

Met trapped ion mobility spectrometrie is het uit met verstoppertje spelen

Als center of excellence op het gebied van analytische chemie is DSM Resolve continu op zoek naar nieuwe meettechnologieën, waarmee ze nog beter vragen van klanten kunnen oplossen. Eén van die technieken is trapped ion mobility spectrometrie (TIMS) waarmee de analytici isomeren kunnen scheiden en zelfs moleculen zien die tot nu toe met andere massaspectrometrische technieken onzichtbaar bleven.

De analytisch chemici van DSM Resolve werken er al ruim twee jaar mee. Met trapped ion mobility spectrometrie (TIMS), een techniek die eind van dit jaar beschikbaar zal zijn in een commercieel verkrijgbaar instrument, de timsTOF. Het allereerste instrument zal door Bruker worden geleverd aan datzelfde DSM Resolve. En dat is geen toeval, als je luistert naar het verhaal van Maarten Honing, competence manager/principal scientist bij DSM Resolve over de veranderende rol van het DSM-bedrijf dat in 2004 is voortgekomen uit het bij elkaar brengen van verschillende analytische afdelingen van het centrale R&D lab van DSM in Geleen.

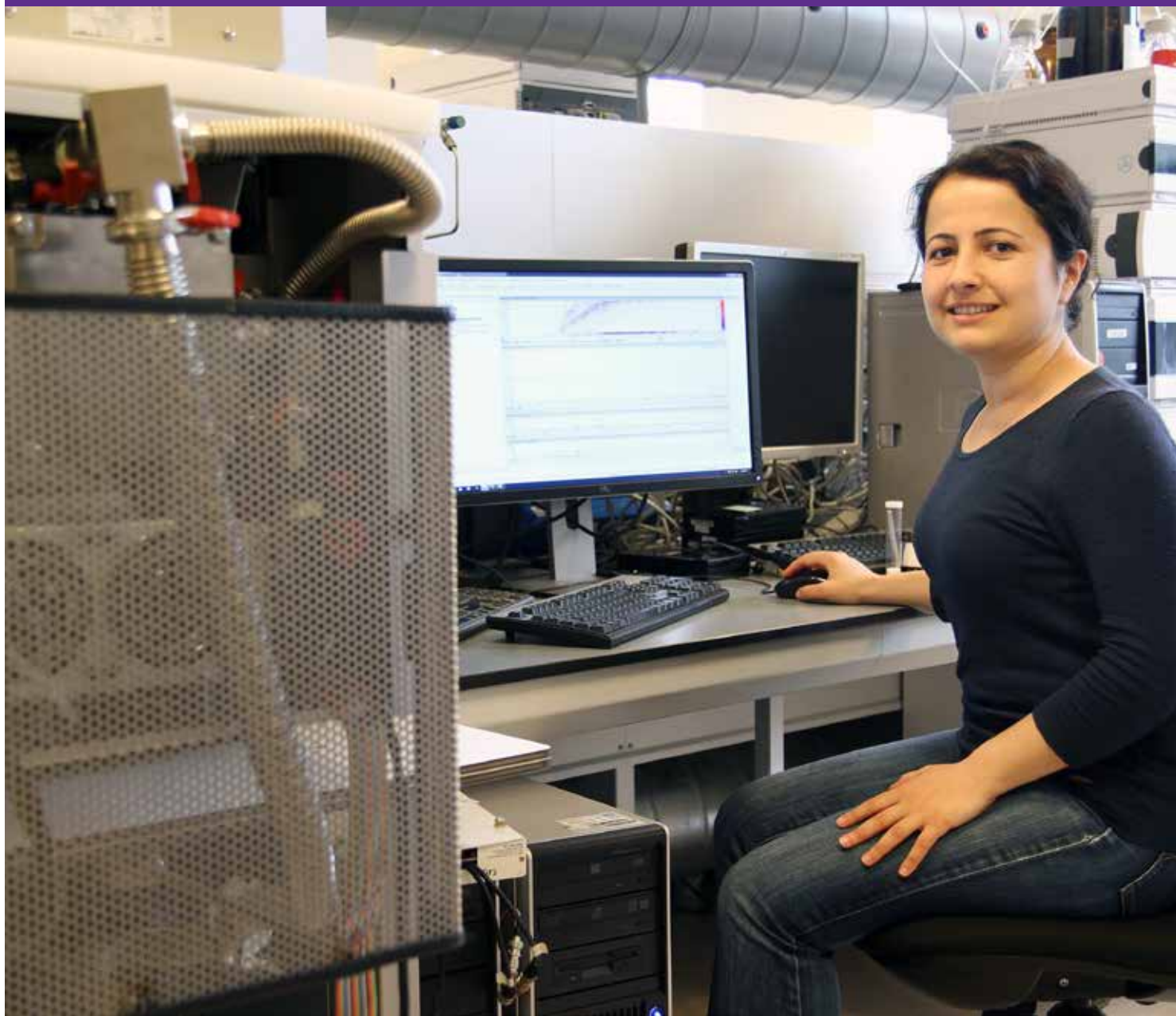
“Waar we aanvankelijk vooral vanuit de servicegedachte analyses hebben ingezet om vragen van klanten op te lossen, is in 2010 het roer omgegooid. We wilden veel meer een partner in solutions worden, aanhaken bij de R&D-projecten van de klant. Op basis van een

gap-analyse, zowel wat betreft de technologieën als de mensen, hebben we verschillende scientists aangetrokken en heel veel investeringen gedaan om deze club nog sterker neer te zetten. Met behulp van Enabling Technologies, een joint-venture tussen DSM Resolve, de Universiteit van Maastricht en de Provincie Limburg, hebben we kunnen investeren in onder andere elektronenmicroscopie en hoogwaardige chemische structuuranalysetechnieken, zoals NMR (700 MHz) en verschillende massaspectrometers. Hierbij is de apparatuur verdeeld over de twee locaties: de imaging devices vooral bij MUMC+, de apparatuur voor chemische structuuranalyse bij ons. Het mooie van deze constructie is dat we van elkaars apparatuur en expertise gebruik kunnen maken, en dat ook steeds meer in gezamenlijke projecten in de praktijk brengen.”

Kennisintensief

DSM Resolve is inmiddels uitgegroeid tot een

centrum of excellence, waar een kleine 80 fte's aan scientists werken, waarvan bijna de helft gepromoveerd is. “We hebben onze kennis en kunde ingedeeld in bepaalde competenties, dus niet in technologie, maar in wat we goed kunnen. Dat is morfologische structuren analyseren, chemische structuren karakteriseren en kwantificeren, processen meten, eigenschappen en interacties van moleculen bepalen en uiteindelijk daar chemometrie op bedrijven. Ik durf wel te stellen dat we daar uniek in zijn, omdat we dat ook nog eens goed kunnen combineren. We kunnen bijvoorbeeld een katalysator onderzoeken met behulp van elektronenmicroscopie, maar ook kijken wat die in de chemie doet, door er verschillende high-end analysetech-



Dr. Esra Altuntas, Scientist bij DSM Resolve werkt al enige tijd met de eerste generatie versie van de timsTOF van Bruker, die dit najaar officieel voor de markt beschikbaar is.

nieken op los te laten. Op die manier lossen we problemen op die zowel productie- als R&D-georiënteerd kunnen zijn, in bijvoorbeeld de polymeer-, voedings- en farmaceutische industrie.”

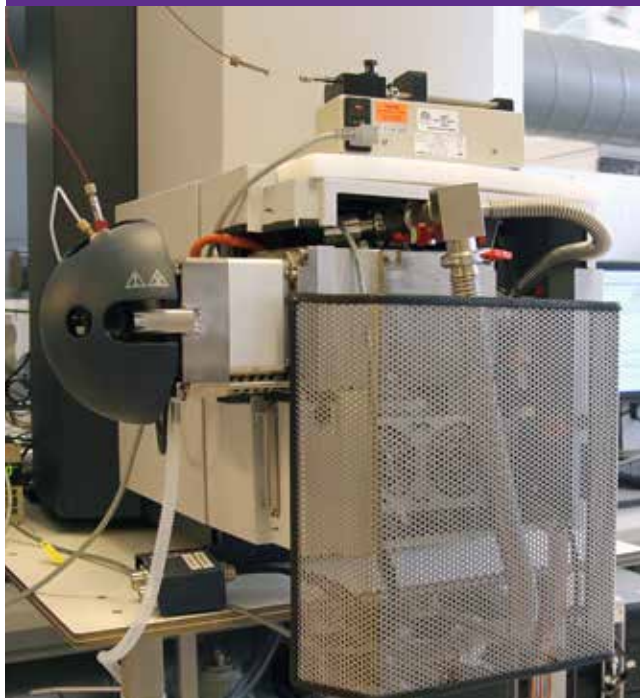
Het kennisintensieve karakter van het werk vertaalt zich in een groot R&D-netwerk met academische en research instituten en participatie in publiek-private samenwerkingen om kennis binnen te halen en natuurlijk

ook te delen. In het geval van Maarten Honing wordt daar nog een extra dimensie aan toegevoegd in de vorm van zijn bijzonder hoogleraarschap aan de VU.

Trapped ion mobility

“Het zal niemand verbazen dat we voorop willen lopen in het toepassen van nieuwe meettechnologieën. Dat kan door strategisch samen te werken met instrumentmakers als Bruker zodat we als eerste met nieuw ontwikkelde instrumenten aan de slag te gaan. Hierdoor zijn we in staat om

veel dieper de technologie in te duiken, om die tot in de kleinste finesses te begrijpen”, vertelt Ynze Mengerink, programmanager chromatografie/MS bij DSM Resolve. “In het geval van TIMS was er al tijdens de ontwikkeling van het instrument een goede gelegenheid om in het fundament te gaan kijken, zodat wij nu al mensen kunnen opleiden die later met die technologie het verschil kunnen maken. We zijn in dit geval zo vroeg ingestapt omdat we veel perspectief zien in deze technologie waarmee we nog beter problemen van onze klanten kunnen oplossen.” →



De eerste generatie, testversie van de timsTOF ziet er een stuk minder gelikt uit dan de commerciële versie.

“De stap voorwaarts die we met TIMS kunnen maken is te danken aan een extra dimensie aan de scheiding, waardoor we complexe chromatogrammen uit elkaar kunnen halen en nog meer componenten kunnen identificeren”, vertelt scientist Jan Jordens, die zich de afgelopen twee jaar in het nieuwe instrument heeft bekwaamd. “We hebben nu een extra scheiding op basis van de ruimtelijke structuur van moleculen, waardoor je moleculen met dezelfde samenstelling en dus hetzelfde molecuulgewicht, bijvoorbeeld isomeren, nu wel uit elkaar kunt trekken. Het mooie is dat ion mobility wat betreft duty cycle (ms-range) perfect tussen TOF scans (μ s-range) en chromatografie (seconden tot minuten range) in ligt waardoor het zonder verliezen te integreren is in LC-MS analyses. Het belang om structuurisomeren van elkaar te onderscheiden wordt vaak onderschat. Deze isomeren kunnen echter sterke effecten hebben op de activiteit van geneesmiddelen of bij eiwitten kan de ruimtelijke structuur bepalen of het eiwit al dan niet werkzaam is.”

Wind in de zeilen

De truc van TIMS is dat door een samenspel van elektrische kracht en mechanische kracht de scheiding in de trap wordt bewerkstelligd. Een gasstroom blaast het molecuul in het toestel, terwijl aan de andere kant een gradiënt elektrisch veld het molecuul tegenhoudt. Bij een mengsel van verschillende ionen, zullen die zich op

verschillende plaatsen in de trap bevinden op de plaats waar de voortstuwende gasdruk gelijk is aan de tegenwerkende elektronische kracht. Dit punt is afhankelijk van de ruimtelijke structuur van het molecuul. Door nu met kleine stapjes het elektrisch veld te verminderen, zal een ion steeds ietsje verder opschuiven tot het punt waar de voortstuwende kracht van het gas groter wordt dan de elektrische tegenkracht en het molecuul de MS in gaat. “Het gradueel verminderen van het elektrisch veld is een scanproces, dat we kunnen onderverdelen in 100 tot meer dan 1000 stapjes, al naar gelang we een betere resolutie willen hebben. We meten met welke elektrische veldsterkte een ion is geëluëerd uit de TIMS trap en zetten dit om naar een mobility waarde. Dat is dan de puur technische informatie, net zoals de m/z waarde bij ‘normale’ massaspectrometrie. Maar waar je die m/z waarde kunt relateren aan een elementaire samenstelling, kunnen we de positie wanneer een ion uit de ion mobility trap elueert en de corresponderende mobility waarde correleren aan de ruimtelijke structuur van dat ion”, vertelt Jan Jordens.

Voor wie dit allemaal wat ingewikkeld overkomt, heeft hij nog een mooie vergelijking in huis. “Een schip met volzeil heeft hetzelfde gewicht als datzelfde schip waar alleen de fok is gehesen. De wind (die je kunt vergelijken met de gasstroom) geeft dus in de ene configuratie meer voortstuwende kracht dan in de andere. Er is ook een te-

genkracht, in dit geval de stroming (het schip vaart stroomopwaarts), zodat het schip bij volzeil verder komt dan met de fok. De 3D-structuur van het schip is dus bepalend voor het verschil in positie.”

Isomeren scheiden

De eerste resultaten met TIMS zien er zeer veelbelovend uit. “We zijn erin geslaagd om bij ftalaten, benzeenringen met twee estergroepen, de meta-, ortho- en para-isomeer uit elkaar te halen. In samenwerking met de groep van Edwin de Pauw van de Universiteit van Luik hebben we peptiden met vier cysteïnes bestudeerd. In die moleculen worden zwavelbruggen gevormd tussen twee cysteïnes, wat dus leidt tot verschillende mogelijke conformaties, die we netjes uit elkaar hebben weten te halen”, vertelt Jan Jordens. Consequentie van de hogere resolutie is dat je dingen gaat zien die met standaard massaspectrometrie verborgen waren, zoals hele lage niveaus van verontreinigingen. “Zuiverheid is voor de performance van je materialen essentieel. Waar in de farma de grens van 0,1 % wordt gehanteerd, zijn we bij materialen al kritisch als het om een tiende ppm gaat. Neem de productie van polymeren garens, waar je er nu



Het vergt nog wel enige data-analyse voordat je uit een met de timsTOF gegenereerde heatmap pieken kunt correleren met verbindingen.

bijvoorbeeld maximaal 500 kilometer per uur van kunt maken. Het harder draaien van de spin werkt niet, omdat dan de garens iedere keer kapot springen, door fouten in de verbinding die zijn ontstaan door onzuiverheden. Als je het materiaal zuiverder zou maken, zou dat wel kunnen. Maar dan moet je wel kunnen meten hoe zuiver dat precies is; welke verontreinigingen er eigenlijk in zitten. En dat is geen triviale vraag, want tot nu toe zagen we in veel van dat soort cases helemaal niets!”, stelt Maarten Honing.

Complex

Pieken zien die eerst onzichtbaar waren legt ook de nodige claims op de data-analyse. “De resultaten zijn zo veel complexer dan je gewend bent, dat we hier regelmatig discussies hebben over de interpretatie er van. Zijn het daadwerkelijk isomere vormen? Is dat piekje dat uit de ruis opduikt een onzuiverheid die we voorheen over het hoofd hebben gezien, of is er iets anders aan

de hand? Daar komt ook weer die competentie ontwikkeling om de hoek kijken: we zien leuke dingen, maar om volledig te begrijpen wat er precies gebeurt, moeten we nog heel veel onderzoek doen. We genereren in één run 25 tot 30 Gbyte aan data. Als ik bepaalde mobility spectra bekijk, zijn die zo complex dat ik het niet meer kan bevatten; het menselijk brein kan het niet meer aan. De essentie uit die databrij halen, die te visualiseren, is de uitdaging voor de komende jaren”, aldus Jan Jordens.

Katalysator hierin is de mogelijkheid van open source ontwikkeling, waarbij Bruker de data in een zodanig format aanbiedt dat alle volgende stappen in een open ontwikkeling gedaan kunnen worden, een beetje vergelijkbaar met het ontwikkelen van app's voor een telefoon. Bruker wil hiermee stimuleren dat partners met behulp van bio-informatica en chemometrie extra bewerkingen doen op data en nieuwe toepassingen ontwikkelen.

Valideren

Een toepassing waar Maarten Honing reikhalzend naar uitkijkt is de koppeling van CE met ion mobility, wat hem betreft een ‘unbeatable’ combinatie. “Net als bij SEC, size exclusion chromatography, weten we dat er bij CE eiwitten kapot kunnen gaan. Maar dit hebben we tot nu toe niet aan kunnen tonen. Met de timsTOF kunnen we heel systematisch kijken onder welke experimentele condities wat er met je molecuul gebeurt.”

Dat werk zal overigens vooral aan de VU plaatsvinden, bij de groep van Govert Somsen waar Maarten Honing als bijzonder hoogleraar actief is. “Dit jaar nog zal ook daar een timsTOF worden geïnstalleerd. Met hubs in Amsterdam en Maastricht/Geleen kunnen we grote stappen maken, niet in de laatste plaats door de combinatie van academische en industriële R&D. Het zal mij niet verbazen dat we op den duur, ook met deze apparatuur waar nu nog superspecialisten voor bediening en data-analyse nodig zijn, net als bij MALDI-TOF, gevaloriseerde methoden kunnen ontwikkelen die je bijvoorbeeld naast het ziekenhuisbed of de productielijn kunt gebruiken. Hoe lang dat nog duurt? Daar zijn hier de meningen over verdeeld; sommigen denken dat het over een paar jaar al zo ver kan zijn; ik neig naar iets langer...”

INFORMATIE

Bruker Nederland

www.bruker.nl

DSM Resolve

www.dsm-resolve.com

Enabling Technologies

www.enablingtechnologies.eu



Scientist Jan Jordens kan zijn hart ophalen aan massaspectrometrie. Naast de timsTOF in het grote lab heeft Bruker ook een MALDI-TOF ultraflex en een maXis LC-QTOF binnengezorgd bij DSM Resolve