

Q - 102.3 - 1A

**Asignatura: Tópicos en Espectrometría de Masa**

- Nro de resolución:**
- Carácter:** doctorado/posgrado/actualización
- Duración:** 60 horas
- Carga Horaria Semanal:** 2 semanas  
30 horas semanales
- Teóricas-prácticas (demostrativas)-seminarios: 6 horas por día
- Cantidad de ciclos de dictado anuales:** 1 (uno) Curso de invierno 2017.
- Sistema de evaluación y promoción:** Seminario-examen final
- Puntaje:** 3 puntos.
- Correlatividades:** materia de posgrado- doctorado - actualización
- Responsables:** Dra Rosa Erra Balsells

**FUNDAMENTOS Y OBJETIVOS**

El curso analiza en profundidad las técnicas de espectrometría de masa útiles para el estudio de moléculas termolábiles de alto peso molecular incluyendo biomacromoléculas y polímeros sintéticos. Entre ellas, las de mayor uso en la actualidad son las que utilizan como método de ionización (1) la desorción/ionización molecular asistida por una matriz e inducida por un láser ultravioleta (UV-MALDI) y (2) la nebulización bajo la acción de un campo eléctrico o ionización por electro-spray (ESI) agregándose recientemente (3) métodos híbridos de desorción-ionización como PESI y DESI. En todos los casos se trata de un método suave de ionización-volatilización que permite caracterizar masas molares y estructura de macromoléculas así como su distribución en mezclas de las mismas presentes en superficies (imagen por espectrometría de masa).

**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, PD, FAB, SIMS, LD, MALDI, UV-MALDI), en nebulización (ES, TESI, ESI) y desorción-nebulización (PESI, PPESI, DESI). Campo de aplicación de cada uno, ventajas y limitaciones. La problemática de preparación de las muestras para UV-MALDI-MS y ESI-MS y en los demás casos.

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

  
Dra. María Carla Marino  
Directora  
Depto. de Química Orgánica



(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, E-B Q, IT, FTICR, OrbiTrap), campo de aplicación actual, 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 (EI), IRMPD, FI (CD). Espectrometría de masa tandem (MS<sup>n</sup>). Modo de operación PSD en el analizador de "tiempo de vuelo" (TOF-PSD y TOF/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, FTICR, 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"

8- Macromoléculas presentes en superficies naturales o sintéticas. Análisis cualitativo y cuantitativo de su distribución. Perfiles-mapas moleculares de superficies (Imagen por espectrometría de masa; IMS). Posibilidades actuales de IMS: SIMS, LD, MALDI, PESI y DESI. Aplicaciones. Macromoléculas presentes en célula intacta.

9-Movilidad iónica diferencial en fase gaseosa (Ion Mobility, IM) como accesorio en el espectrómetro de masa (Ion Mobility Mass Spectrometry, IMMS). Fundamento. Diferenciación de especies con idéntico peso molecular y diferente estructura molecular (isómeros). Aplicaciones: moléculas quirales, hidratos de carbono, complejos proteicos, entre otros.

10-Conclusiones. Desorción (UV-MALDI) vs nebulización (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

  
Dra. María Carla Marino  
Directora  
Depto. de Química Orgánica





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.

### Bibliografía

- 1- J.B. Fenn, Electrospray Wings for Molecular Elephants, Nobel Lecture, <http://www.nobel.se>
- 2- K. Tanaka, The origin of macromolecule ionization by laser irradiation, Nobel Lecture, <http://www.nobel.se>
- 3- F. W. McLafferty and F. Turecek, Interpretation of Mass Spectra, University Science Books, Mill Valley, California (1993).
- 4 - J.H. Gross, Mass Spectrometry, Springer, 2004
- 5 - E. de Hoffmann, V. Stroobant, Mass Spectrometry, Principle and Applications 3<sup>th</sup> edition, Wiley, UK (2007).
- 6- Hillenkamp F, Jasna Peter-Katalinic J (eds) (2007) MALDI MS. A Practical Guide to Instrumentation, Methods and Applications. Wiley-VCH, Weinheim.
- 7 - R.B. Cole Electrospray and MALDI Mass Spectrometry. Fundamentals, Instrumentation, Practicalities, and Biological Applications. 2nd edition. Wiley, UK (2010).
- 8- K. Hiraoka (ed.) Fundamentals of Mass Spectrometry, Springer, Science+Business Media New York 2013.
- 9- R. P. Newton and T. J. Walton, Applications of Modern Mass Spectrometry in Plant Science Research, Clarendon Press, Oxford, London (1996)
- 10 - D. C. Liebler, Introduction to Proteomics; Tools for the New Biology. Humana Press. Totowa, NJ (2002).
- 11- M. Mann and O. N. Jensen, Proteomic analysis of post-translational modifications ([www.nature.com/naturebiotechnology](http://www.nature.com/naturebiotechnology)) Vol 21 March 2003

*Cole*  
*Rosa E. P. P. - BALSILLAS*

Dra. Marfa Carla Marino  
Directora  
Deplo. de Química Orgánica