

**3. KONFERENCE
ČESKÉ SPOLEČNOSTI
PRO HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRII**

Hradec Králové, 16. - 18. října 2013
SBORNÍK PŘÍSPĚVKŮ

Sborník příspěvků z 3. konference
České společnosti
pro hmotnostní spektrometrii

*Česká společnost pro hmotnostní spektrometrii
Fakulta vojenského zdravotnictví, Univerzita obrany*

Olomouc a Hradec Králové 2013

**Sborník příspěvků z 3. konference České společnosti
pro hmotnostní spektrometrii**

Autoři

Kolektiv autorů

Vydáno

Říjen 2013, 1. vydání

Vydavatel

Česká společnost pro hmotnostní spektrometrii

Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého

17. listopadu 1192/12

771 46 Olomouc

www.czechms.org

ISBN 978-80-905045-3-0



ISBN 978-80-905045-3-0



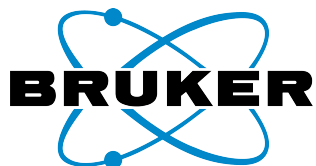
9 788090 504530 >

Hlavní sponzoři konference

*Česká společnost pro hmotnostní spektrometrii
děkuje následujícím partnerům za významnou podporu*



*Shimadzu Handels GmbH,
organizační složka*



Bruker s.r.o.



AB SCIEX



Thermo Fisher Scientific (Praha) s.r.o.



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Další sponzoři

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

Waters

Leco®
Delivering the Right Results

Leco

HPST
High Performance
Separation Technologies

HPST s.r.o.

Akademičtí partneři



*Přírodovědecká fakulta,
Univerzita Palackého
Sídlo ČSHS*



*Fakulta vojenského zdravotnictví,
Univerzita obrany
Spolupořadatel 3. konference ČSHS*



Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i.,

*Kolektiv autorů publikace “In-Flight
Epimerization of a Bis-Tröger
Base” (Angew. Chem. Int. Ed. 2011, 50,
2401) věnoval na konferenci ČSHS odměnu
za vítězství ceny Vladimíra Hanuše a Petra
Sedmery.*

3. konference České společnosti pro hmotnostní spektrometrii

Datum konání

16. - 18. října 2013

Místo konání

Fakulta vojenského zdravotnictví Univerzity Obrany
Třebešská 1575, Hradec Králové, Česká republika

Pořadatel

Česká společnost pro hmotnostní spektrometrii, Česká republika
Fakulta vojenského zdravotnictví, Univerzita Obrany, Česká republika

Výbor ČSHS

Předseda: Jana Roithová (Přírodovědecká fakulta, UK Praha)

Místopředseda: Karel Lemr (Přírodovědecká fakulta, UP Olomouc)

Členové:

Jan Havliš (Přírodovědecká fakulta, MU Brno)

Petr Man (Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha)

Petr Novák (Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha)

Patrik Španěl (Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v.v.i., Praha)

Michael Volný (Ústav aplikované fyziky, UW Seattle)

Místní organizátoři konference

Lenka Hernychová (Masarykův onkologický ústav, Brno a Fakulta vojenského
zdravotnictví, UO Hradec Králové)

Pavel Řehulka (Fakulta vojenského zdravotnictví, UO Hradec Králové)

Helena Řehulková (Lékařská fakulta v Hradci Králové, UK Praha)

Lenka Zídková (Lékařská fakulta v Hradci Králové, UK Praha)

Program středa 16. října 2013

- 13:00 - 20:00 Registrace
- 14:30 - 15:30 Martin Strohaln
mMass Workshop
- 15:30 - 16:00 Přestávka
- 16:00 - 16:10 Zahájení 3. konference ČSHS
- 16:10 - 17:00 James Bruce (*University of Washington, Seattle*)
PL-1 Protein interaction topologies in cells: snapshots of the landscape
- 17:00 - 17:10 Přestávka
- 17:10 - 18:40 I. Hmotnostní spektrometrie v iontové chemii**
(Předsedající: Zdeněk Herman)
- 17:10 - 17:40 Konrad Koszinowski (*Detlef Schröder memorial lecture*)
WeO-001 Characterizing reactive organometallics by electrospray ionization mass spectrometry
- 17:40 - 18:00 Jiří Schulz
WeO-002 Wolffův přesmyk zlatných α -oxokarbenoidů v plynné fázi
- 18:00 - 18:20 Ján Žabka
WeO-003 Anion chemistry on titan: probing the destruction mechanisms of nitrile anions by interaction with photons
- 18:20 - 18:40 Jana Roithová
WeO-004 Struktura dikationtu benzenu
- 18:40 - 19:00 Přestávka na kávu a čaj I.
- 19:00 - 20:00 Workshop firmy Thermo Fisher Scientific
- 20:15 - 24:00 Párty na uvítanou a sekce plakátových sdělení

Program čtvrtek 17. října 2013**09:00 - 10:30 II. Hmotnostní spektrometrie v biologii**
(Předsedající: Petr Pompach)

09:00 - 09:30 Ludovít Škultéty
*ThO-005 Biomarkers associated with virulence and pathogenesis of *Coxiella burnetii**

09:30 - 09:50 Jan Preisler
ThO-006 Spojení kapilární elektroforézy s molekulovou a prvkovou desorpční hmotnostní spektrometrií pro analýzu metaloproteinů

09:50 - 10:10 Jiří Novák
ThO-007 Identification of peptide sequences by SimTandem

10:10 - 10:30 Pavel Talacko
ThO-008 Dynamický SILAC jako nástroj pro kvantitativní analýzu proteomu nádorových buněk

10:30 - 10:50 Přestávka na kávu a čaj II.

10:50 - 12:20 III. Hmotnostní spektrometrie v organické analýze
(Předsedající: Josef Cvačka)

10:50 - 11:20 Zdeněk Herman
ThO-009 Formation of HCN^+ in Heterogeneous Reactions of $(\text{N}_2)^+$ and N^+ with Surface Hydrocarbons

11:20 - 11:40 Petr Fryčák
ThO-010 Desorption nanoelectrospray: a competitor for desorption electrospray?

11:40 - 12:00 Miroslav Ryska
ThO-011 Efekt matrice v LC/MS bioanalytice. Některé teoretické a praktické aspekty

12:00 - 12:20 Jana Jaklová Dytrtová
ThO-012 Determination of collision cross-section area of ionized drugs using trajectory method approximation and ion mobility

- 12:30 - 13:30 Workshop firmy Shimadzu
- 13:30 - 14:30 Oběd
- 14:30 - 16:00 IV. Hmotnostní spektrometrie v potravinářství, průmyslu a ochraně prostředí**
(Předsedající: Petr Fryčák)
- 14:30 - 15:00 Dagmar Leary
ThO-013 Marine biofilm metaproteomics
- 15:00 - 15:20 Maksym Danchenko
ThO-014 Comparative proteomics of developing soybean seeds grown in the contaminated Chernobyl area
- 15:20 - 15:40 Martin Dušek
ThO-015 Nové aplikace LC-HR-MS v analýze piva a surovin pro jeho výrobu
- 15:40 - 16:00 Marek Mucha
ThO-016 Možnosti stanovení hormonální antikoncepce v povrchových vodách
- 16:00 - 16:20 Přestávka na kávu a čaj III.
- 16:20 - 17:30 Schůze ČSHS
- 17:30 - 18:30 Volno
- 18:30 - 19:30 Workshop firmy AB SCIEX
- 19:30 - 24:00 Večeře a sekce plakátových sdělení

Program pátek 19. října 2013

- 09:00 - 10:30** **V. Hmotnostní spektrometrie v klinické a farmaceutické analýze a metabolomice**
(*Předsedající: Petr Šimek*)
- 09:00 - 09:30 Tomáš Adam
FrO-017 Mass spectrometry in clinical diagnosing
- 09:30 - 09:50 Jakub Rudovský
FrO-018 Hmotnostní spektrometrie ve službách Sherlocka Holmese; použití MS při pátrání po zdrojích kontaminace v lékových formách
- 09:50 - 10:10 Milan Maděra
FrO-019 Použití OrbiTrap MS pro charakterizaci a kvantifikaci biologických léčiv
- 10:10 - 10:30 Vladimír Havlíček
FrO-020 Mikrobiální profilování
- 10:30 - 10:50 Přestávka na kávu a čaj
- 10:50 - 11:50 Workshop firmy Bruker
- 12:00 - 12:50 Renato Zenobi (*ETH Zurich*)
PL-2 Mass spectrometric analysis of exhaled breath
- 13:00 - 13:10 Závěr konference
- 13:10 - 14:00 Oběd

PL-1: Protein interaction topologies in cells: snapshots of the landscape

James E. Bruce ^{1*}

1. University of Washington

Protein-protein interactions are essential to all function needed to support life. Highly specific protein structures and topological features have evolved to underpin exceedingly selective protein-protein interactions within complex biological mixtures. Many proteins, often exhibit intended structures only within their predestined subcellular environment. For these, the only opportunity to study interaction topologies may be when these proteins are present in cells. This presentation will describe our efforts to identify protein topological features and protein-protein interactions within native environments in human, yeast, *E. coli* and other bacterial cells. More than 1000 proteins have been cross-linked in cells and identified using Protein Interaction Reporter (PIR) technology yielding a database of several thousand high confidence PIR-cross-linked peptide pairs from these proteins. Examples to be discussed include proteins with well-studied function not previously known to interact directly with one another in cells (metabolic proteins and proteins within the glycolysis pathway that were observed to be cross-linked). Additionally, membrane proteins form 20 to 25% of the total proteins cross-linked in cells and appear to constitute a unique class of proteins for which PIR technology can yield topological and protein-protein interaction information. Examples of PIR-cross-linked membrane protein complexes will be presented to illustrate how the identified sites enable structure prediction of membrane proteins and their complexes. Finally, this presentation will highlight protein interaction topologies with relevance to antibiotic resistance and pathogenicity in bacteria, chemotherapy and acquired chemoresistance in cancer cells.

* Korespondence: jimbruce@u.washington.edu

PL-2: Mass spectrometric analysis of exhaled breath

Renato Zenobi^{1*}, Pablo Martinez-Lozano Sinues¹, Lukas Bregy¹, Xue Li¹, Jingjing He¹

1. ETH Zürich

Ambient ionization mass spectrometry offers attractive new perspectives for real-time, on-line metabolic fingerprinting of the exhaled breath of patients as well as healthy individuals. We are using a nanoESI-based secondary electrospray ionization (SESI) as well as a dielectric barrier discharge (DBD) plasma ionization [1] maintained in an active sampling capillary to achieve efficient ambient ionization of compounds in exhaled breath. Both of these sources work at atmospheric pressure; ppb ... ppt limits of detection can be achieved, and compounds with molecular weights up to 400 Da are observed.

A number of interesting questions about metabolic signatures in the body can be addressed: Is there a core pattern for individual phenotypes visible in mass spectrometric “breathprints” [2]? Can diurnal changes be monitored via exhaled breath [3]? Can diseases be diagnosed via exhaled breath, and if yes, which ones? Can proper drug use (or drug abuse) be detected via analysis of the chemical composition of exhaled breath? These studies have obvious ramification for using exhaled breath as a non-invasive alternative to the analysis of blood or urine in medical diagnosis, personalized medicine, doping control, forensics, and other areas.

* Korespondence: zenobi@org.chem.ethz.ch

LITERATURA:

1. Nudnova M.M. et al.: Rapid Commun. Mass Spectrom. 26, 1447-1452 (2012).
2. Martinez-Lozano Sinues P. et al.: PLoS ONE 8(4), e59909 (2013).
3. Martinez-Lozano Sinues P. et al.: Anal. Chem. 85, 369-373 (2013).

WeO-001: Characterizing reactive organometallics by electrospray ionization mass spectrometry

Konrad Koszinowski^{1*}

1. Institut fuer Organische und Biomolekulare Chemie, Goettingen University

Reactive organometallics, such as organocuprates, organozinc compounds, or Grignard reagents, are of enormous importance to organic synthesis. The molecular constitution of these species remains rather poorly understood, however, and calls for further efforts aimed at their elucidation. Under carefully optimized conditions, electrospray ionization (ESI) mass spectrometry permits the transfer of labile and moisture-sensitive charged organometallics from solution into the gas phase and thereby makes them amenable to mass spectrometric analysis [1-3]. Unlike most other analytical methods, ESI mass spectrometry provides direct stoichiometric information and, thus, gives valuable insight into the aggregation and coordination behavior of the sampled organometallics. In addition, gas-phase experiments on mass-selected ions reveal their microscopic reactivity. In solution, the operation of interfering dynamic equilibria makes analogous studies virtually impossible. ESI mass spectrometry, thus, complements other analytical methods used for the mechanistic elucidation of reactive organometallics. In the long term, the obtained information can contribute to the rational development and optimization of reagents and catalysts.

* Korespondence: konrad.koszinowski@chemie.uni-goettingen.de

LITERATURA:

1. Fleckenstein J. E. et al.: *Organometallics* 30, 5018-5026 (2011).
2. Putau A. et al.: *J. Am. Chem. Soc.* 134, 613-622 (2012).
3. Putau A. et al.: *Chem. Eur. J.* 19, 10992-10999 (2013).

PODĚKOVÁNÍ:

Dedicated to the memory of Detlef Schröder, a great teacher, colleague, and friend.

WeO-002: Wolffův přesmyk zlatných α -oxokarbenoidů v plynné fázi**Jiří Schulz**^{1*}, Jana Roithová¹*1. Katedra organické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova*

Funkcionalizace nenasyčených uhlovodíků katalyzované zlatnými komplexy patří v dnešní době mezi nejčastěji studované katalytické reakce. Prvním krokem těchto syntetických postupů je často nukleofilní adice na trojnou vazbu. V případě zlatnými komplexy katalyzované oxidace alkynů organickými oxidanty jako jsou nitrony, pyridin *N*-oxidy nebo sulfoxidy, dochází ke vzniku vysoce reaktivních zlatných α -oxokarbenoidů, které mohou být poté zachyceny následnou intra- či intermolekulární reakcí [1]. Ačkoliv reaktivita pozorovaná v tomto typu katalytických reakcí dobře odpovídá účasti α -oxokarbenoidů v navržených reakčních mechanismech, jejich skutečná role je v současné odborné literatuře stále častěji zpochybňována [2].

V rámci této práce jsme se zaměřili na studium zlatných α -oxokarbenoidů, které byly získány za použití vhodných ionizačních podmínek z roztoku zlatného komplexu [LAu]⁺, vnitřního alkynu R¹C≡CR² (R¹/R² = Me/Me, Me/Ph nebo Ph/Ph) a pyridin *N*-oxidu, v plynné fázi. Provedné CID experimenty v závislosti na kolizní energii odhalily dva konkurenční fragmentační kanály (eliminace oxidu uhelnatého vs. ztráta ligandu), na jejichž základě bylo zjištěno, že domnělé α -oxokarbenoidy podléhají v plynné fázi po kolizní aktivaci Wolffově přesmyku za vzniku odpovídajících ketenových komplexů. Poměr pozorovaných fragmentačních kanálů se přitom liší v závislosti na substituentech R¹/R² ketenového skeletu a také na povaze pomocného ligandu L.

* Korespondence: schulz@natur.cuni.cz

LITERATURA:

1. Xiao J. et al.: *Angew. Chem. Int. Ed.* 50, 7226-7236 (2011).
2. Noey E. L. et al.: *J. Am. Chem. Soc.* 134, 1078-1084 (2012).
3. Liu B. et al.: *J. Am. Chem. Soc.* 135, 8512-8524 (2013).

PODĚKOVÁNÍ:

Tato práce vznikla v rámci projektu grantové agentury European Research Council (ERC-SiG-ISORI, PE4).

WeO-003: Anion chemistry on Titan: probing the destruction mechanisms of nitrile anions by interaction with photons

Ján Žabka ^{1*}, Miroslav Polášek ¹, Michaela Bradyová ¹, Zuzana Flenerová ¹,
Michaela Obluková ¹, Daniela Ascenzi ², Veronique Vuitton ³, Claire Romanzin ⁴,
Christian Alcaraz ⁴, Alexandre Giuliani ⁵

1. Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v.v.i.

2. Dept of Physics, Uni. Trento, Via Sommarive 14, 38050 Povo (TN), Italy

3. Institut de Planétologie et d'Astrophysique de Grenoble, UMR 5274, BP 53, 38041 Grenoble, France

4. Lab. de Chimie Physique, Bât 350, UMR 8000 CNRS-Université Paris-Sud 11, 91405 Orsay, France

5. Synchrotron SOLEIL, L'Orme des Merisiers, Saint Aubin BP 48, 91192 Gif sur Yvette Cedex, France

The aim of this work is to study the interaction with VUV photons of mass-selected negative ions relevant for the understanding of Titan atmosphere. Characterization of their formation [1] and destruction rate is of fundamental importance for modeling Titan ionosphere chemistry and understanding the observations of heavy anions by the CAPS/ELS spectrometer on board of the CASSINI spacecraft. The objective here is to measure their transformation into smaller anions through photodissociation and their destruction through photodetachment. The parent anions CN⁻ are produced from CH₃CN in the APCI source of a commercial mass spectrometer LTQ XL (Thermo Scientific) [2, 3] and reacted with HC₃N in the trap to produce heavier anions through the CN⁻ + x HC₃N (HC₃N)_yC_{2p}+1N⁻ + z HCN processes. These product anions are then mass-selected in the trap and irradiated with VUV photons (5-21 eV) from the DESIRS beamline.

* Korespondence: jan.zabka@jh-inst.cas.cz

LITERATURA:

1. Zabka J. et al.: *Icarus* 219, 161-167 (2012).
2. Milosavljevic A. R. et al.: *Phys. Chem. Chem. Phys.* 13, 15432-15436 (2011).
3. Milosavljevic A. R. et al.: *J. Synchrotron Rad.* 19, 174-178 (2012).

PODĚKOVÁNÍ:

Programme National de Planétologie (PNP), COST (Action CM0805 « The Chemical Cosmos »), Czech Science Foundation (Grant No. P208/11/0446), (Grant Nos. OC10046).

WeO-004: Struktura dikationtu benzenu

Jana Roithová^{1*}, Juraj Jašík¹, Dieter Gerlich²

1. *Univerzita Karlova v Praze*
2. *Technologická Univerzita Chemnitz*

Struktura dvojnásobně kladně nabitého benzenu byla studována pomocí infračervené predisociační (IČPD) spektroskopie za použití značkování heliem. Dvojnásobná ionizace benzenu vede k dikationtům s klasickým šestičlenným kruhem, které ale podstupují přesmyk na stabilnější pyramidální izomery s pětičlennou základnou C₅H₅ a CH ve vrcholu. Díky selektivnímu zahřívání izomeru s šestičlenným kruhem pomocí CO₂ laseru se nám podařilo získat čisté IČPD spektrum pyramidálního dikationtu.

* Korespondence: roithova@natur.cuni.cz

PODĚKOVÁNÍ:

Tento výzkum byl sponzorován Evropským výzkumným výborem (ERC StG ISORI).

ThO-005: Biomarkers associated with virulence and pathogenesis of *Coxiella burnetii*

Ľudovít Škultéty^{1,2*}, Gabriela Flores-Ramirez¹, Rudolf Toman¹, Pavol Vadovic¹, Maksym Danchenko¹, Vladimír Havlíček²

1. Institute of Virology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovakia

2. Institute of Microbiology, Academy of Science of Czech Republic, Prague, Czech Republic

Coxiella burnetii, the causative agent of Q fever, is a broadly occurring intracellular parasite that can infect a wide range of hosts. The bacterium is responsible for an acute and potentially severe symptoms characterized by pneumonitis, hepatitis, and a significant incidence of neurological complications. Because several clinical symptoms of Q fever in humans are similar to those of commonly occurring infections, an unambiguous clinical diagnosis of the disease is quite difficult [1].

During the last years, noticeable progress has been achieved in gaining a better understanding of the role of two major outer membrane components – lipopolysaccharide (LPS) and proteins in virulence of the bacterium. Detailed glycomic studies of the virulent phase I and avirulent phase II variants of the Nine Mile RSA 493 and 439 strains of *C. burnetii* have brought indispensable structural and functional information on their LPS [2]. In addition, our investigations have focused on the identification of differentially expressed *C. burnetii* proteins in phase I and II of *C. burnetii* [3]. We have identified fortyfour proteins which were annotated as having distinct roles in the pathogenesis or survival of *C. burnetii* within the harsh phagolysosomal environment. Nine enzymes, specifically involved in lipopolysaccharide biosynthesis and metabolism were suggested to be virulence-associated. Some of them were proposed to be involved in biosynthesis of the specific biomarker of *C. burnetii-virenose*. In addition, our results provide valuable information on cell envelope related proteins that may play important role in evasion and inhibition of the host's immune response or entry into and exit out of cells.

* Korespondence: viruludo@savba.sk

LITERATURA:

1. Angelakis E. and Raoult D.: Vet. Microb. 140, 297-309 (2010).
2. Toman R. et al.: Acta Virol. 57(2), 229-237 (2013).
3. Skultety L. et al.: J. Proteomics 74, 1974-1984 (2011).

POĎĚKOVÁNÍ:

This study was supported: 2/0156/11 of the Scientific Grant Agency of the Ministry of Education of the SR and SAS, the 26240120030, 26240220045 and 26240220062 supported by the Research & Development Operational Programme funded by the ERDF.

ThO-006: Spojení kapilární elektroforézy s molekulovou a prvkovou desorpční hmotnostní spektrometrií pro analýzu metaloproteinů

Jan Preisler^{1*}, Iva Tomalová¹, Pavla Foltynová¹, Viktor Kanický¹

1. CEITEC a Ústav chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova Univerzita, Brno, ČR

Analýza proteinových komplexů s kovy je obvykle založena na spojení separačních technik se specifickou detekcí, přičemž pro kolonové separace se používá on-line spojení s molekulovou hmotnostní spektrometrií (MS) pomocí ionizace elektrosprejem (ESI) a s prvkovou MS pomocí zmlžovače s indukčně vázaným plazmatem (ICP). Alternativními nástroji molekulové a prvkové analýzy jsou hmotnostní spektrometrie využívající laserové desorpce a ionizace za účasti matrice (MALDI) a laserové desorpce za účasti substrátu (SALD) [1, 2].

V tomto příspěvku představíme novou metodu analýzy metaloproteinů a metalopeptidů založenou na off-line analýze frakcí získaných ze záznamu jediné separace. Frakce z kapilární elektroforézy (CE) jsou nanášeny na speciální terčík a analyzovány postupně MALDI MS a SALD ICP MS. Koncept je demonstrován na CE-MALDI MS/SALD ICP MS analýze izoform metalothioneinů (MT); směs izoform MT je separována v nepokryté křemenné kapiláře (70 cm, 75 µm), jako základní elektrolyt je použit 20 mM hydrogenuhličitan amonný, pH 7,4. Použití kapalínového spoje a subatmosferické komory, je eluát z CE nanášen na terčík z polyethylenglykol tereftalátu pokrytý tenkou zlatou vrstvou. Hmotnostní spektra MALDI apoforem MT jsou zaznamenána po přidání matrice, poté je zbytek frakcí analyzován pomocí SALD ICP MS, jež poskytuje informace o obsahu kovů. Jediná separace je tedy zdrojem jak proteomické, tak metalomické informace. Přídavek chladnější matrice navíc umožňuje získat z vybraných frakcí hmotnostní spektra komplexů MT s kovy. Výhodou prezentovaného konceptu je též fakt, že oba hmotnostní spektrometry nemusí být poblíž separační jednotky.

* Korespondence: preisler@chemi.muni.cz

LITERATURA:

1. Rejtar T. et al.: J. Proteome Res. 1, 171-179 (2002).
2. Peš O. et al.: Anal. Chem. 80, 8725-8732 (2008).

PODĚKOVÁNÍ:

Tento příspěvek vznikl v rámci projektů Grantové agentury ČR (GAP 206/12/0538) a Středoevropského technologického institutu (CZ.1.05/1.1.00/02.0068). Iva Tomalová byla podporována Stipendiem Magistrátu města Brna pro talentované Ph.D. studenty.

ThO-007: Identification of peptide sequences by SimTandem

Jiří Novák^{1*}

1. Charles University in Prague, Faculty of Mathematics and Physics

SimTandem is a tool for peptide sequences identification based on the similarity search in a database of theoretical spectra generated from a database of protein sequences. It employs a modification of previously proposed parameterized Hausdorff distance for pair-wise comparisons of mass spectra and a precursor mass filter to speed-up the database search. We show that SimTandem outperforms several state-of-the-art tools (OMSSA, X!Tandem, ...) in the number of identified peptide sequences and in the speed of search. Currently, SimTandem can be used as an external tool in the framework TOPP based on OpenMS.

* Korespondence: novak@ksi.mff.cuni.cz

LITERATURA:

1. Novak J. et al.: Adv. Intell. Soft Co 222, 101-109 (2013).
2. Novak J. et al.: J. Integr. Bioinform. (2013).
3. <http://www.simtandem.org>

ThO-008: Dynamický SILAC jako nástroj pro kvantitativní analýzu proteomu nádorových buněk

Pavel Talacko ^{1*}, Zdeněk Kukačka ¹, Juan D. Chavez ², James E. Bruce ², Petr Novák ¹

1. Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i.

2. University of Washington

Metoda SILAC (Stable Isotope Labeling by Amino Acids in Cell Culture) patří mezi metody metabolického značení a je vhodná ke kvantitativní analýze proteomu. Běžně je využívána k detekci rozdílů hladin jednotlivých proteinů v buňkách kultivovaných za různých podmínek (např. za přítomnosti léčiva).[1] Dynamický SILAC je modifikace této metody, jejíž podstatou je sledování kvantitativních změn proteomu v čase. Získaná hmotnostní spektra jsou analyzována softwarem SILACTor. Výstupem analýzy je informace o rychlosti obratu jednotlivých proteinů (protein turnover rate) [2].

Metoda byla využita k proteomické analýze buněk akutní lymfoblastické leukemie za využití buněčné linie Jurkat. Cílem práce bylo kvantifikovat změny na úrovni proteomu způsobené přítomností terpenoidu cnicinu v kultivačním mediu. Cnicin je sekundárním metabolitem rostliny *Cnicus benedictus* (Benedikt lékařský). Jedná se o derivát seskviterpeny, který má výrazné antiproliferativní účinky [3].

Výsledky analýzy ukazují, že aplikace cnicinu způsobuje významné změny v obratu některých proteinů důležitých pro regulaci proliferace. Jedná se například o faktory regulující translaci a skládání proteinů nebo apoptosu. Získané poznatky mohou být využity pro detailnější studium mechanismu protinádorového účinku cnicinu.

* Korespondence: talacko@biomed.cas.cz

LITERATURA:

1. Ong S. E. et al.: Mol. Cell. Proteomics 1(5), 376-386 (2002).
2. Hoopman M. R. et al.: Anal. Chem. 83, 8403-8410 (2011).
3. Forgo P. et al.: Fitoterapia 83, 921-925 (2012).

ThO-009: Formation of HCN⁺ in heterogeneous reactions of (N₂)⁺ and N⁺ with surface hydrocarbons

Martina Harnisch ¹, Alan Keim ¹, Paul Scheier ¹, **Zdenek Herman** ^{2*}

1. Institut für Ionenphysik und Angewandte Physik, Leopold-Franzens Universität Innsbruck, Innsbruck

2. J. Heyrovský Institute of Physical Chemistry, v.v.i., AS ČR, Prague 8

Significant increase of the ion yield at m/z 27 in collisions of low-energy ions of (N₂)⁺ and N⁺ with hydrocarbon-covered room-temperature or heated surfaces of tungsten, carbon-fiber-composite, and beryllium, not observed in analogous collisions of Ar⁺, is ascribed to formation of HCN⁺ in heterogeneous reactions between (N₂)⁺ or N⁺ and surface hydrocarbons. The formation of HCN⁺ in the reaction with N⁺ indicated an exothermic reaction with no activation barrier, likely to occur even at very low collision energies. In the reaction with (N₂)⁺, the formation of HCN⁺ was observed to a different degree on these room-temperature and heated (150°C and 300°C) surfaces at incident energies above about 50eV. This finding suggested an activation barrier or reaction endothermicity of the heterogeneous reaction of about 3-3.5 eV. The main process in (N₂)⁺ or N⁺ interaction with the surfaces is ion neutralization; the probability of forming the reaction product HCN⁺ was very roughly estimated for both (N₂)⁺ and N⁺ ions to about one in 10(4) collisions with the surfaces.

* Korespondence: zdenek.herman@jh-inst.cas.cz

ThO-010: Desorption nanoelectrospray: a competitor for desorption electrospray?

Petr Fryčák^{1,2*}, Lucie Hartmanová^{1,2}, Vladimír Havlíček^{1,3}, František Tureček⁴,
Karel Lemr^{1,2}

1. Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science, Palacky University in Olomouc

2. RCPTM, Faculty of Science, Palacky University in Olomouc

3. Institute of Microbiology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague

4. Department of Chemistry, University of Washington, Seattle, Washington, USA

Desorption electrospray (DESI) is a widespread and commercially available ambient ionization technique. In our lab, a desorption nanoelectrospray (nanoDESI) was designed and put into operation. This modification features desorption of sample by means of charged droplets produced using common nanoelectrospray tips without the support of nebulizing gas. NanoDESI and DESI have been compared in terms of internal energy imparted during the ionization event as well as tolerance towards inorganic salts found in many types of samples. Furthermore, a simple but efficient technical modification of nanoDESI allowing significant improvement of reproducibility of measurements is reported in the presentation.

* Korespondence: petr.frycak@upol.cz

PODĚKOVÁNÍ:

The support by the Operational Program Research and Development for Innovations - European Regional Development Fund (project CZ.1.05/2.1.00/03.0058) and Czech Science Foundation (P206/12/1150) is gratefully acknowledged.

ThO-011: Efekt matrice v LC/MS bioanalytice - některé teoretické a praktické aspekty

Miroslav Ryska ^{1*}

1. QUINTA-ANALYTICA, s.r.o.

Tzv. efektu matrice je v požadavcích GLP a při validaci a schvalování analytických metod věnována mimořádná pozornost. Stále však je přistupováno k tomuto problému výhradně z hlediska fenomenologického; ztrácí se zcela fyzikálně chemická podstata jevu a tím vznikají mnohdy zcela neracionální požadavky jak přijatých směrnic na bioanalytické metody, tak zejména schvalujících autorit.

V příspěvku je podán jednak teoretický pohled na tento jev z hlediska acidobazických ionizačních mechanismů. Pojem matrice je rozšířen i na vlivy adsorbovaných v iontovém zdroji, či v LC/MS systému obecně, stopových množství bronstedových kyselin/bází, pocházejících nejen z biologické matrice.

Efekt matrice je ilustrován na značném počtu praktických příkladů, zdůrazněn je význam použití izotopicky značených vnitřních standardů. Normalizovaný efekt matrice vztažený na vnitřní standard v těchto případech vždy splňuje požadovaná přípustná kritéria a to i v případech použití více atomů deuteria, kdy se projevuje značný nežádoucí kinetický izotopický efekt.

* Korespondence: miroslav.ryska@quinta.cz

PODĚKOVÁNÍ:

Děkuji kolektivu bioanalytického oddělení společnosti QUINTA-ANALYTICA s.r.o. za poskytnuté experimentální údaje

ThO-012: Determination of collision cross-section area of ionized drugs using trajectory method approximation and ion mobility

Jana Jaklová Dytrtová^{1*}, Michal Jakl²

1. Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i.

2. Faculty of Agrobiological Sciences, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague

Besides the separation of isobaric ions in the ion mobility equipment itself the collision cross-section area of the ions can be determined there. This parameter may be used for the ions structure assessment. For the purpose of its experimental determination for several drugs the traveling wave ion mobility (Synapt G2, Waters) with inner polyalanine standard was used. For the theoretical verification of the experimental data freely available program MOBCAL [1] was applied. This program is based on the trajectory method made by numerical integration of the equations of motion [2, 3].

* Korespondence: dytrtova@uochb.cas.cz

LITERATURA:

1. Jarrold M.F.: <http://www.indiana.edu/~nano/software.html> (accessed 29. 6. 2012).
2. Mesleh M.F. et al.: J. Phys. Chem. 100, 16082-16086 (1996).
3. Shvartsburg A.A. and Jarrold M. F.: Chem. Phys. Lett. 261, 86-91 (1996).

PODĚKOVÁNÍ:

This work was supported by GACR project No. 13-21409P and by the Ministry of Education of the Czech Republic (S grant).

ThO-013: Marine biofilm metaproteomics

Dagmar Leary ^{1,2*}, Sarah Strycharz-Glaven ¹, Baochuan Lin ¹, Robert Li ³,
Leila Hamdan ⁴, Judson Hervey ¹, Zheng Wang ¹, Jeffrey Deschamps ¹, Anne Kusterbeck ¹,
Gary Vora ¹

1. *Naval Research Laboratory - CBMSE*
 2. *National Academy of Science, NRC fellow*
 3. *USDA*
 4. *Naval Research Laboratory - Chemistry*
-

Relatively little is known about the microbial consortia and biomolecular components that are responsible for biofilm formation in varying marine environments. This gap in our understanding is due in large part to the current inability to cultivate the vast majority of marine microbes in the laboratory and the resulting lack of associated genomic, functional genomic and proteomic information. However, a new suite of innovative molecular techniques (e.g. metaproteomics, metagenomics) now potentially allows us to circumvent this obstacle and offers a unique opportunity to gain unprecedented insight into the composition, biological potential and biomolecular activity within marine biofilms in a culture-independent manner. The results of two biofilm studies characterizing low complexity microbial fuel cell cathode biofilms and high complexity ship hull biofilms will be discussed to demonstrate the power and the challenges of metaproteomic analyses in this context.

* Korespondence: dasha.leary.ctr@nrl.navy.mil

PODĚKOVÁNÍ:

Funding: Office of Naval Research

ThO-014: Comparative proteomics of developing soybean seeds grown in the contaminated Chernobyl area

Maksym Danchenko^{1,2}, Katarina Klubicova³, Ludovit Skultety¹, Namik Rashydov², Martin Hajduch^{3*}

1. Institute of Virology, Slovak Academy of Sciences

2. Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, Nat. Acad. of Sciences of Ukr.; Kyiv, Ukraine

3. Institute of Plant Genetics and Biotechnology, Slovak Academy of Sciences; Nitra, Slovakia

Plants are able to grow and reproduce in the radioactive Chernobyl area. However precise molecular mechanisms behind this feature are not well characterized yet. Herein we report that the life in this radioactive environment has led to the specific alteration of the developing soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) seed proteome, still resulting in the production of the fertile seeds. Soybean seeds were harvested at four, five, and six weeks after flowering and at maturity, from plants grown in either non-radioactive or radioactively contaminated plots in the Chernobyl zone. Proteins have been extracted using basic phenol and separated by 2-DE, thus the development abundance profile of 211 spots was determined. Protein identification had been performed on QTOF Premier mass spectrometer, after reverse phase separation on nanoAcquity UPLC system. The results confirmed our previous data, indicating that alterations in the proteome include adaptation toward heavy metal-like stress and mobilization of seed storage proteins, specifically β -conglycinin. Additionally our data allowed to suggest that radioactive environment provoke adjustments to primary carbon metabolism in the cytoplasm and plastids, particularly increased abundance of the tricarboxylic acid cycle enzymes have been detected [1]. Also lower abundance of malonyl-CoA acyl carrier protein, involved in fatty acids biosynthesis pathway matched lower level of oil in the seeds. Current results after publication appear on the web-page <http://www.chernobylproteomics.sav.sk> [2]. The next step in this project will be to determine the role of protein post-translational modifications (i.e. phosphorylation) in radio-contaminated environment.

* Korespondence: hajduch@savba.sk

LITERATURA:

1. Klubicova K. et al.: PLoS ONE 7(10), e48169-11p (2012).
2. Klubicova K. et al.: Front. Plant Sci. 3(231), 1-3 (2012).

PODĚKOVÁNÍ:

This research was supported by the FP7 EU – International Reintegration Grant (MIRG-CT-2007-200165) and the Slovak Research and Development Agency (APVV-0740-11).

ThO-015: Nové aplikace LC-HR-MS v analýze piva a surovin pro jeho výrobu

Martin Dušek^{1*}, Alexandr Mikyška¹, Jana Olšovská¹

1. Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s.

S příchodem hmotnostních spektrometrů s vysokým rozlišením ať už pracujících na principu orbitální pasti anebo měření doby letu (TOF/Q-TOF), se otevřely nové možnosti v analýze širokospektrých potravinářských matrice jako chmel anebo pivo. Uplatnění nacházejí v metabolomice pivovarských surovin, např. chmele [1] a zcela nově jsou podobné postupy používány v novém směru chemicko-senzorických analýz, tzv. senzomice, kde lze pomocí senzomického profilu senzoričky aktivních látek velice objektivně srovnat organoleptický charakter dané potraviny či nápoje.

Přednáška uvádí příklady významných skupin látek v pivu, sladu a chmelu, jejichž stanovení technikou LC-ESI-HR-MS nabízí efektivnější způsob analýzy než dosavadní rutinně používané metody a instrumentace. Na příkladu stanovení metabolitů analogů β -hořkých kyselin chmele (lupulonů) jsou názorně demonstrovány možnosti hybridního hmotnostního spektrometru Q-Exactiv. Oxidační produkty lupulonů vznikají během zpracování, skladování chmele a při chmelovaru. V pivu se vyskytují v nízkých koncentracích, jejich spolehlivá analýza byla až do nástupu MS technik více než problematická. Proto se tvrzení o jejich „pivovarské hodnotě“ donedávna zakládala na nepřímých důkazech a jejich význam byl podceňován. Poslední studie ukazují, že zejména skupina metabolitů zvaných hulupony se významně podílí na hořkosti piva. Cílem práce je podrobně zmapovat produkty lupulonů a vytvořit senzomické profily za různých podmínek. Po řízení oxidací lupulonů byla provedena analýza využitím techniky UPLC/ESI-q-orbitrap-MS/MS. Byly nalezeny jak již dříve popsány metabolity [2], tak dosud neznámé produkty oxidace. Poznatky budou využity pro vývoj nové technologie zaměřené na kvalitativně vyšší využití hořčícího potenciálu β -hořkých kyselin chmele.

* Korespondence: dusek@beerresearch.cz

LITERATURA:

1. Olšovská J. et al.: Talanta 116, 919-926 (2013).
2. Haseleu G. et al.: J. Agric. Food Chem. 57, 7480-7489 (2009).

PODĚKOVÁNÍ:

Práce byla podpořena projektem Ministerstva zemědělství ČR QI91B227 „Význam beta kyselin pro české pivo“

ThO-016: Možnosti stanovení hormonální antikoncepce v povrchových vodách

Marek Mucha^{1*}, Jiří Kalina¹

1. Ostravská univerzita v Ostravě

Hormonální antikoncepční přípravky se v současnosti vyznačují svou velmi vysokou spotřebou, na níž navazuje také zvýšený výskyt těchto látek v povrchových vodách. V těchto vodách mohou způsobovat i ve velmi nízkých koncentracích nemalé škody (například se velmi často hovoří o tom, že způsobují změnu pohlaví ryb). K výzkumu zabývajícímu se možnostmi jejich detekce a odstraněním z vod je zapotřebí mít odpovídající metodu schopnou stanovení velmi nízkých koncentrací (cca ng/l) [1, 2]. A právě takovouto metodou, schopnou stanovení nejčastějších složek hormonální antikoncepce (cyproteron acetátu, desogestrelu, ethinylestradiolu a gestodenu), se zabývá tato studie. Vývoj této metody probíhal na UHPLC/MS systému Ultimate 3000/microTOF-QII ve třech krocích.

Prvním krokem byla optimalizace parametrů kapalinového chromatografu a hmotnostního spektrometru (nejvhodnější typ ionizace a nastavení poskytující maximální odezvu). V druhém kroku pak byly provedeny testy získané metody, při nichž bylo zjištěno, že získaná metoda dosahuje limitu kvantifikace 1 ng/l, korelačních koeficientů linearit vyšších než 0,99 a odchylek přesnosti a správnosti nižších než 5%.

Finálním krokem bylo nalezení a otestování postupu přípravy reálného vzorku pro analýzu výše uvedenou metodou. Jako vhodnou se ukázala tzv. sáčková metoda, při které se využívá adsorpce a desorpce výše zmíněných léčiv na sorbent (drcené sušené listy křídlatky) umístěný v malém sáčku (vyrobený z netkané textilie) [3]. Navíc se ukázalo, že tato sáčková metoda by se dala při použití větších sáčků s větším množstvím sorbentu využít při odstraňování hormonální antikoncepce z vod.

* Korespondence: marek.mucha@centrum.cz

LITERATURA:

1. Lüllmann H. et al. Farmakologie a toxikologie. ISBN 80-247-0836-1.
2. Racz L. A. and Ramesh K. G.: J. Environ. Monitor. 12(1), 58-70 (2010).
3. Pukowicz A.: Bakalářská práce, Ostravská univerzita v Ostravě (2013).

PODĚKOVÁNÍ:

Tato studie byla vypracována v rámci grantu SGS identifikační číslo sgs03/PřF/2013 a projektu Institut environmentálních technologií, reg. č. CZ.1.05/2.1.00/03.0100 podporovaného Operačním programem Výzkum a vývoj pro Inovace, financovaného ze strukturálních fondů EU a ze státního rozpočtu ČR.

FrO-17: Mass spectrometry in clinical diagnosing

Tomáš Adam ^{1,2*}

1. Oddělení klinické biochemie, Fakultní nemocnice Olomouc

2. Lékařská fakulta, Univerzita Palackého v Olomouc

Mass spectrometry is applied clinical diagnosing for more than 40 years. The first important applications employed gas chromatography–mass spectrometry for the diagnosis of organic acid metabolic disorders and drug screening. As an analytical technique providing high specificity it is getting acceptance for routine assays in clinical laboratories. Advances in use of mass spectrometry in clinical chemistry laboratories are evolutionary as the instrument manufacturers improve sensitivity and stability of the instruments. Mass spectrometry started in the field of biochemical genetics, where it continues to play a key role - but currently it rapidly grows in areas such as toxicology, endocrinology, and many others. This lecture aims at highlighting its current and potential uses as well as challenges in the clinical laboratory.

* Korespondence: tomasadam@gmail.com

FrO-18: Hmotnostní spektrometrie ve službách Sherlocka Holmese; použití MS při pátrání po zdrojích kontaminace v lékových formách

Jakub Rudovský^{1*}

1. Quinta Analytica s.r.o.

LC/MS a GC/MS patří ve farmacii bezesporu již několik dekad k nejpoužívanějším technikám při řešení všemožných problémů s identifikací známých i neznámých nečistot. Většinou má ovšem analytik zadání, ze kterého je alespoň patrné, z jakého okruhu látek jsou hledané nečistoty.

Existují však i případy téměř detektivní, kdy není vůbec jasné, jakou mají nečistoty povahu, zda jsou organické nebo anorganické, monomerní nebo polymerní, těkavé nebo netěkavé, zda se jedná o jednu kontaminaci nebo celou směs a už vůbec není jasné, jak se v daném vzorku mohly ocitnout. A právě s takovými typy vzorků se setkáváme při reklamačních řízeních.

Je to podobné jako v každém správném detektivním seriálu: každý případ je zcela jiný, stop/vzorků není mnoho, vlastně zpravidla pouze jeden, a podezřelých naopak nepřeborné množství, navíc stopy umí rychle chladnout - vzorky se rozkládají. Při řešení tohoto typu problémů mají různé techniky hmotnostní spektrometrie pochopitelně své nezastupitelné místo.

Tématem přednášky bude praktické využití hmotnostní spektrometrie při pátrání po několika takovýchto kontaminacích.

* Korespondence: jakub.rudovsky@quinta.cz

FrO-19: Použití OrbiTrap MS pro charakterizaci a kvantifikaci biologických léčiv

Milan Maděra ^{1*}

1. Quinta Analytica, s.r.o.

Současný vývoj farmaceutického trhu poukazuje na sice malý, ale konstantní nárůst podílu tzv. biosimilars, nebo také proteinových nebo peptidových generik. Obecně se neočekává, že by tato vysokomolekulární generika úplně nahradila nízkomolekulární protějšky, postupně rostoucí zastoupení biogenerik by mohlo vést spíše k větší dostupnosti cílených terapií s minimem vedlejších účinků a ke snížení cen referentních biologických přípravků.

Tento trend s sebou samozřejmě nese i větší požadavky na charakterizaci a kvantifikaci vysokomolekulárních léčiv, ať už se jedná o terapeutické peptidy, monoklonální protilátky, fusion proteiny a podobné molekuly. Kvůli komplexnosti struktur biologických léčiv je k jejich základní charakterizaci a kvantifikaci nutné použít ideálně skupinu několika rozdílných analytických metod, mezi nimiž má hmotnostní spektrometrie nezastupitelné místo.

Tématem přednášky bude nejprve stručný přehled analytických přístupů pro charakterizaci biologických generik a jejich kvantifikaci v biologickém materiálu pro účely farmakokinetických a toxikokinetických studií. Poté bude na několika modelových příkladech prezentováno využití hmotnostního spektrometru s vysokým rozlišením a přesností (OrbiTrap Elite) ve spojení s HPLC/UPLC pro tyto účely.

* Korespondence: milan.madera@quinta.cz

FrO-20: Mikrobiální profilování

Vladimír Havlicek^{1*}, Miroslav Šulc¹, Renáta Šnajdrová¹, Daniel Kavan¹,
Kateřina Haladová¹, Martin Strohalm¹, Karel Lemr¹, Karel Indrák², Vítězslav Kolek²,
Lukáš Krásný¹

1. Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i.

2. Universita Palackého v Olomouci, lékařská fakulta

Hmotnostní spektrometrie pomáhá v mikrobiologii již drahnou dobu. První práce ze šedesátých a sedmdesátých let používaly pyrolýzní GC a GC/MS k primárnímu rozlišení mikroorganismů. Následovaly pilotní práce C. Fenselau z poloviny 70 let, pak se dvacet let nic zásadního nedělo, ovšem s nástupem desorpčních technik nastává změna. První komerční produkt pro identifikaci mikrobů na základě ribozomálního bílkovinného otisku technikou MALDI-TOF přichází na trh v roce 2000 (MicrobeLynx), aby byl záhy netakticky stažen. V posledních několika málo letech bylo totiž celosvětově instalováno cca 1300 produktů konkurenčních firem, které začaly vytlačovat biochemické analytické systémy [1]. Současné hmotníkářské produkty vsadily na plnou automatizaci a jednoduchost pro obsluhu. Přestože je trh ještě daleko od nasycení, patentová literatura ukazuje další komerční trend, a to automatizované hodnocení virulence klinicky významných kmenů a testování mikrobiální citlivosti vůči antibiotikům. Jsou vyvíjeny nové postupy k odlišení kmenů s podobnými bílkovinnými profily, hledány virulenční faktory, zkoumá se ekologie mikroorganismů zobrazovacími a metabolomickými přístupy, jsou nacházeny nové antimikrobiální látky. Přednáška v první části shrne současné trendy ve výzkumu mikroorganismů technikami, kde významnou roli hraje hmotnostní spektrometrie. Ve druhé části budou představeny některé vlastní proteomické a metabolomické výsledky včetně softwarových nástrojů, které jsou volně ke stažení z <http://ms.biomed.cas.cz> a <http://www.mmass.org> [2, 3].

* Korespondence: vlhavlic@biomed.cas.cz

LITERATURA:

1. Havlíček V. et al.: Anal. Chem. 85, 790–797 (2013).
2. Krásný L. et al.: Mycoses 54, 37–42 (2011).
3. Kavan D. et al.: J. Am. Soc. Mass Spectrom. 24, 1177–1184 (2013).

PODĚKOVÁNÍ:

MŠMT (COST-CZ-LD13038); GAČR (P206/12/1150); výzkumný záměr MBÚ RVO61388971.

WeP-001: Novel targeted metabolomic methods for high-throughput plant hormone profiling

Ondřej Novák ^{1,2*}, Aleš Pěnčík ², Lenka Plačková ^{1,3}, Andrea Claes ⁴, Biljana Simonovikj ⁵, Danuše Tarkowská ¹, Eva Sundberg ⁴, Karel Doležal ^{1,3}, Karin Ljung ⁵, Miroslav Strnad ^{1,3}

1. *Laboratory of Growth Regulators, Palacký Univ & Institute of Experimental Botany, Olomouc, CZ*

2. *Umeå Plant Science Centre, Swedish University of Agricultural Sciences (SLU), Umeå, SE*

3. *Centre of the Region Haná for Biotechnological and Agricultural Research, Palacký Univ, Olomouc, CZ*

4. *Uppsala BioCenter and Linnean Centre for Plant Biology, SLU, Uppsala, Sweden*

5. *Umeå Plant Science Centre, Swedish University of Agricultural Sciences, 901 83 Umeå, SE*

The analysis of plant hormones is challenging for their extremely different physicochemical properties and also for their trace amounts in which they naturally occur. Application of targeted metabolomics shows an optimal method for phytohormonal screening in combination with a miniaturized purification and a highly sensitive detection. During the last three years, we have developed new isolation and purification methods for sensitive estimation of auxins and cytokinins [1, 2]. The main aims were to optimize the isolation of phytohormones from minute amounts of plant material and applied in-tip SPE-based microextraction (in-tip μ -SPE). The use of new isolation technologies such as in-tip μ -SPE have increased analyte recovery during the purification step while minimizing matrix effects during the mass spectrometric (MS) analysis. In order to verify the effect of complex sample matrix of the whole methods as well as their efficiency and analytical accuracy, the appropriate stable isotope-labelled internal standards have been prepared by the organic synthesis. Finally, we have used fast chromatographic techniques (UHPLC) and sensitive MS-based methods for profiling of phytohormone metabolites. We now have a powerful tool to get a better understanding of the regulation of auxin and cytokinin metabolism during plant development at the tissue and cellular levels.

* Korespondence: ondrej.novak@upol.cz

LITERATURA:

1. Novák O. et al.: *Plant J.* 72, 523-536 (2012).
2. Svačinová J. et al.: *Plant Methods* 8, 17 (2012).

PODĚKOVÁNÍ:

This work was further supported by the Centre of the Region Haná for Biotechnological and Agricultural Research (ED0007/01/01), the Swedish Governmental Agency for Innovation Systems (VINNOVA) and the Swedish Research Council (VR). The program "Návrat" for Research, Development, and Innovations" (LK21306), which is funded by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic, is highly appreciated.

WeP-002: Triazole complexes with zinc(II) – stability and structure study using ESI-MS

Renáta Norková^{1,2*}, Jana Jaklová Dyrtrtová¹, Václav Kašička¹

1. Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, v.v.i.

2. Department of Analytical Chemistry, Charles University in Prague, Faculty of Science

Triazole antifungal agents are frequently used compounds in agriculture. In addition, some of these compounds are used also as drugs. Different substituents of triazole rings cause different behaviour and physico chemical properties of the compounds. The complex formation of three triazole fungicides (tebuconazole, penconazole, propiconazole) with zinc ions was studied using electrospray ionization mass spectrometry. The complexes with analogue structures were found. It was found that the complexes of triazole with substituent containing another donor atom (tebuconazole, propiconazole) formed weaker donor-acceptor bonds than complexes, where the donor-acceptor bond is formed only through nitrogen from triazole ring. It could be caused by limited flexibility of the binding angles, which results in higher distance of the central atom from the ligand molecule and lower binding energy.

* Korespondence: renata.norkova@natur.cuni.cz

PODĚKOVÁNÍ:

This work was supported by MSM (SVV267215) and GA CR (13-21409P and 13-17224S).

WeP-003: Využitie kvantitatívno-proteomickej analýzy pri štúdiu imunomodulačných vlastností adenovírusových vektorov

Mariana Pjechová^{1*}, Petra Dvořáková¹, Lenka Hernychová¹, David Potěšil², Zbyněk Zdráhal², Peter Tomašec³, Gavin W. G. Wilkinson³, Bořivoj Vojtěšek¹

1. Masarykův onkologický ústav, RECAMO

2. Masarykova univerzita, CEITEC-MU a Přírodovědecká fakulta

3. Cardiff University School of Medicine

V tejto štúdiu bol porovnávaný vplyv adenovírusových vektorov AdEasy1 [adenovírus 5 delta E1/E3] [1], u ktorého bol preukázaný stimulujúci efekt na NK bunky a AdZ2 [adenovírus 5 delta E1/E3/E4 (ex. E4ORF6)] , ktorý bol navrhnutý tak, aby stimuloval imunitný systém v menšej miere. Pre kvantitatívnu analýzu fosfoproteínov bola použitá metóda SILAC, pri ktorej boli bunky infikované AdZ2 označené stabilnými izotopmi arginínu a lyzínu (R10K8), bunky infikované AdEasy1 boli označené stredne ťažkými izotopmi (R6K4) a kontrolné, neinfikované bunky neboli označené (R0K0). Bunky boli zlyzované, zmiešané v rovnakom pomere a štiepené trypsinom podľa FASP protokolu [2]. Fosfopeptidy boli obohatené použitím TiO₂ častíc, následne boli odsolené, separované na kvapalinovej chromatografii (LC) s 90 min. gradientom a analyzované hmotnostným spektrometrom Orbitrap Elite. s rozlíšením 120 000 pri 400 m/z. Neobohatené vzorky boli analyzované za rovnakých podmienok, iba gradient LC bol predĺžený na 220 min. Získané MS/MS dáta boli porovnané s databázou UniProt proteome pre *Homo sapiens* použitím softwarov Mascot a Sequest. Na spracovanie dát, prehľadanie databáz a kvantitatívne vyhodnotenie rozdielov medzi fosfoproteínmi z infikovaných a neinfikovaných buniek bol použitý program Proteome Discoverer 1.4 s phosphoRS 3.1. algoritmom umožňujúcim predikciu lokalizácie fosforylovaných miest. Zahnuté boli peptidy s FDR < 1% (false discovery rate; Percolator, q-value), dlhé minimálne šesť aminokyselín a prvé v poradí. Za identifikovaný proteín bol považovaný ten, ktorý obsahuje jeden a viac unikátnych peptidov. Celkovo bolo identifikovaných 2941 proteínov a pozorovaných okolo 900 fosforylovaných miest (PhosphoRS Site Probability ≥ 99%).

* Korespondence: mariana.pjechova@mou.cz

LITERATURA:

1. Tong-Chuan H. et al.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 2509-2514 (1998).
2. Wiśniewski J.R. et al.: Nature Methods 6, 359–362 (2009).

POĎĚKOVÁNÍ:

Práca bola podporená Európskym fondom pre regionálny rozvoj a štátnym rozpočtom Českej republiky (RECAMO CZ.1.05/2.1.00/03.0101) a (CEITEC CZ.1.05/1.1.00/02.0068).

WeP-004: Who are alpine bistort's (*Bistorta vivipara* L.) playmates? Metaproteomics reveals the key microorganisms in the rhizosphere of a widespread arctic-alpine plant

Iva Hlaváčková^{1*}, Jiri Santrucek¹, Pernille Bronken Eidesen², Sunil Mundra²,
Radovan Hynek¹

1. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

2. The University Centre in Svalbard

Alpine bistort (*Bistorta vivipara* L.) is a widespread, herbaceous, arctic-alpine plant with large ecological amplitude; it is one of the first plant species colonising primary successional sites, but are also found in closed vegetation. Alpine bistort has also a large ecological importance as key food item for e.g. geese and ptarmigans. The success of this species can be related to its ability to associate with soil microorganisms: Alpine bistort forms both ectomycorrhizal and arbuscular mycorrhizal relationships, and based on DNA barcoding, it has also been shown to have a specific root-associated bacterial community.

In this study, we utilize a metaproteomic approach to study seasonal changes and impacts of environmental stimuli on living microbial community associated with alpine bistort. Soil from rhizosphere was collected three times during growing season at three sites with different characteristics (bird cliff rich in nitrogen supply, coal mine with extremely low soil pH and control site; Longyerbyen, Svalbard). Simultaneously soil temperature and moisture pattern throughout the year has been measured and chemical parameters of soil were determined. To detect microorganisms present in rhizosphere; proteins were extracted from soil using phenol, subjected to SDS-PAGE, trypsin digested and identified using mass spectrometry. In last step, identified proteins were assigned to phylogenetic and functional groups.

Our preliminary results shed new light on the microbial community structure in alpine bistort rhizosphere with highly abundant Proteobacteria bacterial lineage. Moreover, our data provide evidence that the soil nutrient content and pH affect the microbial community structure in alpine bistort's rhizosphere.

* Korespondence: ivahlavackova@gmail.com

PODĚKOVÁNÍ:

This research was supported by Ministry of Education, grant no. MSM 6046137305.

WeP-005: Real time monitoring of population dynamics in concurrent bacterial growth using SIFT-MS quantification of volatile metabolites

Kristýna Sovová^{1*}, Jaroslav Čepl², Anton Markoš², Patrik Španěl¹

1. Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v.v.i.
2. Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy

Selected Ion Flow tube Mass Spectrometry, SIFT-MS, allows a real time detection and quantification of trace amounts of gases including vapours of volatile organic compounds present in ambient humid air. This technique was previously used mainly for analyses of compounds present in human breath. However, it has a potential to be used in other areas of interdisciplinary research [1] including plant physiology and environmental research, medicine, food science or in the study of bacterial cultures.

Although bacteria do not have any sensory organs, they somehow can perceive what is happening around them and it is possible that they are able to communicate using chemical signals. As a model system to investigate such communication we have studied volatile organic compounds released by bacterial colonies in selected clones of *Serratia rubidaea* (R, red and smooth), *Serratia marcescens* (F, fountain shape colonies) and *Escherichia coli* (Ec) grown on nutrient rich media [2]. These three organisms form an interesting ecosystem of competing species and their concurrent growth may result in the “survival of the fittest” scenario. In a ternary system like this the interaction can be seen as an analogue of the well known game “rock-paper-scissor. Whilst the ultimate result of the population dynamics can be observed by counting of surviving colony forming units, it would be much more instructive to follow them in the real time using volatile signatures of the individual clones. It was the objective of this study to identify such chemical signatures and the preliminary results look very encouraging.

* Korespondence: sovoval@natur.cuni.cz

LITERATURA:

1. P. Španěl and D. Smith: Mass Spectrom. Rev. 30, 236-267 (2011).
2. J. Čepl et al.: BMC Microbiol. 10 (2010).

WeP-006: Využití MALDI-MS a CZE pro analýzu fosforylovaných a defosforylovaných peptidů

Václav Staněk^{1*}, Barbora Jankovičová², Rudolf Kupčík², Michaela Konečná¹,
Zuzana Bílková²

1. Katedra analytické chemie, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice

2. Katedra biologických a biochemických věd, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice

Proteiny se v živých organizmech podílí na řízení a regulaci mnoha důležitých procesů. Jsou u nich pozorovány různé posttranslační modifikace, které ovlivňují strukturu, stabilitu, imunologické vlastnosti i aktivitu proteinů. Nejčastěji se vyskytující posttranslační modifikací proteinů je fosforylace při které dochází prostřednictvím proteinkináz k reverzibilnímu navázání fosfátové skupiny. Fosfoproteiny lze chemicky nebo enzymaticky štěpit a vzniklé fosfopeptidy mohou být separovány chromatografickými nebo elektromigračními technikami.

V této práci byly optimalizovány postupy a podmínky preanalytické úpravy vzorků obsahujících fosfopeptidy před jejich vlastní separací pomocí CZE. Protože se peptidy v závislosti na přítomnosti či nepřítomnosti navázaných fosfátových skupin ve svých strukturách vyznačují různými elektroforetickými pohyblivostmi, byla CZE zvolena jako možná analytická technika pro rychlé rozlišení fosforylované a defosforylované formy peptidů. Pro ověření účinnosti štěpení modelového α -kaseinu byla použita MALDI-MS a v naštěpených vzorcích byly nalezeny odpovídající specifické peptidy. Následně bylo provedeno selektivní obohacení fosforylovaných peptidů na titanových částicích a účinnost obohacení byla ověřena pomocí MALDI-MS. Pro účely porovnávání změn v záznamech CZE separace naštěpených vzorků α -kaseinu byla provedena defosforylace fosfopeptidů pomocí imobilizované alkalické fosfatázy. Při optimalizaci podmínek defosforylace se pomocí MALDI-MS testovala její účinnost z hlediska doby trvání i množství enzymu tak, aby došlo ke kvantitativní průběhu defosforylace analyzovaných fosfopeptidů. Po provedení srovnávacích separací obohacených fosforylovaných a defosforylovaných vzorků pak byly v získaných elektroforegramech sledovány odpovídající rozdíly.

* Korespondence: vaclav.stanek@upce.cz

PODĚKOVÁNÍ:

Tato práce vznikla za finanční podpory Grantové agentury České republiky v rámci projektu GA206/12/0381, dále podpory EU 7. RP v rámci projektu NADINE č. 246513 a podpory MŠMT v rámci projektu CZ.1.07/2.3.00/30.0021 "Posílení excelentních týmů výzkumu a vývoje na Univerzitě Pardubice".

WeP-007: Radio-sensitization of human leukemic cells HL-60 by ATR-kinase inhibitor (VE-821): Phosphoproteomic analysis

Barbora Šalovská^{1,2*}, Aleš Tichý², Ivo Fabrik³, Martina Řezáčová¹, Jiřina Vávrová²

1. Charles University in Prague

2. University of Defence

3. University of Defence

DNA damaging agents such as ionizing radiation or chemotherapy are frequently used in anti-cancer treatment. DNA damage response (DDR), which is triggered by the presence of gamma-radiation induced double strand breaks, is orchestrated mainly by three protein kinases belonging to the phosphatidylinositol-3 kinase family: ATM, DNA-PK and ATR.

The activation of such kinases in radioresistant cells promotes cell-cycle arrest and thus provides sufficient time for DNA damage repair, which might result into a failed therapy. A specific ATR inhibitor, VE-821, that was developed recently, has been shown to have a great potential in support of radio- and chemo-therapy since its sensitizing effect has been reported to be delimited to cancer cells (mostly p53-negative) without affecting normal cells.

In this study, we employed SILAC-based high resolution quantitative phosphoproteomics in order to better describe the mechanism of the radiosensitizing effect of VE-821 in human promyelocytic leukemic cells HL-60 (p53-negative) and the role of ATR kinase in DDR (1 hour after irradiation by 6 Gy).

Titanium dioxide chromatography with HILIC pre-fractionation and LC-MS/MS analysis revealed 6927 class I phosphorylation sites. Proteins that were significantly modified by phosphorylation were mostly localized in nucleus and were involved in cellular processes like regulation of cell cycle progression, cell division and metabolism of nucleic acids. An overview of regulated pathways and kinases involved in signalling of radio-sensitized HL-60 cells will be given. Taken together, VE-821 proved as a potent radio-sensitizing agent for p53-negative cells.

* Korespondence: salob5aa@lfhk.cuni.cz

PODĚKOVÁNÍ:

The presented work was supported by the Grant Agency of Charles University in Prague (GAUK1220313) and by the Grant Agency of the Czech Republic (GPP206/12/P338).

WeP-008: SIFT-MS analýza vonných látek

Kseniya Dryahina ^{1*}

1. Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v.v.i.

Hmotnostní spektrometrie v proudové trubici s vybranými ionty, SIFT-MS, umožňuje absolutní stanovení stopových koncentrací plynů a těkavých organických látek ve vzduchu [1]. SIFT-MS kombinuje techniku rychlé proudové trubice, chemické ionizace a hmotnostní spektrometrie. Koncentrace stopových molekul plynu lze kvantifikovat v reálném čase z poměru intenzit produktových a reagentových iontů a známých rychlostních konstant a měřených fyzikálních parametrů.

Metoda SIFT-MS je v současné době stále více využívána v potravinářském výzkumu v oblasti senzorických vlastností potravin i pro kontrolu kvality. Předmětem výzkumu jsou jak potraviny živočišného původu, od mléčných výrobků přes maso po fermentované masné výrobky [2] tak plodiny jako zelenina, olej a byliny. Aroma potravin je komplexní vlastnost ovlivněná přítomností jak chuťových látek, tak i velkého množství vonných těkavých látek. V posledních letech byla provedena v několika laboratořích po celém světě řada studií koncentrací těchto vonných látek a jejich změn v závislosti na různých faktorech.

V této přednášce budou prezentované výsledky studií provedených v naší laboratoři, kde pracujeme zejména na vývoji metod SIFT-MS a s tím spojeným výzkumem iontové chemie a také přehled využití této metody na pracovištích specializovaných na chemii potravin [3].

* Korespondence: dryahina@jh-inst.cas.cz

LITERATURA:

1. Španěl P. et al.: Int. J. Mass Spectrom. 249/250, 230-239 (2006).
2. Olivares A. et al.: J. Agric. Food Chem. 59(5), 1931-1938 (2001).
3. Sumonsiri N. et al.: Curr. Anal. Chem. 9, 631-641 (2013).

WeP-009: Solution structure of cellobiose dehydrogenase under different pH conditions

Petr Halada ^{1*}, Alan Kádek ^{1,2}, Roland Ludwig ³, Petr Man ^{1,2}, Petr Novák ^{1,2}

1. Institute of Microbiology v.v.i., Prague, Czech Republic

2. Faculty of Science, Charles University in Prague, Czech Republic

3. University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Vienna, Austria

Cellobiose dehydrogenase (CDH) is a monomeric glycoprotein of fungal origin composed of a FAD-associated dehydrogenase domain, a haem b-containing cytochrome domain, and a linker part connecting both domains. The presence of one haem and one FAD within a single protein molecule makes CDH an attractive enzyme in a number of applications in the area of bioelectrocatalysis and biosensors. However, flexible linker prevents crystallization of the intact CDH, therefore the native conformation of the enzyme remains still elusive.

To explore in-solution structure of CDH we used combination of hydrogen/deuterium exchange (HDX) and mass spectrometry (MS). Prior to HDX-MS we characterized all modifications present in CDH structure and optimized pepsin digestion to get nearly full sequence coverage required for HDX-MS. We tested digestion conditions, namely N-deglycosylation, denaturation and disulfide bond reduction working under HDX-compatible conditions. The method optimization resulted in a 10 min incubation of EndoH-treated CDH with 0.5M TCEP and 3M guanidine on ice, followed by protein digestion using pepsin immobilized on a self-packed column and yielded 95% sequence coverage with 217 peptides matching to the CDH sequence. Further, HDX experiment was performed at two different pH values at which CDH should be present in active (pH 7.5) and inactive (pH 5.5) form.

HDX-MS data showed that the activity of CDH is pH dependent and is associated with a conformational change. This supports our hypothesis that the domains are physically separated at higher pH while at lower pH they are in close proximity required for direct electron transfer. Moreover, the HDX-MS results are in nice agreement with those obtained on analytical ultracentrifuge.

* Korespondence: halada@biomed.cas.cz

PODĚKOVÁNÍ:

The financial support from Grant Agency of the Czech Republic (P206/12/0503) and from Institute of Microbiology (RVO61388971) is gratefully acknowledged.

WeP-010: Protein-proteinové interakce cytochromu P-450 nejen v prostředí lipidické membrány

Tomáš Ječmen^{1,2,*}, Renata Šnajdrová^{1,2}, Věra Černá², Petr Novák^{1,2}, Petr Hodek², Miroslav Šulc^{1,2}

1. Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i.

2. Univerzita Karlova v Praze

Superrodina cytochromů P-450 (P450) je součástí katalytického systému oxygenas se smíšenou funkcí (MFO) zodpovědných v organismu za detoxikaci cizorodých látek, metabolismus léčiv a bohužel také aktivaci některých karcinogenů. Katalytické vlastnosti některých izoform P450 jsou modulovány přítomností fakultativního redox partnera – cytochromu b₅ (cyt b₅). U vyšších živočichů oba membránové proteiny vzájemně interagují katalytickými (v cytosolu exponovanými) doménami. Kontakt hydrofobních částí uvnitř lipidické membrány endoplazmatického retikula dosud nebyl prokázán.

V sekvenci cyt b₅ jsou v oblasti hydrofobní kotvy lokalizovány dva methioniny, třetí methionin se nachází ve flexibilní doméně v blízkosti membrány. Proto jsme pro studium interakcí hydrofobních domén cytochromů využili novou metodu foto-sít'ování proteinů: (i) fotoaktivovatelnou proteinovou nanosondu – foto-cyt b₅ – jsme připravili rekombinantní expresí s fotolabilním analogem methioninu (pMet), (ii) fotoaktivací nanosondy rekonstituované společně s P450 2B4 v lipidické membráně došlo ke vzniku 3 kovaletních komplexů patrných na 1D elektroforéze¹, (iii) binární komplex P450 2B4:cyt b₅ jsme proteolyticky štěpili a identifikovali interagující peptidy pomocí hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením a tandemové hmotnostní spektrometrie.

Výsledky naznačují možnou membránovou topologii a vzájemné uspořádání obou cytochromů. Pro potvrzení a rozšíření získaných strukturních dat jsme experimenty zopakovali také s mutantními nanosondami (obsahují v sekvenci vždy pouze jediný pMet).

* Korespondence: tomas.jecmen@centrum.cz

LITERATURA:

1. Koberova M. et al.: Int. J. Electrochem. Sci. 125, 8 (2013).

PODĚKOVÁNÍ:

Finanční podpora: GAČR P207/12/0627, UNCE 204025/2012.

WeP-011: Influence of phosphatidylserine on M-PMV budding process**Petra Junková**^{1*}, Jan Prchal¹, Tomáš Ruml¹, Richard Hrabal¹, Radovan Hynek¹*1. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze*

Mechanism of retroviral budding process is intensively studies, because the molecular basis of its initial part, the interaction of retroviral matrix protein with the host cell membrane, has not been elucidated yet. In the case of HIV, it is suggested, that the mechanism of interaction could take place via myristoyl switch, where the main trigger is the specific interaction between viral matrix protein and phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate [1, 2]. Additionally, in the case of murine leukemia virus (MuLV), it was found out that the presence of phosphatidylserine supports this interaction [3].

In our study we wanted to elucidate, whether also in the case of Mason-Pfizer monkey virus (M-PMV) the interaction is supported by phosphatidylserine or other phospholipids occurring in the inner leaflet of membrane such as phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine, and which amino acids are involved in the interaction. For this purpose, we first used liposome binding assay to determine the strength of interaction between matrix protein and artificial liposomes containing different phospholipids. Subsequently, we used surface mapping of the protein bound to the liposomes to determine, which amino acid are reactive and which are involved in the interaction with different types of liposomes.

Using liposome binding assay we found out that the presence of phosphatidylserine supports the interaction also in the case of M-PMV, although, with a lesser extent than in case of MuLV. Phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine did not play a role in the interaction. Surface mapping, afterwards, helped us to uncover, that there are no additional amino acid which interacts with phosphatidylserine and do not interact with phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate.

* Korespondence: junkovap@vscht.cz

LITERATURA:

1. Chukkapalli V. et al.: J. Virol. 82, 2405-2417 (2008).
2. Saad J.S. et al: J. Mol. Biol. 382, 434-447 (2008).
3. Hamard-Peron E. et al.: J. Virol. 84, 503-515 (2010).

PODĚKOVÁNÍ:

Finacial support from specific university research (MSMT No 21/2013), Czech Science Foundation grant P302/12/1895 and Ministry of Education grant no. MSM6046137305 are gratefully acknowledged.

WeP-012: Stanovení citrininu v obilovinách pomocí LC/MS

Karolína Benešová^{1*}, Sylvie Běláková¹, Renata Mikulíková¹, Zdeněk Svoboda¹

1. Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s.

Citrinin je polyketidový mykotoxin produkovaný několika druhy plísní rodů *Aspergillus*, *Penicillium* a *Monascus*. Vyskytuje se zpravidla v uskladněném obilí, ale může se nacházet také v jiných rostlinných produktech, jako jsou fazole, ovoce, ovocné a zeleninové šťávy, byliny a koření, a také ve zkažených mléčných výrobcích. Častý je jeho společný výskyt s ochratoxinem A (OTA) v obilovinách a patulinem v ovoci [1].

Citrinin byl izolován před II. světovou válkou z plísně r. *Penicillium citrinum*. Původně byl považován za potencionálně účinné antibiotikum, ale velice záhy byly prokázány jeho toxické účinky a citrinin byl zařazen mezi nežádoucí rizikové látky.

Citrinin spolu s OTA má negativní efekt převážně na ledviny a játra. Expozice ledvinových buněk citrininu vedla k inhibici proliferace a k projevům genotoxicity (DNA fragmentace a aberace chromozomů). Tyto toxické projevy citrininu jsou potencovány ochratoxinem A [2]. Tvorba citrininu je ovlivněna různými parametry, včetně nutričních faktorů, jako je přísun zdrojů kyslíku, uhlíku a dusíku, mastných kyselin a faktorech prostředí, např. vodní aktivitě, teplotě, způsobu konzervace a skladování potravin.

V současné době nejsou zavedeny žádné legislativní limity pro obsah citrininu v potravinách, obilovinách či krmivech. Vzrůstající pozornost k obsahu citrininu v potravinách je zřejmá i z toho, že v roce 2010 Evropská komise požádala Evropskou autoritu pro bezpečnost potravin (European Food Safety Authority, EFSA) o vydání vědeckého stanoviska mimo jiných mykotoxinů i pro citrinin [3].

Pro stanovení citrininu ve složitých biologických matricích se používají především chromatografické a imunochemické metody [1].

Cílem naší práce bylo vyvinout a validovat metodu pro stanovení citrininu v obilovinách pomocí LC/MS.

* Korespondence: karkulkab@seznam.cz

LITERATURA:

1. Reinhard H. and Zimmerli B.: *J. Chromatogr. A* 862, 147-159 (1999).
2. Barkai-Golan R.: *Mycotoxins in Fruits and Vegetables* (2008).
3. EFSA, *EEFSA Journal* 10 (3), (2012).

WeP-013: Stanovení mykotoxinů v pivu pomocí LC/MS

Sylvie Běláková^{1*}, Karolína Benešová¹, Zdeněk Svoboda¹, Renata Mikulíková¹

1. Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s.

Plísňe představují významné bezpečnostní riziko pro pivovarský průmysl [1]. Při sladování ječmene kontaminovaného plísněmi vznikají výhodné podmínky pro rozvoj mykotoxinů [2]. V průběhu celého pivovarského procesu mohou mykotoxiny přejít z kontaminovaného ječmene do sladu a následně i do piva [2]. Mykotoxiny jsou velmi chemicky i tepelně stabilní sloučeniny, které není možné z kontaminovaných komodit zcela odstranit [3].

Analytické metody pro stanovení mykotoxinů v pivu jsou založeny většinou na kapalinové chromatografii s hmotnostně spektrometrickou detekcí (LC/MS) po předchozím přečištění piva na imunoafinitní kolonce [3]. Pro analytické stanovení aflatoxinů (B1, B2, G1, G2), DON, OTA a ZON v pivu byl použit kapalinový chromatograf Surveyor ve spojení s hmotnostním detektorem LCQ Advantage, ionizace za atmosférického tlaku (APCI a ESI), ovládací software Xcalibur (Thermo-Fisher, USA). Separace byly provedeny na chromatografické koloně Synergi Hydro RP 80A (150 mm x 3,0 mm, velikost částic 4,0 µm) pomocí gradientové nebo izokratické eluce.

* Korespondence: sylvam@seznam.cz

LITERATURA:

1. Oliveira P. M. et al.: Int. J. Food Microbiol. 156, 32-43 (2012).
2. Wolf-Hall C. E.: Int. J. Food Microbiol. 119, 89-94 (2007).
3. Zöllner P. et al.: J. Chromatogr. A. 1136, 123-169 (2006).

WeP-014: SILAC labeling reveals extensive GM-CSF-dependent arginine metabolism in primary bone marrow-derived dendritic cells

Ivo Fabrik^{1*}, Marek Link¹, Anetta Härtlova², Vera Dankova³, Pavel Rehulka¹, Jiri Stulik¹

1. Institute of Molecular Pathology, Faculty of Military Health Sciences, University of Defence

2. Department of Molecular Biology, Laboratory of Molecular Medicine Sweden (MIMS), Umeå University

3. Department of Biochemical Studies, Faculty of Pharmacy in Hradec Kralove, Charles University

Priming of the adaptive immunity must be carefully regulated to maintain the balance between the efficient response and the immunopathology. One level of control represent dendritic cells (DCs). Their function is to acquire the antigen, recognize it as a threat, deliver this danger signal to lymph node, prepare the antigen for the priming of the adaptive immunity effectors and to instruct them how to react. Unfortunately, we are still far from being able to understand the variability of this process. Our group has therefore decided to introduce quantitative proteomics into DC research in hope this will help to map DC behavior on molecular level. Bone marrow-derived DCs (BMDCs) were chosen as model cells as these can be generated in vitro while preserving the biological relevance of primary cells. Conveniently, in vitro cultivation also permits application of metabolic labeling (SILAC). However, first attempts to label BMDCs with isotopically labeled arginine (Arg+10 [¹³C₆, ¹⁵N₄]) and lysine (Lys+6 [¹³C₆]) revealed extensive arginine-to-proline conversion, as more than 20% of all protein-incorporated proline was a by-product of Arg+10 degradation. In addition, the dissipation of ¹⁵N from Arg+10 to the whole proteome was observed. The latter decreased mass accuracy in MS and affected the natural isotopic distribution of peptides. SILAC-connected metabolic issues were shown to be enhanced by GM-CSF, which is used for the differentiation of DC progenitors. Modifications of the cultivation procedure suppressed arginine-related effects, yielding cells with proteome labeling efficiency ≥90%. Importantly, generated BMDCs preserved their resemblance to DCs in vivo, as evidenced from the LPS treatment.

* Korespondence: fabrik@pmfhk.cz

LITERATURA:

1. Joffre O. et al.: *Immunol. Rev.* 227, 234–247 (2009).
2. Weintz, G. et al.: *Mol. Syst. Biol.* 6, 371 (2010).
3. Marcilla, M. et al.: *Talanta* 84, 430–436 (2011).

PODĚKOVÁNÍ:

We would like to thank Jana Balounova from Institute of Molecular Genetics of the ASCR, v. v. i. for help with preparation of Ag8653 supernatant. The work was supported by research grants of Ministry of Education, Youth and Sports of Czech Republic 7AMB12GR038 and SV/FVZ201107 and by a long-term organization development plan 1011.

WeP-015: Poškození vzorku během MALDI a NALDI hmotnostně spektrometrického zobrazování a dopady na dosažitelné rozlišení

Marcela Strnadová¹, Lukáš Krásný^{1,2*}, Oldřich Benada¹, Vladimír Havlíček¹

*1. Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i.
2. Vysoká škola Chemicko-technologická v Praze*

Díky schopnosti kombinovat signál analytu s jeho prostorovou distribucí je metoda hmotnostně spektrometrického zobrazování (MSI – mass spectrometry imaging) v zájmu vědců již několik desetiletí. Vstupem MALDI ionizace na pole MSI se navíc otevřely široké možnosti biochemických a biomedicínských aplikací, především pak studium distribuce biomakromolekul, léčiv či metabolitů v různorodých tkáních. Nejlepšími současnými hmotnostními spektrometry je možné dosáhnout prostorového rozlišení v řádech jednotek mikrometrů [1], přesto jsou v praxi podobná měření obvykle nerealizovatelná. Limitujícími faktory dosaženého prostorového rozlišení jsou, kromě vlastností laseru, také krystalizace použité matrice a v neposlední řadě ablace během desorpčně-ionizačního procesu.

V této práci prezentujeme výsledky MALDI MSI experimentů provedených na řezu ledvinové tkáně, u něž byla měřena spektra v prostorovém rozlišení 50, 20 a 10 μm . Na snímcích z elektronového mikroskopu pořízených po MALDI analýze je zřetelný rozdíl v poškození vzorku v závislosti na použitém rozlišení a intenzitě laseru. Je patrné, že při použití vysokého rozlišení (10 μm) jsou ablatovány větší kusy tkáně i z oblastí, kde dosud nebylo měřeno a tím ke ztrátě signálu. Podobných výsledků bylo dosaženo i při analýze Rhodaminu G naneseného na NALDI povrchy.

* Korespondence: lukas.krasny@biomed.cas.cz

LITERATURA:

1. Spengler B. and Hubert, M.: J. Am. Soc. Mass Spectrom. 13, 735-748 (2002).

PODĚKOVÁNÍ:

Tato práce byla finančně podporována Grantovou agenturou ČR (projekt P206/12/1150), Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy (COST-CZ-LD13038) a Interní grantovou agenturou Mikrobiologického ústavu AV ČR (RVO61388971).

WeP-016: Studie možnosti mapování vybraných léčiv v mozkové tkáni myši pomocí MALDI MS

Kateřina Jágerová^{1*}, Antonín Bednařík¹, Christian Nilsson¹, Soňa Pokorná², Ladislav Ilkovič², Aleš Humpl², Jana Pistovčáková³, Regina Demlová³, Jan Preisler¹

1. CEITEC a Ústav chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova Univerzita, Brno, ČR

2. Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta, Masarykova Univerzita, Brno, ČR

3. Farmakologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova Univerzita, Brno, ČR

Zobrazovací hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpce a ionizací za účasti matrice (MALDI TOF MS imaging) je technika umožňující vizualizaci rozložení širokého spektra analytů v rozličných vzorcích, typicky v tenkých řezech biologických tkání. V minulosti byla úspěšně využita k analýze mozkových tkání, sledování distribuce léčiv a jejich metabolitů v tkáních nebo při hledání nových biomarkerů. V tomto příspěvku zkoumáme využitelnost MALDI MS pro zobrazování distribuce vybraných léčiv, olanzapinu [1, 2], haloperidolu a periperidonu v mozkové tkáni myši. Uvedená léčiva patří mezi antipsychotika, využívají se k léčbě schizofrenie a dalších psychických poruch, přičemž v mozku působí jako antagonisté dopaminergních receptorů. Řezy zmrazené nativní mozkové tkáně byly umístěny na terčík MALDI, sklíčko pokryté vodivou vrstvou smíšeného oxidu india a cínu, důkladně vysušeny a obohaceny přísadami standardů stanovovaných léčiv. Následně byla tkáň pokryta homogenní vrstvou krystalů matrice (DHB, CHC) pomocí tří rozdílných technik: sublimací, elektrosprejem a pomocí pneumatického spreje. Stanovení léčiv v tkáni bylo ovlivněno přítomností velkého množství interferujících látek, zejména lipidů, sodíku a draslíku, které se v mozkové tkáni nachází ve vysokém obsahu. S cílem potlačit tyto interference bylo zkoumáno přečištění vzorku tkáně před nanesením matrice a jeho vliv na analýzu. Stejně tak byly optimalizovány samotné metody nanášení matrice. Výsledné detekční limity pro stanovení antipsychotik v tkáni byly srovnány s limity dosaženými při stanovení standardů léčiv na MALDI terčíku pomocí metody „drieddroplet“.

* Korespondence: 45329@mail.muni.cz

LITERATURA:

1. Reyzer M. L. and Caprioli R. M.: *Curr. Opin. Chem. Biol.* 11, 29–35 (2007).
2. Khatib-Shahidi S. et al.: *Anal. Chem.* 78, 6448–6456 (2006).

PODĚKOVÁNÍ:

Děkujeme za finanční podporu projektu CEITEC – „Central European Institute of Technology“ (CZ.1.05/1.1.00/02.0068) z Evropského fondu pro regionální rozvoj a Grantové agentuře České Republiky (GAP206/12/0538).

WeP-017: Role stříbra v reakcích katalyzovaných zlatem

Lucie Jašíková^{1*}, Štěpánka Janková¹, Ivett Szkiba¹, Jana Roithová¹

1. Univerzita Karlova v Praze

“Zlatá horečka“ probíhající nejen v organické syntéze přináší řadu zajímavých témat k řešení. Jedním z takových témat je role stříbra v reakcích katalyzovaných zlatem.¹ Stříbro se v homogenní katalýze zlatem používá jako tzv. pomocný katalyzátor. Jeho hlavním cílem je vytvořit z nepříliš reaktivního [L-Au]Cl aktivní částici [L-Au]⁺, přičemž současně dochází k vysrážení stříbrné soli. Otázkou ale stále zůstává, jestli se opravdu jedná o ryzí zlatou katalýzu, či katalýzu pomocí dvou kovů Au/Ag, nebo stříbrem asistovanou katalýzu zlatem. Duální aktivace pomocí dvou kationtů zlata v nukleofilní adici na trojné vazby představuje další z klíčových témat v řešení mechanismu reakcí katalyzovaných zlatem.² My jsme obě tato témata spojili a zaměřili jsme se na zkoumání vlivu stříbra na poločas života diaurovaných intermediátů, které vznikají po aktivaci alkyňů dvěma kationty zlata za současné adice methanolu na trojnou vazbu. Poločas života intermediátů jsme měřili pomocí hmotnostní spektrometrie, která je ideální metodou pro studium reakcí katalyzovaných zlatem, protože tyto reakce probíhají v iontovém stavu. Studii jsme doplnili měřením vlivu stříbra na kinetiku reakce pomocí NMR spektroskopie.

* Korespondence: lucie.jasikova@centrum.cz

LITERATURA:

1. Wang D. et al.: J. Am. Chem. Soc. 134, 9012 (2012).
2. Roithová J. et al.: Angew. Chem. Int. Ed. 51, 8378 (2012).

PODĚKOVÁNÍ:

Autoři děkují za finanční podporu Grantové agentuře České republiky (207/11/0338), Evropské výzkumné radě (StG ISORI) a Ministerstvu školství, mládeže a tělovýchovy (MSM0021620857).

WeP-018: Reversed-phase chromatography and membrane proteins: is this approach really beneficial?

Lucie Maršalová^{1*}, Veronika Martinská¹, Jiří Šantrůček¹, Radovan Hynek¹

1. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

Cell membranes are the most diverse cellular compartment in the terms of protein composition. Most proteins belong to the integral membrane proteins (IMPs). IMPs plays crucial roles in the number of biochemical processes like molecule transport, communication or signal transduction. The analysis of these proteins is difficult, because of low concentration and poor solubility in the aqueous solutions. With the development of mass spectrometry isn't the problem of hydrophobicity so actual. However, we are still facing up to low concentration. Reversed-phase liquid chromatography (RP-LC) can be used for the enrichment of membrane proteins [1]. During the study of the membrane proteome of *Arabidopsis thaliana*, the method was first optimized in the terms of the amount of stationary phase and composition of elution solution. After the optimization, we obtained the fraction, which was strongly enrichment of membrane proteins. Of the 227 proteins identified in more hydrophilic fraction, 19 % were IMPs, but these proteins has only one transmembrane domain (TMD). Of the 221 proteins identified in the most hydrophobic fraction, 40 % were IMPs, and 45 % of these IMPs have at least two TMDs. These results were measured after the digestion in solution. Unfortunately, the amount of hydrophobic proteins is still low. In the following experiment, we focused on the comparison of the efficiency of in-gel and in-solution digestion [2]. The use of RP-LC is satisfactory in the experiment with in-solution digestion [3], but what about in-gel digestion... The effective method for IMPs study can be used for a better understanding of the biochemical processes of cell.

* Korespondence: Marsalova.Lucka@seznam.cz

LITERATURA:

1. Hynek R. et al.: *J. Proteome Res.* 5, 3105-3113 (2006).
2. Mohieddin J. et al.: *Electrophoresis* 33, 2516-2526 (2012).
3. Hynek R. et al.: *J. Liq. Chrom. Relat. Tech.* 34, 1004-1013 (2011).

PODĚKOVÁNÍ:

Finacial support from specific university research (MSMT No 21/2013) is gratefully acknowledged.

WeP-019: Proteomic analysis of cold stress in barley using iTRAQ labels

Jiří Santrůček ^{1*}, Jana Heřmanová ¹, Iva Hlaváčková ¹, Pavel Vítámvás ², Ilja Prášil ², Radovan Hynek ¹

1. Vysoká škola chemicko-technologická

2. Výzkumný ústav rostlinné výroby

During their growth plants are exposed to various kinds of abiotic and biotic stresses. Exposure of plants to low temperatures, 0-12 °C in our climatic conditions, causes significant changes of biochemical and physiological functions, which may have profound effect on the plants development. Many important cereals are sensitive to low temperatures to a certain extent thus cold stress can potentially influence their yield. For this reason, study of cold resistance mechanism is economically very significant.

After development of the second leaf young plants of barley's (*Hordeum vulgare*) winter variety Luxor were exposed for three days to the temperature of 3 °C. Following homogenization of roots and leaves centrifugation step was used to obtain predominantly cytosolic proteins and fraction enriched with nuclei and chloroplasts. iTRAQ labels were used to assess quantitative changes in individual protein content between cold-stressed and control samples. The labeled peptides were separated by two dimensional liquid chromatography followed by ESI-Q-TOF mass spectrometry.

Over 700 proteins were successfully identified and quantified. Depending on the fraction approximately 10-15 % of proteins showed abundance change greater than 30 %. Among these proteins there were found many proteins previously described in relation to the stress caused by the low temperature. At the same time proteins that were not previously associated with the cold stress were detected as well as proteins whose role in the cold stress was only predicted.

* Correspondence: santruj@gmail.com

PODĚKOVÁNÍ:

This research was funded by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic, projects QH 81287, QJ1310055 and MZE0002700604 and Ministry of Education grant no. MSM6046137305.

WeP-020: Studium C-H aktivace pyridinu katalyzované komplexy ruthenia

Anton Škríba¹, Jana Roithová^{1*}

1. Univerzita Karlova v Praze

Jednou z nejvíce studovaných reakcí je tvorba C-C vazby, pro kterou se používají spojovací reakce jako Stille, Suzuki-Miyaura, Sonogashira nebo Negishi. Nevýhodou těchto transformací je nutnost použití funkcionalizovaných vstupních reaktantů jako jsou alkyhalogenidy, které mohou být obtížně synteticky dostupné v případě komplikovaných molekul. Vzhledem k modernímu konceptu tzv. atomové ekonomie [1], kde je důraz kladen na minimum reakčních kroků a vedlejších produktů, se pozornost přesunula na aktivaci vazby C-H katalyzovanou komplexy přechodných kovů [2].

V naší práci jsme studovali mechanismus reakce mezi pyridinem a terminálními alkyny katalyzovanou ruthenioým komplexem CpRu(py)₂(PPh₃)PF₆ [3]. Pomocí hmotnostní spektrometrie jsme byli schopni detekovat některé intermediáty navržené v reakčním cyklu a otestovat jejich reaktivitu. Výsledky byly porovnány s teoretickými výpočty.

* Korespondence: jana.roithova@natur.cuni.cz

LITERATURA:

1. Trost B.: Science 254, 1471–1477 (1991).
2. Ritleng V. et al.: Chem. Rev. 102, 1731–70 (2002).
3. Johnson D. G. et al.: J. Am. Chem. Soc. 135, 2222–2234 (2013).

PODĚKOVÁNÍ:

Práce byla financována za podpory grantové agentury European Research Council (ERC-SiG-ISORI, PE4)

WeP-021: Neznámé lipidy novorozeneckého mázku

Vladimír Vrkoslav¹, Eva Háková^{1,2}, Radka Míková^{1,2}, Petra Horká^{1,2},
Marie Záborská^{1,2}, Richard Plavka³, Antonín Doležal³, Josef Cvačka^{1*}

1. Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i., Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6

2. Katedra analytické chemie, PĚF UK v Praze, Hlavova 2030/8, 128 43 Praha 2

3. Neonatologie, Gynekologicko-porodnická klinika 1. LF UK a FVN, Apolinářská 18, 128 51 Praha 2

Novorozeneckým mázkem (vernix caseosa, VC) je bílá až nažloutlá látka krémové konzistence. Vyskytuje se na povrchu plodu v posledním trimestru a plní zde mnoho funkcí: Před porodem chrání kůži před macerací, během porodu plní funkci lubrikantu a po porodu novorozence chrání před infekcemi a prochladnutím. Hlavní složkou VC je voda (80%). VC obsahuje také 10 % proteinů a z 10 % ho tvoří lipidy. Majoritní složky lipidové části VC jsou známé (skvalen, voskové estery, sterol estery, diestery diolů, triacylglyceroly, diacylglyceroly, fosfolipidy) [1, 2]. Předkládaná práce popisuje odhalení a identifikaci nových, ještě nepopsaných lipidových tříd.

Kolonovou chromatografií na silikagelu bylo rozděleno 4.7 gramů lipidů izolovaných z VC – stejným dílem z chlapců a děvčat – do 30-ti frakcí obsahujících většinou neutrální lipidy. Získané frakce byly analyzovány pomocí ESI/orbitrap-MS. Z přesně měřené hmotnosti iontů bylo určeno elementární složení lipidů v jednotlivých frakcích. Kromě známých majoritních tříd lipidů byla odhalena přítomnost nepopsaných tříd lipidů. Mezi frakcí diesterů diolů a triacylglycerolů byly objeveny skupiny látek obsahujících 3 a 5 kyslíků. Ve frakcích polárnějších než triacylglyceroly se vyskytovaly lipidy obsahující 7 a 8 kyslíků. Vytípané frakce byly separovány na RP-HPLC (Novapak C18) s ESI a APCI/orbitrap-MS detekcí a využitím kolizně indukované disociace dále charakterizovány. Identifikace funkčních skupiny byla navíc potvrzována infračervenou spektroskopií. Spojením všech získaných poznatků byly některé neznámé třídy lipidů identifikovány.

* Korespondence: vrkoslav@uochb.cas.cz

LITERATURA:

1. Kaerkaeinen J. et al.: J. Incest. Dermatol. 44, 333-338 (1965).
2. Rissmann R. et al.: J. Incest. Dermatol. 126 (8), 1823-1833 (2006).

PODĚKOVÁNÍ:

Tato práce byla financována z grantu GAČR P206/12/0750 a z projektu RVO 61388963.

WeP-022: Infrared spectroscopy of He-tagged dications $C_7H_6^{2+}$ **Juraj Jašík**^{1*}, Ján Žabka², Jana Roithová¹, Dieter Gerlich³*1. Charles University in Prague, Czech Republic**2. J. Heyrovsky Institute of Physical Chemistry of the ASCR, Czech Republic**3. University of Technology, Chemnitz, Germany*

Infrared spectroscopy of mass-selected gaseous ions provides us with their structural information. Here, we present an investigation of the structures of the He-tagged doubly charged hydrocarbon superelectrophiles $C_7H_6^{2+}$ using a method based on the photo-induced elimination of a He tag. Especially for small, highly reactive molecular dications, He is a very promising tag due to the small perturbations made to the molecular structure. Complexes with He can be created only in the case where the internal energy of the ions is sufficiently low. In our experiment the ions were relaxed by collisions with a He buffer gas in an ion trap operating at temperature below 4 K. At such cold conditions we observed production of $(C_7H_6He_n)^{2+}$ complexes up to $n = 5$.

We performed the experiment using a new ion trap instrument, ISORI. $C_7H_6^{2+}$ dications were created in an EI source from toluene vapors and trapped in an RF trap with linear quadrupole geometry. He buffer gas was injected into the trap by a pulsed valve. The trapped ions were irradiated by a tunable infrared laser. The ions extracted from the trap were mass-analyzed by a quadrupole mass filter. We have obtained a photodissociation spectrum of the $C_7H_6He^{2+}$ complex by observing their attenuation as a function of laser wavelength.

The experimental photodissociation spectrum is consistent with the calculated vibrational transitions of different isomers of $C_7H_6He^{2+}$. Comparison with the theoretical calculation of $C_7H_6^{2+}$ shows that the He tag causes just small perturbations to the structure of the dication.

* Korespondence: juraj.jasik@natur.cuni.cz

PODĚKOVÁNÍ:

The authors gratefully acknowledge financial support from the European Research Council (StG ISORI).

WeP-023: Validation of a multi-mycotoxin LC-MS/MS method for four different matrices

Alexandra Malachová^{1*}, Eduardo Beltran², Rudolf Krška¹, Michael Sulyok¹

1. University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna

2. Research Institute for Pesticides and Water, University Jaume I, Av. Sos Baynat s7n, 12071 Castello

In recent years, LC-MS/MS based multi-analyte methodology has been successfully introduced into the field of mycotoxin analysis. Most of the related methods, however, still focus on those mycotoxins that are addressed by regulations and to some of their derivatives. In addition, many of the published methods focus on grain-based matrices such as maize or wheat, whereas application to other types of matrices has been hardly investigated.

In this study, the applicability of an LC-MS/MS protocol covering 320 fungal and bacterial metabolites has been explored for four different matrices: apple puree for infants (high water content), hazelnuts (high fat content), maize (high starch or protein content, low fat content) and green pepper (“unusual matrix”). Validation has been performed according to SANCO document No 10684/2009 [1] for pesticides. In case of the three former matrices, signal suppression/enhancement as well as recoveries of the extraction step were within the target range of 70-110% for more than 80% of the investigated analytes, whereas considerable matrix effects and extraction losses were observed for approximately half of all analytes in green pepper. The LOQs determined following the criteria set in [1] were below the maximum levels set in EC No 1881/2006 [2] with the exception of aflatoxins and ochratoxin A in baby food and aflatoxin M1 in milk. The accuracy of the method was further investigated by the analysis of certified reference materials and by participation in proficiency tests. Z-scores were generally between -2 and 2 for all diverse matrices (including complex matrices such as coffee, pepper and animal feed).

* Korespondence: alexandra.malachova@boku.ac.at

LITERATURA:

1. http://ec.europa.eu/food/plant/protection/resources/qualcontrol_en.pdf
2. <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:364:0005:0024:EN:PF>

WeP-024: Spojení in-situ obohacení fosforylovaných peptidů a LC-MALDI-TOF/TOF analýzy: nová cesta ve fosfoproteomice

Lukáš Krasný^{1,2*}, Petr Pompach^{1,3}, Marcela Strnadová¹, Petr Novák^{1,3}, Michael Volný^{1,4}

1. Mikrobiologický ústav AV ČR

2. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

3. Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy

4. Dpt. of chemistry, University of Washington

Ačkoliv se hmotnostní spektrometrie uplatňuje ve všech oblastech proteomiky, detekce a analýza fosforylovaných peptidů tímto způsobem je značně limitována. Důvodem je obtížná ionizace fosfopeptidů, která se projeví supresí signálu ve hmotnostním spektru. Obvykle je tento fakt obcházen obohacením fosfopeptidů ve vzorku před vlastní analýzou, přičemž nejčastější metodou je afinitní kapalinná chromatografie [1]. Při použití MALDI hmotnostní spektrometrie je ovšem vhodnější provést obohacení vzorku in-situ, tedy přímo na MALDI desce [2].

V naší laboratoři byla vyvinuta a úspěšně otestována nová technika - tzv. ambient ion landing – pro modifikaci MALDI povrchů oxidy titanu a zirkonu [3]. V této práci představujeme aplikaci modifikovaných povrchů ve spojení s LC-MALDI-TOF/TOF analýzou pro studium složitějších proteinových směsí. Tato aplikace je založena na chromatografickém rozdělení tryptických štěpů proteinů a automatickém nanesení frakcí na připravené povrchy. Nabohacené fosfopeptidy se převrství maticí a analyzují pomocí hmotnostního spektrometru MALDI-TOF/TOF. Změřená fragmentační spektra fosfopeptidů jsou přiřazena pomocí vyhledávacího programu Mascot. Tato technika byla úspěšně otestována na směsi obsahující alfa- a beta- kasein, ovalbumin a hovězí sérový albumin.

* Korespondence: lukas.krasny@biomed.cas.cz

LITERATURA:

1. Dunn J. et al.: Mass Spectrom. Rev. 29, 29-54 (2010).
2. Blacken G. et al.: J. Am. Soc. Mass Spectrom. 20, 915-92 (2009).
3. Krasny L. et al: J. Mass Spectrom. 47, 1294-1302 (2012).

PODĚKOVÁNÍ:

Tato práce byla finančně podporována Grantovou agenturou ČR (projekt P206/12/1150), Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy (COST-CZ-LD13038) a Interní grantovou agenturou Mikrobiologického ústavu AV ČR (RVO61388971).

WeP-025: Characterization of phosphorylation sites on recombinant Tau protein after *in vitro* phosphorylation with soluble and immobilized forms of kinases

Rudolf Kupčik^{1*}, Lenka Hromádková^{2,3}, Barbora Jankovičová¹, Pavel Řehulka⁴,
Marcela Slováková¹, Jiří Stulík⁴, Daniela Řířpová², Zuzana Bílková¹

1. Department of Biological and Biochemical Sciences, FCHT, University of Pardubice

2. Laboratory of Biochemistry and Brain Pathophysiology and AD Center, Prague Psychiatric Center

3. Faculty of Science, Charles University in Prague

4. Institute of Molecular Pathology, Faculty of Military Health Sciences, University of Defence

Deregulation of phosphorylation is implicated in a variety of disease states. One of them is Alzheimer disease which is characterized by abnormal aggregated microtubule-associated protein tau. Functions of tau are influenced by posttranslational modifications, including the level of site-specific phosphorylation. One of main aims of this work is to phosphorylate tau protein with soluble and immobilized mitogen-activated protein kinase-1 (MAPK-1), glycogen synthase kinase 3 β (GSK-3 β) and cAMP-dependent protein kinase (PKA). Other aims are to detect and to describe phosphorylated sites using mass spectrometry.

Phosphorylation was performed in HEPES buffer pH 7.2 environment using soluble and immobilized kinases on magnetic microparticles. Phosphorylated tau was digested with trypsin enriched on TiO₂ microparticles. Peptide digests were analysed by MS before and after enrichment procedure. For better detection of phosphopeptides elution fractions from enrichments were fractionated by microcolumn RP LC separation onto 24 MALDI spots using nonlinear gradient of acetonitrile-water mixture containing 0.1% TFA. All samples were analyzed by MALDI LTQ Orbitrap XL instrument. Phosphopeptides were identified using comparison of accurate mass with *in silico* digest of protein and also searching specific neutral losses. For description of phosphorylated peptides MSⁿ in linear ion trap and high-energy collision dissociation (HCD) were performed in combination with *de novo* sequencing techniques.

Several phosphorylation sites were described on peptides originating from *in vitro* phosphorylated tau. Soluble kinases were more effective but immobilized kinases are better for preparing of pure phosphorylated tau for further studies.

* Korespondence: rudolf.kupcik@upce.cz

PODĚKOVÁNÍ:

This work was supported by EU project NADINE (No. 246513), grant of University of Pardubice SGFCHT 07/2013, Czech Science Foundation (project GACR P304/12/G069), Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (Project CZ. 1.07/2.3.00/30.0021 "Enhancement of R&D Pools of Excellence at the University of Pardubice") and a long-term organization development plan no. 1011 from the Faculty of Military Health Sciences, University of Defence, Czech Republic.

WeP-026: WrbA, an *E. coli* stress-response protein probed by ion mobility mass spectrometry

Alan Kádek ^{1,2*}, Julien Marcoux ³, Iryna Kishko ^{4,5}, Zdeněk Kukačka ^{1,2}, Petr Man ^{1,2}, Carol V. Robinson ³, Petr Novák ^{1,2}, Rüdiger Ettrich ^{4,5}, Jannette Carey ⁶

1. Institute of Microbiology, ASCR, Prague, CZECH REPUBLIC

2. Department of Biochemistry, Faculty of Science, Charles University in Prague, CZECH REPUBLIC

3. Department of Chemistry, University of Oxford, UNITED KINGDOM

4. Institute of Nanobiology and Structural Biology, ASCR, Nove Hrad, CZECH REPUBLIC

5. Faculty of Sciences, University of South Bohemia, Nove Hrad, CZECH REPUBLIC

6. Chemistry Department, Princeton University, Princeton, New Jersey, UNITED STATES OF AMERICA

Tryptophan repressor-binding protein A (WrbA), more correctly called FMN-dependent NAD(P)H:quinone oxidoreductase, is an *E. coli* protein interesting for its involvement in bacterial responses to oxidative stress. Its biologically functional assembly is an obligate homotetramer held together by non-covalent interactions. Although a 1.2 Å high-resolution structure of this tetramer has been solved by X-ray crystallography, the dynamics of the protein in solution still remain under investigation. Of particular interest is the process of tetramer formation, during which WrbA is supposed to form a monomer-dimer-tetramer dynamic equilibrium.

In the present study, we utilized native electrospray ionization coupled with ion mobility mass spectrometry to gently transfer the intact non-covalent WrbA complexes into the gas phase while preserving their structure and to analyze the oligomeric states and conformations of this protein under different solution conditions. The results have shown a high stabilizing effect of FMN cofactor on the tetrameric structure of WrbA complex as well as provided an insight into the mechanism of the tetramer formation.

* Korespondence: kadek@biomed.cas.cz

PODĚKOVÁNÍ:

This work was funded by Instruct, part of the European Strategy Forum on Research Infrastructures (ESFRI) and supported by national member subscriptions; Institutional Research Concept of the Institute of Microbiology RVO 61388971; European Regional Development Funds (CZ.1.07/2.3.00/20.0055, CZ.1.07/2.3.00/30.0003 and CZ.1.05/1.1.00/02.0109); Research Project of Charles University (UNCE 204025/2012) and by the Grant Agency of Charles University (800413).

WeP-027: Izolace a analýza rostlinných glyceroglykolipidůMarie Záborská^{1,2}, Vladimír Vrkoslav¹, **Josef Cvačka**^{1*}

1. Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i.

2. Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze

Rostlinné glyceroglykolipidy, jako jsou monogalaktosyldiacylglyceroly (MGDG), digalaktosyldiacylglyceroly (DGDG) a sulfoquinovosyldiacylglyceroly (SQDG) tvoří hlavní část thylakoidních membrán fotosyntetizujících organismů. Struktura acylových řetězců v těchto lipidech odráží řadu faktorů, jako jsou podmínky růstu, vliv stresu apod. Tyto lipidy tvoří velmi složité směsi. Cílem práce je vytvořit RP-HPLC/MS metody pro separaci a identifikaci rostlinných MGDG, DGDG a SQDG.

Lipidy byly izolovány z čerstvých listů několika modelových rostlin včetně meduňky lékařské (*Melissa officinalis*). Celkové lipidové extrakty byly děleny pomocí tenkovrstvé chromatografie, a to buď v jednom kroku s mobilní fází sestávající z chloroformu, methanolu a vody (80:18:2, v / v / v; metoda pro MGDG a DGDG), nebo ve dvou krocích (metoda pro SQDG) s mobilní fází sestávající z acetonu: toluenu: vody (71:23:6, v/v/v; první systém) a chloroformu: methanolu: vody (65:25:4, v/v/v; druhý systém). HPLC separace molekulových druhů lipidů byla prováděna na koloně Nucleosil C18 (250 x 2 mm, 5 μm) s binárním gradientem methanolu a vody (MGDG) a ternárním gradientem methanolu, acetonitrilu a vody (DGDG, SQDG). Hmotnostní spektra byla měřena pomocí hybridního hmotnostního spektrometru Orbitrap XL LTQ v pozitivním ionizačním módu pro MGDGs a DGDGs ($[M+Na]^+$) nebo negativním ionizačním módu pro SQDGs ($[M-H]^-$). Pomocí optimalizovaných podmínek bylo ve vzorcích *M. officinalis* identifikováno 25 MGDG (z toho 10 s oxidací na acylových řetězcích), 13 DGDG (z toho 2 s oxidací na acylových řetězcích) a 17 SQDG (z toho 7 oxidovaných).

* Korespondence: cvacka@uochb.cas.cz**PODĚKOVÁNÍ:**

Tato práce byla financována z prostředků GAČR (203/09/0139), AV ČR (RVO61388963), Grantové agentury UK (SVV 267215) a MŠMT (MSM0021620857).

WeP-028: Ion funnel for extraction of ions from glow discharge in the ion source for selected ion flow tube mass spectrometry

Anatolii Spesyvyi^{1*}, Patrik Španěl¹

1. Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v.v.i.

Selected ion flow tube mass spectrometry (SIFT-MS) is a highly versatile technique used for quantitative analyses of a wide variety of traces of volatile organic compounds. Its sensitivity could be increased by increasing amount of precursor ions by the confinement of the ion beam using the ion funnel. The ion funnel usually applied for extracting of much more heavier ions than SIFT-MS precursors.

In this poster we present the main principles of the ion funnel operation for the low-mass ions, the dependence of the confinement on the geometry of the ion funnel and other parameters. The results are based on theoretical approximation of movement of ions in combination of RF and DC electrostatic fields.

* Korespondence: spesyvyi@gmail.com

LITERATURA:

1. Page J. S. et al.: J. Am. Soc. Mass Spectrom. 17, 586-592 (2006).

PODĚKOVÁNÍ:

GA CR, 13-28882S

WeP-029: Study of conformational changes in proteins using mass spectrometry

Michal Rosůlek ^{1,2 *}, Zdeněk Kukačka ^{1,2}, Petr Novák ^{1,2}

1. Mikrobiologický ústav AV ČR, v. v. i

2. Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze

Some proteins and enzymes require presence of their specific ligand, cofactor or prosthetic group for their activity. Binding of this specific molecule causes conformational changes, that permit to perform their function. In some occasions the identification of conformational changes is difficult. Using chemical cross-linking coupled with mass spectrometry perform complex tool for searching and low resolution visualization of this changes.

The aim of our research is study of conformational changes induced by binding of calcium ion to calmodulin protein molecule. Calmodulin is a secondary intermediate messenger, which can interact with various proteins. This feature associates with wide dynamical range of calmodulin. Thus calmodulin is the suitable target for identifying conformational changes. After reaction of protein with chemical cross-linkers with different arm length (DSG and DSS) were products of reaction digested by trypsin. Formed linked peptides were separated by high-performance liquid chromatography and analysed followed mass spectrometry. Seven unique intramolecular cross-links were identified. Using isotope unlabeled cross-link reagents in the presence of calcium ion in combination with using isotope labeled reagents in calcium free conditions we quantified formed lysine-lysine cross-links.

* Korespondence: rosulek.m@gmail.com

PODĚKOVÁNÍ:

This work was supported by grants from Grant agency of Charles University (800413 and 644313), Institutional Research Concept (RVO61388971) and Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (CZ.1.07/2.3.00/20.0055).

WeP-030: Protonové afinity katalyzátorů pyridin-N-oxidového a N,N'-dioxidového typu

Jiří Váňa^{1*}, Lucie Jašíková¹, Pavel Beran², Lubomír Rulíšek², Jana Roithová¹

1. Univerzita Karlova, Přírodovědecká Fakulta, Katedra Organické Chemie

2. Ústav Organické Chemie a Biochemie Akademie Věd České Republiky

Katalýza silnými organickými bázemi tzv. superbázemi se stává stále diskutovanějším tématem organické syntézy. Jako příklad lze uvést enantioselektivní allylaci aldehydů vedoucí k homoallylalkoholům katalyzovanou chirálními pyridin-N-oxidy či N,N'-dioxidy.1 Jednou z důležitých charakteristik těchto katalyzátorů sloužící k objasnění mechanismu účinku je jejich protonová afinita v plynné fázi.

V této práci jsme využili upravené rozšířené kinetické metody (extended kinetic method) společně s teoretickými výpočty k určení protonových afinit šesti katalyzátorů PINDIOX, ANETOX, QUINOX, METHOX, BPDORRR a BPDOSRS a výsledky porovnali s katalyzátorem KOTOX, jehož katalytické chování bylo popsáno v nedávné době.2 Hluběji bylo studováno neobvyklé chování katalyzátoru PINDIOX, u kterého dochází k přenosu kyslíku z katalyzátoru na referenční bázi.

* Korespondence: jirkavopic@seznam.cz

LITERATURA:

1. Kočovský P. et al.: Tetrahedron 64, 11335–11348 (2008).
2. Roithová J. et al.: J. Am. Chem. Soc. 132, 12660–12667 (2010).

WeP-031: Interaction of the silver(I) cation with unsaturated hydrocarbons

Petr Motloch^{1*}, Jana Roithová¹

1. Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze

Silver salts are capable of catalyzing various addition reactions of unsaturated hydrocarbons. In particular, they were successfully applied in the addition of O- and N-nucleophiles to allene systems. Next to their own catalytic activity, silver salts are often added to other metal catalyst with chloride counter ions. The primary function is thus to remove the chloride ions from the reaction mixture by forming insoluble AgCl salt. Nevertheless, the silver salt is usually added in excess and therefore some co-catalytic function cannot be excluded. As an example, we refer to a recent finding of Wang et al., who suggested based on NMR experiments so called “silver effect“ in gold(I) catalysis. Their re-evaluation of literature-reported gold-catalysed reactions revealed a significant difference in the reaction yields if a cationic gold catalyst was prepared with traces of silver or in a silver-free version. In some cases, the conventional cationic gold(I) catalysts could not promote a given reaction without presence of silver at all.

We have therefore investigated binding energies of unsaturated hydrocarbons with the silver(I) cations ligated by one additional acetonitrile molecule by means of mass spectrometry and density functional theory. The aim was to evaluate a possible preferential binding of metal cations to hydrocarbons and the resulting activation of the given hydrocarbons in a reaction mixture containing the unsaturated hydrocarbons and gold(I) and silver(I) cations. The obtained results are thus compared to the similar experiments performed with (trimethylphosphino)gold(I) cations. The possible “silver effect“ in the gold(I) catalysis will be discussed based on our results.

* Korespondence: petr.motloch@natur.cuni.cz

LITERATURA:

1. Arbour J. L. et al.: Chem. Commun., 7125-7127 (2009).
2. Wang D. et al.: J. Am. Chem. Soc. 134, 9012-9019 (2012).
3. Jašíková L. and Roithová J.: Organometallics 31, 1935-1942 (2012).

PODĚKOVÁNÍ:

This work was supported by Grant No. 207/11/0338 from the Grant Agency of the Czech Republic and the Ministry of Education of the Czech Republic (No. MSM0021620857).

WeP-032: Gas-phase studies of copper catalyzed aerobic cross coupling of thiol esters and arylboronic acids

Alexandra Tsybizova^{1*}, Detlef Schröder², Jana Roithová¹, Adam Henke³, Jiří Šrogl²

1. Department of Organic Chemistry, Charles University in Prague

2. Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Czech Academy of Sciences

3. Department of Chemistry, Columbia University in the City of New York

Electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MS) is used to monitor a Cu-catalyzed aerobic cross-coupling reaction between thiol esters and arylboronic acids which was discovered by Liebeskind et al [1, 2]. The ESI spectra show the formation of Cu-complexes with the starting thiol ester and the coupling product. The formation of an ionic complex at m/z 305 is observed, most likely occurring upon the elimination of a mixed anhydride from [(thiol)CuOAc]⁺. An on-line monitoring of the reaction using ESI-MS was carried out allowing calculation of rate constants and thermodynamic parameters (ΔH^\ddagger , ΔS^\ddagger , ΔG^\ddagger) for the title reaction.

* Korespondence: tsybizoa@natur.cuni.cz

LITERATURA:

1. Liebeskind L. S. et al.: *Org. Lett.* 4, 979–981 (2002).
2. Villalobos J. M. et al.: *J. Am. Chem. Soc.* 129, 15734–15735 (2007).

PODĚKOVÁNÍ:

This work was supported by the Academy of Sciences of the Czech Republic (RVO 61388963), the European Research Council (AdG HORIZOMS) and the Grant Agency of the Czech Republic (207/11/0338 and 207/12/0846).

WeP-033: Vysokorychlostní zobrazovací hmotnostní spektrometrie MALDI TOF se skenováním laserového paprsku

Antonín Bednařík^{1,2}, Pavel Kuba³, Eugene Moskovets⁴, Iva Tomalová^{1,2},
Pavel Krásenský², Pavel Houška³, Jan Preisler^{1,2*}

1. CEITEC - Central European Institute of Technology, Masarykova univerzita, Brno, ČR
 2. Ústav chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kamenice 5, 625 00 Brno, ČR
 3. Fakulta strojního inženýrství, Vysoké učení technické v Brně, Technická 2896/2, 616 69 Brno, ČR
 4. MassTech, Inc. 6992 Columbia Gateway Drive, Suite #160, Columbia, MD 21046, USA
-

Zobrazování povrchů a tkání pomocí hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpčí a ionizací za účasti matrice (MALDI TOF MS Imaging) je technika prodávající rychlý rozvoj, hnaný zejména jejím obrovským potenciálem na poli molekulární fyziologie. Získání jedné MS mapy s vysokým rozlišením mohlo znamenat v počátcích této techniky měření trvající až několik dnů. Moderní instrumentace pracující s vysokofrekvenčními lasery zkrátila tento čas do řádu hodin, což je zlepšení podstatné, ovšem pro klinickou praxi stále nedostačující. Naše práce se zaměřuje na možnosti dalšího zvýšení výkonu zobrazovací hmotnostní spektrometrie pomocí rychlého skenujícího zrcátka, které je schopno velmi rychle a přesně skenovat laserový paprsek po povrchu vzorku. Tím alespoň částečně nahrazuje tradiční pomalejší přesun mezi dvěma sousedními body (pixely) v MS mapě realizovaný pomocí motorizovaných stolků nesoucích MALDI terčík. Originální axiální hmotnostní spektrometr MALDI TOF sestavený v naší laboratoři, který využívá desorpčního UV laseru o frekvenci 4 kHz a rychlého skenujícího zrcátka, nahrál mapu povrchu čítající 100x100 pixelů během 11 minut, téměř o řád rychleji, než moderní komerční hmotnostní spektrometr.

* Korespondence: preisler@chemi.muni.cz

PODĚKOVÁNÍ:

Děkujeme za finanční podporu Grantové agentury České republiky (GAP206/10/J012 a GAP206/12/0538) a projektu CEITEC – „Central European Institute of Technology“ (CZ.1.05/1.1.00/02.0068) z Evropského fondu pro regionální rozvoj.

WeP-034: Complementary MALDI MS and ICP MS detection of a single separation record for metalloprotein analysis

Iva Tomalová¹, Pavla Foltynová¹, Viktor Kanický¹, Preisler Jan^{1*}

1. CEITEC Masarykova univerzita

Metals play a crucial role in physiology and pathology of biological systems. It has been estimated that the metalloproteins encompass about one third of all proteins.

A novel method for comprehensive multidimensional analysis of metalloproteins is presented here. This approach is based on an off-line coupling of a single micro-column separation run to both substrate-assisted laser desorption (SALD) inductively coupled plasma (ICP) mass spectrometry (MS) and matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry (MALDI) MS. The effluent fractions are collected on a custom-designed Au-coated polyethylene terephthalate glycol (PETG) sample target that is compatible to both MS methods. The whole concept is demonstrated on analysis of rabbit-liver metallothionein (MT) isoform mixture. The MTs are separated by capillary electrophoresis (CE) coupled to MALDI MS/SALD ICP MS via a liquid junction interface and a sub-atmospheric deposition chamber. MALDI MS and SALD ICP MS provide information about both molecular mass of present proteins and metal distribution and quantity, respectively.

We believe the presented method is a viable alternative to on-line coupling employing electrospray ionization and nebulizer ICP MS. The off-line hyphenation allows decoupling separation and both detection processes in time and space and offers further options, e.g. re-analysis or archiving of the separation record, laser-induced fluorescence detection or on target protein digestion.

* Korespondence: preisler@chemi.muni.cz

PODĚKOVÁNÍ:

We thankfully acknowledge the Czech Science Foundation (GAP203/09/1025, GAP206/12/0538) and CEITEC - Central European Institute of Technology (CZ. 1.05/1.1.00/02.0068). Iva Tomalová was supported by Brno City Municipality Scholarships for Talented Ph.D. Students.

WeP-035: Travelling wave ion mobility assisted duty cycle enhancements for targeted and non-targeted proteomics experiments

Matthew Kennedy^{1*}, Christopher John Hughes¹, Johannes PC Vissers¹,
James Langridge¹

1. Waters Corporation, Atlas Park, Manchester, UK

Introduction: The average duty cycle of Time of Flight analysers is dependant on the m/z data acquisition range but the integration of travelling wave ion mobility devices in QToF geometries can afford significant duty cycle improvements. Results show that the HDC mode of operation can give at least a five times increase in sensitivity over the entire mass range for chosen charge states in both targeted and non-targeted experiments.

Preliminary Results: Injection of an *E. Coli* tryptic digest onto the LC system were performed with the instrument operating in Ion Mobility enabled DDA mode. The enhancement in fragment ion signal with HDC mode employed lead to more confident identifications when the data was interrogated through post processing software.

For targeted MS/MS analyses of a four protein digest spiked into the *E. Coli* digest, the limit of detection can be extended by at least an order of magnitude when the exact mass traces for several fragment ion masses are combined.

Novel aspect: Utilising Ion Mobility and Time of Flight analyser characteristics to enhance duty cycle and mass spectral signal intensity.

* Korespondence: matt_kennedy@waters.com

Adam Tomáš	FrO-17	Hamdan Leila	ThO-013
Alcaraz Christian	WeO-003	Harnisch Martina	ThO-009
Ascenzi Daniela	WeO-003	Härtlova Anetta	WeP-014
Bednařík Antonín	WeP-016	Hartmanová Lucie.....	ThO-010
Bednařík Antonín	WeP-033	Havlicek Vladimír.....	ThO-005
Běláková Sylvie	WeP-012	Havlicek Vladimír	FrO-20
Běláková Sylvie	WeP-013	Havlíček Vladimír.....	ThO-010
Beltran Eduardo	WeP-023	Havlíček Vladimír	WeP-015
Benada Oldřich	WeP-015	He Jingjing	PL-2
Benešová Karolína.....	WeP-012	Henke Adam	WeP-032
Benešová Karolína.....	WeP-013	Herman Zdenek	ThO-009
Beran Pavel	WeP-030	Hernychová Lenka.....	WeP-003
Bílková Zuzana	WeP-006	Hervey Judson	ThO-013
Bílková Zuzana	WeP-025	Heřmanová Jana.....	WeP-019
Bradyová Michaela	WeO-003	Hlaváčková Iva	WeP-004
Bregy Lukas.....	PL-2	Hlaváčková Iva	WeP-019
Bruce James E.....	PL-1	Hodek Petr	WeP-010
Bruce James E.....	ThO-008	Horká Petra	WeP-021
Carey Jannette.....	WeP-026	Houška Pavel	WeP-033
Claes Andrea	WeP-001	Hrabal Richard.....	WeP-011
Cvačka Josef	WeP-021	Hromádková Lenka	WeP-025
Cvačka Josef	WeP-027	Hughes Christopher John	WeP-035
Čepl Jaroslav	WeP-005	Humpl Aleš	WeP-016
Černá Věra	WeP-010	Hynek Radovan	WeP-004
Danchenko Maksym	ThO-005	Hynek Radovan	WeP-011
Danchenko Maksym	ThO-014	Hynek Radovan	WeP-018
Dankova Vera.....	WeP-014	Hynek Radovan	WeP-019
Demlová Regina	WeP-016	Chavez Juan D.	ThO-008
Deschamps Jeffrey	ThO-013	Ilkovic Ladislav	WeP-016
Doležal Antonín	WeP-021	Indrák Karel	FrO-20
Doležal Karel	WeP-001	Jägerová Kateřina	WeP-016
Dryahina Kseniya	WeP-008	Jakl Michal	ThO-012
Dušek Martin	ThO-015	Jaklová Dytřtová Jana	ThO-012
Dvořáková Petra	WeP-003	Jaklová Dytřtová Jana	WeP-002
Eidesen Pernille Bronken	WeP-004	Jan Preisler.....	WeP-034
Ettrich Rüdiger	WeP-026	Janková Štěpánka	WeP-017
Fabrik Ivo	WeP-007	Jankovičová Barbora	WeP-006
Fabrik Ivo	WeP-014	Jankovičová Barbora	WeP-025
Flenerová Zuzana	WeO-003	Jašík Juraj	WeO-004
Flores-Ramirez Gabriela.....	ThO-005	Jašík Juraj	WeP-022
Foltynová Pavla	ThO-006	Jašíková Lucie	WeP-017
Foltynová Pavla	WeP-034	Jašíková Lucie	WeP-030
Fryčák Petr	ThO-010	Ječmen Tomáš.....	WeP-010
Gerlich Dieter	WeO-004	Junková Petra.....	WeP-011
Gerlich Dieter	WeP-022	Kádek Alan	WeP-009
Giuliani Alexandre	WeO-003	Kádek Alan	WeP-026
Hajduch Martin	ThO-014	Kalina Jiří.....	ThO-016
Háková Eva.....	WeP-021	Kanický Viktor	ThO-006
Halada Petr.....	WeP-009	Kanický Viktor	WeP-034
Haladová Kateřina	FrO-20	Kašička Václav	WeP-002

Kavan Daniel	FrO-20	Novák Ondřej	WeP-001
Keim Alan	ThO-009	Novák Petr	ThO-008
Kennedy Matthew	WeP-035	Novák Petr	WeP-009
Kishko Iryna	WeP-026	Novák Petr	WeP-010
Klubíková Katarina	ThO-014	Novák Petr	WeP-024
Kolek Vítězslav	FrO-20	Novák Petr	WeP-026
Konečná Michaela	WeP-006	Novák Petr	WeP-029
Koszinowski Konrad	WeO-001	Obluková Michaela	WeO-003
Krásenský Pavel	WeP-033	Olšovská Jana	ThO-015
Krásný Lukáš	FrO-20	Pěničák Aleš	WeP-001
Krásný Lukáš	WeP-015	Pistovčáková Jana	WeP-016
Krásný Lukáš	WeP-024	Pjechová Mariana	WeP-003
Krška Rudolf	WeP-023	Plačková Lenka	WeP-001
Kuba Pavel	WeP-033	Plavka Richard	WeP-021
Kukačka Zdeněk	ThO-008	Pokorná Soňa	WeP-016
Kukačka Zdeněk	WeP-026	Polášek Miroslav	WeO-003
Kukačka Zdeněk	WeP-029	Pompach Petr	WeP-024
Kupčík Rudolf	WeP-006	Potěšil David	WeP-003
Kupčík Rudolf	WeP-025	Prášil Ilja	WeP-019
Kusterbeck Anne	ThO-013	Preisler Jan	ThO-006
Langridge James	WeP-035	Preisler Jan	WeP-016
Leary Dagmar	ThO-013	Preisler Jan	WeP-033
Lemr Karel	ThO-010	Prchal Jan	WeP-011
Lemr Karel	FrO-20	Rashydov Namik	ThO-014
Li Robert	ThO-013	Rehulka Pavel	WeP-014
Li Xue	PL-2	Robinson Carol V.	WeP-026
Lin Baochuan	ThO-013	Roithová Jana	WeO-002
Link Marek	WeP-014	Roithová Jana	WeO-004
Ljung Karin	WeP-001	Roithová Jana	WeP-017
Ludwig Roland	WeP-009	Roithová Jana	WeP-020
Maděra Milan	FrO-19	Roithová Jana	WeP-022
Malachová Alexandra	WeP-023	Roithová Jana	WeP-030
Man Petr	WeP-009	Roithová Jana	WeP-031
Man Petr	WeP-026	Roithová Jana	WeP-032
Marcoux Julien	WeP-026	Romanzin Claire	WeO-003
Markoš Anton	WeP-005	Rosůlek Michal	WeP-029
Maršálová Lucie	WeP-018	Rudovský Jakub	FrO-18
Martínez-Lozano Sinues Pablo	PL-2	Rulíšek Lubomír	WeP-030
Martinská Veronika	WeP-018	Ruml Tomáš	WeP-011
Míková Radka	WeP-021	Ryska Miroslav	ThO-011
Mikulíková Renata	WeP-012	Řehulka Pavel	WeP-025
Mikulíková Renata	WeP-013	Řezáčová Martina	WeP-007
Mikyška Alexandr	ThO-015	Řířpová Daniela	WeP-025
Moskovets Eugene	WeP-033	Santrucek Jiri	WeP-004
Motloch Petr	WeP-031	Scheier Paul	ThO-009
Mucha Marek	ThO-016	Schröder Detlef	WeP-032
Mundra Sunil	WeP-004	Schulz Jiří	WeO-002
Nilsson Christian	WeP-016	Simonovikj Biljana	WeP-001
Norková Renáta	WeP-002	Skultety Ludovit	ThO-014
Novák Jiří	ThO-007	Slováková Marcela	WeP-025

Sovová Kristýna.....	WeP-005	Zábranská Marie	WeP-021
Spesyvyi Anatolii	WeP-028	Zábranská Marie	WeP-027
Staněk Václav	WeP-006	Zdráhal Zbyněk	WeP-003
Strnad Miroslav	WeP-001	Zenobi Renato	PL-2
Strnadová Marcela	WeP-015	Žabka Ján	WeO-003
Strnadová Marcela	WeP-024	Žabka Ján	WeP-022
Strohalm Martin.....	FrO-20		
Strycharz-Glaven Sarah	ThO-013		
Stulík Jiri	WeP-014		
Stulík Jiří.....	WeP-025		
Sulyok Michael	WeP-023		
Sundberg Eva.....	WeP-001		
Svoboda Zdeněk	WeP-012		
Svoboda Zdeněk	WeP-013		
Szkiba Ivett	WeP-017		
Šalovská Barbora	WeP-007		
Šantrůček Jiří	WeP-018		
Šantrůček Jiří	WeP-019		
Škrfba Anton	WeP-020		
Škultéty Ludovít	ThO-005		
Šnajdrová Renáta	FrO-20		
Šnajdrová Renata	WeP-010		
Španěl Patrik	WeP-005		
Španěl Patrik	WeP-028		
Šrogl Jiří	WeP-032		
Šulc Miroslav	FrO-20		
Šulc Miroslav	WeP-010		
Talacko Pavel.....	ThO-008		
Tarkovská Danuše.....	WeP-001		
Tichý Aleš	WeP-007		
Tomalová Iva	ThO-006		
Tomalová Iva	WeP-033		
Tomalová Iva	WeP-034		
Toman Rudolf	ThO-005		
Tomašec Peter	WeP-003		
Tsybizova Alexandra	WeP-032		
Tureček František	ThO-010		
Vadovic Pavol	ThO-005		
Váňa Jiří.....	WeP-030		
Vávrová Jiřina.....	WeP-007		
Vissers Johannes PC	WeP-035		
Vítámvás Pavel	WeP-019		
Vojtěšek Bořivoj	WeP-003		
Volný Michael	WeP-024		
Vora Gary	ThO-013		
Vrkoslav Vladimír	WeP-021		
Vrkoslav Vladimír	WeP-027		
Vuitton Veronique	WeO-003		
Wang Zheng	ThO-013		
Wilkinson Gavin W. G.....	WeP-003		

A grid of 20 columns and 30 rows of small dots, intended for taking notes.

A grid of 20 columns and 30 rows of small dots, intended for taking notes.

A grid of 20 columns and 30 rows of small dots, intended for taking notes.

A grid of 20 columns and 30 rows of small dots, intended for taking notes.

A grid of 20 columns and 30 rows of small dots, intended for taking notes.

A grid of 20 columns and 30 rows of small dots, intended for taking notes.



Committed to Your Success



Advanced Mass Spectrometry Solutions



- Ion Trap: amaZon series
- ESI-(Q)-TOF: micrOTOF series
- UHR-TOF: maXis, impact HD, compact
- MALDI-TOF(/TOF): flex series
- FTMS: solariX series
- ESI-QQQ: EVOQ series

Contact us for more details and a system demonstration! www.bruker.com/ms

For research use only.
Not for use in diagnostic procedures.

Proteomics

- Top-down and Bottom-up Strategies
- Flexible Quantitation
- Detailed Intact Protein and PTM Analysis
- Characterization of N-Glycopeptides
- Rapid Characterization of BioPharma Products

Biomarker Analysis

- Full MALDI Imaging Solution
- Profiling via LC-MALDI and LC/ESI-MS
- MALDI Biotyper Bacterial ID

Small Molecules/Metabolites

- Fastest Parallel Multitarget Screening
- Forensic Toxicology
- Pesticide and Food Analysis
- Metabolomics Analysis
- Volatiles Analysis with GC-APCI

Target Screening

- LC/MS Based Metabolic Profiling
- Complementary NMR Workflows
- Empirical Formula Determination
- Full Open Access Capability

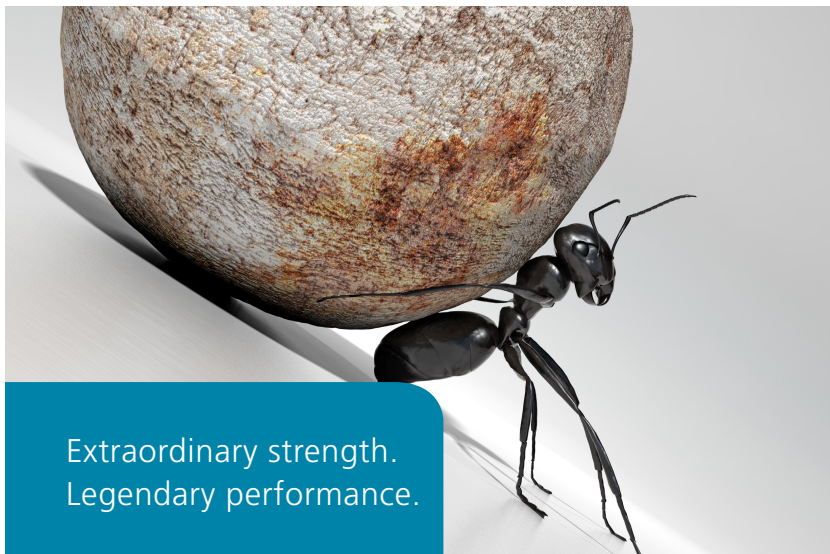
Contact

Bruker s.r.o.
Pražáková 109/60, 619 00 Brno
tel.: +420 544 526 988
fax: +420 544 526 989
e-mail: obchod@bdal.cz
web: www.bruker-sro.cz

Innovation with Integrity

Mass Spectrometry

PUSHING THE LIMITS IN MASS SPECTROMETRY



Extraordinary strength.
Legendary performance.

INTRODUCING THE NEW LC/MS/MS WORKHORSES



Introducing the new LC/MS/MS workhorses

Real-world labs need LC/MS/MS solutions that do more than carry their weight.

The AB SCIEX 4500 Series takes the legendary quantitation of the API 4000™ triple quad platform and makes it stronger – with 10X greater sensitivity than competitive triple quads. Add QTRAP® technology, and get 100X more full-scan MS/MS sensitivity than standard triple quads for unmatched simultaneous quantitation and library searching.

If you need the power of accurate mass, the new AB SCIEX TripleTOF™ 4600 system combines high-speed acquisition with sensitive, high-resolution MS/MS to make routine accurate mass screening and quantitation available to everyone.

Whether your focus is food and environmental contaminant screening, clinical research, bioanalysis or proteomics, the 4500 and 4600 systems will deliver results that can help you do more – more efficiently.

Explore the new workhorse triple quad, QTRAP®, and TripleTOF™ at www.absciex.com/products/mass-spectrometers

AB SCIEX

Vedoucí trojice

UPLC-MS ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY

GC/MS/MS i LC/MS/MS analýzy:
nové výkonné hmotnostní spektrometry
s vlastními ionizačními zdroji a o-
deranějších technologií zajišťujících velmi

vysokou citlivost, výjimečnou rychlost
a maximální snadnost použití. UPLC-MS
s vlastními ionizačními zdroji a o-
deranějších kvadrupólů.



GCMS-TQ8030 – Rychlá cesta

- GC/MS/MS s nejvyšší rychlostí detekce v celosvětovém měřítku
- Vlastní pokročilé technologie zvyšují selektivitu a citlivost
- Průlom v jednoduchosti používání



LCMS-8080 – Věž plná síly

- Ideální řešení pro vysokou citlivou a spolehlivou detekci látek ve složitých maticích
- V kombinaci s HPLC systémem s nejnižším „carry-over“ nabízí nejlepší kvantitativní výsledky
- Snadno ovládatelný a robustní systém s širokým aplikačním využitím



LCMS-8040 – Poháněný citlivostí

- Světově nejrychlejší tandemový hmotnostní spektrometr LC/MS/MS
- Zvýšení průchodnosti analýz a ještě nižší detekční limity
- Vlastní pokročilé technologie pro urychlení analýz



Co očekáváte od hmotnostního spektrometru?

- Rychlost akvizice až 200 spekter/sekundu
- Rozlišení (FWHM) dosahující až 50 000
- Přesnost naměřených hmot pod 1 ppm
- Výborná citlivost při sběru plných spekter

LECO High Resolution TOF MS (HRT) je správná odpověď

Kvalitativní i kvantitativní analýza bez kompromisů



LECO[®]

Delivering the Right Results

GCMS | GCxGC-MS | GCxGC | LCMS

LECO Instrumente Plzeň s.r.o. | Pláská 66 323 00 Plzeň | Tel.: 420-37-751-0811 | www.leco-europe.com

SYNAPT® G2-Sⁱ



Hybridní Synapt G2 Sⁱ HDMS
s iontovou mobilitou

INFORMATION

potvrzení molekulární struktury na základě přesných hmot iontových párů
prekurzorů a produktů a jejich tvaru a velikosti částic

INFORMATICS

rutinní spojení hmotnostní spektrometrie a iontové mobility,
prostředek získání multidimenzionálních datových souborů

IMPACT

kvalitní věrohodná informace o zkoumaném systému,
prověřená technologie

SYNAPT® G2-Sⁱ

2D MS – EFEKTIVNÍ HMOTNOST, VELIKOST, TVAR IONTU

IONIZACE: ESI / APCI / APPI / MALDI / ETD

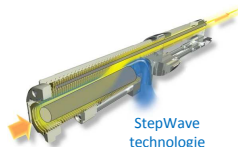
HIGH DEFINITION MASS SPECTROMETRY

ROZHRANÍ LC / GC / CHIP / NANO

PŘESNOST HMOTY < 1 PPM

ROZLIŠENÍ ~ 50 000 FWHM

DYNAMICKÝ ROZSAH 10⁵



StepWave
technologie

Systémové řešení pro proteomiku, metabonomiku, lipidomiku, toxikologii

Chromatografické separace a management dat

ACQUITY UPLC

ultraúčinná kapalinová chromatografie

ACQUITY UPC²

superkritická fluidní chromatografie

ACQUITY APC

polymerní chromatografie

ALLIANCE HPLC

vysokoučinná kapalinová chromatografie

AUTOPURIFIKACE

automatická purifikace látek

SDMS

zálohování a management dat



Systémové řešení pro životní prostředí, kontolu potravin, klinické aplikace

TARGETLYNX SOFTWARE

PESTICIDES SCREENING

UNIFI SCREENING

AUTOMATICKÁ KALIBRACE A KONTROLA MS INTELLISTART

DATABÁZE ANALYTICKÝCH METOD QUANPEDIA

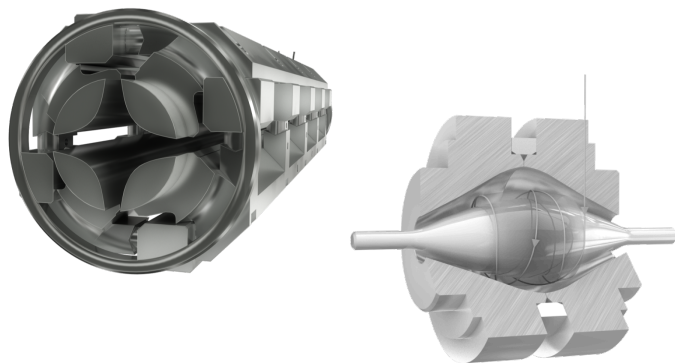
AUTOMATICKÁ SERVISNÍ DIAGNOSTIKA

www.waters.com

Thermo

SCIENTIFIC

Vysokorozlišující citlivé trojité kvadrupoly
Orbitrap s půlmilionovým rozlišením



**umíme změřit i Vaše molekuly
... a s vysokým rozlišením**

Slunečná 27 | 100 00 Praha 10 | 274 820 377
analyze.cz@thermofisher.com | www.spectronex.cz