

**Abschlussbericht zum
Forschungsvorhaben mit dem FKZ: 03Z2DS1**

**„Zentrum für Innovationskompetenz: Strategische Investitionen zur
nachhaltigen Etablierung des ZIK *plasmatis*“**



Ausführende Stelle: **Leibniz-Institut für Plasmaforschung und Technologie e.V.
(INP Greifswald)
Felix-Hausdorff-Str. 2
17489 Greifswald**

Projektleiter: **Prof. Dr. Klaus-Dieter Weltmann**

Anlagen:

Anlage 1	Schlussbericht	S. 2
Anlage 2	Berichtsblatt	S. 42
Anlage 3	Document Control Sheet	S. 43

Das diesem Bericht zugrundeliegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung unter dem Förderkennzeichen 03Z2DS1 gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.



Inhalt:

Zusammenfassung

I Kurze Darstellung zu

I.1 Aufgabenstellung

I.2 Voraussetzungen unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

I.3 Planung und Ablauf des Vorhabens

I.4 Wissenschaftlicher und technischer Stand an den angeknüpft wurde

I.5 Zusammenarbeit mit anderen Stellen

II Eingehende Darstellung zu

II.1 Verwendung der Zuwendung und des erzielten Ergebnisses im Einzelnen

II.2 Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

II.3 Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

II.4 Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere Verwertbarkeit des Ergebnisses

II.5 Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

II.6 Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen des Ergebnisses

III Erfolgskontrollbericht

Zusammenfassung

Mit „*plasmatis* – Plasma plus Zelle“ wurde in Greifswald ein Zentrum für Innovationskompetenz etabliert, in dem wissenschaftliche Kompetenzen aus Plasmaforschung und Lebenswissenschaften kombiniert werden, um interdisziplinäre Grundlagenforschung zu Wechselwirkungen physikalischer Plasmen mit lebenden Zellen und Geweben auf höchstem internationalen Niveau zu betreiben. Die Strategie von *plasmatis* wird durch zwei Nachwuchsforschergruppen in zwei Forschungsfeldern umgesetzt - „Zelluläre Effekte“ sowie „Extrazelluläre Effekte“.

Das ZIK *plasmatis* hat sich in den letzten Jahren eine internationale Spitzenposition im Bereich der Plasmamedizin erarbeitet und hat durch exzellente Forschungsergebnisse richtungsweisende Impulse in diesem Gebiet gesetzt. Für eine Vielzahl an Fragestellungen, die während der Projektlaufzeit identifiziert wurden, waren allerdings neue Messmethoden notwendig, die zum Zeitpunkt der Ersteinrichtung in dieser Art noch gar nicht auf dem Markt waren.

Um die Themenführerschaft des Projekts für die Zukunft zu sichern und um die Forschung weiter in Richtung klinische Anwendung bringen zu können, musste die Geräteausstattung im Zuge der wissenschaftlich-technischen Neu- und Weiterentwicklung angepasst und modernisiert werden.

Mit den nachfolgend aufgeführten „state-of-the-art“ Geräten, die eine optimale Erweiterung des ZIK *plasmatis* darstellen, konnte die plasmamedizinische Forschung am Wissenschaftsstandort Greifswald seine internationale Spitzenposition weiter ausbauen. Zudem konnte die Wettbewerbsfähigkeit des Projekts erhalten bzw. weiter gesteigert werden.

• Cell sorter	723.731,82€
• Metabolomic & Lipidomic Analyzer	624.838,37€
• Capillary-based Nanoimmunoassay System	68.620,41€
• Imaging Spektrometer	68.936,70€
• FTIR Spektrometer	187.802,34€
• Messkammer FTIR	17.124,10€
• Multifrequenz- Leistung u. Phasen-Sonde	24.256,96€
• Oszilloskope (7 Stck.)	13.306,40€
• DBD	6.069,00€
• Kinpen Sci (5 Stck.)	54.514,00€
• Mod. Mikrowellenquelle – VQ 1	16.374,40€
• Mikrowellenentladung – VQ 2	1.745,73€
• Pulsgenerator	57.536,50€
• RedOx Titrationssystem	8.312,49€
• Ussing Kammer	22.451,85€
• EQP Massenspektrometer	180.892,40€

• MatLab Lizenzen	26.180,00€
• LabView / DAQ	7.768,14€
• Q-MACS Messesystem	236.215,00€
• Platten-Facs	78.340,38€
• Plasmacleaner	9.866,41€
• XYZ-Stages (2Stck.)	17.782,46€
• Fahrtisch CNC	3.264,77€
• Origin 9	5.258,27€
• USB Spektrometer	11.775,88€
• Glovebox	7.973,00€
• Up-grade HPLC-System	9.923,84€
• CytoSpin	9.038,05€

Die Gesamtinvestitionssumme betrug

2.499.899,67 EUR.

Die strategische Geräteinvestition wurde entsprechend dem Förderantrag und den zugestimmten Änderungsanträgen durchgeführt.

Der beantragte Cell Sorter, der nach eingehenden Preisrecherchen auf 901.969,00€ geschätzt wurde, wurde uns im Rahmen eines offenen Verfahrens (Ausschreibung gemäß VOL/A erfolgt) zu einem Preis von 723.731,82€ angeboten. Ebenso wurde das Platten-FACS im Rahmen einer Ausschreibung zu einem günstigeren Preis erworben als ursprünglich geplant (statt des geschätzten Preises von 117.791,98 € für 78.340,38 € gekauft). Aus diesem Grund wurden im Laufe des Förderzeitraums im Rahmen von zwei Änderungsanträgen folgende Geräte beantragt und bewilligt (in der oben aufgeführten Geräteliste bereits enthalten):

- Platten-FACS
- plasmacleaner
- zwei weitere kinpen sci
- zwei weitere Oszilloskope
- XYZ-Stage
- Fahrtisch
- Origin
- USB-Spektrometer
- Glovebox
- Erweiterung LC (zu Gerät Nr. 2)
- CytoSpin

Alle Geräte wurden gemäß geltender Richtlinien und Gesetze beschafft.

Die Interdisziplinarität des Forschungsvorhabens konzentriert an einem Ort und die zur Verfügung stehenden Geräte und Methoden des ZIK *plasmatis* machen dieses zu einem der weltweit bedeutendsten Zentren im Bereich der Grundlagenforschung innerhalb der Plasmamedizin. Somit wurde das Ziel des Vorhabens „Strategische Geräteinvestition“ vollständig erreicht.

Mit der Gesamtsumme von 2.499.899,67€ wurde die bewilligte Summe um 4.739,67€ überschritten. Diese Differenz wird von der Trägerorganisation, dem INP Greifswald getragen.

I.1 Aufgabenstellung

In dem Zentrum für Innovationskompetenz (ZIK) *plasmatis*, welches am Leibniz-Institut für Plasmaforschung und Technologie e.V. (INP) in Greifswald etabliert wurde, werden wissenschaftliche Kompetenzen aus Plasmaforschung und Lebenswissenschaften kombiniert, um interdisziplinäre Grundlagenforschung zu den Wechselwirkungen kalter physikalischer Plasmen mit lebenden Zellen und Geweben auf höchstem internationalen Niveau zu betreiben. Nur wenige Institute weltweit sind strukturell in der Lage, interdisziplinäre Forschung auf dem Niveau des ZIK *plasmatis* durchzuführen. Das neue Forschungsgebiet der Plasmamedizin ist ein interdisziplinärer Ansatz, der die Fachbereiche Plasmaphysik, Molekularbiologie und Medizin miteinander verbindet. Durch die erst in den letzten Jahren erreichten Fortschritte bei der Entwicklung und Untersuchung von Nichtgleichgewichts-Atmosphärendruckplasmen mit hoher reaktiver Komponentendichte bei niedriger Gastemperatur ist die Plasmabehandlung von lebendem Gewebe möglich geworden. Die bisherigen Erkenntnisse zur Wechselwirkung von Plasmen und humanen Zellen versprechen eine bessere und effizientere Behandlung von Wunden als es mit herkömmlichen therapeutischen Methoden möglich ist. Sogar die Behandlung von bislang unheilbaren Hautkrankheiten und Tumoren rückt in den Bereich des Möglichen. Das Vorhaben, Plasmen zu nutzen, um die lokale Zellchemie und speziell die Chemie der lebenswichtigen Zellumgebung gezielt zu beeinflussen, ist ein neuartiger Ansatz und verspricht bahnbrechende Fortschritte auch für themennahe biomedizinische Anwendungen. Die Arbeit im ZIK *plasmatis* geht über die rein empirische und experimentelle Plasmabehandlung hinaus hin zu einem Grundlagenverständnis der Plasma-Zell-Wechselwirkungsprinzipien. Ziel der Forschung von *plasmatis* ist das detaillierte Verstehen der zugrunde liegenden Mechanismen der Plasma-Zell-Interaktion, was einen wesentlichen Schritt zu zukünftigen Anwendungen von physikalischen Plasmen am Patienten bedeutet. Dies soll neben anderen möglichen medizinischen Indikationen dazu führen, dass in Zukunft chronische Wunden mittels Plasma geheilt werden können. Das Vorhaben wurde von Beginn an durch zwei Nachwuchsforschergruppen in zwei Forschungsfeldern umgesetzt. Die Nachwuchsforschergruppe „Zelluläre Effekte“ untersucht die Beeinflussung des Wachstums und der Vitalität von plasmamedizinisch relevanten Zellen unter Anwendung verschiedener Plasmaquellen. Daraus ergibt sich die dominierend molekularbiologische

Orientierung dieses Teams. Hierbei werden die neuesten OMICs-Technologien eingesetzt, um Veränderungen sowohl auf der Ebene der Genaktivierung wie auch im Proteingehalt der Zellen zu analysieren. Die Nachwuchsforschergruppe „Extrazelluläre Effekte“ konzentriert sich auf die Diagnostik und Kontrolle der Plasmaquellen, sowie auf die damit erzeugten kalten Plasmen – sowohl direkt im Plasma, wie auch in der daran angrenzenden Gasphase. Ein ebenfalls etabliertes Flüssigkeitsdiagnostiklabor der Gruppe „Extrazelluläre Effekte“ stellt das Bindeglied zwischen den beiden Arbeitsgruppen dar, da die letztlich zu untersuchenden Zellen und Gewebesysteme immer von einer Flüssigkeitsschicht umgeben sind, durch die hindurch die Wirkung der Plasmen vermittelt wird. Die maßgeschneiderte Zusammensetzung der aktiven Bestandteile in den Zellumgebungen ermöglicht ein grundlegendes Verständnis der biologischen Antworten auf die Plasmabehandlung.

I.2 Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Dem ZIK *plasmatis* ist es innerhalb sehr kurzer Zeit gelungen ist, eine internationale Führungsrolle auf dem Gebiet der Plasmamedizin, das eine immense gesundheitspolitische und – gesundheitsökonomische Relevanz hat, zu erreichen. Die Tatsache, dass mit einer frühzeitigen Förderung der Grundlagenforschung auf diesem jungen Forschungszweig innerhalb weniger Jahre die internationale Themenführerschaft erreicht werden konnte, zeigt, dass die Strategie, mit *plasmatis* ein Gegengewicht zur starken Konkurrenz aus den USA und Asien zu etablieren, eine richtige und wichtige Entscheidung war. Mit dem ZIK *plasmatis* wurde die Hoffnung umgesetzt, die Entwicklung der Plasmamedizin von Beginn an strategisch entscheidend zu prägen und den Forschungsstandort Deutschland konkurrenzfähig zu machen – und damit speziell die neuen Bundesländer zu stärken. Die Chance, zum kleinen Kreis der weltweit führenden Elite auf dem Gebiet der Plasmamedizin zu gehören, wurde mit der Etablierung des ZIK *plasmatis* in Greifswald ergriffen. Hierbei wurde gleichzeitig der Wissenschafts- und Wirtschaftsstandort Greifswald gestärkt. Die hervorragende Wettbewerbsstellung von *plasmatis* wird durch die dominierende Stellung der zellbiologischen und medizinischen Grundlagenforschung zur Aufklärung von Plasma-Zell-Wechselwirkungen in der Forschungskonzeption von *plasmatis* begründet, um darauf aufbauend auch neue therapeutische Anwendungsfelder systematisch zu erschließen. Dies unterscheidet *plasmatis* grundlegend von den primär anwendungsorientierten Forschungsansätzen der Konkurrenz.

Bereits im August 2010 konnten die eigens für das ZIK *plasmatis* gebauten Labore und Büroräume bezogen werden. Somit konnten beide Nachwuchsgruppen mit nur wenigen Monaten Verzögerung ihre Arbeiten im vollen Umfang starten. Insgesamt stehen dem Team von *plasmatis* 150 qm Büro- und 220 qm Laborfläche zur Verfügung.

I.3 Planung und Ablauf des Vorhabens

Die Komplexität der möglichen Wechselwirkungen bei der Anwendung von Plasmen auf Zell- und Gewebeverbände und die darüber hinaus im Zusammenhang mit der Behandlung schlecht heilender Wunden erforderliche Selektivität zwischen letaler (zell-tötend) und nichtletaler Aktivität (zell-stimulierend) erfordert eine differenzierte Herangehensweise. Aus der sich damit ergebenden inhaltlichen Vielfalt der Thematik resultiert ein breites Spektrum von Forschungsaufgaben. Das Zentrum für Innovationskompetenz „*plasmatis* – Plasma plus Zelle“ kombiniert die Expertise in physikalischen Plasmen mit der biomedizinischen Expertise in Zellumgebung und der lebenden Zelle.

Seit seinem Start im Jahre 2010 hat sich das ZIK *plasmatis* eine internationale Themenführerschaft in der Grundlagenforschung auf dem Gebiet der Plasmamedizin erarbeitet. Sowohl in der Molekularbiologie wie auch in der Plasma- und Flüssigkeitsdiagnostik konnten mithilfe der hochmodern ausgestatteten Labore zahlreiche neue Erkenntnisse errungen und publiziert werden. In den eigens dafür vorgesehenen Laborneubauten konnte zusammen mit der exklusiven Geräteausstattung die interdisziplinäre Forschung von Physikern, Biologen und Medizinern auf höchstem methodischem Niveau gewährleistet werden. Um diese Themenführerschaft auch zukünftig zu gewährleisten und um die Forschung weiter in Richtung klinische Anwendung bringen zu können, waren jedoch weitere „state-of-the-art“ Geräte mit hohem Durchsatz bzw. hoher Präzession in der Diagnostik notwendig.

Die für die NWG "Zelluläre Effekte" beantragten Geräte "Cell Sorter", "Metabolomic & Lipidomic Analyzer via HPLC / MS" und "Capillary-based Nanoimmunoassay System" ergänzen die vorhandene Technik und ermöglichen besonders den Einstieg in die klinische Forschung. Nachdem die Arbeiten bisher auf *in vitro*-Untersuchungen unter Verwendung von Zellkulturen konzentriert waren, wird aufgrund von mittlerweile geknüpften Kooperationen vor allem mit der Universitätsmedizin Greifswald zunehmend die Untersuchung von *ex vivo* gewonnenen Proben (z.B. Biopsien) interessant. Diese komplexen Proben erfordern jedoch andere Aufarbeitungs- und Analysemethoden als die vornehmlich auf Zellkultur basierenden Geräte, die bislang in den Laboren etabliert waren. So müssen z.B. die aus Biopsiematerial stammenden Zellen zunächst vereinzelt und parallel auch differenziert auf verschiedene Parameter gleichzeitig hin analysiert werden. Dies ist nur mit einem Cell Sorter-System möglich, der durch die Geräteinvestition im ZIK *plasmatis* etabliert werden konnte. Weiterhin zeigen die bisher erzielten molekularbiologischen Daten, dass es aufgrund der verschiedenen Plasmabehandlungen zu Veränderungen der Stoffwechselprodukte sowie der Lipidzusammensetzung in den Membranen kommt. Um diese Veränderungen der sogenannten Metaboliten bzw. auch der Lipide messen zu können, war die Anschaffung einer darauf ausgerichteten Massenspektrometrie (Metabolomic & Lipidomic Analyzer via HPLC / MS) erforderlich. Um diese schnelllebigen Moleküle detektieren und analysieren zu können, bedarf es der neuesten Messmethoden, die zum Zeitpunkt der Ersteinrichtung des ZIK *plasmatis* in dieser Art noch gar nicht auf dem Markt waren. Die ebenfalls neu

entwickelte Methode des Capillary-based Nanoimmunoassay ermöglicht einen noch größeren und vor allem ressourcenschonenden Umgang mit den wichtigen klinischen Proben, von denen oft nur kleine Mengen verfügbar sind. Alle genannten Methoden eröffnen dem ZIK *plasmatis* außerdem die Möglichkeit, neue komplexe Zusammenhänge zu analysieren, wie sie beispielsweise bei verschiedenen Krankheitsbildern auftauchen. Besonders die durch oxidativen Stress verursachten Veränderungen des Stoffwechsels, wie sie bei Krebs oder Diabetes auftauchen, können mithilfe der neu realisierten Technologien im ZIK *plasmatis* untersucht werden, was die Themenführerschaft auf dem Gebiet der Plasmamedizin zukünftig weiterhin sichern wird.

In der NWG „Extrazelluläre Effekte“ haben Forschungen im Bereich der Plasmamedizin die Wichtigkeit der grundlegenden Diagnostik und Kontrolle der Plasmen aufgezeigt. Um diesen Ansatz zielführend weiterführen zu können, waren in dieser NWG Erweiterungen der Plasmadiagnostik, der Flüssigkeitsdiagnostik, der Plasmaquellen und der elektrischen Diagnostik notwendig. Hohe Priorität war dabei der Ionenerzeugung der Plasmaquellen einzuräumen. Daher wurde das im ZIK *plasmatis* vorhandene Molekularstrahlmassenspektrometer (MBMS) auf ein EQP-Massenspektrometersystem inklusive Ionenenergieanalysator erweitert. Dies ermöglicht nun zusätzlich die Messung von negativen Ionen und die Bestimmung der Ionenenergieverteilung sowie die Messung von neutralen Spezies. Diese Erweiterung stellt das ZIK *plasmatis* weltweit in die erste Reihe bei MBMS-Untersuchungen. Dies gilt ebenso für die sehr relevante Erweiterung des FTIR-Spektrometers in den THz-Bereich, die die Erforschung von Zellperforationsmechanismen und plasmachemischen Produkten (z.B. Hydronium-Ionen) ermöglicht. Die Untersuchungen im bisherigen Forschungszeitraum haben gezeigt, dass Transportprozesse durch Gewebe essentielle Untersuchungsgrößen sind. Eine Neuheit hinsichtlich plasmamedizinischer Untersuchungen stellt hierfür die Ussingkammer dar, die durch die Geräteinvestition für ZIK *plasmatis* angeschafft werden konnte. Auch dieses Gerät dient der Ausrichtung zu klinischen Studien. Zur Vereinfachung der Untersuchungen und zur Standardisierung wurde ein automatisiertes Titrationssystem beschafft. Durch Beteiligung an internationalen Gremien zur Standardisierung von Plasmaquellen wurde herausgearbeitet, dass der elektrischen Charakterisierung speziell von RF-Entladungen hohe Priorität einzuräumen ist. Multifrequenz-Leistungs- und Phasen-Sonde sowie eine neuartige Doppel-Langmuir-Sonde und weitere Oszilloskope wurden dafür im Methodenspektrum aufgenommen. Die für das ZIK *plasmatis* entwickelten Plasmaquellen sind hervorragend für dessen Forschungsarbeiten geeignet. Für die parallelisierten Untersuchungen an verschiedenen Plasmaquellen, welche eine Grundlage der einzigartigen Interdisziplinarität des ZIK darstellen, wurden über die Geräteinvestitionen Anschaffungen weitere kinpen Scientifics, einer DBD sowie eines Pulsgenerator für Entladungen in Flüssigkeiten realisiert. Zusätzlich wurde eine Mikrowellenentladung angeschafft, die ein vollständig neues Regime der Produktion von reaktiven Stick- und Sauerstoffspezies eröffnet. Um die entwickelten Programme auch in den biologischen Laboren einsetzen zu können, waren zudem Softwareerweiterungen notwendig. Untersuchungen zu der Erzeugung von Stick- und Sauerstoffmolekülen mit

Quantenkaskadenlaserspektroskopie sind ein Alleinstellungsmerkmal des ZIK in der Plasmamedizin. Um diese Messmethode im ZIK zu verstetigen und erstmals höchstgenaue parallele Messungen verschiedener Moleküle zu ermöglichen, war die Anschaffung eines eigenen Systems mit vier Lasern notwendig.

Eine ausführliche Beschreibung aller realisierten Neuanschaffungen im Rahmen der spezifischen Geräteinvestition mit dem Förderkennzeichen 03Z2DS1 erfolgt in Abschnitt II.1 Mit diesen Erweiterungen des ZIK *plasmatis* konnte die plasmamedizinische Forschung am Wissenschaftsstandort Greifswald seine internationale Spitzenposition weiter ausbauen und neue Kooperationspartner gewinnen.

Die beantragten strategischen Investitionen wurden auf die Arbeitspläne des ZIK *plasmatis* abgestimmt. Ausgerichtet auf das Methodenspektrum der Gruppen wurden die zu beschaffenden Geräte und deren Spezifikationen festgelegt. Die benötigten Geräte wurden direkt nach Eingang des Bewilligungsbescheides ausgeschrieben, wodurch ein schneller Arbeitsbeginn mit den neuen Methoden sichergestellt wurde. So konnten die notwendigen Standards festgelegt und früh erste Ergebnisse erzielt werden.

I.4 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Untersuchungen im Bereich der Plasmamedizin waren vor dem Start von *plasmatis* geprägt von empirischen Studien und rein experimentellen Ansätzen, die biologisch medizinische Effekte (meist nur Zelltod) nachweisen. Dabei waren die fundamentalen physikalischen bzw. molekularbiologischen Prozesse nur unzureichend verstanden und wesentliche Parameter noch nicht untersucht.

Mit dem Start der interdisziplinären Zusammenarbeit der beiden Nachwuchsforschergruppen des ZIK *plasmatis* wurden die physikalischen, biophysikalischen und zellbiologischen Vorgänge erstmals in einem Zentrum umfassend und von dem Plasma bis zur Zelle untersucht.

Dieser Forschungsansatz ist bisher weltweit an der Spitze der Forschung. Die Ergebnisse des ZIK liefern einen wesentlichen Beitrag zum Verständnis der Prozesse in der Plasmamedizin. Der Stand der Plasmamedizin sowohl aus wissenschaftlicher, als auch aus technischer Sicht wurde unter Koautorenschaft der beiden Nachwuchswissenschaftler in einem Review Artikel im Journal „Physics Reports“ mit einem Impact Faktor größer 20 veröffentlicht, in dem über 300 der wichtigsten wissenschaftlichen Artikel zusammenfassend ausgewertet wurden.

**Abstract**

Plasma medicine is an innovative and emerging field combining plasma physics, life science and clinical medicine. In a more general perspective, medical application of physical plasma can be subdivided into two principal approaches: (i) indirect use of plasma-based or plasma-supplemented techniques to treat surfaces, materials or devices to realize specific qualities for subsequent special medical applications, and (ii) application of physical plasma on or in the human (or animal) body to realize therapeutic effects based on direct interaction of plasma with living tissue. The field of plasma applications for the treatment of medical materials or devices is intensively researched and partially well established for several years. However, plasma medicine in the sense of its actual definition as a new field of research focuses on the use of plasma technology in the treatment of living cells, tissues, and organs. Therefore, the aim of the new research field of plasma medicine is the exploitation of a much more differentiated interaction of specific plasma components with specific structural as well as functional elements or functionalities of living cells. This interaction can possibly lead either to stimulation or inhibition of cellular function and be finally used for therapeutic purposes. During recent years a broad spectrum of different plasma sources with various names dedicated for biomedical applications has been reported. So far, research activities were mainly focused on barrier discharges and plasma jets working at atmospheric pressure.

Most efforts to realize plasma application directly on or in the human (or animal) body for medical purposes is concentrated on the broad field of dermatology including wound healing, but also includes cancer treatment, endoscopy, or dentistry.

Despite the fact that the field of plasma medicine is very young and up to now mostly in an empirical stage of development yet, there are first indicators of its enormous economic potential. This ambivalent situation fundamentally requires a responsible use of plasma sources, which are specifically designated for biomedical applications. To enable physicians as well as life scientists to decide whether a given plasma source is really suitable for medical applications or biological experiments, a meaningful and mandatory spectrum of indicators has to be compiled to allow for a basic estimation of the potential of this plasma source.

© 2013 Published by Elsevier Ltd.

Keywords: atmospheric pressure plasmas, plasma medicine, reactive oxygen species, reactive nitrogen species

Abb. 1: Topical Review zum Thema Plasmamedizin unter Koautorenschaft der Nachwuchsgruppenleiter

Einfluss auf die Zellen und deren Stoffwechselprodukte aus. Ein Verständnis der plasmainduzierten Veränderung der Zellumgebung in der Gruppe „Extrazelluläre Effekte“ zusammen mit dem Verständnis des Einflusses von Plasmen auf die Zellsignalwege in der Gruppe „Zelluläre Effekte“ ermöglicht gezielte *In-vivo*-Zellbehandlungen und ist daher Voraussetzung beispielsweise für die Wundbehandlung am Patienten.

Der innovative Ansatz der Gruppe „Extrazelluläre Effekte“ ist es, sowohl die Plasmen als auch physiologische Flüssigkeit, extrazelluläre Matrix sowie Puffer—und Zell-Nährmedium mit quantitativer orts- und zeit-aufgelöster optischer Diagnostik auf höchstem Stand der Wissenschaft zu untersuchen und zusammen mit der Gruppe „Zelluläre Effekte“ einen detaillierten Einblick in die biochemischen und biophysikalischen Prozesse bei der Plasmabehandlung zu gewinnen. Es können erstmals Dichten und Verteilungen relevanter reaktiver Komponenten sowohl im Plasma als auch in der Zellumgebung bestimmt, ihre synergistischen Effekte untersucht und mit dem erreichten Prozessverständnis auch gesteuert werden. Damit steht die *plasmatis*-Gruppe „Extrazelluläre Effekte“ für das Design reaktiver Komponenten bei der Wechselwirkung kalter Plasmen mit Flüssigkeiten und biologischer Materie.

Durch optische Diagnostik auf höchstem Stand der Wissenschaft sowie durch computergestützte Modellierung der Prozesse gelingt im Zentrum für Innovationskompetenz *plasmatis* das Erlangen eines tiefen Verständnisses und es können sich überlagernde

Das wissenschaftliche Ziel des ZIK *plasmatis* ist es, mit fundierten wissenschaftlichen Methoden die empirisch gefundenen Phänomene aufzuklären und somit ein Verständnis der Interaktion von physikalischem Plasma und lebenden Zellen zu erhalten. Diese Interaktion wird im Wesentlichen durch die vom Plasma gebildeten reaktiven Komponenten bestimmt. Diese Plasmakomponenten sind Temperatur, Strahlung, elektrisches Feld, geladene sowie neutrale Teilchen und Radikale.

Bei der Plasma-Zell-Gewebe-Wechselwirkung spielen Sekundäreffekte eine wesentliche Rolle: Die Zelle benötigt zum Überleben eine flüssige Umgebung, d.h. das Plasma übt meist über das extrazelluläre physiologische Milieu einen

Einzelprozesse voneinander getrennt betrachtet werden. Auch können so versteckte Parameter aufgedeckt und ihr Einfluss untersucht werden.

Der Forschungsansatz der Gruppe „Extrazelluläre Effekte“, mit dem dieses Ziel verfolgt wird ist in drei Schritte gegliedert:

- Quantitative orts- und zeit-aufgelöste optische Diagnostik sowie Modellierung der Plasmen und Flüssigkeiten zusammen mit dem Vergleich unterschiedlichster Plasmaquellen
- Kontrolle des Plasmas, um eine maßgeschneiderte Zusammensetzung der reaktiven Plasmakomponenten zu erreichen und die chemische Zusammensetzung der Flüssigkeiten bzw. der zellulären Umgebung einzustellen.
- Identifikation und Verständnisgewinn der Wechselwirkungsprozesse von Plasmen mit Flüssigkeiten und biologischen Systemen

Die Nachwuchsforschergruppe „Zelluläre Effekte“ des ZIK *plasmatis* betreibt Grundlagenforschung mit dem Ziel, Wirkungsmechanismen und Zusammenhänge der Wechselwirkung physikalischer Plasmen mit lebender Materie auf zellbiologischer Grundlage zu verstehen. Vor dem Hintergrund einer zukünftigen praktischen Anwendung zur Heilung chronischer Wunden mittels Plasmabehandlung werden vor allem nichtletale, gezielt stimulierende Wirkungen von physikalischen Plasmen auf lebende Zellen untersucht. Hierbei steht der positive Einfluss auf die Zellaktivitäten wie Stoffwechsel, Signalweiterleitung und Proliferation im Vordergrund, um eine beschleunigte Wundheilung zu stimulieren bzw. einen Wundverschluss chronischer Wunden zu induzieren. Im Fokus der Forschung stehen Zellen der Epidermis (Keratinozyten), der darunterliegenden Dermis (Fibroblasten) sowie zirkulierender Immunzellen (Lymphozyten, Monozyten). Nur durch ein optimal abgestimmtes Zusammenspiel dieser Zelltypen findet ein komplikationsloser Wundverschluss statt. In chronischen Wunden liegen oft Veränderungen des Zellstoffwechsels sowie der Zellkommunikation vor. In diese Prozesse kann nun durch ein verbessertes Verständnis der Plasma-Zell-Wechselwirkungen eingegriffen werden.

In der Forschungskonzeption dient die Wundheilung sowohl wegen des modellhaften Charakters der dabei ablaufenden Prozesse als auch wegen der immensen gesundheitspolitischen Relevanz als Modellsituation. Durch die detaillierte Untersuchung von Wechselwirkungen der in Zusammenarbeit mit der Gruppe „Extrazelluläre Effekte“ identifizierten wirksamen Plasmaparameter mit einzelnen Gewebe- bzw. Zelltypen-, sowie deren Wechselwirkung der einzelnen Zellbestandteile in Verbindung mit der jeweiligen spezifischen physiologischen Umgebung der Zellen wird eine Kontrolle und gezielte Steuerung biologischer Plasmaeffekte und deren kontrollierte therapeutische Nutzung möglich. Die bisher identifizierten Moleküle bzw. die damit verbundenen zellulären Mechanismen (wie z.B. Abwehr des oxidativen Stress, Zellzyklusbeeinflussung und Zelldifferenzierung) dienen auch einem besseren Verständnis anderer oxidativer Prozesse

wie Zellalterung oder aber zahlreichen metabolisch bedingten Veränderungen, die wiederum zu stark vermehrt auftretenden „Volkskrankheiten“ wie Krebs oder Diabetes führen. Ein Verständnis dieser oxidativen Veränderungen könnte zu neuen Therapiemöglichkeiten führen, in denen kalte physikalische Plasmen durchaus eine zentrale Rolle spielen können.

I.5 Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Das ZIK *plasmatis* hat seit Beginn des Vorhabens eine Vielzahl an Kooperationen aufbauen können. Vor allem am Standort Greifswald besteht eine sehr gute Zusammenarbeit mit verschiedenen Instituten der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald und der Universitätsmedizin Greifswald. So besteht selbstverständlich eine sehr enge Zusammenarbeit mit den Instituten der ZIK-Initiatoren: dem **Institut für Pharmazie der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald** und dem **Institut für Hygiene und Umweltmedizin der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald**. Zudem werden zusammen Untersuchungen zum intrazellulären Signalling (MAPK-Zellsignalweg) und zur Aktivierung von DNA-Reparaturmechanismen nach Plasmabehandlung von eukaryotischen Zellen durchgeführt. Gemeinsam mit dem **Institut für Biochemie der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald** werden Untersuchungen zum Primärstoffwechsel von eukaryotischen Zellen unter dem Einfluss von nicht-thermischen Plasmen. Erste Erkenntnisse deuten Veränderungen im Energiehaushalt der Zelle an. Diese Zusammenarbeit wird weiter intensiviert. Mit dem **Institut für Medizinische Biochemie und Molekularbiologie der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald** werden Analysen zur Beeinflussung der Zellwanderung durchgeführt. Die AG Lillig hat unter anderem ein fundiertes Wissen (Redoxatlas der Maus), welche Sauerstoff-Radikalbasierten Prozesse in welchen Kompartimenten der Zellen ablaufen. Eine Übertragung des Mausmodelles auf die zellulären Prozesse in humanen Zellen dient der Entschlüsselung der Plasma-vermittelten Reaktionen eukaryotischer Zellen. Mit der Klinik für Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie unter Leitung von Prof. Metelmann und der **Poliklinik für Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie der Universitätsmedizin Greifswald** besteht eine enge Zusammenarbeit auf dem Gebiet der klinischen Plasmamedizin. Dabei stellt die Klinik dem ZIK *plasmatis* Patientenmaterial zur Verfügung und berät in klinischen/medizinischen Fragestellungen. Andererseits fließen auch die molekularbiologischen Daten mit in die Arbeitsschritte am Klinikum ein. In dieser Zeit sind eine Diplomarbeit und eine medizinische Doktorarbeit entstanden, die erstmalig die stimulierenden Effekte von Plasmabehandlung auf menschliche Haut bzw. Schleimhaut zum Forschungsschwerpunkt hatten. Diese Kooperationen werden inhaltlich weiter ausgebaut und führen zu weiteren medizinischen Doktorarbeiten, welche vom ZIK *plasmatis* betreute werden. Eine weitere erfolgreiche Zusammenarbeit besteht ebenfalls mit den beiden anderen Greifswalder ZIK, dem ZIK HIKE und dem ZIK FunGene. Mit dem ZIK HIKE

besteht eine Kooperation auf dem Gebiet der Immunzellisolation und Analyse der Immunzellaktivitäten. Es werden vergleichende Arbeiten von plasmabehandelten Zellkulturen mit den jeweils natürlichen Zellen des Immunsystems - isoliert aus buffy coats - durchgeführt. Mit dem ZIK FunGene besteht eine enge Zusammenarbeit mit der AG Pathoproteomics. Beide ZIKs ergänzen sich hier optimal – während FunGene Proteinveränderungen in Bakterien aufgrund von verschiedenen Stresssituation untersucht, ist das Team der Gruppe „Zelluläre Effekte“ des ZIK *plasmatis* an Proteinveränderungen von menschlichen und tierischen Zellen nach einer Plasmabehandlung interessiert. Eine gemeinsame Etablierung neuer Messmethoden wie der Redox-Proteomics kommt somit beiden ZIK zugute und der Erkenntnisgewinn dient in beiden Fällen der Sicherung der Expertisen vor Ort. Fokussiert wurde dabei zum einen auf das Labelling von Zellen mittels schweren Aminosäuren (SILAC), um eine hohe Auflösung zu erzielen. Zum anderen wurde das Redoxproteom (oxidative Veränderung an Proteinen) mittels gel-freier, hochauflösender Massenspektrometrie untersucht.

Die Zusammenarbeit auf dem Gebiet der hochauflösenden Massenspektrometrie mit der Arbeitsgruppe von Prof. Hecker verschaffte uns einen Zugang zu Ressourcen & know how sowie Unterstützung bei der Methodenetablierung. Des Weiteren kooperiert das ZIK *plasmatis* mit dem **Institut für Plasma Physik/ Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald auf dem Gebiet der** Plasmadiagnostik, speziell der Laserinduzierten Fluoreszenz an metastabilem Stickstoff. Diese Zusammenarbeit wird zukünftig im Bereich der Lasergestützten Diagnostik von dielektrisch behinderten Entladungen und zur Charakterisierung der Plasmaeigenschaften erweitert.

Im Folgenden sind die lokalen, nationalen und internationalen wissenschaftlichen Partner sowie die industriellen Partner des ZIKs aufgelistet:

Kooperationen am Standort Greifswald

- Institut für Pharmazie der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald
- Institut für Hygiene und Umweltmedizin der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald
- Friedrich Loeffler Institut für Medizinische Mikrobiologie der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald
- Institut für Biochemie der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald
- Institut für Medizinische Biochemie und Molekularbiologie der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald
- Institut für Pigmentationsstörungen e.V. – Greifswald
- Klinik für Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie und Plastische Operationen der Universitätsmedizin Greifswald
- Institut für Mikrobiologie, Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald
- ZIK HIKE, Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald
- ZIK fungene, Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald

- Institut für Immunologie und Transfusionsmedizin, Universitätsmedizin Greifswald
- Alfried Krupp Wissenschaftskolleg Greifswald
- Institut für Plasma Physik/ Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald

Internationale und nationale Kooperationen des ZIK *plasmatis*

- Queensland University of Technology (QUT) - Brisbane, Australia
- Commonwealth Science and Industrial Research Organization (CSIRO) - Sydney, Australia
- Chemical and Biomolecular Engineering Faculty, University of California - Berkeley, USA
- Computational Plasma Science and Engineering Group, University of Michigan - Ann Arbor, USA
- Laboratoire de Physique des Plasmas, École Polytechnique - Paris, France
- Plasma Bioscience Research Center, Kwangwoon University of Seoul - Seoul, Korea
- Collage of Science and Engineering, University of Minnesota - Minnesota, USA
- University of Technology Eindhoven, Department of Applied Physics - Eindhoven, Netherlands
- York Plasma Institute, Department of Physics, University of York - York, Great Britain
- Department of Pathology, Centre for Free Radical Research, University of Otago - Christchurch, New Zealand
- Centre for Plasma Physics of the Queen`s University Belfast - Belfast, Great Britain
- Department of Astronomy, Physics of the Earth and Meteorology of the Comenius University Bratislava - Bratislava, Slovakia
- Institut für Experimentalphysik der Ruhr-Universität Bochum - Bochum, Germany
- Institut für Immunologie der Universität Witten/Herdecke - Witten, Germany
- Institute of Physical and Applied Chemistry of the Brno University of Technology - Brno, Czech Republic
- Masaryk University Brno, Department of Physical Electronics - Brno, Czech Republic
- Max-Delbrück-Centrum für molekulare Medizin Berlin-Buch - AG "Dynamik der Signaltransduktion in Zellen" - Berlin, Germany
- Abteilung Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Georg-August-Universität Göttingen - Göttingen, Germany
- Groupe de Recherches sur l'Energétique des Milieux Ionisés (GREMI)/ L'Université d'Orléans -Orléans, France
- Collage of Electric & Electronic Engineering/ Hua Zhong University of Science & Technology - Whuan, China
- Institute of Plasma Physics Prague, Department of Pulse Plasma Systems, Czech Republic
- Stanford Japan Center Graduate School of Engineering, Osaka University, Osaka, Japan

- École Polytechnique, Laboratoire De Plasma Physics, Paris, France
- Forschungszentrum Borstel, Leibniz Zentrum für Medizin und Biowissenschaften, Biophysik, Germany
- DESY Hamburg, Petra III@HASYLAB, Hamburg, Germany
- University of Antwerpen, Belgium
- Centre de recherche public Gabriel Lippmann, Belvaux, Luxembourg

Wirtschaftspartner des ZIK *plasmatis*

- Neoplas GmbH, Greifswald
- Enzymicals AG, Greifswald
- Baltic Analytics GmbH, Greifswald
- Neoplas control, Greifswald
- Klinikum Karlsburg der Klinikgruppe Dr. Guth GmbH & Co. KG, Karlsburg

II.1 Eingehende Darstellung der Verwendung der Zuwendung und des erzielten Ergebnisses im Einzelnen

Mit Hilfe der Strategischen Investition konnte ein umfangreiches und in dieser Kombination einzigartiges Methodenspektrum für die Forschungsarbeit im ZIK *plasmatis* aufgebaut werden. Sowohl die Nachwuchsforschergruppe „Zelluläre Effekte“ als auch die Gruppe „Extrazelluläre Effekte“ haben Geräte über dieses Vorhaben beschafft, die in Ihrer Methodik eng aufeinander abgestimmt sind und das bisherige Methodenspektrum optimal ergänzen. So werden weltweit einzigartige Ergebnisse erwartet, die im Rahmen der Arbeit innerhalb des ZIK *plasmatis* publiziert werden.

Folgende Geräteinvestitionen wurden im Einzelnen realisiert:

Cell Sorter (Lfd. Nr. 1 Geräteliste des Bewilligungsbescheids)

Investition: 723.731,82 €

Das Kernprojekt des ZIK *plasmatis* ist die grundlegende Erforschung des Einsatzes von Niedertemperaturplasmen zur verbesserten Wundheilung. Für diesen Zweck sind *in vitro* Zell- und Monokulturen von Haut- und Immunzellen ideale, vereinfachende Modelle, um Mechanismen und Zellreaktionen aufzuklären. Zunehmendes Wissen und die hohe Komplexität der Wundsituation *in vivo* verlangen jedoch relevantere Modelle, wie sie in der Klinik anzutreffen sind. Daher wurde es für eine Übersetzung des im ZIK *plasmatis* gesammelten Wissens in die Klinik unabdingbar, klinische Proben der Haut und Wunde zu untersuchen. Diese Proben bestehen allerdings aus einer Vielzahl unterschiedlicher Zell-

und Gewebetypen, so dass Reaktionen spezifischer Zelltypen auf Plasma nur schwerlich im heterogenen Gemisch differenzierbar sind. Dieses Problem kann mit „Cell Sortern“ gelöst werden. Hierbei färbt man für den einzelnen Zelltyp mithilfe einzigartiger Oberflächenmarker spezifisch mit fluorochrommarkierten Antikörpern und das Gerät sortiert durchflusszytometrisch nur die Zellen heraus, die positiv für den entsprechenden Marker sind. In der Regel erhält man hierbei >99% reine Zellpopulationen eines einzigen Typs. Die Möglichkeit dieser Trennung ist für unsere Forschung von entscheidender Bedeutung, da es uns erlaubt, die Rolle von einzelnen Immun- und Hautzelltypen – auch aus Spender- und Klinikmaterial – im Kontext der Wundheilung gezielt zu charakterisieren. Weiterhin ist dieses neue Gerät von großem Nutzen in der Aufarbeitung von Immunzellen von Spenderblut. Hier erhält man nach Abtrennung von Plasma und Erythrozyten Gemische verschiedenster Immunzelltypen. Vor der Etablierung dieser neuen Methode im ZIK *plasmatis* mussten diese über aufwändige und teure magnetische Separationsmethoden voneinander getrennt werden, was das parallele Trennen von bspw. sechs verschiedenen Zelltypen eines Spenders praktisch unmöglich machte. (Ferner ist ein Gerät, welches als erstes den technologischen Anforderungen an das parallele Sortieren von 6 Zelltypen gleichzeitig gerecht werden wird, erst im Jahr 2012 auf den Markt gekommen.) Zudem ergeben sich durch die Nutzung dieses neuen einzigartigen Gerätes außerordentliche Zeitersparnisse in der Datenerhebung, da mehrere und verschiedenartigere Proben in kürzerer Zeit durch eine schnellere und effizientere Separation erstellt werden können.

Durch die gestarteten Kooperationen, bei denen Hautproben von Patienten untersucht werden, war die Möglichkeit der Anschaffung des Cell Sorters durch die spezifische Geräteinvestition von großer Bedeutung für die Ergebnisse des ZIK *plasmatis*. Mittlerweile haben aufgrund dieser neuen Technologie mehrere Greifswalder Arbeitsgruppen ihr Interesse an einer Zusammenarbeit mit dem ZIK *plasmatis* signalisiert und es konnten erste konkrete Pläne gefasst werden. So wird es eine engere Anbindung an das Institut für Immunologie geben. Auch mit der Poliklinik und da speziell in der onkologischen Abteilung unter Oberarzt Dr. Partecke werden bereits detaillierte Projekte geplant. Weitere Kooperationsgespräche wurden auch mit der Dr. Guth Klinik in Karlsburg geführt, die nur aufgrund des Vorhandenseins dieser Technologie am ZIK *plasmatis* zustande gekommen sind. Sowohl mit der Onkologie als auch mit dem Dr. Guth Klinikgruppe werden zurzeit Ethikanträge erarbeitet, welche das Cell Sortieren und die anschließende Analyse als zentralen Bestandteil beinhalten.

Durch die Einzigartigkeit dieser Methodik gelingt es dem ZIK *plasmatis*, die internationale Themenführerschaft in der Erforschung der Plasma-Wund-Interaktion weiter auszubauen.

Der Cell Sorter wurde gemäß der VOL/A über ein Offenes Verfahren europaweit ausgeschrieben. Im Zuge dieser Ausschreibung haben wir uns für den Cell Sorter von Beckman Coulter entschieden.

Metabolomic & Lipidomic Analyzer via HPLC / MS (Lfd. Nr. 2 Geräteliste des Bewilligungsbescheides)

Investition: 624.838,37 €

Aufgrund dieses neuen Metabolomic & Lipidomic Analyzer via HPLC / MS wurde die Zusammenarbeit sowohl mit dem ZIK FunGene als auch der AG Pathoproteomics vertieft und der damit gewonnen Erkenntnisgewinn wird auch weiterhin dem ZIK *plasmatis* dienen, um sich auf dem Gebiet der Proteomicsforschung ein Renommee zu erarbeiten, welches zu weiteren Kooperationen führen wird. Speziell innerhalb der „Plasma Community“ hat diese neue Technologie großes Interesse gefunden, so dass sowohl Partner aus Korea (Prof. Choi vom PBRC) wie auch den USA (Prof. Bruggeman, Uni Minnesota) ihre Proben bei uns analysieren lassen.

Während die vom ZIK *plasmatis* untersuchten Proben durch die immer größere Nähe und Relevanz zur Klinik immer komplexer geworden sind, nahm auch die Detailtiefe der untersuchten Proben zu. Dies ist auch auf dem Gebiet der Proteomics deutlich geworden. Mit den Geräten und Methoden, die bis zur Bewilligung der Spezifischen Geräteinvestition (FKZ: 03Z2DS1) angeschafft wurden, war eine Auftrennung und Analyse der Proteingemische nur auf quantitativer und bedingt auch in qualitativer Weise möglich. Den neu angeschafften Metabolomic & Lipidomic Analyzer nutzen wir, um sogenannte post-translationale Veränderungen, also Beispielsweise die Oxidationen durch Plasma oder Phosphorylierungen, Glykosilierungen durch die Zellen aufgrund von stressbedingten Reaktionen zu messen. Da sich die Untersuchungen der Arbeiten der NWG „Zelluläre Effekte“ weiter auf Erhebung von Daten, die Stoffwechseleränderungen betreffen fokussiert, war die Neuanschaffung dieses Gerätes notwendig.

Die Anschaffung eines QExactive MS-Systems ergänzt und erweitert zudem die vorhandenen Kapazitäten im ZIK *plasmatis* für die Identifizierung und Charakterisierung von zellulären Proteinen. Dadurch wurde der Zugang zur Aufklärung biologischer Effekte von physikalischen Plasmen verbessert. Entschieden haben wir uns für ein Gerät der Firma Thermo Fisher. Aufgrund der sehr hohen Auflösung (= Genauigkeit + Sensitivität) des von Thermo exklusiv vertriebenen und patentierten Orbitrap-Systems ist die QExactive besonders für die Identifizierung von sehr seltenen und nur in geringen Mengen vorkommenden Proteinen und für die Erfassung von nachträglichen Veränderungen der Proteine geeignet. Zusätzlich besitzt das Gerät einen Quadrupol-Ionenselektionskanal der zusätzliche Funktionalitäten (MS/MS von Prekursor-Ionen) erlaubt. Die Orbitrap-Analysatorzelle kann sehr hohe m/z Werte unterscheiden, so dass auch intakte Proteine (nativ oder nur anverdaut) messbar sind. Dadurch können auch Bereiche, die mit tryptischen Peptiden nicht gemessen werden können, analysiert werden. Die mögliche Sequenzabdeckung eines gegebenen Proteins und die De-novo-Sequenzierbarkeit wird so gesteigert. Aufgrund des Ionenfallendesigns können auch niedrig-abundante Moleküle

charakterisiert werden. Diese spezielle Eigenschaft kann man sich nachfolgend bei der Analyse von Lipiden bzw. Metaboliten zu Nutze machen.

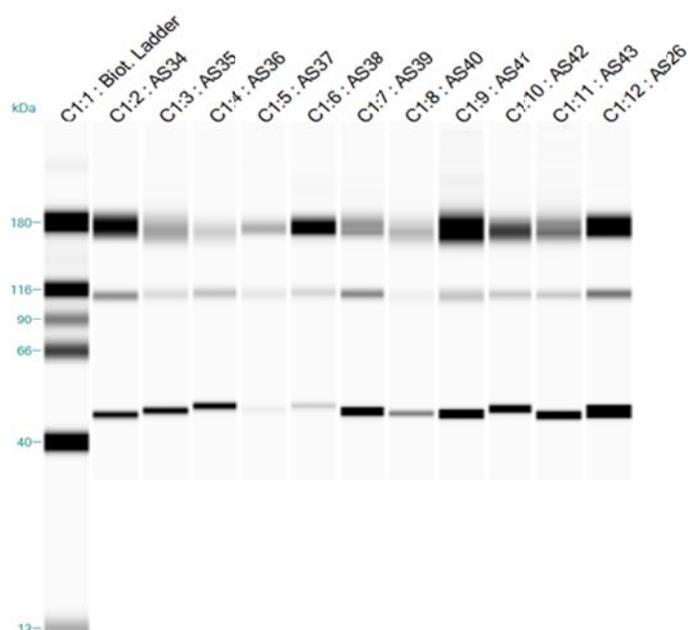
Das neu angeschaffte Gerät befindet sich in einem späten Entwicklungsstadium und wurde durch den Hersteller/Entwickler sehr komplett in die Peripherie eingebunden. Dies betrifft die Probenvorbereitung (z.B. Probenmarkierung), die Flüssigchromatographie und die anschließende Auswertung (Software). Aufgrund der weiten Verbreitung in führenden Laboren ist eine Vielzahl von Softwarelösungen frei verfügbar (z.B. MaxQuant, SprayQC etc.).

Capillary-based Nanoimmunoassay System (Lfd. Nr. 3 Geräteliste des Bewilligungsbescheids)

Investition: 68.620,41 €

Die oben beschriebenen neuen Methoden (Geräte mit der lfd. Nr. 1 und 2) führen zu immer mehr gefundenen Proteinen, deren Modifikationen und damit Funktion nachgewiesen und verifiziert werden müssen. Mit der bisher im ZIK *plasmatis* verwendeten Standardmethode der Gelelektrophorese mit anschließenden Western Blots sind sehr hohe Kosten an Verbrauchsmaterial verbunden. Zudem ist diese Methode sehr zeitaufwändig. Um dem zu erwartenden Zeit- und Materialaufwand gewachsen zu sein – bzw. die Probenmenge überhaupt abarbeiten zu können, war die Investition in eine neue Methodik – die des gelfreien „Capillary-based Nanoimmunoassay“ notwendig.

Seit September 2013 können wir mit dem Capillary-based Nanoimmunoassay, welches die



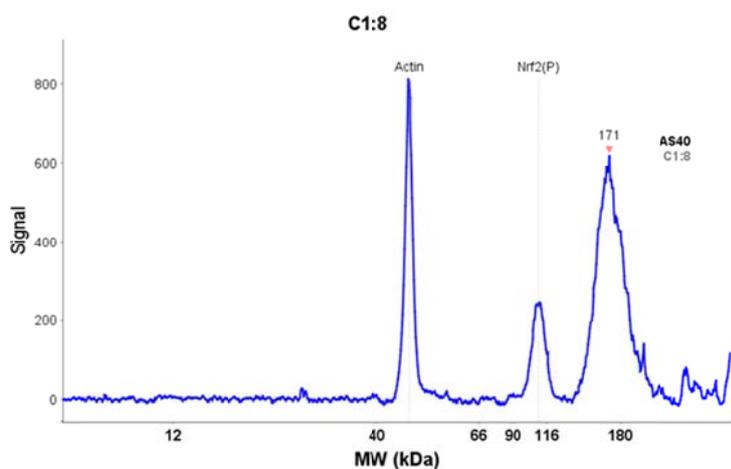
Bezeichnung „SIMON“ trägt, Westernblots innerhalb eines Arbeitstages inklusive Auswertung bearbeiten. Von der Aussaat der Zellen über die Plasmabehandlung, zum Ablösen der Zellen, der Gesamtproteinbestimmung und Bestimmung der Proteine mittels Westernblot mit Auswertung benötigen wir jetzt maximal 3 Tage, da wir primäre und sekundäre Antikörper gleichzeitig einsetzen können und verschiedene Primärantikörper in einem Lauf bestimmen.

Abb. 2: Westernblot mittels SIMON

Die reine Arbeitszeit zur Vorbereitung des Gerätes dauert 1,5h - danach läuft der Westernblot voll automatisch bis zur Auswertung. Dies bedeutet eine Zeitersparnis von

mehreren Tagen. Bisher konnten wir folgende Proteine nachweisen SOCs, STAT, Actin, Connexin43, KAP und Nrf2(P) .Bevor wir mit den Versuchen begonnen haben, wurden die Antikörperverdünnungen ausgetestet. Für den Westernblot mit dem SIMON werden nur 0,5-2µl Antikörper pro Lauf benötigt. Dies spart Antikörper.

Diese neue Entwicklung führt nicht nur zu einer schnelleren und reproduzierbareren



Methode der Proteintrennung, sondern bietet sich auch für eine zunehmende Standardisierung an. Da das ZIK *plasmatis* einer der ersten Anwender dieser Technologie in Europa ist, wurden wir bereits zu einem internationalen Workshop für einen ersten Erfahrungsaustausch eingeladen, bei dem unser

Sample	Primary	Cap	Peak	Name	Position	MW (kDa)	Height	Area	% Area	Width	S/N	Baseline
AS40	Actin, Nrf2(P)	C1:8	2	Nrf2(P)	805	110	245,5	4559	34,5	17,4	59,5	221,6
AS40	Actin, Nrf2(P)	C1:8	1	Actin	657	48	777	8655	65,5	10,5	217,9	203,9

Abb. 3: Probe (AS10) von der oberen Abbildung als Graph dargestellt

Wissen speziell im Umgang mit unseren Proben einfließen wird.

Die Anschaffung eines Capillary-based Nanoimmunoassay-Systems ergänzt und erweitert seit der Etablierung die vorhandenen Kapazitäten im ZIK *plasmatis* für die Identifizierung und Charakterisierung von zellulären Proteinen. Dadurch wird der Zugang zur Aufklärung biologischer Effekte von physikalischen Plasmen verbessert.

Optische Plasmadiagnostik (Lfd. Nr. 4 bis 6 Geräteliste des Bewilligungsbescheids)

Investitionen:

Imaging Spektrograph

(Lfd. Nr. 4 Geräteliste des Bewilligungsbescheids) 68.936,70€

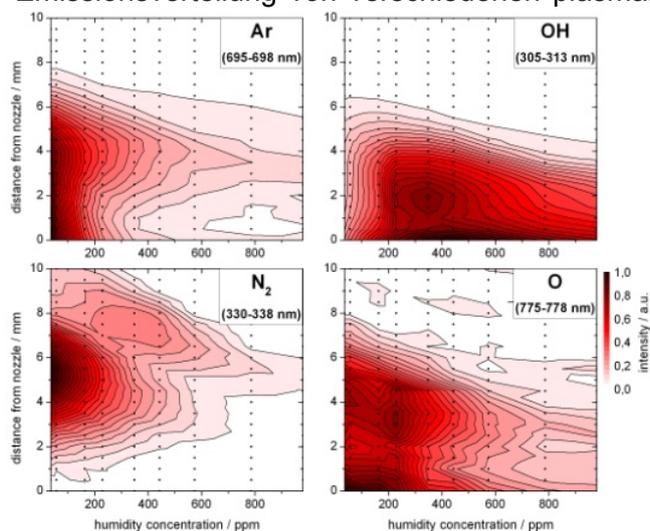
Breitband FTIR Spektrometer

(Lfd. Nr. 5 Geräteliste des Bewilligungsbescheids) 184.521,97€

Messkammer FTIR-Spektrometer

(Lfd. Nr. 6 Geräteliste des Bewilligungsbescheids) 17.957,10€

Optische Emissionsspektroskopie (OES) ist eine schnelle und zuverlässige Methode, um die Stabilität von Plasmaquellen zu untersuchen. Des Weiteren liefert die Analyse der OES Erkenntnisse über die im Plasma angeregten bzw. vorhandenen Spezies. Mittels dieser Methode wurden an einem Atmosphärendruck Plasmajet die orts aufgelöste Emissionsverteilung von verschiedenen plasmamedizinisch-relevanten angeregten Spezies



in Abhängigkeit der Arbeitsgasfeuchte bestimmt (siehe Abb.). Diese Untersuchungen lieferten bisher einen erheblichen Beitrag zur Aufdeckung des Einflusses von Arbeitsgasfeuchte auf das Plasma, die plasmabehandelte Flüssigkeit sowie auf humane Hautzellen.

Abb. 4: Axiale Verteilung der Emission von angeregten Argon- und Sauerstoffatomen sowie Hydroxyl- und Stickstoffmolekülen in Abhängigkeit der Arbeitsgasfeuchte.

Emissionsspektren von Plasmen beinhalten nicht nur Informationen über die Art der angeregten Spezies, sondern darüber hinaus auch Hinweise über die Anregungsbedingungen und physikalischen Eigenschaften des Plasmas selbst. So kann beispielsweise aus der Verbreiterung einer Spektrallinie die Gastemperatur bestimmt werden. Darüber hinaus lassen sich auch Elektroneneigenschaften wie Elektronendichte und -temperatur aus eben dieser Verbreiterung ableiten. Diese Informationen sind für eine modellmäßige Beschreibung der plasmamedizinisch relevanten Reaktionen im Effluenten unabdingbar. Voraussetzung für die Messung der Elektroneneigenschaften ist allerdings, dass die spektrale Auflösung des verwendeten Spektrometers entsprechend gut ist. Zudem ist für eine Validierung der Plasmamodellierungsergebnisse die Ortsabhängigkeit der Linienverbreiterung wichtig. Diese kann mit Hilfe einer entsprechenden Imaging Funktion am

Spektrometer erhalten werden. Mit dem bis zur „Strategischen Investition“ am ZIK *plasmatis* verwendeten Imaging Spektrometer wurden bereits Ozonkonzentrationen im Plasmajet orts aufgelöst bestimmt. Für die angestrebte Messung der Elektroneneigenschaften war allerdings die spektrale Auflösung des vorhandenen Geräts nicht mehr ausreichend. Um dennoch die notwendigen Messungen durchführen zu können, wurde ein **hochauflösender Imaging Spektrograph** (Lfd. Nr. 4) angeschafft. Zusammen mit den plasmaphysikalischen Simulationen liefern die Resultate aus den jetzt durchführbaren Messungen einen bisher nicht dagewesenen Einblick in die Anregungsbedingungen der eingesetzten Plasmaquellen. FTIR Spektroskopie ist eine machtvolle Übersichtsdiagnostik, da die Absorption und damit die Konzentration verschiedenartiger Spezies zeitgleich bestimmt werden können. Beispielhaft seien hierbei die Konzentrationsbestimmungen von Ozon und Stickstoffdioxid am Jet mit verschiedenen Mantelgasen genannt, wie sie in Abb. gezeigt sind. Die

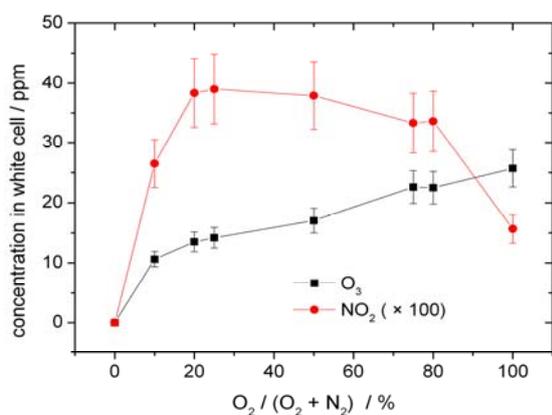


Abb. 5: Abhängigkeit der Konzentration von Ozon und Stickstoffdioxid in Abhängigkeit von der Mantelgaszusammensetzung

Detektierbarkeit verschiedenartiger Spezies mit diesem Gerät ist eng mit dem abgedeckten Spektralbereich verbunden. Je größer der Spektralbereich, desto größer ist auch die Anzahl der Spezies bzw. Übergänge die mit der Methode detektiert werden können. Das bereits vorhandene FTIR Spektrometer deckt den üblichen infraroten Spektralbereich ab, in dem Absorption einer Vielzahl von

plasmamedizinisch interessanter Spezies wie z.B. O₃, NO₂, H₂O₂, HNO₃ erfolgt. Spezies die ausschließlich außerhalb dieses Bereiches absorbieren, können von dem System nicht

erfasst werden. Ein überaus interessanter Spektralbereich, der momentan durch kein im ZIK *plasmatis* vorhandenes Messgerät abgedeckt wird, ist der in den 1990er Jahren erstmals messtechnisch erschlossene Bereich der Terahertz-Strahlung. Diese niederenergetische Strahlung regt vor allem Bindungen in schweren Bindungspartnern an und wird bereits medizinisch genutzt, um Tumore vom gesunden Gewebe zu unterscheiden. Für das ZIK *plasmatis* ist eine derartige Technologie äußerst wertvoll, da beispielsweise die Änderung der Hydratisierung von Liposomen, wie sie bei einer plasmainduzierten Perforation vorkommt, vermessen werden kann. Des Weiteren lässt sich die Strahlung zur Untersuchung der Interaktion von hydratisierten Lipiden verwenden. Aber nicht nur Prozesse mit Zellwandbestandteilen lassen sich mit dieser Methode aufdecken. Auch können Wasserstoffbrückenbindungen, wie sie in der DNA oder in plasmachemischen Produkten (z.B. Hydroniumionen) vorkommen, mittels Terahertz-Strahlung studiert werden. Um diese Messungen zu realisieren und damit ein weiteres Alleinstellungsmerkmal im plasmamedizinischen Forschungsbereich zu setzen, wurde als upgrade des bestehenden Systems ein **Breitband-FTIR -Spektrometer** (Lfd. Nr. 5) angeschafft. Mit diesem Gerät können Terahertz-Absorptionsspektren aufgenommen werden und drängende

wissenschaftliche Fragen, wie bspw. nach dem plasmainduzierten Perforationsmechanismus in Zellen aufgeklärt werden. Bislang gibt es weltweit keine Gruppe, die diese Technologie in interdisziplinärer Zusammenarbeit zwischen Plasmaphysikern und Biologen im Bereich der Plasmamedizin anwendet. Damit ist der Grundstein für eine weitere internationale Vorreiterrolle des ZIK *plasmatis* gelegt.

Im vorhandenen FTIR Spektrometer wurde zur Erhöhung der Empfindlichkeit eine Langwegzelle fest installiert. Mit dieser Zelle ist es möglich, mit einer effektiven Absorptionslänge von bis zu 40 m, Spuren von Gaskomponenten im oberen ppb-Bereich (ppb: ein Teilchen auf ein Milliarde) nachzuweisen und deren Konzentration zu bestimmen. Allerdings blockiert die Langwegzelle konstruktionsbedingt die Messkammer des Spektrometers, so dass Messungen hochkonzentrierter, gasförmiger Proben als auch Messungen an Flüssigkeitsfilmen mit der aktuellen Konfiguration nicht möglich sind. Um dennoch die volle Funktionsfähigkeit des Spektrometers auszunutzen und Proben vermessen zu können, die für die Langwegzelle ungeeignet sind, wurde eine zusätzliche **Messzelle** (Lfd. Nr. 6) mit entsprechendem Adapter an das Spektrometer angeschafft. Mit dieser Erweiterung lassen sich auch Spezies mit stark unterschiedlicher Konzentration bzw. unterschiedlichem Wirkungsquerschnitt messen, ohne die Einstellungen der Langwegzelle verändern zu müssen. Dies bietet den Vorteil einer Vergrößerung der Funktionalität des FTIR Spektrometers, wodurch zusätzliche Erkenntnisse schneller erhalten werden.

Elektrische Charakterisierung (Lfd. Nr. 6 und 7 Geräteliste Bewilligungsbescheid)

Investitionen:

Multifrequenz Leistungs- und Phasen Sonde & Doppel Langmuir Sonde

(Lfd. Nr. 7) 24.256,96€

Oszilloskop (5 Stck.) für Plasmaquellen

(Lfd. Nr. 8) 13.306,40€

Die Ergebnisse der Forschung der vergangenen Forschungsperiode lieferten die Erkenntnis, dass die in das Plasma *eingebrachte* Leistung eine der wesentlichsten Kenngrößen ist. Sie ist maßgeblich bei der Dosisbestimmung beteiligt und für einen Vergleich unterschiedlichster Plasmaquellenkonzepte. Gerade bei RF-angeregten Plasmaquellen ist dies jedoch eine große Herausforderung. Im ZIK *plasmatis* wurde dazu übergegangen, unterschiedliche Frequenzen bei der Anregung zu untersuchen, um beispielsweise Energie, vorzugsweise in die Ionen oder speziell in die Elektronen, einzubringen. Dadurch lässt sich die Plasmachemie gezielt beeinflussen. Um diese Parameter untersuchen zu können, war die Anschaffung von einer **Multifrequenz Leistungs- und Phasen Sonde** und einer **Doppel Langmuir-Sonde** (Lfd. Nr. 7) notwendig. Die Langmuir-Sonde ist als Doppelsonde ausgelegt, und wird für den Einsatz bei Atmosphärendruck genutzt. Diese Sonde ist eine hochaktuelle kommerzielle Entwicklung und es ist bisher nicht bekannt, dass international eine Gruppe diese in der plasmamedizinischen Grundlagenforschung einsetzt.

Um an jedem Messplatz die in die Plasmen eingebrachte Leistung bestimmen zu können, wurden für die Plasmaquelle 7 portable Oszilloskope angeschafft (Lfd. Nr. 8). Die dadurch mögliche Standardisierung der Experimente ist in dieser Fülle international wegweisend.

Plasmaquellen (Lfd. Nummern 9 bis 13 Geräteliste Bewilligungsbescheid)

Investitionen:

<i>DBD (Lfd. Nr. 9)</i>	6.069,00 €
<i>Kinpen Sci (5 Stck.) (Lfd. Nr. 10)</i>	50.600,00 €
<i>Mikrowellenentladung – Vergleichsquelle 1 (Lfd. Nr. 11)</i>	16.374,40 €
<i>Mikrowellenentladung – Vergleichsquelle 2 (Lfd. Nr. 12)</i>	1.745,73 €
<i>Pulsgenerator (Lfd. Nr. 13)</i>	57.536,50 €

Im Rahmen der Forschungsarbeiten des ZIK *plasmatis* wurde die Atmosphärendruck-Plasmaquelle kinpen soweit weiterentwickelt, dass die elektrischen Eigenschaften während der Messung präzise eingestellt und überwacht werden können. Diese Weiterentwicklung ist die Voraussetzung zur Bestimmung der ins Plasma eingebrachten Leistung – eine der wesentlichen Kenngrößen bei der Erzeugung plasmamedizinisch-relevanter Agenzien. Nur wenn sichergestellt ist, dass unabhängig vom Experiment immer die gleiche Leistung eingespeist wird, können Ergebnisse quantitativ verglichen werden. Dies ist mit der Scientific-Version des kinpen in hervorragender Weise sichergestellt. Aus diesem Grund verfolgt das ZIK *plasmatis* die Strategie genau diese Plasmaquelle als Referenzplasmaquelle zu verwenden. Dies setzte voraus, dass jeder Versuchsaufbau zur Plasmabehandlung mit dieser speziellen Quelle ausgestattet wird, was durch das Vorhaben „Spezifische Geräteinvestition“ realisiert werden konnte. Dies hat den einzigartigen Vorteil, dass Versuche parallelisiert ablaufen können und damit Ergebnisse auf plasmaphysikalischer, biophysikalischer und zellbiologischer Seite vergleich- und reproduzierbar generiert werden. Dies ist im internationalen Vergleich zu anderen Forschungsinstituten eine ausgesprochene Besonderheit, da üblicherweise ein bis zwei baugleiche Plasmaquellen pro Forschungsbereich vorhanden sind und dementsprechend nur eine serielle Arbeitsweise erfolgen kann. Die interdisziplinären Erfahrungen im ZIK *plasmatis* haben gezeigt, dass thematisch verbundene Experimente zwischen der intrazellulären und extrazellulären Gruppe aufgrund der biologischen Eigenschaften der Zellen und der üblicherweise langwierigen biologischen Versuchsdurchführung nur dann erfolgreich sind, wenn sie im engen zeitlichen Rahmen bzw. parallel durchgeführt werden. Da die bisherigen Ergebnisse auf den Untersuchungen des kinpen beruhen, stützt sich auch die zukünftige Forschung auf diese Plasmaquelle, die den Vorteil hat, dass sie als einzige Plasmaquelle in mehreren Kliniken bereits national und international eingesetzt wird und damit die besten Voraussetzungen für Forschung auf dem Gebiet der Plasmamedizin

ermöglicht. Daher wurde die Ausstattung der Labore mit 5 **Scientific-Versionen der kinpen-Plasmaquelle (neoplas GmbH)** (Lfd. Nr. 10) erweitert, was dazu geführt hat, dass interdisziplinäre, qualitativ hochwertige Ergebnisse schneller generiert werden.

Die Untersuchungen im ZIK *plasmatis* haben ergeben, dass Plasmaquellen, die einen stärkeren Energietransfer in das Plasma aufweisen, mehr NO statt Ozon produzieren. Dies ist sehr ausschlaggebend für Untersuchungen in der Plasmamedizin. Ein Typus dieser Plasmaquellen sind mikrowellengetriebene Plasmaquellen. Hierfür wurden zwei Entladungen angeschafft, die vergleichend untersucht werden. Zum einen ist dies eine Mikrowellenentladung IMAPlaS (Vergleichsquelle 1 – Lfd. Nr. 11). Diese Quelle ist für die Oberflächenbearbeitung kommerziell erhältlich. Sie weist den Nachteil auf, dass sie nur mit Luft betrieben werden kann und keine Einstellmöglichkeiten bezüglich der Leistung oder des Gasflusses möglich sind. Daher wurde eine weitere Quelle angeschafft (Vergleichsquelle 2 – Lfd. Nr. 12), die bereits am INP untersucht wurde und für die auch bereits ein numerisches Modell besteht. Dies bereitet die Möglichkeit bereits zu Beginn der Untersuchungen eingehend die Prozesse der Mikrowellenentladung zu verstehen und so neben der Möglichkeit der Einstellung der Leistung, und der Gaszusammensetzung auch die Plasmaprozesse gezielt zu beeinflussen.

Im ZIK *plasmatis* wurden in Kooperation bereits mehrere Plasmaquellen die in Flüssigkeiten arbeiten untersucht. Diese Quellen sind in der Regel gepulste Entladungen. Um gezielter und mit einer höheren Pulsanstiegsgeschwindigkeit arbeiten zu können, wurde ein kommerzieller **Pulsgenerator** (Lfd. Nr. 13) angeschafft. Er liefert Pulsspannungen von bis zu 35kV mit einem maximalen Pulsstrom von bis zu 60 A. Mit diesem Pulsgenerator werden die Untersuchungen reproduzierbarer und es können Bereiche der Entladungen untersucht werden, die bisher nicht möglich waren.

Anders als jetartige Plasmaquellen können dielektrisch behinderte Entladungen (DBD) in fast jeder Geometrie konstruiert werden. In Anwendungen, bei der der Plasmajet über die zu behandelnde Fläche geführt werden muss, kann die dielektrisch behinderte Entladung spezifisch an die Gegebenheiten angepasst werden. Diese Flexibilität im Konstruktionsdesign macht die dielektrisch behinderte Entladung neben dem Plasmajet zu einem aussichtsreichen Kandidaten, wenn es um die praktische Applizierbarkeit von Plasma im medizinischen Bereich geht. Um die Vorreiterrolle des ZIK *plasmatis* in der interdisziplinären Untersuchung von MHz getriebenen Argon Plasmajets auch auf die anwendungsrelevanten dielektrisch behinderten Entladungen zu erweitern, wurde eine angepasste **DBD-Plasmaquellen** (Lfd. Nr. 9) angeschafft. Durch die Anschaffung dieser Plasmaquelle ist es möglich, auf die im Campus PlasmaMed gewonnenen Erkenntnisse aufzubauen. Zusammen mit den Erkenntnissen, die am Plasmajet erhalten wurden, erlaubt diese Plasmaquellenerweiterung dem ZIK *plasmatis* Unterschiede in der plasmaspezifischen Zellantwort zu studieren und neue Prozesswege zu identifizieren. Eine derart breite interdisziplinäre Kompetenz bei zwei Plasmaquellenarten führt nicht nur zu international anerkannten Forschungsergebnissen, sondern ebnet darüber hinaus den Weg in Richtung plasmamedizinischer Anwendung.

RedOx-Titrationssystem (Lfd. Nr. 14 Geräteliste Bewilligungsbescheid)

Investition: 8.312,49€

Der angeschaffte Titrator wird im Bereich der Flüssigkeitsanalyse nach Plasmabehandlung verwendet. Er ermöglicht nicht nur die Bestimmung der pH Verschiebung, sondern ermöglicht durch die automatisierte Titrierfunktion, dass die Anzahl an durch Plasma gebildeter reaktiver Spezies mit Säureeigenschaften, wie z.B. HNO_3 , bestimmt wird. Die effektive Produktionsrate kann so sehr genau bestimmt werden. Die folgende Abbildung zeigt dies beispielhaft.

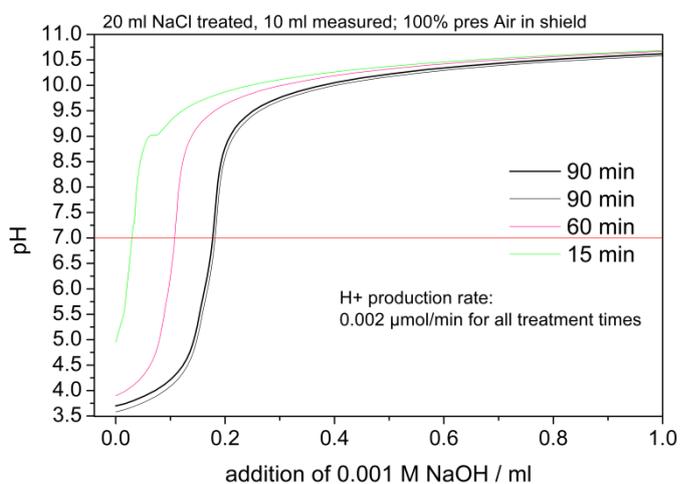


Abb. 6: pH - Titrationskurven von plasma-behandelter Flüssigkeit in Abhängigkeit von der Behandlungszeit

Zusätzlich zu den laufenden Einsatzgebieten, soll der Titrator auch zur Aufklärung der chemischen Reaktionspfade bei der Behandlung von gepufferten Systemen beisteuern, da durch die Titration die effektive Pufferkapazität der Lösung bestimmt werden kann.

Durch die Anschaffung der Titrationmethode ist ein wesentlicher Beitrag des ZIK *plasmatis* bei der Beantwortung der beiden angesprochenen Fragestellungen. Damit wird das ZIK *plasmatis* seine Innovatorrolle in Hinblick auf die Flüssigkeitsanalytik weiterhin erfüllen und die bereits etablierte Anerkennung der wissenschaftlichen Gemeinschaft festigen.

Ussing Kammer zur Bestimmung von Transportprozessen durch epitheliale Barrieren

(Lfd. Nr. 15 Geräteliste Bewilligungsbescheid)

Investition: 22.451,85€

Die Technik der Ussing Kammer ermöglicht mithilfe elektrophysiologischer Messungen einen Einblick in Transportprozesse durch biologisches Gewebe (*dermal penetration*). Mithilfe dieser Methode ist das ZIK *plasmatis* in der Lage, nicht nur an Zellkulturen zu messen, sondern den Übertrag der Ergebnisse auf komplexere Real-Systeme wie Haut zu ermöglichen. Insbesondere in Kombination mit bereits eingesetzten Techniken oder der CD-Spektroskopie kann so ein Übertrag der Erkenntnisse vom physikalischen Modellsystem über Zellkultur hin zu komplexen Geweben erreicht werden.

EQP Massenspektrometersystem (Lfd. Nr. 16 Geräteliste im Bewilligungsbescheid)

Investition: 180.892,40€

Die Massenspektrometrie ermöglicht die gleichzeitige und orts aufgelöste Untersuchung der im Plasma erzeugten reaktiven Teilchen (positive bzw. neg. Ionen, neutrale Atome bzw. Moleküle). Für Messungen im Atmosphärendruck wird dabei eine spezielle Anordnung von Vakuumkammern so installiert, dass dabei ein Molekularstrahl, ausgehend von einer Öffnung zur Atmosphäre, entsteht. Ein solches Molekularstrahl-Massenspektrometer (MBMS) stellt eine mögliche Variante zur Messung aller ausreichend vorhandener Atome und Moleküle bei normalen atmosphärischen Bedingungen dar. Weiterhin kann mit dieser Plasmadiagnostikmethode die Eindiffusion der Umgebungsspezies in das aktive Plasmavolumen erforscht werden. Damit lassen sich Aussagen über den Entstehungsort von reaktiven Teilchen im Plasmaeffluenten machen, die ihren Ursprung in der Umgebungsluft haben. Messungen der Diffusion von Stickstoff und Sauerstoff in einen Argon-Plasmajet wurden bereits durchgeführt und die Ergebnisse zeigen eine sehr gute Übereinstimmung mit numerisch berechneten strömungsmechanischen Simulationen.

Mit der Realisierung eines EQP in das Massenspektrometer ist es möglich nicht nur die bereits detektierten positiven Ionen zu untersuchen, sondern auch negative geladene Teilchen mit hoher Genauigkeit sowie auch Neutralteilchen zu detektieren. Diese negativen Teilchen konnten auch schon in Flüssigkeit gemessen werden. Ein Paper zu diesen Messungen ist derzeit in Planung. Erste Ergebnisse werden auf der HAKONE, die vom 21.09.-26.09.2014 stattfindet, präsentiert.

Mit diesem EQP sollen zudem grundlegende Erkenntnisse über die Anwesenheit einzelner Spezies sowie deren Entstehungsort gewonnen werden. Zusätzlich bildet deren Dynamik, abhängig von verschiedenen Plasma- und Umgebungsparametern, eine Basis für ein chemisches Modell. Diese Möglichkeit steht nur wenigen Gruppen, welche in der Plasmamedizin tätig sind, zur Verfügung.

Simulations und Auswertetools (Lfd. Nr. 17 und 18 Geräteliste Bewilligungsbescheid)

Investitionen:

<i>MatLab mit Toolboxen (Lfd. Nr. 17)</i>	<i>26.180,00 €</i>
<i>LabVIEW-Software (Lfd. Nr. 18)</i>	<i>7.768,14€</i>

Die Matlab-Lizenz und dort insbesondere der Matlab-Compiler zusammen mit Curve-Fitting und Optimization Toolboxen werden verwendet, um ein eigenständig lauffähiges Programm zur Auswertung von Infrarot-Absorptionsspektren zu erstellen. Die Auswertung dieser Spektren hat bisher meist einen ganzen Tag in Anspruch genommen und kann nun innerhalb weniger Minuten abgeschlossen werden, was eine erhebliche Zeitersparnis für die Nutzer bedeutet. Das Programm wird von mehreren Wissenschaftlern verwendet. Der Einsatz des Compilers ermöglichte hier das Erstellen eigenständig lauffähiger Programme, ohne das jeder Wissenschaftler eine eigene, vollständige Matlab-Version benötigt.

Das grafische Programmiersystem LabVIEW, das ebenfalls über die spezifischen Investitionen angeschafft wurde, ermöglicht die Ansteuerung von Laborgeräten und das Auslesen von Messwerten. Besondere Vorteile von LabVIEW sind einerseits die einfache Handhabung, die es erlaubt auch ohne besondere Vorkenntnisse in der Programmierung komplexe Programme mit grafischer Oberfläche zu erstellen.

Quantenkaskadenlaser zur Molekularspektroskopie (Lfd. Nr. 19 Geräteliste

Bewilligungsbescheid)

Investition: 236.215,00 €

In der Plasmamedizin ist schon das Vorhandensein kleinster Mengen an reaktiven Komponenten ausschlaggebend. Besonders die molekularen Verbindungen wie NO oder Ozon sind wesentliche Komponenten. Für die zeitaufgelöste Detektion von ausgewählten Molekülen wurde die Anschaffung eines QMACS Trace Spurengasanalyzesystems der Firma Neoplas Control vorgenommen. Untersuchungen in Kooperation mit der Plasma Oberflächentechnologie am INP haben bereit herausragende und aufsehenerregende Ergebnisse geliefert. Es konnte bereits durch den möglichen Zugriff des ZIK auf das im INP vorhandene Vorläufer-Gerät eine Kooperation mit dem Forschungsinstitut GREMI in Orléans, Frankreich aufgebaut werden, zu der gemeinsam Ergebnisse auf der ICOPS Konferenz in San Francisco präsentiert wurden. Die Arbeiten sind in ein Review 2012 über die Quantenkaskadenlaserspektroskopie aufgenommen worden. Das QMACS-System ermöglicht eine hochempfindliche Gasanalyse bis zu Konzentrationsraten von ppt (parts per trillion). Es basiert auf der Infrarotabsorptionsspektroskopie in Verbindung mit einer optischen Langwegzelle, die den Nachweis kleinster Teilchenmengen ermöglicht. Mit dem neuen System können Kapazitätsproblem, aufgrund derer der Zugriff eingeschränkt ist,

gelöst werden und zwei gravierenden Nachteile behoben werden: a) ist nur eine Laserwellenlänge verwendbar gewesen, was die Untersuchung verschiedener reaktiver Komponenten gleichzeitig verhindert, und b) das Arbeiten mit gepulsten Lasern wird durch kontinuierliches Messen ersetzt, was die Sensitivität um ein Vielfaches erhöht. Das Gerät, welches für das ZIK angeschafft wurde, wurde für die Detektion von und HNO₂ und OH sowie anderer Spezies konfiguriert. Das NO₂ und das OH Molekül sind nach derzeitigem Forschungsstand für die Plasmamedizin von größtem Interesse. Die Untersuchungen können mit dem weiterentwickelten Gerät welches durch die Investitionsmittel beschafft werden konnte erweitert werden. Es ist geplant, erstmals mittels Absorptionsspektroskopie die Hydroxylradikaldichte im Plasmajet kinpen nachzuweisen. Dies unterstützt die Laserinduzierte Fluoreszenzspektroskopie.

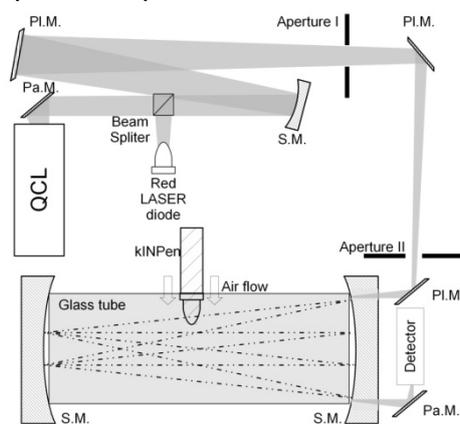


Abb. 7: Schematische Aufbau des QMACS Messsystems

Platten-FACS (Lfd. Nr. 20 Geräteliste Bewilligungsbescheid)

Investition: 78.340,38€

Der Forschungsschwerpunkt des ZIK *plasmatis* liegt in der Untersuchung der Wechselwirkungen nicht-thermaler Plasmen mit eukaryotischen Zellen. Da auf diesem Gebiet bisher nur wenig Grundlagenforschung bekannt ist, gibt es eine große Anzahl an Parametern der Plasmaquellen in vielen verschiedenen primären Zellen und Zelllinien zu erforschen. Durchflusszytometer ermöglichen die hochpräzise Untersuchung auf Einzelzellebene, was im Kern fast alle wichtigen Zellparameter betrifft. Allerdings ist bei herkömmlichen Geräten baubedingt der Probendurchsatz begrenzt. Hinzu benötigen Sie aufgrund der meist hohen Komplexität viel „hands-on“ time am Gerät, aufwendige Zu- und Abfuhr von, für die Messung notwendigen Flüssigkeiten, viel Platz und vor allem große Probenvolumina. Dies bedeutet auch, dass hohe Zellzahlen und somit auch viele Antikörper pro Probe zur Verfügung stehen müssen, was hohe Kosten und Zeitaufwand birgt. Das angeschaffte Gerät ist sehr kompakt und vollautomatisiert und kann somit auch kleine Probenvolumina aus Kavitäten von Multiwell-Platten mehr-parametrisch messen können, was einen deutlichen Vorteil bei der Aufarbeitung von klinischen Proben darstellt. Auch

dieses Gerät wird zunehmend in die Kooperationsverhandlungen und Ethikanträge eingehen, und stellt einen wesentlichen Vorteil dar.

Plasmacleaner (Lfd. Nr. 21 Geräteliste Bewilligungsbescheid)

Investition: 9.866,41€

Der im Rahmen der „Spezifischen Geräteinvestition“ bewilligte PlasmaCleaner wurde für die Liposom- und Bilayerpräparation etabliert. Dabei wird nicht nur die reinigende und oberflächenaktivierende Eigenschaft des Plasmas ausgenutzt, um die hydrophilen Lipidkopfguppen am sogenannten solid-support zu binden, sondern auch zur Verdunstung der bei der Präparation anfallenden organischen apolaren Lösungsmittel. Nur dadurch ist gewährleistet, dass die präparierten Lipid-Modellmembranen reproduzierbare und als Modellsystem verwendet werden können.

XYZ-Stage (Lfd. Nr. 22 Geräteliste Bewilligungsbescheid)

Investition: 17.782,46€

Im Rahmen der Geräteinvestition wurden zwei XYZ-Stages angeschafft, die in den Laboren für definierte und standardisierte Kontrollmessungen an den Flüssigkeitsbehandlungsplätzen installiert wurden. Mit Hilfe dieser XYZ-Stages können exakten und reproduzierbaren Positionierung der Messköpfe bzw. von Lichtleitern erreicht werden, die zur optischen Diagnostik der Gasphase, insbesondere von orts aufgelösten Messungen, notwendig sind. Damit kann die Unverändertheit des Plasmas nicht nur über einen langen Zeitraum kontrolliert werden, sondern auch die Vergleichbarkeit der Ergebnisse von verschiedenen Behandlungen gewährleistet werden.

Fahrtisch (Lfd. Nr. 23 Geräteliste Bewilligungsbescheid)

Investition: 3.264,77

Zur Steigerung der Forschungseffizienz war die Erweiterung der Plasmabehandlungsplätze von Flüssigkeiten notwendig. Um eine identische reproduzierbare Behandlung sicherstellen zu können, musste der Aufbau identisch zu dem bereits bestehenden erfolgen. Aus diesem Grund wurde ein weiterer Fahrtisch (lfd. Nr. 23) über die „Strategische Geräteinvestition“ angeschafft. Der bereits bestehende Aufbau mit einer automatisierten und definierten Bewegung des Plasmajets mithilfe eines Fahrtisches hat sich in der Vergangenheit bewährt, so dass ein identischer Aufbau vorgenommen wurde, um die Vergleichbarkeit und somit die Qualität der Experimente gewährleisten zu können.

Origin (Lfd. Nr. 24 Geräteliste Bewilligungsbescheid)

Investition: 5.258,27€

Im ZIK *plasmatis* wird Origin zur Auswertung und publizierbaren Darstellung von Messdaten genutzt. Die Software Origin erfüllt die gestellten Anforderungen besonders gut und ist daher auch eine standardmäßige Auswerte- und Darstellungssoftware. Um den Datenaustausch mit Kooperationspartnern zu ermöglichen, war das ZIK auf die aktuelle Origin Version angewiesen.

USB Spektrograph (Lfd. Nr. 25 Geräteliste Bewilligungsbescheid)

Investition: 11.775,88€

Für in-situ optische Emissionsspektroskopie (OES) Untersuchungen während der Behandlung von Biomaterie und für Spezialaufgaben wie der N₂-Temperaturbestimmung, OH-Rotationsbandenmessung, H_β-Linienverbreiterung und orts aufgelöste Detektion angeregter Spezies wurden bereits Spektrographen angeschafft. Dieser Spektrograph kann mit dem Anschluss von optischen Fasern und entsprechenden Glasküvetten ebenso zur spektroskopischen Untersuchung von behandelten Flüssigkeiten eingesetzt werden. Da dies ein sehr wichtiges Forschungsfeld des ZIK *plasmatis* darstellt und derzeit viele Versuche parallel ablaufen, ist die Anschaffung eines weiteren USB-Spektrographen notwendig geworden. Durch einen zusätzlichen Versuchsaufbau wird es möglich, in kürzerer Zeit größere Datenmengen zu produzieren.

Glove-Box (Lfd. Nr. 26 Geräteliste Bewilligungsbescheid)

Investition: 7.973,00€

Das Stickstoffmonoxid-Radikal ($\bullet\text{NO}$) spielt eine wichtige Rolle im menschlichen Organismus, insbesondere in der Zellkommunikation, da es ein wichtiges Signalmolekül ist. Daher ist die Detektion und Quantifizierung von Stickstoffmonoxid-Radikalen ($\bullet\text{NO}$) für die Plasmamedizin von großer Bedeutung. Die einzige Möglichkeit dieses Radikal in biologisch relevanten Flüssigkeiten qualitativ und quantitative nachzuweisen ist die Elektron Paramagnetische Resonanz (EPR) Spektroskopie. Diese Methode ist im ZIK *plasmatis* vorhanden und schafft somit die Grundvoraussetzung für die Detektion von Stickstoffmonoxid-Radikalen auch in der flüssigen Phase. Auf Grund der geringen Lebensdauer ($< 1\text{s}$) dieser reaktiven Spezies in polaren Flüssigkeiten bei Raumtemperatur unter Luftatmosphäre ist eine Stabilisierung mittels sogenannter Spin Traps notwendig. Der

für Stickstoffmonoxid-Radikale benötigte Spin Trap ist jedoch sehr empfindlich bezüglich des Gehalts von gelöstem Sauerstoff in der Flüssigkeit, so dass der Erfolg einer •NO-Detektion und Quantifizierung deutlich von der Umgebung, in der dieser Versuch durchgeführt wird, abhängt. Erst die Anschaffung einer Glove-Box (Lfd. Nr. 26) ermöglicht der Arbeitsgruppe „Extrazelluläre Effekte“ eine solche Detektion. Denn nur in der Glove-Box ist das Arbeiten mit dem Spin Trap unter sauerstofffreier Atmosphäre gewährleistet. Zudem bietet sie auch für andere darin durchgeführte Experimente einen zusätzlichen Schutz vor anderen Einflüssen wie Feuchtigkeit und ermöglicht das Arbeiten unter verschiedensten kontrollierten Gas-Atmosphären. Ergebnisse, die im Rahmen der Arbeit innerhalb der Glove-Box entstehen werden in 2014 in Papern veröffentlicht und auf Tagungen präsentiert.

Erweiterung LC (zu Gerät Nr. 2) (Lfd. Nr. 27 Geräteliste Bewilligungsbescheid)

Investition: 9.923,84€

Diese Anschaffung ermöglicht die verbesserte Trennung von hochkomplexen Stoffgemischen, wie sie oft im Proteomics-Bereich auftreten. Flaschenhals bei der Identifizierung von Proteinen aus den zu untersuchenden Materialien ist meist deren Ko-Elution von der LC-Säule. Um dieses Problem zu reduzieren, kann eine stufenartige Auftrennung unter Verwendung von 2 getrennt geschalteten LC-Säulen angewendet werden. Um dies zu ermöglichen wurden dem bestehenden LC-System einige Komponenten (ein zusätzliches Ventil, Kapillaren, etc.) zugefügt. Dies wurde durch die Lfd. Nr. 27 realisiert, was die Nutzung der HPLC / MS weiter optimiert. So kann die Hochleistungs-MS (QExactive) noch besser ausgenutzt werden und der Einfluss von Plasmen auf eukaryotische Zellen, insbesondere die direkte Beeinflussung der zellulären Proteine, kann effizienter untersucht werden.

CytoSpin (Lfd. Nr. 28 Geräteliste Bewilligungsbescheid)

Investition: 9.038,05€

Mikroskopie wird im Regelfall mit Zellen durchgeführt, die auf einer für die Mikroskopie geeigneten Oberfläche, wie beispielsweise Glasobjektträgern, adhären. Die Fähigkeit der Adhärenz besitzen jedoch Zellen des Immunsystems, die in unserem Labor aus Spenderblut aufgereinigt oder als Zelllinien untersucht werden, je nach Zelltyp nicht oder nur im eingeschränkten Umfang. Dieser Umstand erschwert die Lebendzell-Mikroskopie solcher Zellen erheblich, da diese durch Brownsche Molekularbewegung und Flüssigkeitskonvektion ständig in Bewegung und damit schwierig zu fokussieren sind. Um diesem Problem entgegenzuwirken, wird seit vier Jahrzehnten in Immunologie, Hämatologie und Onkologie die „CytoSpin“ Zentrifugation als Goldstandard-Technik angewandt. Mit der Anschaffung des CytoSpin (Lfd. Nr. 28) ist uns die Arbeit mit nichtadhärierenden Zellen ermöglicht worden. So ist es uns möglich, in Echtzeit den Wirkort plasma-spezifischer Oxidantien in lebenden

Zellen des Immunsystems zu untersuchen und damit das umfangreiche Mikroskopie-Potential des ZIK *plasmatis* intensiver auszunutzen.

II.2 Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Mit der Gesamtsumme von 2.499.899,67€ wurde die bewilligte Summe um 4.739,67€ überschritten. Diese Differenz wird von der Trägerorganisation, dem INP Greifswald getragen.

Im Rahmen der Ausschreibungen konnten einige Geräte zu einem wesentlich günstigeren Preis angeschafft werden, als ursprünglich geplant war. Das führte dazu, dass im Zuge des Bewilligungszeitraums zwei Änderungsanträge gestellt wurden, in denen weitere Geräte beantragt und bewilligt wurden. (Auflistung dieser Geräte ist der Zusammenfassung zu entnehmen) Im Wesentlichen waren der Cell Sorter und das Platten-Facs günstiger als ursprünglich geplant. Nach eingehenden Preisrecherchen wurde der Cell Sorter auf 901.969,00€ geschätzt, wurde uns aber im Rahmen eines Offenen Verfahrens (Ausschreibung gemäß VOL/A erfolgt) zu einem Preis von 723.731,82€ angeboten. Das Platten-FACS wurde für 78.340,38 € angeschafft. Ursprünglich waren für dieses Gerät 117.791,98 € eingeplant.

Begründungen für Lieferverzögerungen

Bei einigen Geräten kam es zu unerwarteten Lieferverzögerungen, die im Folgenden begründet werden. Folgende Geräte konnten nicht wie geplant fristgerecht geliefert werden:

- DBD Klimakammer (Lfd. Nr. 9), Lieferant – neoplas GmbH
- Mikrowellenentladung – Vergleichsquelle 2 (Lfd. Nr. 12), Lieferant – Aurion GmbH
- Multifrequenz Leistungs- und Phasensonde (Lfd. Nr. 7), Lieferant – Impedans
- QMACS-System (Lfd. Nr. 19), Lieferant – neoplas control GmbH

Die DBD Klimakammer wurde am 14.02.2014 geliefert. Die Lieferverzögerung führte allerdings zu keinen Beeinträchtigungen unserer Forschung, da wir von der neoplas GmbH ein Leihgerät zur Verfügung gestellt bekommen haben. Dieses wurde dann mit der Lieferung der eigenen DBD an die neoplas GmbH zurückgegeben. (Leihvertrag wird als Anlage beigefügt)

Die Mikrowellenentladung – Vergleichsquelle 2 wurde am 18.02.2014 geliefert. Hier kam es zu Lieferverzögerungen seitens des Herstellers. Die Bestellung dieser Vergleichsquelle wurde am 6.11.2013 ausgelöst. Allerdings konnte der Hersteller die vereinbarte Lieferzeit von 8 Wochen nicht halten. Diese Lieferverzögerung führte nicht zu negativen Beeinflussungen unseres Arbeits- und Zeitplans. Da die Vergleichsquelle 1 von der neoplas GmbH bereits im Dezember geliefert wurde, konnten erste Messungen mit dieser Quelle erfolgen. Es konnten bereits Erfahrungen mit der Plasmaquelle gemacht werden. Die ersten

Vergleichsmessungen mit der zweiten Quelle können im Anschluss an die Messungen mit der Quelle 1 erfolgen.

Multifrequenz Leistungs- und Phasensonde wurde am 23.08.2013 bei der Firma Impedans in Auftrag gegeben. Die vereinbarte Lieferzeit konnte seitens der Firma Impedans nicht gehalten werden, da es sich um eine komplette Neuentwicklung handelt. Das Gerät konnte aber schon an einem kinpen, der der Firma zur Verfügung stand, getestet werden, so dass diese Phase im INP entfällt und in die Installation des Gerätes vor Ort integriert wurde. Dies hat eine Zeitersparnis von mehreren Wochen zur Folge. Eine rechtzeitige Teillieferung ermöglichte bereits einige Messungen bezüglich der in die Plasmen eingekoppelten Leistung durchzuführen. Parallel dazu konnte aus den gewonnenen Daten und in einem analytischen Ansatz auf die Elektronendichten und die Ionendichten im Plasma zugegriffen werden, sodass ein besseres theoretisches Verständnis erlangt wurde. Mit der Lieferung des Gerätes können diese theoretischen Auswertungen überprüft werden. Das Wissen wird in Publikationen verwertet werden.

Das QMACS-System der neoplas control GmbH wurde am 08.10.2013 nach einer Ausschreibung gemäß VOL/A bestellt. Die vereinbarte Lieferung im Dezember 2013 konnte nicht gehalten werden. Eine Begründung der Firma neoplas control GmbH für die Lieferverzögerung liegt dem Abschlussbericht bei. Parallel dazu konnten erste Testmessungen an OH in UV-Absorption initiiert werden, sowie NO₂-Messungen an Geräten der Firma Neoplas durchgeführt werden. Durch Simulationen und durch molekularstrahlmassenspektrometrische Messungen in Kooperation mit der TU Eindhoven konnte ein Bezug zu der orts aufgelösten NO₂-Dichte hergestellt werden und Erzeugungsparameter vorgezogen untersucht werden. Diese Messungen werden mit den QMACS-Messungen abgeglichen, so dass die Untersuchungen am ZIK *plasmatis* keine Verzögerung erreicht haben.

II.3 Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Für eine Vielzahl an Fragestellungen, die während der Projektlaufzeit identifiziert wurden, war die Anschaffung neuester Messmethoden notwendig, die zum Zeitpunkt der Ersteinrichtung in dieser Art noch gar nicht auf dem Markt waren. Zudem bekommen wir wöchentlich Proben aus den Kliniken in unsere Labore, die mit den neuen Geräten schneller und genauer analysiert werden könnten. Hinzu kommt, dass seit des Beginns des ZIK *plasmatis* wesentliche Fortschritte in der Rechentechnik sowie in der Massenspektrometrie gemacht wurden, so dass die entsprechenden Geräte, die vor drei bzw. vier Jahren angeschafft wurden heute nicht mehr Stand der Technik sind. Die neuesten Generationen können eine um Größenordnungen präzisere Analyse in wesentlich kürzeren Zeitabständen gewährleisten. Sowohl Datenvolumen als auch die dazwischen liegende Zeit zwischen mehreren Messpunkten sind aber in der Plasmadiagnostik wie auch in der Molekularbiologie speziell im Zell-Signalling von entscheidender Bedeutung. Somit stellen neben der größeren

und komplexeren Datenmenge die von klinischen Proben zu erwarten sind auch die technische Entwicklung ein wesentliches Kriterium dar. Um die Themenführerschaft des Projekts für die Zukunft zu sichern, musste die Geräteausstattung im Zuge der wissenschaftlich-technischen Neu- und Weiterentwicklung angepasst und modernisiert werden. Die Charakterisierung der Plasmaquellen konnte durch die Aufwertung der Gerätschaften erheblich verbessert werden, sodass weiterhin „state of the art“ Messungen durchgeführt werden können. Dadurch kann die Wettbewerbsfähigkeit des Projekts erhalten bzw. weiter gesteigert werden und die Anbahnung von weiteren Kooperationen wird erleichtert. Die mit den modernen Geräten erhobenen Daten haben zudem eine größere Wahrscheinlichkeit in international hoch angesehenen Journalen veröffentlicht zu werden. Die Vielfalt zu lösender Fragestellungen sowie deren hohe Komplexität bedingt, immer wieder neue Lösungsansätze zu untersuchen. Der damit und mit dem grundsätzlichen Anspruch an ein Zentrum für Innovationskompetenz verbundene hohe Aufwand an modernster gerätetechnischer Ausstattung ist von den die *plasmatis*-Strategie verantwortenden Einzelinstitutionen nicht zu realisieren. Zudem ist keines der über die „Strategische Geräteinvestition“ angeschafften Geräte der Grundausstattung zuzuordnen. Daher war für die nachhaltige Umsetzung des *plasmatis*-Strategiekonzeptes die beantragte strategische Geräteinvestition zwingend notwendig.

II.4 Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere Verwertbarkeit des Ergebnisses

Die unmittelbare Verwertung der Ergebnisse des Vorhabens „Strategische Geräteinvestitionen“ erfolgt im Rahmen der Arbeit des ZIK *plasmatis*.

In Zusammenarbeit mit Industrie und Krankenhäusern und den ehemaligen Partnern des Campus PlasmaMed, insbesondere dem INP können aus den Forschungsergebnissen des ZIK *plasmatis* innovative Behandlungsmethoden und Geräte perspektivisch kommerziell entwickelt werden. Wichtige Eingaben durch das ZIK *plasmatis* konnten dazu beitragen, dass der kinpen MED dem Ziel der Zulassung als Medizinprodukt erheblich näher gekommen ist. Prinzipiell sind Anwendungen der Plasmamedizin für fast den gesamten medizinischen Bereich denkbar, wobei allein aus dem *plasmatis*-Konzept sich neben der Wundheilung auch Untersuchungen zur Behandlung von Hautkrankheiten (Neurodermitis, Schuppenflechte, etc.) aber auch Hautkrebs ableiten lassen. Aufgrund von Aktualität und Umfang des Forschungsfeldes werden zum Ende des Projektzeitraums neben wegweisenden Resultaten auch eine Reihe von richtungsweisenden Fragestellungen aufgestellt werden können, mit denen die Grundlagenforschung im Bereich der Plasmamedizin weiterzuführen ist.

Ein großes Marktpotenzial ist eindeutig gegeben: Plasmabehandlung wird helfen, die finanzielle Last mehrerer Milliarden Euro, die allein in Deutschland für die Behandlung von Wunden aufgewendet werden, zu reduzieren. Durch den Grad der Vernetzung, die *plasmatis*

bereits erreicht hat, ist eine wirtschaftliche Perspektive auch durch Einbindung in Europäische Strukturen sehr aussichtsreich.

Die Standardisierung der Plasmaquellen und die eingehende Untersuchung derselben aus plasmaphysikalischer, chemischer, biochemischer und medizinischer Sicht stellt das ZIK *plasmatis* weltweit an die erste Stelle bei der Erforschung der Plasmamedizin. Die Nachwuchsgruppenleiter nehmen bereits eine Position mit an der Spitze der Forschung ein und Forschergruppen weltweit suchen den Kontakt zur Forschung in Greifswald. Wesentlich sind hier Beiträge im Bereich der standardisierten Untersuchung der Plasmaquellen, aber auch der Einbindung kommerzialisierter Plasmaquellen in die Forschung und damit die Verknüpfung von klinischem Alltag mit der Grundlagenforschung in der Plasmamedizin. Hier hat sich die enge Zusammenarbeit des ZIK *plasmatis* mit dem Campus PlasmaMed bewährt.

Die Aktualisierung und Erweiterung des Gerätestandards des ZIK *plasmatis* ist Voraussetzung dafür, die Vorreiterrolle des ZIKs zu erhalten und auszuweiten. Das Konzept der intensiven und engen Zusammenarbeit von Physikern, Biologen, Pharmazeuten, Medizinern und Biophysikern trägt dazu bei, für die Plasmamedizin die notwendige Kommunikationsbasis zu schaffen.

Durch den Gerätestandard und die wissenschaftliche Ausrichtung des ZIKs konnten bereits Kooperationen mit anderen wichtigen Forschungszentren, wie z.B. der UC-Berkeley, der École Polytechnique Paris, der Université d'Orléans, der TU Prag und der Masaryk University Brno etabliert werden.

Diese Kooperationen können durch die beantragten Investitionen weiter gefestigt und neue Kooperationen aufgebaut werden.

Das ZIK *plasmatis* arbeitet intensiv mit der Quellenentwicklung des INP sowie mit verschiedenen KMUs zusammen und hat in diesem Zusammenhang mehrere Weiterentwicklungen bereits existierender Plasmaquellen angestoßen. Nicht zuletzt die im ZIK *plasmatis* verwendete Plasmaquelle, der kinpen, wurde vor dem Hintergrund der Erkenntnisse von *plasmatis* bereits mehrfach angepasst und weiterentwickelt. Zudem sind konkrete Patentanmeldungen in Vorbereitung.

Die im *plasmatis*-Zentrum konsequent bis in die detaillierte Arbeitsplanung und technische Ausstattung umgesetzte einmalige und bisher so nirgendwo vorhandene unmittelbare Kombination von Kompetenzen aus den Bereichen Plasmaforschung und Lebenswissenschaften manifestiert die Alleinstellung des ZIK *plasmatis* nachhaltig. Die auf diesem Hintergrund auch bereits in Kooperationsanfragen, Wissenschaftlertausch und Konferenzen gezeigte zusätzliche Sogwirkung auf den wissenschaftlichen Nachwuchs und damit verbundene internationale Ausstrahlung des ZIK *plasmatis* leistet einen wichtigen Beitrag zur mittelfristigen Tragfähigkeit der *plasmatis*-Forschungskonzeption, die eine exzellente und international wettbewerbsfähige Forschung ermöglicht. Die daraus resultierende Innovationskraft und Solidität der Grundlagenforschungsergebnisse trägt auch

zur "Innovationskompetenz" von *plasmatis* bei, d.h. zur Fähigkeit des Forschungszentrums, Forschungsergebnisse in die Wirtschaft zu transferieren.

Die zu erwartenden Ergebnisse, die sich aus den neuen Investitionen ergeben, werden langfristig die Themenführerschaft des ZIK *plasmatis* auf dem Gebiet der Plasmamedizin sicher stellen, und dazu beitragen weitere Felder zu erschließen. Ein wesentliches Alleinstellungsmerkmal von *plasmatis* ist die interdisziplinäre Grundlagenforschung auf höchstem internationalem Niveau. Dies ist nicht zuletzt der hervorragenden Ausstattung mit „state-of-the-art“ Geräten zu verdanken, die in so einer Kombination aus physikalischen und molekularbiologischen Diagnostiken weltweit in keinem anderen Institut vergleichbarer Größe zu finden sind.

II.5 Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Ebenfalls starke Forschungsgruppen im internationalen Umfeld sind die Drexel University Philadelphia, USA und die Université d'Orléans, Frankreich. Des Weiteren wurden Forschungszentren in Bochum und in Whuan aufgebaut, die sich ebenfalls dem Thema Plasmamedizin widmen. Ein Besuch in Whuan hat gezeigt, dass diese Arbeitsgruppe weder über die technische Ausstattung des ZIK verfügt noch können sie von einer unmittelbaren Zusammenarbeit profitieren, die dem ZIK *plasmatis* durch die räumliche Nähe beider Arbeitsgruppen zueinander gegeben ist. In diesen Einrichtungen werden einzelne Aspekte der Aufklärung von Mechanismen von Plasma-Zell-Wechselwirkungen bearbeitet. Es ist jedoch nach wie vor festzustellen, dass das solide auf eine umfassende Grundlagenforschung ausgerichtete ZIK *plasmatis* hinsichtlich seiner Forschungskonzeption und Ausstattung bisher weitestgehend konkurrenzlos ist. Diese Alleinstellung wurde durch das Vorhaben „Strategische Investitionen zur nachhaltigen Etablierung des ZIK *plasmatis*“ weiter gestärkt. Es sei jedoch angemerkt, dass in Teilaspekten viele der internationalen Mitbewerber sehr gute Ergebnisse erzielen, dass diese aber nicht wie im ZIK *plasmatis* den gesamten Bereich vom Plasma über die Gas- und Flüssigkeitsphase bis hin zur Zelle abdecken.

II.6 Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen des Ergebnisses

Ergebnisse, die unter Zuhilfenahme der neu etablierten Methoden im ZIK *plasmatis* entstehen, werden in referierten Artikeln in Fachzeitschriften veröffentlicht. Viele der ersten Ergebnisse fließen in die Präsentationen anlässlich der ICPM5, und werden somit erstmals

einem größeren internationalem Publikum vorgestellt. Folgende konkrete Veröffentlichungen sind bereits in Planung:

- "Tracking plasma generated H₂O₂ from gas into liquid phase and revealing its dominant impact on human skin cells", J. Winter, H. Tresp, M. U. Hammer, S. Iseni, S. Kupsch, A. Schmidt-Bleker, K. Wende, M. Dünbier, K. Masur, K.-D. Weltmann, and S. Reuter, in: J. Phys. D: Appl. Phys., under review (2014).
- "Non-Dispersive Path Mapping Approximation for the Analysis of Ambient Species Diffusion in Laminar Jets", A. Schmidt-Bleker, S. Reuter, and K.-D. Weltmann, in: 2014 (2014).
- "Negative Ions in an Atmospheric Pressure Argon Plasma Jet", D. Mario, S. Reuter, M. Wolfram, and K.-D. Weltmann, in: Plasma Medicine (2014).

Zudem werden wir die Ergebnisse einem internationalen Publikum auf verschiedenen Tagungen präsentieren. So werden beispielsweise die Ergebnisse, die mit dem Capillary-based Nanoimmunoassay erzielt werden konnten, auf einem Anwendertreffen in Paris präsentiert.

Die Daten, die mittels des EQP Massenspektrometers (Lfd. Nr. 16) erzielt wurden und weiter erhoben werden, werden auf der HAKONE präsentiert.

Anlage 2 - Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) Schlussbericht
3. Titel „Strategische Investition zur nachhaltigen Etablierung des ZIK plasmatis“	
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] Weltmann, Klaus-Dieter Reuter, Stephan Matur, Kai	5. Abschlussdatum des Vorhabens 31.01.2014
	6. Veröffentlichungsdatum 30.04.2014
	7. Form der Publikation Schlussbericht
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) Leibniz-Institut für Plasmaforschung und Technologie e.V. (INP Greifswald) Felix-Hausdorff-Str. 2 17489 Greifswald	9. Ber. Nr. Durchführende Institution
	10. Förderkennzeichen 03Z2DS1
	11. Seitenzahl 37
12. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	13. Literaturangaben
	14. Tabellen
	15. Abbildungen 7
16. Zusätzliche Angaben	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum) Projektträger Jülich, Forschungszentrum Jülich GmbH, Zimmerstr. 26-27, 10969 Berlin Technische Informationsbibliothek, Deutsche Forschungsberichte, Welfengarten 1B, 30167 Hannover	
18. Kurzfassung Das Greifswalder ZIK <i>plasmatis</i> untersucht die Beeinflussung des Wachstums und der Vitalität von unterschiedlichen Zellen unter Anwendung verschiedener Plasmaquellen. Um die Themenführerschaft des Projekts für die Zukunft zu sichern und um die Forschung weiter in Richtung klinische Anwendung bringen zu können, musste die bereits etablierte Geräteausstattung im Zuge der wissenschaftlich-technischen Neu- und Weiterentwicklung angepasst und modernisiert werden, was durch die „Strategische Geräteinvestition zur nachhaltigen Etablierung des ZIK plasmatis“ realisiert werden konnte. Folgende Geräte, die über dieses Vorhaben angeschafft wurden, führen mit dem Gerätepark der Nachwuchsforschergruppe „Zelluläre Effekte“ und der Nachwuchsforschergruppe „Extrazelluläre Effekte“ zu einem weltweit einzigartigen Methodenspektrum: Cell sorter (Nr. 1), Metabolomic & Lipidomic Analyzer (Nr. 2), Capillary-based Nanoimmunoassay System (Nr.3), Imaging Spektrometer (Nr. 4), FTIR Spektrometer (Nr. 5), Messkammer FTIR (Nr. 6), Multifrequenz- Leistung u. Phasen-Sonde (Nr. 7), Oszilloskope (7 Stck.) (Nr. 8), DBD (Nr. 9), Kinpen Sci (5 Stck.) (Nr. 10), Modifizierte Mikrowellenquelle – VQ 1 (Nr. 11), Mikrowellenentladung – VQ 2 (Nr. 12), Pulsgenerator (Nr. 13), RedOx Titrationssystem (Nr. 14), Ussing Kammer (Nr. 15), EQP Massenspektrometer (Nr. 16), MatLab Lizenzen (Nr. 17), LabView (Nr.18), Q-MACS Messsystem (Nr. 19), Platten-Facs (Nr. 20), Plasmacleaner (Nr. 21), XYZ-Stages (2Stck.) (Nr. 22), Fahrtisch CNC (Nr. 23), Origin 9 (Nr. 24), USB Spektrometer (Nr. 25), Glovebox (Nr. 26), Up-grade HPLC-System (Nr. 27), CytoSpin (Nr. 28) Insgesamt wurden 2.499.899,67 EUR investiert. Die strategischen Investitionen wurde entsprechend dem Förderantrag und den zugestimmten Umwidmungen durchgeführt.	
19. Schlagwörter Plasmamedizin, Plasmatechnologie, Wundheilung, Plasma-Zell-Wechselwirkung	
20. Verlag	21. Preis

Anlage 3 - Document Control Sheet

1. ISBN or ISSN	2. type of document (e.g. report, publication) Final report
3. title „Strategic investment to a sustainable establishment of ZIK plasmatis“	
4. author(s) (family name, first name(s)) Weltmann, Klaus-Dieter Reuter, Stephan Masur, Kai	5. end of project 01/31/2014
	6. publication date 04/30/2014
	7. form of publication Final report
8. performing organization(s) (name, address) Leibniz Institute for Plasma Science and Technology Felix-Hausdorff-Str. 2 17489 Greifswald Germany	9. originator's report no.
	10. reference no. 03Z2DS1
	11. no. of pages 37
12. sponsoring agency (name, address) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF)/ Federal Ministry of Education and Research 53170 Bonn	13. no. of references
	14. no. of tables
	15. no. of figures 7
16. supplementary notes	
17. presented at (title, place, date)	
18. abstract The ZIK plasmatis investigates the influence of different plasmas generated by diverse plasma sources on a broad range of cell activities (cell growth, cell vitality, signalling, protein expression, gene activation etc.). In addition to well-established methods and basic equipment it was essential to purchase high performance equipment in order to ensure innovative research at a high level and to be able to focus the research more to the clinical approach. Especially the new devices were needed to handle more complex samples and to analyze those more detailed than it would be possible with the methods and machines already existing in the ZIK plasmatis. This was realized by “strategic investment to a sustainable establishment of ZIK plasmatis” (ref. no.: 03Z2DS1). The combination of the strategic investments and the equipment of the junior research groups „cellular effects“ and “extracellular effects” allowed to establish a worldwide unique spectrum of physical and cell-biological methods. The following strategic equipment was purchased: Cell sorter (no. 1), Metabolomic & Lipidomic Analyzer (no. 2), Capillary-based nanoimmunoassay system (no.3), Imaging spectrometer (no. 4), FTIR spectrometer (no. 5), FTIR measuring chamber (no. 6), probe (no. 7), Oscilloscopes (7 pcs) (no. 8), DBD (no. 9), Kinpen sci (5 pcs) (no. 10), microwave source 1 (no. 11), microwave source 2 (no. 12), pulse generator (no. 13), RedOx Titration system (no. 14), Ussing chamber (no. 15), EQP Mass spectrometer (no. 16), MatLab licences (no. 17), LabView (no.18), Q-MACS system (no. 19), Pannel FACS (no. 20), Plasmacleaner (no. 21), XYZ-Stages (2Stck.) (no. 22), Moving table (no. 23), Origin 9 (no. 24), USB spectrometer (no. 25), Glovebox (no. 26), Up-grade HPLC system (no. 27), CytoSpin (no. 28) The capital expenditure amounts to a total of <u>€2,499,899.67</u> . The strategic equipment investments to a sustainable establishment of ZIK plasmatis were realized according to the funding application and agreed rededications.	
19. keywords Plasma medicine, plasma technology, plasma cell interactions, wound healing	
20. publisher	21. price