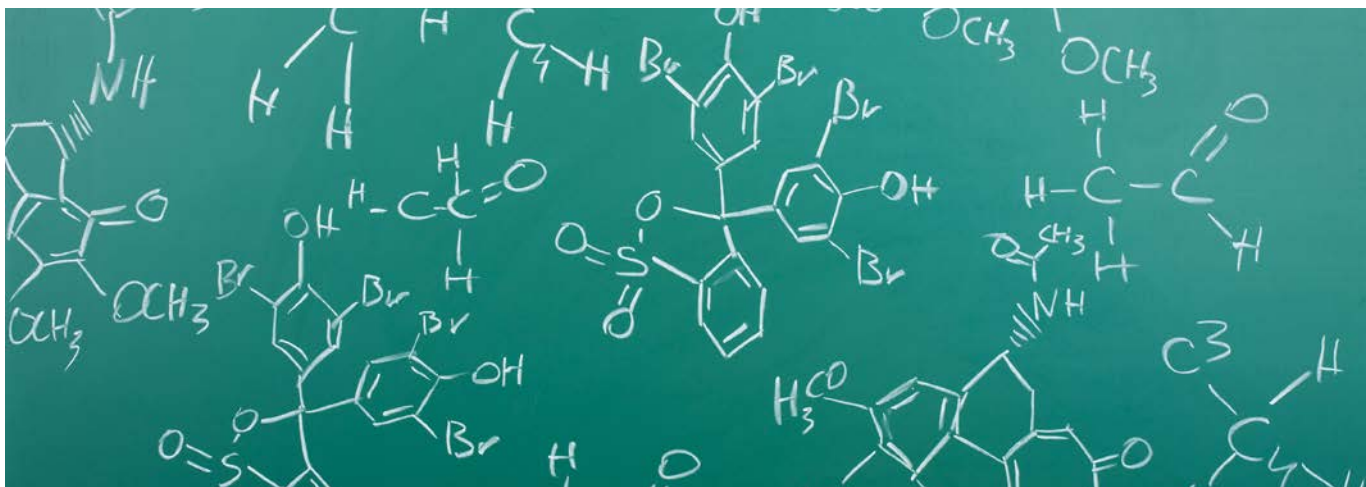


Adicione Uma Nova Dimensão à Sua Pesquisa

LC/Q-TOF de mobilidade iônica Agilent 6560





Revele Mais Detalhes do que Nunca

Sua pesquisa envolve caracterizar pequenas moléculas ou proteínas, aumentar a de cobertura de metabólitos ou garantir a segurança alimentar? O LC/Q-TOF de mobilidade iônica Agilent 6560 irá revelar detalhes que você nunca conseguiu obter antes.

A espectrometria de massas de mobilidade iônica adiciona uma dimensão ortogonal de separação às suas análises de LC/MS. Com seletividade e sensibilidade excepcionais, o LC/Q-TOF de mobilidade iônica 6560 pode detectar, identificar e caracterizar os componentes de amostras muito complexas.

Com este sistema LC/MS sensível, você será capaz de:

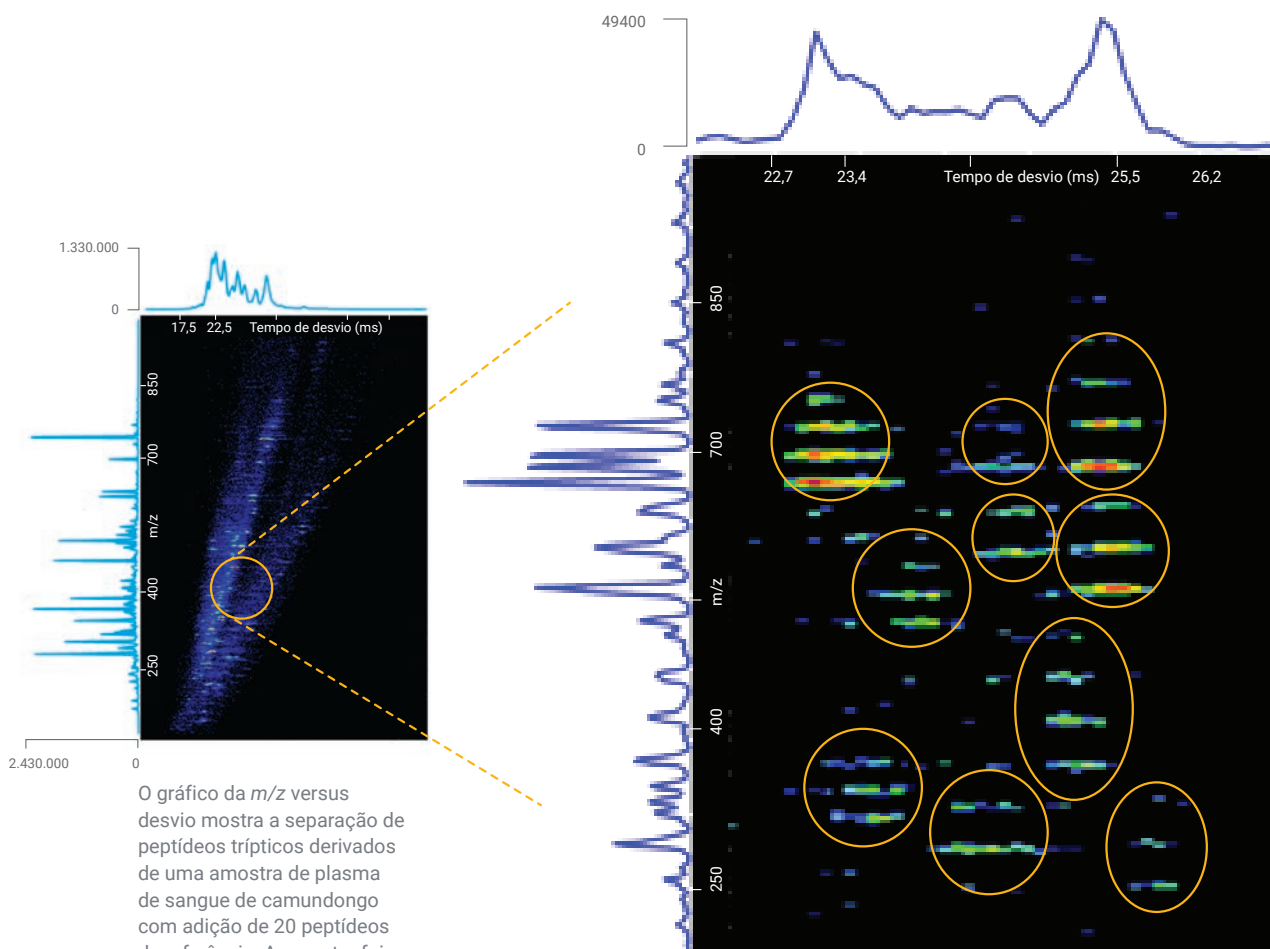
- Separar moléculas e isômeros com base em seu tamanho, forma e carga
- Observar mudanças na estrutura de proteínas e outras moléculas por desdobramento induzido por colisão (CIU)
- Calcular a seção transversal de colisão (CCS) através de medições de primeiro princípio sem padrões
- Conservar o estado nativo das moléculas na fase gasosa usando o design do tubo de mobilidade de baixa energia
- Usar a multiplexação para aumentar substancialmente a sensibilidade e a faixa dinâmica
- Obter resolução de mobilidade iônica de até 250 independente da aquisição

Na verdade, os pesquisadores já estão superando esses desafios usando o espectrômetro de massas de alta resolução 6560.

Resolvendo os desafios mais difíceis

A mobilidade iônica revela toda a complexidade de sua amostra

As matrizes biológicas contêm um número muito elevado de compostos, que em muitos casos se sobrepõem. A espectrometria de massas de alta resolução nem sempre é capaz de separá-los, principalmente quando há uma ampla variedade de abundâncias. A mobilidade iônica adiciona outra dimensão e ajuda a separar íons de difícil diferenciação.



O gráfico da m/z versus desvio mostra a separação de peptídeos tripticos derivados de uma amostra de plasma de sangue de camundongo com adição de 20 peptídeos de referência. A amostra foi submetida à separação de LC por 15 minutos antes da análise por Q-TOF IM.

A ampliação mostra uma região do gráfico 3-D no qual 10 peptídeos únicos foram separados e identificados.

Separe analitos não resolvidos com sensibilidade evidente

O que diferencia o LC/Q-TOF de mobilidade iônica 6560?

Resumindo, este instrumento combina mobilidade iônica com cromatografia líquida e espectrometria de massas. Erin Baker, cientista especializado em mobilidade iônica e medalhista ASMS Bieman, colaborou com a Agilent neste sistema.

"Muitas vezes, são as coisas que você não sabe que acabam sendo as mais importantes", diz o Dr. Baker. "Este sistema pode fornecer informações sobre tudo em sua amostra."

Se uma molécula tiver a mesma razão de massa/carga que outra e estiver presente em uma concentração muito baixa, pode ser quase impossível detectá-la com outras técnicas.

Se você está procurando por peptídeos de baixa concentração, que pesquisadores como o Dr. Baker chamam de procurar uma agulha no palheiro, essa sensibilidade se torna importante. Em vários casos, a forma ou a confirmação de uma proteína é uma pista crucial na pesquisa clínica.

Um espectrômetro de massas só pode dizer qual proteína está lá, mas não a sua forma.

"Com a mobilidade iônica, é possível dizer se a proteína está toda emaranhada, mais estendida ou se há algum tipo de má formação", diz o Dr. Baker. "Essa é uma informação vital."

Com este novo instrumento da Agilent, é possível obter muitas informações detalhadas rapidamente.



"Este sistema pode fornecer informações sobre tudo em sua amostra. Com a mobilidade iônica, somos capazes de detectar moléculas em níveis de concentração realmente baixos. Onde costumávamos trabalhar com ng/mL, agora estamos alcançando alto pg/mL."

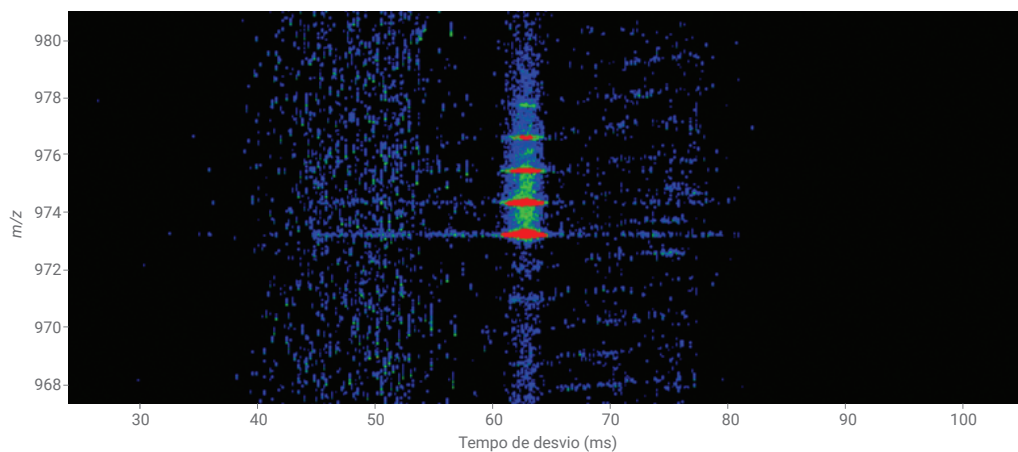
— **Erin Baker**, Professor Associado
University of North Carolina em Chapel Hill



A precisão abre novas oportunidades

"Temos uma ferramenta que nos oferece algumas oportunidades de abordar questões que talvez nunca tenhamos imaginado antes."

Essa foi a forma que o Dr. Alfred Yergey, cientista emérito do National Institutes of Health em Bethesda, Maryland, avalia o sistema de LC/MS Q-TOF de mobilidade iônica Agilent 6560.



Espectro em modo positivo de ciclodextrina, um composto no momento da medição sem padrões ou valores de CCS conhecidos.

Um instrumento que oferece: Confiança e facilidade de uso

O LC/QTOF de mobilidade iônica 6560 é o primeiro instrumento comercial que permite aos pesquisadores abordar questões verdadeiramente fundamentais sobre estrutura por medições de primeiro princípio. Isso permite uma compreensão mais profunda da função e do funcionamento de sistemas biológicos complexos com verdadeira confiança e facilidade.

Muito do entusiasmo do Dr. Yergey vem da exatidão do sistema. "Quando você calcula uma seção transversal de colisão com este dispositivo, o que você obtém é um número confiável", diz ele.

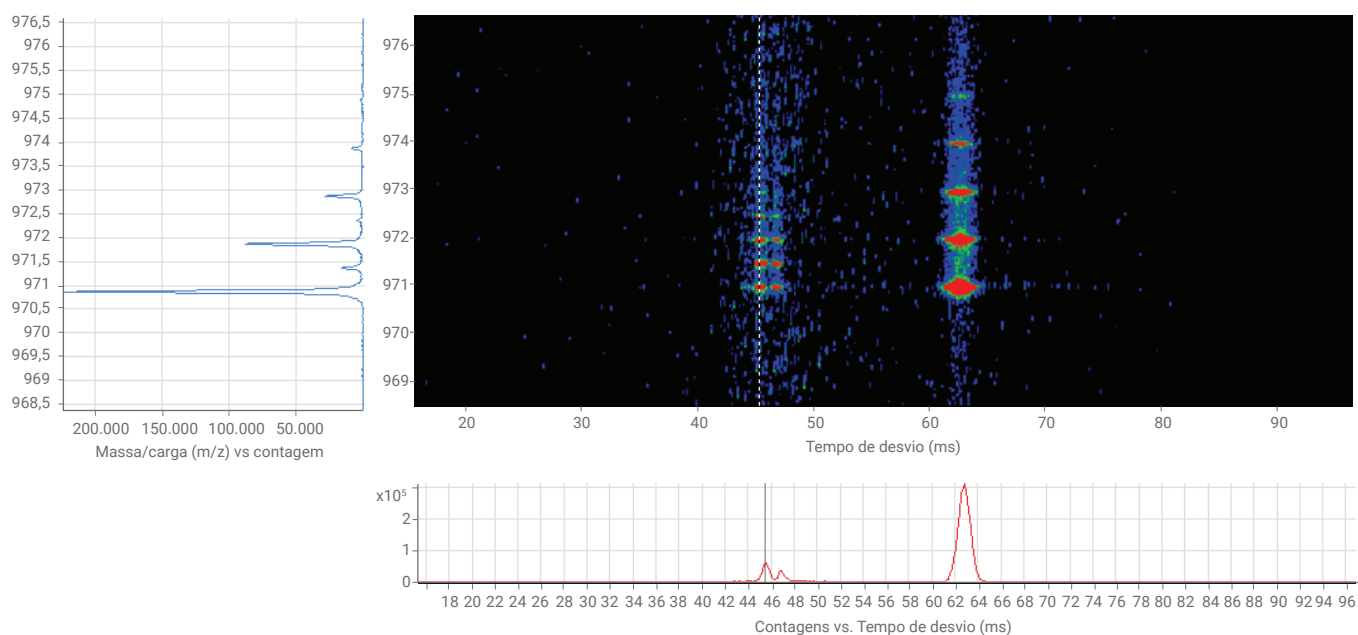
Com outros sistemas comerciais, os resultados devem ser calibrados em comparação com valores previamente estabelecidos para compostos similares encontrados na literatura científica. Isso é uma grande desvantagem se você estiver lidando com moléculas que ainda não têm um valor estabelecido.

"Os resultados obtidos com esta ferramenta podem ser justificados com base nos primeiros princípios", observa o Dr. Yergey. "O dispositivo se comporta exatamente da maneira que você esperaria ao considerar a longa história da química iônica de fase gasosa."



"É uma ferramenta que abre a possibilidade de imaginar diferentes tipos de experimentos. É basicamente uma forma de obter informações da química iônica de fase gasosa de uma forma que não se poderia imaginar antes da existência deste dispositivo."

— **Dr. Alfred Yergey**, Cientista emérito,
National Institutes of Health
Bethesda, Maryland



Dados de mobilidade em nitrogênio de íons em modo positivo e negativo para mesmo composto (ciclodextrina) na forma protonada e desprotonada. Os cálculos de CCS nos modos positivo e negativo mostraram valores de CCS com exatidão de 2%. A) Um desvio de pico bem resolvido no modo positivo. B) Dois picos diferentes (monômero de carga única e dímero com dupla carga) em modo negativo. O pico de menor intensidade contém dois conformêros diferentes, possivelmente indicando que os dímeros existem como dois conformêros.

Buscando o desconhecido: Uma ferramenta de descoberta pan-ômica



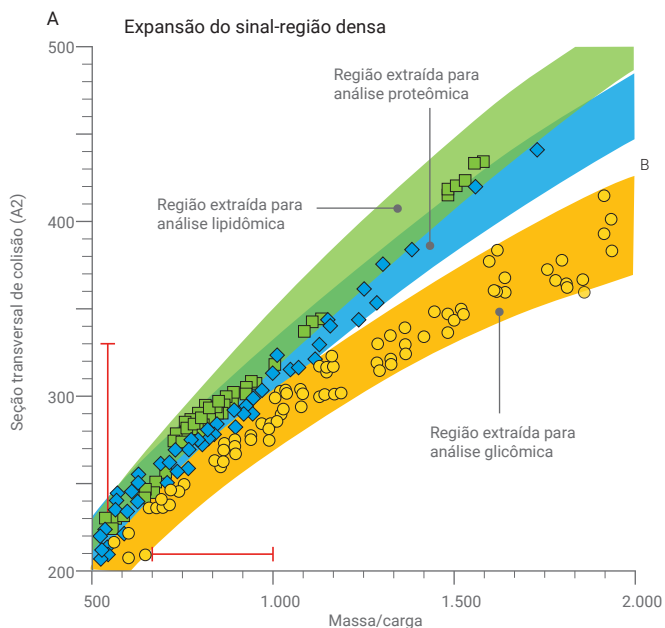
O LC/Q-TOF de mobilidade iônica Agilent 6560 representa um avanço incrível para biólogos que estudam a forma como os genes, as proteínas e os metabólitos interagem como um sistema completo.

Basta perguntar ao Dr. John McLean, da Vanderbilt University, em Nashville, Tennessee. Ele dirige o Laboratório de espectrometria de massas estrutural, que realiza experimentos para biólogos, imunologistas, patologistas e outros cientistas.

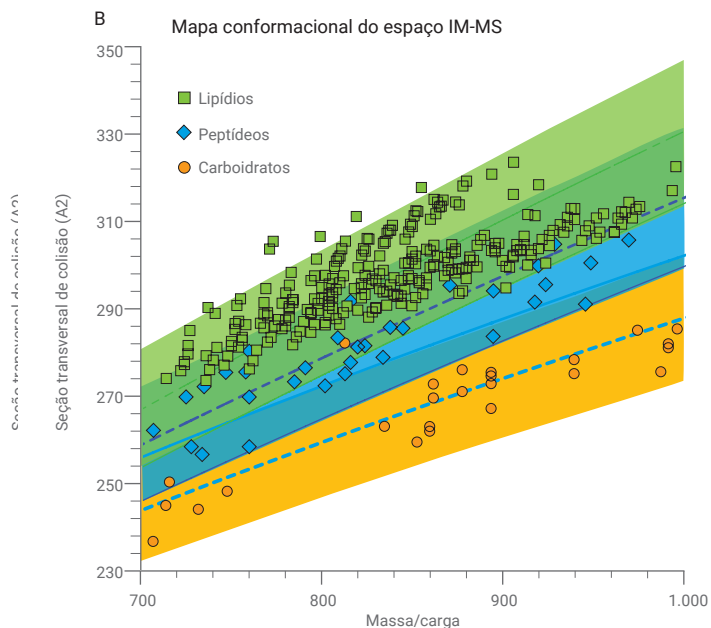
"O verdadeiro problema com a biologia de sistemas é que você precisa fazer milhões de experimentos para poder discernir pequenas coisas, pequenas redes biológicas", diz o Dr. McLean. "Na proteômica, você espera horas para detectar as mudanças nos níveis de expressão da proteína. A metabolômica, por outro lado, fornece uma reflexão rápida das respostas biológicas que podem servir como um indicador eficaz do estado biológico. Se você está tentando entender os estados de uma doença, por exemplo, a capacidade de observar as moléculas que estão sendo expressas juntas nessas condições é crucial."

É aqui que o LC/Q-TOF de mobilidade iônica 6560 realmente se destaca.

Mapeamento pan-ômico de dados empíricos

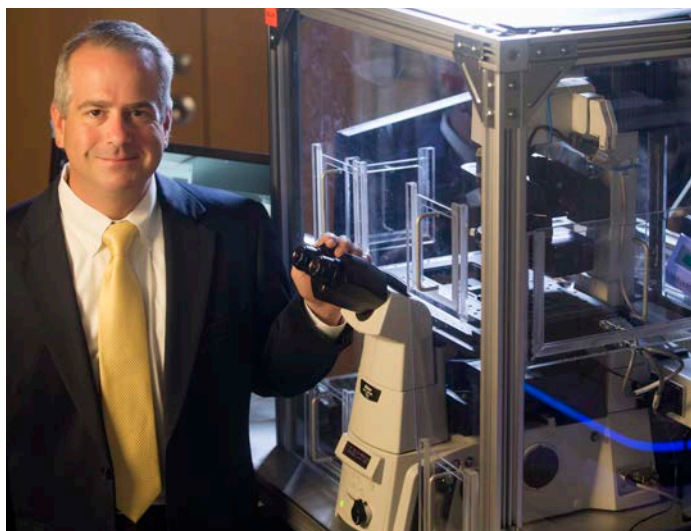


A) Uma amostra contendo lipídios, peptídeos e carboidratos foi infundida diretamente no instrumento e, em seguida, resolvida usando uma análise 2-D do Q-TOF IM por seção transversal de colisão e m/z . Os mapas de espaço conformacional permitem que misturas complexas sejam separadas com base em diferentes classes biomoleculares com pouco processamento inicial da amostra.*



B) Região ampliada com alta densidade de sinal. A distinção dos sinais individuais dos íons apenas pela medição de m/z é um desafio. No entanto, a separação estrutural combinada do Q-TOF IM permite que os dados sejam delineados em regiões específicas de classes químicas.*

* May, J.C., et al. *Anal Chem* 2014 (18 de fevereiro de 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 quebrando o paradigma dos estudos de proteômica ou genômicos – qualquer um dos ômicos individuais – adotando uma abordagem de pesquisa verdadeiramente não direcionada e imparcial do inventário molecular, usando a mobilidade iônica junto da espectrometria de massas."

— **John A. McLean**, Stevenson
Professor of Chemistry
Vanderbilt University, Nashville

O Dr. McLean e a sua equipe na Vanderbilt apreciam profundamente o funcionamento dessas tecnologias em conjunto. Eles vêm construindo seus próprios sistemas há anos, no qual o poder de resolução é uma métrica essencial para a separação de diferentes classes moleculares.

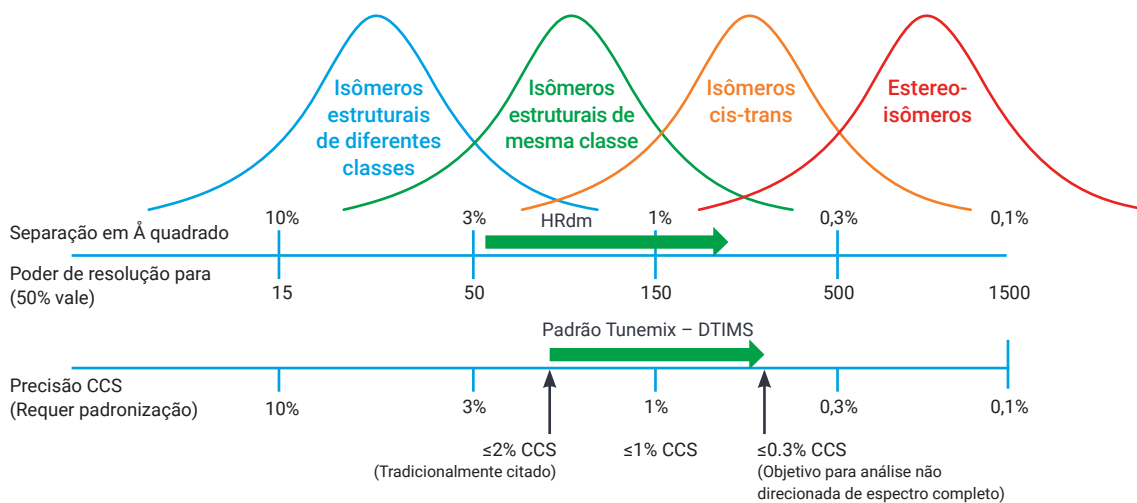
"Em nossa experiência, é necessário um poder de resolução superior a 20 para começar a resolver as classes químicas no espaço de conformação, mas com a plataforma Agilent, em alguns casos, alcançamos 80", diz ele. "Isso nos permite resolver a estrutura fina nas distribuições de classes moleculares e atingir altos níveis de confiança em atribuições dentro de uma classe molecular, como a distinção de subclasses moleculares, como esfingolipídios de glicerofosfolipídios".

Os isômeros estruturais de diferentes classes podem ser separados com poderes de resolução de tubos de mobilidade tradicionais de até 50–60. Para separar os isômeros estruturais de uma mesma classe, são necessários poderes de resolução de IM mais altos de 150–200, que podem ser obtidos com demultiplexação de alta resolução. A separação de isômeros cis/trans e estereoisômeros requer poderes de resolução de IM ainda maiores. A precisão do CCS, que foi demonstrada nos sistemas de mobilidade iônica de tubo de desvio, torna-se ainda mais importante ao resolver isômeros com eluição próxima, já que essas espécies têm frequentemente valores de CCS que variam entre 1 a 3% um do outro. Para espectro completo, um nível de precisão de CCS <0,3% é desejável para fluxos de trabalho não direcionados. A sensibilidade e resolução aprimoradas ajudam a descobrir mais compostos em misturas complexas.

O Dr. McLean observou que outros pesquisadores costumam se surpreender com a natureza pan-ômica dessa tecnologia.

"Isso vai causar um grande impacto na biologia", diz ele.

Analisando a escala CCS



Diferentes tipos de isômeros requerem um aumento do poder de resolução de IM. O mesmo se aplica à identificação, na qual a precisão do CCS é de importância fundamental.





Caracterizando compostos bioterapêuticos

Alcançando o impossível com o desenvolvimento biofarmacêutico rápido e confiável

O processo de descoberta de drogas foi continuamente refinado ao longo dos anos. No entanto, a abordagem básica permanece praticamente inalterada, apesar de muitos avanços tecnológicos. Então, alguns estão perguntando: "Será que chegou a hora de modificar fundamentalmente a forma como abordamos novos desenvolvimentos farmacêuticos?"

Uma equipe da University of Michigan, liderada por Brandon Ruotolo, professor de química, acredita que sim e que a ferramenta certa para este objetivo é o novo LC/Q-TOF de mobilidade iônica Agilent 6560C. O desdobramento induzido por colisão, ou CIU, é uma maneira rápida de avaliar a estabilidade de uma proteína terapêutica ou de um alvo. Normalmente, compostos terapêuticos baseados em proteína devem ser o mais estável possível para manter a eficácia e a segurança. Um grande benefício do CIU é que ele permite o acesso a informações de estabilidade sem a necessidade de gerar grandes quantidades de proteína purificada. Com o CIU, a estabilidade pode ser avaliada em minutos e as ordens de magnitude podem ser concluídas mais rapidamente do que com a tecnologia convencional. A varredura de milhares de candidatos a medicamentos baseados em proteínas pode ser facilmente realizada, fornecendo dados ricos em informações, o que poderia melhorar e agilizar o pipeline farmacêutico.

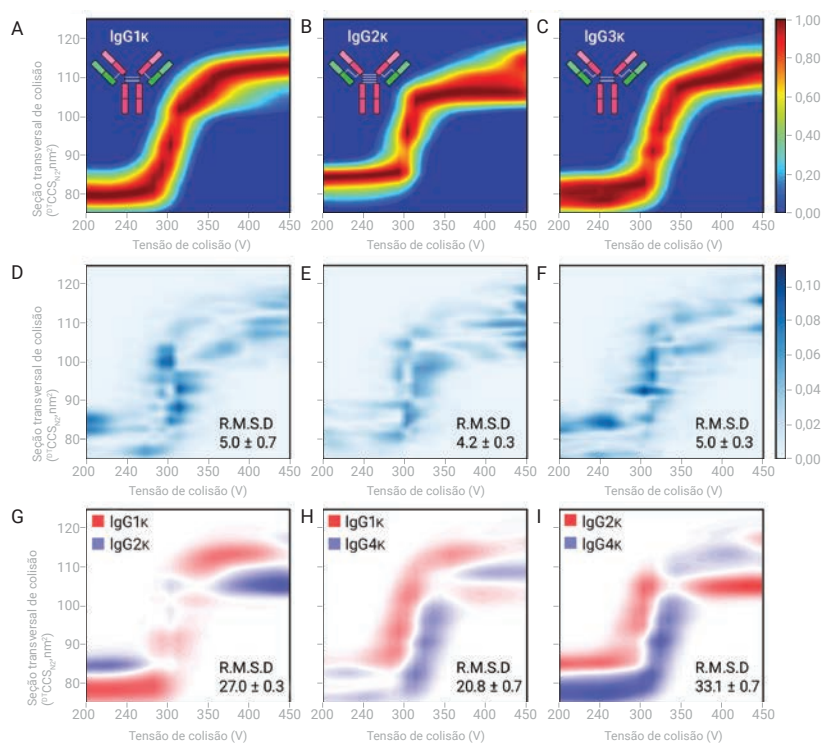
Os experimentos de CIU continuaram e Ruotolo descreveu os primeiros dados como um "reconhecimento por impressão digital" estrutural da proteína. Ele disse: "No início, a maioria dos dados não podia ser vinculada a características estruturais específicas. Sabíamos apenas que a proteína aumentava de tamanho devido a mudanças de temperatura interna ao longo do experimento". Ele continuou: "No entanto, agora podemos identificar algumas informações estruturais".

O 6560C provou ser uma plataforma poderosa para examinar diferentes proteínas e complexos de proteínas em uma ampla variedade de massas e estados estruturais. O ensaio de CIU é muito sensível, permitindo diferenciar biossimilares e proteínas com base na ligação dissulfeto, desdobramento e mudanças na ligação covalente. Ele pode diferenciar onde as pontes dissulfeto estão localizadas dentro de diferentes subclasses de IgG com altos níveis de confiança. Isso é útil para o desenvolvimento farmacêutico, pois as IgGs são usadas como suporte para construir proteínas bioterapêuticas.



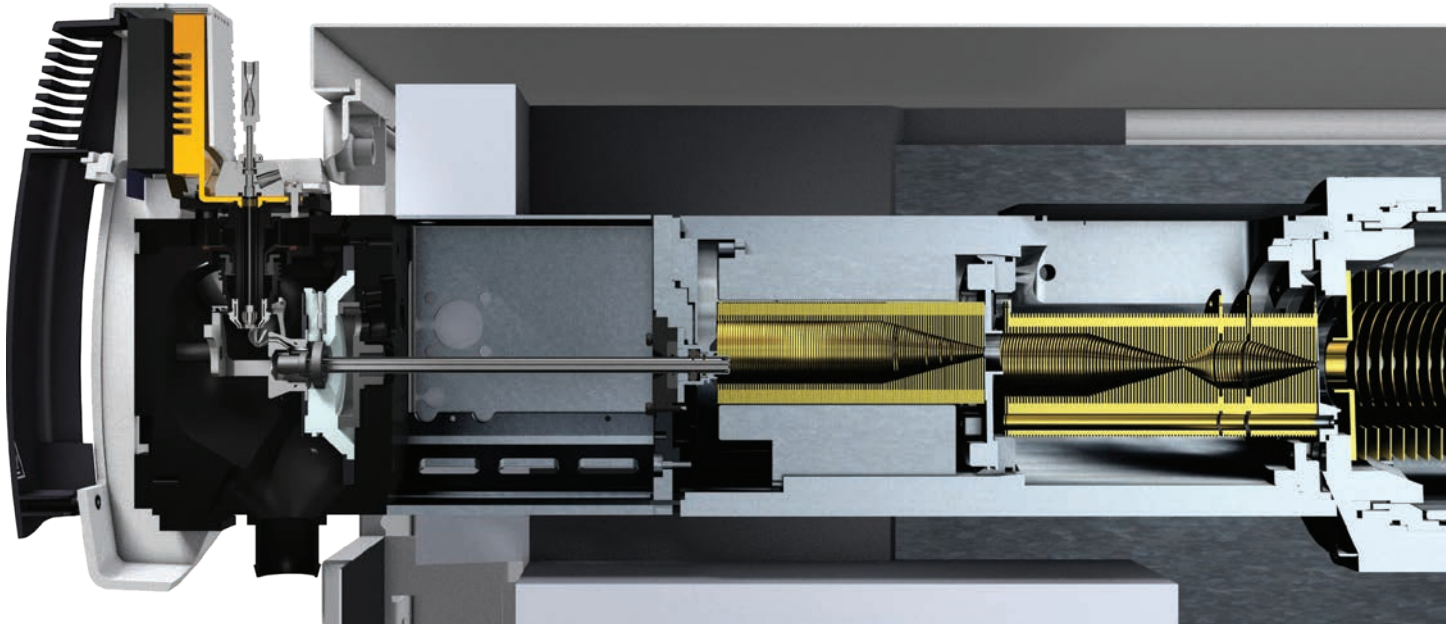
"Registramos padrões em mudanças estruturais em função da energia aplicada. Depois, comparamos com outra amostra que passou por estresse celular ou foi vinculada a um ligante para vermos como os dados mudam entre os dois. A análise de dados de CIU geralmente envolve muitas referências entre as amostras. Os dados para proteínas padrão devem ser altamente reproduzíveis para tirar conclusões de compostos desconhecidos com confiança, e o 6560C se destacou nesse quesito."

— **Brandon Ruotolo**, Professor de química
University of Michigan



J RMSD da impressão digital CIU (%)			
	IgG1k	IgG2k	IgG4k
IgG1k	5,0 ± 0,7	27,0 ± 0,3	20,8 ± 0,7
IgG2k		4,2 ± 0,3	33,1 ± 0,5
IgG4k			5,0 ± 0,3

Resultados dos experimentos de CIU. Figuras A–C: Curva CIU para IgG1 kappa, IgG2 kappa e IgG3 kappa. Figuras D–F: Valor médio da raiz quadrada do desvio médio (RMSD) para a curva CIU para várias corridas em replicata de IgG1–3 kappa. Figuras G–I: Comparação do valor médio de RMSD da curva CIU para IgG1 kappa versus IgG2–4 kappa, com a imagem mostrando os gráficos de comparação para os kappas somados.



Construído em tecnologia de ponta

Por que tanta empolgação com uma técnica de separação que já existe há mais de 100 anos? Porque só agora seu verdadeiro potencial pode ser concretizado graças a uma série de inovações recentes.

O surgimento da moderna tecnologia de funil de íons em conjunto com o tubo de desvio de campo uniforme foi introduzido pelo Dr. Richard Smith, do laboratório Nacional Pacific Northwest (PNNL). Isso permitiu alcançar ganhos de sensibilidade de mais de 50 vezes para mobilidade iônica com espectrometria de massas de alta resolução.

Agora, o LC/Q-TOF de mobilidade iônica 6560 leva essa tecnologia mais longe do que nunca com um design exclusivo de funil de íons. O conjunto de funil duplo inclui um funil frontal para enriquecimento da amostra, um funil de captura de íon, um tubo de mobilidade e um funil de foco. Todos são projetados para melhorar a transmissão de íons da fonte para o analisador de massas de alta resolução Q-TOF.

Designs de mobilidade iônica de campo uniforme existem há anos. No entanto, eles sofriam altas perdas de íons (>99,9%) sem o uso de funis eletrodinâmicos.

O design do funil de mobilidade Agilent preserva os íons ao longo de cada segmento da trajetória óptica. Como? Através do foco cuidadoso de íons em cada segmento do funil de íons eletrodinâmicos. Esse projeto resulta na perda de apenas duas vezes o sinal de íons, em comparação com instrumentos LC/MS Q-TOF autônomos de alta resolução.

Além disso, o design de funil duplo da tecnologia iFunnel oferece robustez incomparável, combinando a orientação eletrospray ortogonal verdadeira com a ionização da Agilent JetStream. Esse projeto minimiza a transmissão de espécies não carregadas e agrupamento de íons, reduzindo o ruído de background.



"A tecnologia de funil de íons pode ser o desenvolvimento de MS mais significativo desde a introdução da API. Ela trouxe um avanço fundamental no limite de detecção e sensibilidade, resultando em um desempenho que excede em muito as capacidades dos espectrômetros de massas convencionais."

– Dr. Richard Smith, Inventor do funil de íons

Aproveite todas as três dimensões de separação com apenas um sistema

O LC/Q-TOF de mobilidade iônica 6560 combina o poder do HPLC série 1200 Infinity, a mobilidade iônica e um sistema LC/MS Q-TOF de alta resolução e massa exata. Assim, você pode facilmente expandir suas capacidades de pesquisa científica.

VacShield

- Permite a remoção do capilar sem quebra de vácuo.

CIU

- Desdobramento induzido por colisão para caracterização estrutural.

Multiplexação

- Maior faixa dinâmica e sensibilidade, aumentando drasticamente a resolução da IM com algoritmos de pós-processamento.

Resolva isômeros estruturais

- Analise sem esforço a estrutura molecular e a conformação de peptídeos e proteínas usando separação de mobilidade iônica de alta resolução.
- Determine diretamente o tamanho molecular (a partir de seções transversais de colisão) sem padrões de referência ou tabelas de calibração.

Aumente a capacidade de pico

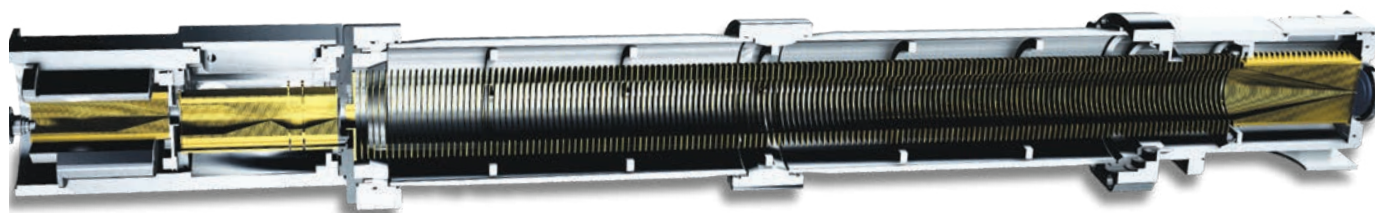
- Resolva componentes individuais em misturas complexas com o poder combinado do UHPLC, mobilidade iônica e espectrometria de massas.
- Obtenha separação de mobilidade iônica ideal com tecnologia de captura de grade dupla.
- Multiplexação para aumentar a sensibilidade, faixa dinâmica e resolução por meio de demultiplexação de alta resolução.

Identifique e confirme componentes de baixa concentração

- Detecte rapidamente analitos em níveis abaixo de fentograma em matrizes complexas usando a tecnologia de funil eletrodinâmico.
- Confirme compostos com confiança usando o All Ions MS/MS.

Preserve as conformações de proteínas

- Estude facilmente estruturas de peptídeos e proteínas em fase gasosa.
- Mantenha as conformações moleculares minimizando os efeitos de aquecimento dos íons.





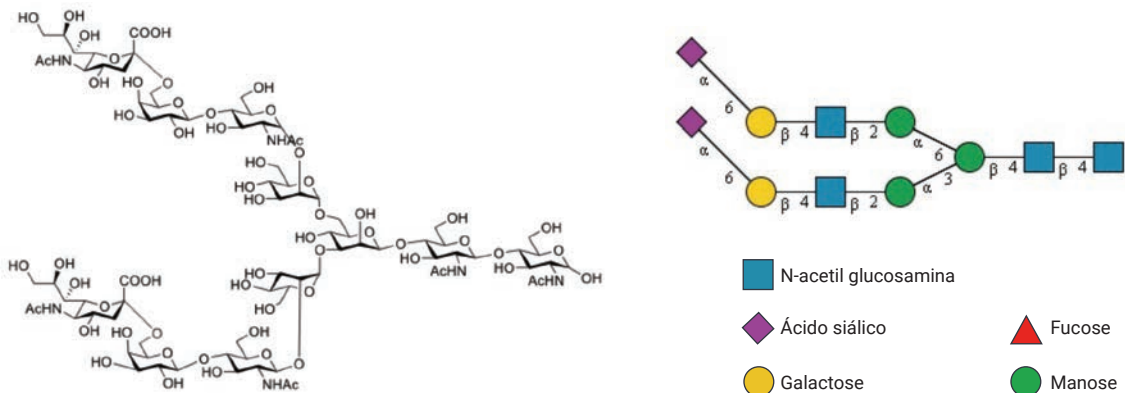
Atinja novos níveis de capacidade de pico

Ao combinar as técnicas de separação ortogonal de cromatografia líquida, medição de massas e mobilidade iônica, a capacidade de pico geral é substancialmente aumentada. Assim, você pode caracterizar diversas moléculas de forma mais eficaz.

Para análise aprofundada de amostras complexas, a separação completa de vários compostos pode não ser possível apenas com a cromatografia líquida. Mesmo a análise de massas de alta resolução subsequente pode ser insuficiente para separar e identificar compostos isobáricos. O LC/Q-TOF de mobilidade iônica 6560 agrega separação de mobilidade iônica em fase gasosa, aumentando drasticamente a capacidade de pico da sua análise. Isso significa que você pode resolver e detectar um número maior de compostos e componentes.

Determinação exata da estrutura de glicanos complexos

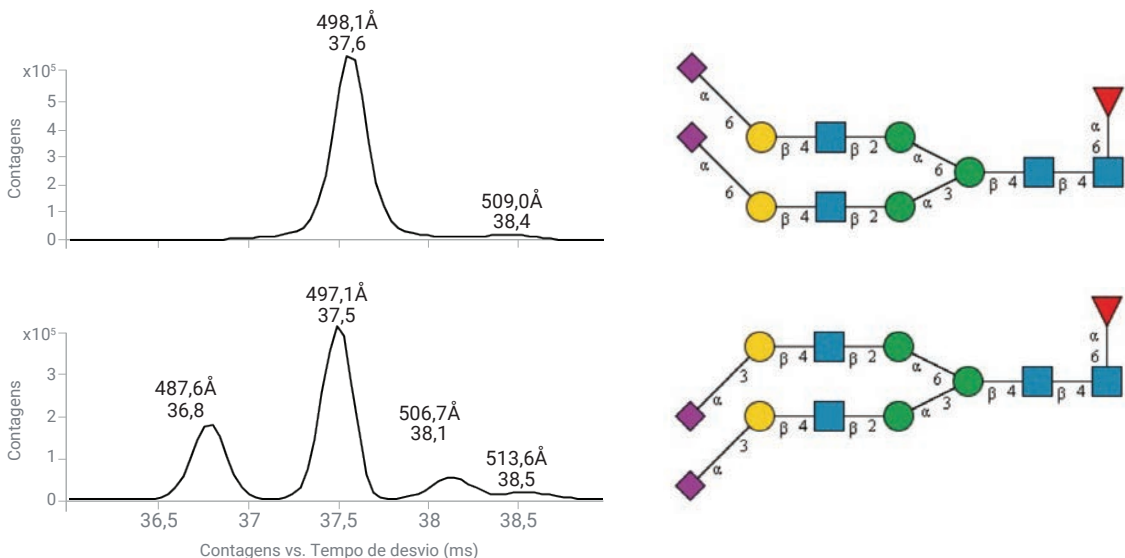
A análise de MS de glicanos está ganhando interesse considerável. Essas biomoléculas têm sido implicadas em processos biológicos e de doenças, podem servir como biomarcadores, são componentes essenciais de produtos biológicos e afetam a nutrição infantil. Devido à sua complexidade estrutural, identificar as estruturas exatas de glicanos por TOF-MS é um desafio. A combinação do TOF-MS e DTIMS com multiplexação e demultiplexação de alta resolução oferece uma alternativa mais rápida e fácil.



Os blocos de construção de monossacarídeos de *N*-glicanos podem ser ligados em diferentes seqüências e ligações (esquerda), produzindo um grande número de estruturas possíveis de glicano, incluindo muitos isômeros. A representação da estrutura molecular é comumente simplificada pelo uso de símbolos para os blocos de construção e notas de ligações (à direita).¹

Reconhecimento por impressão digital de distribuição do confômero de glicano de alta resolução

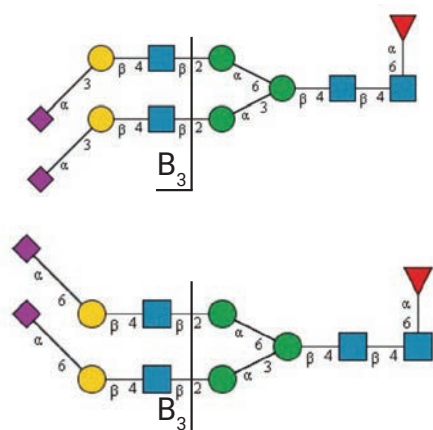
A flexibilidade entre os blocos de construção de carboidratos permite que os glicanos adotem várias conformações estáveis em fase gasosa, as quais podem ser resolvidas com DTIMS. Essas distribuições altamente repetíveis dos confômeros mostram impressões digitais (características únicas) para cada glicano.² Um banco de dados com essas impressões digitais, juntamente com medições precisas de massas e valores de CCS, pode ser usado para identificar as estruturas de glicano sem realizar experimentos de MS multietapa.



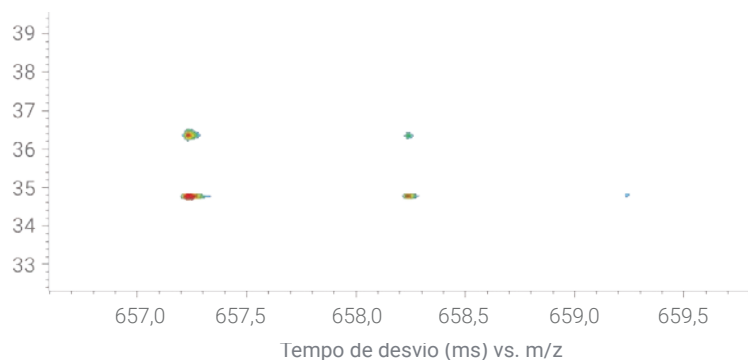
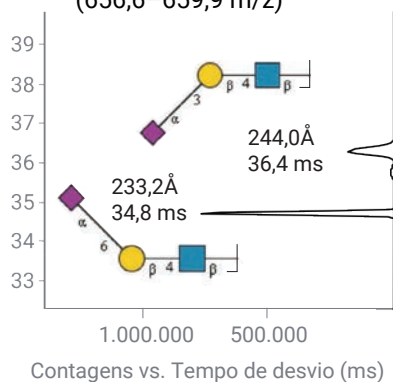
Diferenciação de *N*-glicanos isoméricos através da impressão digital e valores de CCS de distribuição de HR dos confômeros. Os *N*-glicanos foram derivatizados com ácido 2-aminobenzóico na extremidade redutora e medidos no modo de íon negativo como íons $[M-H]^-$.

Ativação na fonte e HR-DTIMS

DTIMS de fragmentos de glicano, que são formados após ativação na fonte, oferece a possibilidade de obter informações estruturais detalhadas, como posições exatas de fucosil³ ou tipo de ligação do ácido siálico. Medindo os valores de CCS de íons fragmentos e comparando-os com dados de referência, os íons fragmentos isoméricos podem ser identificados sem a necessidade de experimentos de MS³.



Espectro de desvio de HR:
(656,6–659,9 m/z)



Separação de íons fragmentos B₃ (em 34,8 e 36,4 ms no espectro de desvio de HR) obtida após ativação na fonte da mistura de dois N-glicanos isoméricos, diferindo apenas na ligação do ácido siálico (α2,3 ou α2,6, ver estruturas na figura). Os N-glicanos foram derivatizados com 4-amino-N-2-(dietilamino)etil-benzamida na extremidade redutora, ativados na fonte e medidos no modo de íon positivo. Os dois íons fragmentos B₃ têm valores de *m/z* idênticos ([M+H]⁺ em *m/z* 657,24), mas eles podem ser separados no tubo de mobilidade pela diferença na mobilidade, permitindo a diferenciação na ligação de ácido siálico por valores CCS.

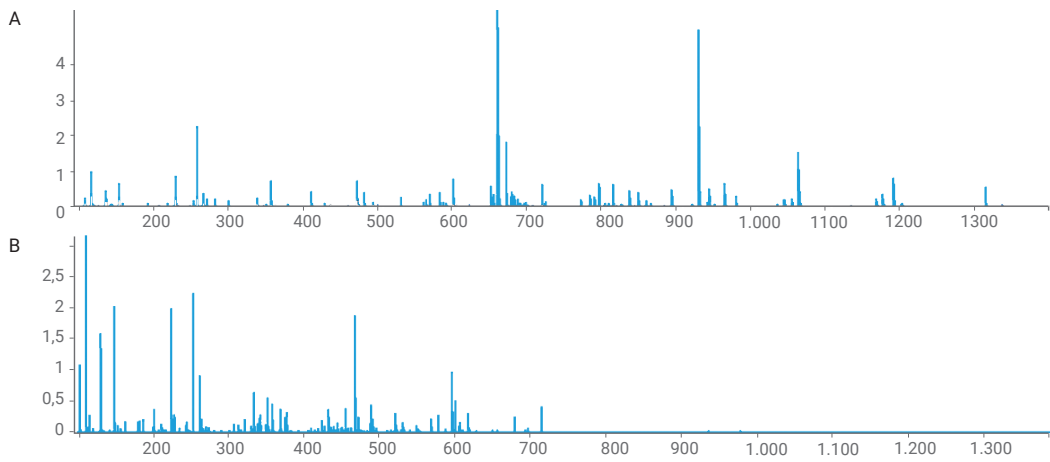
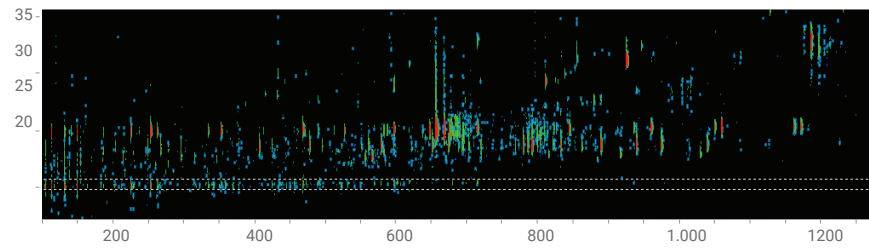
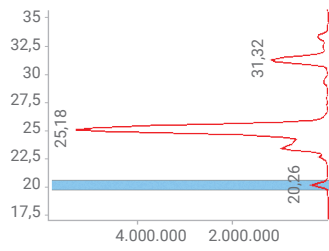
1. Damerell, D. et al. The GlycanBuilder and GlycoWorkbench Glycoinformatics Tools: Updates and New Developments. *Biol. Chem.* **2012**, 393 (11), 1357-62.
2. Sastre Torano, J. et al. Identification of Isomeric N-Glycans by Conformer Distribution Fingerprinting Using Ion Mobility Mass Spectrometry. *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.



Tecnologia All Ions: Detecte rapidamente componentes em baixa concentração

A fragmentação All Ions está disponível em todos os instrumentos LC/Q-TOF de alta resolução Agilent. Combinada com os Bancos de dados e bibliotecas de compostos personalizados (PCDL) da Agilent, essa técnica oferece uma capacidade inigualável de rastrear compostos em misturas complexas com confiança.

Experimentos tradicionais de MS/MS dependentes de dados muitas vezes perdem picos de baixa abundância, mas com experimentos de fragmentação All Ions, todos os íons da fonte são direcionados para a cela de colisão para fragmentação. O software de análise de dados usa os espectros MS/MS disponíveis no PCDL para extrair com confiança os compostos presentes na amostra. A fragmentação Agilent All Ions é ainda mais poderosa quando combinada com a mobilidade iônica. Isso ocorre porque o tempo de deslocamento do íon fornece uma dimensão extra de separação, reduzindo ainda mais a complexidade da amostra e aprimorando a detecção de componentes em baixa concentração. Os benefícios: menos ambiguidade na identificação de compostos e limites de detecção aprimorados para compostos em nível de traços.



A fragmentação Agilent All Ions foi usada para identificar peptídeos de baixo nível no processo de digestão de proteína. O pico marcado com uma estrela na separação de LC continha de seis a sete componentes peptídicos, mostrados separadamente no mapa de intensidade do tempo de desvio (ampliação). Esses componentes não puderam ser detectados e identificados usando apenas LC e MS.

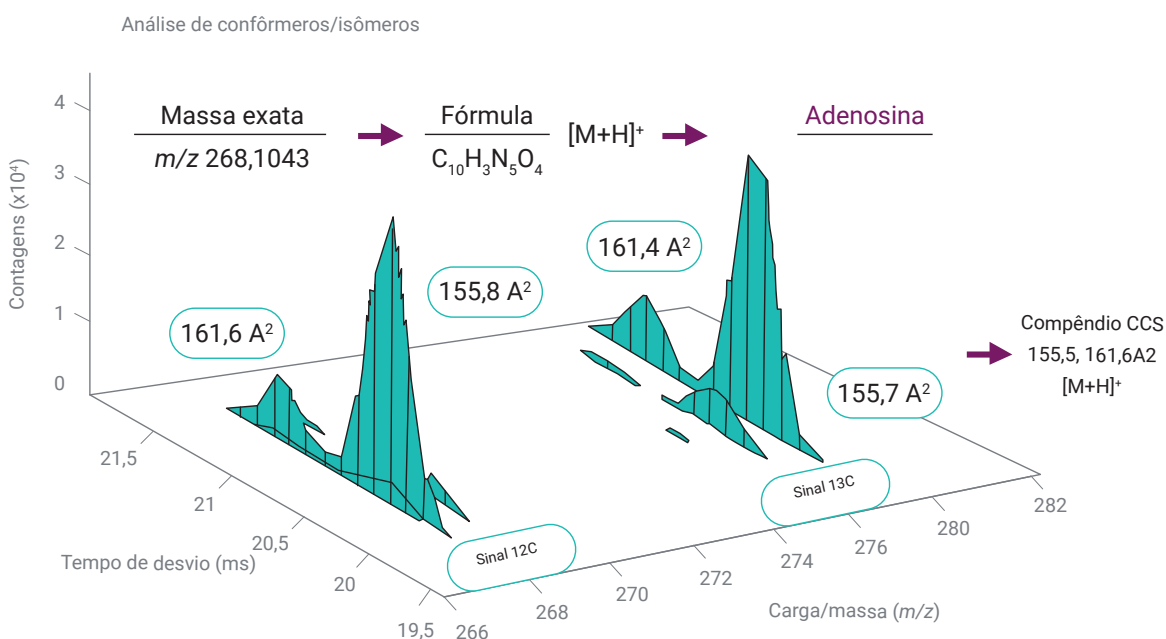
A: Soma do espectro de íons fragmentos a 30 V no pico marcado com uma estrela. B: Espectro de íons fragmentos separados por desvio do peptídeo HLVDEPQNLIK de carga tripla em 20,26 ms.

Metabolômica não direcionada: Anotação molecular aprimorada com valores CCS

Um dos maiores desafios analíticos na pesquisa metabolômica não direcionada é como os cientistas podem aumentar a confiança na anotação molecular de compostos desconhecidos. Os métodos atuais utilizam descritores moleculares, incluindo massa exata, padrão isotópico e espectros MS/MS, para atribuir provisoriamente uma identidade molecular com um determinado nível de assertividade analítica. A utilização de valores de espectrometria de mobilidade iônica (IMS) e seção transversal de colisão (CCS) documentados na literatura fornece uma forma adicional de anotação molecular que facilita a caracterização estrutural de compostos desconhecidos.

Os valores de CCS gerados pelo tubo de desvio de campo uniforme da plataforma Agilent 6560 permitem que os pesquisadores traduzam esses descritores moleculares entre laboratórios com alto grau de exatidão. Aqui, fomos capazes de caracterizar um metabólito desconhecido como adenosina com base apenas nos valores de massa exata e CCS calculados em um experimento de criação de perfil não direcionado. Os dois confômeros provavelmente podem ser atribuídos a locais variados de protonação na nucleobase purina. Os valores de CCS calculados no laboratório de Erin Baker na North Carolina State University mostraram coerência (menos de 0,2% de diferença) com os valores de referência publicados pelo John McLean Lab na Vanderbilt University.

Além disso, quaisquer metabólitos indicados com isótopos pesados (valores em bordas rosa) apresentam CCS e distribuições de confômero quase idênticas em comparação com metabólitos endógenos (valores em bordas amarelas), o que fornece certeza adicional na atribuição molecular.



Separe as moléculas por tamanho e forma

Os valores de seção transversal de colisão (CCS), sendo uma medida do tamanho e forma do composto, são úteis para caracterizar polímeros, proteínas, peptídeos, lipídios, produtos biofarmacêuticos e muito mais. Para esses estudos, os valores de CCS geralmente auxiliam na distinção entre várias formas de isômeros ou moléculas e complexos estruturalmente semelhantes.

Os valores de CCS são derivados de medições de mobilidade iônica e podem ser calculados diretamente no tubo de desvio de campo uniforme, graças ao design exclusivo usado pela Agilent.

Com o LC/Q-TOF de mobilidade iônica Agilent 6560, é possível obter medições de CCS de rotina com precisão de <2%. O tubo de desvio de campo uniforme fornece excelente controle dos parâmetros experimentais (pressão, temperatura e campo elétrico), que o sistema deve manter durante os experimentos de mobilidade.



Criando o padrão de referência CCS

O padrão de referência CCS usando a mistura de tune Agilent

Tipo de mistura	CCS	% DPR	Mistura de tune	CCS	%DPR
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%

A criação do padrão de referência CCS baseado na mistura de tune Agilent foi realizada através de um estudo entre laboratórios, usando um sistema de referência e três outros sistemas em laboratórios adicionais. Quatro modos de tune em três dias diferentes, tanto no modo positivo quanto no negativo, foram usados para adquirir dados em todos os laboratórios. O DPR correspondente para os valores de CCS obtidos sob condições de repetibilidade de medição no sistema de referência foi inferior a 0,22% para todos os íons na mistura de tune. Essa avaliação completa foi realizada com o objetivo de usar os valores de referência de CCS como calibradores para medições universais de campo único e são apresentados como valores de referência para apoiar a ampla padronização de CCS.

Visualize dados de mobilidade iônica: O software MassHunter permite uma visualização clara



O software Agilent MassHunter, o navegador IM-MS e o Mass Profiler, permitem que você colete dados de mobilidade e domínio de massa e determine de forma fácil os valores de seção transversal de colisão com exatidão.

Veja onde o software MassHunter realmente se destaca:

- **Gráficos de qualidade.** Visualização clara e apresentação dos seus dados.
- **Navegação intuitiva, interativa e vinculada.** Interpretação simples dos detalhes mais relevantes.
- **Visualização simultânea de todas as três dimensões de separação.** Exibições desobstruídas de seus dados em contexto, para que você possa entender o espaço multidimensional.
- **Filtros de dados fácil de usar em qualquer ou toda dimensão.** Menor complexidade para visualização interativa e processamento automatizado.
- **Exibição dinâmica de dados.** Comparação de dados de qualquer lugar no arquivo de dados ou entre arquivos de dados.
- **Cálculo simples e direto de valores de seção transversal de colisão.** Não há necessidade de calibração específica da classe de compostos.

Promessa de valor de 10 anos

A promessa de valor da Agilent reflete a máxima confiança em nossos incomparáveis padrões da indústria para design e fabricação de sistemas de qualidade. A partir da data de compra dos instrumentos de cromatografia, espectrometria e espectroscopia da Agilent, garantimos pelo menos 10 anos de uso ou crédito de valor residual para uma atualização de equipamento. Já que confiamos em nossos sistemas, nossa promessa de valor maximiza o retorno do seu investimento, garantindo que a sua compra seja segura.

Saiba mais:

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

Compre online:

www.agilent.com/chem/store

Encontre um centro de atendimento ao cliente da Agilent em seu país:

www.agilent.com/chem/contactus

Brasil

0800 7281405

chem_vendas@agilent.com

Europa

info_agilent@agilent.com

Ásia e Pacífico

inquiry_lsca@agilent.com

Somente para uso em pesquisas. Não deve ser usado em procedimentos de diagnóstico.

RA44952.3760648148

Essas informações estão sujeitas a alterações sem aviso prévio.

© Agilent Technologies, Inc. 2023
Publicado nos EUA, quarta-feira, 29 de março de 2023
5991-3640PTBR

