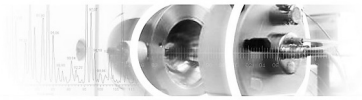


vědecko-servisní skupina
HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

M I N I Š K O L A H M O T N O S T N Í

S P E K T R O M E T R I E

19.-21. listopadu 2007

Proč “Miniškola MS” ?

Informace pro uživatele

- o službách poskytovaných skupinou MS
- o tom, jaká data a jak měříme
- o tom, jak spektra správně interpretovat

Zaškolení – samoobslužná měření

- GC/MS
- LC/MS (ESI-MS)

Diskuse

- budoucí podoba MS servisu, náměty, připomínky

Program "Miniškoly"

19. listopadu 2007 – pondělí

Dopoledne: Přednášky (velká zasedací síň ÚOCHB)

9.00 – 9.30 Zahájení. Servisní služby poskytované skupinou MS. (J. Cvačka)
9.35 – 10.00 Základy hmotnostní spektrometrie. (J. Cvačka)
10.05 – 10.30 Příprava iontů: Iontové zdroje, spojení GC/MS a LC/MS. (M. Šanda)

10.30 – 11.00 přestávka na kávu

11.05 – 11.30 Analýza a detekce iontů: Hmotnostní analyzátory a detektory. (V. Vrkoslav)
11.35 – 12.00 Software pro ovládání GC/MS a vyhodnocení dat. (V. Vrkoslav)

Odpolední blok: Zaškolení s GC/MS systémem (budova A, příz. SV, místnost 107)

13.30 – 17.55 Školení ve skupinách (max. 5 účastníků, doba trvání 45 min).

Program "Miniškoly"

20. listopadu 2007- úterý

Dopolední blok: Přednášky (velká zasedací síň ÚOCHB)

9.00 – 9.30 Přístroje ve skupině MS, jejich možnosti a oblast využití. (V. Vrkoslav)
9.35 – 10.15 Interpretace spekter malých molekul (EI, ESI, APCI, FAB). (J. Cvačka)

10.15 – 10.45 přestávka na kávu

10.50 – 11.30 Interpretace spekter biomolekul (ionizace nanoESI, MALDI). (M. Šanda)
11.35 – 12.00 Software pro ovládání LC/MS a vyhodnocení dat. (M. Šanda)

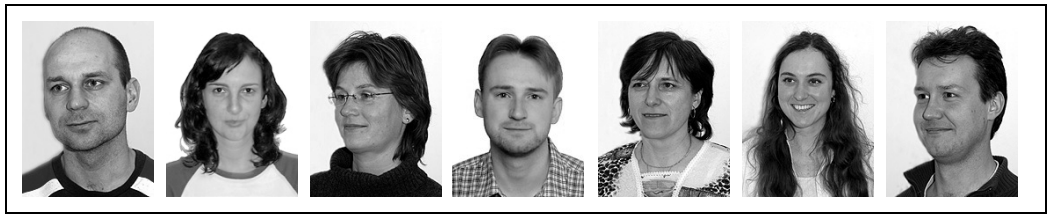
Odpolední blok:
Zaškolení s LC/MS systémem (budova A, příz. LS, místnost 53)
13.30 – 18.00 Školení (LC/MS) ve skupinách (max. 6 účastníků, doba trvání 30 min).
Zaškolení s GC/MS systémem (budova A, příz. SV, místnost 107)
13.30 – 17.55 Školení (GC/MS) ve skupinách (max. 5 účastníků, doba trvání 45 min).

Program “Miniškoly”

21. listopadu 2007- středa

Zaškolení s GC/MS a LC/MS systémem

Vědecko-servisní skupina MS



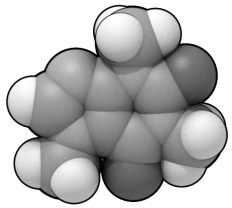
Výzkum:

- strukturní charakterizace a identifikace organických sloučenin - přírodní látky, lipidy, peptidy, proteiny, syntetické produkty
- vývoj nových GC/MS a LC/MS metod, matrice pro MALDI analýzu, MALDI imaging
- vývoj software pro automatickou interpretaci MS spekter

Servis:

- rutinní měření spekter zakázkovým způsobem
- zajištění provozu přístrojů pro samoobslužná měření

Servisní služby – “malé molekuly”



Měření MS spekter při nízkém rozlišení

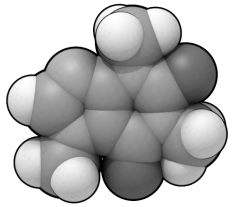
molekulová hmotnost
fragmentace molekuly (elektronová ionizace)

Měření MS spekter při vysokém rozlišení

přesná hmotnost - elementární složení

cíl analýzy: → *potvrzení / vyvrácení očekávané struktury*
cíl analýzy: → *návrh struktury (alespoň částečný)*

Servisní služby – “malé molekuly”



GC/MS analýza směsných vzorků (nízké rozlišení)

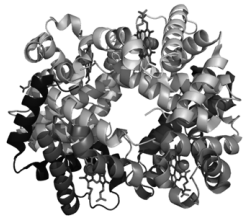
molekulové hmotnosti složek směsi
fragmentace molekul, srovnání spekter s knihovnou

LC/MS analýza směsných vzorků (nízké rozlišení)
(*provádíme v omezené míře kvůli časové náročnosti,vyžadujeme optimalizované HPLC podmínky a vlastní kolonu*)

molekulové hmotnosti složek směsi

cíl analýzy: *charakterizace složek směsi*

Servisní služby – “bio(makro) molekuly”



Měření MS spekter při nízkém rozlišení

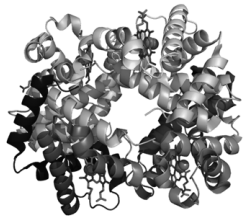
určení molekulové hmotnosti proteinů, oligonukleotidů

Peptidové mapování pomocí MALDI
(po domluvě, *vyžadujeme čistý protein, izolovaný pomocí PAGE, HPLC apod*)

určení molekulové hmotnosti peptidů po tryptickém štěpení, prohledávání databází

cíl analýzy: identifikace proteinu, určení molekulové hmotnosti

Servisní služby – “bio(makro) molekuly”

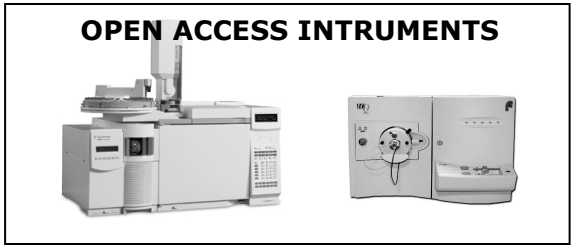


Identifikace proteinů pomocí ESI-MS/MS
(po domluvě, *provádíme v omezené míře, vyžadujeme čistý protein, izolovaný pomocí PAGE, HPLC apod*)

určení molekulové hmotnosti peptidů po tryptickém štěpení, MS/MS fragmentace

cíl analýzy: identifikace proteinu

Samoobslužný servis



Dostupnost přístrojů:

pokud nejsou obsazeny standardním MS servisem

GC/MS – samostatná místnost, přístup 24 hodin denně

LC/MS – běžná laboratoř, přístup jen v pracovních hodinách

Oprávněné osoby:

- *kdokoliv po zaškolení pracovníkem MS*
- *při hrubém porušení pravidel používání přístroje může být právo odejmuto*

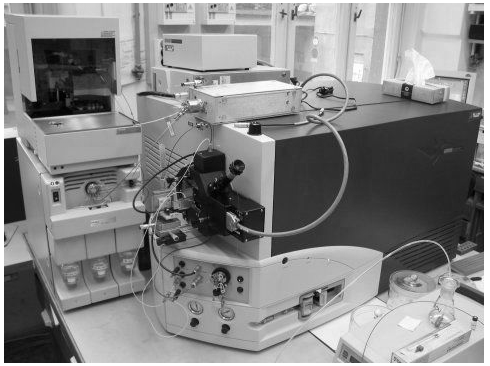
Důležitá upozornění:

- *každý měřený vzorek musí být zaevidován (sešit u přístroje)*
- *uživatel odpovídá za škody způsobené chybným zacházením s přístrojem*
- *vysoké koncentrace vzorků způsobují kontaminaci přístrojů, která se musí řešit odstávkou přístrojů. Způsobují poškození detektorů a součástí iontového zdroje ! Ředit, ředit, ředit .....*

Přístrojové vybavení

sektor **ZAB EQ**
(LR, HR malé molekuly; EI, FAB)

MALDI-TOF **Reflex IV**
(LR, velké molekuly; MALDI)

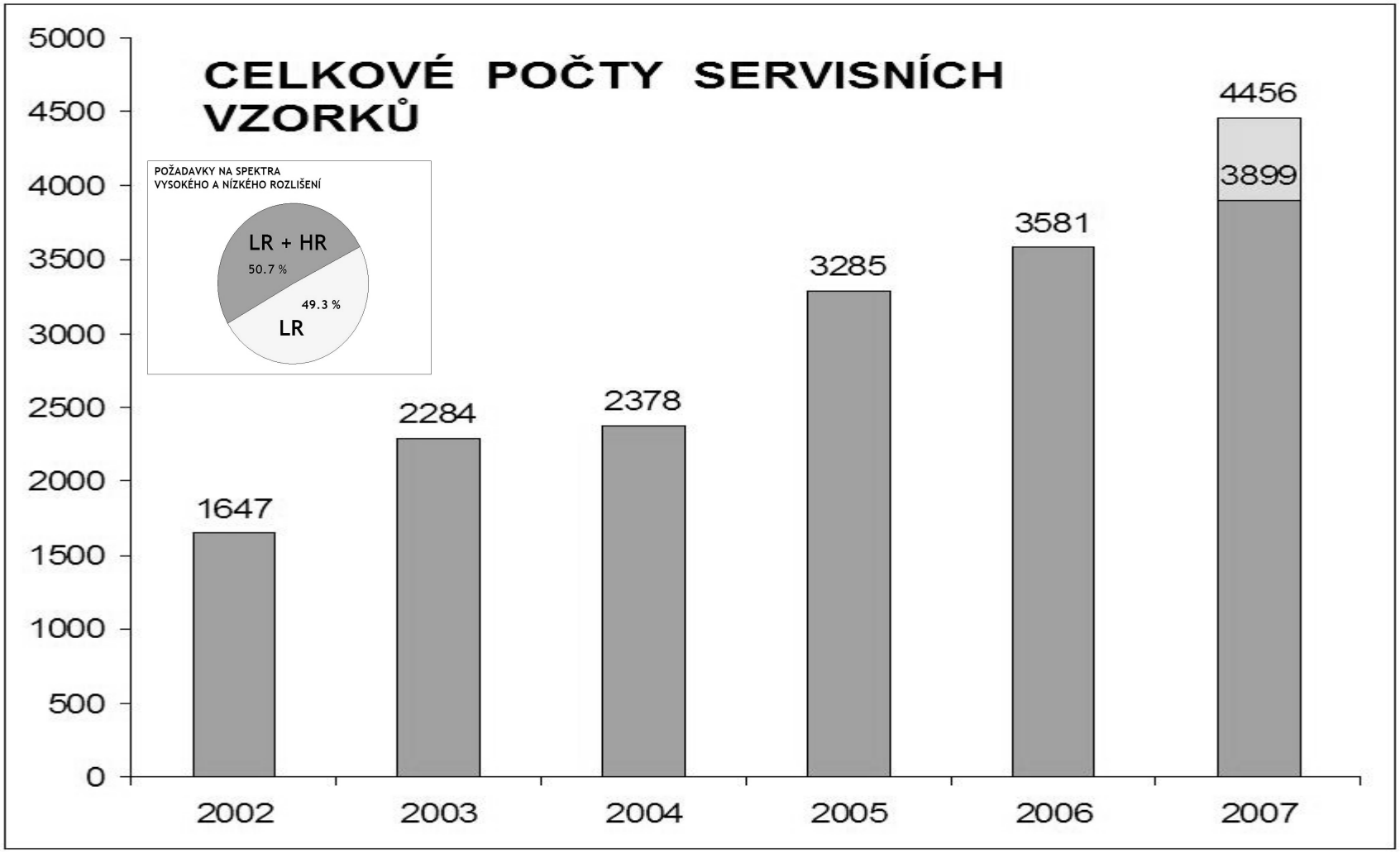


Q-TOF micro
(LR, (HR) malé molekuly; ESI, APCI)

LC/MS - past **LCQ clasic**
(LR malé molekuly; ESI, APCI)

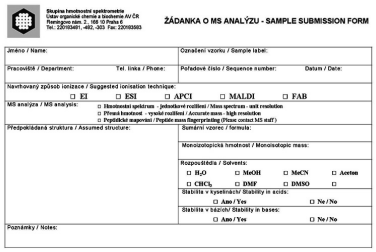
GC/MS – kvadrupól **5975B MSD**
(LR malé molekuly; EI)

Statistika vzorků



Měření vzorků – podání vzorku

&



Skupina hmotnostní spektrometrie
Ústav organické chemie a biochemie AV ČR
Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6
Tel.: 220183481, -482, -383 Fax: 220183383

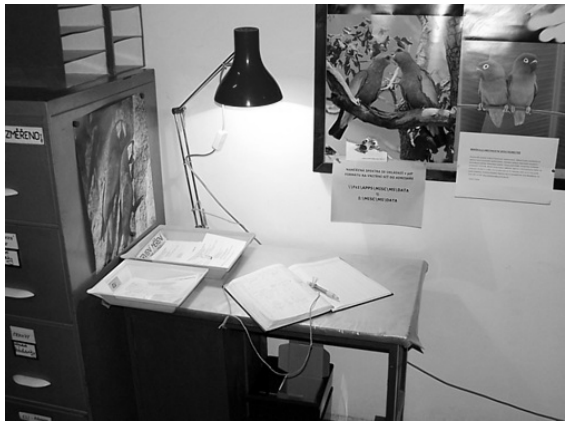
ŽÁDANKA O MS ANALÝZU - SAMPLE SUBMISSION FORM

Jméno / Name:	Označení vzorku / Sample label:
Pracoviště / Department: Tel. linka / Phone:	Pořadové číslo / Sequence number: Datum / Date:
Navrhovaný způsob ionizace / Suggested ionisation technique: ☐ EI ☐ ESI ☐ APCI ☐ MALDI ☐ FAB	
MS analýza / MS analysis: ☐ Hmotnostní spektrum - jednotkové rozlišení / Mass spectrum - unit resolution ☐ Přesná hmotnost - vysoké rozlišení / Accurate mass - high resolution ☐ Peptidické mapování / Peptide mass fingerprinting (Please contact MS staff)	
Předpokládaná struktura / Assumed structure:	Sumární vzorec / formula:
	Monoizotopická hmotnost / Monoisotopic mass:
	Rozpouštědla / Solvents: ☐ H_2O ☐ MeOH ☐ MeCN ☐ Aceton ☐ $CHCl_3$ ☐ DMF ☐ DMSO ☐
	Stabilita v kyselinách/ Stability in acids: ☐ Ano / Yes ☐ Ne / No
	Stabilita v bázích/ Stability in bases: ☐ Ano / Yes ☐ Ne / No
Poznámky / Notes:	

vzorek vyplněná žádanka

http://www.uochb.cas.cz/Internal/formulare.shtml

⇩



suterén, chodba před lab. 33
registrace vzorku

Požadavky na vzorek:

- ve skleněné vialce (plastové mikrozkumavce)

-řádně označené (papírový štítek, isolepa...)

-co nejvíce informací o vzorku (rozpustnost, stabilita, koncentrace ...)

-dostatečné množství vzorku

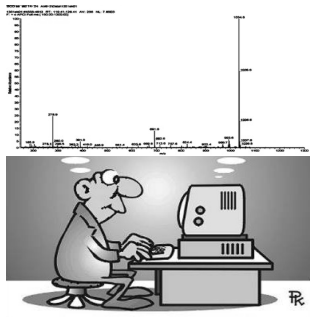
-jen vzorky související s vědeckou činností ÚOCHB

-neradioaktivní

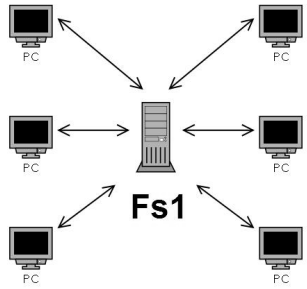
Měření vzorků – zpracování, předání výsledků

OPERÁTOR
MS analýza vzorku

zpracování dat,
převod do formátu .pdf



UŽIVATEL
převzetí výsledků



uložení dat (pdf formát) na
síť do adresáře uživatele

Plány I. – Instrumentace (blízká budoucnost)

Náhrada sektorového přístroje ZAB EQ

- hlavní instrument pro měření přesné hmotnosti
- 20 let starý, opotřebený, poruchový
- měření nelze automatizovat (personální nároky)
- neumožňuje ionizaci ESI, APCI

⇨ Nový přístroj pro rutinní měření přesné hmotnosti – ORBITRAP XL

- přesná hmotnost <5 ppm (ext.), <2 ppm (int.)
- rozlišení (> 100 000 max.)
- ESI, APCI ionizace
- robustní, spojení s HPLC

instalace: **leden 2008**

Plány II. – Instrumentace (vzdálenější budoucnost)

Přístroj určený pro rutinní měření proteomických vzorků

- měření MS/MS spekter s vysokou přesností určení hmotností
- rychlý přístroj – vysoké pokrytí sekvence
- rutinní identifikace proteinů, posttranslační modifikace, kvantifikace

Synapt (Q-TOF, ion mobility)
(Waters)

4800 MALDI TOF/TOF™
(Applied Biosystems)

Plány III. – Samoobslužná instrumentace

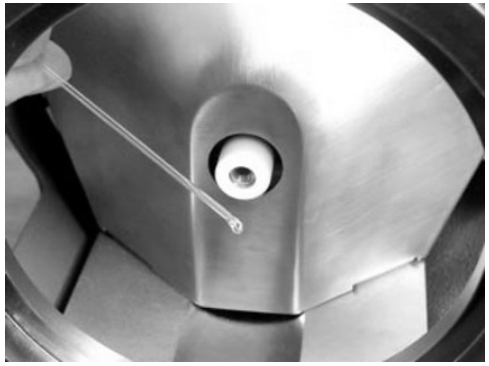
Přístroj pro rychlou samoobslužnou MS analýzu ionizací DART (fy JEOL)

- vzorek (kapalný nebo pevný) se umístí do prostoru iontového zdroje DART;

spektrum se získá okamžitě, netřeba adjustovat parametry zdroje

- vysoká přesnost určení hmotnosti (TOF analyzátor)
- ideální pro okamžitou kontrolu průběhu organických reakcí

Direct Analysis in Real Time (DART™)
US Patent Numbers 6,949,741 and 7,112,785



Iontový zdroj DART

Plány IV. – Vylepšení systému zpracování vzorků

Současný systém:

- výsledná data (spektrum) jen ve formátu .pdf; s daty nelze pohodlně pracovat (zvětšovat/zmenšovat oblasti spekter, zjistit m/z neoznačených iontů apod.)
- surová data nejsou archivována
- uživatel není upozorněn (např. e-mailem), že jsou vzorky změřeny

Uvažujeme o elektronickém systému který by tyto nedostatky odstranil

jeho podoba je otázkou DISKUSE

jednotný systém zadávání analýz/prohlížení dat
pro všechny analytické servisy ÚOCHB

Plány IV. – Vylepšení systému zpracování vzorků

řešení č. 1 (vlastními silami / na zakázku)

Vývoj vlastní databázové aplikace s webovským rozhraním

Strana uživatele – formulář pro zadání analýzy včetně možnosti nakreslit strukturní vzorec. Aplikace pro prohlížení dat

Strana MS servisu – rozhraní pro prohlížení požadavků a pro upload dat

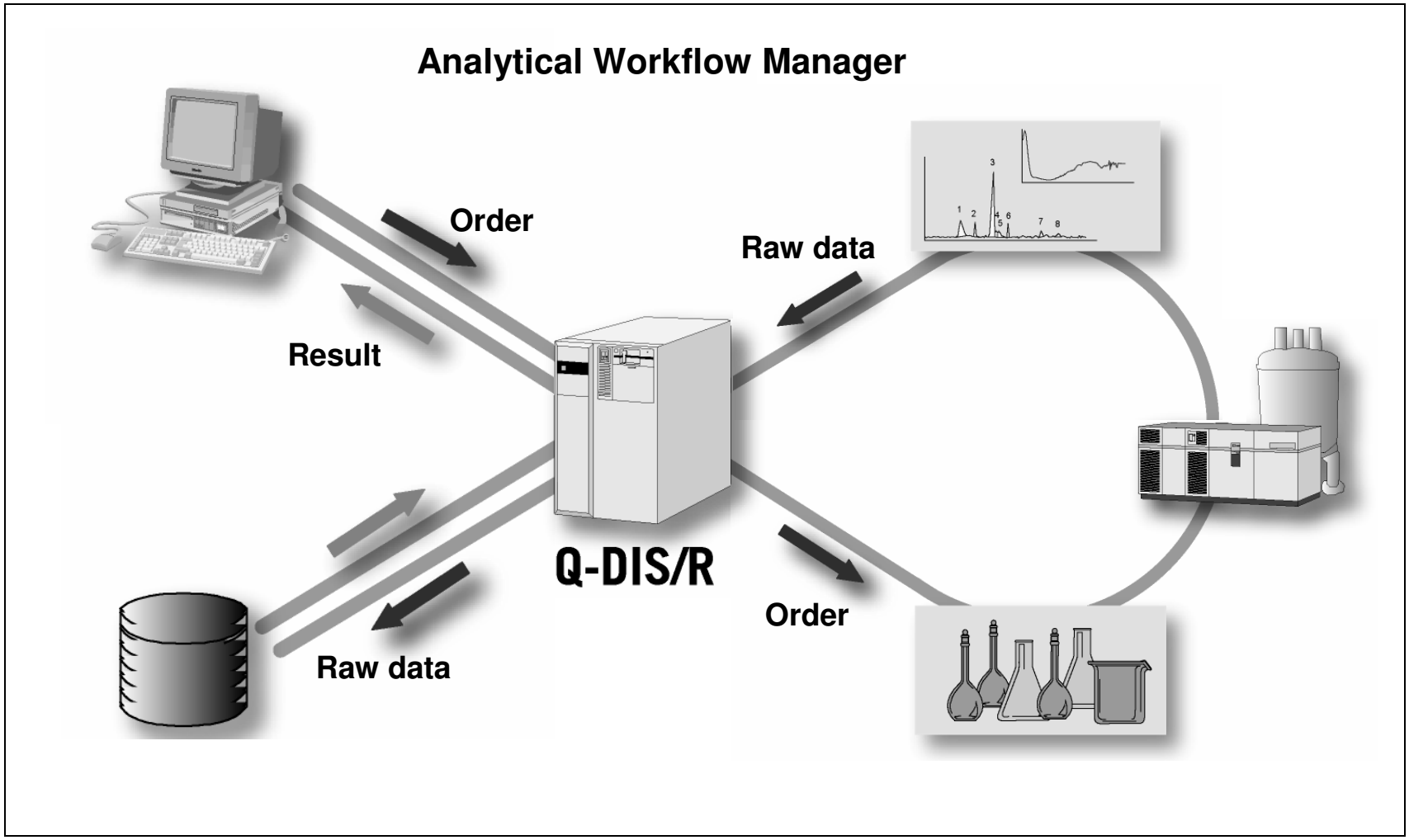
Databázová aplikace – automatické zařazení dat do adresáře uživatele, odeslání upozornění uživateli, automatická archivace dat

+ : pravděpodobně nejlevnější řešení, možnost "šití systému na míru"

- : nutný konvertor pro MS data do jednotného formátu a prohlížeč dat v tomto formátu. Možnost spolupráce s Dr. M. Strohalmem, implementace programu mMass.

Plány IV. – Vylepšení systému zpracování vzorků

řešení č. 2 (komerční systém fy Waters)



Plány IV. – Vylepšení systému zpracování vzorků

řešení č. 2 (komerční systém AWM fy Waters)

Sofistikovaný systém, který by umožnil to, co v řešení č. 1 + něco navíc

PRO:

- na systém je možno napojit nejen všechny MS instrumenty, ale i další servisní přístroje (NMR, spektrometry apod.)

- kompletní řešení, implementace, podpora, jednotný formát dat (.JCAMP)

- archivace dat, rychlý přístup ke starým analýzám

PROTI:

- cena nejen za vlastní systém, ale i za licence pro jednotlivé uživatele

- příliš sofistikovaný systém

Servis MS je to pro Vás . . .

Sdělte nám prosím Vaše připomínky, představy a návrhy týkající se MS servisu.