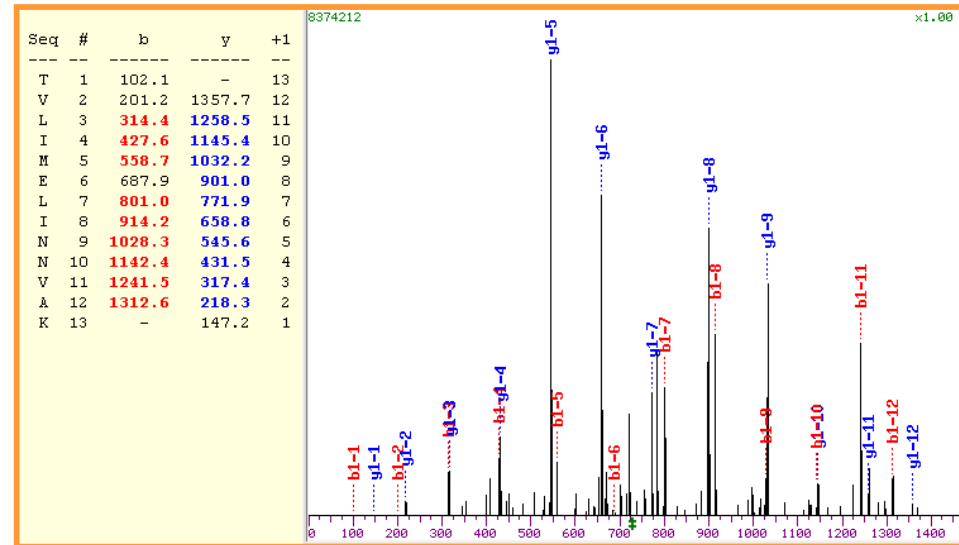
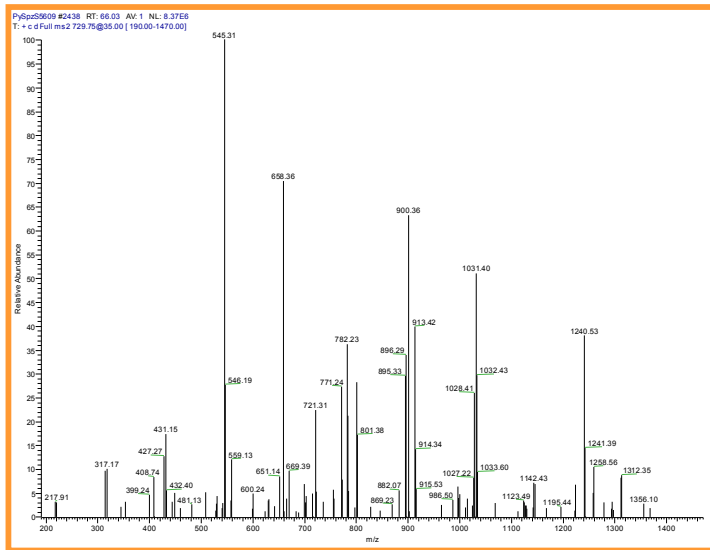


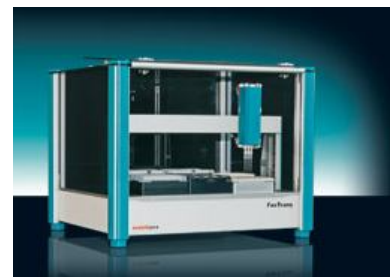
Спектроскопия в протеомике. Применение технологий MALDI и SELDI в онкологии.



SPECTROLAB

— это группа компаний, работающая в области поставок и внедрения спектрального и биоаналитического оборудования, приборов для экологического мониторинга.

Фирмы работают на рынке аналитического оборудования более 17 лет и обладают значительным опытом по эксплуатации, наладке, методологии систем физико-химического и биоаналитического анализа и мониторинга атмосферы и промвыбросов.



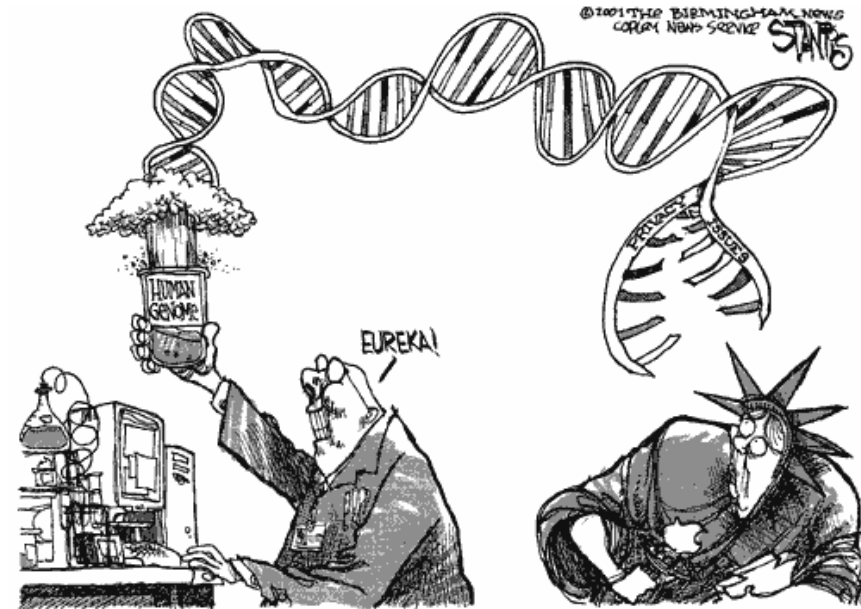
Протеомика – наука о белках

Протеомика - системный анализ белков, выделенных из данного организма.



ПРОТЕОМИКА

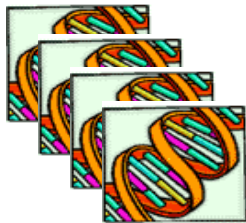
Динамическая природа протеомы клетки или ткани, и многие белковые изменения при заболевании не могут быть предсказаны посредством анализа генома.



ПРОТЕОМИКА

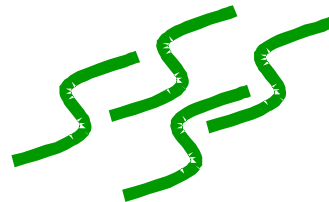
ОСНОВНОЙ ИСТОЧНИК ИНФОРМАЦИИ
ОБ ИЗМЕНЕНИЯХ В ОРГАНИЗМЕ

ГЕНОМ



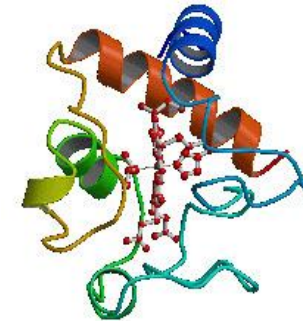
ГЕНЫ

ТРАНСКРИПТОМ



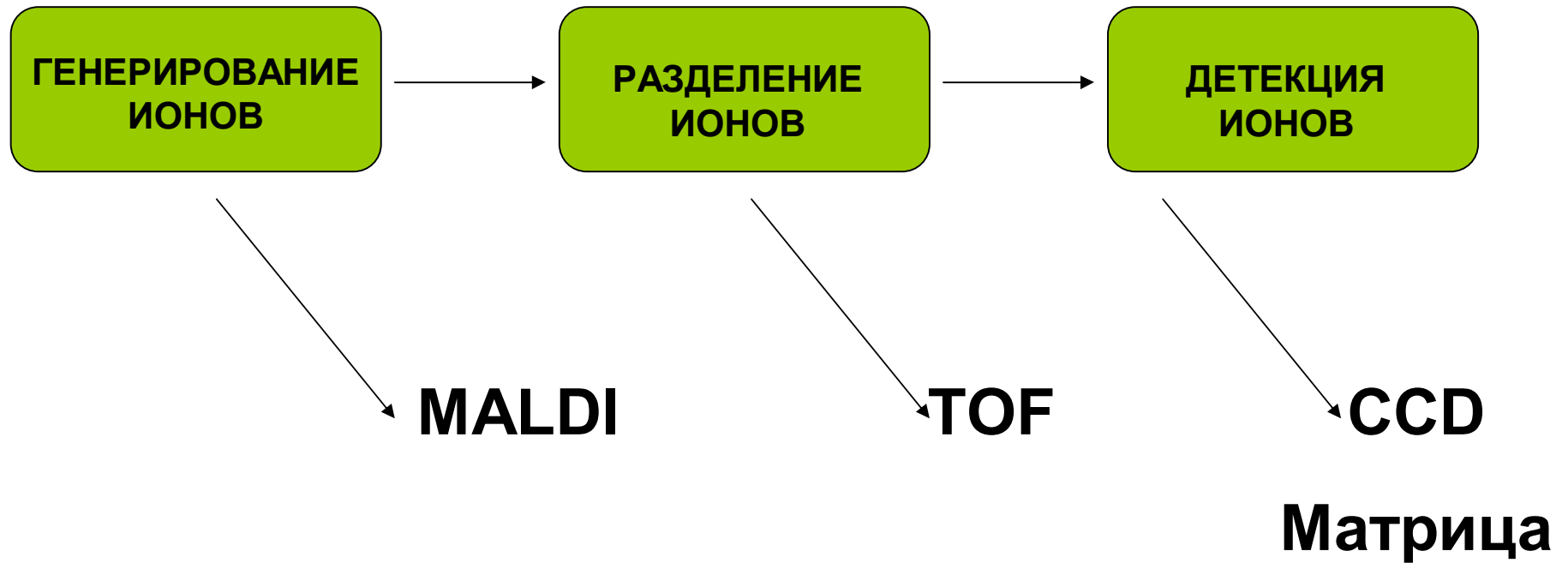
РНК

ПРОТЕОМ



БЕЛКИ

МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ



ПРИНЦИП МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ



MALDI

Matrix-assisted laser desorption/ionization –

MALDI –

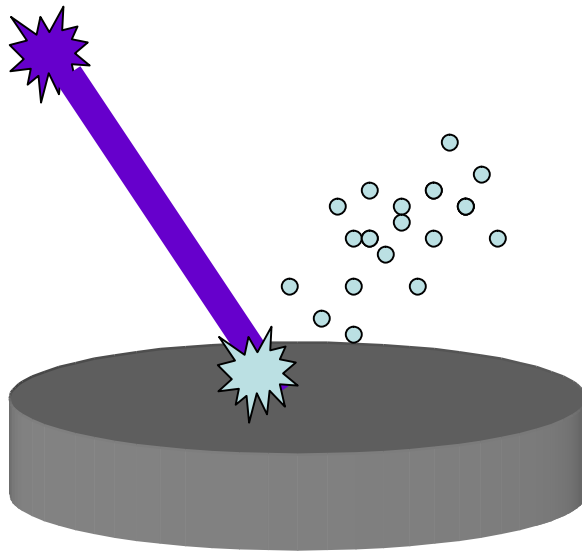
аналитический инструмент, используемый
в биохимии, биомедицине и клинических
исследованиях для анализа
высокомолекулярных соединений

MALDI

- **Sample is ionized by bombarding sample with laser light**
- **Sample is mixed with a UV absorbant matrix (sinapinic acid for proteins, 4-hydroxycinnaminic acid for peptides)**
- **Light wavelength matches that of absorbance maximum of matrix so that the matrix transfers some of its energy to the analyte (leads to ion sputtering)**

ТЕХНОЛОГИЯ MALDI

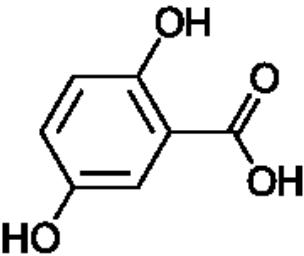
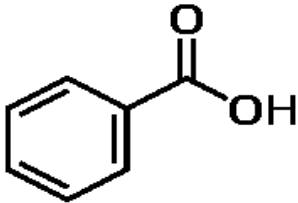
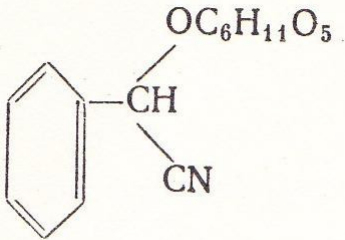
337 нм УФ ЛАЗЕР



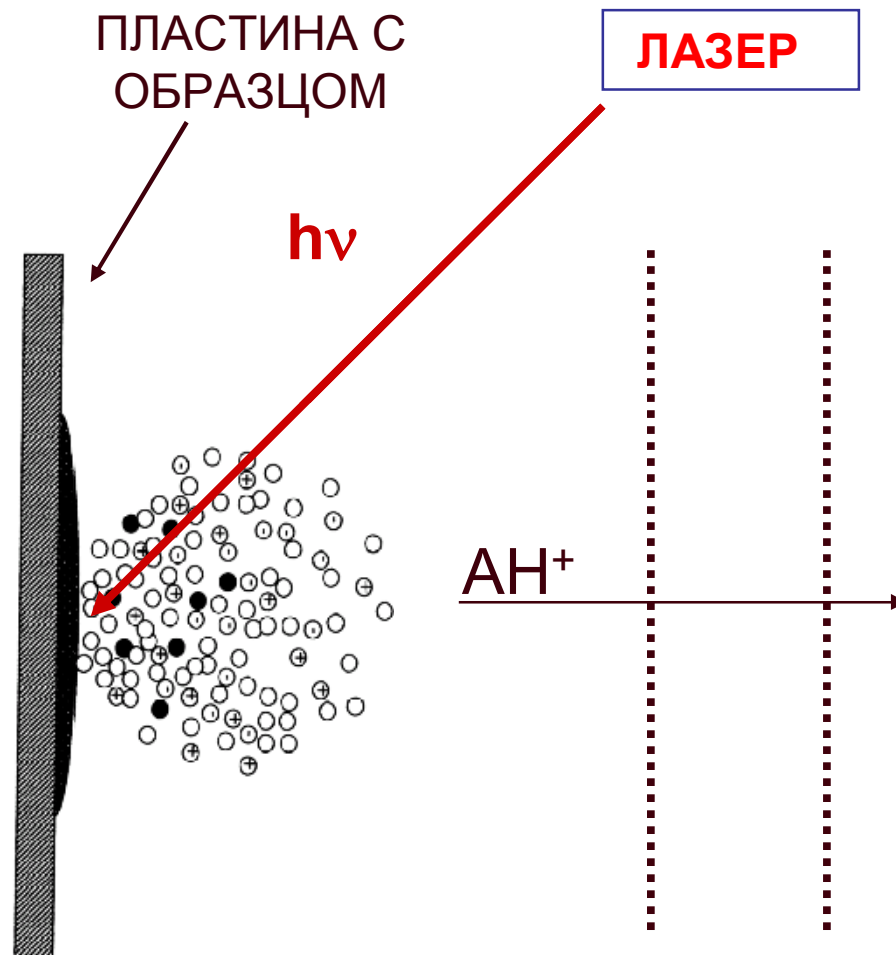
MALDI

Матрица MALDI – нелетучий твёрдый материал, обеспечивающий процессы десорбции и ионизации посредством поглощения лазерного излучения. Как результат, и матрица, и любой образец, встроенный в неё, испаряются.

Примеры матрицы в технологии MALDI

<p>2,5- Дигидроксibenзо йная кислота</p>		<p>Пептиды, олигонуклеотиды, посахариды, синтетические полимеры.</p>
<p>2-бензойная кислота</p>		<p>Пептиды,, посахариды, синтетические полимеры.</p>
<p>Синильная кислота</p>	 <p>Пруназин</p>	<p>Пептиды,, белки, липиды</p>

MALDI

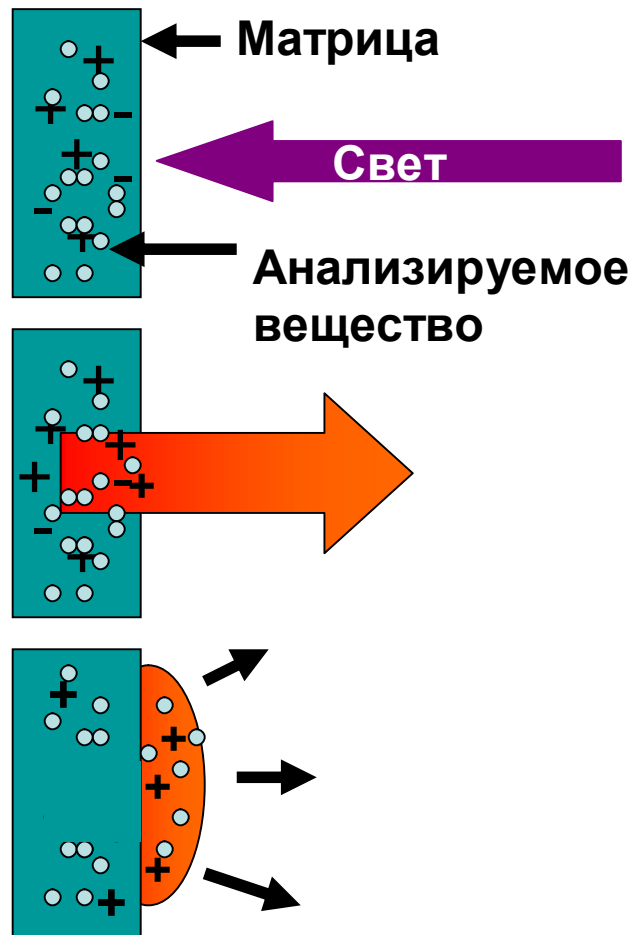


Образец А
смешивается с
избытком
матричного
материала М и
высушивается на
воздухе.

Аналит под
действием
излучения
ионизируется:



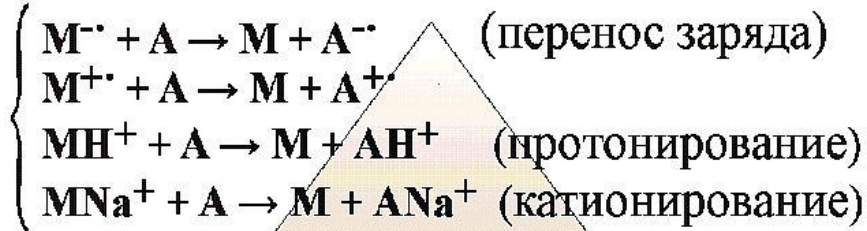
Ионизация MALDI



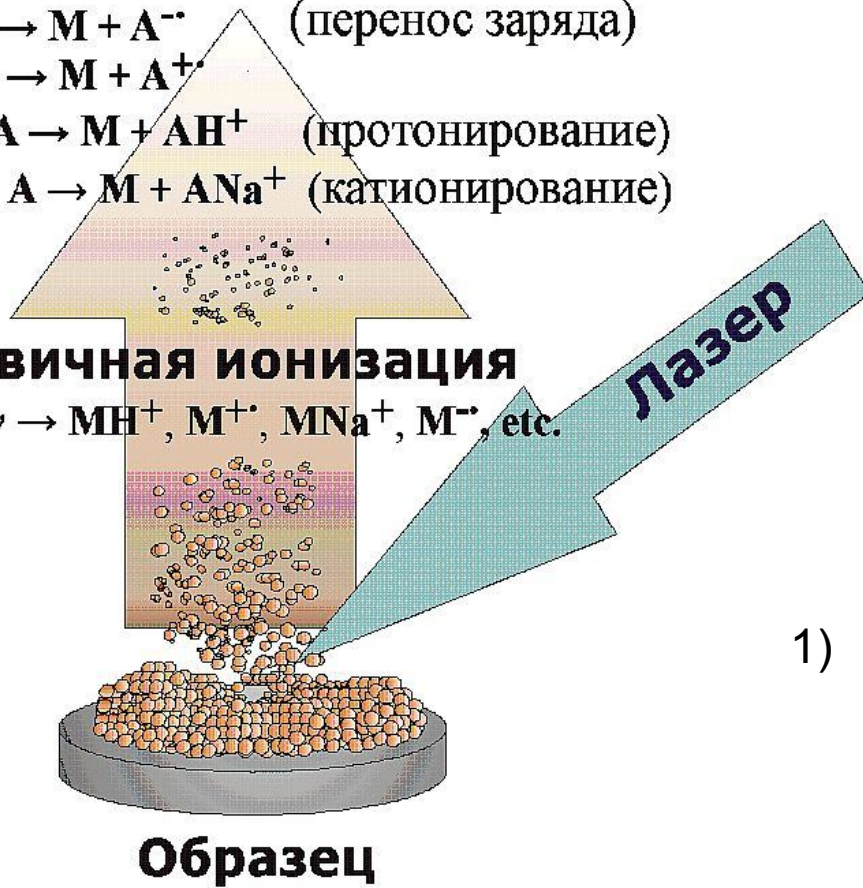
- Поглощение УФ-излучения хромофорных матрицы и ионизации матрицы
- Диссоциация матрицы, изменение фазы до сверхсжатого газа, перенос заряда на молекулы аналита
- Расширение матрицы со сверхзвуковой скоростью, аналита захваченных в расширении матрицы шлейфа (взрыв / «факел»)

Вторичная ионизация

Ион-молекулярные реакции:



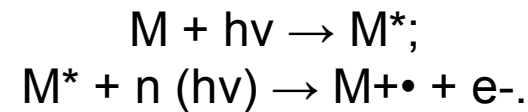
Первичная ионизация



Первичная ионизация

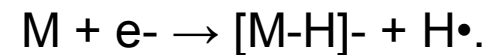
1) Фотоионизация

В простейшем случае фотоионизация молекул может быть представлена в виде прямой многофотонной ионизации:

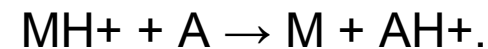


Вторичная ионизация

1) Реакция «матрица-матрица»

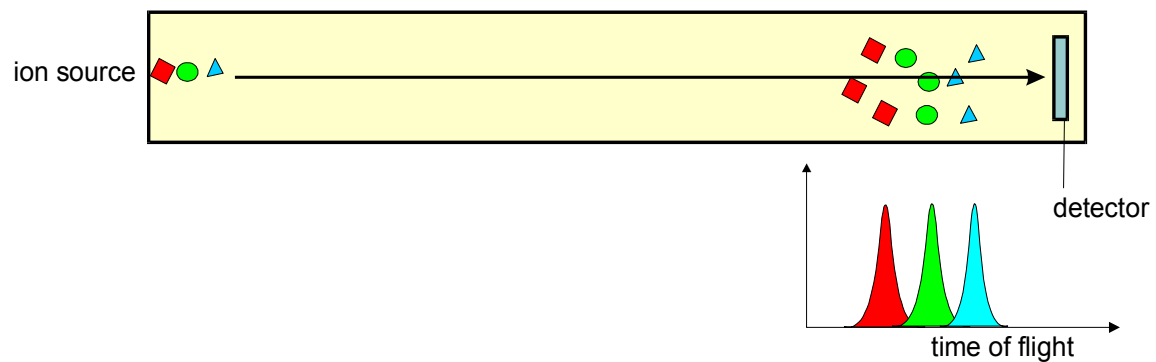


2) Реакция «матрица- анализируемое вещество»

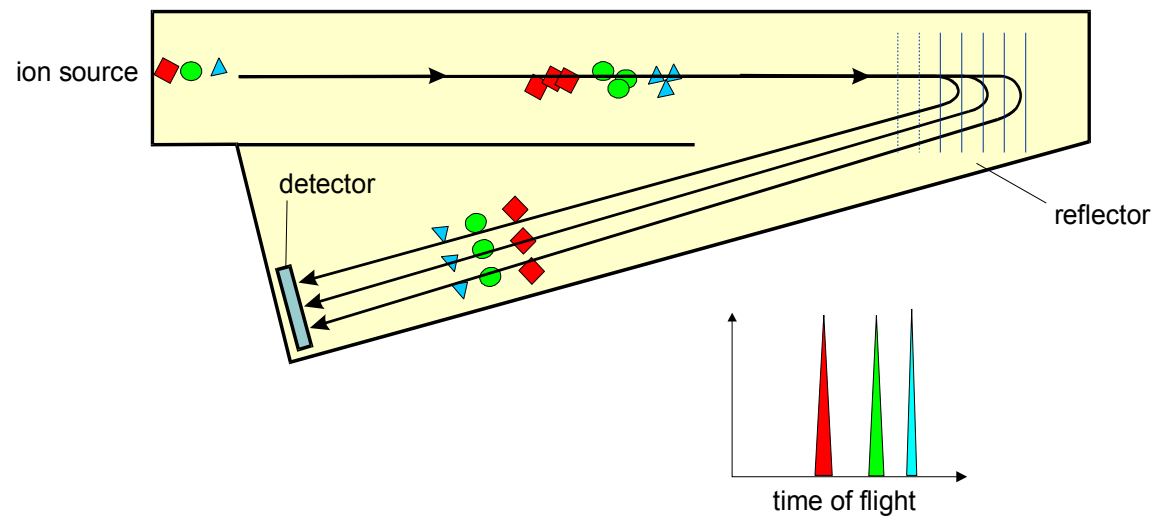


Принцип работы MALDI-TOF MASS

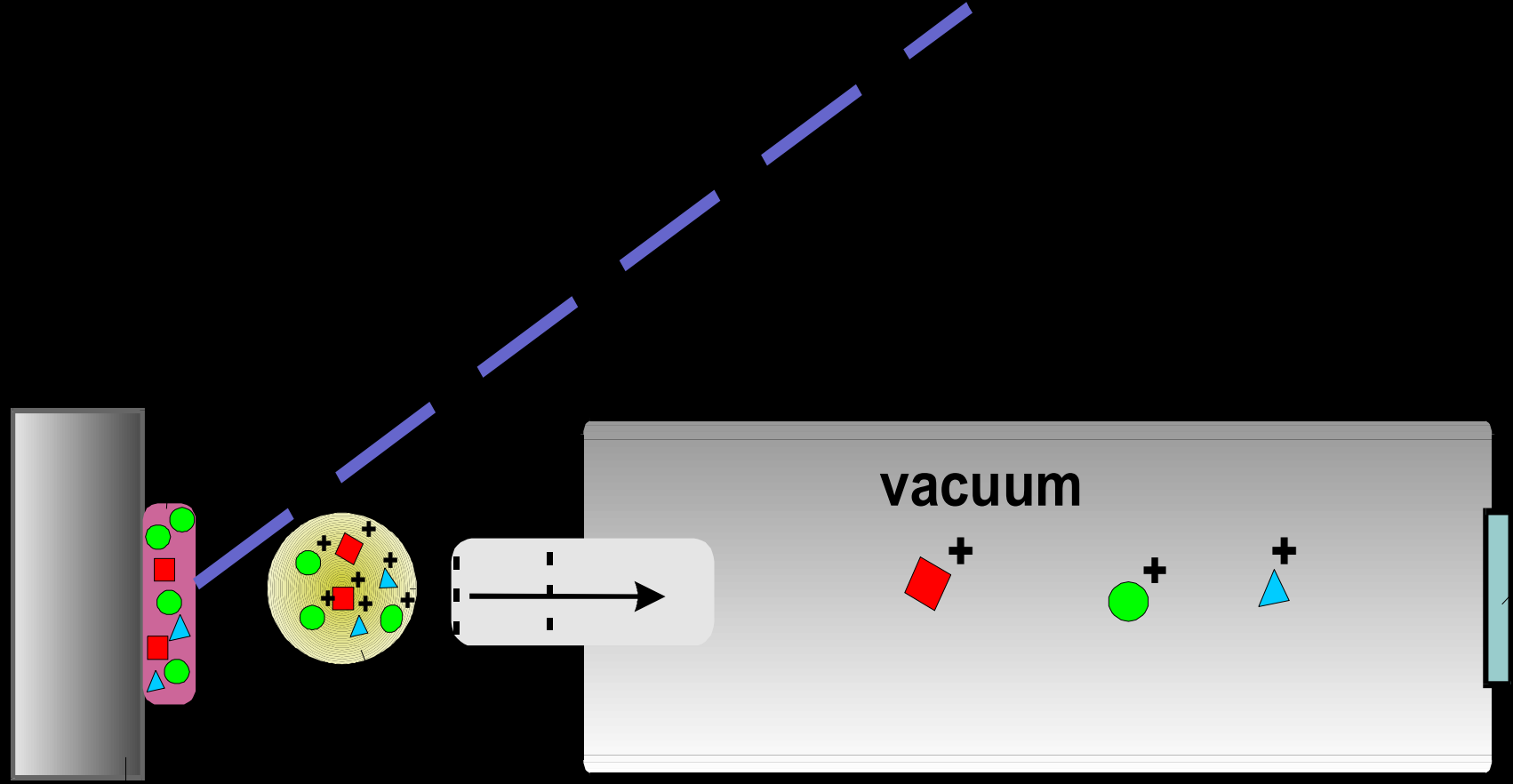
Linear Time Of Flight tube



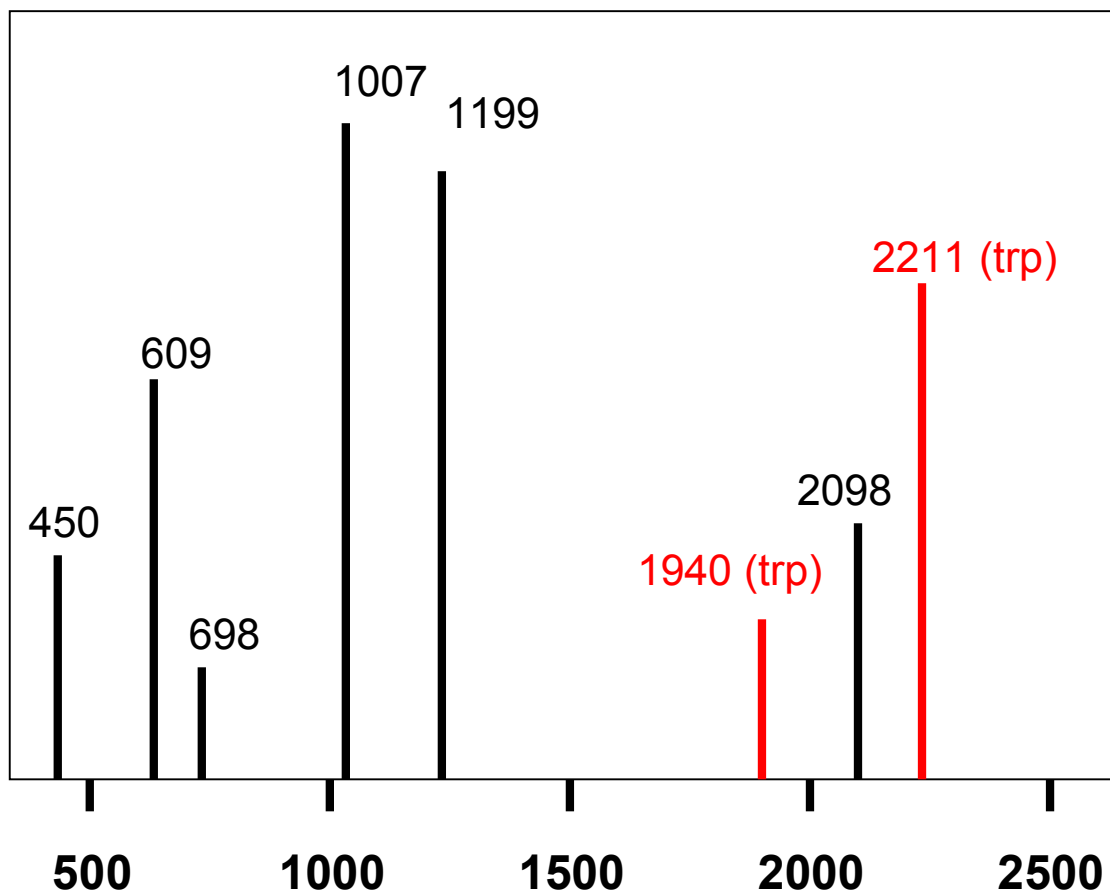
Reflector Time Of Flight tube



Cxema MALDI-TOF MASS



(MALDI) спектры




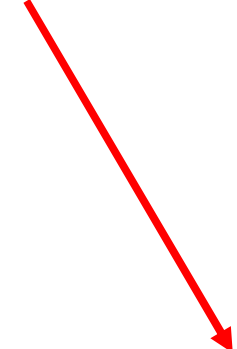


Query vs. Database

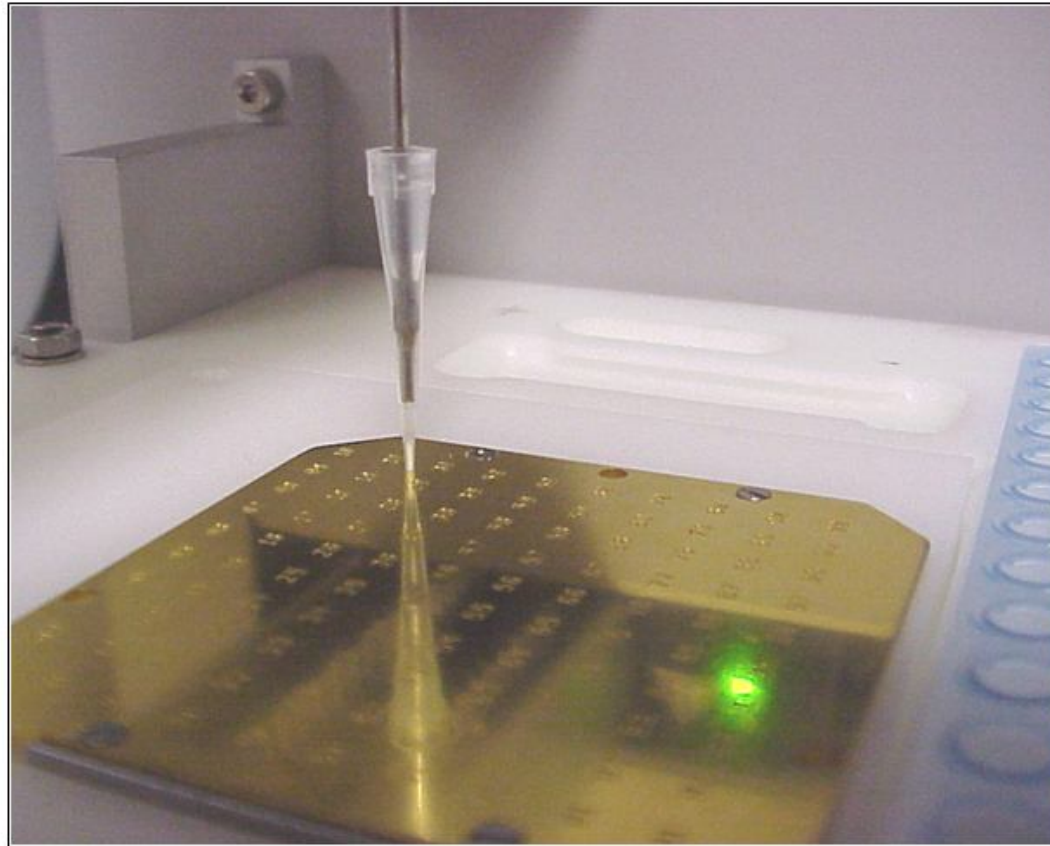
Query Masses

Database Mass List

Results

450.2201		450.2017 (P21234)	2 Unknown masses
609.3667		609.2667 (P12345)	
698.3100		664.3300 (P89212)	1 hit on P21234
1007.5391		1007.4251 (P12345)	3 hits on P12345
1199.4916		1114.4416 (P89212)	Conclude the query protein is P12345
2098.9909		1183.5266 (P12345)	
		1300.5116 (P21234)	
		1407.6462 (P21234)	
		1526.6211 (P89212)	
		1593.7101 (P89212)	
		1740.7501 (P21234)	
		2098.8909 (P12345)	

MALDI



Планшет для анализа MALDI

ВНЕШНИЙ ВИД MALDI СПЕКТРОМЕТРА



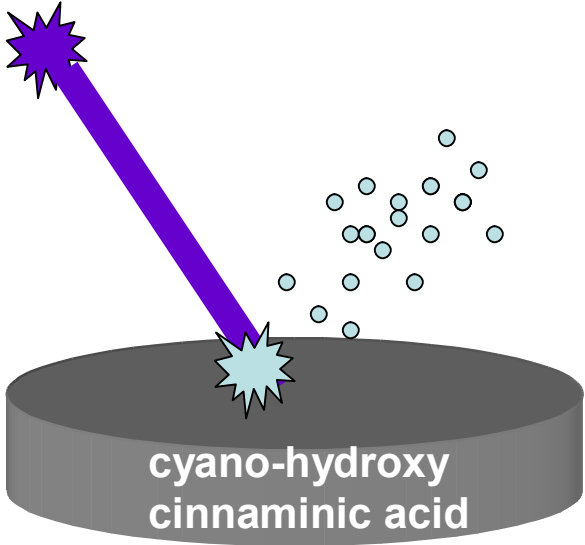
MALDI

Ограничения в применении

- фон матрицы, который может быть проблемой для соединений с массой ниже 700 дальтон. Помехи этого фона сильно зависят от материала матрицы
- затруднение при анализе сложных систем (биомолекулы сыворотки крови могут дать масс-спектр, не поддающийся расшифровке).

MALDI = SELDI

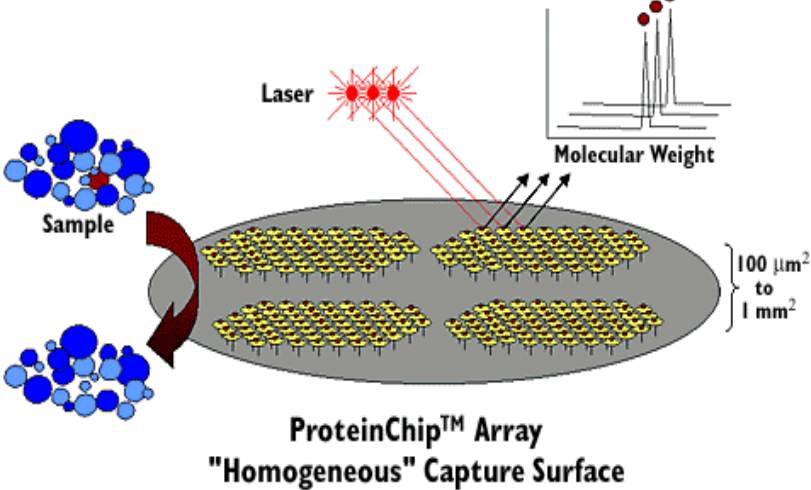
337 nm UV laser



MALDI

SELDI ProteinChip™ Arrays for Proteomics

- Sample goes *directly* onto the ProteinChip™ Array
- Proteins ● are captured, *retained* and purified *directly* on the chip (affinity capture)
- Retentate map is "read" by Surface-Enhanced Laser Desorption/Ionization (SELDI)
- Retained proteins are processed directly on the chip



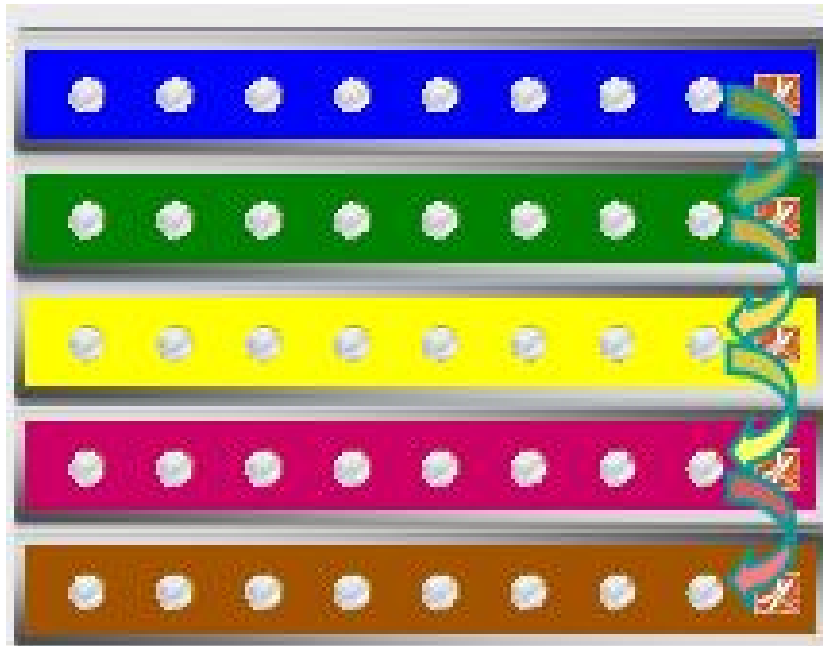
SELDI

SELDI-TOF-MS (surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry - экспрессный и высокоселективный метод в анализе белков и пептидов, который обладает высокой воспроизводимостью результатов и имеет фемтомолярный диапазон измерений

ВНЕШНИЙ ВИД SELDI СПЕКТРОМЕТРА

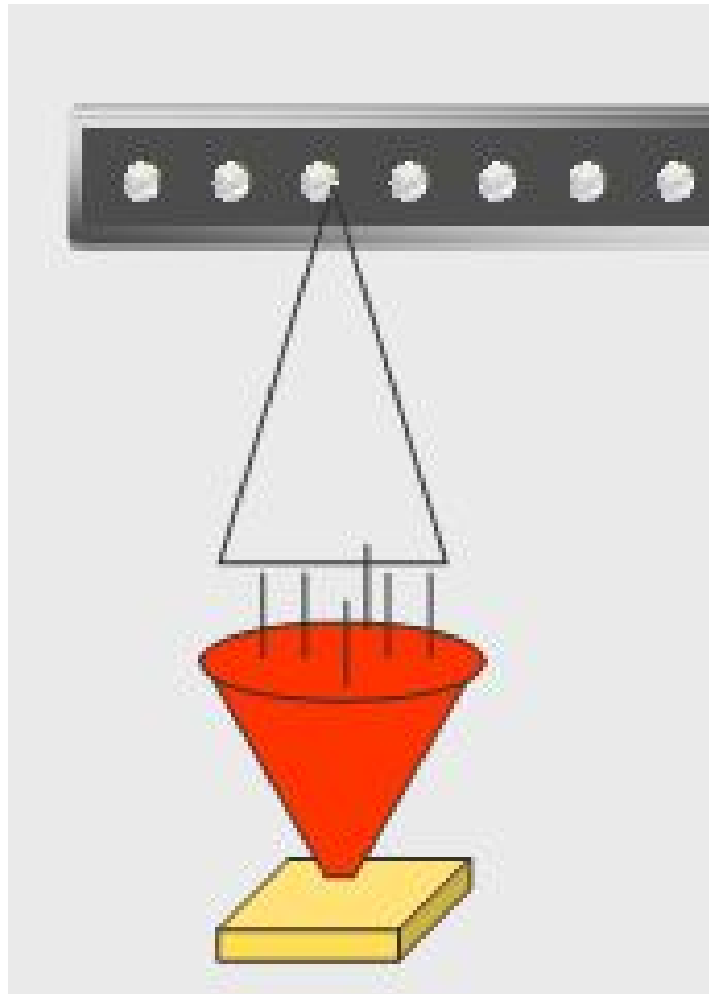


SELDI



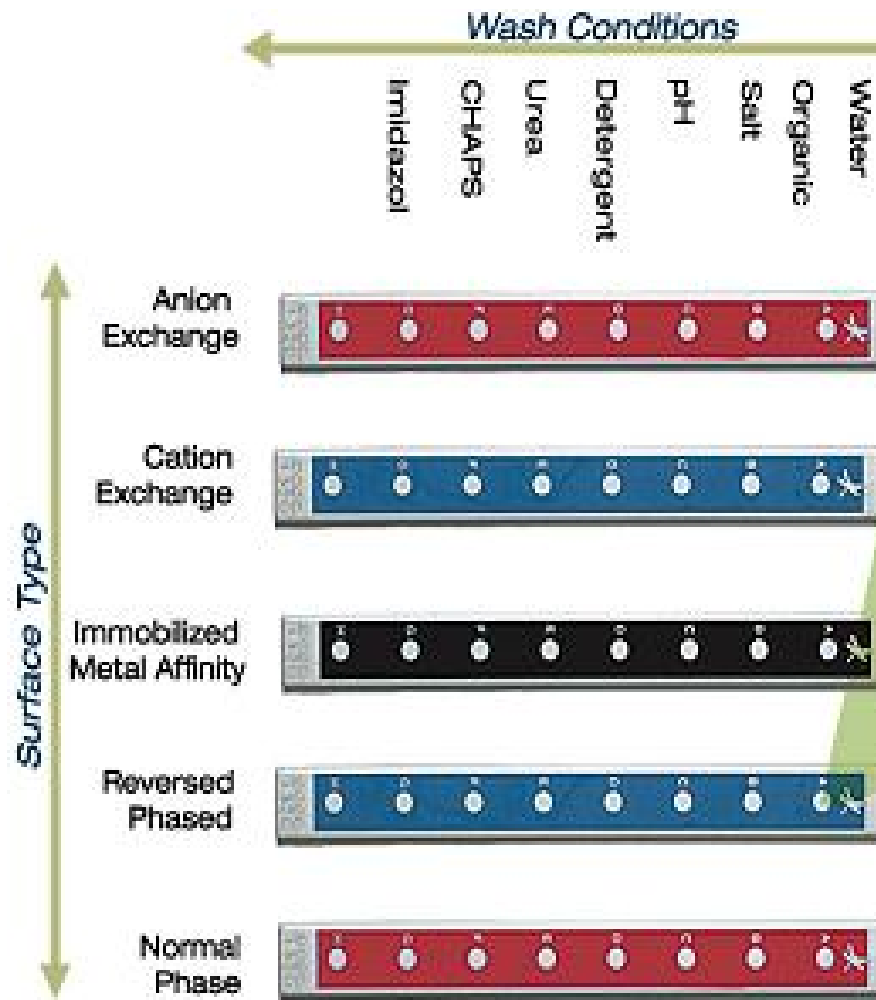
*Внешний вид
фирменных
чипов
Ciphergen® для
анализа по
технологии
SELDI*

SELDI



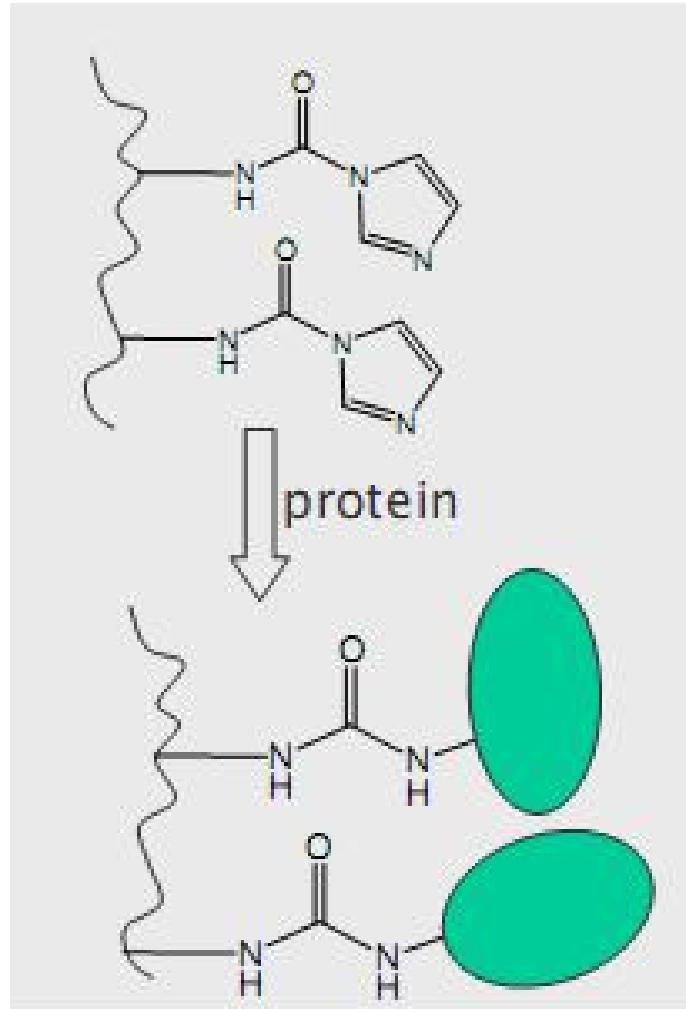
*Модифицирован
ный участок
поверхности
спота,
способный
селективно
сорбировать
определенный
вид
биомолекул*

SELDI



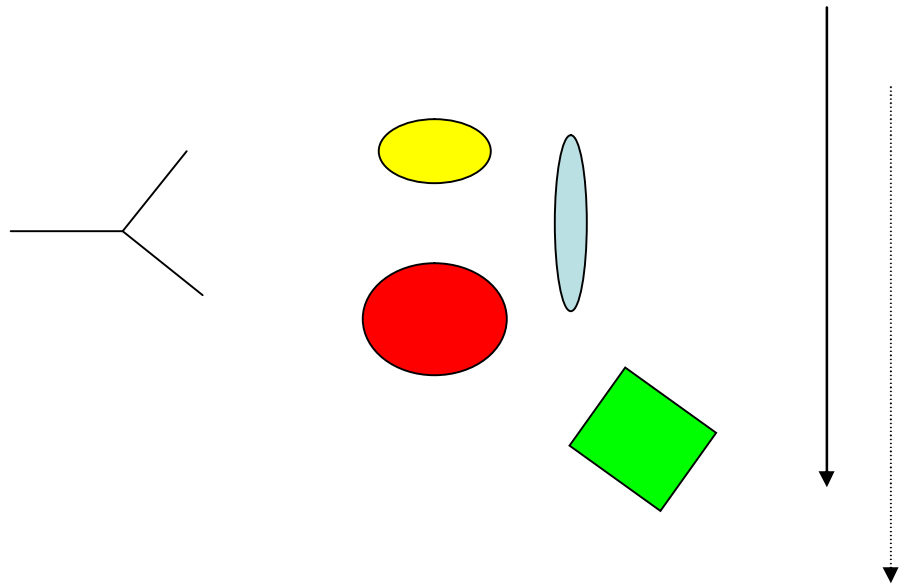
*Типы
поверхностей
и способы
отмывки
чипов перед
анализом*

SELDI

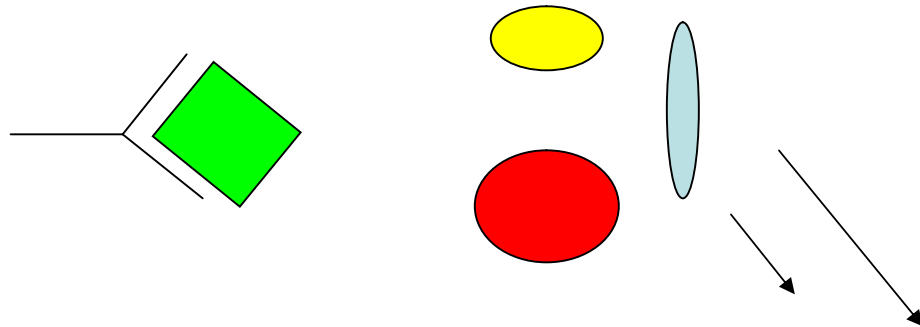


*Образец амино-
поверхности,
активированная
карбонилдиимид
азолом*

SELDI



Основа
технологии
SELDI –
связывание
веществ по
типу «ключ-
замок»

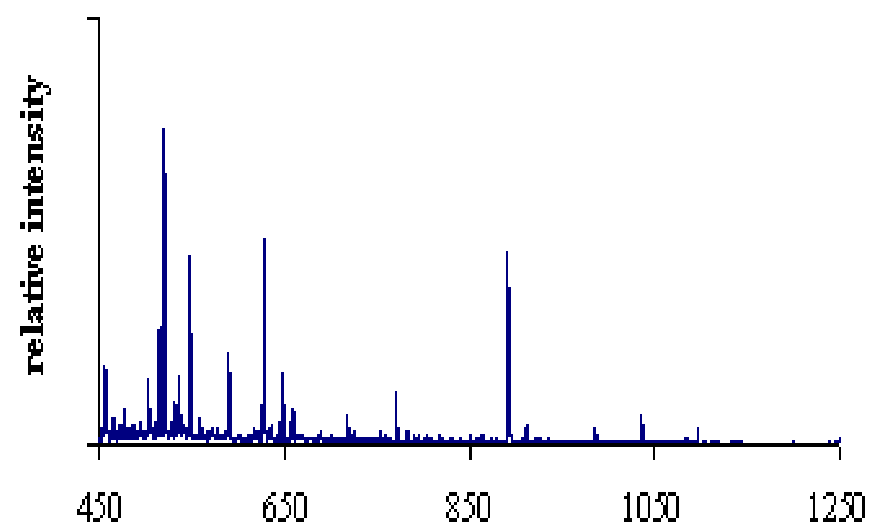


ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ MALDI/SELDI В МЕДИЦИНЕ Онкология

- Детекции онкомаркеров.
- Определение точечных мутаций в белках.
- Контроль за ходом лечения онкологии
- Детекции химиопрепаратов.
- Выявление других заболеваний, обусловленных белковыми модификациями внутри организма
- Фармакология/онкология
- Детекции новых белковых молекул методом «отпечатка пальца» MS (PMF)

ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ, MALDI/SELDI В НАУКЕ

Метод «отпечатка пальца» MS в протеомике (PMF)



Метод «отпечатка пальца» MS в протеомике (PMF)

- **Используется для идентификации белковых пятен на геле (2 D электрофорез) или белковых пиков при использовании ВЭЖХ**
- **Зависит от пробоподготовки, каким методом «резался» белок .**
- **Требует базу данных известных последовательностей**

Принцип метода «Отпечатка пальца»

<u>Белковый сиквенс</u>	<u>Масса</u>
-------------------------	--------------

>Белок 1

acedfhsa**k**dfqea
sdfp**k**ivtmeeewe
ndadnfe**k**qwfe

4842.05

>Белок 2

ace**k**dfhsadfqea
sdfp**k**ivtmeeewe
n**k**dadnfeqwfe

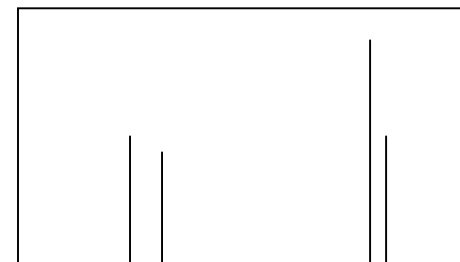
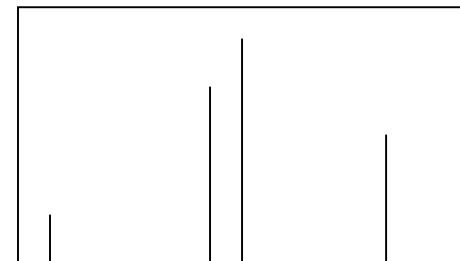
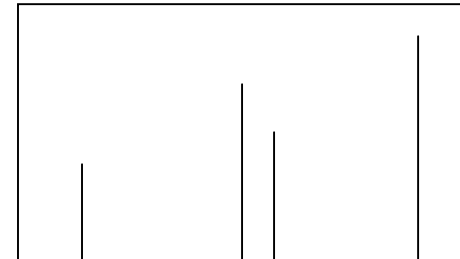
4842.05

>Белок 3

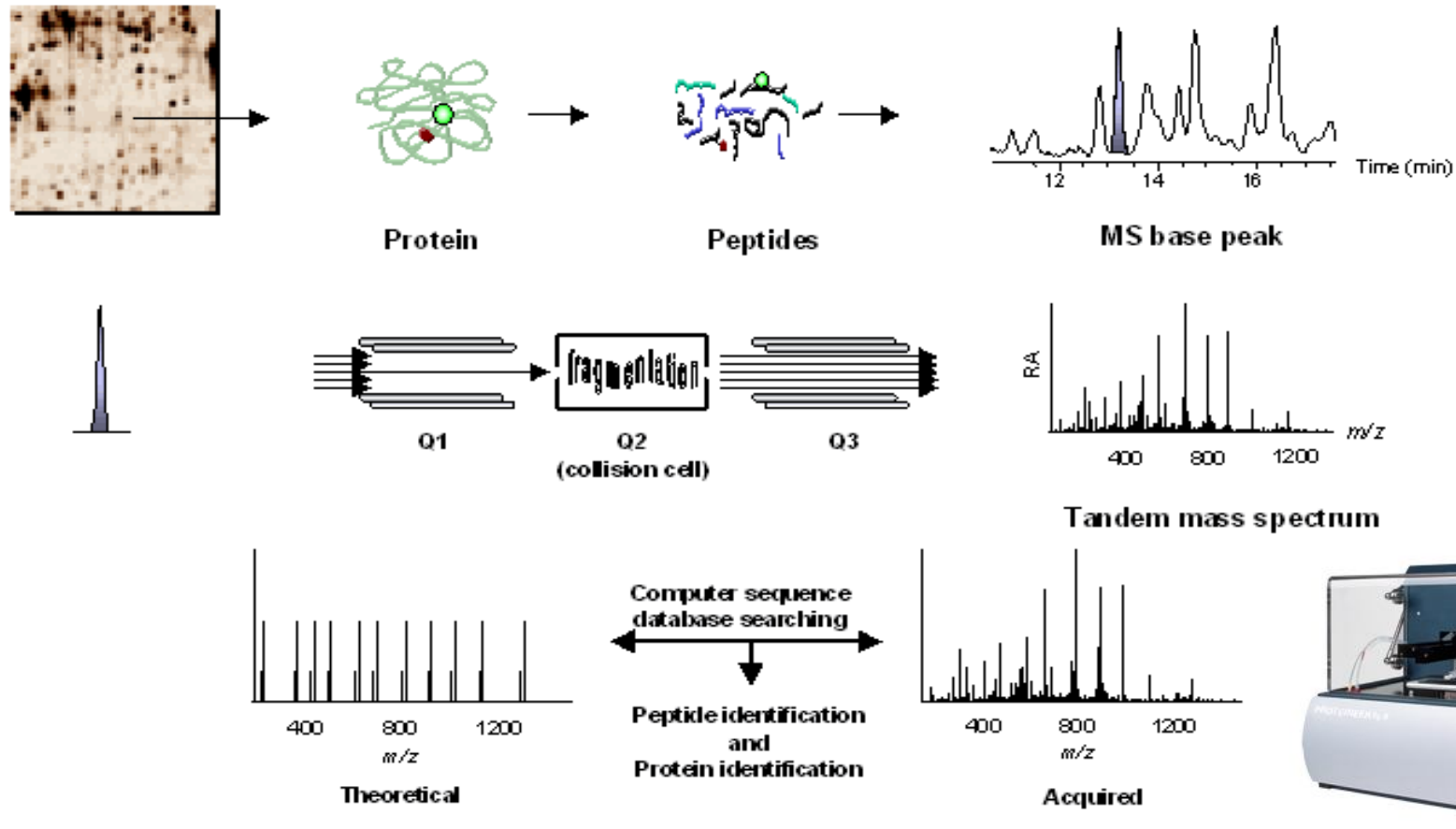
acedfhsadfqea**k**
sdfp**k**ivtmeeewe
nda**k**dnfeqwfe

4842.05

Масс-спектры



MALDI/SELDI-MS и протеомика



MALDI/SELDI-TOF MS LC/MALDI-TOF MS



autoflex™



ultrafleXtreme™



microflex LT

PROTEINEER fc II:
The LC-MALDI
Fraction Collector



LC/MS Ion Trap



- amaZon ETD

- amaZon X



LC/MS o-TOF



- micrOTOF II

UHP-TOF MS



- MaXis

ICP-MS



- 810-MS and
- 820-MS

BRUKER DALTONICS®

OmniFLEX



Настольный время-пролетный масс-спектрометр с ионизацией пробы лазерной десорбцией (MALDI-TOF MS) нового поколения. Высокая производительность и компактность, источник ионов с пространством для 100 образцов, простая в использовании программная оболочка, а также рефлектрон для масс-спектрометрии высокого разрешения и tandemной масс-спектрометрии.

autoflex

Высокопроизводительный время-пролетный масс-спектрометр с ионизацией пробы лазерной десорбцией (MALDI-TOF) для выполнения промышленных анализов. Тщательно продуманная конструкция для автоматического функционирования в промышленном SNP генотипировании и протеомике – с максимальной надежностью всех компонентов системы для проведения миллионов анализов.



ultraflex



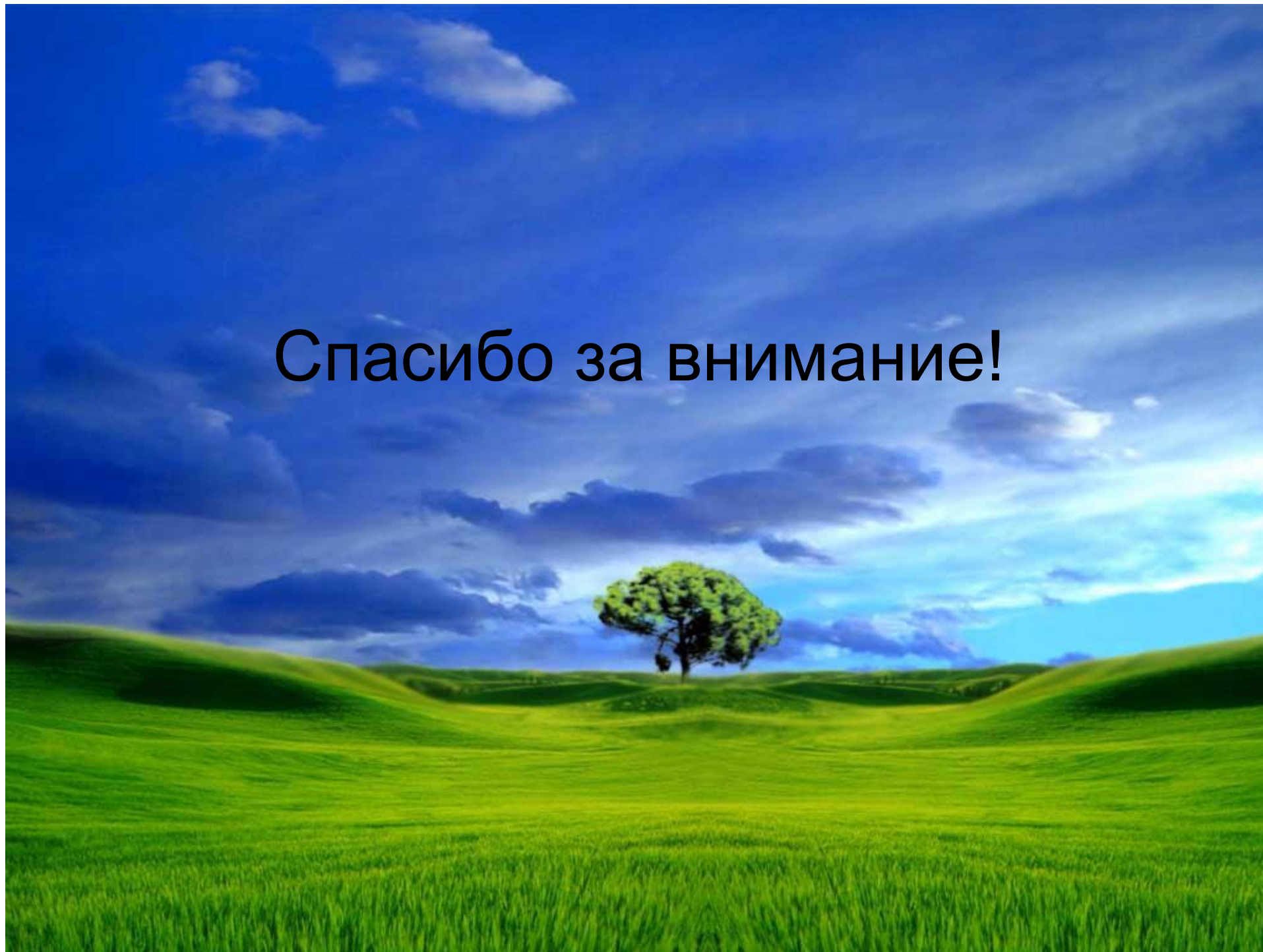
Сверхвысокопроизводительный tandemный время-пролётный масс-спектрометр с ионизацией пробы лазерной десорбцией (MALDI-TOF/TOF MS). Уникальное сочетание чувствительности, скорости и качества получаемой информации и режимах MS и

MS/MS для анализа белков в промышленных масштабах. Запатентованная технология LIFT позволяет проводить анализ образца с фемтомольным содержанием вещества за несколько секунд.

Наши
технологические
решения, которые вам
принесут
удовольствие от
работы



Спасибо за внимание!





SPECTROLAB
ГРУППА КОМПАНИЙ

ЗАО «Спектролаб»

220050, Минск, ул.Свердлова,
26, к.11



тел. 328-48-06,

факс 210-40-66

www.spectrolab.by

e-mail: info@spectrolab.by