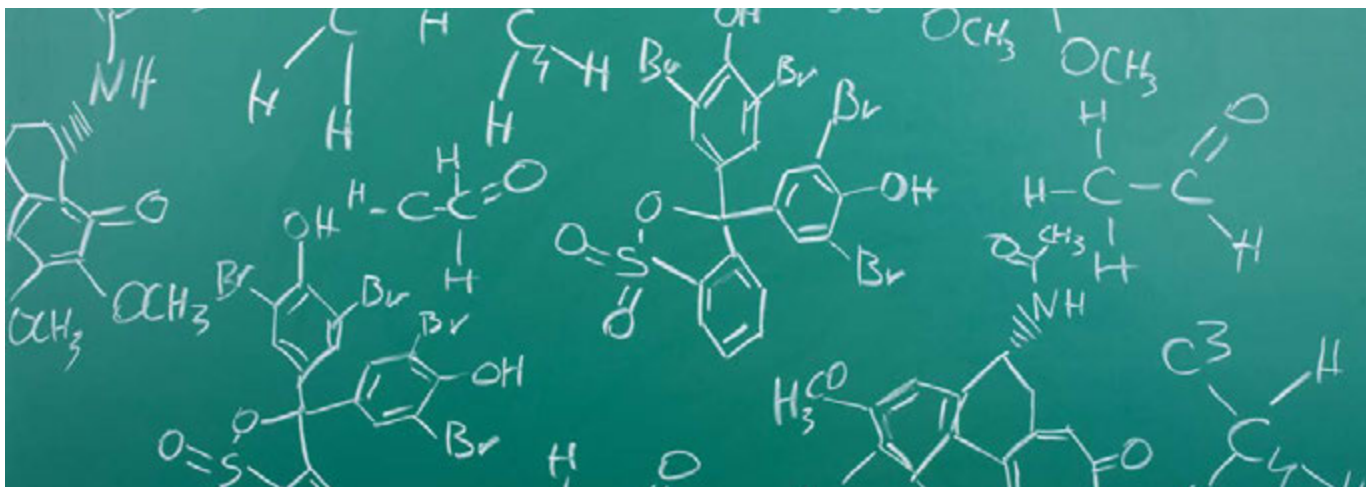


Incorpore una nueva dimensión a su investigación

Sistema LC/Q-TOF Agilent 6560 Ion Mobility





Revele más detalles que nunca

¿Su investigación implica la caracterización de moléculas o proteínas pequeñas, el incremento de la cobertura de los mapas metabólicos o el aseguramiento de la inocuidad de los alimentos? El sistema LC/Q-TOF Agilent 6560 Ion Mobility revelará detalles que nunca antes había podido resolver.

La espectrometría de masas de movilidad iónica incorpora una dimensión ortogonal de separación a los análisis de LC/MS. Gracias a su selectividad y sensibilidad excepcionales, el sistema LC/Q-TOF 6560 Ion Mobility puede detectar, identificar y caracterizar los componentes de las muestras más complejas.

Con este sensible instrumento para LC/MS, usted podrá:

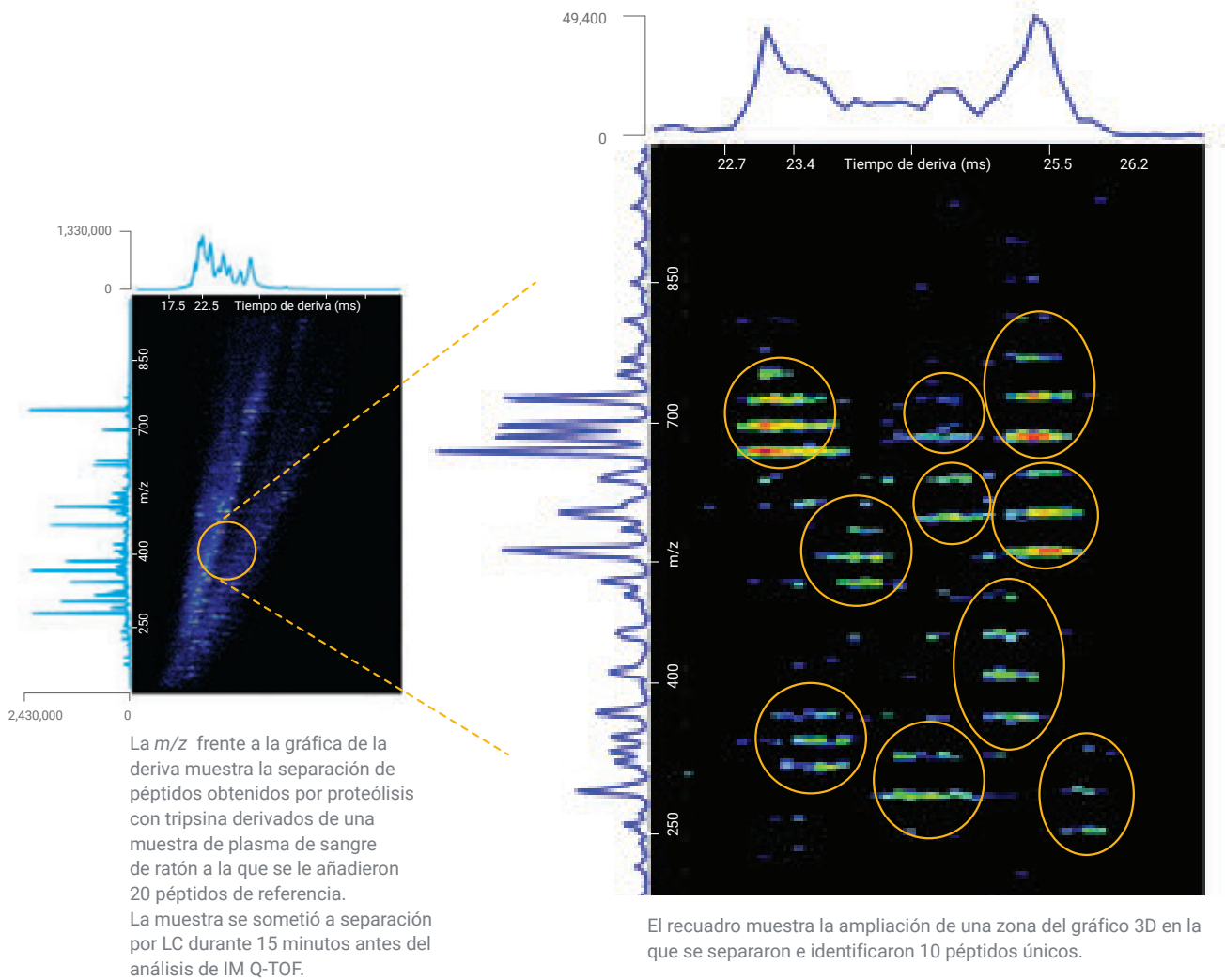
- Separar claramente las moléculas y los isómeros según su tamaño, forma y carga.
- Observar cambios en la estructura de las proteínas y otras moléculas mediante desdoblamiento inducido por colisión (CIU).
- Calcular la sección transversal de colisión (CCS) mediante mediciones del primer principio sin patrones.
- Conservar el estado natural de las moléculas en la fase gaseosa utilizando el diseño de tubo de deriva de baja energía.
- Recurrir a la multiplexación para aumentar sustancialmente la sensibilidad y el intervalo dinámico.
- Obtener una resolución de movilidad iónica de hasta 250, independiente de la adquisición.

De hecho, los científicos investigadores ya están abordando estos desafíos con el espectrómetro de masas de alta resolución 6560.

Resolver lo irresuelto

La movilidad iónica revela toda la complejidad de su muestra

Las matrices biológicas contienen una cantidad muy elevada de compuestos, que en muchos casos se superponen. La espectrometría de masas de alta resolución no siempre puede separarlos, particularmente cuando abundan en variedad. La movilidad iónica añade otra dimensión y permite separar iones que, de otro modo, quedarían sin resolver.



Separe analitos no resueltos con evidente sensibilidad

¿Qué diferencia al sistema LC/Q-TOF 6560 Ion Mobility?

En pocas palabras, este instrumento combina la movilidad iónica con la cromatografía de líquidos y la espectrometría de masas. Erin Baker, destacada científica especializada en movilidad iónica a la que se ha otorgado la medalla de Biemann de la ASMS, colaboró con Agilent en este sistema.

“Muchas veces, lo que se desconoce termina siendo lo más importante”, dice la Dra. Baker.

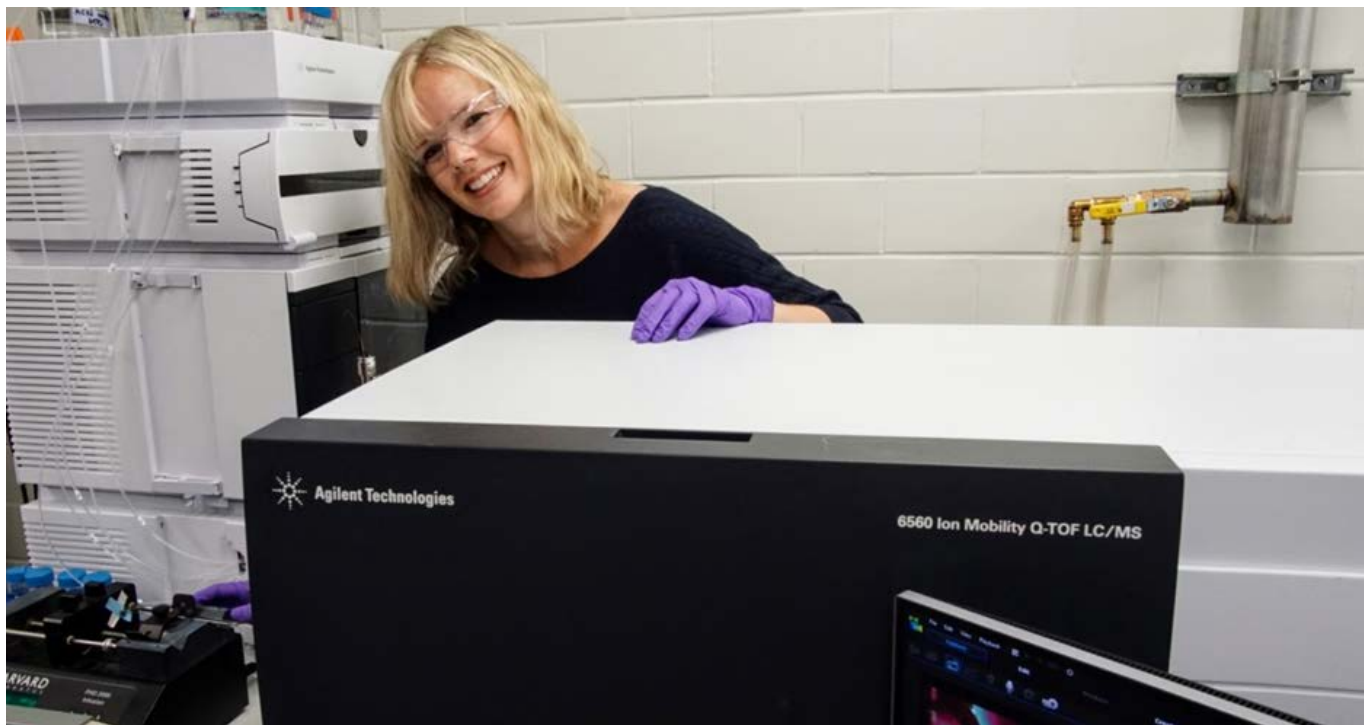
“Este sistema puede proporcionar información acerca de todos los aspectos de la muestra”.

Si una molécula tiene la misma relación masa-carga que otra y está presente en una concentración muy baja, puede que sea casi imposible detectarla con otras técnicas.

Si está buscando bajos niveles de péptidos, lo que los investigadores como la Dra. Baker denominan una aguja en el pajar, esa sensibilidad cobra importancia. En muchos casos, la forma o la confirmación de una proteína es el indicio determinante en la investigación clínica.

Un espectrómetro de masas solo puede indicar cuál es la proteína, pero no la forma. “Con la movilidad iónica, puede saber si la proteína está totalmente enredada, si está más extendida o si presenta alguna malformación”, dice la Dra. Baker. “Esa información es vital”.

Con este nuevo instrumento de Agilent, puede obtener rápidamente mucha información detallada.



“Este sistema puede proporcionar información acerca de todos los aspectos de la muestra. Gracias a la movilidad iónica, podemos detectar moléculas en niveles de concentración realmente bajos. Si antes nos fijábamos en los ng/ml, ahora lo hacemos en los pg/ml altos”.

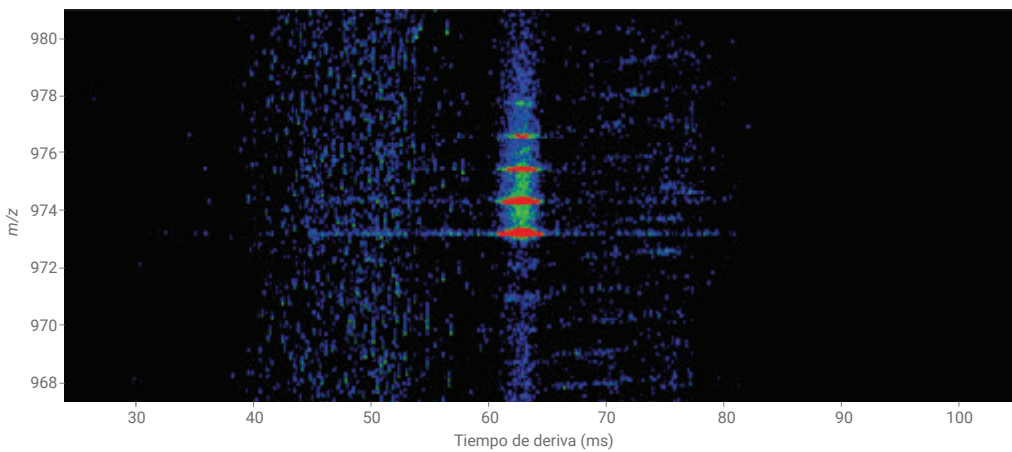
— Erin Baker, profesora titular
Universidad de Carolina del Norte en Chapel Hill



La precisión abre un mundo de nuevas oportunidades

“Contamos con una herramienta que nos da la oportunidad de abordar cuestiones que quizás nunca antes imaginamos”.

Es así como el Dr. Alfred Yergey, científico emérito del Instituto Nacional de la Salud en Bethesda, Maryland, evalúa el sistema LC/MS Q-TOF Agilent 6560 Ion Mobility.



Espectro positivo de ciclodextrina, un compuesto presente en el momento de la medición sin valor de CCS ni patrones conocidos.

Un instrumento en el que creer: Confianza y facilidad de uso

El sistema LC/QTOF 6560 Ion Mobility es el primer instrumento comercial que permite a los investigadores abordar cuestiones verdaderamente fundamentales sobre la estructura mediante mediciones del primer principio. Esto permite alcanzar una comprensión más profunda de la función y el mecanismo de los sistemas biológicos complejos con verdadera confianza y facilidad.

Gran parte del entusiasmo del Dr. Yergey se debe a la exactitud del sistema. "Cuando se calcula una sección transversal de colisión con este producto, se obtiene una cifra creíble", asegura.

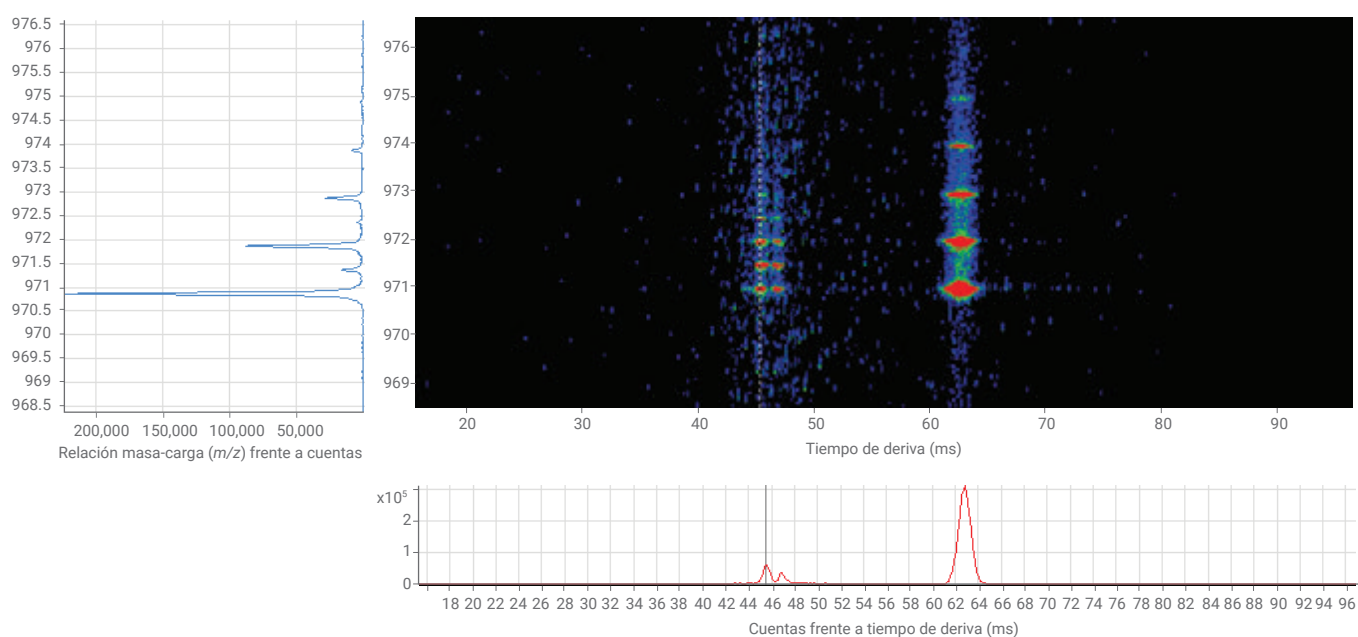
Con otros sistemas comerciales, los resultados deben calibrarse en comparación con valores previamente establecidos respecto a compuestos similares extraídos de publicaciones científicas. Eso es un gran inconveniente si está trabajando con moléculas que aún no tienen un valor establecido.

"Los resultados que obtiene con esta herramienta pueden justificarse sobre la base del primer principio", señala el Dr. Yergey. "El producto se comporta exactamente como se esperaría a la luz de la larga historia de la química iónica en fase gaseosa".



“Se trata de una herramienta que nos permite imaginar diferentes tipos de experimentos. Es básicamente una forma de interrogar la química iónica en fase gaseosa de una manera que no podíamos imaginar antes de la existencia de este producto”.

— **Dr. Alfred Yergey**, científico emérito,
Instituto Nacional de la Salud
Bethesda, Maryland



Datos de deriva de nitrógeno tanto en modo de ionización positiva como negativa del mismo compuesto (ciclodextrina) en forma protonada y desprotonada. Los cálculos de CCS en modo positivo y negativo mostraron valores de CCS con una exactitud del 2 %. A) Un pico de deriva resuelto correctamente en modo positivo. B) Dos picos distintos (monómero monocargado y dímero doblemente cargado) en modo negativo. El pico de menor intensidad contiene dos confórmers diferentes, lo que posiblemente indica que los dímeros existen como dos confórmers.

En busca de lo desconocido: una herramienta de descubrimiento multiómica



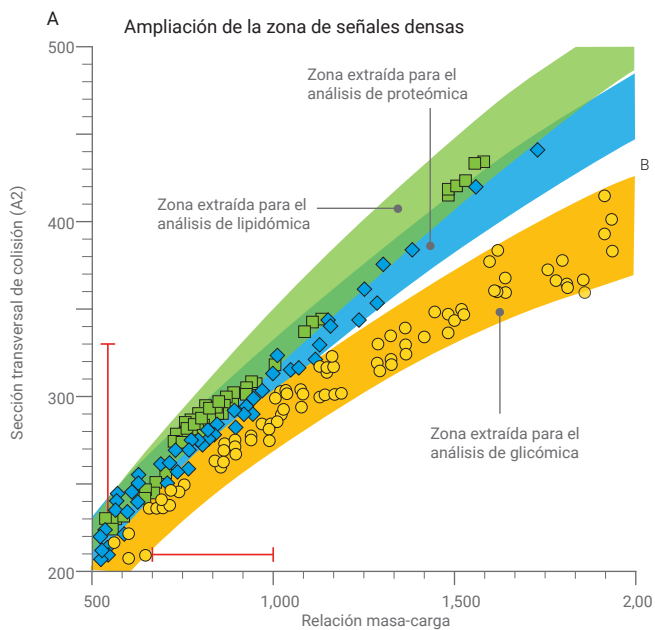
El sistema LC/Q-TOF Agilent 6560 Ion Mobility representa un avance increíble para los biólogos que tratan de comprender cómo interactúan los genes, las proteínas y los metabolitos como un sistema integral.

Solo hay que preguntar al Dr. John McLean de la Universidad Vanderbilt en Nashville, Tennessee. El doctor dirige el laboratorio de espectrometría de masas estructural, que lleva a cabo experimentos para biólogos, inmunólogos, anatomopatólogos y otros científicos.

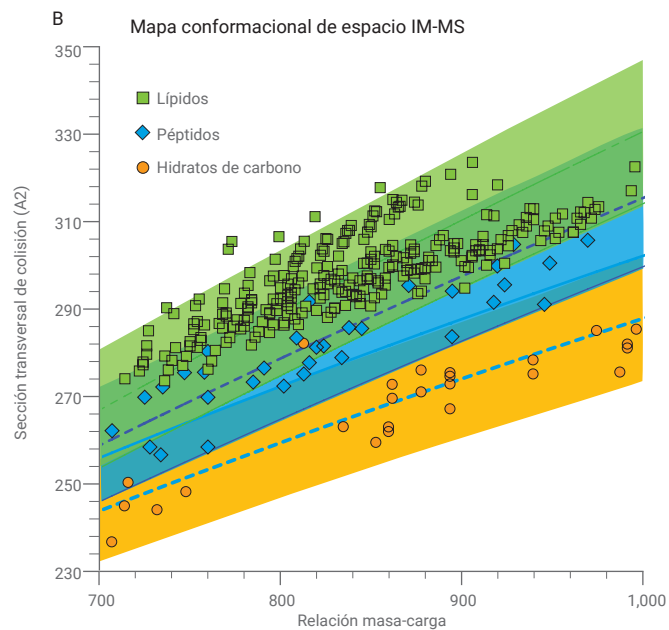
“El verdadero problema de la biología de sistemas es que hay que realizar millones de experimentos para poder discernir pequeñas cosas, pequeñas redes en la biología”, dice el Dr. McLean. “En la proteómica, habrá que esperar durante horas para detectar cambios en los niveles de expresión de las proteínas. Por otra parte, la metabolómica ofrece una observación rápida de las respuestas biológicas que puede servir como un indicador eficaz del estado biológico. Si está tratando de comprender las enfermedades, debe poder examinar las moléculas que se están expresando conjuntamente en dichas condiciones”.

Es allí donde realmente destaca el sistema LC/Q-TOF 6560 Ion Mobility.

Mapeo multiómico de datos empíricos

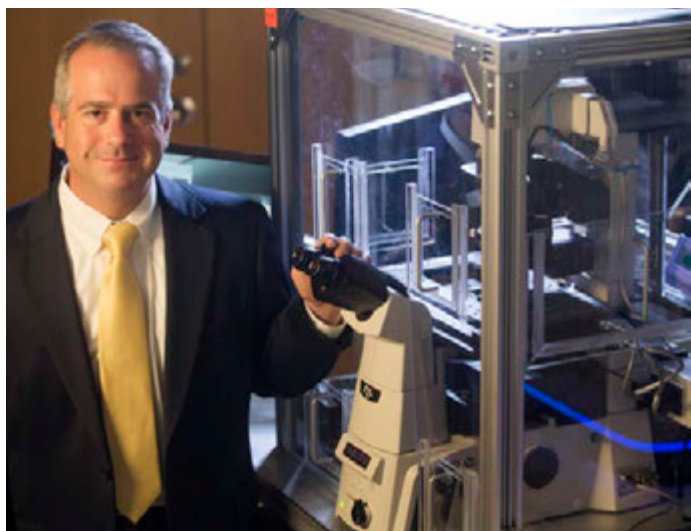


A) Se introdujo una muestra que contiene lípidos, péptidos e hidratos de carbono directamente en el instrumento y, a continuación, se resolvió con un análisis Q-TOF IM 2D mediante sección transversal de colisión y m/z . Los mapas de espacio conformacionales permiten separar mezclas complejas en función de diferentes clases biomoleculares con escaso análisis de muestras inicial.*



B) Ampliación de una zona con alta densidad de señales. La distinción de señales iónicas individuales únicamente mediante medición de m/z es todo un desafío. Sin embargo, la separación estructural combinada de Q-TOF IM permite delinear los datos en zonas específicas de la clase química.*

* May, J.C., et al. *Anal Chem* 2014 (Feb 18, 2014; 2107-2116). *Conformational Ordering of Biomolecules in the Gas-Phase: Nitrogen Collision Cross-Sections Measured on a Prototype High Resolution Drift Tube Ion Mobility-Mass Spectrometer.*



“Estamos rompiendo el paradigma de los estudios de proteómica o genómica, cualquiera de las ramas de la ómica, y en cambio, adoptamos lo que lo consideramos realmente un estudio no dirigido e imparcial del inventario molecular utilizando la movilidad iónica acoplada a la espectrometría de masas”.

— **John A. McLean**, Stevenson
Profesor de química
Universidad Vanderbilt,
Nashville

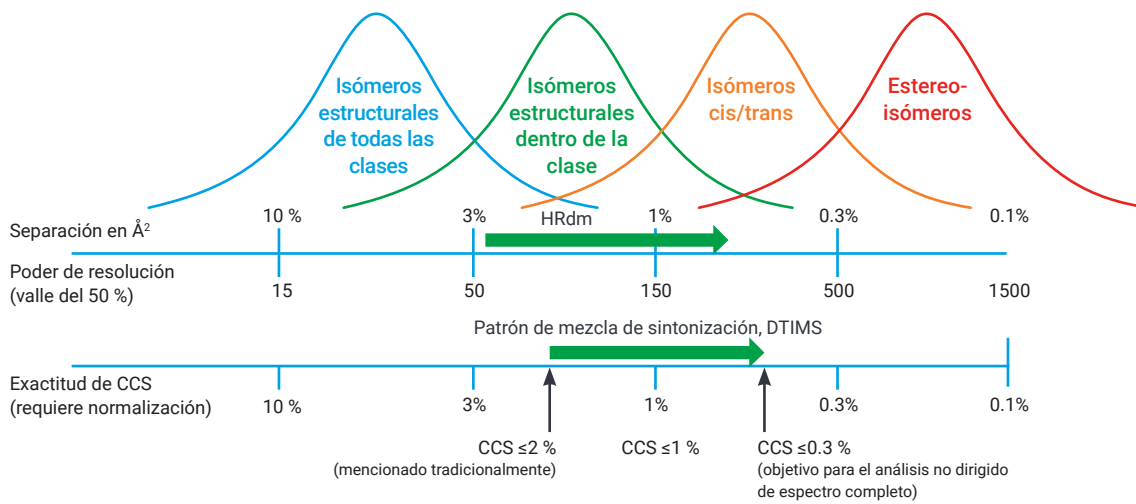
El Dr. Mc. Lean y su equipo de Vanderbilt valoran profundamente cómo funcionan estas tecnologías de forma conjunta. Han estado creando sus propios sistemas durante años, en los cuales el poder de resolución es un parámetro clave de la separación de diferentes clases moleculares.

“Según nuestra experiencia, es necesario contar con una potencia de resolución superior a 20 para comenzar a resolver las clases químicas en el espacio de conformación, pero con la plataforma de Agilent, en algunos casos hemos llegado a 80”, dijo. “Esto nos permite resolver la ultraestructura en las distribuciones de clases moleculares para poder realizar asignaciones con mayor seguridad dentro de una clase molecular, por ejemplo, al distinguir las subclases moleculares como los esfingolípidos de los glicerofosfolípidos”.

Los isómeros estructurales de todas las clases pueden separarse con el poder de resolución tradicionales del tubo de deriva de hasta 50-60. Para separar los isómeros estructurales dentro de una clase, se necesitan potencias de resolución de IM superiores de 150-200, que pueden obtenerse con demultiplexación de alta resolución. La separación de isómeros cis/trans y estereoisómeros requiere el poder de resolución de IM aún mayores. La exactitud de la CCS, que se ha demostrado en los sistemas de movilidad iónica con tubo de deriva, cobra aún más importancia cuando se resuelven isómeros de elución cercana, ya que a menudo estas especies tienen valores de CCS con una diferencia del orden del 1 al 3 % entre sí. En el espectro completo, se desea una exactitud de CCS <0.3 % en los flujos de trabajo no dirigidos. El aumento de la sensibilidad y la resolución permite descubrir más compuestos en mezclas complejas.

El Dr. McLean señala que a otros investigadores suele sorprenderles la naturaleza multiómica de la tecnología. “Esto va a causar un gran revuelo en la biología”, dice.

Análisis de la escala de CCS



Los distintos tipos de isómeros requieren mayor Poder de resolución de la movilidad iónica. Lo mismo sucede con la identificación, donde la exactitud de CCS es de suma importancia.





Caracterización de los biofármacos

Abordar lo imposible: desarrollo biofarmacéutico fiable y rápido

El proceso de descubrimiento de fármacos se ha refinado continuamente con los años. Sin embargo, el enfoque básico no ha variado prácticamente a pesar de los numerosos avances tecnológicos. Por tanto, algunos se preguntan, “¿es hora de modificar radicalmente la forma de abordar el nuevo desarrollo farmacéutico?”

Un equipo de la Universidad de Michigan, dirigido por Brandon Ruotolo, profesor de química, cree que sí y piensa que cuentan con la herramienta adecuada para el trabajo: el nuevo sistema LC/Q-TOF Agilent 6560C Ion Mobility. El desdoblamiento inducido por colisión o CIU, por sus siglas en inglés, es una forma rápida de evaluar la estabilidad de una proteína terapéutica o target. Por lo general, los fármacos basados en proteínas deben ser lo más estables posible para conservar la eficacia y la seguridad. Uno de los principales beneficios del CIU es que permite acceder a la información de estabilidad sin tener que generar grandes cantidades de proteína purificada. Con el CIU, la estabilidad puede evaluarse en cuestión de minutos y puede completarse órdenes de magnitud más rápido que con la tecnología convencional. Se podrían examinar fácilmente miles de posibles fármacos basados en proteínas, lo que ofrecería datos ricos en información, que podrían mejorar y acelerar la cartera de productos farmacéuticos en fase de desarrollo.

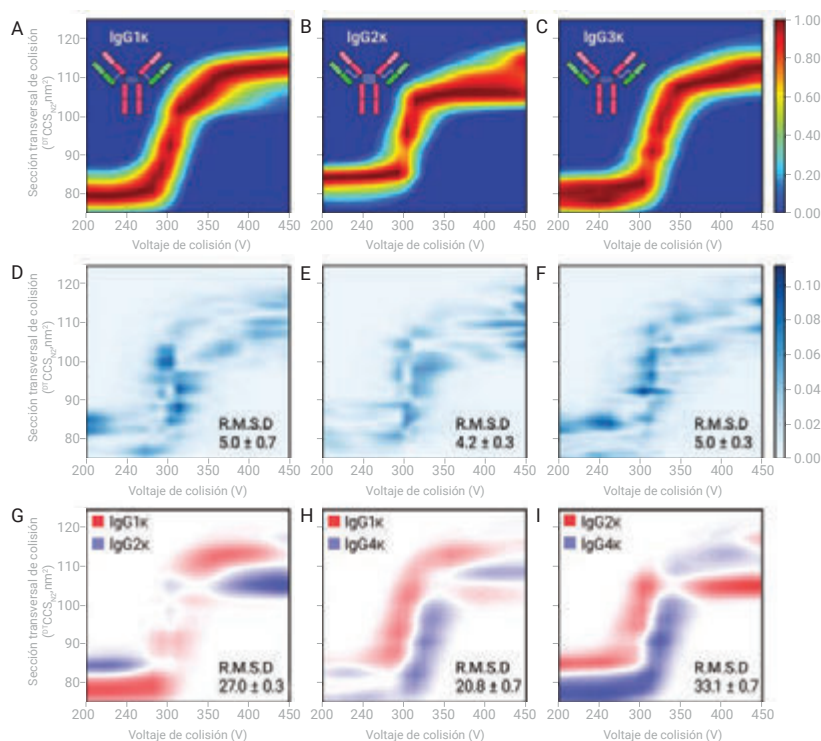
Los experimentos de CIU continuaron y Ruotolo describió los primeros datos como “identificación” estructural de proteínas. Señaló que “al comienzo, la mayoría de los datos no podían vincularse a características estructurales específicas. Simplemente sabíamos que la proteína aumentaba de tamaño debido a cambios en la temperatura interna durante el experimento”. Continuó diciendo que “sin embargo, ahora podemos distinguir cierta información estructural.”

Se ha demostrado que el 6560C es una plataforma poderosa para examinar diferentes proteínas y complejos proteicos en una amplia variedad de masas y estados estructurales. El ensayo de CIU es muy sensible para diferenciar medicamentos biológicos similares y proteínas según el enlace disulfuro, el desdoblamiento y los cambios en el enlace covalente. Puede diferenciar dónde se encuentran los enlaces disulfuro dentro de diferentes subclases de IgG con altos niveles de confianza. Esto será útil en el desarrollo farmacéutico, ya que las IgG se usan como andamiaje para crear proteínas bioterapéuticas.



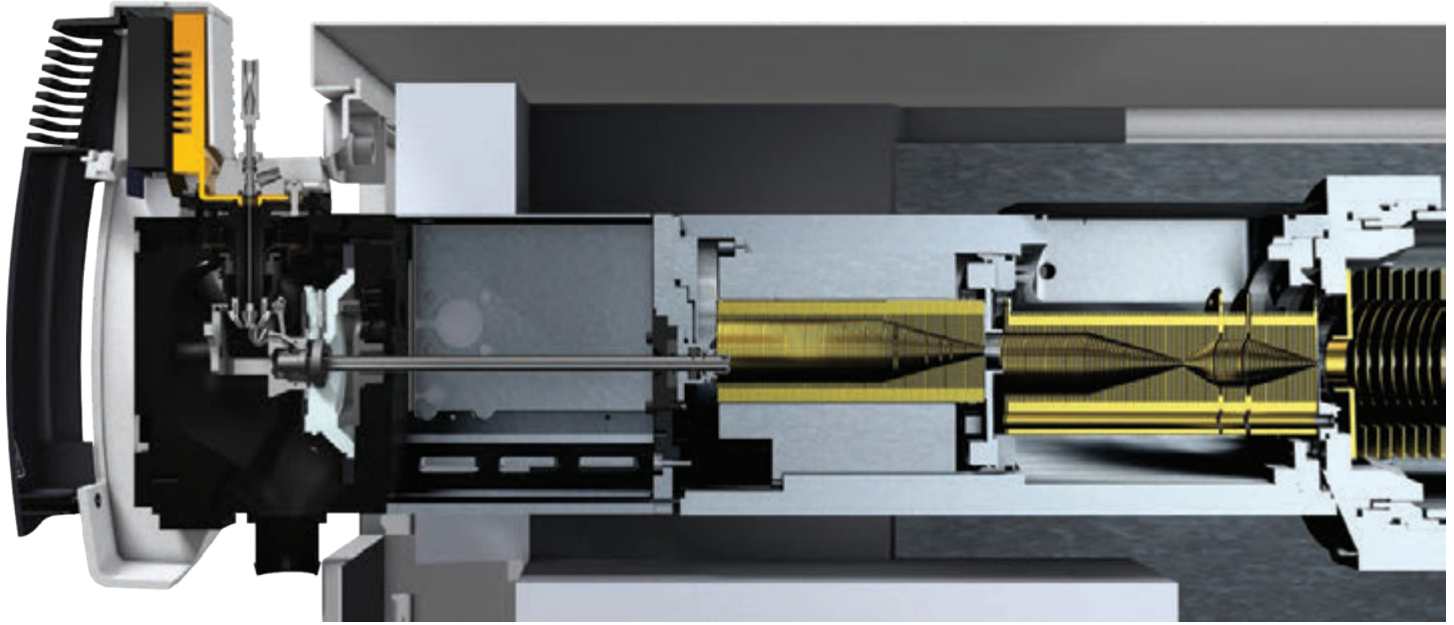
“Registramos patrones en los cambios estructurales en función de la energía aplicada. Luego, los comparamos con otra muestra que se haya sometido a estrés celular o se haya unido a un ligando, y vemos cómo cambian los datos entre ambos. El análisis de datos de CIU suele incluir muchas referencias entre las muestras. Los datos de las proteínas estándar deben ser altamente reproducibles para poder sacar conclusiones de las muestras desconocidas con seguridad y el 6560C se ha destacado en este punto”.

— **Brandon Ruotolo**, profesor de química
Universidad de Michigan



J RMSD de identificación de CIU (%)			
	IgG1 κ	IgG2 κ	IgG4 κ
IgG1 κ	5.0 ± 0.7	27.0 ± 0.3	20.8 ± 0.7
IgG2 κ		4.2 ± 0.3	33.1 ± 0.5
IgG4 κ			5.0 ± 0.3

Resultados de los experimentos de CIU. Figuras A-C: Curva de CIU para IgG1 κ, IgG2 κ e IgG3 κ. Figuras D-F: Promedio de valor de raíz de la desviación cuadrática media (RMSD) de la curva de CIU para varias réplicas de análisis de IgG1-3 κ. Figuras G-I: Comparación del promedio de valor de RMSD de la curva de CIU para IgG1 κ frente a IgG2-4 κ; la imagen muestra los gráficos de comparación de la suma de IgG κ.



Basado en tecnología de vanguardia

¿Por qué tanto entusiasmo por una técnica de separación que existe hace más de 100 años? Porque recién nos estamos dando cuenta de su verdadero potencial, gracias a varias innovaciones recientes.

El surgimiento de la moderna tecnología de embudo de iones acoplada a los tubos de deriva de campo uniforme se debe al Dr. Richard Smith, del Laboratorio Nacional del Noroeste del Pacífico (PNNL).

Ha permitido multiplicar por más de 50 la sensibilidad de la movilidad iónica acoplada a la espectrometría de masas de alta resolución.

Ahora, el sistema LC/Q-TOF 6560 Ion Mobility lleva esta tecnología aún más lejos con un exclusivo diseño de embudo de iones. Su conjunto de embudo doble incluye un embudo delantero para el enriquecimiento de las muestras, un embudo de iones de retención y un embudo trasero de concentración. Todos están diseñados para mejorar la transmisión de iones de la fuente al analizador de masas de alta resolución Q-TOF.

Los diseños de movilidad iónica de campo uniforme existen desde hace años. Sin embargo, sufrían grandes pérdidas de iones (>99.9 %) sin el uso de embudos electrodinámicos.

El diseño de embudo de deriva de Agilent preserva los iones a lo largo de cada segmento de la trayectoria óptica. ¿Cómo? A través de la cuidadosa concentración de iones en cada segmento del embudo de iones electrodinámico. Este diseño solo da como resultado una doble pérdida de la señal iónica, en comparación con los instrumentos LC/MS Q-TOF de alta resolución independientes.

Además, la tecnología iFunnel de Agilent ofrece una robustez inigualable en comparación con otros diseños de embudo doble, al combinar una verdadera orientación de electronebulización ortogonal con la ionización Agilent JetStream. Este diseño reduce al mínimo la transmisión de especies sin carga y grupos iónicos cargados, lo que reduce el ruido de fondo.



“La tecnología de embudo de iones podría ser el avance más significativo de MS desde la aparición de la API. Supone un avance fundamental en el límite de detección y la sensibilidad, lo que resulta en un rendimiento que supera ampliamente las capacidades de los espectrómetros de masas convencionales”.

– **Dr. Richard Smith**, inventor del embudo de iones

Aproveche las tres dimensiones de separación con un solo sistema

El sistema LC/Q-TOF 6560 Ion Mobility combina el poder del sistema HPLC serie 1200 Infinity, la movilidad iónica y un sistema LC/MS Q-TOF de masa exacta de alta resolución. Por tanto, puede ampliar fácilmente sus capacidades de investigación científica.

VacShield

- Permite la eliminación de capilares sin ventilación.

CIU

- Desdoblamiento inducido por colisión para caracterización estructural.

Multiplexación

- Mayor sensibilidad y rango dinámico, aumento notable en la resolución de movilidad iónica con algoritmos de postprocesamiento.

Resuelva isómeros estructurales

- Explore sin esfuerzo la estructura molecular y la conformación de los péptidos y las proteínas mediante separación por movilidad iónica de alta resolución.
- Determine el tamaño molecular de forma directa (a partir de las secciones transversales de colisión) sin patrones de referencia ni tablas de calibración.

Aumente la capacidad de los picos

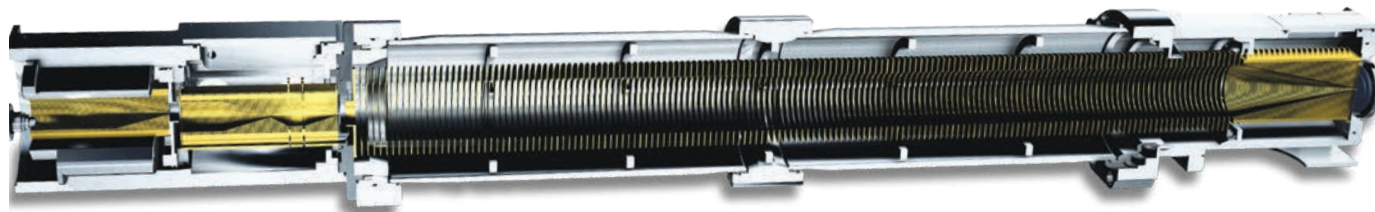
- Resuelva componentes individuales en mezclas complejas con el poder combinada de UHPLC, movilidad iónica y espectrometría de masas.
- Obtenga separación por movilidad iónica óptima con tecnología de retención de doble rejilla.
- Multiplexación para aumentar la sensibilidad, el rango dinámico y la resolución a través de demultiplexación de alta resolución.

Encuentre y confirme componentes menores

- Detecte de inmediato analitos de pocos fentogramos en matrices complejas utilizando la tecnología de embudo electrodinámico.
- Confirme con confianza los compuestos utilizando MS/MS All Ions.

Preserve las conformaciones de proteínas

- Estudie fácilmente las estructuras de péptidos y proteínas en fase gaseosa.
- Mantenga las conformaciones moleculares reduciendo al mínimo los efectos del calentamiento de iones.





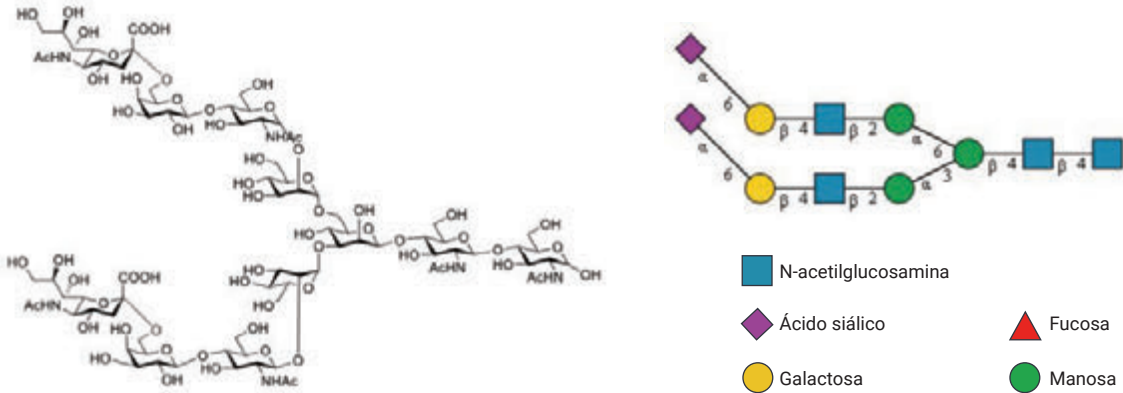
Alcance nuevos niveles en capacidad de los picos

La combinación de técnicas de separación ortogonal de cromatografía de líquidos, medición de masa y movilidad iónica mejora sustancialmente la capacidad de picos total. Por lo tanto, puede caracterizar con mayor eficacia las distintas moléculas.

En caso de querer efectuar un análisis exhaustivo de muestras complejas, es posible que no se pueda realizar la separación completa de varios compuestos solamente con la cromatografía de líquidos. Incluso un análisis de masas de alta resolución posterior puede ser insuficiente para separar e identificar los compuestos isobáricos. El sistema LC/Q-TOF 6560 Ion Mobility incorpora separación por movilidad iónica en fase gaseosa, que aumenta notablemente la capacidad de picos de su análisis. Eso significa que puede resolver y detectar una cantidad mayor de compuestos y componentes que nunca.

Determinación exacta de la estructura de los glicanos complejos

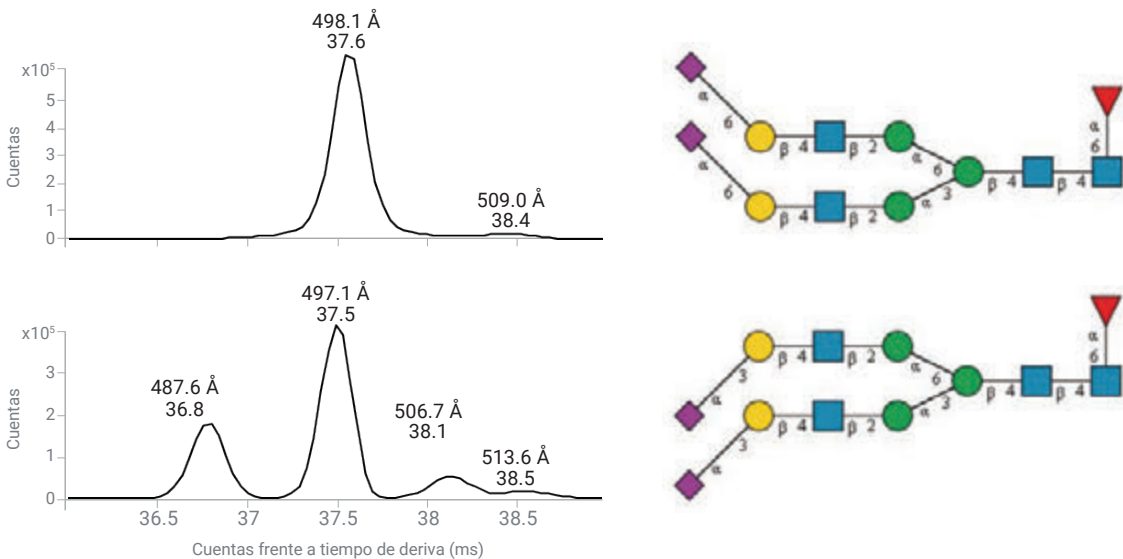
El análisis MS de glicanos está despertando considerable interés. Estas biomoléculas han participado en procesos biológicos y de enfermedades, pueden servir como biomarcadores, son componentes fundamentales de los productos biológicos y repercuten en la nutrición de los lactantes. Debido a su complejidad estructural, la identificación exacta de estructuras de glicanos mediante TOF-MS es todo un desafío. La combinación de TOF-MS y DTIMS con multiplexación y demultiplexación de alta resolución ofrece una alternativa más rápida y simple.



Los componentes básicos monosacáridos de los *N*-glicanos pueden estar relacionados en diferentes secuencias y enlaces (izquierda), lo que produce una gran cantidad de posibles estructuras de glicanos, incluidos muchos isómeros. La representación de la estructura molecular suele simplificarse mediante el uso de símbolos para los componentes básicos y la anotación de los enlaces (derecha).¹

Identificación de distribución de confórmers de glicanos de alta resolución

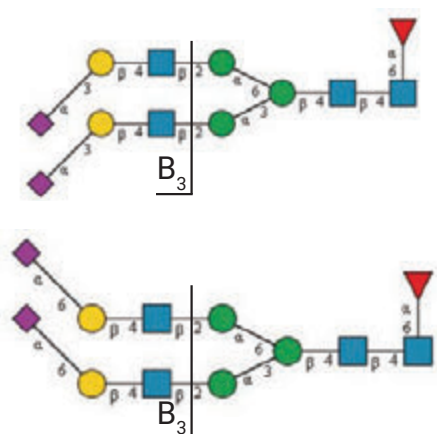
La flexibilidad entre los componentes básicos de los hidratos de carbono permite que los glicanos adopten varias conformaciones estables en fase gaseosa, que pueden resolverse con DTIMS. Estas distribuciones de confórmers altamente repetibles muestran huellas únicas para cada glicano.² Se puede utilizar una base de datos con estas huellas, junto con mediciones de masa exactas y valores de CCS para identificar las estructuras de los glicanos sin realizar experimentos de MS de varias etapas.



Diferenciación de los *N*-glicanos isoméricos por su huella de distribución de confórmers de alta resolución y valores de CCS. Los *N*-glicanos se modificaron con ácido 2-aminobenzoico en el extremo reductor para obtener derivados y se midieron en modo de ionización negativa como iones $[M^2H]^-$.

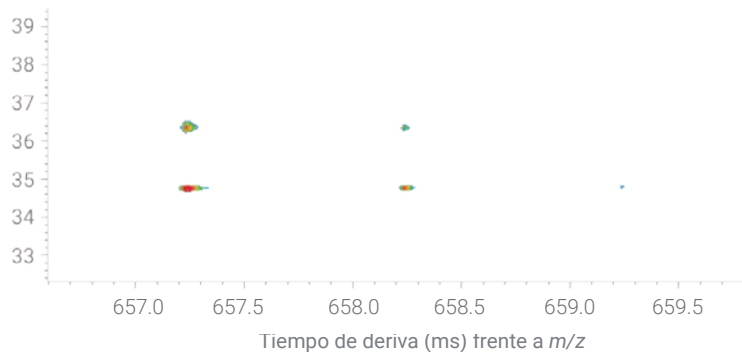
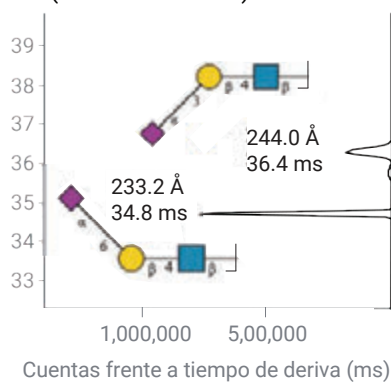
Activación en la fuente y DTIMS de alta resolución

La espectrometría de movilidad iónica con tiempo de deriva (DTIMS) de fragmentos de glicanos, que se forman tras la activación en la fuente, ofrece la posibilidad de obtener información estructural detallada, como posiciones exactas de fucosilo³ o el tipo de enlace de ácido siálico. Al medir los valores de CCS de los iones fragmentados y compararlos con los datos de referencia, es posible identificar los iones fragmentados isométricos sin tener que realizar experimentos de MS³.



lución:

Espectro de deriva de alta resol
(656.6-659.9 m/z)



Separación de iones fragmentados B₃ (en 34.8 y 36.4 ms en el espectro de deriva de alta resolución) obtenidos tras la activación en la fuente de dos N-glicanos isométricos combinados, que solo diferían en el enlace de ácido siálico (α2,3 o α2,6, consulte las estructuras en la figura del recuadro). Los N-glicanos se modificaron con 4-amino-N-2-(dietilamino)etil-benzamida para obtener derivados en el extremo reductor, activados en la fuente y medidos en modo de ionización positiva. Los dos iones fragmentados B₃ tienen valores m/z idénticos ([M+H]⁺ a m/z 657.24), pero pueden separarse por su diferente movilidad en el tubo de deriva, lo que permite la diferenciación de los enlaces del ácido siálico por los valores de CCS.

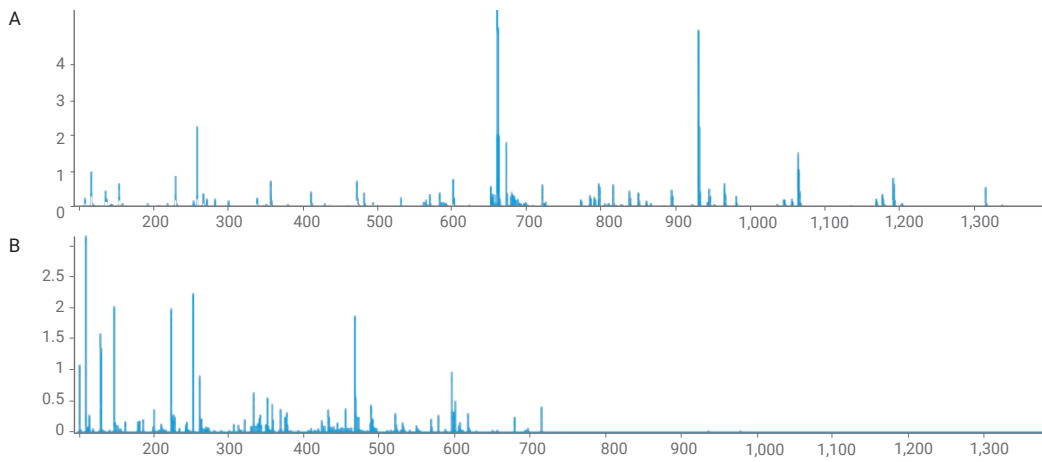
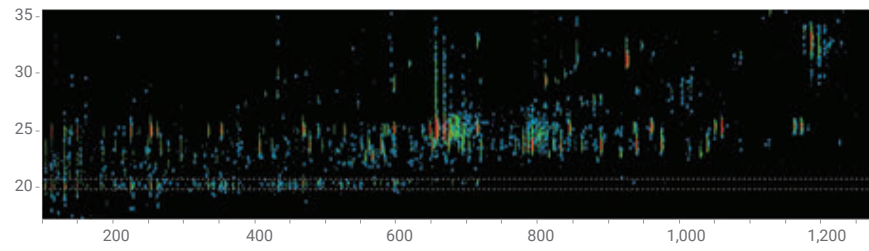
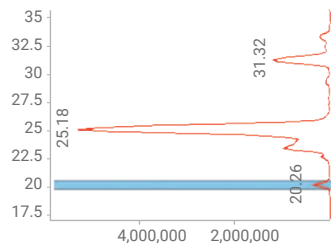
1. Damerell, D. et al. The GlycanBuilder and GlycoWorkbench Glycoinformatics Tools: Updates and New Developments. *Biol. Chem.* **2012**, 393 (11), 1357-62.
2. Sastre Torano, J. et al. Identification of Isomeric N-Glycans by Conformer Distribution Fingerprinting Using Ion Mobility Mass Spectrometry. *Chem. Eur. J.* **2021**, 27 (6), 2149-2154.
3. Sastre Torano, J. et al. Ion-Mobility Spectrometry Can Assign Exact Fucosyl Positions In Glycans and Prevent Misinterpretation of Mass-Spectrometry Data After Gas-Phase Rearrangement. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **2019**, 58 (49), 17616-17620.



Todos los iones, todo el tiempo: detecte rápidamente compuestos de bajo nivel

La fragmentación All Ions se encuentra disponible en los instrumentos LC/Q-TOF de alta resolución de Agilent. En combinación con las bibliotecas y bases de datos de compuestos personales (Personal Compound Databases and Libraries, PCDL) de Agilent, esta técnica le proporciona una capacidad sin precedentes para detectar con seguridad los compuestos en mezclas complejas.

Los experimentos de MS/MS tradicionales que dependen de datos suelen omitir los picos de baja abundancia, pero con los experimentos de fragmentación de All Iones, se envían todos los iones de la fuente a la cámara de colisión para su fragmentación. A continuación, el software de análisis de datos utiliza espectros de MS/MS disponibles en las PCDL para extraer de forma segura los compuestos presentes en la muestra. La fragmentación Agilent All Ions es incluso más potente al combinarla con la movilidad iónica. Es por ello que el tiempo de deriva de iones proporciona una dimensión de separación adicional, lo que reduce aún más la complejidad de la muestra y mejora la detección de compuestos de bajo nivel. Los beneficios: menos ambigüedad al identificar los compuestos y mejores límites de detección para compuestos a nivel de trazas.



Se utilizó la fragmentación Agilent All Ions para identificar péptidos presentes en bajo nivel en un hidrolizado de proteína. El pico marcado con la estrella en la separación por LC, tenía entre seis y siete componentes de péptido, que se muestran por separado en un mapa de calor de tiempo de deriva (recuadro). Estos componentes no podrían detectarse ni identificarse solamente con LC y MS.

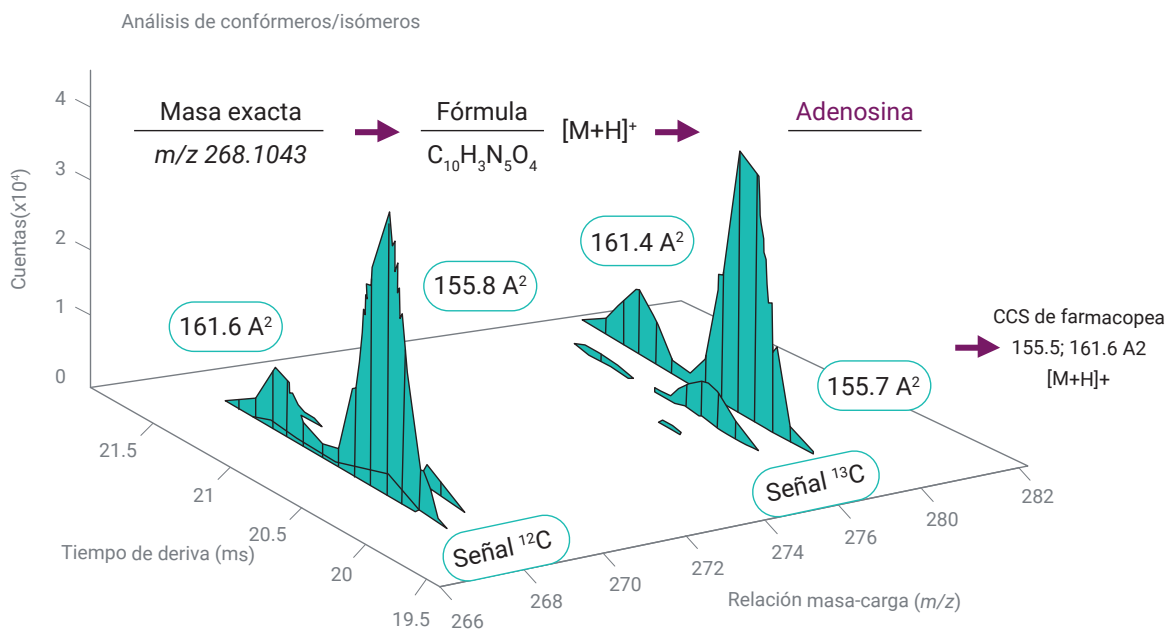
A: Suma del espectro de iones fragmentados a 30 V a lo largo del pico con la estrella. B: Espectro de iones fragmentados separados por deriva del péptido HLVDEPQNLIK triplemente cargado en 20.26 ms.

Metabolómica no dirigida: aumento de la anotación molecular con los valores de CCS

Uno de los grandes desafíos analíticos en la investigación de la metabolómica no dirigida es de qué manera los científicos pueden aumentar la confianza en la anotación molecular de las muestras desconocidas. Los métodos actuales utilizan descriptores moleculares, entre ellos, masa exacta, patrón isotópico y espectros MS/MS, para asignar provisionalmente una identidad molecular con un nivel dado de certeza analítica. El uso de la espectrometría de movilidad iónica (IMS) y los valores de la sección transversal de colisión (CCS) documentados en las publicaciones ofrece una forma adicional de anotación molecular que facilita la caracterización estructural de los compuestos desconocidos.

Los valores de CCS que se generan con el tubo de deriva de campo uniforme de la plataforma Agilent 6560 permiten a los investigadores traducir estos descriptores moleculares en los laboratorios con un alto grado de precisión. Aquí, pudimos anotar un metabolito desconocido como adenosina basándonos exclusivamente en los valores de masa exacta y CCS calculados en un experimento de obtención de perfiles no dirigido. Los dos conformémeros probablemente puedan atribuirse a varios sitios de protonación en la nucleobase de purina. Los valores de CCS calculados en el laboratorio de Erin Baker en la Universidad Estatal de Carolina del Norte mostraron concordancia (diferencia de menos del 0.2 %) con los valores de referencia publicados por el laboratorio de John McLean en la Universidad Vanderbilt.

Además, todos los metabolitos marcados con isótopos pesados (valores en los bordes rosados) tienen distribuciones de conformémeros y CCS casi idénticas en comparación con los metabolitos endógenos (valores en los bordes amarillos), lo que proporciona una certeza adicional en la asignación molecular.



Datos de Erin Baker, Universidad Estatal de Carolina del Norte.

Separe las moléculas por tamaño y forma

Los valores de sección transversal de colisión (CCS), una medida del tamaño y la forma de los compuestos, sirven para caracterizar polímeros, proteínas, péptidos, lípidos, biofármacos, etc. En estos estudios, los valores de CCS a menudo permiten distinguir entre diversas formas de isómeros o moléculas y complejos estructuralmente similares.

Los valores de CCS se desprenden de las mediciones de movilidad iónica y pueden calcularse directamente en el tubo de deriva de campo uniforme, gracias al diseño exclusivo que utiliza Agilent.

Con el sistema LC/Q-TOF Agilent 6560 Ion Mobility, puede obtener de forma habitual mediciones de CCS con una exactitud <2 %. Su tubo de deriva de campo uniforme ofrece un excelente control de los parámetros experimentales (presión, temperatura y campo eléctrico), que el sistema mantiene durante los experimentos de movilidad.



Creación del patrón de referencia de CCS

El patrón de referencia de CCS con mezcla de sintonización Agilent

Tipo de mezcla	CCS	% DER	Mezcla de sintonización	CCS	% DER
118	121.30 ± 0.20	0.17%	112	108.23 ± 0.20	0.19%
322	153.73 ± 0.23	0.15%	301	140.04 ± 0.29	0.21%
622	202.96 ± 0.27	0.14%	601	180.77 ± 0.21	0.12%
922	243.64 ± 0.30	0.12%	1033	255.34 ± 0.32	0.13%
1221	282.20 ± 0.47	0.17%	1333	284.76 ± 0.31	0.11%
1521	316.96 ± 0.60	0.19%	1633	319.03 ± 0.70	0.22%
1821	351.25 ± 0.62	0.18%	1933	352.55 ± 0.27	0.08%
2121	383.03 ± 0.64	0.17%	2233	380.74 ± 0.31	0.08%
2421	412.96 ± 0.58	0.14%	2533	412.99 ± 0.31	0.07%
2721	441.21 ± 0.59	0.13%	2833	432.62 ± 0.35	0.08%

La creación del patrón de referencia de CCS basado en la mezcla de sintonización de Agilent se logró a través de un estudio entre varios laboratorios mediante el uso de un sistema de referencia y otros tres sistemas en laboratorios adicionales. Se utilizaron cuatro modos de ajuste en tres días diferentes, tanto en modo positivo como negativo para adquirir datos en todos los laboratorios. Se descubrió que la desviación estándar relativa (DER) correspondiente para los valores de CCS obtenidos en condiciones de repetibilidad de medición en el sistema de referencia era inferior al 0.22 % para todos los iones de la mezcla de sintonización. Esta evaluación exhaustiva se llevó a cabo con el objeto de usar estos valores de CCS de referencia como calibradores para mediciones universales de un solo campo y se presentan como valores de referencia para respaldar una amplia normalización de CCS.

Visualice los datos de movilidad iónica: El software MassHunter le permite ver con claridad



El software Agilent MassHunter, IM-MS Browser y Mass Profiler le permiten interrogar los datos de dominio de masa y movilidad y determinar fácilmente los valores de sección transversal de colisión con precisión.

Así es como realmente se destaca el software MassHunter:

- **Gráficos de calidad.** Vea y presente los datos con claridad.
- **Navegación intuitiva, interactiva y enlazada.** Interprete fácilmente los detalles que necesita ver.
- **Visualización en simultáneo de las tres dimensiones de separación.** Obtenga vistas despejadas de los datos en contexto, para que pueda imaginar el espacio multidimensional.
- **Fácil filtrado de los datos en cualquier dimensión, o en todas.** Reduzca la complejidad para una visualización interactiva y un procesamiento automatizado.
- **Visualización dinámica de datos.** Compare datos desde cualquier parte en el archivo de datos, o entre archivos de datos.
- **Cálculo simple y directo de valores de sección transversal de colisión.** No es necesaria la calibración específica de las clases de compuestos.

Prometemos 10 años de valor

La promesa de valor Agilent refleja la máxima confianza en nuestros incomparables estándares industriales de diseño y fabricación de sistemas de calidad. A partir de la fecha de compra de determinados instrumentos de cromatografía, espectrometría y espectroscopia de Agilent, le garantizamos como mínimo 10 años de uso o un crédito de valor residual para una sustitución actualizada. Porque respaldamos nuestros sistemas, nuestra garantía aumenta al máximo la rentabilidad de su inversión al garantizarle una compra segura.

Más información:

www.agilent.com/chem/6560-ion-mobility

Compre en línea:

www.agilent.com/chem/store

Busque un centro de atención al cliente de Agilent en su país:

www.agilent.com/chem/contactus

España

901 11 68 90

customercare_spain@agilent.com

Europa

info_agilent@agilent.com

Asia-Pacífico

inquiry_lsca@agilent.com

Solo para propósitos de investigación.
Prohibido su uso en procedimientos diagnósticos.

RA44952.3760648148

Esta información está sujeta a cambios sin previo aviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2023
Publicado en EE. UU., 29 de marzo de 2023
5991-3640SPL

