste Mengen an Bakterien aus der Wirtsumgebung zu isolieren und sie anschließend massenspektrometrisch zu vermessen. Dies hat den Vorteil, dass wirtsspezifische Peptide nicht mehr mit bakterienspezifischen Peptiden interferieren und somit die Quantifizierung eine bis dahin unbekannte Qualität erreicht. Obwohl normalerweise nur  $10^5$  bis  $10^6$  Bakterien für die zeitaufgelöste Analyse zur Verfügung stehen, ist es mit diesem Set-up möglich, 70% bis 80% der von *S. aureus in vivo* beziehungsweise im Zellkulturmodell exprimierten Proteine zeitaufgelöst zu untersuchen [1, 2].



Deutsche Gesellschaft für Proteomforschung e.V.

**Termine**

**8. Mai, Göttingen**  
DGPF-Minisympodium „Proteomics“

**16.-20. Juni, Santiago de Compostela**  
XII. EuPA Congress  
[www.europa2018.com/](http://www.europa2018.com/)

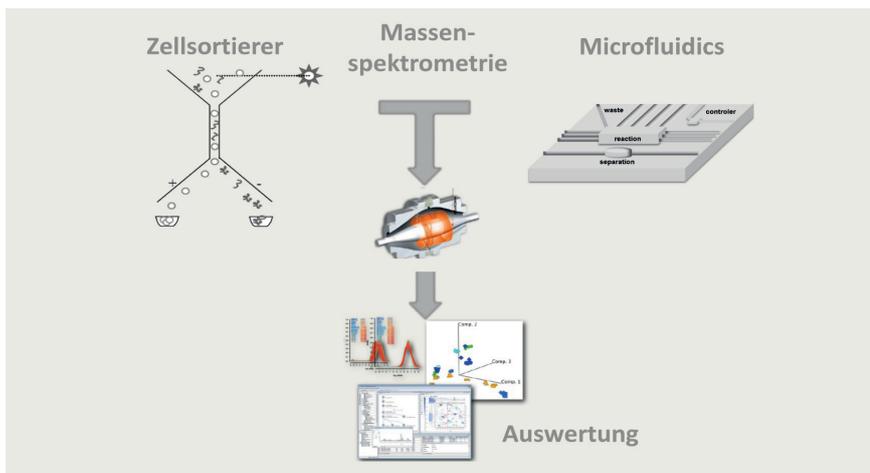
Die Miniaturisierung hält immer stärker Einzug in die Labore. Schon jetzt wird an neuen Mikrofluidik-Systemen oder „Raman-Sortierern“ gearbeitet, die mit neuester Massenspektrometertechnologie gekoppelt werden können. Dies führt zu einer höheren Sensitivität und Selektivität bei der Charakterisierung von Wirt-Pathogen-Interaktionen.

Die Miniaturisierung hält immer stärker Einzug in die Labore. Schon jetzt wird an neuen Mikrofluidik-Systemen oder „Raman-Sortierern“ gearbeitet, die mit neuester Massenspektrometertechnologie gekoppelt werden können. Dies führt zu einer höheren Sensitivität und Selektivität bei der Charakterisierung von Wirt-Pathogen-Interaktionen.

**Maren Depke, Stephan Michalik, Frank Schmidt, Universitätsmedizin Greifswald**

[1] Surmman et al. 2015, *Journal of Proteomics* 08/2015; 128., DOI:10.1016/j.jprot.2015.07.034

[2] Michalik et al. 2017, *Scientific Reports* 7(1):9718. DOI:10.1038/s41598-017-10059-w



Kombination von Zellsortierung beziehungsweise Mikrofluidiks und Massenspektrometrie für die Charakterisierung von Wirt-Pathogen-Interaktionen