

Intensität als eine Funktion der Zeit) beinhaltet Fragment-Ionen-Signale aller in der Probe vorhandenen Peptide und kann mittels spezieller Computerprogramme gezielt untersucht werden, um spezifische Proteine zu identifizieren und präzise zu quantifizieren. Dafür benötigen die Computerprogramme eine Bibliothek von annotierten Peptidspektren, die kontinuierlich erweitert wird. Für das Humane Proteom wurde eine mehr als 10000 Proteine umfassende Bibliothek vom Aebersold Labor veröffentlicht, um eine einheitliche Analyse von SWATH-MS-Daten in verschiedenen Studien und Laboratorien zu ermöglichen. Von einer einzigen SWATH-MS-Karte, die mittels 10000 humanen Zellen, die in der Zellkultur gezüchtet wurden, können derzeit circa 3000 Proteine quantifiziert werden. Im Aebersold Labor wurden auch Fortschritte in der Extraktion und Analyse via SWATH-MS von löslichen Proteinen aus Nadelbiopsien erzielt. Zum Beispiel können pro Prostatanadelbiopsie in einer einzigen Analyse innerhalb von 2 Stunden Messzeit circa 2000 Proteine pro SWATH-MS-Karte präzise quantifiziert werden, was der parallelen Ausführung von ca. 2000-ELISA Tests oder Westenblots pro Probe entspricht.

### Proteinsignaturen von Krankheiten im Blut

Blutproben sind eine weitere Quelle, um den Gesundheitszustand eines Patienten zu beurteilen. Proteine,

isoliert von Blutproben, können als Indikatoren von Krankheiten verwendet werden. Vor allem Proteine, die N-glykosyliert sind, können erfolgreich angereichert und quantifiziert werden. So hat zum Beispiel die Analyse von N-glykosylierten Proteinen im Blutserum von vielen Prostatapatienten eine Proteinsignatur ergeben, die zwischen Gleason Score von weniger oder mehr als 7 unterscheiden kann, ohne invasive Biopsie. Für diese N-glykosylierten Proteine hat das Aebersold Labor ebenfalls eine Bibliothek veröffentlicht, die es Wissenschaftlern ermöglicht, N-glykosylierte Peptidsignaturen aus SWATH-MS-Karten zu extrahieren.

Liu und Kollegen isolierten 345 Serumproteine von gesunden ein- und zweieiigen Zwillingen und quantifizierten die Proteine mittels SWATH-MS. Vergleiche der 345 Serumproteine zeigten, dass die relativen Proteingehalte sich als eine Funktion von genetischem Hintergrund und Alter verändern. Diese Information ist extrem relevant für Studien, die Proteinsignaturen von Krankheiten im Blut etablieren.

### Fazit

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass Fortschritte in Proteinextraktionsprotokollen und der Genauigkeit von Massenspektrometern es ermöglichen, mittels SWATH-MS digitale Karten von Proteinabundanz zu

## Protéomique ciblée – quantification et détermination sans anticorps de protéines

Les examens cliniques de patients comprennent, notamment, des tests non invasifs comme la mesure de la pression artérielle, des tests mini-invasifs comme la prise de sang et des tests invasifs comme la biopsie à l'aiguille. De nombreux paramètres tels la température corporelle, la numération leucocytaire ou le taux de fer dans le sang peuvent être mesurés. La présence ou la quantité de protéines constitue également un indicateur pertinent dans les tests cliniques étant donné que les protéines remplissent des fonctions importantes dans la cellule, telles la catalyse de réactions chimiques ou la régulation de processus biologiques. Une méthode récemment mise au point permet une analyse ciblée des protéines. Grâce à la mesure de tous les peptides ionisés et à leurs fragmentations, qui servent à les identifier et à les quantifier, un grand nombre de protéines est quantifié de manière homogène au cours de l'analyse de nombreux échantillons.

erstellen um eine grosse Anzahl von Proteinen konsistent über viele Proben hinweg zu quantifizieren.

Korrespondenz:  
ebhardt@imsb.biol.ethz.ch

Weiterführende Links:  
[www.imsb.ethz.ch/research/aebersold](http://www.imsb.ethz.ch/research/aebersold)  
[www.biognosys.ch](http://www.biognosys.ch)  
[www.proteomedix.ch](http://www.proteomedix.ch)

### Publikationen

Sie finden die Publikationsliste online unter:  
[www.sulm.ch/d/pipette](http://www.sulm.ch/d/pipette) → Aktuelle Ausgabe (Nr. 3-2015).

Christian Steuer<sup>1</sup>

# LC-MS/MS in der klinischen (Peptid)-Analytik – Mehr als nur Buchstabensuppe

**Die Massenspektrometer gekoppelte Flüssigkeits-/Gaschromatographie (LC/GC-MS) entwickelt sich immer mehr zum Arbeitstier der klinischen Analytik und verdrängt vielerorts etablierte Immunoassays. Mittels Tandem-Massenspektrometrie (MS/MS) lassen sich kleine Moleküle als auch Peptide in diversen Matrices selektiv nachweisen.**

LC-MS/MS, MRM, APCI und ESI sind ein paar Abkürzungen, die bei der täglichen Arbeit mit der Massenspektrometrie von Bedeutung sind. Die Trennung der Analyten erfolgt haupt-

sächlich mit bekannten chromatographischen Methoden wie LC oder GC. Durch *multiple reaction monitoring* (MRM) können gezielt Moleküle isoliert (Q1), fragmentiert (Q2) und die Fragmente erneut selektioniert werden (Q3, Abb. 1). Dieser Vorgang erzielt eine hohe Sensitivität und kann

sogar für mehrere Analyten parallel erfolgen. Kreuzreaktivitäten spielen keine Rolle mehr. Dies ist hilfreich, wenn sich die Analyten in ihrer chemischen Struktur ähnlich sind und chromatographisch in einer für den Klinikbetrieb akzeptablen Laufzeit nicht zu trennen sind. Die chemische

<sup>1</sup> Dr. Christian Steuer, Abteilungsleiter Spezialchemie, Institut für Labormedizin, Kantonsspital Aarau AG

Struktur der Analyten spielt zudem eine wichtige Rolle im Ionisierungsprozess der Substanzen in Vorbereitung für die massenspektrometrische Detektion. Steroide ionisieren gut im APCI-Modus (*Atmospheric-Pressure-Chemical-Ionisation*). Für Peptide wird dagegen der ESI-Modus (*ElectroSpray-Ionisation*) bevorzugt. Zur Unterscheidung von Eisenmangel (IDA) und der Anämie chronischer Er-

krankungen wird das Peptid Heparin mit LC-MS/MS bestimmt. Zusätzlich können Aussagen bez. des Ansprechens auf Eisentherapie im Fall der IDA getroffen werden. Der Positive Prädiktive Wert von Heparin beträgt hierbei 82% und übertrifft damit die Aussagekraft von Ferritin (59%) und Transferrinsättigung (56%) deutlich. Ebenfalls kann Heparin als spezifischer Biomarker für Eisen-/EPO-The-

rapie beim chronischen Nierenversagen genutzt werden. Der diagnostische Einsatz von Heparin bietet einen klaren Benefit für die Therapie der gestörten Eisenhomöostase.

Korrespondenz:  
Christian.Steuer@ksa.ch

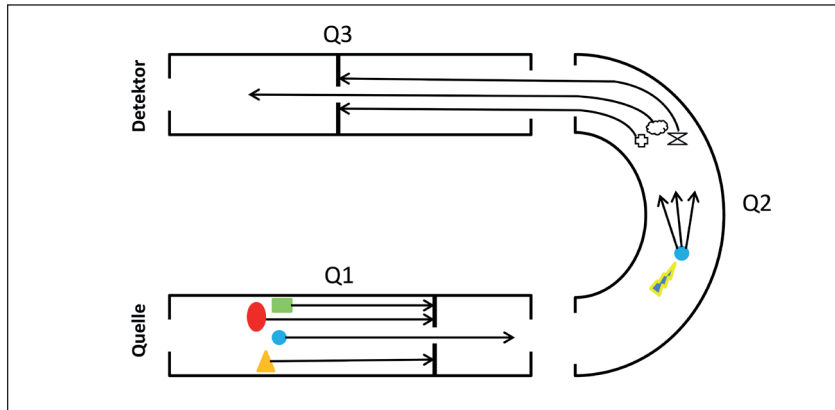


Abb. 1: MRM- Q1/Q2/Q3: Im Quadrupol 1 (Q1) wird nur das Ziel-Molekül (hellblauer Kreis) selektiert; im Q2 wird es fragmentiert und im Q3 wird schliesslich nur ein spezifisches Fragment wiederum isoliert.

## Harnwegsinfekt? Indikatoren in einer Minute



Möchten Sie mehr wissen, z. B. über den direkten Nachweis von Stäbchenbakterien?

Senden Sie uns eine E-Mail-Anfrage an: [info@sysmex.ch](mailto:info@sysmex.ch)