

**Asignatura: Avances en Espectrometría de Masa de Macromoléculas****N ro de resolución:****Carácter:** materia de doctorado (optativa)**Duración:** 60 horas**Carga Horaria Semanal:** 10 semanas

6 horas semanales

teóricas: 4 horas

práctico: 2 horas

Cantidad de ciclos de dictado anuales: 1 cuatrimestre**Sistema de evaluación y promoción:** Seminario-examen final**Puntaje:** 3 puntos.**Correlatividades:** Materia de doctorado. No tiene correlatividades.**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). Ambas proporcionan un método suave de ionización-volatilización que permite caracterizar masas molares y estructura de macromoléculas así como su distribución en mezclas de las mismas.

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), 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) 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

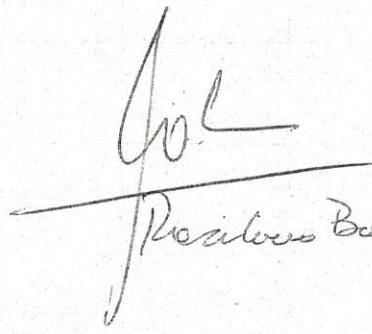
Determinación de pesos moleculares y de estructuras de bio-macromoléculas (proteínas, nucleótidos, nucleósidos, vitaminas, etc.) y macromoléculas en general. Análisis de modificaciones postraduccionales en proteínas. Análisis de complejos moleculares nativos. Folding y unfolding de proteínas. Análisis 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 organometálicos y en polímeros sintéticos.

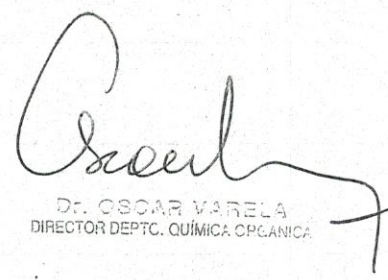
Bibliografía

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>
- 180- 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 - E. de Hoffmann, V. Stroobant, Mass Spectrometry, Principle and Applications 3th edition, Wiley, UK (2007).
- 21 - J.H. Gross, Mass Spectrometry, Springer, 2004
- 22 - R.B. Cole Electrospray and MALDI Mass Spectrometry. Fundamentals, Instrumentation, Practicalities, and Biological Applications. 2nd edition. Wiley, UK (2010).


Roberto Balcells


Dr. OSCAR VARELA
DIRECTOR DEPTC. QUÍMICA ORGÁNICA



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Referencia Expte. Nº 500.957/ 2012

Buenos Aires, 6 AGO 2012

VISTO:

las notas presentadas por el Dr. Oscar Varela, Director del Departamento de Química Orgánica, mediante las cuales eleva la información y el programa del curso de posgrado **Avances en espectrometría de masa de macromoléculas** que será dictado durante el año 2012 por la Dra. Rosa Erra-Balsells.

CONSIDERANDO:

lo actuado por la Comisión de Doctorado de esta Facultad el 03/07/2012,
lo actuado por la Comisión de Enseñanza, Programas, Planes de Estudio y Posgrado,
lo actuado por este cuerpo en Sesión Ordinaria realizada en el día de la fecha,
en uso de las atribuciones que le confiere el Artículo Nº 113º del Estatuto Universitario,

**EL CONSEJO DIRECTIVO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
RESUELVE:**

Artículo 1º: Autorizar el dictado del Curso de Posgrado **Avances en espectrometría de masa de macromoléculas**, de 60 hs. de duración.

Artículo 2º: Aprobar el Programa del Curso de Posgrado **Avances en espectrometría de masa de macromoléculas** obrante a fs 4 a 6 del expediente de la referencia.

Artículo 3º: Aprobar un puntaje de tres (3) puntos para la Carrera del Doctorado.

Artículo 4º: Aprobar un arancel de 20 Módulos. Disponer que los montos recaudados sean utilizados conforme a lo dispuesto por la Resolución CD Nº 072/03.

Artículo 5º: Comuníquese a la Dirección del Departamento de Química Orgánica, a la Biblioteca de la FCEyN y a la Subsecretaría de Postgrado (con fotocopia del Programa incluida fs 4 a 6). Cumplido archívese.

Resolución CD Nº
SP/med 11/07/2012

-- 1729

Dr. JAVIER LÓPEZ DE CASNAVIVE
SECRETARIO ACADÉMICO

Dr. JORGE ALIAGA
DEGANS

NO FOLIO 9.02 2012
1

Asignatura: Avances en Espectrometría de Masa de Macromoléculas

N ro de resolución:

Carácter: materia de doctorado (optativa)

Duración: 60 horas

Carga Horaria Semanal: 10 semanas

6 horas semanales

teóricas: 4 horas

práctico: 2 horas

Cantidad de ciclos de dictado anuales: 1 cuatrimestre

Sistema de evaluación y promoción: Seminario-examen final

Puntaje: 3 puntos.

Correlatividades: Materia de doctorado. No tiene correlatividades.

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). Ambas proporcionan un método suave de ionización-volatilización que permite caracterizar masas molares y estructura de macromoléculas así como su distribución en mezclas de las mismas.

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), 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 (MS^n). 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) 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?

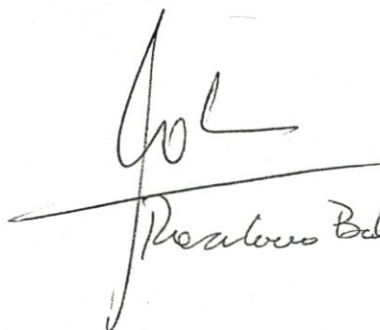
Parte 2: Aplicaciones


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 organometálicos y en polímeros sintéticos.

Bibliografía

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 - E. de Hoffmann, V. Stroobant, Mass Spectrometry, Principle and Applications 3th edition, Wiley, UK (2007).
- 21 - J.H. Gross, Mass Spectrometry, Springer, 2004
- 22 - R.B. Cole Electrospray and MALDI Mass Spectrometry. Fundamentals, Instrumentation, Practicalities, and Biological Applications. 2nd edition. Wiley, UK (2010).


Francisco Belzells


Dr. OSCAR VARELA
DIRECTOR DEPTC. QUÍMICA ORGÁNICA



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Referencia Expte. Nº 500.957/ 2012

Buenos Aires, 6 AGO 2012

VISTO:

las notas presentadas por el Dr. Oscar Varela, Director del Departamento de Química Orgánica, mediante las cuales eleva la información y el programa del curso de posgrado **Avances en espectrometría de masa de macromoléculas** que será dictado durante el año 2012 por la Dra. Rosa Erra-Balsells.

CONSIDERANDO:

lo actuado por la Comisión de Doctorado de esta Facultad el 03/07/2012,
lo actuado por la Comisión de Enseñanza, Programas, Planes de Estudio y Posgrado,
lo actuado por este cuerpo en Sesión Ordinaria realizada en el día de la fecha,
en uso de las atribuciones que le confiere el Artículo Nº 113º del Estatuto Universitario,

**EL CONSEJO DIRECTIVO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
RESUELVE:**

Artículo 1º: Autorizar el dictado del Curso de Posgrado **Avances en espectrometría de masa de macromoléculas**, de 60 hs. de duración.

Artículo 2º: Aprobar el Programa del Curso de Posgrado **Avances en espectrometría de masa de macromoléculas** obrante a fs 4 a 6 del expediente de la referencia.

Artículo 3º: Aprobar un puntaje de tres (3) puntos para la Carrera del Doctorado.

Artículo 4º: Aprobar un arancel de 20 Módulos. Disponer que los montos recaudados sean utilizados conforme a lo dispuesto por la Resolución CD Nº 072/03.

Artículo 5º: Comuníquese a la Dirección del Departamento de Química Orgánica, a la Biblioteca de la FCEyN y a la Subsecretaría de Postgrado (con fotocopia del Programa incluida fs 4 a 6). Cumplido archívese.

Resolución CD Nº
SP/med 11/07/2012

-- 1729

Dr. JAVIER LÓPEZ DE CASENAVE
SECRETARIO ACADEMICO

Dr. JORGE ALIAGA
DECANO