

## Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie je fyzikálně-chemická metoda, která stanovuje hmotnosti molekul a atomů po jejich převedení na ionty. Podstatou hmotnostní spektrometrie je separace iontů produkovaných v iontovém zdroji přístroje na základě jejich **efektivní hmotnosti** ( $m/z$ , kde  $m$ -hmotnost iontu a  $z$ -nábojové číslo) a jejich následná detekce. Všechny tyto procesy probíhají v uzavřeném prostoru, ve kterém je pomocí systému pump kontinuálně udržováno vakuum.

**Hmotnostní spektrometr je složen z těchto částí:**

- iontový zdroj
- hmotnostní analyzátor
- detektor
- počítačová jednotka

**K produkci iontů (ionizaci) se v hmotnostní spektrometrii používá několik způsobů:**

- ionizace elektronovým paprskem (EI)
- chemická ionizace (CI)
- ionizace rychlými atomy a ionty (FAB, fast atom bombardment)
- působením elektrostatického pole (FI-field ionisation, FD-field desorption)
- desorpce plasmou (PD)
- desorpce laserem za přítomnosti matrice (MALDI-matrix-assisted laser desorption/ionization) / pevných částic (SALDI)
- ionizace elektrosprejem (ESI) / termosprejem (TSI)

**Hmotnostní analyzátory** umožňují v čase a/nebo v prostoru separaci směsi iontů o různých hmotnostech. Rozlišujeme několik druhů hmotnostních analyzátorů:

- **kvadrupolový analyzátor** (je tvořený čtyřmi paralelními kovovými tyčemi uspořádanými symetricky vzhledem k trajektorii procházejících iontů, které jsou vzájemně elektricky propojeny, přičemž ionty produkované v iontovém zdroji jsou postupně propouštěny přes kvadrupol změnou velikosti napětí)
- **ion-cyklotronová rezonance** (ICR, ionty se pohybují po uzavřených kruhových drahách, kde jsou vystavené homogennímu magnetickému poli)
- **iontová past** (funkční obdoba kvadrupolových analyzátorů s uzavřeným elektrostatickým polem)
- **průletové analyzátory** (TOF, ionty jsou z iontového zdroje akcelerovány napětím a stanovuje se doba průletu iontu letovou trubicí k detektoru)

Detektory pak následně poskytují signál úměrný počtu dopadajících iontů, buď detekcí elektrického proudu, vznikajícího přímým dopadem iontů a nebo pomocí elektronového násobiče pracujícího na principu sekundární emise elektronů, kde dochází k zesilování primárního signálu. Výsledkem metody je záznam iontů zkoumaného vzorku, **tzv. hmotnostní spektrum**, na kterém je v závislosti na hodnotě  $m/z$  zobrazeno zastoupení jednotlivých iontů.

### **MALDI (matrix-assisted laser desorption / ionization)**

**Princip:** vzorek je po smíchání s matricí vykrystalizován na MALDI destičce (odpaření) a následně je ozářen pulsním laserem (kdy dochází k ionizaci molekul matrice, molekuly vzorku jsou ionizovány přenosem protonu z matrice). Matrice chrání vzorek před rozpadem, napomáhá odpaření a ionizaci vzorku. (např.: CHCA, DHB)

Měření probíhá buď v **lineárním módu** (přímá dráha letu, měření proteinů) a nebo v **reflektronovém módu** (prodloužení dráhy letu za pomoci reflektornového iontového zrcadla, měření peptidů).

**TOF analyzátor:** rychlosti průletů jednotlivých iontů letovou trubicí jsou závislé na hodnotách jejich efektivních hmotností  $m/z$ .

#### Využití:

Metody hmotnostní spektrometrie patří k nejdokonalejším a nejmodernějším analytickým metodám vůbec. Umožňují nejen kvantitativní a kvalitativní analýzu, ale i analýzu izotopického složení jednotlivých prvků, ze kterých je vzorek složen.

Hmotnostní spektrometrie je metoda všestranná a vysoce senzitivní a její využití má budoucnost především pro identifikaci proteinů a peptidů a stanovování proteinových profilů jak v biologii, tak i v medicíně.

V lékařských oborech je diagnostický proteomický přístup krokem pro časnou detekci nádorových onemocnění a v nalezení nových prognostických a prediktivních markerů, ale své uplatnění má i při studiu genetických onemocnění, v screeningu vrozených metabolických poruch a k detekci metabolitů, které mohou sloužit jako markery pro diferenciální diagnostiku metabolických onemocnění.

Hmotnostní spektrometrie má však své využití i v oblasti přírodních věd, kde má své uplatnění při studiu rostlinných a živočišných genomů.

#### Literatura:

1. Základy hmotnostní spektrometrie, Herychová L., Fakulta vojenského zdravotnictví, Universita obrany, Hradec Králové
2. Mass spectrometry- based proteomics, Aebersold R., Mann M., Nature 2003, March 13; 422(6928)
3. Proteomic database for storage analysis, presentation and retrieval information from mass spectrometry experiments, Allmer J., BMC Bioinformatics 2008 July 7
4. MALDI/MS peptide mass fingerprinting for proteome analysis, Gonnet F., Proteome science 2003

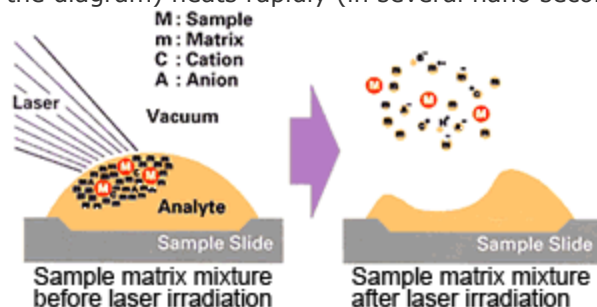
## Principles of MALDI-TOF Mass Spectrometry

### What is MALDI?

MALDI is the abbreviation for "Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization."

The sample for MALDI is uniformly mixed in a large quantity of matrix.

The matrix absorbs the ultraviolet light (nitrogen laser light, wavelength 337 nm) and converts it to heat energy. A small part of the matrix (down to 100 nm from the top outer surface of the Analyte in the diagram) heats rapidly (in several nano seconds) and is vaporized, together with the sample.

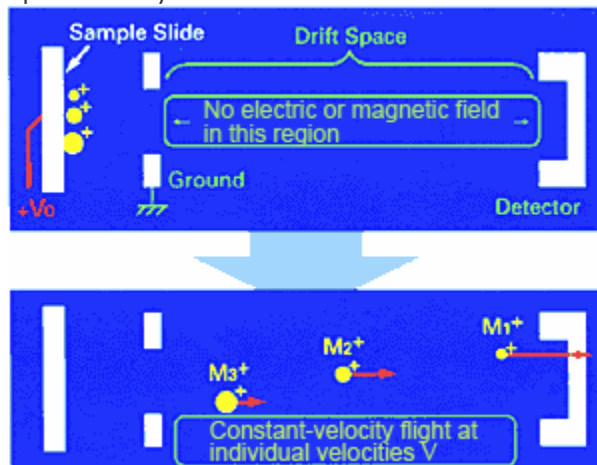


### What is TOF MS?

TOF MS is the abbreviation for Time of Flight Mass Spectrometry.

Charged ions of various sizes are generated on the sample slide, as shown in the diagram. A potential

difference  $V_0$  between the sample slide and ground attracts the ions in the direction shown in the diagram. The velocity of the attracted ions  $v$  is determined by the law of conservation of energy. As the potential difference  $V_0$  is constant with respect to all ions, ions with smaller  $m/z$  value (lighter ions) and more highly charged ions move faster through the drift space until they reach the detector. Consequently, the time of ion flight differs according to the mass-to-charge ratio ( $m/z$ ) value of the ion. The method of mass spectrometry that exploits this phenomenon is called Time of Flight Mass Spectrometry.



For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

This page may contain references to products that are not available in your country.

Please contact us to check the availability of these products in your country.

### [CONTACT SEARCH](#)

---

- **INQUIRY**

- [Product Information](#)

- [Quotation](#)

- [Technical Inquiry](#)

- [Other Inquiry](#)