

ESPECTROMETRIA DE MASA DE MACRO MOLECULAS

CARRERA: Licenciatura en Ciencias Químicas

CODIGO: 4142

Carácter: optativa

Duración: 60 horas

Carga Horaria Semanal: 2 semanas 30 horas semanales Teóricas-práctico: 6 horas por día

Cantidad de ciclos de dictado anuales: 1 cuatrimestre

Sistema de evaluación y promoción: Seminario-examen final

Puntaje: 3 puntos.

Correlatividades: Para cursar: TP Análisis Instrumental. Para dar final: Final de Análisis Instrumental.

PROGRAMA

Parte 1: Métodos de ionización

1- El análisis de iones gaseoso moleculares como herramienta analítica, espectrometría de masa (MS). Análisis de bio-macromoléculas por MS. Determinación de pesos moleculares y de estructura química. Fundamento de los métodos de ionización útiles basados en desorción (FD, FAB, SIMS, LD, MALDI, UV-MALDI) y en nebulización (ES, TESI, ESI), campo de aplicación de cada uno, ventajas y limitaciones. La problemática de preparación de las muestras para UV-MALDI-MS y ESI-MS.

2- UV-MALDI: Absorción de sólidos. Excitación con fuentes láser de 266 y 337 nm. Fenómeno de desorción / ionización. Análisis de los iones gaseosos generados. Espectrometría de masa por desorción láser (LD-MS). Uso de fotosensibilizadores (matrices) en la región UV para inducir desorción del aceptor (analito). Espectrometría de masa con desorción/ionización inducida por láser ultravioleta asistida por una matriz (fotosensibilizador) (UV-MALDI-MS). Propiedades de las matrices. Preparación de las muestras. Generación de ión molecular intacto e inducción de fragmentaciones.

3- ESI. Generación de iones moleculares policargados. Modelo de Dole (RMC) (Taylor; Coulomb; Raleigh). Desarrollos de Fenn. Determinación de la relación m/z. Influencia del medio en el proceso ESI (polaridad, pH, sales). Nano-ESI. Z-ESI.

4- Fundamento de los analizadores de iones gaseosos de uso actual (TOF, Q, IT, FTICR, OrbiTrap), campo de aplicación, ventajas y limitaciones.

5- La fragmentación como herramienta analítica en espectrometría de masa. Formas de evitarla y formas de inducirla. Accesorios o celdas CAD, CID, ECD, IRMPD, EI. Espectrometría de masa tandem (MSⁿ). Modo de operación PSD en el analizador de “tiempo de vuelo” (TOF). La fragmentación en procesos UV-MALDI y en ESI.

6- Equipamiento comercial actual por combinación de UV-MALDI y de ESI con diferentes analizadores de iones (i) solos (Q, TOF, IT, FTICR, OrbiTrap) o (ii) en tandem (QQQ, Q/TOF, Q/IT, IT/TOF, TOF/TOF, Q/FTICR). Criterio para seleccionar la combinación más ventajosa. Posibilidades y limitaciones.

7- Protocolos actuales de trabajo en proteómica y glicómica y otras “ómicas”. Combinación de datos experimentales con banco de datos y programas de simulación (“a novo”). Protocolos de trabajo “bottom-up” y protocolos “top-down” 6-Conclusiones. UV-MALDI vs ESI en el campo de las macromoléculas, competencia o complementariedad?

Parte 2: Aplicaciones

Determinación de pesos moleculares y de estructuras de bio-macromoléculas (proteínas, nucleótidos, nucleósidos, vitaminas, etc.) y macromoléculas en general. Análisis de modificaciones postraduccionales en proteínas. Análisis de complejos moleculares nativos. Folding y unfolding de proteínas. Análisis de la composición de biopolímeros (oligosacáridos, polisacáridos y compuestos glicoconjugados), determinación de la estructura, del peso molecular y de la relación cuantitativa de

los oligómeros. Comparación de UV-MALDI-MS y ESI-MS con otras técnicas de uso en la analítica de macromoléculas (espectrometrías de masa: FD-MS, FAB-MS, SELDI (SALDI), DIOS y SIMS; técnicas cromatográficas: SEC; técnicas electroforéticas). Aplicaciones concretas en el campo de la biología molecular, en el campo de control de calidad de alimentos, de monitoreo en librerías combinatorias, en organométálicos y en polímeros sintéticos.

BIBLIOGRAFIA

- 1- G. Siuzdak, Mass Spectrometry for Biotechnology, Academic Press (1996).
- 2- What is Mass spectrometry? Am. Soc. Mass Spectrom., (1998).
- 3- R.J. Cotter, Time-of-Flight Mass Spectrometry, ACS Symposium Books, 549, ACS (1994)
- 4- R.J. Cotter, Time-of-Flight Mass Spectrometry. Instrumentation and Applications in Biological Research, ACS Professional Reference Books, ACS (1997)
- 5- R. B. Cole (ed.), Electrospray Ionization Mass Spectrometry. J. Wiley & Sons, Inc. NY (1997).
- 6- B. S. Larsen and C. N. McEwen (eds.).Mass Spectrometry of Biological Materials. Marcel Dekker, Inc., NY (1998).
- 7- M. L. Gross (ed.). Mass Spectrometry in Biological Sciences: A Tutorial. NATO ASI Series, Series C, Vol. 353. Kluwer Acad. Pub., London (1990)
- 8- F. W. McLafferty and F. Turecek, Interpretation of Mass Spectra, University Science Books, Mill Valley, California (1993).
- 9- J. R. Chapman. Practical Organic Mass Spectrometry. Wiley, NY (1993).
- 10- E. W. Schlag (ed.). Time-of-Flight Mass Spectrometry and its Applications. Elsevier, NY (1994).
- 11- R. P. Newton and T. J. Walton, Applications of Modern Mass Spectrometry in Plant Science Research, Clarendon Press, Oxford, London (1996)
- 12 – D. C. Liebler, Introduction to Proteomics; Tools for the New Biology. Humana Press. Totowa, NJ (2002).
- 13- M. Mann and O. N. Jensen, Proteomic analysis of post-translational modifications (www.nature.com/naturebiotechnology) Vol 21 March 2003
- 14- J. Mass Spectrometry; Rapid Commun. Mass Spectrometry; Mass Spectrom. Rev.; J. Am. Soc. Mass Spectrom.
- 15- Back to Basics Manual, Micromass UK Limited, www.micromass.co.uk
- 16- J.B. Fenn, Electrospray Wings for Molecular Elephants, Nobel Lecture, <http://www.nobel.se>
- 17- K. Tanaka, The origin of macromolecule ionization by laser irradiation, Nobel Lecture, <http://www.nobel.se>
- 18- H. Budzikiewicz, C. Djerassi, and D.H. Williams, Mass spectrometry of organic compounds. San Francisco: Holden-Day, 1967
- 19 – H. Budzikiewicz, C. Djerassi, and D.H. Williams, Structure elucidation of natural products by mass spectrometry.
- 20- R. Erra-Balsells, “Del volar de las proteínas y de como lograrlo. Espectrometría de masa UV-MALDI”, Química Viva, 3(2), abril 2004. <http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar>; ISSN 1666-7948
- 21- R. Erra-Balsells, “Del volar de las proteínas y de como lograrlo (Espectrometría de masa ESI”, Química Viva, 3(3), septiembre 2004. <http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar>; ISSN 1666-7948
- 22 – E. de Hoffmann, V. Stroobant, Mass Spectrometry, Principle and Applications 3th edition, Wiley, UK (2007).
- 23- J.H. Gross, Mass Spectrometry, Springer, 2nd Ed., 2011.
- 24 - R.B. Cole Electrospray and MALDI Mass Spectrometry. Fundamentals, Instrumentation, Practicalities, and Biological Applications. 2nd edition. Wiley, UK (2010).
- 25- Hillenkamp F, Jasna Peter-Katalinic J (eds) (2007) MALDI MS. A Practical Guide to Instrumentation, Methods and Applications. Wiley-VCH, Weinheim.

26- R. Erra-Balsells, en Fundamentals of Mass Spectrometry, K. Hiraoka (ed.), Cap. 9, "MALDI: A very Useful UV Light-Induced Process ...That Still Remains Quite Obscure". Springer, Science+Business Media New York 2013.