Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

Ionmobilitás szerinti elválasztás és izomer vegyületek szerkezet azonosítása SYNAPT G2 HDMS készülékkel

... Ionmobilitás & Nagyfelbontású MS kombinációja

Gali Attila
Waters Kft.

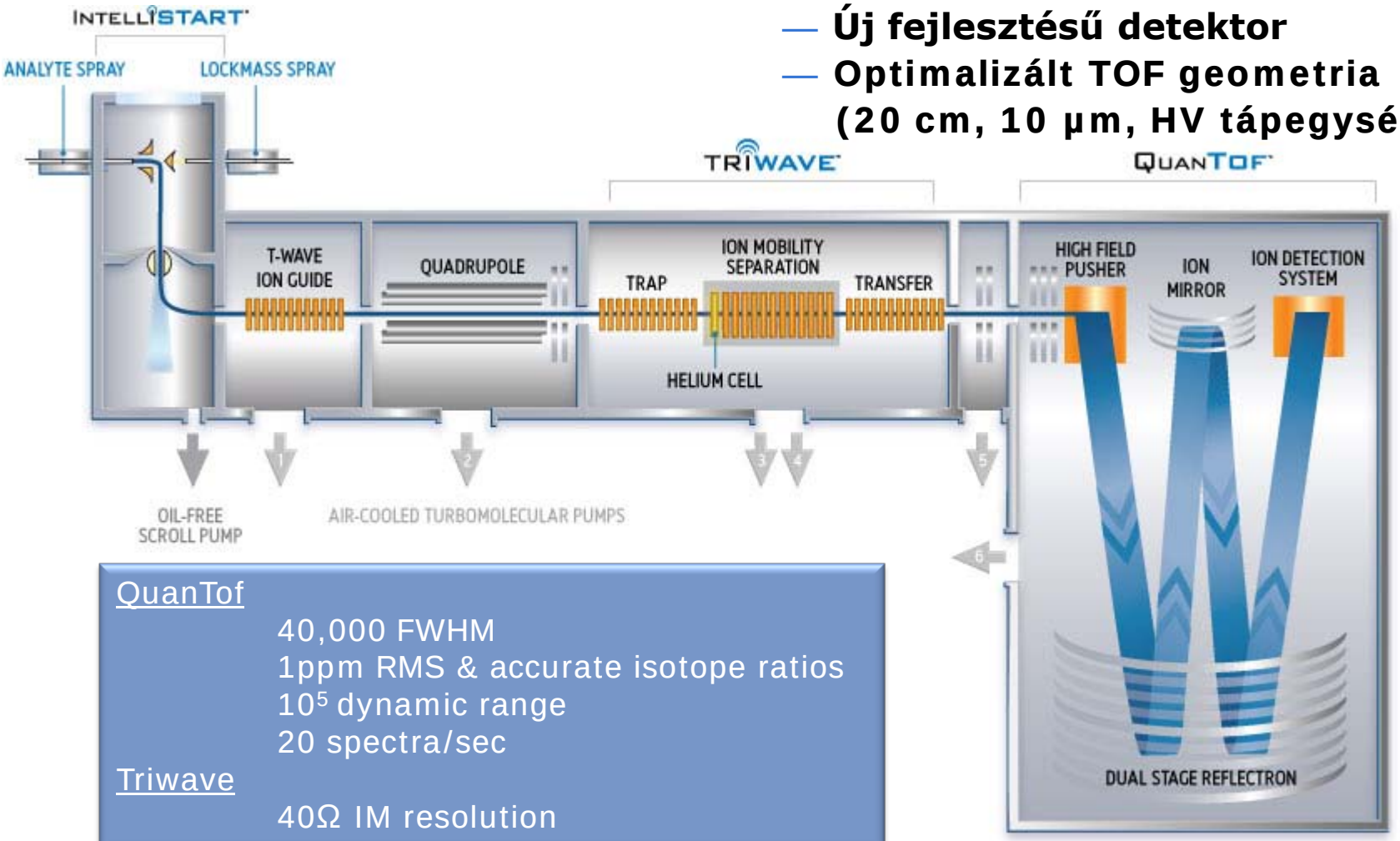
Előadás programja

1. SYNAPT HDMS készülék bemutatása
2. Applikációk
3. Izomerek elválasztása

SYNAPT® G2
...Minden tulajdonság kompromisszumok nélkül

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

- **Innovációk:**
  - **Nagy energiájú pusher**
  - **Kétfokozatú reflektron**
  - **Új fejlesztésű detektor**
  - **Optimalizált TOF geometria (20 cm, 10 µm, HV tápegység)**



QuanTof

40,000 FWHM
1ppm RMS & accurate isotope ratios
10^5 dynamic range
20 spectra/sec

Triwave

40Ω IM resolution

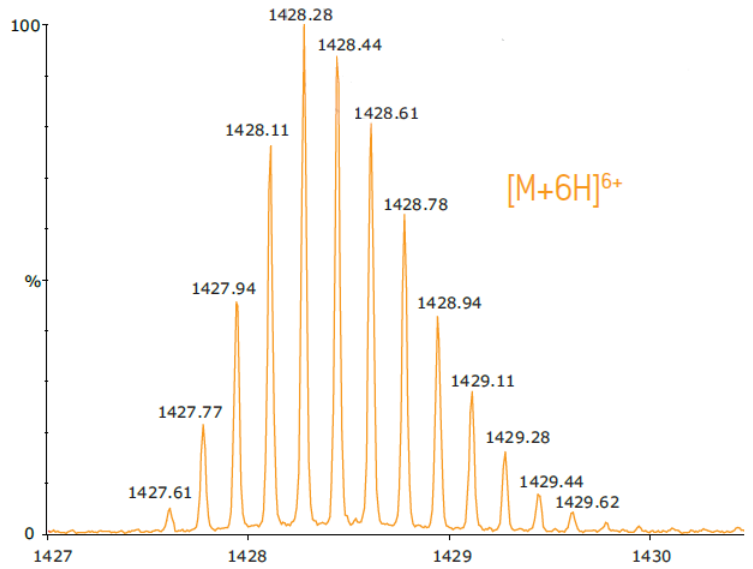
SYNAPT G2

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

QuanTof's nagy energiájú pusher az ionok indulási kinetikus energia eloszlása miatti szórását csökkenti .

QuanTof's két fokozatú reflektron, nagy áteresztőképességű paralel reflektronok a nagy energiájú ionok fókuszálása.

Ezek a fejlesztések és az optimalizált TOF geometria teszi lehetővé az elért hatékonyságot.

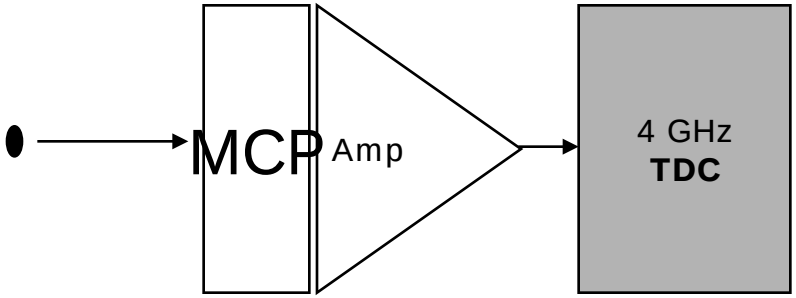


Resolution shown
> 50,000 FWHM

Waters Hybrid ADC ion detektáló rendszer

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

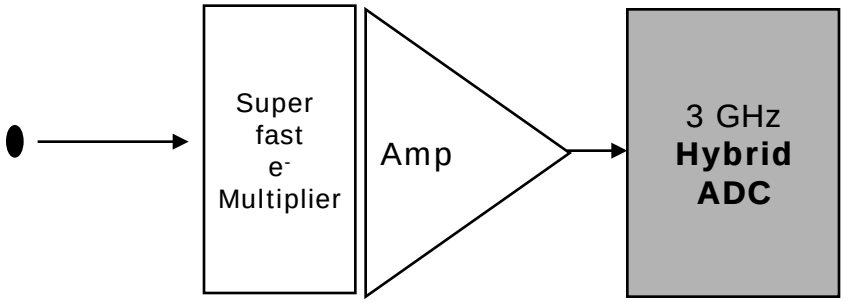
SYNAPT G1



Detektor Erősítő Digitalizálás

TDC: - gyors, olcsó, nincs elektronikus zaj
- holt idő korrekció, kis dinamikus tartomány

SYNAPT G2



Detektor Erősítő Digitalizálás

ADC: - nagy dinamikus tartomány, nincs holtidő
-elektronikus zaj, felbontás romlás

©2009 Waters Corporation

Waters Hybrid ADC ion detektáló rendszer

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

- Waters Hybrid ADC:
  - Kombinálja az ADC és a TDC előnyeit
  - Biztosítja a sebességet és a felbontást a HDMS detektáláshoz

— Gyors adatgyűjtés

— Nagy hatékonyság kis intenzitásnál is (nagy felbontás & alacsony zaj)

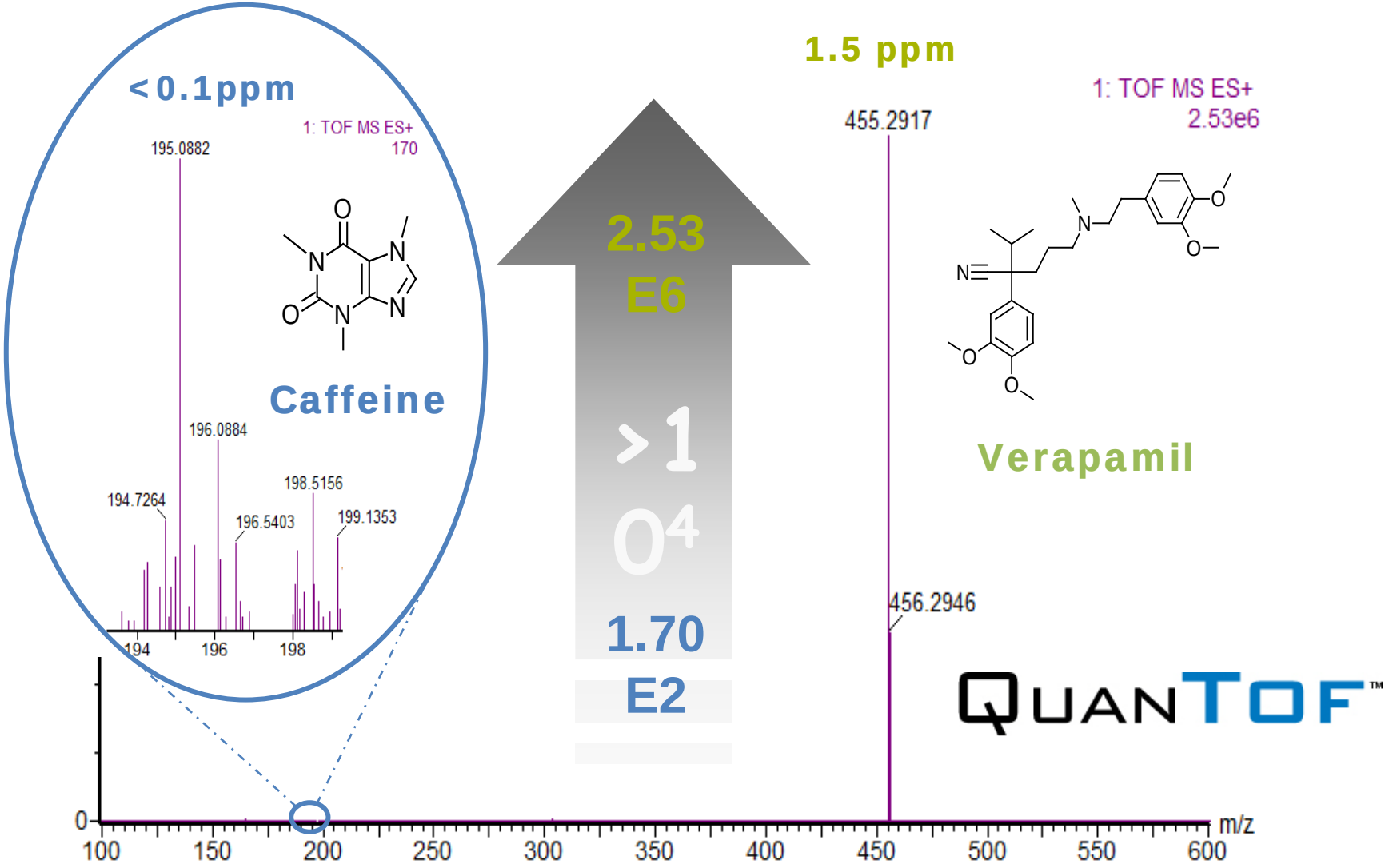
— Nagy hatékonyság nagy intenzitásnál is (mennyiségi értékelés és pontos tömeg)

TDC	Averaging ADC	WATERS HYBRID ADC
✓	✗	✓
✓	✗	✓
✗	✓	✓

©2009 Waters Corporation

Spektrumon belüli dinamikus tartomány (ESI)

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



QUANTOF™

©2009 Waters Corporation

Elemi összetétel meghatározás

...Tömeg pontosság & Izotópcsúcs azonosság

	without isotope abundance information					2% isotopic abundance accuracy	5% isotopic abundance accuracy
molecular mass [Da]	10 ppm	5 ppm	3 ppm	1 ppm	0.1 ppm	3 ppm	5 ppm
150	2	1	1	1	1	1	1
200	3	2	2	1	1	1	1
300	24	11	7	2	1	1	6
400	78	37	23	7	1	2	13
500	266	115	64	21	2	3	33
600	505	257	155	50	5	4	36
700	1046	538	321	108	10	10	97
800	1964	973	599	200	20	13	111
900	3447	1712	1045	345	32	18	196

***BMC Bioinformatics* 2006, 7:234 doi:10.1186/1471-2105-7-234**

©2009 Waters Corporation

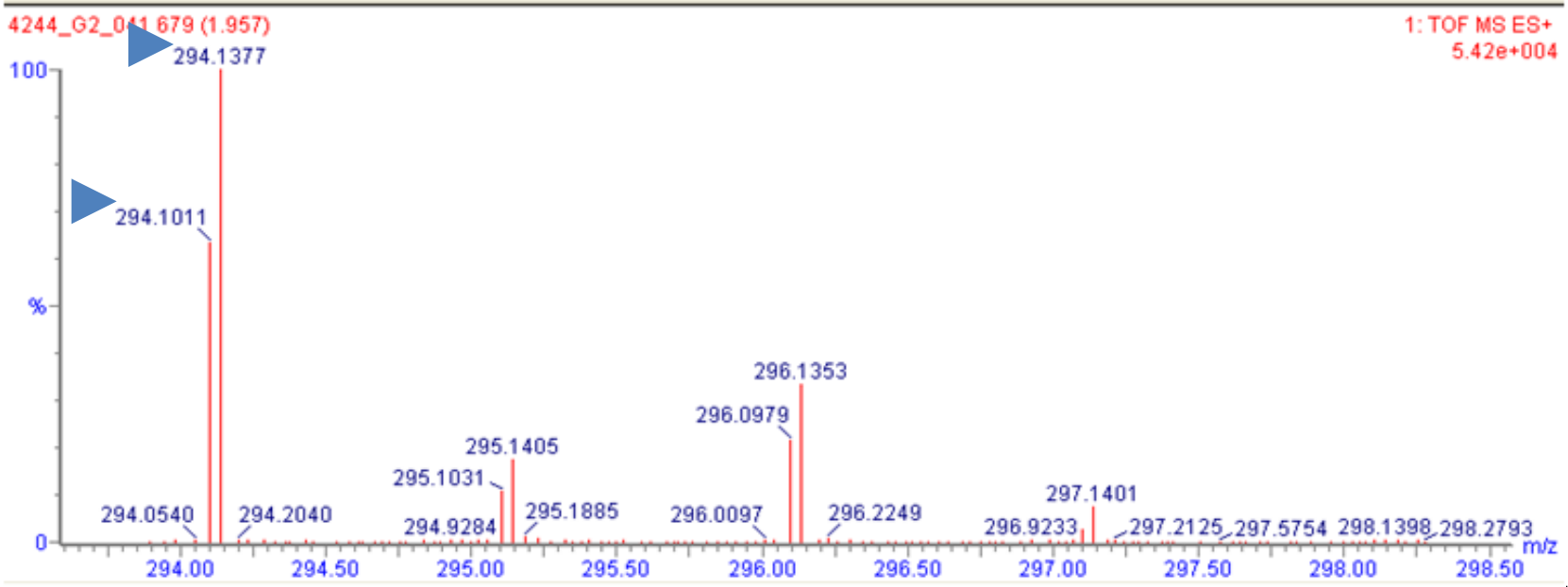
Tömeg pontosság & Izotópcsúcs azonosság

...2 együtt eluálódó izobár peszticid

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

Multiple Mass Analysis: 2 mass(es) processed
Tolerance = 3.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0
Element prediction: Off
Number of isotope peaks used for i-FIT = 3
Monoisotopic Mass, Even Electron Ions
2244 formula(e) evaluated with 5 results within limits (all results (up to 1000) for each mass)
Elements Used:
C: 0-20 H: 0-30 N: 0-10 O: 0-10 Cl: 0-8

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	N	O	Cl
294.1011	63.50	294.1009	0.2	0.7	7.5	C14 H17 N3 O2 Cl	566.1	0.000	100.00	14	17	3	2	1
		294.1019	-0.8	-2.7	-1.5	C8 H23 N5 Cl3	583.3	17.215	0.00	8	23	5		3
		294.1010	0.1	0.3	-0.5	C3 H16 N7 O9	591.2	25.106	0.00	3	16	7	9	
294.1377	100.00	294.1373	0.4	1.4	6.5	C15 H21 N3 O Cl	550.9	0.000	100.00	15	21	3	1	1
		294.1373	0.4	1.4	-1.5	C4 H20 N7 O8	575.7	24.802	0.00	4	20	7	8	



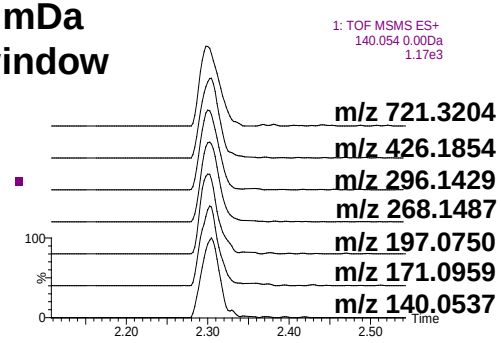
©2009 Waters Corporation

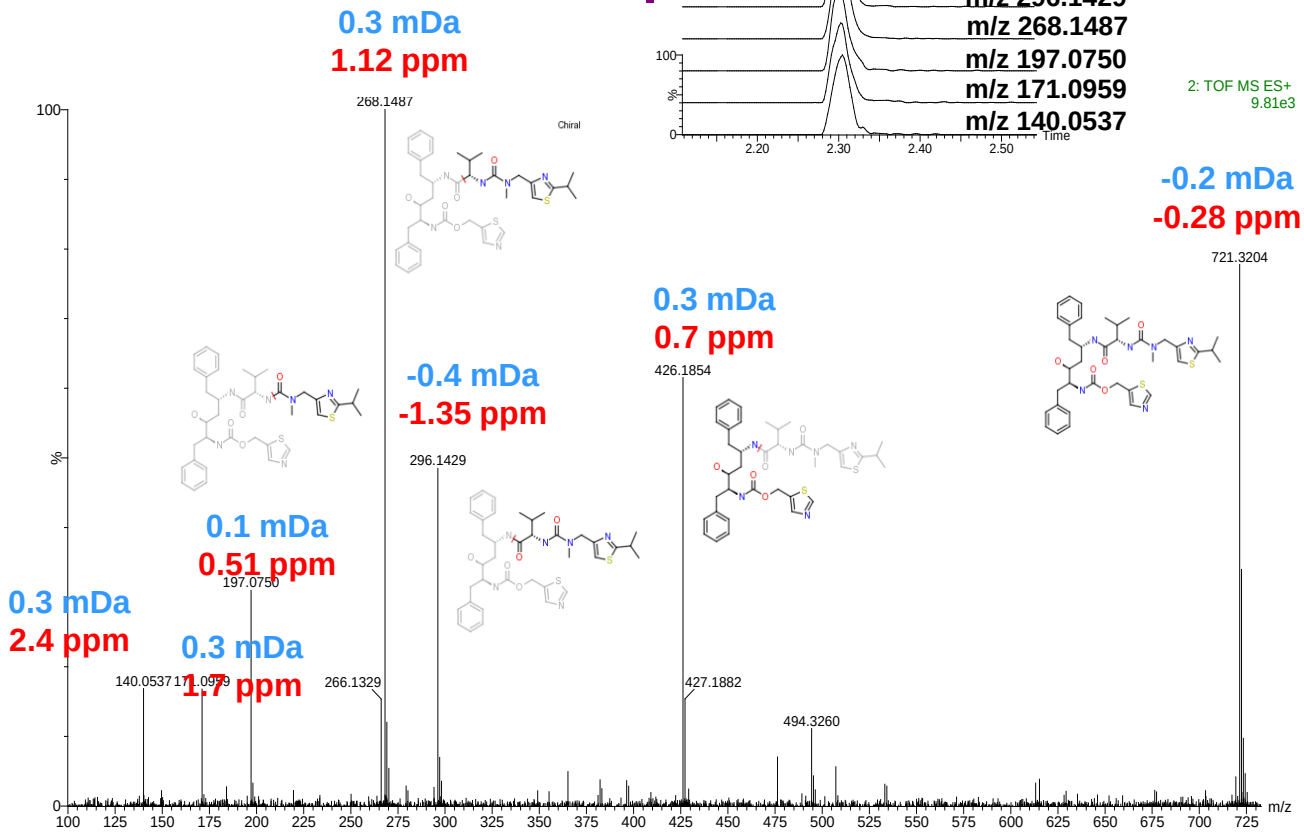
Fragmens ion információk

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

UPLC/MS^E
10 spektrum/sec
1.28ppm RMS
0.29mDa RMS

1 mDa window

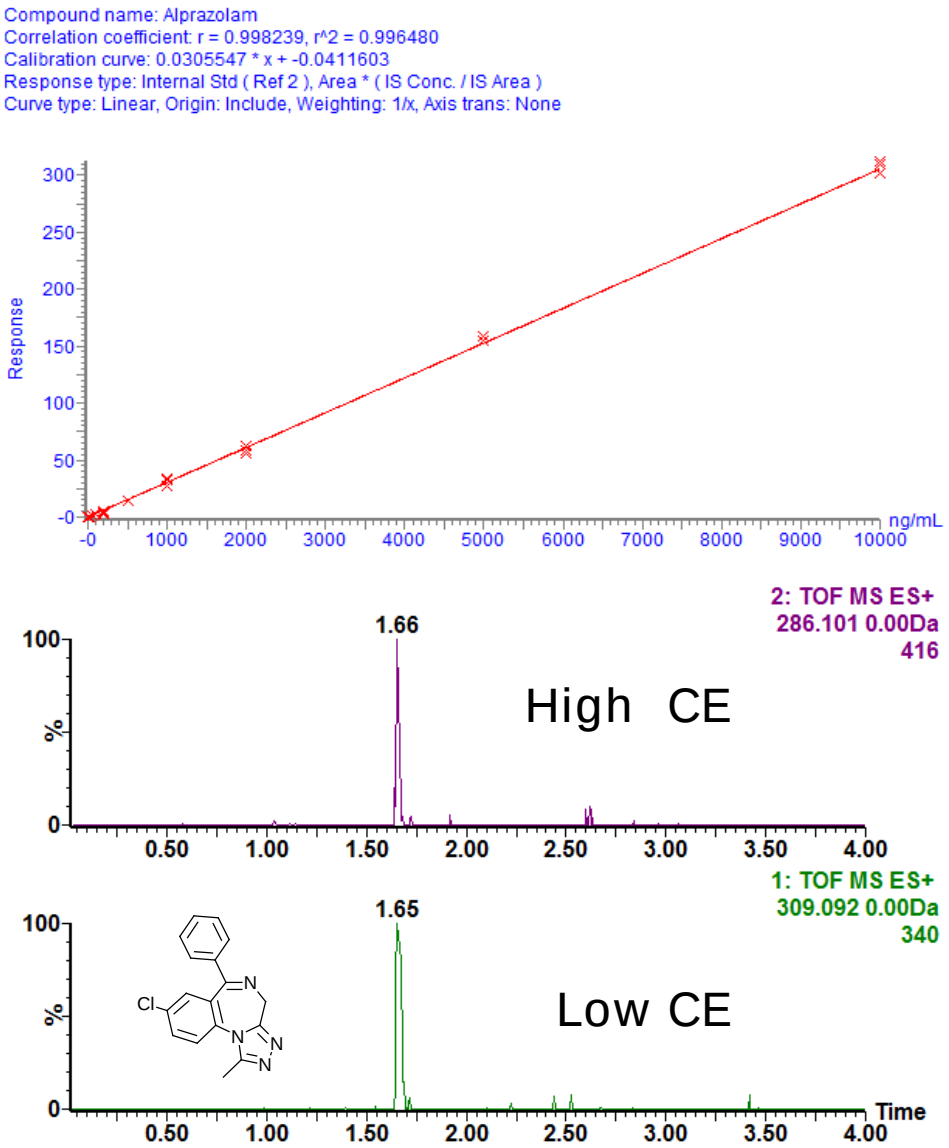




©2009 Waters Corporation

QuanTof™
...széles dinamikus tartomány

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



UPLC/MS^E: Alprazolam
complex mátrix - plazma
1pg/uL-10ng/uL

"Kompromisszumok nélkül"
Felbontás >40K FWHM
<2ppm pontos tömeg
Pontos izotópcsúcs azonosság
4 nagyságrend linearitás
10 spektrum/sec
Teljes értékű fragmens ion adatok

XIC's: 1mDa ablak
szelektivitás növekedés

©2009 Waters Corporation

High Definition Mass Spectrometry

...UPLC/IMS/MS integrációja

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

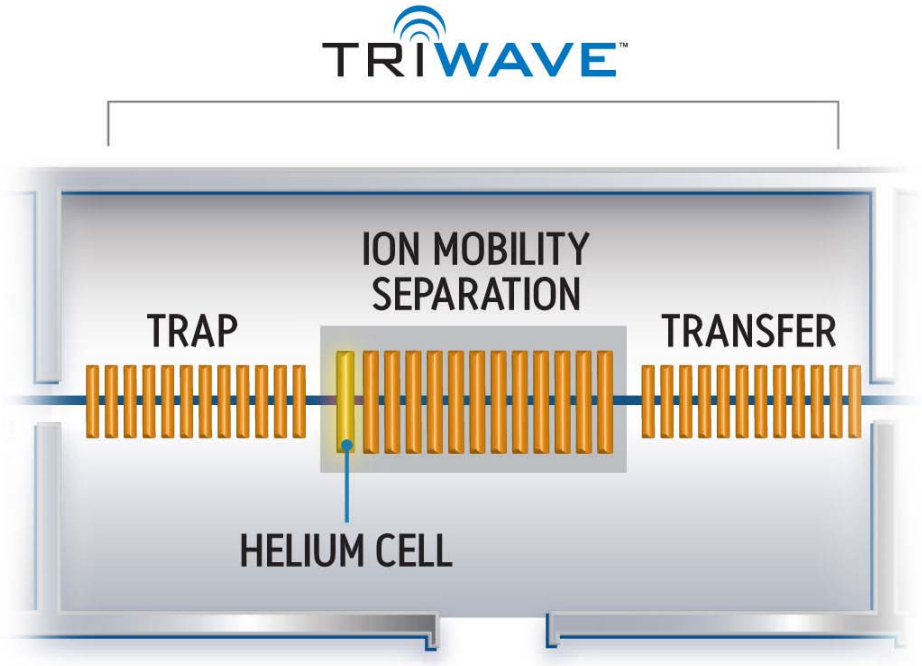
- **High Definition Mass Spectrometry**
  - A nagyfelbontású tandem (TOF) tömegspetrometria és a nagy hatékonyságú ionmobilitás szerinti elválasztás kombinációja
- **Ortogonális gáz-fázisú elválasztás, mely különbséget tesz a komponensek között:**
  - **Méret/alak : töltés ($Å^2/z$)** alapján, a tömeg/töltés mellett (m/z)
    - ‘Gáz-fázisú elektroforézis’
- **Megfelelő időbeli egyezés**
  - UPLC (sec) IMS (msec) és a TOF MS (nsec)
- **A HDMS előnyei**
  - **Izomerek**/konformáció analízise
  - Összetett elegyek elválasztása, a detektálási határ csökkentése
  - A fragmentációs vizsgálatokból nyert információk

©2009 Waters Corporation

Technológia váltás ...Triwave

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

- Második generációs Triwave
  - Megnövelt ion mobilitás felbontás (40 Ω/ΔΩ felett)
  - Az IMS az MS detektálás mellett egyedi CID/TAP fragmentációs lehetőséget ad
- IMS cella 40%-kal hosszabb
- Magasabb gáz nyomás: IMS T-Wave (2.5mb versus 0.5mb)
- Módosított T-Wave mintázat – nagyobb amplitudójú T-Wave pulzusok
- Hélium cella kiegyenlíti a fő cella N_2 nyomását, a belépő ionok áteresztésének maximalizálása.
- a belépő ionok fragmentációjánk minimalizálása

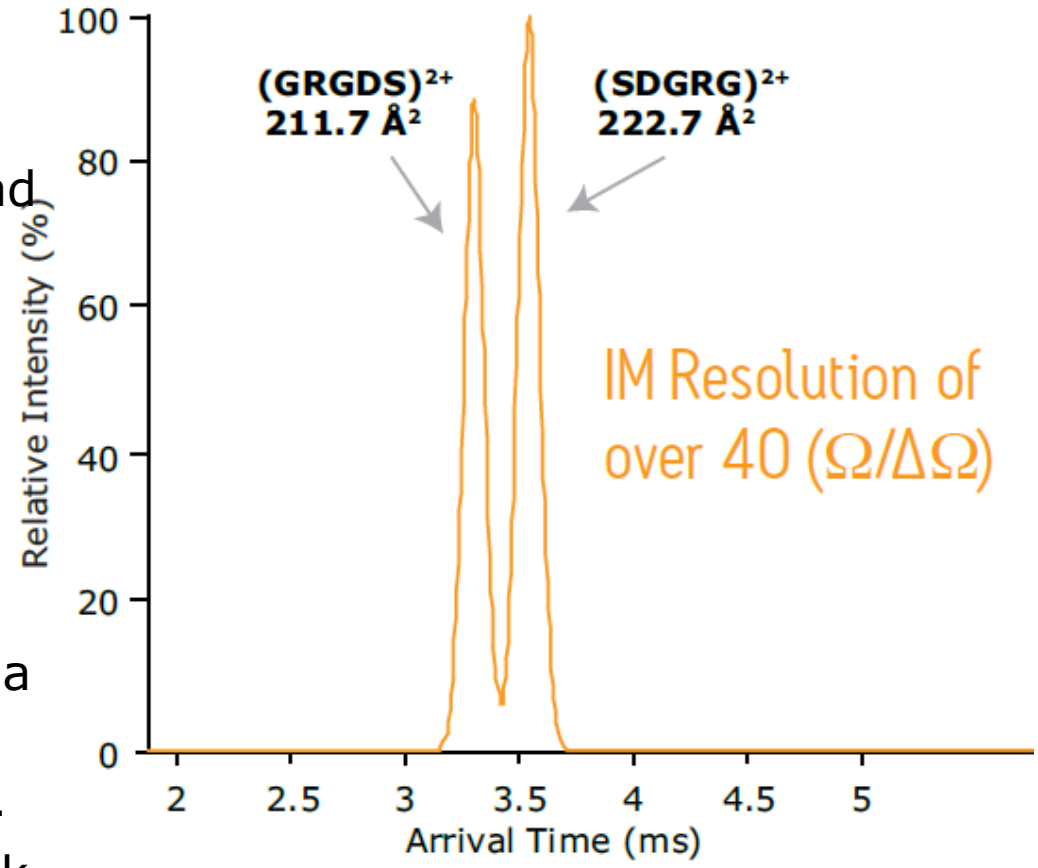


©2009 Waters Corporation

SYNAPT G2

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

- Második generációs Triwave
  - Megnövelt ion mobilitás felbontás (40 Ω/ΔΩ felett)
  - Az IMS az MS detektálás mellett egyedi CID/TAP fragmentációs lehetőséget ad
- IMS cella 40%-kal hosszabb
- Magasabb gáz nyomás: IMS T-Wave (2.5mb versus 0.5mb)
- Módosított T-Wave mintázat – nagyobb amplitudójú T-Wave pulzusok
- Hélium cella kiegyenlíti a fő cella N_2 nyomását, a belépő ionok áteresztésének maximalizálása.
- a belépő ionok fragmentációjánk minimalizálása

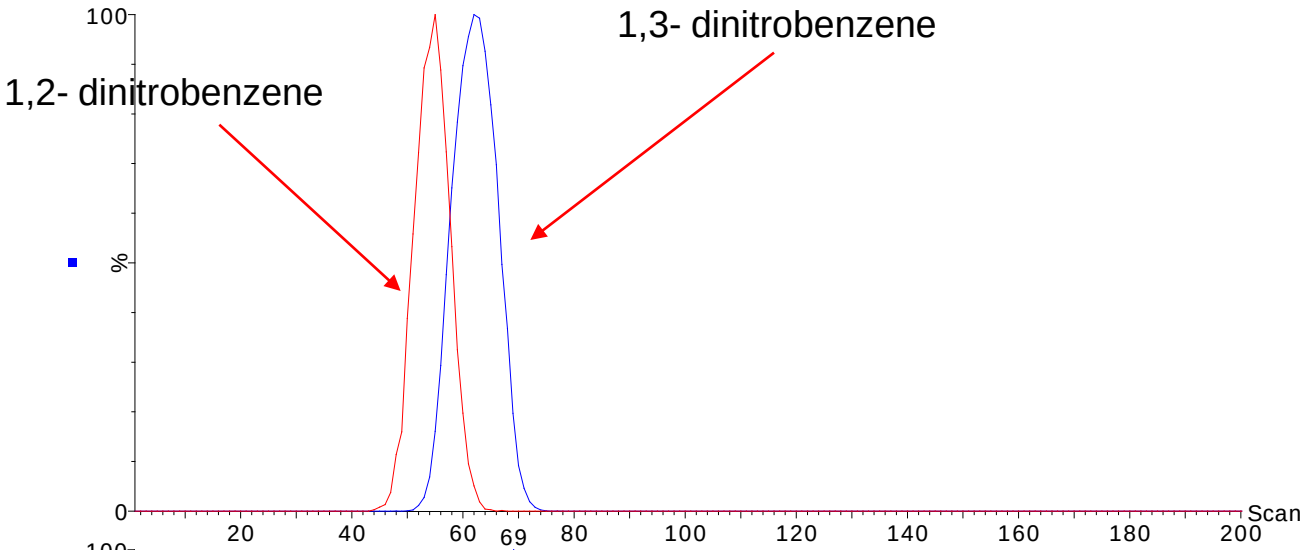


©2009 Waters Corporation

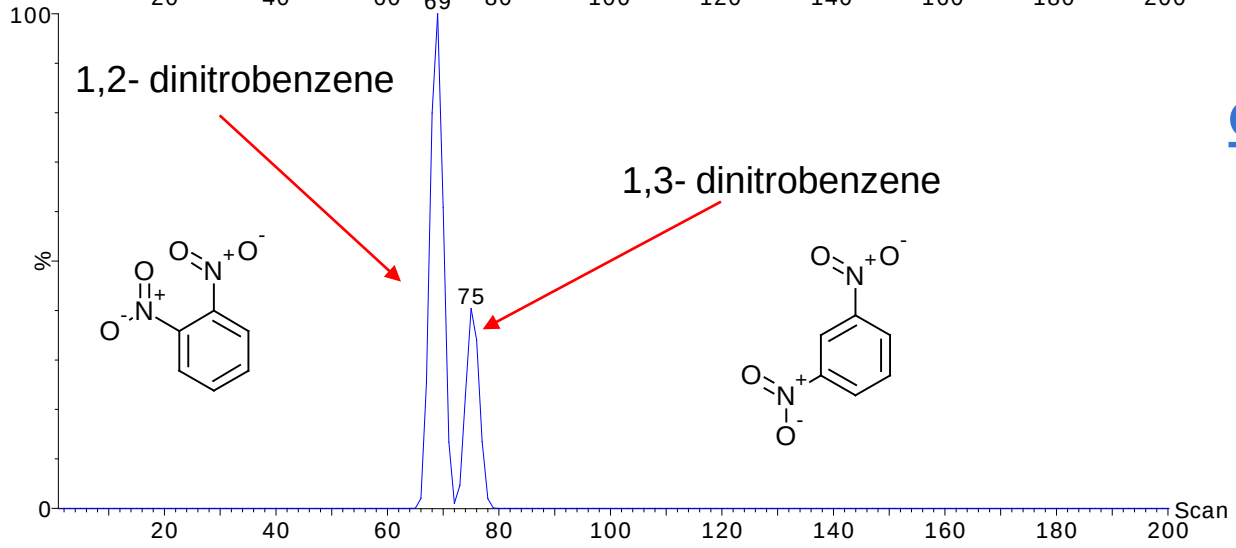
Izomer elválasztás

...ASAP IMS of 1,2- and 1,3-dinitrobenzene

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



Ω/ΔΩ=10



Ω/ΔΩ = 40

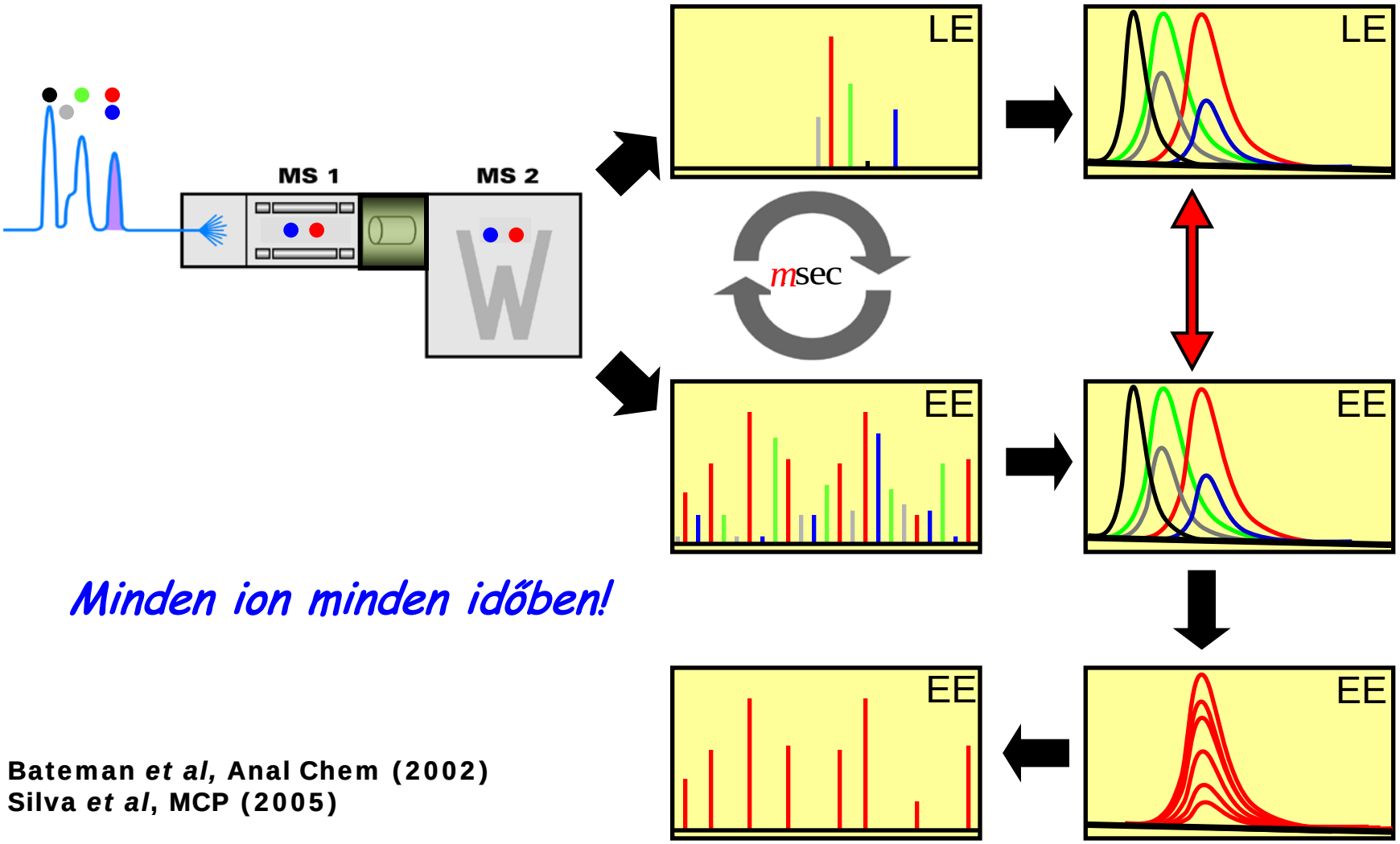
Drift Time (Bins)

©2009 Waters Corporation

Alternáló szkennelés UPLC/ MS^E

...időszerint összehangolt tömeg analízis

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



Minden ion minden időben!

Bateman *et al*, Anal Chem (2002)
Silva *et al*, MCP (2005)

©2009 Waters Corporation

Ionforrások

Multimode source
ESI – Electrospray Ionization
APCi – Atmospheric Pressure Chemical Ionization
ESCI® – Dual ESI and APCi

Dual mode source
APPI – Atmospheric Pressure Photo Ionization
APCi – Atmospheric Pressure Chemical Ionization

TRIZAIC™ Source
with nanoTile Technology.
Plug & Play nanoFlow

nanoFlow™ ESI

MALDI nanoFlow ESI APCi ESCi APPI TRIZAIC ASAP APGC

MALDI – Matrix Assisted Laser Desorption Ionization

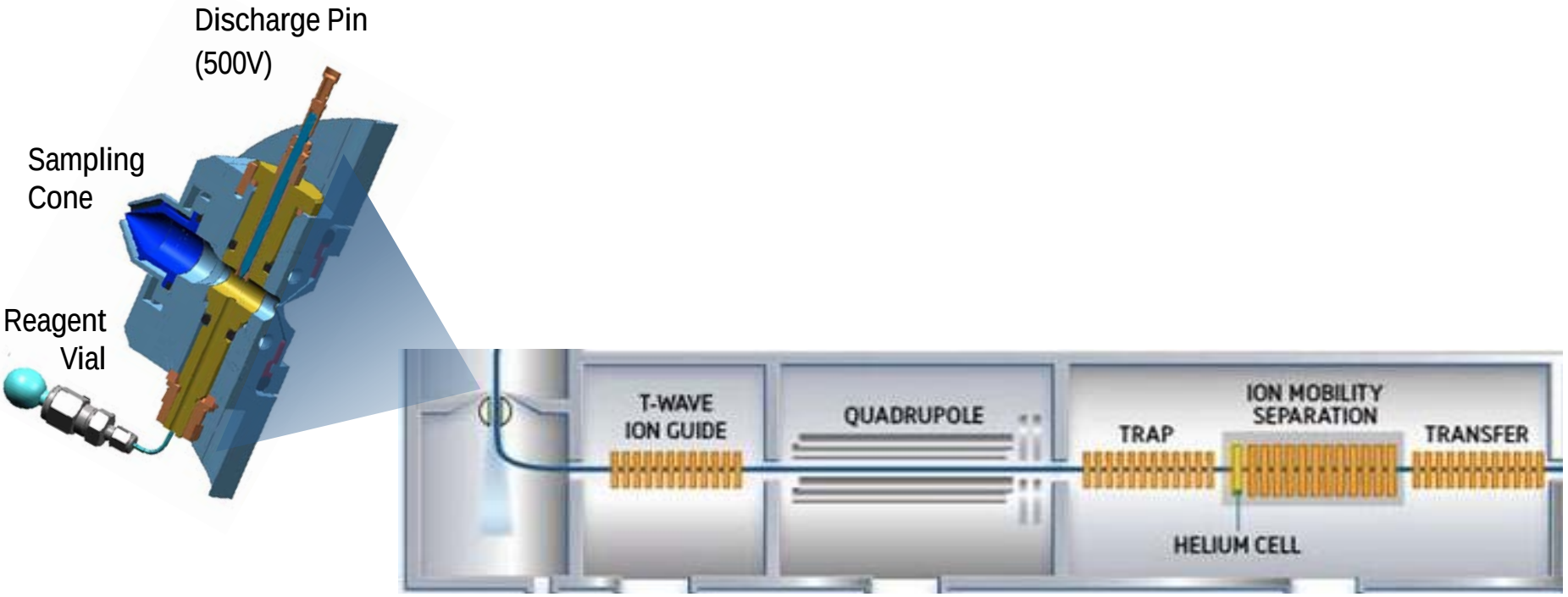
ASAP – Atmospheric Pressure Solids Analysis Probe

APGC – Atmospheric Pressure Gas Chromatography

©2009 Waters Corporation

Electron Transfer Dissociation - ETD

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



SYNAPT™ G2 HDMS™

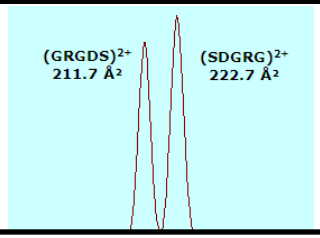
Reagent Crystals: Azobenzene or Fluoranthene

©2009 Waters Corporation

Synapt G2 MS
4 dimenziós elválasztás

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

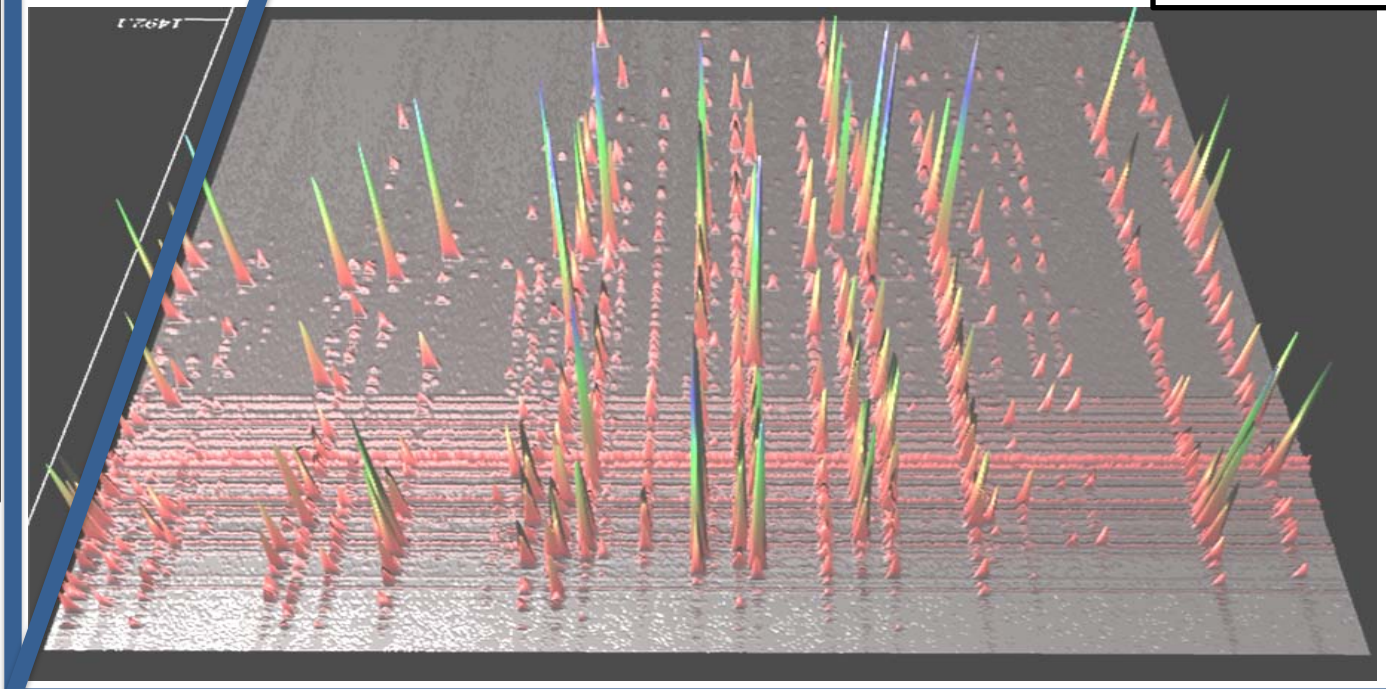
High Resolution MS & MS/MS
High Mass accuracy MS & MSMS
QuanTof



Ion mobility
Tri-Wave

High
Sensitivity
UPLC
Ion
Source

High
Dynamic
Range
G2
detector

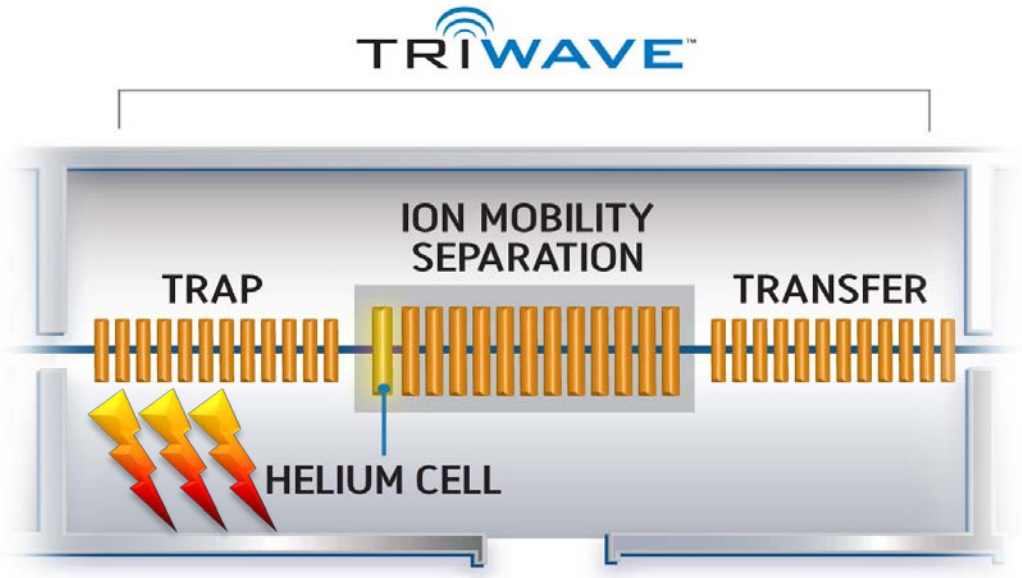


High Resolution 2D RPxRP nano UPLC

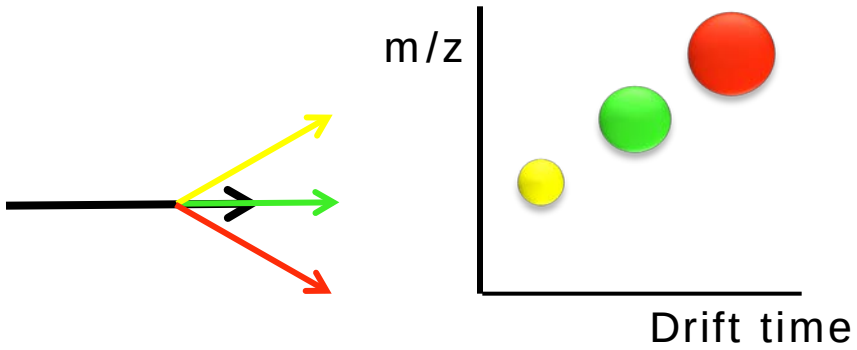
©2009 Waters Corporation

1. Szerkezet vizsgálat
TRAP / IMS

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



Q1 mass selection



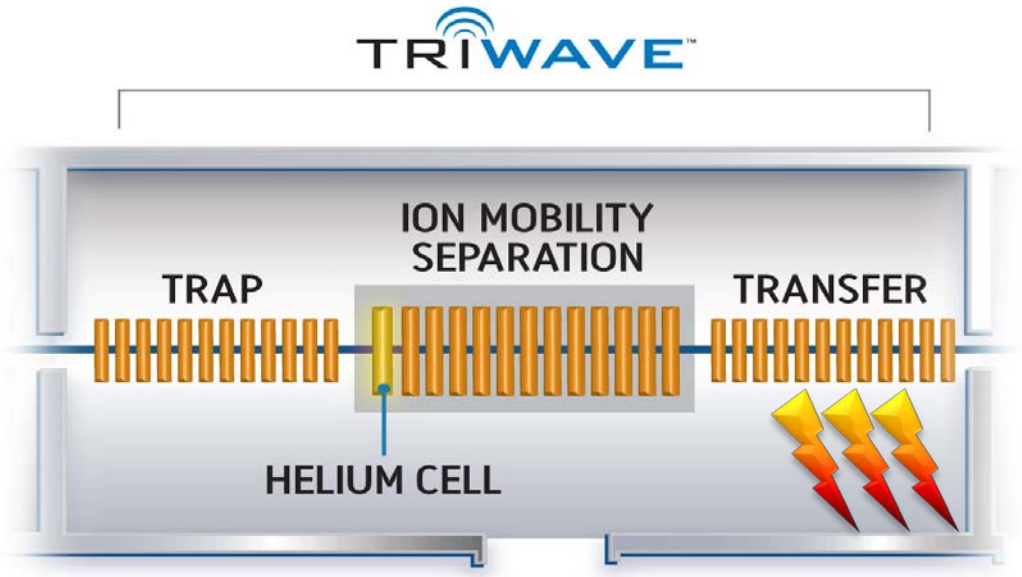
Precursor ion fragmented

Product ions separated by IMS

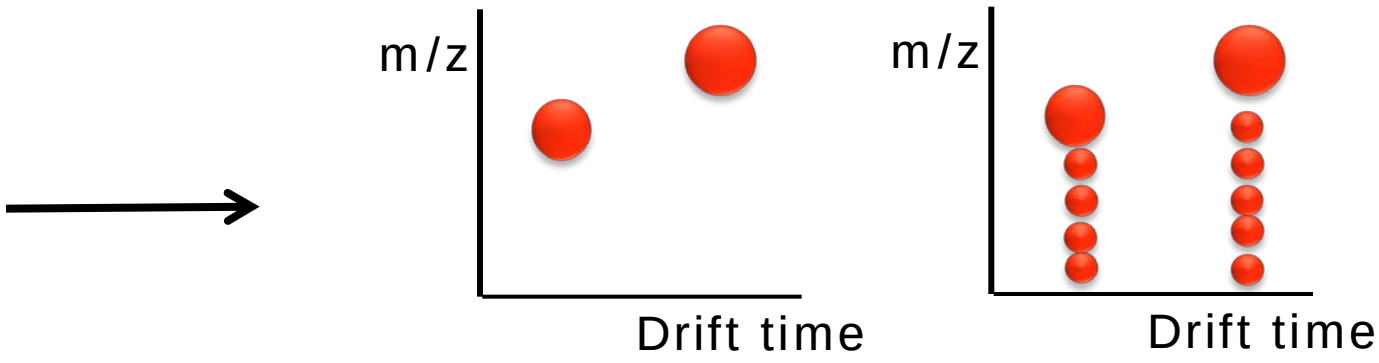
©2009 Waters Corporation 20

2. Szerkezet vizsgálat
IMS / CID

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



Q1
RF only



Precursor ions

Precursor ions separated by IMS

Precursor and products share same drift time

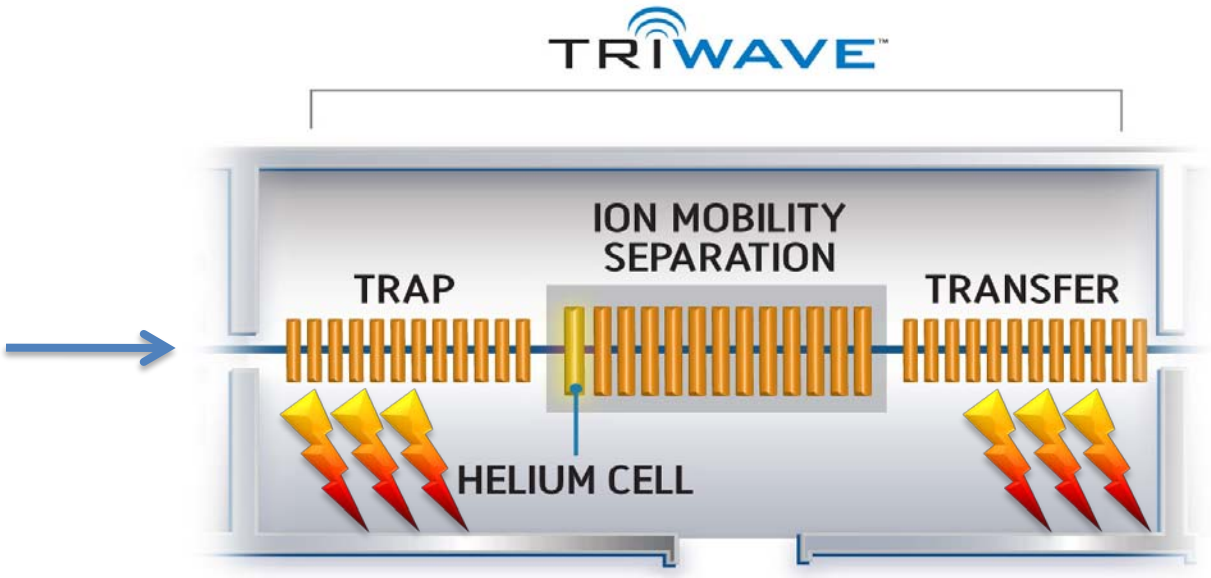
©2009 Waters Corporation

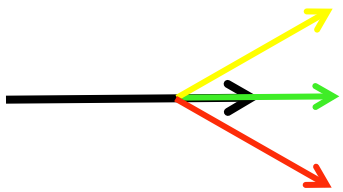
3. Szerkezet vizsgálat

...Time Aligned Parallel Fragmentation (TAP)

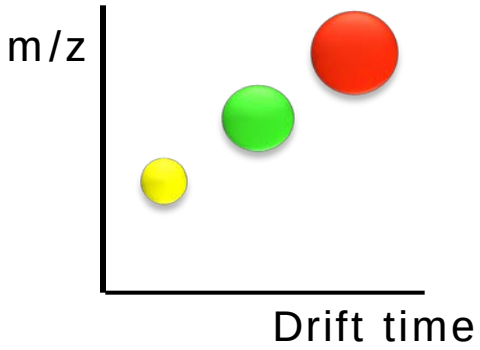
Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

Q1 mass selection

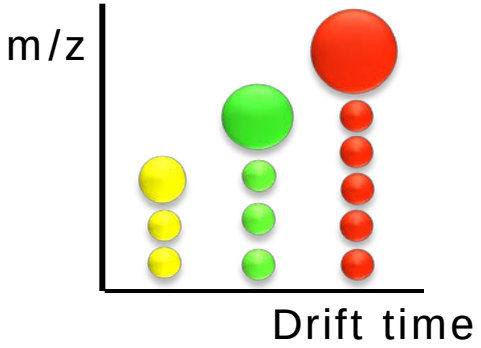




Precursor ion fragmented



Product ions separated by IMS



Precursor and products share same drift time

©2009 Waters Corporation 22

1. Izomer Elválasztások

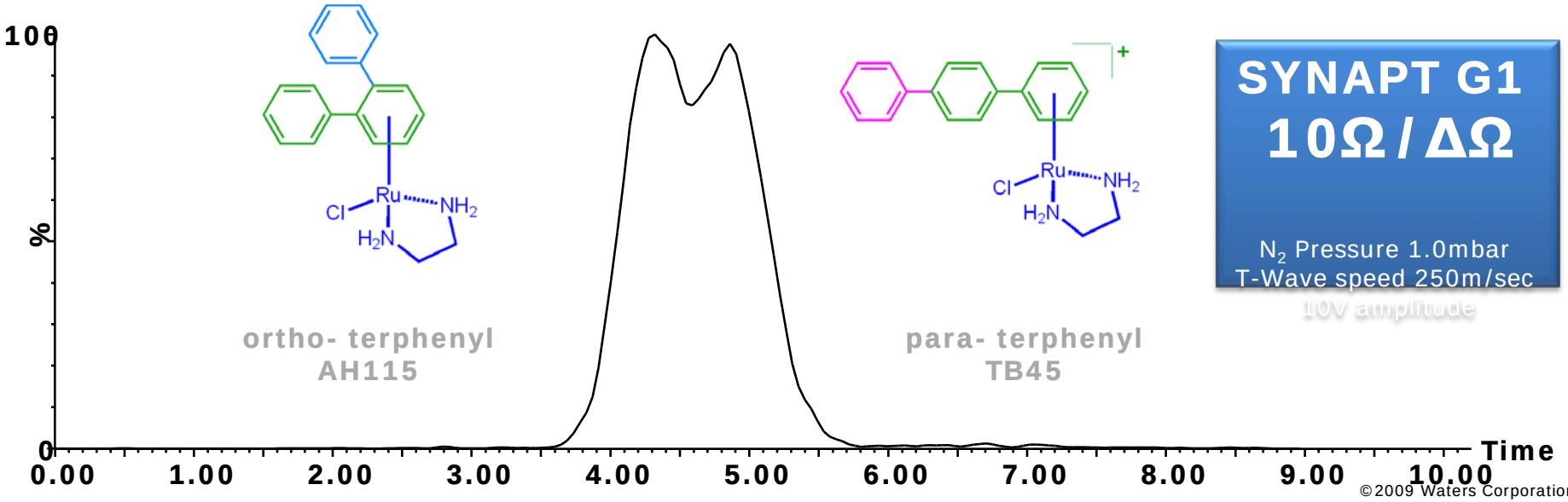
...Fehérje komplexek, gyógyszer komplexek

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

RAPID COMMUNICATIONS IN MASS SPECTROMETRY
Rapid Commun. Mass Spectrom. 2009; **23**: 3563–3569
Published online in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com) DOI: 10.1002/rcm.4285

RCM

Use of ion mobility mass spectrometry and a collision cross-section algorithm to study an organometallic ruthenium anticancer complex and its adducts with a DNA oligonucleotide

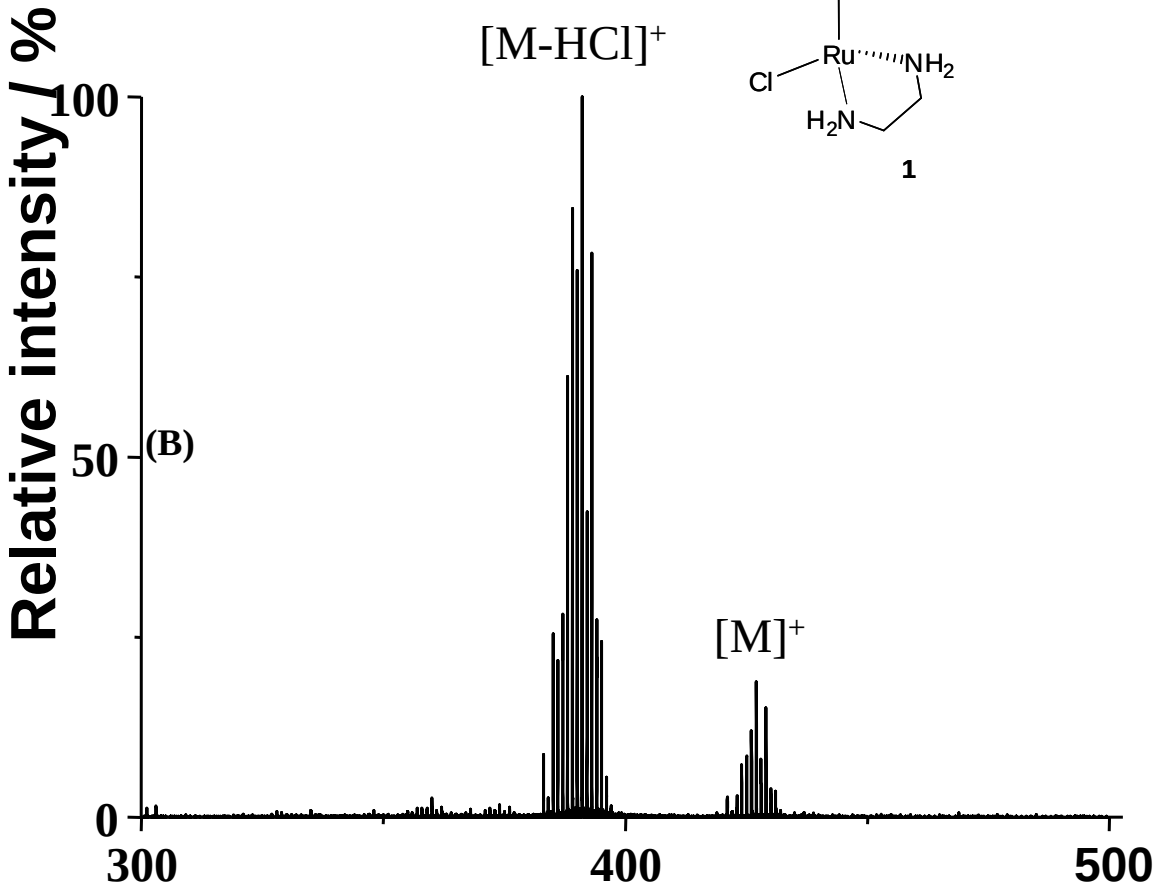


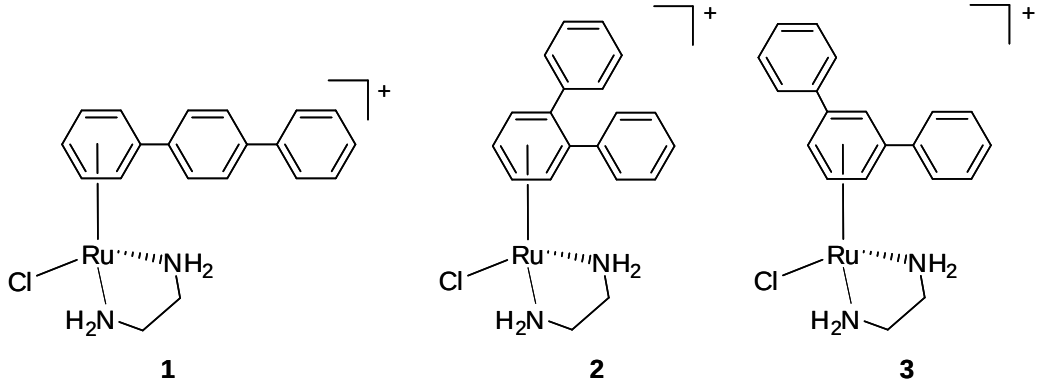
©2009 Waters Corporation

1. Izomer Elválasztások

...Fehérje komplexek, gyógyszer komplexek

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



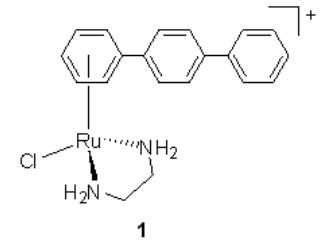


©2009 Waters Corporation

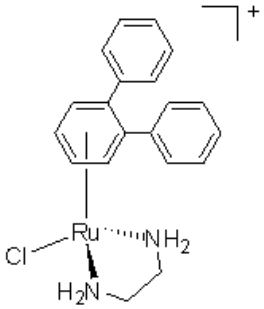
1. Izomer Elválasztások

...Fehérje komplexek, gyógyszer komplexek

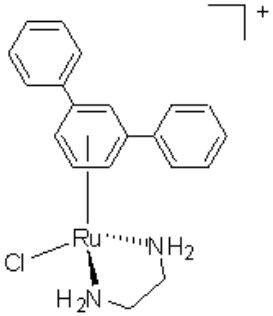
Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



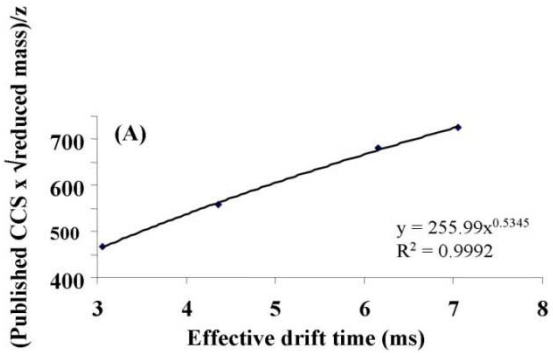
1

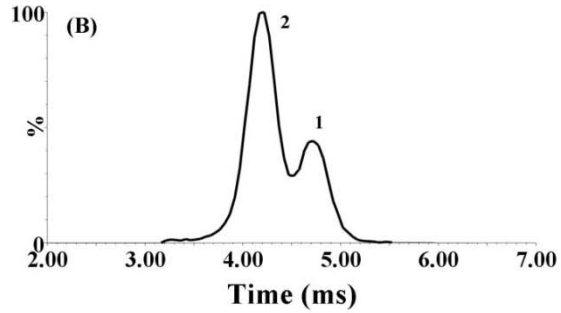


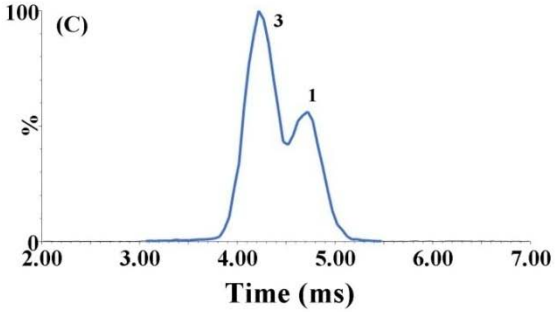
2

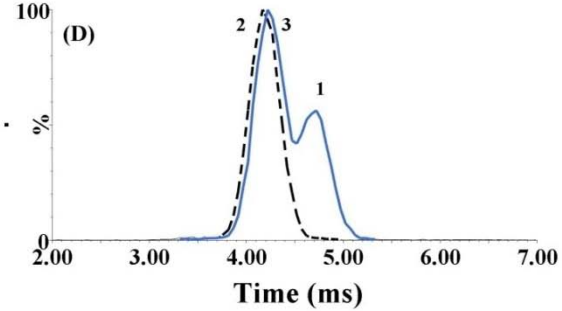


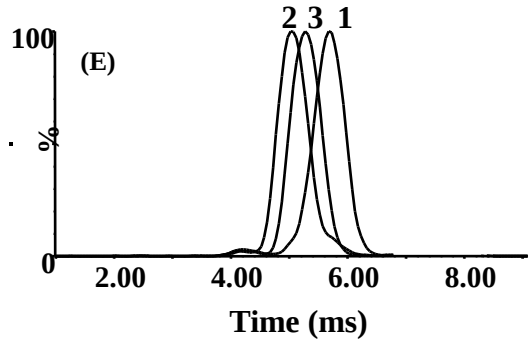
3







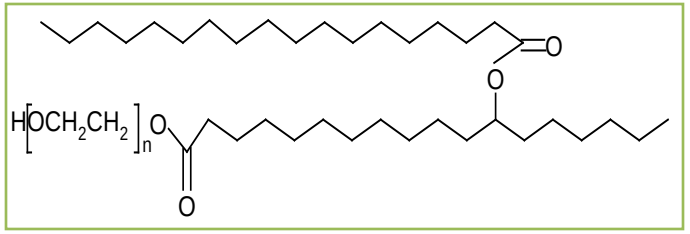




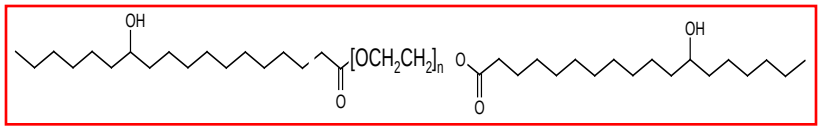
©2009 Waters Corporation

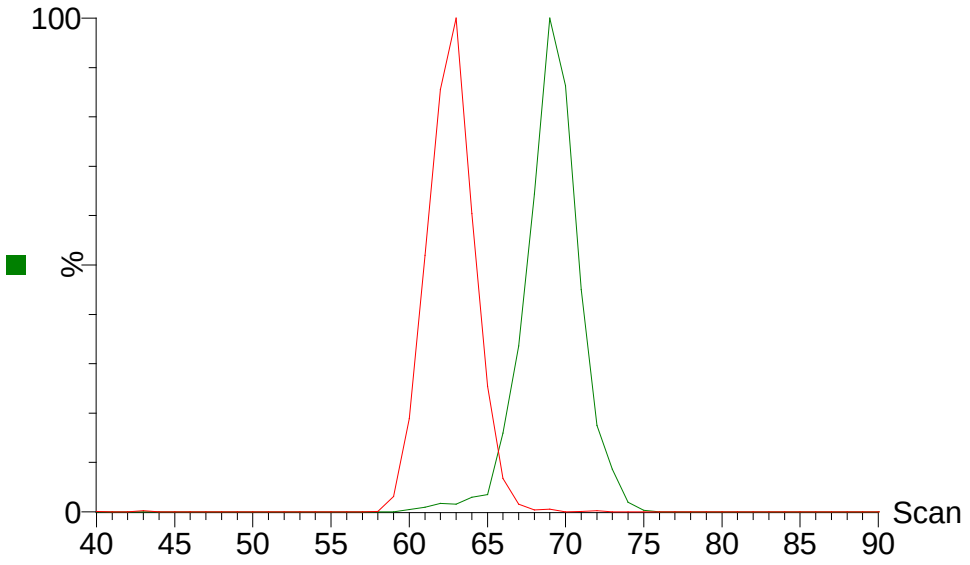
2. Különböző Szerkezeti Izomerek azonosítása

- Az SYNAPT G2 ion mobilitás szerinti elválasztását rutin szerűen alkalmazni lehet a komponenske alak meghatározására.



- Izomerek különböző sodrodási idővel
  - Különböző alak a gázfázisban
  - Elválasztás az ionmobilitás különbség alapján





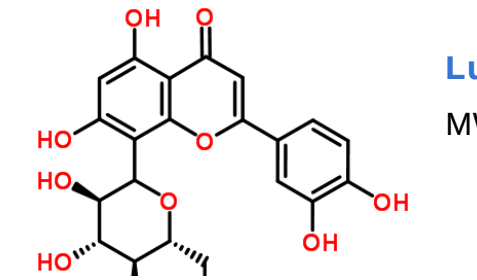
©2009 Waters Corporation 28

3. Szerkezet felderítés

Az IMS használata természetes komponensek szerkezeti izomereinek meghatározásásban

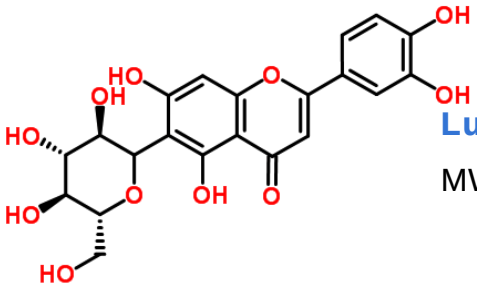
Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

- LC-MS és MS/MS fragmentáció alkalmazható a szerkezeti izomerek elválasztására
- Némely esetben ez problematikus.
- **Ion mobilitás** alkalmazható a szerkezeti izomerek megkülönböztetsére
  - LC elválasztás nélkül vagy MS/MS fragmentáció nélkül



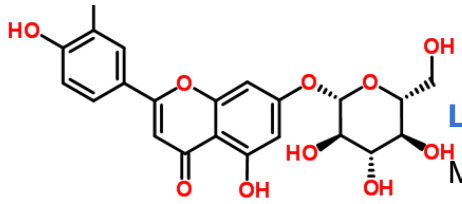
Luteolin 8 *C*-glucoside

MW 448.3769 - $C_{21}H_{20}O_{11}$



Luteolin 6 *C*-glucoside

MW 448.3769 - $C_{21}H_{20}O_{11}$



Luteolin 7 *O*-glucoside

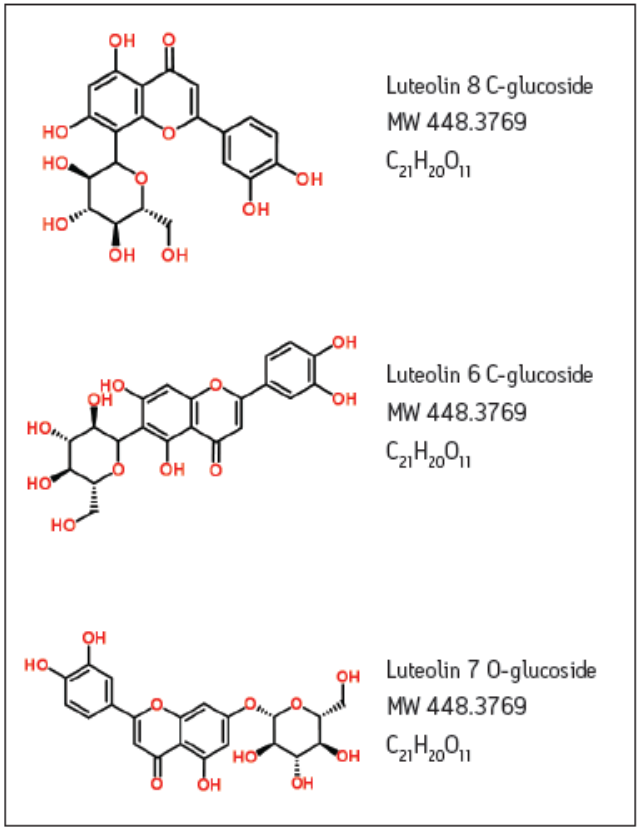
MW 448.3769 - $C_{21}H_{20}O_{11}$

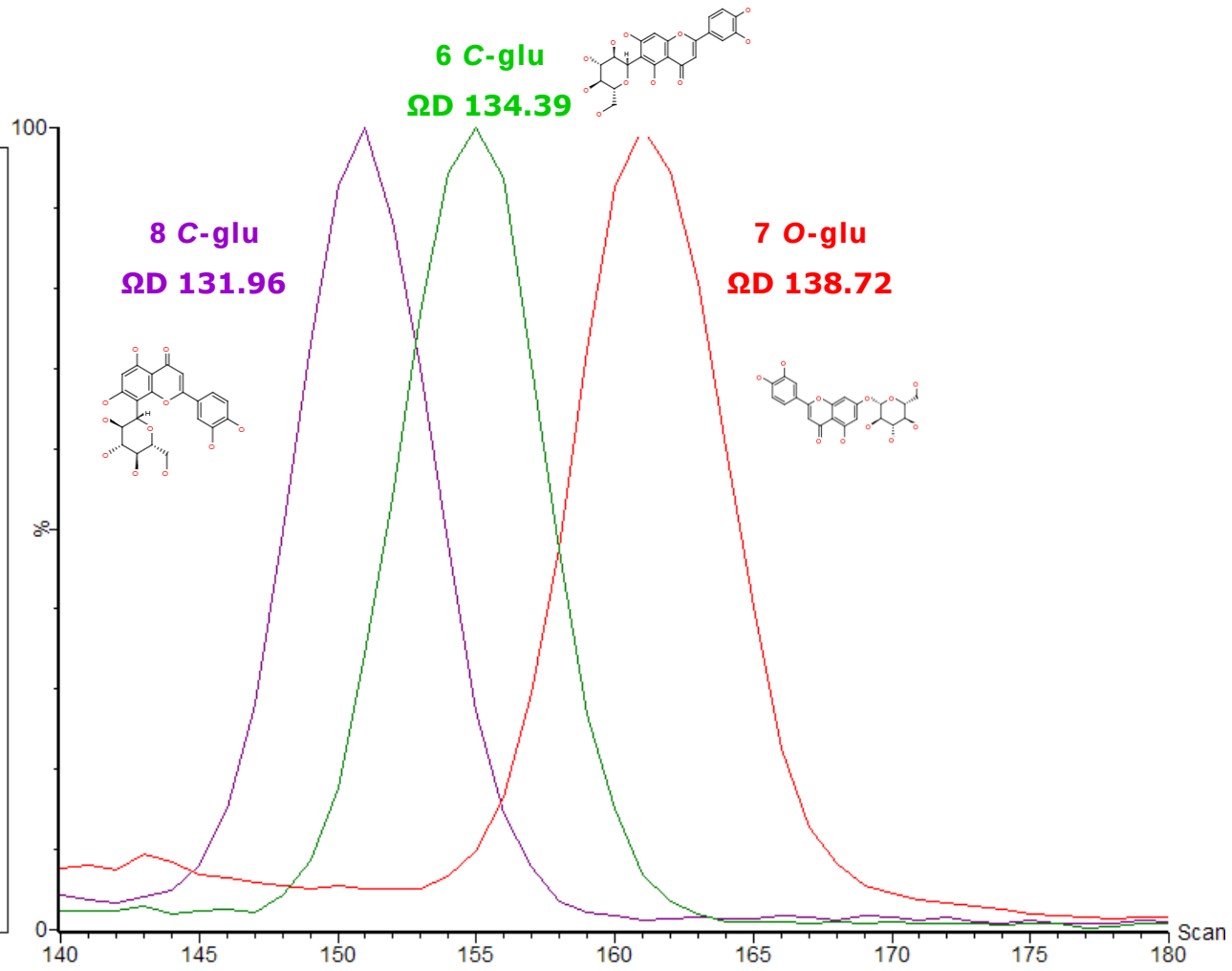
©2009 Waters Corporation 29

3. Szerkezet felderítés

Az IMS használata természetes komponensek szerkezeti izomereinek meghatározásában

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



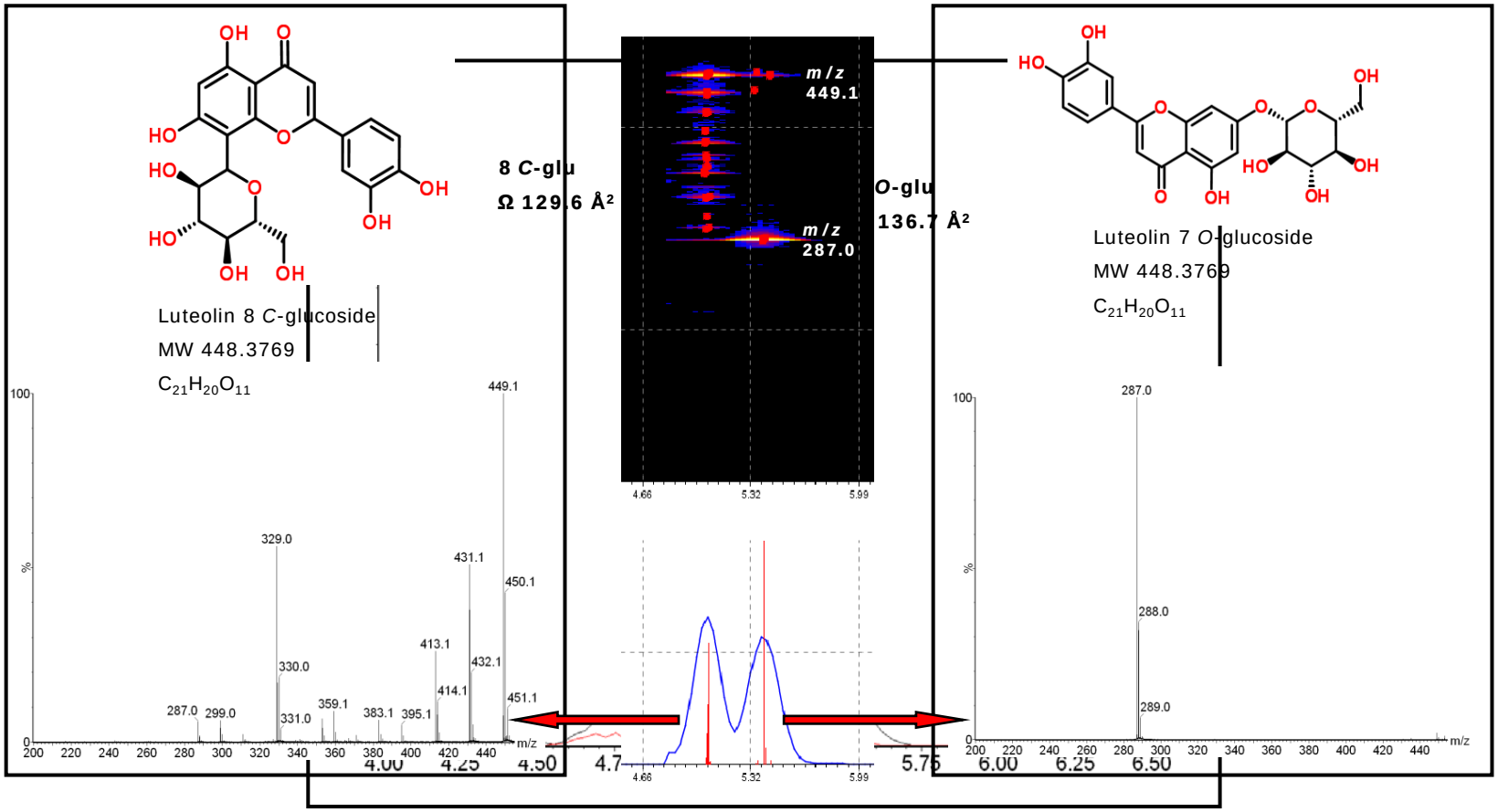


©2009 Waters Corporation

3. Szerkezet felderítés

Az IMS használata természetes komponensek szerkezeti izomereinek meghatározásában

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

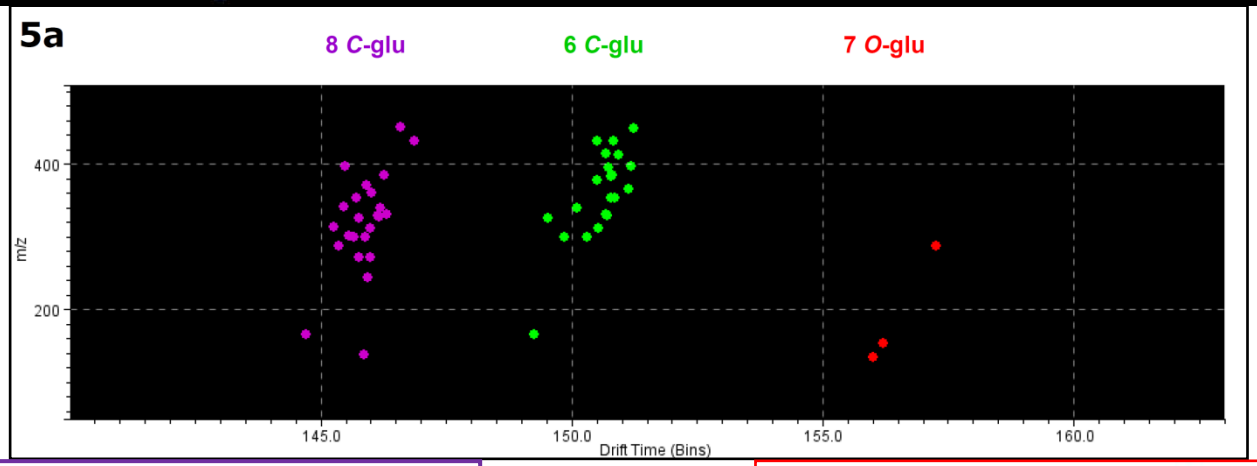


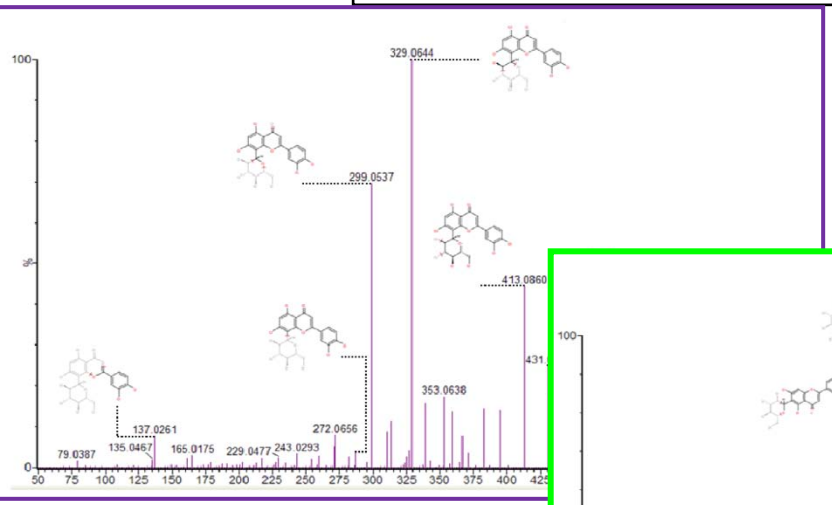
©2009 Waters Corporation 31

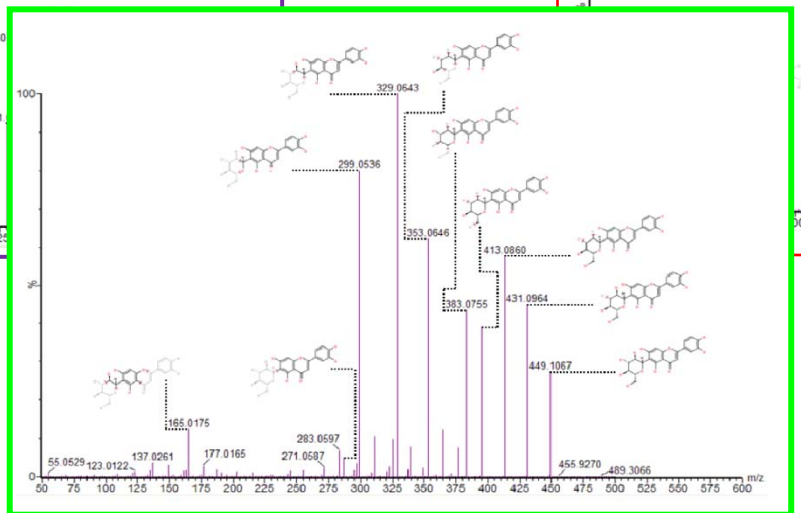
3. Szerkezet felderítés

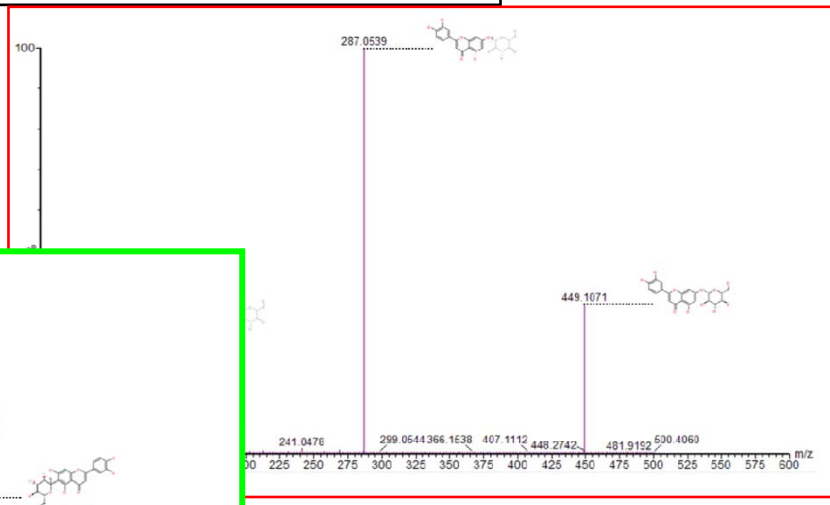
Az IMS használata természetes komponensek szerkezeti izomereinek meghatározásásban

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™





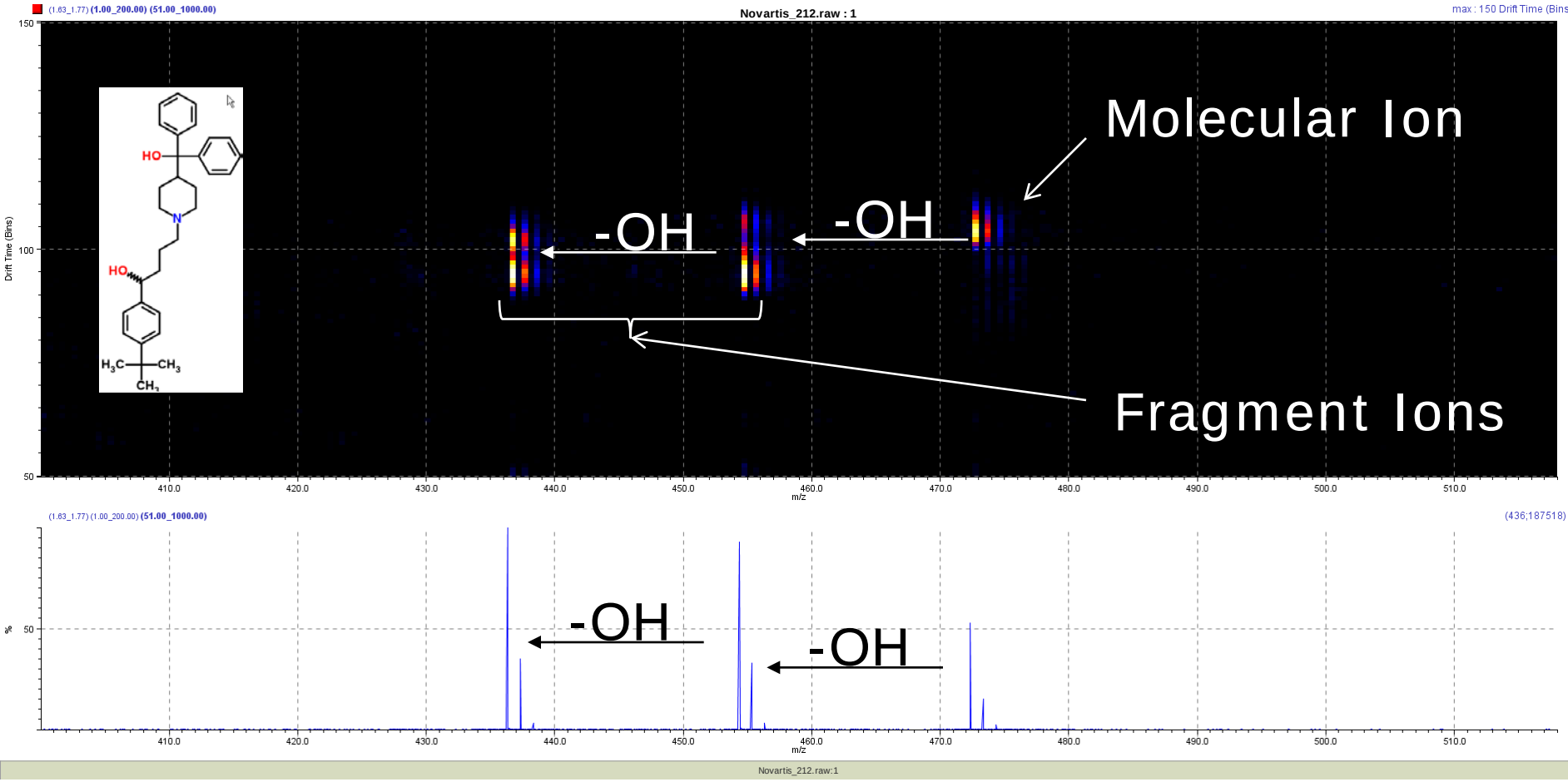




©2009 Waters Corporation

4. Terfenadine MSMS felvétele– 472.3 m/z

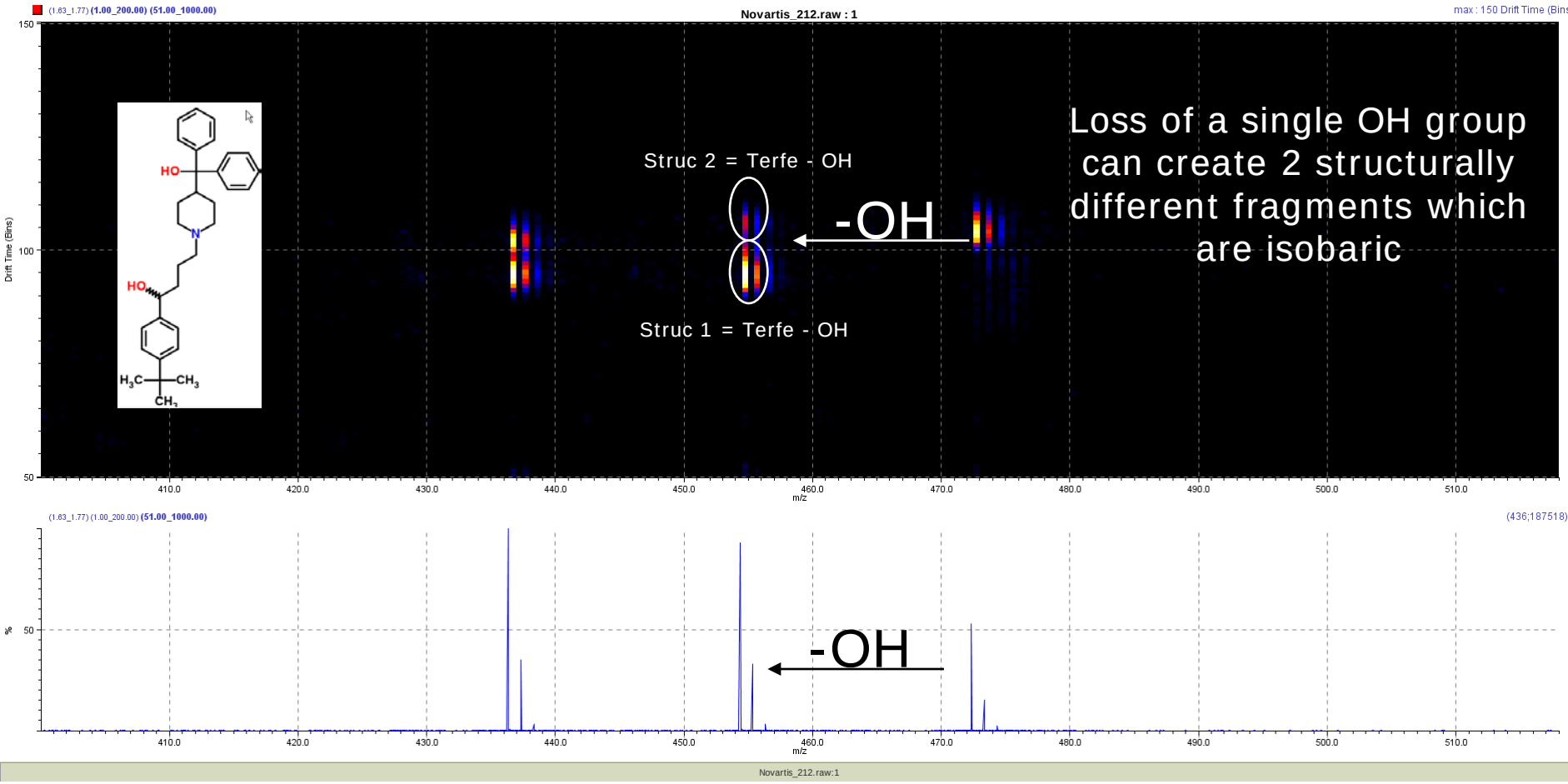
Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



©2009 Waters Corporation

4. Terfenadine MSMS felvétele– 472.3 m/z

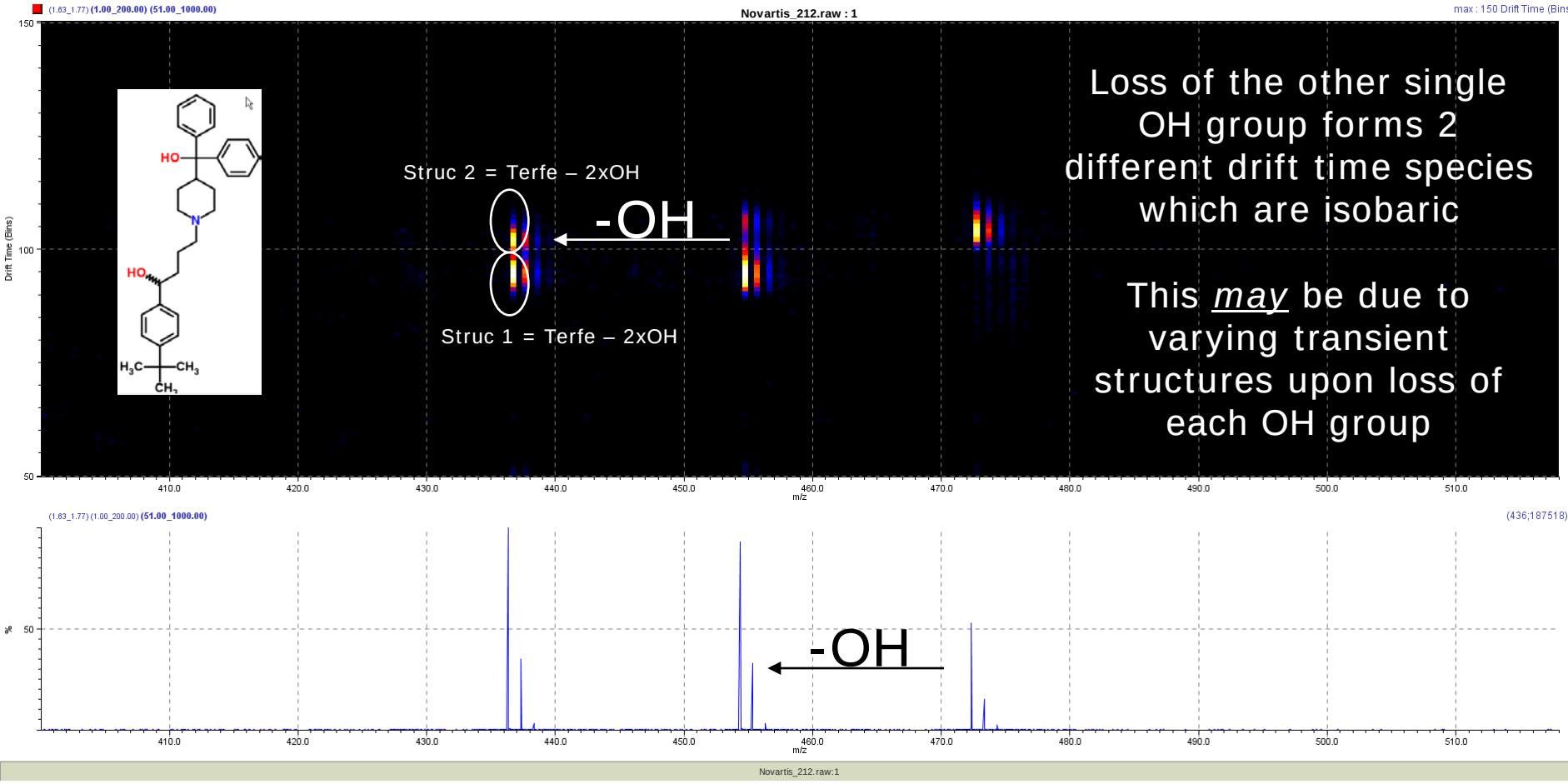
Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



©2009 Waters Corporation

4. Terfenadine MSMS felvétele– 472.3 m/z

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™



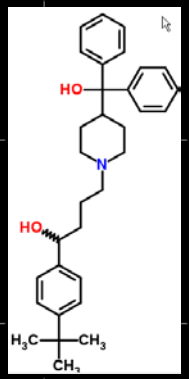
©2009 Waters Corporation

4. Terfenadine MSMS felvétele– 472.3 m/z

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

(1.63_1.77) (1.00_200.00) (51.00_1000.00) Novartis_212.raw : 1 max : 150 Drift Time (Bins)

Data –APEX detection overlayed



3D_ID	3D_m_z	3D_RetTime	3D_Mobility	3D_Intensity	3D_m_z_uncal
8	436.317	0	100.786	145123	0.01843
2	436.3183	0	93.4983	279509	0.01934
9	437.3208	0	100.8874	51354	0.02085
3	437.3214	0	93.5082	90159	0.02033
12	454.3283	0	104.7731	34326	0.0219
4	454.3303	0	93.541	416077	0.01889
1	455.3326	0	93.454	148002	0.02005
11	472.3405	0	102.8618	284906	0.02058
6	473.3398	0	95.9602	133524	0.02624
10	473.3443	0	102.8331	80800	0.02045
5	474.3436	0	95.9159	30592	0.03102
7	475.3379	0	96.0831	57560	0.02879

©2009 Waters Corporation

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™
Köszönöm Figyelmüket !