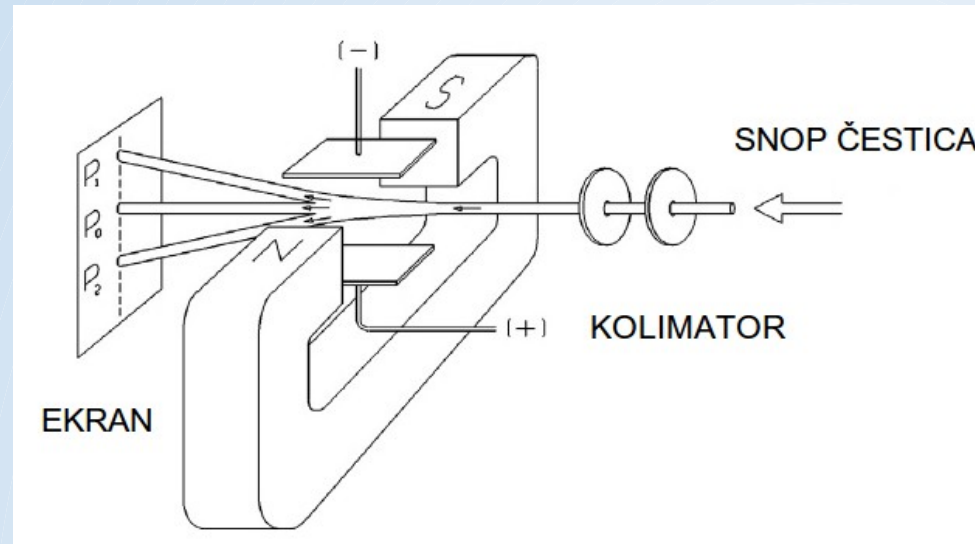




МАСЕНА СПЕКТРОМЕТРИЈА

ПРИМЕНА У БИОЛОГИЈИ И МЕДИЦИНИ

Основе - подсећање



У електричном пољу
$$E_k = \frac{1}{2} m v^2 = qV \quad (1)$$

$$F_E = qU \quad (2)$$

У магнетном пољу
$$F_M = qvB \quad (3)$$

- У магнетном пољу

$$F_m = F_c \Rightarrow \frac{q}{m} = \frac{v}{Br}$$

$$m = \frac{qr^2 B^2}{2V}$$

Масени спектрометри

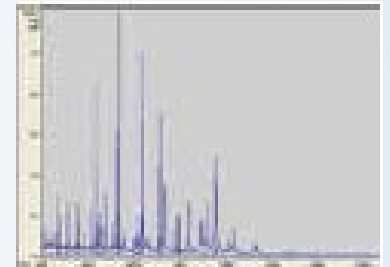
јонизатор

анализатор

Детектор
јона

вакуум

у
л
а
з



Анализа

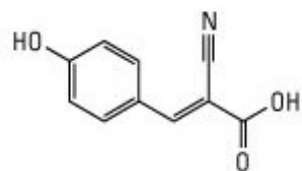
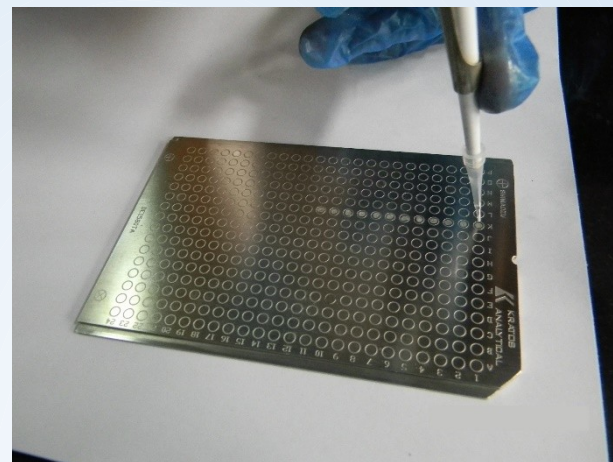


Јонизација узорка

- Бомбардовањем сноповима
 - електрона
 - атома
- MALDI
- ESI

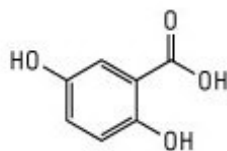
Matrix Assisted Laser Desorption and Ionization

Хемијска јонизација



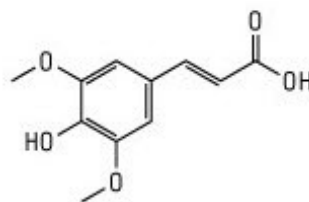
CHCA

α -Cyano-4-hydroxy-cinnamic acid
MW 189.17



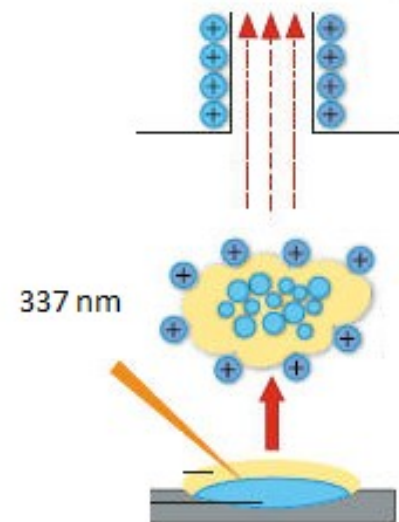
DHB

2,5-dihydroxybenzoic acid
MW 154.12

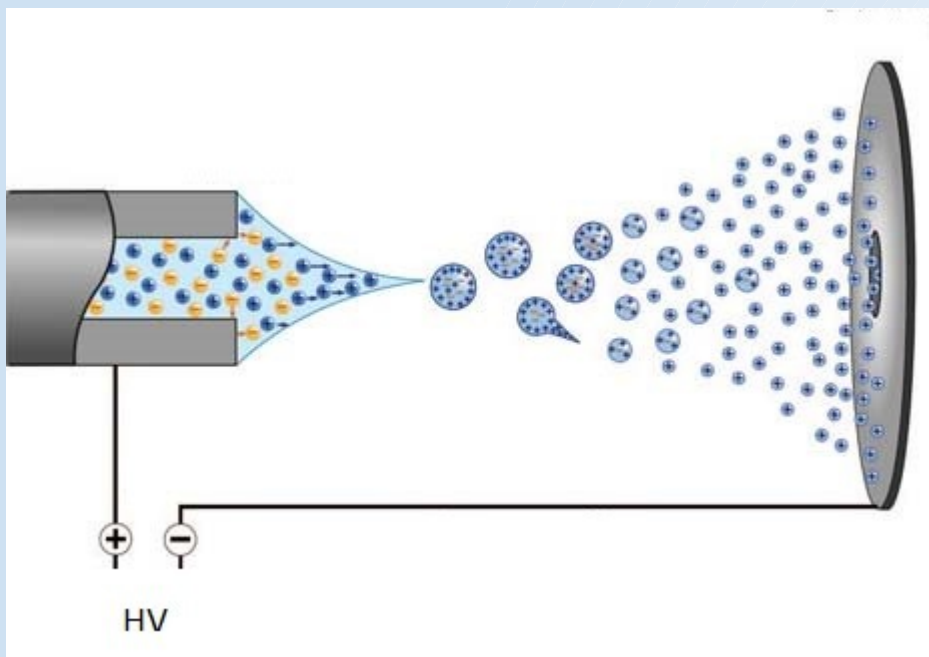


Sinapinic acid (SA)

(E)-3-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)acrylic
MW 224.21



ElectroSpray Ionization



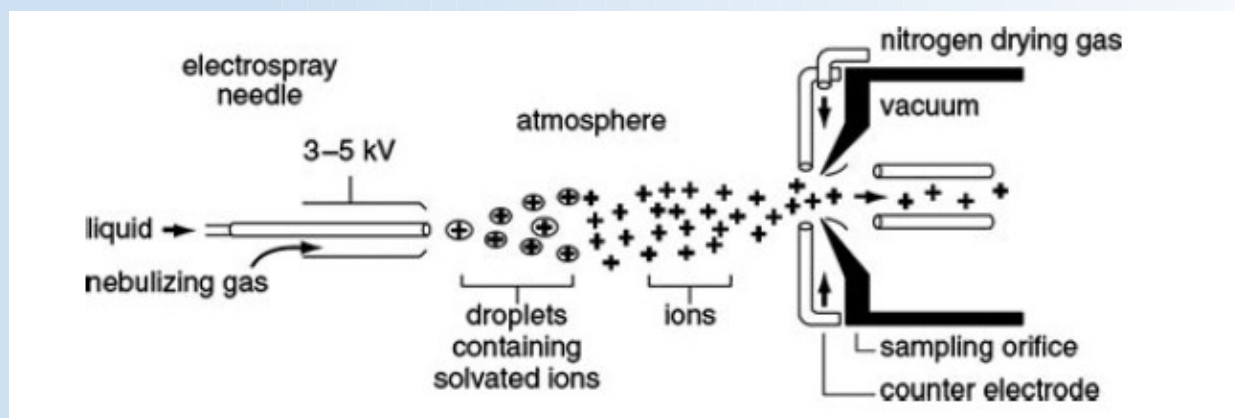
Вишеструко наелектрисани јони

Као растварачи могу се користити системи:

вода-метанол (1:1)

вода-ацетонитрил (1:1)

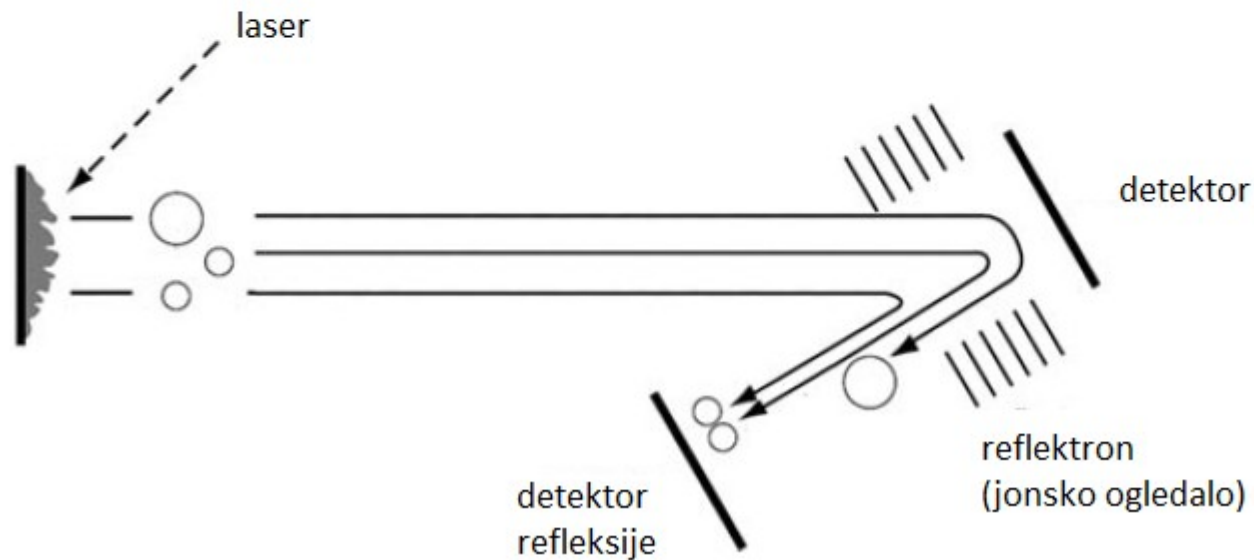
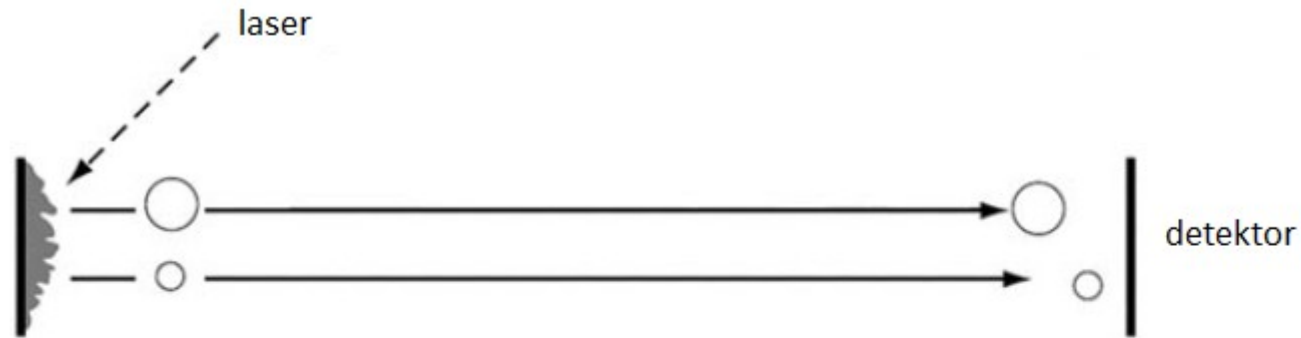
Улаз у ESI може да буде излаз из HPLC уређаја



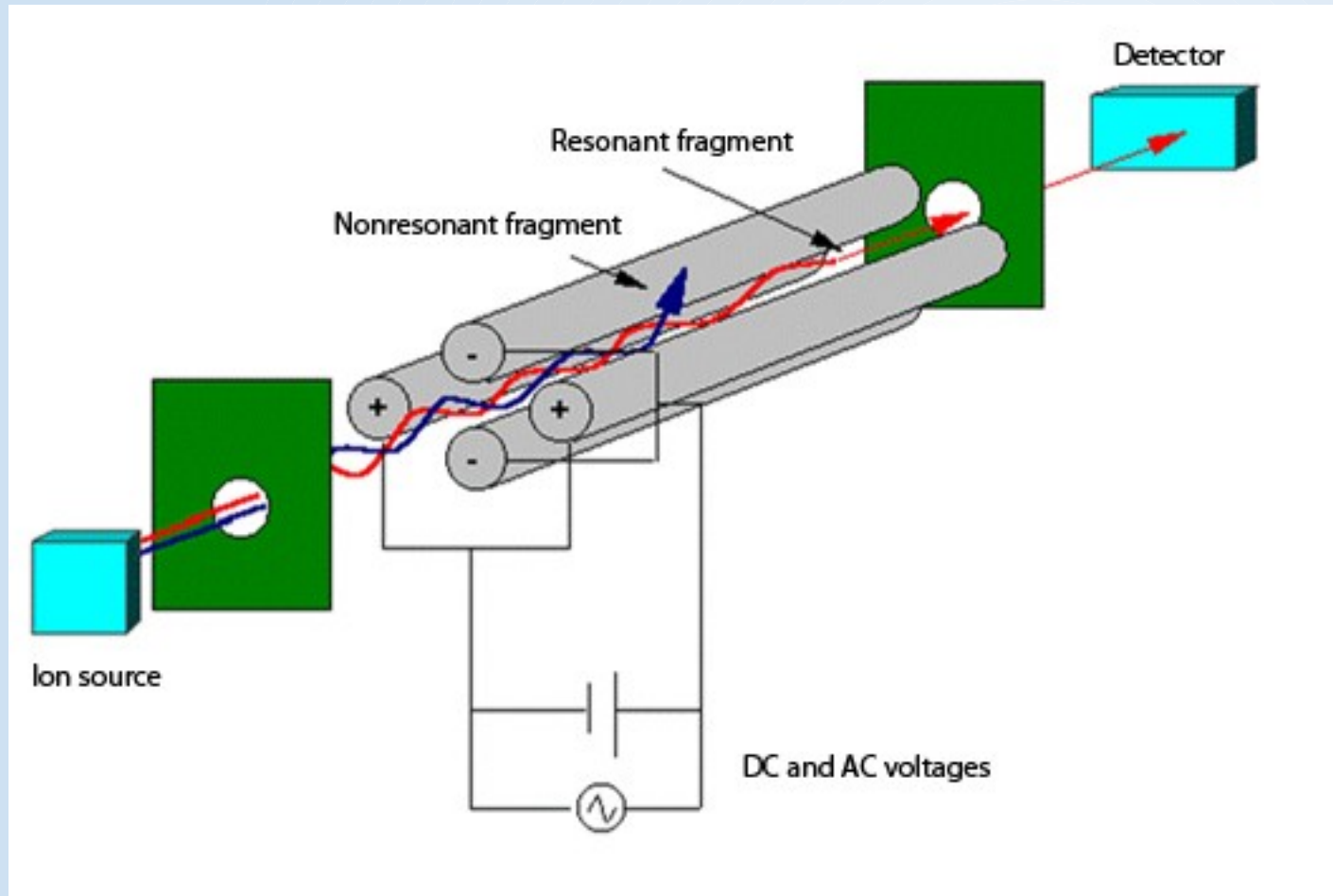
Анализатори

- Секторски
 - Електростатички
 - Магнетни
- Базирани на времену прелета (Time Of Flight)
- Квадруполни
- Јонске замке
- Базирани на јон-циклотронској резонанцији

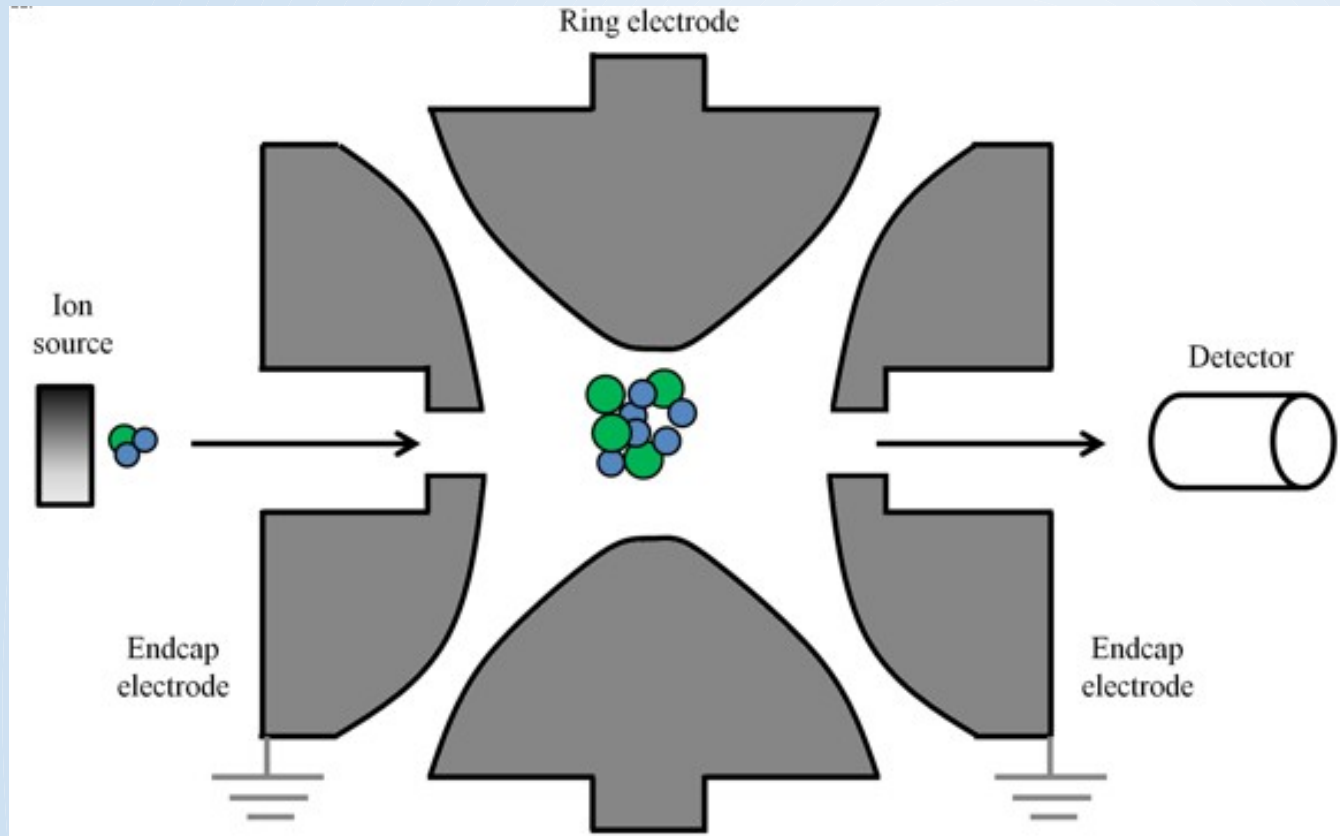
Time Of Flight анализатор



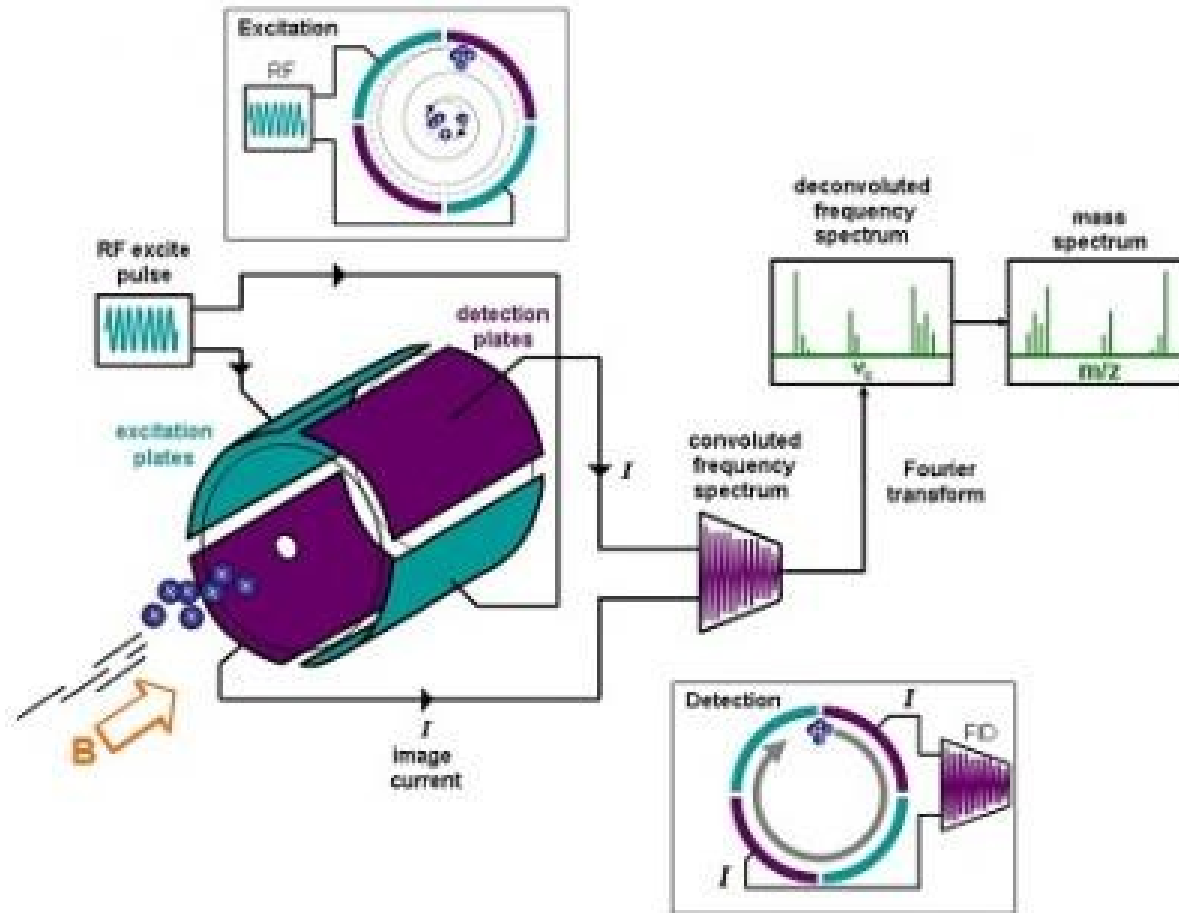
Квадруполни анализатор



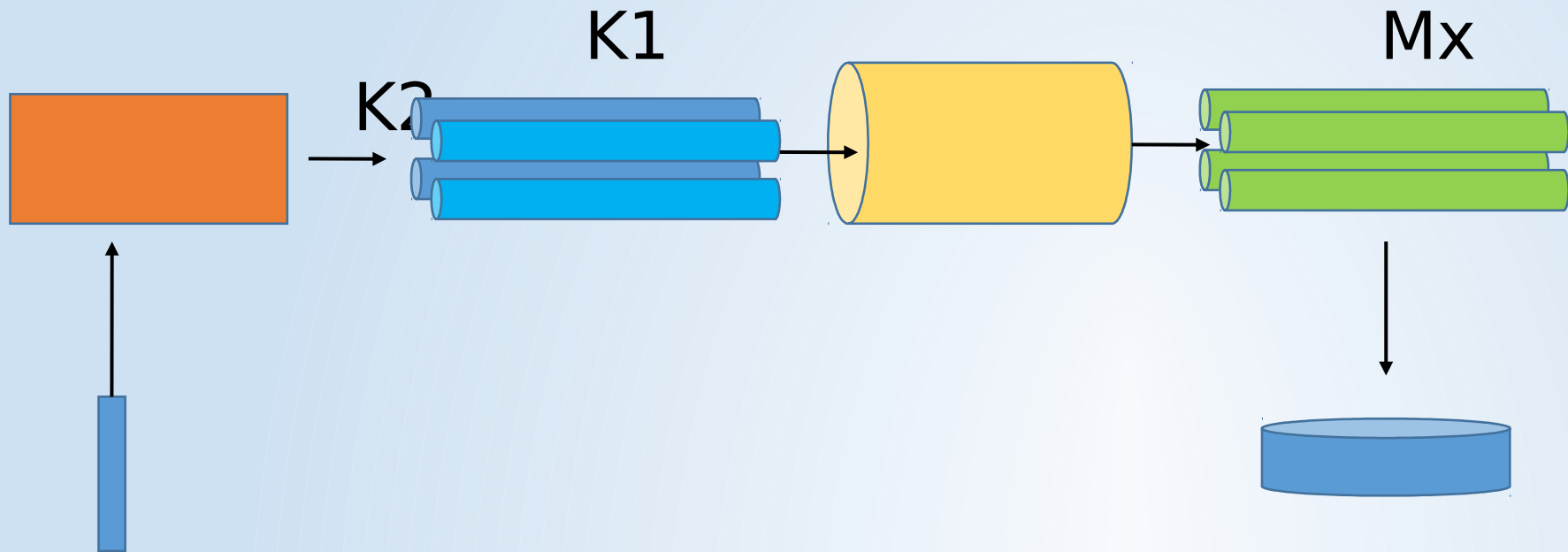
Јонска замка (ion trap analyzer)



Анализатори базирани на јон-циколтронској резонанцији



Тандем системи



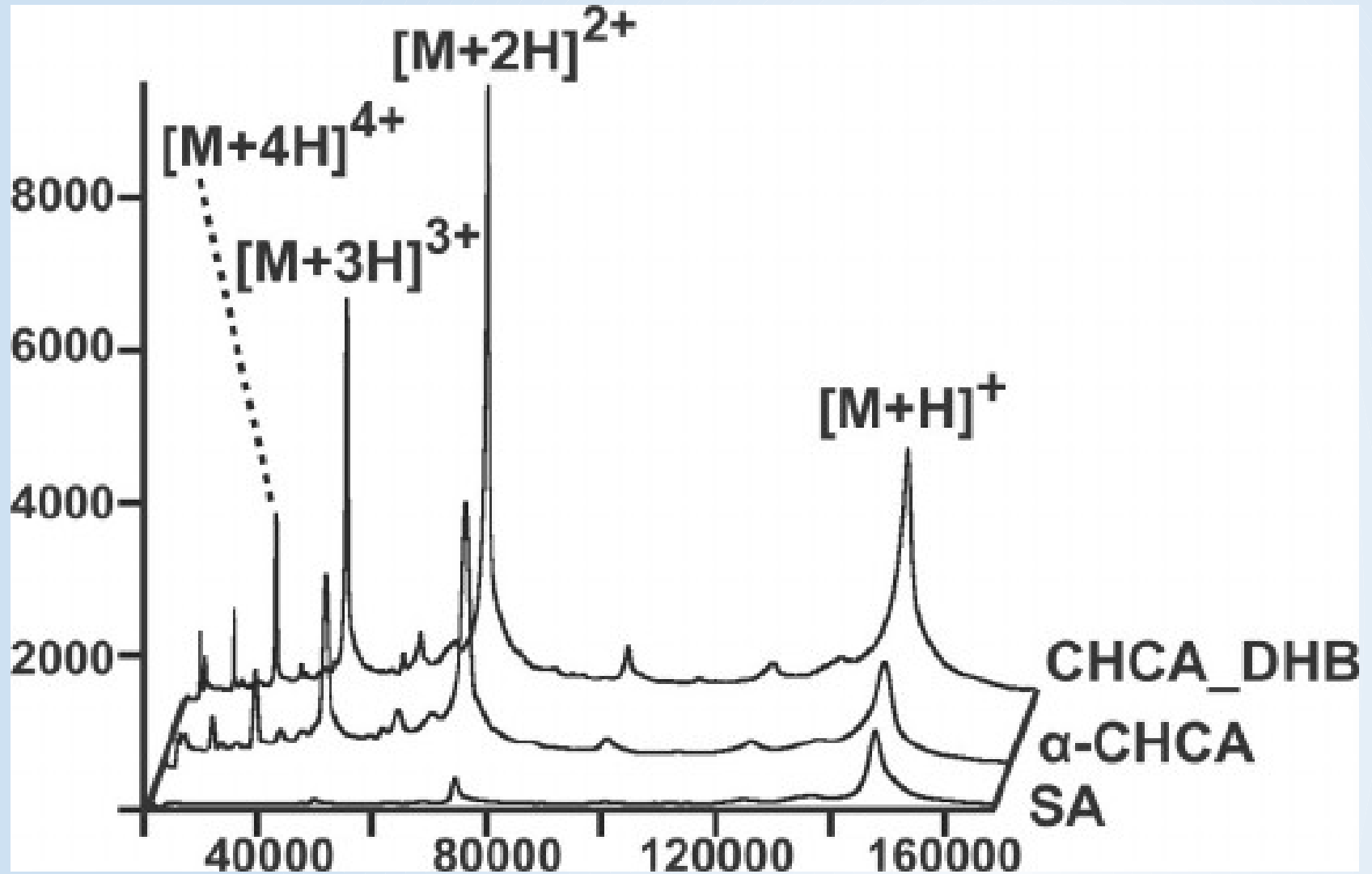
Одређивање структуре пептида/протеина помоћу МС

- Одређивање масе протеина
- Фрагментација
- Одређивање масе фрагмената
- Анализа резултата
- Одређивање секвенције протеина

MALDI vs ESI у одређивању структуре протеина

MALDI	ESI
Интактни протеини/полипептиди	Интактни и фрагментисани
Ниско наелектрисање	Високо наелектрисање
Резолуција <1000	Добра резолуција
	Може радити у спрези са осталим инструментима

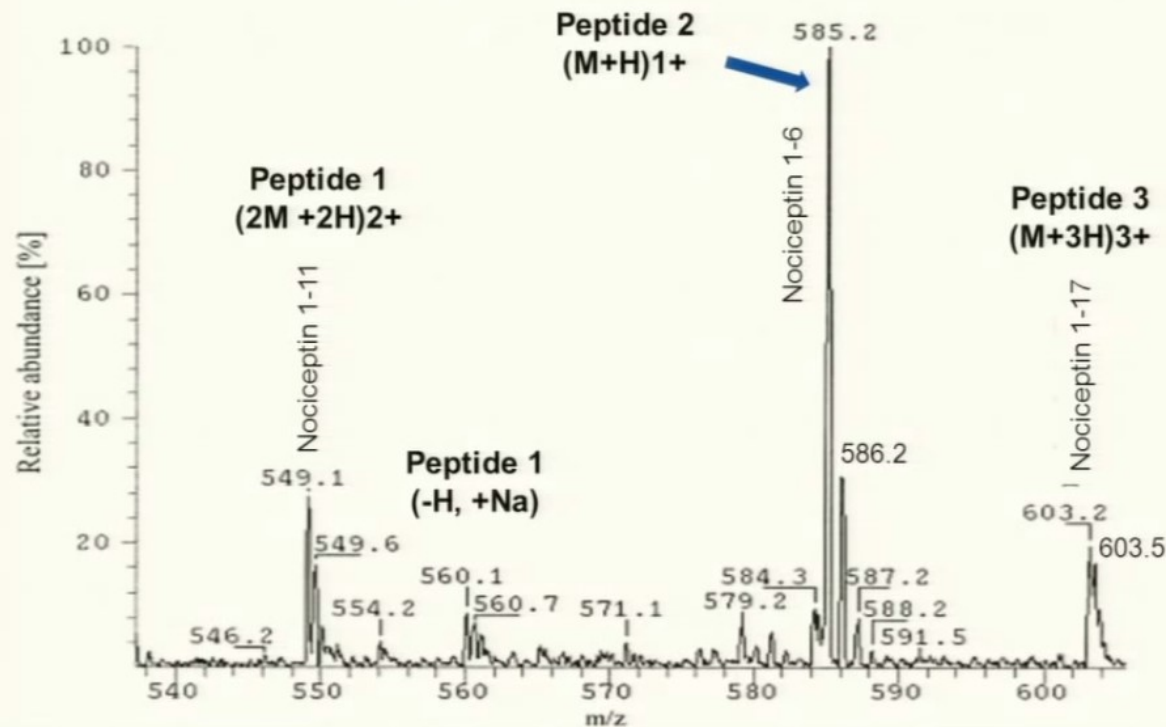
MALDI-TOF IgG



ESI MS ноцицептина

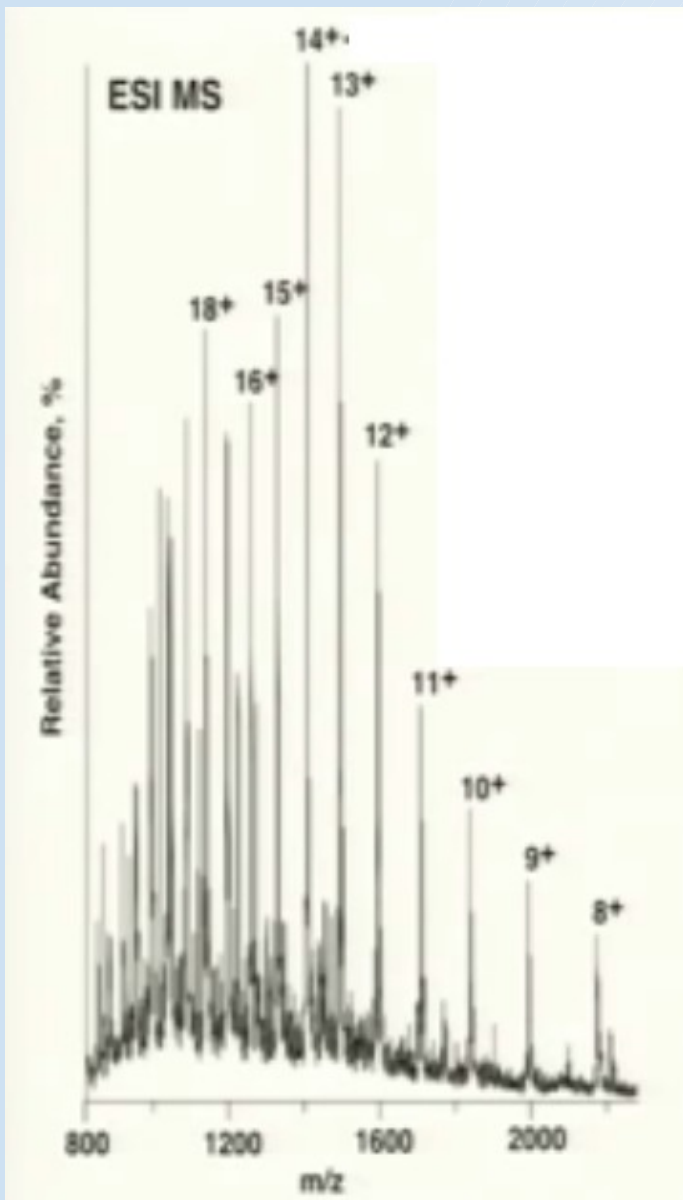
F-G-G-F-T-G-A-R-K-S-A-R-K-L-A-N-Q (Nociceptin 1-17)

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17



Amino Acid	Three-letter Abbreviation	Single-letter Symbol
Alanine	Ala	A
Arginine	Arg	R
Asparagine	Asn	N
Aspartic acid	Asp	D
Asparagine or aspartic acid	Asx	B
Cysteine	Cys	C
Glutamine	Gln	Q
Glutamic acid	Glu	E
Glutamine or glutamic acid	Glx	Z
Glycine	Gly	G
Histidine	His	H
Isoleucine	Ile	I
Leucine	Leu	L
Lysine	Lys	K
Methionine	Met	M
Phenylalanine	Phe	F
Proline	Pro	P
Serine	Ser	S
Threonine	Thr	T
Tryptophan	Trp	W
Tyrosine	Tyr	Y
Valine	Val	V

ESI MS бета казеина (24000 D)



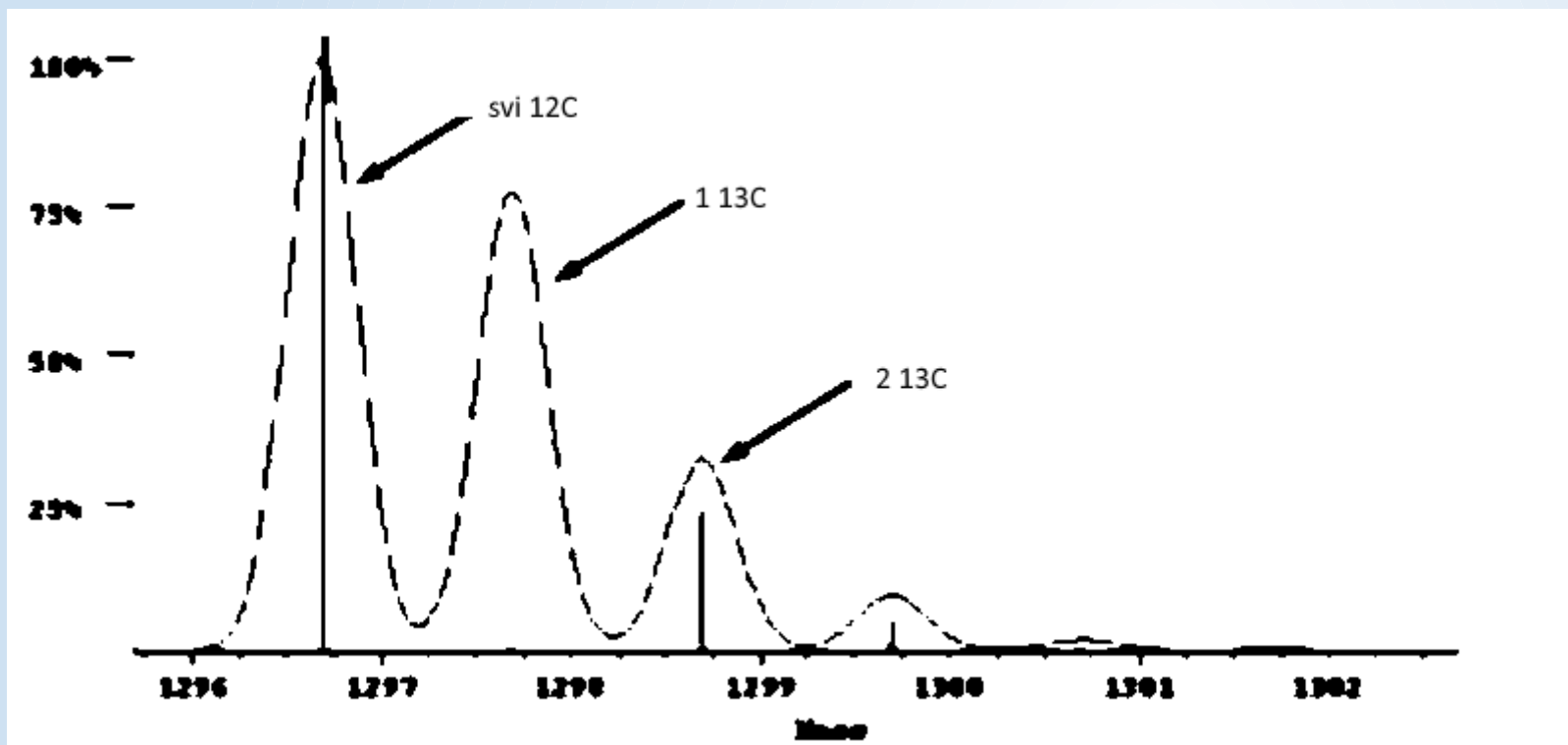
$$x_1 = \frac{M + n}{n}$$

$$x_2 = \frac{M + n + 1}{n + 1}$$

$$n = (x_2 - 1)/(x_1 - x_2)$$

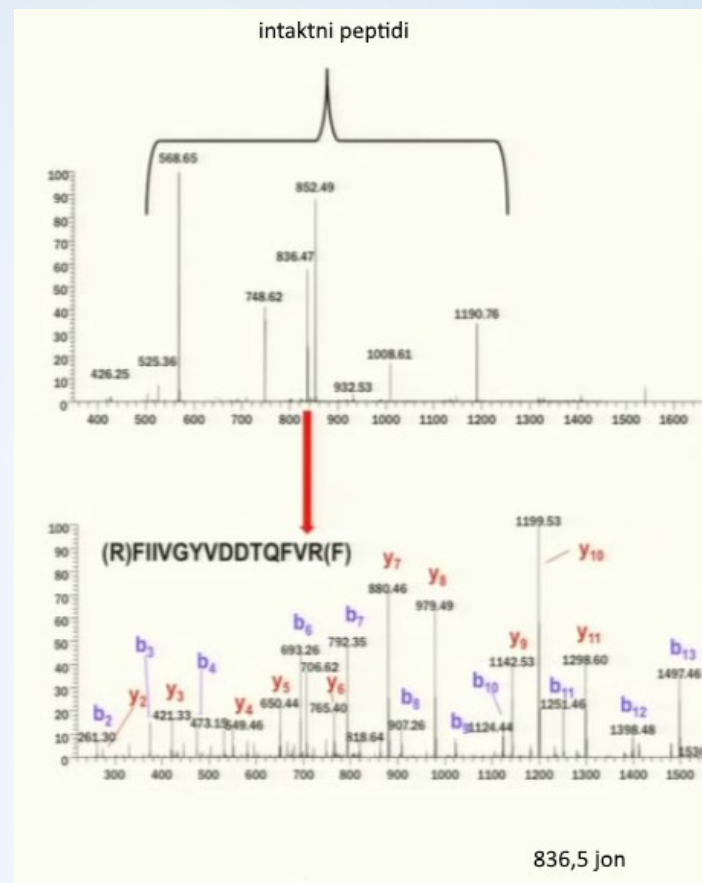
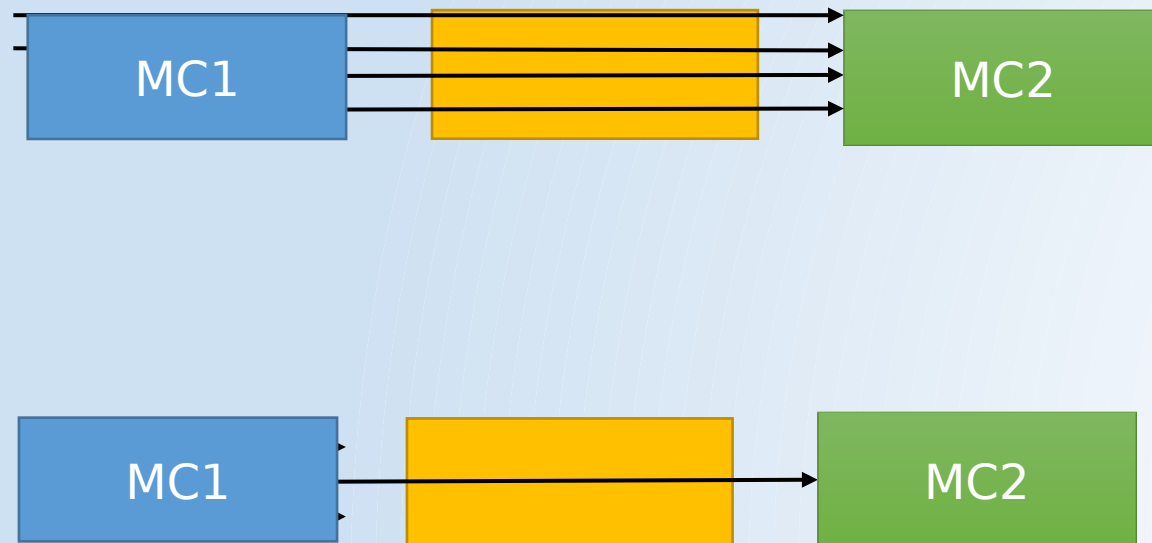
ИЗОТОПИ?

- $^{13}\text{C} : ^{12}\text{C} \approx 1:100$
- $^{17}\text{O} : ^{16}\text{O} \approx 0,36:100$

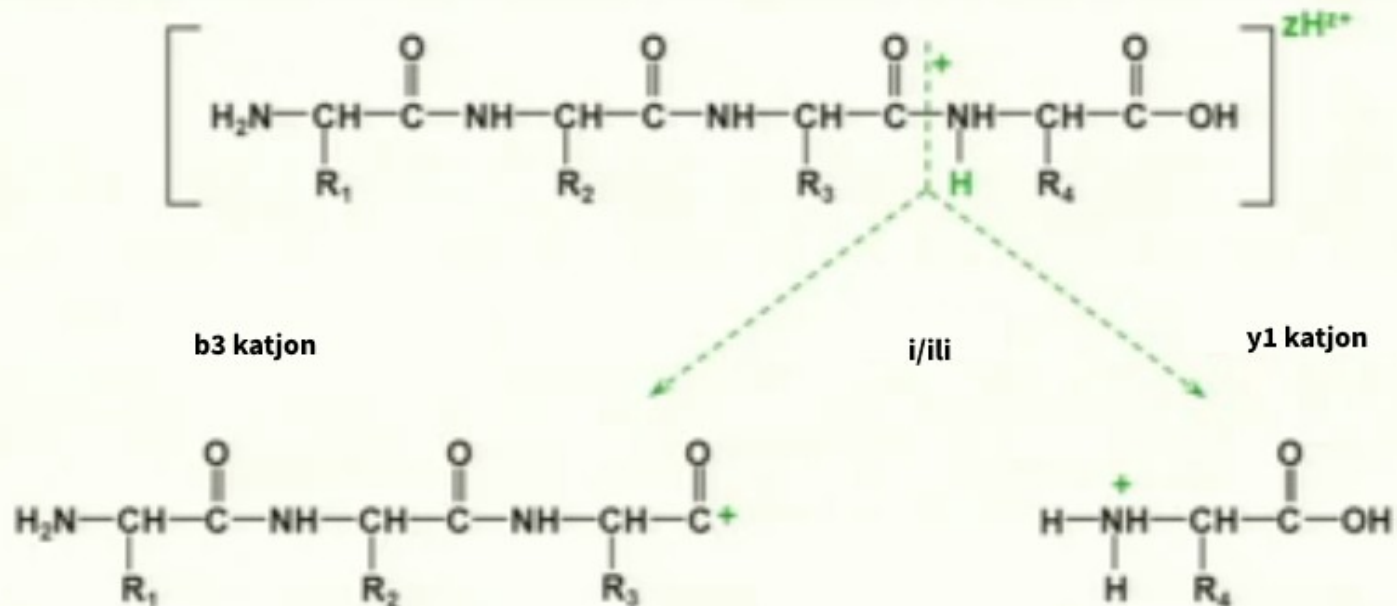
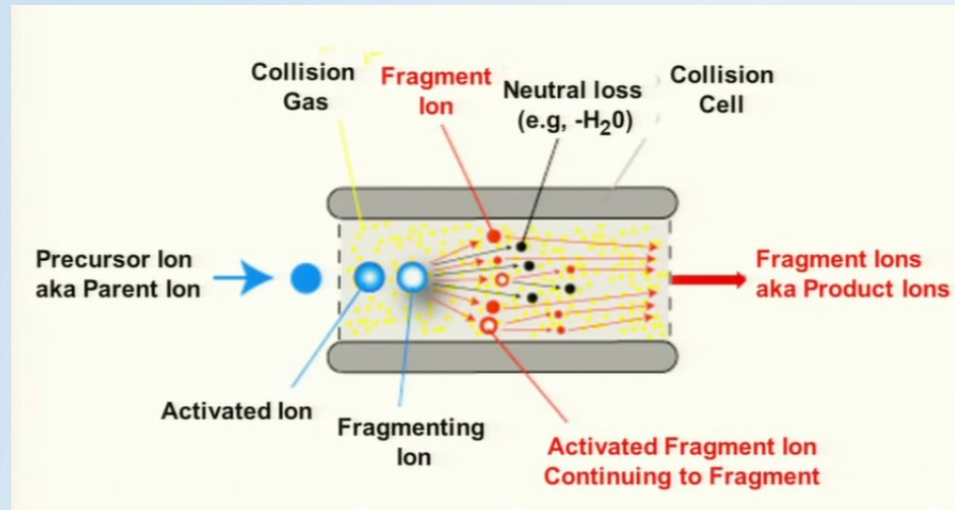


Фрагментација/секвенционирање протеина

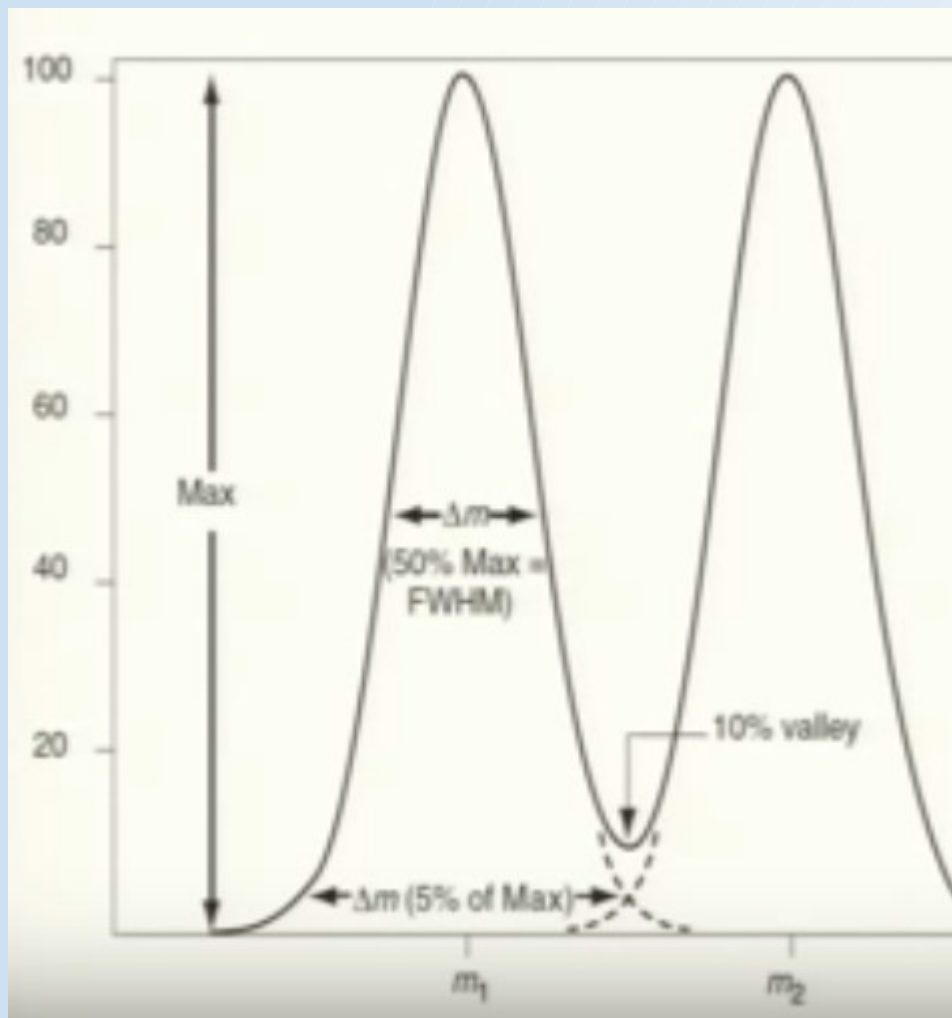
- Тандем МС



Фрагментација пептида

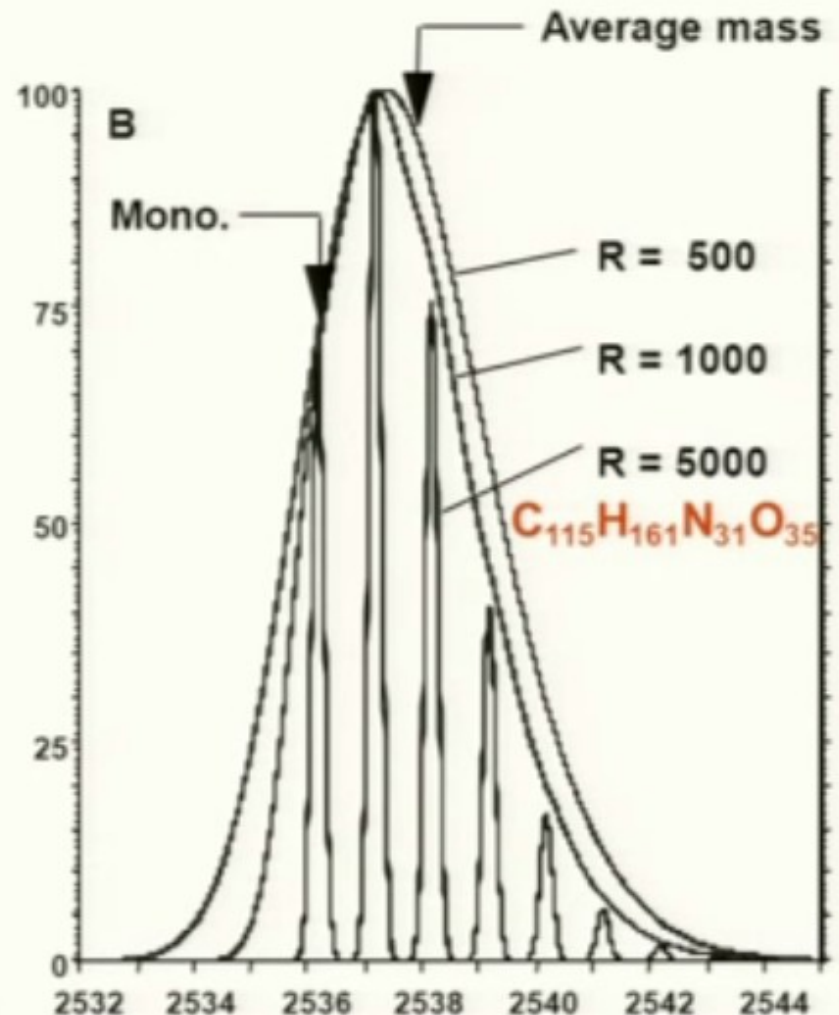
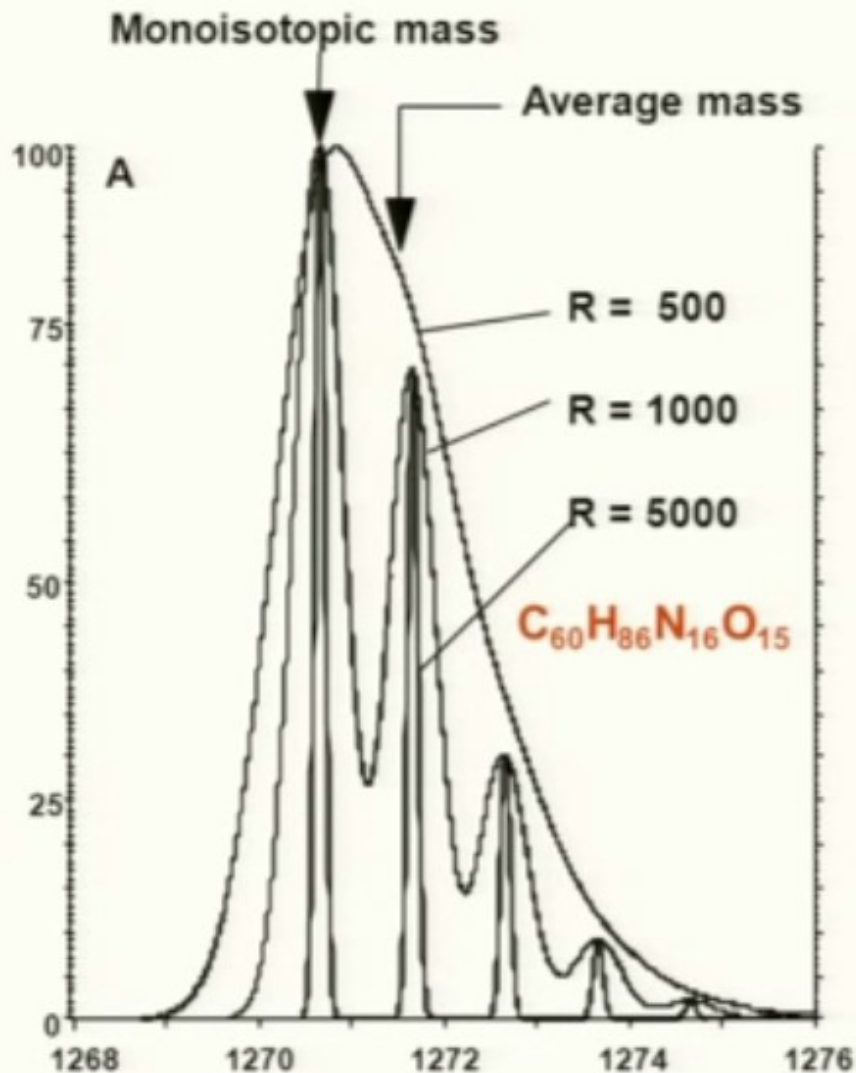


Резолуција, сензитивност и прецизност МС

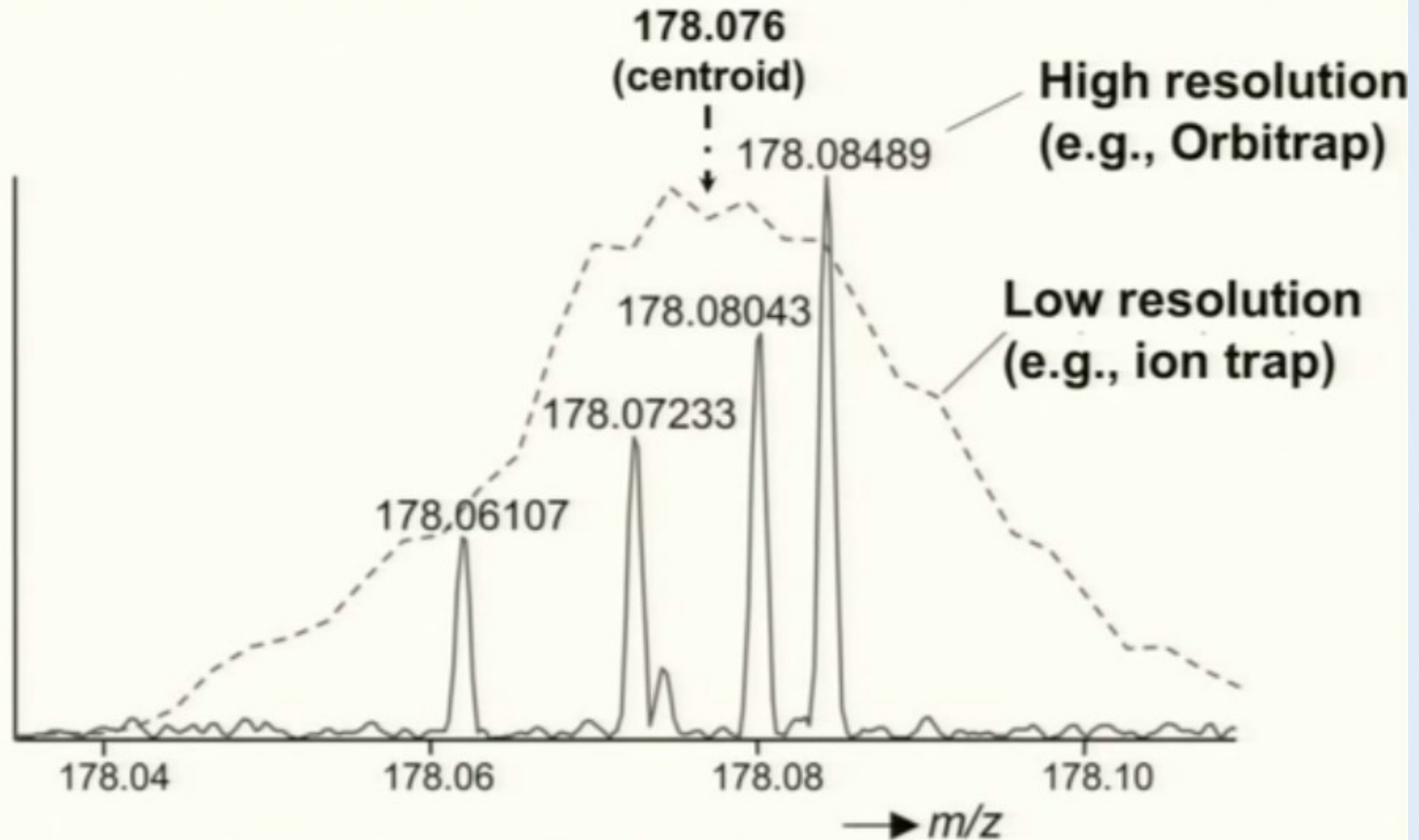


$$R = \frac{M}{\Delta M}$$

Резолуција (2)



Резолуција и прецизност



Sleno et al. J. Mass Spectrom. 2004: 16, 183

Несигурност при идентификацији и резолуција

Accurate mass is a powerful constraint on DB searches

Peptide of Mass 1005.4433			
	Accuracy, +/-ppm	# possible AA comp.	# possible Element. comp.
Database = NCBI, human only	9	3927	not determined
	8	3577	not determined
	7	3480	not determined
	6	3022	not determined
	5	1962	19
	4	1582	16
	3 ppm: 19 tryptic peptides	1449	9
	2	868	7
	1.4	314	6
	1.3	314	6
	1 ppm: 18 tryptic peptides	293	5
	1	293	5
	0.9	69	4
	0.8	69	4
	0.7	27	3
	0.6	20	2
	0.5	20	2
	0.4	20	2
	0.3 ppm: 2 tryptic peptides	20	2
	0.3	20	2
	0.2	20	2
	0.1	7	1