

vědecko-servisní skupina
HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

MINIŠKOLA HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

2. ročník

18.-19. listopadu 2009

Proč “Miniškola MS” ?

Informace pro uživatele

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

Ukázková měření

- » Orbitrap – HR & proteomika
- » MALDI – malé i velké molekuly
- » ESI MSⁿ – tandemová MS pro strukturní analýzu

Školení GC/MS

- » Měření s “open-access“ GC/MS

Proč “Miniškola MS” ?

Zvané přednášky – Trendy v MS

- » Iontová mobilita v MS. (M. Procházka, Waters)
- » MALDI imaging. (M. Boháč, Bruker)
- » Využití TOF/TOF instrumentace v MS. (T. Korba, Applied Biosystems)
- » ECD, ETD a IRMPD v proteomice. (P. Verner, Thermo)

Diskuse

budoucí podoba MS servisu, náměty, připomínky

Program “Miniškoly”

2. Miniškola hmotnostní spektrometrie

18. listopadu 2009 – středa	19. listopadu 2009 - čtvrtek
<p>Základy MS (velká zasedací síň ÚOCHB)</p> <p>9.00 - 9.30 Servisní služby poskytované skupinou MS. (J. Cvačka)</p> <p>9.30 - 10.00 Základy hmotnostní spektrometrie. (V. Vrkoslav)</p> <p>10.00 - 10.30 Iontové zdroje, spojení GC/MS a LC/MS. (M. Šanda)</p> <p style="padding-left: 40px;"><i>přestávka – občerstvení, káva</i></p> <p>11.00 - 11.30 Analýza a detekce iontů. (V. Vrkoslav)</p> <p>Trendy v MS (velká zasedací síň ÚOCHB)</p> <p>11.30 - 12.00 Iontová mobilita v MS. (M. Procházka, Waters)</p> <p>12.00 - 12.30 MALDI imaging. (M. Boháč, Bruker)</p> <p>Ukázková měření (lab. 107, 33, 53)</p> <p>14.00 - 19.30 Orbitrap – HR & proteomika. (M. Šanda)</p> <p>14.00 - 17.30 MALDI – malé i velké molekuly. (V. Vrkoslav)</p> <p style="padding-left: 40px;">ESI MSⁿ – tandemová MS pro strukturní analýzu. (J. Cvačka)</p>	<p>Interpretace MS dat (velká zasedací síň ÚOCHB)</p> <p>9.00 - 9.40 Interpretace spekter biomolekul. (M. Šanda)</p> <p>9.40 - 10.20 Interpretace spekter malých molekul - I. (J. Cvačka)</p> <p style="padding-left: 40px;"><i>přestávka – občerstvení, káva</i></p> <p>10.50 - 11.30 Interpretace spekter malých molekul - II. (J. Cvačka)</p> <p>Trendy v MS (velká zasedací síň ÚOCHB)</p> <p>11.30 - 12.00 Využití TOF/TOF instrumentace v MS. (T. Korba, Applied Biosystems)</p> <p>12.00 - 12.30 ECD, ETD a IRMPD v proteomice. (P. Verner, Thermo)</p> <p>Školení GC/MS (lab. 107a)</p> <p>14.00 - 15.00 Měření s “open-access” GC/MS. (V. Vrkoslav)</p> <p>Ukázková měření (lab. 33, 53)</p> <p>15.00 - 17.30 MALDI – malé i velké molekuly. (V. Vrkoslav)</p> <p style="padding-left: 40px;">ESI MSⁿ – tandemová MS pro strukturní analýzu. (J. Cvačka)</p>

Vědecko-servisní skupina MS



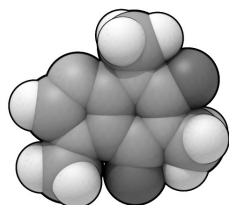
Výzkum:

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

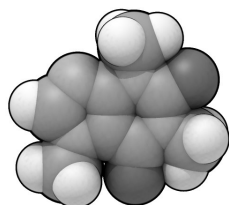
molekulová hmotnost
fragmentace molekuly (elektronová ionizace)

Měření MS spekter při vysokém rozlišení

přesná hmotnost - elementární složení

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

Servisní služby – “malé molekuly”



GC/MS analýza směsných vzorků (nízké rozlišení)

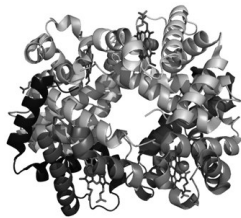
molekulové hmotnosti složek směsi
fragmentace molekul, srovnání spekter s knihovnou

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

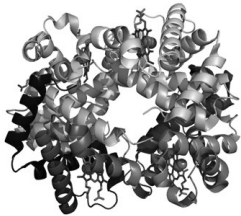
Peptidové mapování pomocí MALDI

(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*

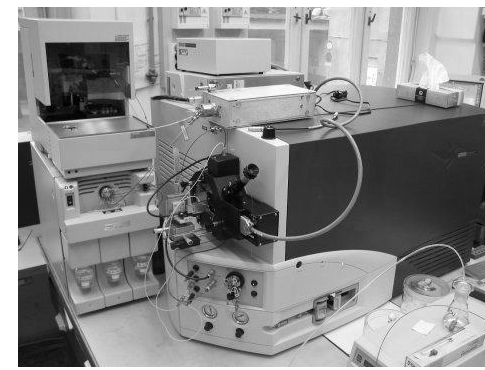
Přístrojové vybavení



LTQ Orbitrap XL
(HR malé molekuly; proteomika)



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



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

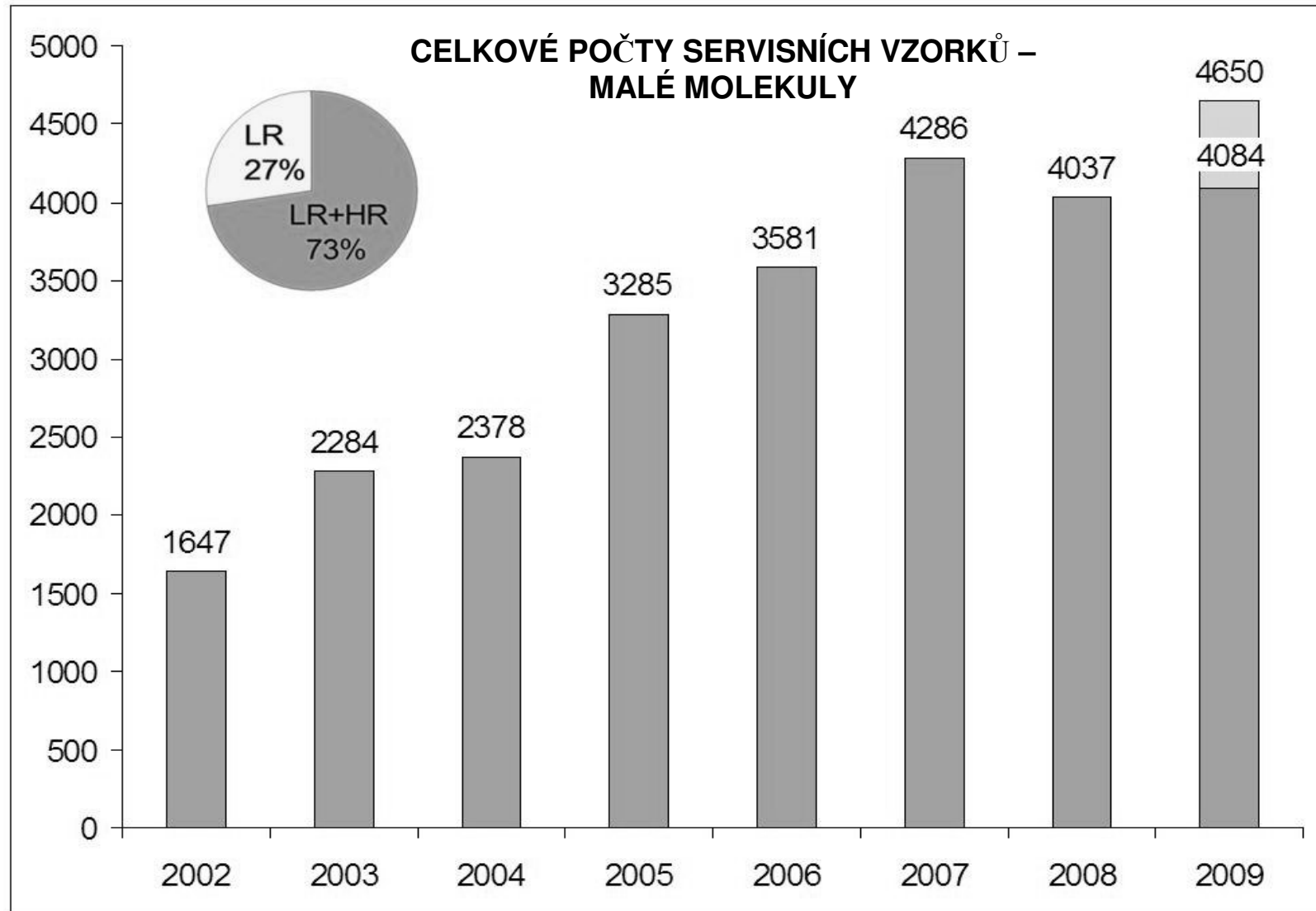


LC/MS - past LCQ FLEET
(LR malé molekuly; ESI, APCI)

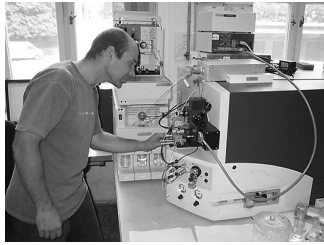


GC/MS – kvadrupól 5975B MSD
(LR malé molekuly; EI)

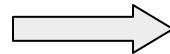
Statistika vzorků



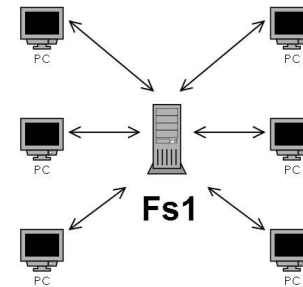
Měření vzorků – zpracování, předání výsledků



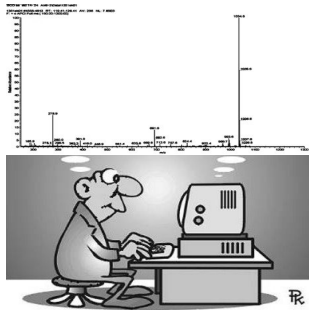
OPERÁTOR
MS analýza vzorku



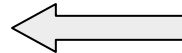
zpracování dat,
převod do formátu .pdf



uložení dat (pdf formát) na
sít' do adresáře uživatele



UŽIVATEL
převzetí výsledků



Plány – Instrumentace

Přístroj(e) určený pro proteomiku



proteomika v současnosti na Orbitrapu a Reflexu

Orbitrap – hlavní přístroj pro HR malých molekul, velmi vytížený, problémy s kontaminací po HR analýzách, chybí ECD/ETD fragmentace

Reflex – technicky i morálně zastaralý, poruchový

Přístroj určený pro rutinní měření proteomických vzorků:

rutinní identifikace proteinů, posttranslační modifikace, kvantifikace (Q-TOF, TOF/TOF, Orbitrap nebo ICR)

Plány – Instrumentace

Přístroj pro MALDI s možností MS/MS a přesnou hmotou



MALDI - v současnosti na Reflexu

- MALDI – v mnoha případech ideální metoda ionizace, zejména pro výšemolekulární syntetické organické sloučeniny
- Reflex neumožňuje HR analýzu ani fragmentace
- Reflex – technicky překonaný (pomalý laser, citlivost, přesnost hmoty), poruchový

Přístroj určený pro rutinní měření MALDI:

(MALDI oa-TOF, TOF/TOF)

Plány – Vylepšení systému zpracování vzorků

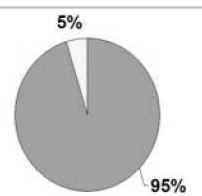
Současný systém:

- 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

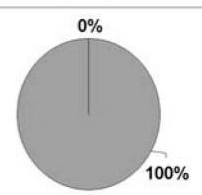
Vyhovoval by Vám formát dat, kde by bylo možno zvětšovat/ zmenšovat, popisovat píky, kopírovat oblasti spekter apod. ?

Ano Ne



Uvítal(a) byste jednotný elektronický systém zadávání vzorků a prohlížení naměřených dat pro všechny analytické servisy na ÚOCHB ?

Ano Ne



Plány – 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

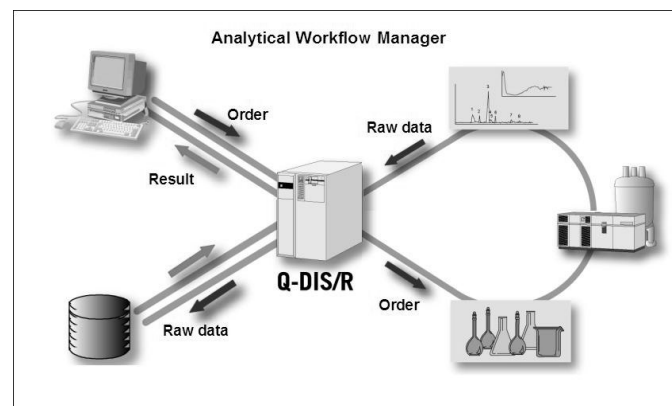
+ : pravděpodobně nejlevnější řešení, možnost “šití systému na míru”, administrativní náročnost na straně servisu

- : nutný konvertor pro MS data do jednotného formátu a prohlížeč dat v tomto formátu.

Plány– Vylepšení systému zpracování vzorků

řešení č. 2 (komerční systém)

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 tu pro Vás . . .

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