

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

České Budějovice, 13. - 15. dubna 2016
SBORNÍK PŘÍSPĚVKŮ

Sborník příspěvků z 5. konference
České společnosti
pro hmotnostní spektrometrii

*Česká společnost pro hmotnostní spektrometrii
Přírodovědecká fakulta, Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích
Parazitologický ústav, Biologické centrum AVČR, v.v.i.*

Olomouc a České Budějovice 2016

**Sborník příspěvků z 5. konference České společnosti
pro hmotnostní spektrometrii**

Autoři

Kolektiv autorů

Vydáno

Duben 2016, 1. vydání

Vydavatel

Česká společnost pro hmotnostní spektrometrii

Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého

17. listopadu 1192/12

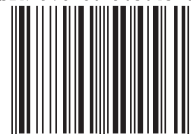
771 46 Olomouc

www.czechms.org

ISBN 978-80-905045-6-1



ISBN 978-80-905045-6-1



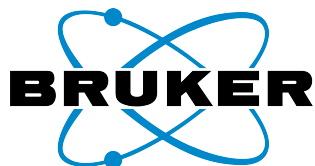
9 788090 504561 >

Hlavní sponzoři konference

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



*Shimadzu Handels GmbH,
organizační složka*



Bruker s.r.o.



*AMEDIS s.r.o.
SCIEX distributor*



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

Další sponzoři

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

Waters



HPST s.r.o.



LECO Instrumente Plzeň, spol. s r.o.



ChemAxon, spol. s r.o.

Akademičtí partneři



*Přírodovědecká fakulta,
Univerzita Palackého
Sídlo ČSHS*



*Přírodovědecká fakulta, Jihočeská
Univerzita v Českých Budějovicích
Spolupřadatel konference ČSHS*



*Parazitologický ústav,
Biologické centrum AVČR, v.v.i.
Spolupřadatel konference ČSHS*

5. konference České společnosti pro hmotnostní spektrometrii

Datum konání

13. - 15. dubna 2016

Místo konání

Biologické centrum AV ČR, v.v.i.

Branišovská 1160/31, České Budějovice, Česká republika

Pořadatelé

Česká společnost pro hmotnostní spektrometrii, Olomouc

Přírodovědecká fakulta, Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích

Parazitologický ústav, Biologické centrum AVČR, v.v.i.

Výbor ČSHS

Předseda: Petr Fryčák (Univerzita Palackého v Olomouci)

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

Členové:

Michal Boháč (Bruker s.r.o, Brno)

Lucie Jašíková (Univerzita Karlova v Praze)

Petr Pompach (BioCeV - BTÚ AV ČR, v.v.i)

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

Pavel Řehulka (Univerzita obrany v Hradci Králové)

Místní organizátoři konference

Ján Štěřba (Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích; Parazitologický ústav, BC AV ČR, v.v.i.)

David Kahoun (Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích)

Peter Koník (Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích)

Petr Kotas (Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích)

Pavlna Věchtová (Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích; Parazitologický ústav, BC AV ČR, v.v.i.)

Program středa 13. dubna 2016

- 13:00 - 19:00 Registrace
- 14:00 - 14:10 Zahájení 5. konference ČSHS
- 14:10 - 15:10 **David R. Goodlett** (*University of Maryland*)
 PL-1 Development of a surface acoustic wave nebulization ion source
- 15:10 - 15:20 Přestávka
- 15:20 - 16:20 Workshop firmy Thermo Scientific
- 16:20 - 16:40 Přestávka na kávu a čaj I.
- 16:40 - 18:10 I. Hmotnostní spektrometrie v iontové chemii**
(Předsedající: Lucie Jašíková)
- 16:40 - 17:30 Károly Vékey (*Detlef Schröder lecture*)
 WeO-001 Energy resolved CID and spectral comparisons
- 17:30 - 17:50 Rafael Navrátil
 WeO-002 Infrared and visible photodissociation spectra of rhodamine ions
 at 3 K in the gas phase
- 17:50 - 18:10 Kristýna Sovová
 WeO-003 Reakce iontů H_3O^+ a NO^+ s molekulami atmosféricky
 významných monoterpenů
- 18:10 - 18:20 Přestávka
- 18:20 - 18:40 Historie hmotnostní spektrometrie v Čechách: Muzeum MS
 (Jaroslav Pól, Josef Cvačka)
- 18:40 - 19:40 Workshop firmy Bruker
- 19:40 - 20:00 Přestávka
- 20:00 - 24:00 Párty na uvítanou a sekce plakátových sdělení

Program čtvrtek 14. dubna 2016**09:00 - 10:10 II. Hmotnostní spektrometrie v organické analýze**
(Předsedající: Petr Fryčák)

09:00 - 09:30 Patrik Španěl
ThO-004 Hmotnostní spektrometrie pro rychlé měření stopových koncentrací těkavých látek ve vzduchu a dechu s použitím měkké chemické ionizace: SIFT-MS, PTR-MS a SIFDT-MS

09:30 - 09:50 Terencio Thibault
ThO-005 Comparative study of UO_2^{2+} and Fe^{3+} complexation with hydroxamate siderophore

09:50 - 10:10 Miroslav Flieger
ThO-006 Od EIMS po REIMS aneb 40 let s hmotnostní spektrometrií

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

10:30 - 12:20 III. Hmotnostní spektrometrie v biologii
(Předsedající: Petr Novák)

10:30 - 11:00 Marián Hajdúch
ThO-007

11:00 - 11:20 Kateřina Jägerová
ThO-008 HPLC ve spojení s ESI, MALDI a SALD ICP MS – detekční platforma pro charakterizaci metallothioneinů

11:20 - 11:40 Martin Hubálek
ThO-009 Interactome of human DNA damage-inducible protein 2 (Ddi2). What is the effect of different tagging strategies and how to increase the confidence of the emerging interaction map?

11:40 - 12:00 Anna Kolečová
*ThO-010 Protein profile of seminal plasma and functionality of spermatozoa over the course of reproductive season in carp (*Cyprinus carpio*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)*

- 12:00 - 12:20 Miloš V. Novotný
ThO-011 Advanced glycomic profiling in cancer research
- 12:20 - 12:30 Přestávka
- 12:30 - 13:30 Workshop firmy Shimadzu
- 13:30 - 14:30 Oběd
- 14:30 - 15:40 IV. Hmotnostní spektrometrie v potravinářství, průmyslu a ochraně prostředí**
(Předsedající: Karel Lemr)
- 14:30 - 15:00 Petr Cuhra
ThO-012 Využití hmotnostní spektrometrie v úřední kontrole potravin
- 15:00 - 15:20 Jan Preisler
ThO-013 Analýza nanočástic pomocí ICP MS s laserovou desorpcí za účasti substrátu
- 15:20 - 15:40 Ondřej Lacina
ThO-014 Aplikace iontové mobility v analýze potravin
- 15:40 - 16:30 Předání ceny Zdeňka Hermana Nadačním fondem Rezonance a přednáška vítězné práce
- 16:30 - 16:50 Přestávka na kávu a čaj III.
- 16:50 - 17:50 Workshop firmy SCIEX
- 17:50 - 19:00 Schůze ČSHS
- 19:00 - 19:30 Přestávka
- 19:30 - 24:00 Večeře a sekce plakátových sdělení

Program pátek 15. dubna 2016

- 09:00 - 10:30** **V. Hmotnostní spektrometrie v klinické a farmaceutické analýze a metabolomice**
(*Předsedající: Libor Grubhoffer*)
- 09:00 - 09:30 David Friedecký
FrO-015 Význam klinické metabolomiky založené na hmotnostní spektrometrii
- 09:30 - 09:50 Barbara Crone
FrO-016 Molecular and elemental bioimaging of human brain tumors
- 09:50 - 10:10 Jan Fesl
FrO-017 Metabolite Mapper (M2): New processing-mining platform for high resolution mass spectral metabolomic "big data"
- 10:10 - 10:30 Jaroslava Jáčová
FrO-018 Ureáza imobilizovaná na magnetických mikročásticích pro metabolomiku lidské moči
- 10:30 - 10:50 Přestávka na kávu a čaj IV.
- 10:50 - 11:50 **Karel Lemr** (*Univerzita Palackého v Olomouci*)
PL-2 Desorption nanoelectrospray: a story of one ion source
- 11:50 - 12:00 Závěr konference
- 12:00 - 14:00 Oběd

PL-1: Development of a surface acoustic wave nebulization ion source**David Goodlett** ^{1*}*1. University of Maryland*

A surface acoustic wave (SAW) is an acoustic wave traveling along the surface of a material. This phenomenon has been studied extensively in the field of electronics where SAW devices are widely used as filters, oscillators and transformers [1]. In 2010 the first paper describing their use for ion production for mass spectrometry was published, and the phrase ‘surface acoustic wave nebulization’ (SAWN) coined to describe this phenomenon [2]. Ions produced by SAWN are done so either in a continuous mode from a syringe pump depositing liquid on a chip or in a pulsed manner. In either mode nebulization occurs from a planar surface, with the opportunity to detect either positive- or negative-ions. Notably, SAWN mass spectra of chemical compounds in solution, such as peptides and proteins that are chemically basic in nature, commonly exhibit a shift toward lower average charge state distribution than is observed by electrospray ionization (ESI) of the same solution. Importantly, given that no DC voltage is applied to the liquid sample to produce ions, the SAWN nebulized ions have been shown to produce ions of lower internal energy than ESI [3]. We’ll present the results of our latest efforts to develop this method and couple it to digital microfluidics, for sample preparation on chip, as well as to a novel, hybrid ion mobility spectrometer coupled to a QExactive Orbitrap. Finally, we’ll review some very simple applications that benefit from the simplicity and speed of SAWN like analysis of fermented beverages.

* Korespondence: dgoodlett@rx.umaryland.edu

LITERATURA:

1. Lange K. et al.: Anal. Bioanal. Chem. 391(5), 1509-1519 (2008).
2. Heron S. R. et al.: Anal. Chem. 82(10), 3985-3989 (2010).
3. Huang Y. et al.: J. Am. Soc. Mass Spectrom. 23(6), 1062-70 (2012).

PL-2: Desorption nanoelectrospray: a story of one ion source

Karel Lemr^{1*}

1. Univerzita Palackého v Olomouci

In 2004 desorption electrospray (DESI) opened the era of ambient ionization techniques. DESI was soon followed by direct analysis in real time (DART, 2005) and more than 30 ion sources exist nowadays. The ambient ionization occurs under atmospheric pressure and none or only minimal sample preparation is required. Major ambient sampling processes cover liquid extraction (spray desorption, liquid microjunction, substrate spray), thermal/chemical desorption and laser desorption. For example drug or forensic analysis, metabolomics, protein analysis, food quality control and mass spectrometry imaging were carried out using these techniques.

In 2006 we designed desorption nanoelectrospray (nanoDESI). Primary charged droplets are generated by a nanoelectrospray tip (2 μm I.D.) without assistance of nebulizing gas (although this gas is considered to be essential for DESI). Further development of nanoDESI consisted in the improvement of robustness and later on in its coupling with a high resolution instrument which has facilitated analyte identification. Ion formation was investigated and high tolerance to salt in a sample was proved. NanoDESI was applied e.g. in pharmaceutical analysis, identification of anthocyanins in wine and in chiral analysis of pharmaceuticals in blood (diastereoisomers were generated directly in the source). Recently, its applicability in mass spectrometry imaging was tested. Surface resolution better than 50 μm was demonstrated using Rhodamine B patterns. Repeated imaging scans of the same surface area were possible as low flow rate of spray liquid reduced undesirable washing effects. Another application, tissue imaging, is under investigation.

* Korespondence: Karel.Lemr@upol.cz

LITERATURA:

1. Ranc V. et al.: Chem. Listy 101, 524-529 (2007).
2. Ranc V. et al.: Eur. J. Mass Spectrom. 14, 411-417 (2008).
3. Hartmanová L. et al: Analyst in press (2016).

PODĚKOVÁNÍ:

Many thanks to all my colleagues that "wrote" this story. Financial support by the Czech Science Foundation is acknowledged (project P206/12/1150).

WeO-001: Energy resolved CID and spectral comparisons

Károly Vékey^{1*}, Fanni Bazso¹, Oliver Ozohanics¹, Agnes Gomory¹, Lilla Turiak¹,
Laszlo Drahos¹

1. Research Centre for Natural Sciences, Hungarian Academy of Sciences

Collisional excitation and collision induced decomposition (CID) is a central aspect of the highly successful MS/MS technique. In spite of its importance, collisional excitation is of peripheral interest in most studies on MS/MS. In the present “Detlef Schröder” lecture we shall look at energy dependent CID spectra to demonstrate its importance and inherent possibilities.

We have developed/applied a mathematical formalism to characterize similarity of (tandem) mass spectra. This allowed quantitative comparisons on energy dependence: how similar are (or how similar can be) MS/MS spectra on various instruments. The most important parameter changing the aspect of an MS/MS spectrum is the collision energy; which can be varied on most instruments. We have studied energy dependence on various instruments and instrument types, like QQQ, QTOF and ion trap instruments. We have also compared other instrumental parameters, like the type and pressure of the collision gas; and compared the influence of these parameters to that of the collision energy. We have also checked if the laboratory-frame, or the centre of mass (com) frame collision energy is more useful for quantitative comparisons.

These fundamental studies have been followed by structural studies on peptides and glycopeptides. We shall show practical examples, how energy dependent mass spectra may be used to gain structural information – either activation parameters or improvement in structure assignment.

* Korespondence: vekey.karoly@tk.mta.hu

PODĚKOVÁNÍ:

OTKA 109006 for financial support.

WeO-002: Infrared and visible photodissociation spectra of rhodamine ions at 3 K in the gas phase

Juraj Jašík ¹, **Rafael Navrátil** ¹, Ivan Němec ², Jana Roithová ^{1*}

1. Department of Organic Chemistry, Charles University in Prague

2. Department of Inorganic Chemistry, Charles University in Prague

Rhodamines are class of compounds known for their interesting photophysical properties, e.g. high quantum yields and both excitation and emission in the visible area of the spectrum. Therefore they are widely used as dyes, gain mediums in dye lasers and fluorescent labels in various physical, chemical and biological applications [1].

In this work the first helium-tagging photodissociation spectra in the visible range (He@VisPD) using our special home-built instrument ISORI (Ion Spectroscopy of Reactive Intermediates) will be presented and demonstrated for the selected Rhodamine dyes (Rhodamine 123, Rhodamine 110 and Rhodamine 110's silver salt) [2]. The ISORI instrument allows us to measure visible and infrared spectra of mass-selected ions in the gas phase at temperatures reaching 3 K [3]. At these conditions, helium-tagged ions are in their ground vibrational state. Upon single-photon absorption, Rhodamine He@VisPD spectra feature the Franck–Condon envelopes with strong 0–0 transition. Experimental vibrationally-resolved spectra agree very well with the theoretical predictions for the excitation from the ground singlet state S₀ to the first singlet excited state S₁. Nice agreement between the theoretical simulation of the Franck–Condon envelopes with the measured He@VisPD spectra implies a negligible effect of the helium atom on the structure of Rhodamine ions, and therefore on the spectra.

In addition, the helium-tagging infrared photodissociation (IRPD) of Rhodamine ions will also be presented and compared to the classical solid-state infrared spectra. Both the IRPD spectra from the gas-phase and the solid-state IR spectra are accompanied by theoretical predictions using DFT calculations.

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

LITERATURA:

1. Sabnis R.W.: Handbook of Fluorescent Dyes and Probes. John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey (2015).
2. Jasik J. et. al.: J. Phys. Chem. A 119, 12648-12655 (2015).
3. Jasik J. et al.: Int. J. Mass Spectrom. 354-355, 204-210 (2013).

PODĚKOVÁNÍ:

The authors gratefully acknowledge financial support from the European Research Council (StG ISORI, No. 258299).

WeO-003: Reakce iontů H_3O^+ a NO^+ s molekulami atmosféricky významných monoterpenů

Kristýna Sovová¹, Anatolii Spesyvyi¹, Kateřina Šindelářová², Patrik Španěl^{1*}

1. J. Heyrovský Institute of Physical Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic

2. Institute of Information Theory and Automation, Dept. of Atmospheric Physics

Vegetace, především lesní ekosystémy, uvolňuje do svého okolí velké množství nejrůznějších těkavých látek, tzv. biogenních emisí (BVOCs). Tyto látky rostlinám slouží při jejich vývoji a růstu nebo jako forma komunikace či obrany vůči predátorům. Příspěvek biogenních emisí je v porovnání s antropogenními emisemi až desetinásobný [1]. BVOC látky se tak významně podílejí na reakcích probíhajících v troposféře vedoucích k vzniku přízemního ozonu a sekundárních aerosolových částic, PM10 [2]. Z hlediska fotochemického modelování atmosféry je nezbytné co nejpřesněji stanovit koncentrace a toky těchto látek. Téma biogenních emisí je v současné době v popředí vědeckého zájmu i v oblasti hmotnostní spektrometrie, avšak většina zavedených technik umožňuje pouze off-line analýzy vzorků vzduchu (TD-GC/MS) zatímco on-line techniky (proton transfer reaction mass spectrometry, PTR-MS) kvantifikují pouze celkovou koncentraci majoritních BVOCs jako jsou monoterpeny a sesquiterpeny [3]. Cílem výzkumu v oblasti iontové chemie je tedy navrhnout reakční schéma, které by umožnilo stanovit tyto látky v ovzduší selektivně a zpřesnit tak vstupní data pro atmosférické modelování. Jednou z možností je použití měkkých chemicko ionizačních technik SIFT-MS (selected ion flow tube MS) a SIFDT-MS (selected ion flow drift tube MS) a rozlišit izomery na základě rozdílných intenzit jednotlivých iontových fragmentů případně zvýrazněných pomocí srážkově indukované disociace přímo v prostředí driftové trubice.

* Korespondence: sovoval@natur.cuni.cz

LITERATURA:

1. Atkinson R. et al.: Atmosph. Environ. 37,197-219 (2003).
2. Presto A. et al.: Environ. Sci. Technol. 39,7046-7054 (2005).
3. Wang S. et al.: Int. J. Mass Spectrom. 228, 117-126 (2003).

ThO-004: Hmotnostní spektrometrie pro rychlé měření stopových koncentrací těkavých látek ve vzduchu a dechu s použitím měkké chemické ionizace: SIFT-MS, PTR-MS a SIFDT-MS

Patrik Španěl^{1 *}

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

Rostoucí zájem o rychlé a přesné měření koncentrací stopových množství látek přítomných ve vzduchu a podobných matricích (headspace biologických vzorků, potravin nebo dech) vedl ke konstrukci specializovaných hmotnostních spektrometrů založených na metodách hmotnostní spektrometrie v proudové trubici s vybranými ionty, SIFT-MS, a hmotnostní spektrometrie s reakcemi přenosu protonu, PTR-MS. V současnosti je možné těmito technikami během sekundy analyzovat páry těkavých organických látek i další plyny jako amoniak, sulfan nebo kyanovodík přítomné ve vzduchu i v koncentracích menších než objemová miliardtina (ppbv). Reagentové ionty jsou vytvářeny v elektrických výbojích a doba, po kterou reagují ionty s molekulami analyzovaných látek ve vzorku za tlaku 1 – 2 mbar je přesně definována, což umožňuje rychlou a přesnou kvantifikaci analytů.

Principy SIFT-MS a PTR-MS hmotnostně spektrometrických metod jsou založeny na iontové chemii a jsou důležité pro jejich použití v organické analýze. Reprezentativní příklady použití těchto technik zahrnují analýzu těkavých metabolitů v klinickém výzkumu, biogenních těkavých organických látek v atmosférickém monitoringu, chuťově významných látek v potravinářském výzkumu a ochranu zdraví pracovníků v kontejnerové dopravě.

Na základě zkušeností s analýzami pomocí SIFT-MS a PTR-MS probíhá výzkum možností dalšího vývoje těchto technik včetně nově popsané metody SIFDT-MS.

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

LITERATURA:

1. Španěl P. and Smith D.: *Mass Spectrom. Rev.* 30, 236-267 (2011).
2. Smith D. and Španěl P.: *Trends in Analyt. Chem.* 30, 945-959 (2011).
3. Spesyvyi A. et al.: *Anal. Chem.* 87, 12151-12160 (2015).

PODĚKOVÁNÍ:

GAČR projekt 13-28882S: Excitace, separace a fragmentace iontů v driftovém poli v SIFT-MS pro okamžitou selektivní kvantifikaci stopových plynů.

ThO-005: Comparative study of UO_2^{2+} and Fe^{3+} complexation with hydroxamate siderophore

Thibault Terencio¹, Jana Roithová^{1*}, Michel Meyer², Jean-Claude Chambron²

1. Department of Organic Chemistry, Faculty of Science, Charles University in Prague

2. Institut de Chimie Moléculaire de l'Université de Bourgogne (ICMUB)

Among actinides, uranium is particularly wide-spread because of its use in nuclear industry. Uranium can contaminate sea water, soils, or rivers from abandoned mines [1]. Related to this problem, complexation of uranium gained increasing interest in order to separate uranium, from neptunium and plutonium, during treatment of nuclear fuel.

Hydroxamate ligands represent one category of siderophores. Their high affinity for Fe(III) makes them particularly suitable in biological applications. It was shown that siderophores can also bind to other metal ions[2]. thus highlighting their advantage in solving environmental issues such as water pollution by heavy metals. Actinides are also known to establish strong bonds with oxygen atoms, thus, it has been suggested that siderophores can favorably bind to actinides [3].

The main objective of this work is to show to which extent the complexation of uranyl (UO_2^{2+}) and iron with a model hydroxamate (N-methylacetohydroxamate) is similar. In order to gain a deeper insight into the interactions between the metals and the hydroxamate, a combination of both theoretical calculations (DFT) and experimental data (IRMPD, mass, CID) was conducted.

Comparison between IRMPD and theoretical IR spectra allows us to propose structures for uranium and iron complexes. The results show that both complexations are similarly of covalent nature with a strong ionic character, with a slightly stronger ionic character in uranium complexes. While the bonding between the metals and the ligand is similar, the unimolecular reactivity at elevated collision energies in the dissociation experiments differ. The uranium complex shows a specific reactivity of the uranyl group with hydroxamate leading to a water loss.

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

LITERATURA:

1. Dias da Cunha K. M. et al.: Environ. Geochem. Health 36 (3), 477–487 (2014).
2. Ducháčková L. et al.: Chem. - A Eur. J. 15 (48), 13399–13405 (2009).
3. Raymond K. N. et al.: Inorganica Chim. Acta 94 (4), 193–204 (1984).

ThO-006: Od EIMS po REIMS aneb 40 let s hmotnostní spektrometrií**Miroslav Flieger ^{1*}***1. Institute of Microbiology of the CAS, Prague, CZ*

Cílem této krátké prezentace není jen ukázat výsledky, kterých bylo dosaženo pomocí hmotnostní spektrometrie během posledních 40. let, ale především poděkovat všem za skvělou spolupráci.

Od počátku své vědecké kariéry jsem se zabýval izolací a strukturální identifikací sekundárních metabolitů produkovaných submersními kulturami vláknitých hub, především rodu *Claviceps* a tak mé první setkání s hmotnostní spektrometrií se týkalo právě identifikace izolovaných látek. Pro měření spekter jsme využívali hmotnostní spektrometr Varian MAT 311 (70eV, teplota iontového zdroje 200°C) a NMR Jeol FX-60 (59.797 MHz pro ¹H 15.036 MHz pro ¹³C spektra. Pomocí těchto přístrojů se podařilo identifikovat více jak deset nových alkaloidů několik jejich polosyntetických derivátů. Zásadní změna nastala v druhé polovině 80. let kdy byly oba přístroje nahrazeny novými a to dvousektorovým hmotnostním spektrometrem Finnigan Mat MAT 90 umožňujícím několik typů ionizace (EI, CI a posléze FAB) a NMR spektrometrem VXR-400 Varian pracujícím na frekvenci 400 MHz pro ¹H a 100 MHz pro ¹³C. I na těchto přístrojích jsme pokračovali v identifikaci nových námelových alkaloidů, jejich derivátů (především glykosidů), degradačních produktů a vedlejších produktů chemických syntéz. Poslední dvě dekády lze charakterizovat bouřlivým rozvojem technologií včetně hmotnostní spektrometrie. Nové metody ionizace MALDI, ESI, atd., nové analyzátory iontová past, TOF a vývoj FTMS, REIMS to vše přináší nové možnosti a zcela nové aplikace které se do studovaných problematik začínají promítat.

* Korespondence: flieger@biomed.cas.cz

ThO-007: To be announced...

Marián Hajdúch^{1*}

1. Ústav molekulární a translační medicíny

To be announced...

* Korespondence: marian.hajduch@upol.cz

ThO-008: HPLC ve spojení s ESI, MALDI a SALD ICP MS – detekční platforma pro charakterizaci metallothioneinů

Kateřina Jägerová¹, Iva Benešová^{2,3}, Kristýna Dlabková², Viktor Kanický^{2,3},
Jan Preisler^{2,3*}

1. Masarykova univerzita, Brno, ČR

2. Masarykova Univerzita, Brno, ČR

3. Středoevropský technologický institut – CEITEC

V této práci představujeme použití nové detekční platformy, která umožňuje současné spojení konvenční LC-ESI MS s dvěma dalšími detekčními technikami: MALDI a laserová desorpce za účasti substrátu ICP MS. Jako modelový systém byl zvolen metallothionein-1 (MT-1), nízkomolekulární protein schopný vázat velké množství kovů (např. Zn, Cu, Cd, Hg).

Komplexy MT-1 s kovy byly analyzovány na koloně Vydac C8 (150 x 4.6 mm x 5 μ m). Pro separaci MT-1 forem (MT-1a, MT-2d, MT-2e) byl eluát vycházející z HPLC rozdělen. Jedna část toku byla vedena přímo do ESI oTOF MS, druhá část byla nanesena ve formě 1.6 μ l frakcí na plastový terčik (Prespotted AnchorChip 96). Po zaschnutí byly nanesené frakce převrstveny 0.5 μ l matricí (nasyčený roztok CHCA v 20% ACN (v/v), 1% TFA) s interním standardem (In). Off-line MALDI TOF a q-SALD ICP MS detekce byla provedena ze stejného terčiku.

On-line a off-line analýzou byly současně detekovány izoformy MT-1 (komplexy s kovy), apoformy (formy bez kovů) a bylo stanoveno celkové množství kovů obsažené v jednotlivých formách MT-1. Díky on-line ESI MS byly stanoveny komplexy MT-1 a jejich stechiometrie s kovy. MALDI MS poskytla přídatnou informaci o apoformách a usnadnila identifikaci forem MT-1. Pomocí SALD ICP MS bylo stanoveno přesné množství kovů a zároveň jednotlivých forem metalloproteinů.

* Korespondence: preisler@chemi.muni.cz

LITERATURA:

1. Tomalová I. et al.: Anal. Chem. 8, 6448-6456 (2013).

PODĚKOVÁNÍ:

Děkujeme Grantové agentuře České republiky (GA15-05387S) a Středoevropskému technologickému institutu – CEITEC 2020 (LQ1601).

ThO-009: Interactome of human DNA damage-inducible protein 2 (Ddi2). What is the effect of different tagging strategies and how to increase the confidence of the emerging interaction map?

Martin Hubálek^{1*}, Michal Svoboda¹, Jan Belza¹, Klára Grantz Šašková^{1,2},
Jan Konvalinka¹

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

2. Katedra Biochemie, Přf UK Praha

DNA damage-inducible protein 1 (Ddi1) is an eukaryotic protein whose role has been implicated in DNA damage response (DDR) pathway. In spite of several structural and functional studies, the biochemical function of Ddi1 has so far remained elusive. The Ddi1 protein family is characterized by a highly conserved central domain homologous to retroviral aspartyl proteases called retroviral protease-like domain (RVP) of Ddi1. It also possesses an N-terminal ubiquitin-associated (UBA) domain that binds selectively to Lys48-linked polyubiquitin chains and helical domain of Ddi1 (HDD) that is probably an interaction module that mediates substrate recognition of protease-like domain. In yeast the protein is indeed induced by DNA damage, plays role in cell cycle control and exocytosis. In human, the domain structure varies slightly and the function of the protein is not known at all. We performed a quantitative mass spectrometric analysis of potential binding partners of human Ddi2 by FLAG tagging first N-terminus then C-terminus of the polypeptide chain. Proteins binding to FLAG-Ddi2 were compared to the control cell lines during affinity purification procedure followed by label free data independent analysis (SWATH). The measurement was performed on 5600 TripleTOF, analysis in PeakView 2.2 and statistical analysis was carried out in MarkerView. To confirm the newly found interactions we selected one of the identified proteins (UV excision repair protein RAD23 homolog B) and reverse the experiment. The results confirm the specific interaction of these proteins that links Ddi2 into the process of ubiquitin dependent regulatory proteolysis.

* Korespondence: hubalek@uochb.cas.cz

ThO-010: Protein profile of seminal plasma and functionality of spermatozoa over the course of reproductive season in carp (*Cyprinus carpio*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Anna Kolečová^{1*}, Petr Kotas², Jan Štěrba^{2,3}, Marek Rodina¹, Jacky Cosson¹,
Otomar Linhart¹

1. FROV JCU

2. University of South Bohemia in České Budějovice, Faculty of Science

3. Institute of Parasitology, Biology Centre of Academy of Sciences of the Czech Republic

The purpose of the present study was to analyze changes of seminal plasma compositions, sperm production characteristics and sperm motility traits during spawning season in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and common carp (*Cyprinus carpio*). The highest average percentage of motile sperm cells ($95.5 \pm 5.64\%$) and spermatozoa velocity ($265.78 \pm 8.1 \mu\text{m/s}$) was observed in mid phase of spawning at 5 s post activation in both analyzed species. Sperm volume and spermatozoa concentration generally increased first, then decreased significantly towards the end of the season in both species. Seminal plasma osmolality was 262-270 mOsmol kg^{-1} in carp and 232-248 mOsmol kg^{-1} in rainbow trout, with small variation between each phase of spawning. Protein concentration of seminal plasma was stable during the entire reproductive season in carp, however in rainbow trout the highest amount of proteins ($2.14 \pm 0.28 \text{ mg ml}^{-1}$) was observed in the middle period of breeding. Seminal plasma composition in both experimental species was analyzed using 2D-PAGE combined with MALDI-TOF/TOF MS. 16 differentially expressed spots from rainbow trout seminal plasma and 13 protein spots from seminal plasma of carp were changed over the course of reproductive period. The proteins identified as unique are involved in the regulation of sperm motility, spermatogenesis, maintenance of sperm membrane lipid stability and antioxidant protection. The current data set on physiological and functional sperm parameters and protein patterns of seminal plasma during different time of spawning will lead to a better understanding of fertilization and gamete quality and can increase success of artificial insemination methods in these species.

* Korespondence: annucha1987@gmail.com

PODĚKOVÁNÍ:

The study was financially supported by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic - projects „CENAKVA“ (No. CZ.1.05/2.1.00/01.0024), „CENAKVA II“ (No. LO1205 under the NPU I program), Postdok BIOGLOBE (CZ. 1.07/2.3.00/30.0032), COST Office (Food and Agriculture COST Action FA1205: AQUAGAMETE) and by the Czech Science Foundation (15-03044S). Access to instruments and other facilities was supported by the Czech research infrastructure for systems biology C4SYS (project no LM2015055).

ThO-011: Advanced glycomic profiling in cancer research

Milos V. Novotny ^{1,2*}

1. Indiana University, Bloomington, Indiana, USA

2. RECAMO, Masaryk Memorial Oncological Institute, Brno, CZ

Both N- and O-linked glycans often appear as structural determinants in the most important biological interactions involving immunity and cancer. Quantitative profiling of glycans in physiological fluids and biopsies from cancer patients can thus provide a wealth of clinically useful information. Different analytical methods have been employed in acquisition of glycan profiles in different types of cancer and its stages: mostly MALDI- and ESI-mass spectrometry (MS), but also HPLC-fluorescence and microchip electrophoresis/laser-induced fluorescence (LIF) detection. Analytical outputs from different patient cohorts must then be rigorously evaluated through the clinically established statistical procedures. Biochemical interpretation of glycosylation mechanisms necessitates exact structural assignments, which are not always clear from typical analytical data. Cancer biomarker search often implicates the needs to resolve glycan isomers as a part of such interpretations. The currently explored approaches to isomeric resolution of oligosaccharides involve ultrahigh-pressure capillary LC, microchip electrophoresis, or ion-mobility spectrometry used prior to mass spectrometry. Glycomic profiling applications will be exemplified through the cancer samples of blood serum, ascitic fluids and urinary exosomes. During recent investigations, emphasis has been placed on certain classes of N-glycans featuring different positions of fucosyl residues, bisected structures, α -2,3- vs. α -2,6-linked sialyl-substituted multiantennary glycans, and paucimannosidic structures. It can be shown that the MS-based profiling and microchip electrophoresis/LIF provide complementary analytical data. However, O-glycan profiling necessitates alternative sample treatment and analytical strategies.

* Korespondence: novotny@indiana.edu

ThO-012: Využití hmotnostní spektrometrie v úřední kontrole potravin

Petr Cuhra ^{1*}

1. Státní zemědělská a potravinářská inspekce

Hmotnostní spektrometrie již dnes patří ke standardnímu vybavení laboratoře zajišťující analýzu potravin pro účely úřední kontroly. Z dříve výjimečné techniky, omezené na kombinaci kvadрупolového analyzátoru s plynovým chromatografem (GC-MSD) dnes disponuje laboratoř celou škálou variant hmotnostních spektrometrů a jejich kombinací s dalšími separačními technikami.

První GC-MSD zařízení bylo do pražské laboratoře Státní zemědělské a potravinářské inspekce (SZPI) pořízeno v roce 1987. Tehdy zařízení sloužilo zejména pro stanovení a potvrzení polychlorovaných bifenylyů (PCB) a chlorovaných pesticidů jako bylo DDT, HCB nebo HCH. V současné době je laboratoř SZPI vybavena v oblasti plynové chromatografie vedle jednoduchého kvadрупolu (GC-MS) také trojitým kvadрупolem (GC-MS/MS) a hmotnostním analyzátořem na principu doby letu ve spojení s dvourozměrnou plynovou chromatografií (GCxGC-TOF).

S rozvojem možností propojení kapalinové chromatografie s hmotnostními spektrometry (LC-MS) a s výrazným pokrokem v jejich detekčních možnostech došlo k rozšíření této techniky i do kontroly potravin. Prvním zařízením, které bylo určeno pro rutinní stanovení polárních pesticidů, bylo v roce 2002 pořízené LC-MS na principu iontové pasti (LC-ITD). Logickým pokračováním nastoleného trendu bylo v roce 2007 vybavení laboratoře LC s trojitým kvadрупolem (LC-MS/MS). V současné době je laboratoř vybavena celkem třemi LC-MS/MS sestavami a jedním hmotnostním spektrometřem na principu doby letu s vysokým rozlišením (LC-QTOF).

Uvedené sestavy slouží k celé škále analýz od stanovení pesticidů, mykotoxinů, kontaminantů, anabolických steroidů a biologicky aktivních látek, přes analýzy zaměřené na odhalování falšování potravin až po proteomickou analýzu.

* Korespondence: petr.cuhra@szpi.gov.cz

ThO-013: Analýza nanočástic pomocí ICP MS s laserovou desorpcí za účasti substrátu

Jan Preisler ^{1,2*}, Iva Benešová ^{1,2}, Kristýna Dlabková ¹, František Zelenák ¹,
Tomáš Vaculovič ^{1,2}, Viktor Kanický ^{1,2}

1. Ústav chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova Univerzita, Brno

2. CEITEC – Středoevropský technologický institut, Masarykova Univerzita, Brno

Rostoucí používání nanomateriálů a související potenciální vliv na životní prostředí jsou předmětem zájmu vědecké komunity i kontrolních orgánů. K charakterizaci nanomateriálů byla navržena řada metod; jedna ze zavedených analytických metod je hmotnostní spektrometrie indukčně vázaného plazmatu (ICP MS) v režimu detekce jednotlivých částic. Za tímto účelem jsou nanočástice zaváděny do plazmové hlavice pomocí zmlžovače nebo generátorů mikroskopických kapek. V tomto příspěvku pojednáváme o použití laserové desorpce za účasti substrátu (SALD), techniky zavádění vzorku do ICP MS vyvinuté v naší skupině pro analýzu kapalných vzorků o submikrolitrovém objemu [1], pro charakterizaci nanočástic.

Vzorky suspenze nanočástic (s řádově stovkami nanočástic v kapce o objemu 200 nl), jsou naneseny a vysušeny na silně absorbující destičce z polyethylentereftalátglykolu, která je ablatována pulsy laseru (213 nm) o relativně nízké hustotě energie (0,15 J/cm²). Vzniklý aerosol je zaváděn do kvadrupólového hmotnostního spektrometru ICP.

Ukazuje se, že jednotlivé neporušené nanočástice mohou být s vysokou účinností desorbovány z povrchu a dopraveny do plazmového hořáku. Experimentální podmínky, zejména hustota energie laseru, rychlost skenování vzorku, typ nosného plynu a jeho průtok, byly pečlivě optimalizovány s cílem získat nejvyšší intenzitu signálu nanočástic, zvýšit transportní účinnost a snížit rozpad nanočástic v desorpčním kroku. SALD ICP MS byla ověřována pomocí referenčního materiálu zlatých nanočástic a použita ke kvantitativní analýze komerčně dostupného vzorku zlatých nanočástic. Výsledky jsou porovnány se zavedenou technikou ICP MS využívající zmlžovač [2].

* Korespondence: preisler@chemi.muni.cz

LITERATURA:

1. Peš O. et al.: Anal. Chem. 80, 8725-8732 (2008).
2. Benešová I. et al.: Anal. Chem. 88, 2576–2582 (2016).

PODĚKOVÁNÍ:

Děkujeme za finanční podporu Grantové agentuře České republiky (GA15-05387S) a projektu CEITEC 2020 (LQ1601) Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.

ThO-014: Aplikace iontové mobility v analýze potravin

Ondřej Lacina^{1,2*}, Marie Fenclová², Vít Kosek², Jana Hajšlová²

1. HPST s.r.o.

2. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

Iontová mobilita (ion mobility, IM) v driftovací trubici je přes padesát let známá technika separace iontů v plynné fázi, kde se ionty dělí na základě náboje a tvaru molekuly. Díky spojení iontové mobility s hmotnostní spektrometrií, především s analyzátory doby letu iontů (time-of-flight, TOF) se však v poslední době dostává do popředí zájmu v analýze velkých i malých molekul. Potenciál přidané separační dimenze IM spočívá ve zvýšení kapacity píků, zlepšení selektivity nebo v separaci izobarických látek. Dále IM v driftovací trubici umožňuje přímý výpočet průměrného kolizního průřezu molekuly (collision cross section, CCS), který lze použít jako jedno z kritérií pro identifikaci analytů. Na druhou stranu, kombinace IM ke hmotnostnímu analyzátoru má často za následek snížení transmise iontů, užší dynamický rozsah a také díky dalšímu rozměru komplikovanější data.

Techniku kapalinové chromatografie s TOF hmotnostním analyzátoem vybaveným iontovou mobilitou v driftovací trubici lze využít pro řadu aplikací z oblasti z analýzy potravin. Na příkladech jako je analýza konjugovaných mykotoxinů v pivu nebo profilování whisky ukážeme nejen výhody, ale i limitace iontové mobility v analýze malých molekul.

* Korespondence: ondrej.lacina@hpst.cz

FrO-015: Význam klinické metabolomiky založené na hmotnostní spektrometrii

David Friedecký^{1,2*}, Radana Karlíková¹, Lukáš Najdekr¹, Alžběta Gardlo^{1,3},
Edgar Faber⁴, Kateřina Mičová¹, Hana Janečková^{1,2}, Jaroslava Jáčová^{1,2}, Karel Hron³,
Tomáš Adam^{1,5}

- 1. Ústav molekulární a translační medicíny, Lékařská fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci*
 - 2. Laboratoř dědičných metabolických poruch, Oddělení klinické biochemie, Fakultní nemocnice Olomouc*
 - 3. Katedra matematické analýzy, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci*
 - 4. Hemato-onkologická klinika, Fakultní nemocnice Olomouc*
 - 5. Oddělení klinické biochemie, Fakultní nemocnice Olomouc*
-

Již několik dekád hraje hmotnostní spektrometrie zásadní roli v klinické diagnostice. Úspěšně se tato technika aplikuje na oblast terapeutického monitorování léčby, stanovení vybraných biomarkerů, toxikologický screening anebo diagnostiku dědičných metabolických poruch. Metabolomika je logickým vývojovým krokem vpřed v komplexní analýze biologického materiálu. Zahrnuje široké spektrum metabolitů dle specifík zvolených separačních technik (LC, GC). Jsou aplikovány dva rozdílné přístupy – první, cílená metabolomika, je založena na relativní kvantifikaci vybraných metabolitů (řádově stovky) za pomoci hmotnostních analyzátorů s jednotkovým rozlišením (kvadrupól, iontová past, trojitý kvadrupól). Druhý přístup, necílená metabolomika, využívá vysoce rozlišující hmotnostní spektrometry (TOF, Orbitrap) pro komplexní screening tisíců komponent představující potenciální metabolity. Metabolomický workflow se skládá ze specifické přípravy vzorku, měření, zpracování a statistického vyhodnocení dat. Každý krok obsahuje kritická místa, která často bývají zdrojem chyb a negativně ovlivňují výsledky či interpretace metabolomických dat. V příspěvku budou prezentovány klinické aplikace cílené a necílené metabolomiky zaměřené na pochopení patobiochemických procesů (např. u onkologických onemocnění, neurodegenerativních poruch) a hledání nových biomarkerů dědičných metabolických poruch.

* Korespondence: david.friedecky@gmail.com

PODĚKOVÁNÍ:

Grantová podpora: NPU I (LO1304), GAČR I 1910-N26, IGA_LF_2016_014.

FrO-016: Molecular and elemental bioimaging of human brain tumors

Barbara Crone^{1*}, Sabrina Kröger¹, Ann-Christin Niehoff¹, Uwe Karst¹

1. Institute of Inorganic and Analytical Chemistry, University of Muenster, Germany

Glioblastoma is the most common malignant brain tumor. The survival rate can be enhanced by surgical resection supported by contrast enhancement using a fluorescent dye. The administration of 5-aminolevulinic acid (5-ALA), a natural precursor of hemoglobin with fluorescent protoporphyrin IX (PPIX) as intermediate, has been established as an important technique. In this study, a molecular and elemental imaging method combining spatially resolved information from MALDI-MS and LA-ICP-MS is developed for the investigation of 5-ALA, PPIX and heme distribution in human brain tumor tissue.

Experimental conditions for MALDI-MS measurements of 5-ALA, PPIX and heme were optimized by dried droplet analysis of the pure substances. To improve signal to noise ratio, MS/MS experiments were used for PPIX and heme detection. MALDI-MS analysis of the tumor tissue were performed in four different modes using a shift in the pixel arrangement. Small mass ranges were selected to obtain the highest sensitivity, the MS analysis of 5-ALA and PPIX/heme was performed with two mass ranges. Moreover, MS/MS imaging of PPIX and heme improved limits of detection and validated MS data. By applying the MALDI-MS and MALDI-MS/MS imaging method to cryosections of human brain tumor, PPIX accumulation in tissue of high tumor grade could be shown.

Elemental bioimaging of Fe, corresponding to heme, was performed by LA-ICP-MS. For quantification, external calibration with homemade matrix-matched standards was used. Matrix-matched standards based on HEC provided low limits of detection (LOD; 1.1 $\mu\text{g/g}$) and quantification (LOQ; 3.5 $\mu\text{g/g}$) according to the 3- and 10- σ criterion. Fe accumulations of over 200 $\mu\text{g/g}$ could be found in the tumor tissue correlating well with blood vessel distribution.

* Korespondence: barbaracrone@uni-muenster.de

FrO-017: Metabolite Mapper (M2): New processing-miningplatform for high resolution mass spectral metabolomic "big data"

Jan Fesl^{1,2*}, Martin Moos¹, Šimek Petr¹

1. BC AV CR

2. UAI PRF JU

High-resolution mass spectrometry (HRMS) has rapidly expanded into biological, biomedical and omics research and often generates tremendous data packages, typically named "big data". In this contribution, we describe a new software-hardware platform for the big data processing/mining obtained from non-targeted metabolomics LC-HRMS data analysis. The hardware architecture consists of a series of multiprocessor computers and is supported by the developed software tool called Metabolite Mapper (M2) which utilizes distributed parallel computing services. The M2 organizes on-line data transfer from the measuring LC-HRMS instrument and ultrafast processing of LC-HRMS large data sample batches by the M2 platforms which is accomplished in a few minutes. The main M2 features possess standard current metabolomics routines: peak picking, compound alignment, prediction of the elemental composition based on heuristic rules, compounds identification by the various in-house and online databases. Moreover the interactive web interface called MetCloud enables remote data processing and mining. The remote access and supercomputing "central mining utility" (CMU) facility developed at the Dept. of Applied Informatics, University of South Bohemia, create a comfortable environment for the effective data processing and mining of the acquired large LC-HRMS sample batches and facilitate thus the time-consuming manipulation with the acquired and stored HRMS big data.

* Korespondence: fesl@post.cz

FrO-018: Ureáza imobilizovaná na magnetických mikročasticích pro metabolomiku lidské moči

Jaroslava Jáčová^{1,2*}, Miroslav Jořenek³, David Friedecký^{1,2}, Lukáš Najdekr^{1,2}, Sanja Zeljković Čavar⁴, Petr Tarkowski⁴, Ludmila Zajoncová³, Tomáš Adam^{1,2}

1. Ústav molekulární a translační medicíny

2. Laboratoř dědičných metabolických poruch

3. Katedra biochemie PŘF UP

4. Centrum regionu Haná pro biotechnologický a zemědělský výzkum

Močovina (urea) je jednou z hlavních komponent matrice moči. Díky vysoké koncentraci a polárním charakteru komplikuje analýzy močového metabolomu, zejména při použití GC/MS techniky. Proto je nezbytné ureu před analýzou z moči odstanit. Od 70. let se používá extrakce či ureáza. Zatímco extrakce výrazně mění močový metabolom (selektuje pouze určitou skupinu látek), ureáza vnáší do vzorku řadu artefaktů. Cílem práce bylo vyvinout metodu přípravy vzorku pomocí ureázy imobilizované na magnetických mikročasticích a srovnat ji s rutinně používanými metodami přípravy vzorku (kyselou extrakcí do ethylacetátu, ošetření volnou ureázou a vzorky bez úpravy). Byla připravena ureáza imobilizovaná na mikročasticích MG100, vykazující specifickou aktivitu 141 % (oproti volné ureáze), operační stabilitu 69 %, stabilitu po opakovaném rozmrazování 83 % a skladovací stabilitu 100 % (1 měsíc při -80 °C). Vliv různých postupů přípravy vzorku by studován metodami cílené GC/MS analýzy (vybrané organické kyseliny s deklarovanou koncentrací), necílené GC/MS analýzy (celý metabolom analyzovatelný pomocí GC/MS) a cílené LC/MS analýzy (ostatní non-GC/MS metabolity). Pomocí analýzy standardního materiálu na bázi lidské moči bylo zjištěno, že imobilizace ureázy na mikročastice výrazně snižuje množství artefaktů i variabilitu metabolitů (průměrný CV extrakce 27 %, nativní 11%, volné ureázy 8 %, imobilizované ureázy 4 %). Analýza hlavních komponent a Wilcoxonův test prokázaly, že moč ošetřená imobilizovanou ureázou poskytuje srovnatelné výsledky s dříve publikovaným přístupem založeným na volné ureáze. Vysoká koncentrace urey v nativních vzorcích znemožnila použití metody necílené metabolické analýzy. Nově vyvinutý přístup přípravy vzorku byl aplikován na moči pacientů s metabolickými poruchami.

* Korespondence: jaroslava.jacova@gmail.com

LITERATURA:

1. Webb-Robertson B.J. et al.: *Metabolomics* 10(5), 897-908 (2014).

PODĚKOVÁNÍ:

Grantová podpora: IGA_LF_2016_014, NPU I (LO1304), GAČR I 1910-N26

WeP-001: Derivatization of 7-hydroxymatairesinol and enterolactone and determination of their silyl derivatives by various chromatographic techniques

Jan Bednář^{1,2}, Petr Kotas^{3,2 *}, Naděžda Vrchotová³, Jan Tříška^{3,2}

1. Global Change Research Institute AS CR

2. Institute of Chemistry and Biochemistry, University of South Bohemia

3. Global Change Research Institute AS CR

Lignans are rich group of plant metabolites whose primary structural element are two phenyl propane units. The role of lignans in plant metabolism is still discussed, but it is thought to play a role in plant defense [1]. Aim of this work was the development of GC/MS methods for the determination of lignans in samples of natural waters. As model analytes to optimize their determination 7-hydroxymatairesinol as a representative of plant lignans and enterolactone representing metabolites of lignans were selected. Due to the nature of controlled substances the necessary step for the determination by gas chromatography is derivatization of free -OH groups. Due to the expected low concentrations of lignans in the samples, we decided to test a variety of derivatizing agents providing trimethylsilyl derivatives in the highest yield. During the first validation tests on GC/MS, we found that silyl derivatives of these two substances behave abnormally. The calibration curve did not form the straight line, but it was convex. In this context, we tested the influence of inserts silanization as prevention of analytes loss by adsorption to glass surfaces during sample preparation and derivatization recovery depending on the method for preparation of calibration solutions for individual calibration points. In the chromatography step, we tested four different shapes of liners and two capillary columns with different stationary phase polarity. None of these changes, however, affected the calibration curve character, as well as various types of mass detectors (single and triple quadrupole and ion trap). For comparison of calibration curves we included also analysis of the silyl derivatives by GC/FID and checked the response of both underivatized lignans by HPLC DAD.

* Korespondence: kotyno@prf.jcu.cz

LITERATURA:

1. Holmbom B.R. et al.: J. Chromatogr. A. 1112, 64-77 (2006).

PODĚKOVÁNÍ:

This work was supported by the Ministry of Education, Youth and Sports of CR by the project KONTAKT, No. LH13045 and within the National Sustainability Program I (NPU I), grant number LO1415.

WeP-002: Determination of steroids and biomarkers of anthropogenic activity in the constructed wetland by GC-MS using a triple quadrupole

Jan Tříska ^{1,2*}, Josef Vilímek ²

1. Global Change Research Institute AS CR

2. Institute of Chemistry and Biochemistry, University of South Bohemia

The concentration of steroid substances in waste waters varies from fractions of nanograms up to hundreds of ng/l of water and steroid compounds are often not removed from wastewaters completely. It is therefore highly desirable to develop reliable and robust method for the determination of steroids in water because of their estrogenic properties. Within the project mentioned below the method was developed for the simultaneous determination of steroids (total 19), 3 phytosterols and 5 biomarkers of anthropogenic activity (DEET, cotinine, galaxolide, coprostanol and bisphenol A). The method comprises the following steps: SPE on Oasis HLB, derivatization and determination using GC-MS. By optimization of SPE parameters acceptable recovery of steroids was achieved (80-109 %), with standard deviation in the range of 2-10 % for six determinations and 22 compounds in total. The substances were eluted with 12 ml of methanol and methyl tert-butyl ether (10 + 90 v/v) and derivatized using MSTFA activated with trimethylsilyl ethanethiol (act. II), which allows simultaneous silylation of the hydroxy- and keto groups in a single step. Obtained silyl derivatives were measured on the triple quadrupole TSQ 8000 after their separation on the fused silica capillary column DB-5 MS. Quantification was performed by SRM technique using selected deuterated standards. For all tested compounds the linear calibration range from 10 to 5000 ng/l was achieved under optimal conditions with the correlation coefficient (R²) 0.99. Real water samples were collected in the constructed wetland in the village Libníč near České Budějovice. From the measured inflow and outflow concentrations it was found that steroid compounds are removed much more efficiently than bioindicators of anthropogenic activity.

* Korespondence: triska.j@czechglobe.cz

LITERATURA:

1. Foreman, W.T. et al.: U.S. Geological Survey Techniques and Methods 5, chap. B9, 118 p (2012).
2. Fang K. et al.: Chinese J. Anal. Chem. 38(5), 743–751 (2010).

PODĚKOVÁNÍ:

This work was supported by the Ministry of Education, Youth and Sports of CR by the project KONTAKT, No. LH13045 and within the National Sustainability Program I (NPU I), grant number LO1415.

WeP-003: Structural analysis of filamentous hemagglutinin (FhaB) from *Bordetella pertussis*

David Jurnečka^{1*}, Petr Man¹, Petr Halada¹, Petr Šebo¹, Ladislav Bumba¹

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

Filamentous hemagglutinin (FHA) is a rod-shaped protein molecule that is heavily secreted during infection of the Gram-negative bacterium *Bordetella pertussis*, the causative agent of whooping cough. FHA is initially synthesized as a 370 kDa precursor (FhaB) that undergoes proteolytic removal of its ~ 140 kDa C-terminal prodomain during translocation to the cell surface. This processing is mediated by SphB1 protease and yields several secreted forms of mature protein that range between 210 and 230 kDa in size. Despite FHA being one of the major components of acellular pertussis vaccine the processing sites of FhaB remains to be unknown. Here, we identified the C-terminal residues of two secreted forms of FHA as alanine residues in position 2348 and 2228. Furthermore, we found ~ 12 kDa very C-terminal part of FhaB prodomain to be secreted in large quantities to the extracellular milieu during *B. pertussis* cultivation. This subdomain was shown to play important role during murine respiratory tract infection and its structure-functional properties will be further evaluated.

* Korespondence: david.jurnecka@biomed.cas.cz

PODĚKOVÁNÍ:

This work was supported by GA ČR (GA15-11851S, GA13-14547S).

WeP-004: Transcription factor – DNA interaction studied by structural mass spectrometry.

Lukáš Slavata^{1*}, Petr Man^{1,2}, Michal Rosůlek^{1,2}, Daniel Kavan^{1,2}, Alan Kádek^{1,2},
Hynek Mrázek¹, Petr Novák^{1,2}

1. Institute of Microbiology CAS, Vídeňská 1083, Prague

2. Faculty of Science, Charles University in Prague, Hlavova 8, Prague

Transcription factors (TF) regulate gene expression through interactions with DNA and other regulatory proteins. Our understanding of this regulation depends on the knowledge of the TF-DNA complex structure, which is accessible by the conventional methods (X-ray, NMR), yet the process is still very challenging.

In this study we aimed at the development of complex but fast and straightforward MS3D method allowing detailed description of a TF-DNA complex. As a starting point we selected well-characterized model, the DNA binding domain of Forkhead-box transcription factor (FOXO4), with its target DNA sequence - DAF-16 DNA native response element. On this system we applied a palette of MS3D approaches including H/D exchange, protein-protein and protein-DNA cross-linking to investigate the protein-DNA complex structure in solution.

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

PODĚKOVÁNÍ:

The following funding sources are gratefully acknowledged - MSMT (LD15089), EU (CZ. 1.05/1.1.00/02.0109; CZ.2.16/3.1.00/24023) and Charles University in Prague (UNCE 204025/2012).

WeP-005: Localization and identification of fucosylated glycoproteins in *Ixodes ricinus* ticks

Jarmila Štěrbová^{1,2}, Jaroslav Ondruš¹, **Ján Štěrba**^{1,2*}, Peter Koník¹, Petr Kotas¹, Marie Vancová^{1,2}, Libor Grubhoffer^{1,2}

1. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Přírodovědecká fakulta
2. Parazitologický ústav BC AVČR, v.v.i. České Budějovice

Fucosylated proteins are widely present in all the different kingdoms of life. Fucose α 1,3-linked to the core of the *N*-glycans is commonly found in invertebrates and also plants or parasites. This type of fucosylation is immunogenic in mammals and is responsible for allergic reaction to insect venom. The presence of core-fucosylated *N*-glycans was shown in ticks as well using MALDI-TOF/TOF. These glycans were shown to be required for the successful colonization of ticks by the pathogenic bacterium *Anaplasma marginale*.

To distinguish fucosylated proteins from the host (blood) and from the tick itself, we used the alkyne derivative of fucose. The fucose-alkyne (Fuc-alk) incorporated into glycans by the tick cells was labeled by Alexa 488-azide and biotin-azide using the Click reaction.

The utilization of Fuc-alk by tick cells was verified in the tick cell line CTVM/IRE 19. Next, Fuc-alk was added to blood during artificial feeding of *I. ricinus* females. The presence of fucosylated glycoproteins was confirmed in both tick cell lines and artificially fed ticks in all studied tick organs. In the gut, fucosylated glycoproteins were localized to plasma membranes of gut cells and to microvilli; all three types of acini were stained in salivary glands; and fucosylated glycans seem to localize to endoplasmic reticulum and egg surface layer in the ovary.

The labeled proteins were also purified using immunoprecipitation and the purified proteins were identified by mass spectrometry. Similarly, non-labeled fucosylated glycoproteins were purified using antibodies directed against core- α 1,3-fucose.

Several proteins were identified, such as histones, ATP synthase, heat shock proteins and others.

* Korespondence: sterbj02@prf.jcu.cz

PODĚKOVÁNÍ:

This work was supported by the Czech Science Foundation [P302/11/1901, P302/12/2490, 15-03044S]. This publication was supported by the project Postdok_BIOGLOBE (CZ. 1.07/2.3.00/30.0032) co-financed by the European Social Fund and the state budget of the Czech Republic. Access to instruments and other facilities was supported by the Czech research infrastructure for systems biology C4SYS (project No. LM2015055).

WeP-006: Application of microgradient separation for an improved protein identification using MALDI MS and MS/MS analysis

Pavel Řehulka^{1*}, Helena Řehulková¹, Vojtěch Franc², Marek Šebela², Jiří Stulík¹, Rudolf Kupčík³, Zuzana Bílková³

1. Faculty of Military Health Sciences, University of Defence, Hradec Králové

2. Faculty of Science, Palacký University, Olomouc

3. Faculty of Chemical Technology, University of Pardubice, Pardubice

Protein identification using mass spectrometry can be done in several ways. One of them is the application of peptide mass fingerprinting using MALDI-TOF MS, often combined with MS/MS analysis of selected peptide precursors when the MS/MS option is available. This is usually applied to in-gel digests from SDS-PAGE or 2-D gel electrophoresis separated protein mixtures. This approach is relatively simple and fast, but often only part of digestion derived peptides are observed. A separation step prior to MS analysis could improve detection of peptides and the reliability of protein identification.

A commercial LC system can be used for peptide separation using reversed phase LC separation. In this work, a microgradient device consisting of a microsyringe connected to a short home-made capillary column in a plastic tubing is presented. The separation of a simple protein digest mixture (e.g. from in-gel digestion of protein spot) takes about 15-20 min and can separate the peptide mixture e.g. into 24 spots on MALDI instead of one spot. This usually results in an increased number of detected peptides that can also be separately and more efficiently fragmented in the subsequent MS/MS analysis.

The presented simplified purification and separation of peptides is manual and increases the time necessary for sample preparation and MS analysis. Thus its use lies in the application either for samples where the simple and fast peptide mass fingerprinting did not provide reliable protein identification or where a higher sequence coverage and analysis of peptide modifications is required.

* Korespondence: pavel.rehulka@unob.cz

PODĚKOVÁNÍ:

The financial support of a long-term organization development plan no. 1011 from the Faculty of Military Health Sciences, University of Defence, Czech Republic is gratefully acknowledged.

WeP-007: Rapid identification of field-collected sand flies using reference mass spectra database

Kristýna Hlavačková¹, Vít Dvořák¹, Daniel Kavan², Petr Volf¹, **Petr Halada**^{2*}

1. Faculty of Science, Charles University in Prague

2. Institute of Microbiology v.v.i.

Phlebotomine sand flies are only proven haematophagous vectors of leishmaniasis affecting about 350 million people in more than 98 countries worldwide and having two million new cases each year. With the growing importance of phlebotomine-borne diseases the precise sand fly identification is highly required to prevent the emergency of leishmaniasis and to ensure vector control and monitoring. As an alternative to conventional morphology- and molecular biology-based approaches, we have recently introduced protein profiling using MALDI-TOF mass spectrometry for accurate species identification of sand flies [1].

Our optimized protocol employs fast protein extraction from sand fly thorax and generates intense, reproducible and species-specific spectra allowing reliable sand fly discrimination. However, body parts such as wings and legs produce spectra of variable quality and low reproducibility, probably due to little tissue available. We demonstrated that unlike bigger dipteran vectors (mosquitoes, tsetse flies), these body parts are not suitable for mass spectrometric species identification of sand flies.

We have initiated the assembly of our homemade reference database, which currently consists of 16 different sand fly species representing three genera (*Phlebotomus*, *Sergentomyia*, *Lutzomyia*) and two *Phlebotomus* subgenera (*Larroussius*, *Adlerius*). The performance of the database was tested by a blind study with 154 specimens showing more than 96% of correctly identified sand flies. Further, we analyzed more than 800 field-caught specimens from two distinct geographical areas (Mediterranean and Caucasus regions). The enlargement of our homebuilt database is currently in progress to increase its performance and efficiency.

* Correspondence: halada@biomed.cas.cz

LITERATURA:

1. Dvořák V. et al.: Parasites & Vectors 7:21, (2014).

PODĚKOVÁNÍ:

The financial support from Grant Agency of the Czech Republic (15-04329S) and from Institute of Microbiology (RVO61388971) is gratefully acknowledged.

WeP-008: Optimalizace stanovení oxidačních forem sirných aminokyselin metodou hmotnostní spektrometrie

Petra Lacinová ^{1,2*}, Simona Šinglárová ¹, Marek Vecka ¹

1. 1.LF UK a VFN Praha, IV. Interní klinika

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

Methylační děje v organismu převážně probíhají v jaterní tkáni a jsou velmi důležité při syntéze fosfolipidů a sirných aminokyselin (SAA). Jedná se zejména o aminokyselinu cystein a homocystein. Poruchy metabolismu fosfolipidů a SAA můžeme pozorovat u pacientů s metabolickým syndromem a u chorob jater (nealkoholové poškození jater, cirhóza i hepatocelulární karcinom). SAA se vyskytují v těle v oxidované a redukované formě. SAA při oxidaci vychytávají volné radikály v buňce, a tak dochází ke snížení oxidačního stresu a poškození DNA v organismu.

Hlavním cílem této práce byla optimalizace preanalytické fáze analýzy oxidačních stavů cysteinu, homocysteinu, glutathionu a cysteinylglycinu, derivatizace běžných aminokyselin (AA) a SAA kitem EZ:Faast (Phenomenex) a měření získaných produktů metodou LC-MS/MS. Celkové množství SAA ve vzorku se měří po redukční reakci s dithioitrolem. Oxidované formy SAA se stanovují po reakci s iodoacetamid. Iodoacetamid se přidá ke vzorku krve po odběru, kde působí jako antioxidační činidlo.

Preanalytická fáze stanovení SAA a jejich měření metodou LC-MS/MS bylo optimalizováno. Kalibrační křivky byly naměřeny pro většinu AA, korelační koeficienty byly v rozmezí 0,98 - 0,80 pro SAA, 0,97 - 0,85 pro alifatické AA, 0,95 - 0,90 pro aromatické AA. Dále byla ověřena reprodukovatelnost a opakovatelnost metody na smíšeném vzorku plazmy (n=10), variační koeficienty < 10% pro reprodukovatelnost a < 15% pro opakovatelnost metody.

Zavedená metoda bude použita pro sledování změn metabolismu SAA u pacientů s hepatogastroenterologickou poruchou a bude zkoumán jejich vztahu k rizikovým faktorům aterosklerózy, tj. k obezitě a inzulínové rezistenci.

* Korespondence: petra.lacinoval11@seznam.cz

PODĚKOVÁNÍ:

Za finanční podporu děkujeme projektu PRVOUK-P25/LF1/2.

WeP-009: Changes in expression of N- and O- glycopeptides in patients with colorectal cancer and hepatocellular carcinoma quantified by data-independent FT-ICR and MRM

Petra Darebná¹, Petr Pompach^{1*}, Petr Novák¹, Radek Kučera², Ondřej Topolčan², Miloslav Sanda³, Radoslav Goldman³

1. Biocev

2. Department of Nuclear Medicine, Faculty Hospital in Pilsen, Pilsen, Czech Republic

3. Department of Oncology, Lombardi Comprehensive Cancer Center, Georgetown University, Washington,

Alterations in the glycosylation of proteins are associated with several cancers, especially hepatocellular and colorectal carcinoma. Modern analytical methods which combines liquid chromatography and mass spectrometry allow precise and sensitive description of these changes. In this study, we use LC-MS/MS-MRM on a conventional triple quadrupole system and ultra-high resolution data-independent analysis performed by FT-ICR, to quantify specific glycopeptides in hepatocellular carcinoma, colorectal cancer, and liver metastasis of colorectal cancer.

Serum proteins haptoglobin, hemopexin and complement factor H were enriched by ethanol precipitation and individual fucosylated glycoforms of their N-glycopeptides were compared with their nonfucosylated glycoforms. Also sialylated glycoforms of an O-glycopeptides of hemopexin were analyzed in the same sample. We observed significant increase in fucosylation of all three serum proteins and increase in doubly sialylated glycoforms of hemopexin in hepatocellular carcinoma of hepatitis C viral etiology by both LC-MS methods.

The results of the LC-MS/MS-MRM and data independent FT-ICR analyses provide comparable quantitative readouts in spite of chromatographic, mass spectrometric and data analysis differences. Our results suggest that both workflows allow adequate quantification of glycopeptides and suggest that hepatocellular carcinoma of HCV etiology differs in glycosylation from colorectal cancer and liver metastasis of colorectal cancer.

* Korespondence: pompach@biomed.cas.cz

LITERATURA:

1. Pompach P. et al.: Mol. Cell. Proteomics 12 (5), 1281-1293 (2013).
2. Sanda M. et al.: Mol. Cell. Proteomics 12 (5), 1294-1305 (2013).
3. Song E. et al.: Rapid Commun. Mass Spectrom. 26 (17), 1941-1954 (2012).

WeP-010: Real-time evaluation of lipid peroxidation in head space using EC/SIFT-MS

Violetta Shestivska¹, Kristyna Sovová¹, Jiří Kubišta¹, Abigail V. Rutter², Marie Olšínová¹, Marek Cebecauer¹, Patrik Španěl^{1*}

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

2. Institute for Science and Technology in Medicine, School of Medicine, Keele University, UK

Volatile biomarkers of lipid peroxidation are important in several areas including early stage cancer diagnosis. Peroxidation of membrane lipids leads to loss of membrane fluidity and impaired cellular functioning [1]. The known volatile metabolites of lipid peroxidation include pentane, pentanal, hexanal, and even malondialdehyde (MDA) are highly instable. Thus, a detail study of the processes of lipid peroxidation of membranes requires fast and accurate analytical techniques.

Selected ion flow tube mass spectrometry (SIFT-MS) is one such technique that allows rapid, accurate, precise and reliable quantification of the concentrations of volatile compounds [2]. Direct sampling of head space allows real-time quantification which is needed in understanding of fast running peroxidation processes [3]. Electrochemistry can be used as a fast technique to generate reactive oxygen species (ROS) and in combination with SIFT-MS it forms a method to study lipid peroxidation stress in-vitro.

To demonstrate the value of this developed technique, we have carried out experiments on evaluation of peroxidation stress of membranes induced by hydrogen peroxide acting both on synthetic lipid membranes and cultured cancer cells. Indirect peroxidation of linoleic acid by electrochemically generated ROS was performed in combination with real-time SIFT-MS quantification of malondialdehyde. Results show increase of volatile malondialdehyde in head space (20 - 150 ppbv). Indirect electrochemical peroxidation has been applied to lung cancer cell in-vitro models. The results demonstrate that peroxidative stress induced by electrochemical indirect peroxidation can be evaluated in head space using SIFT-MS and malondialdehyde and hexanal are potentially useful volatile biomarkers.

* Korespondence: patrik.spanel@jh-inst.cas.cz

LITERATURA:

1. Niki E.: Biofactors. 34(2), 171-180 (2008).
2. Španěl P. et al.: Mass Spectrom. Rev. 30(2), 236-267 (2011).
3. Shestivska V. et al.: Rapid Commun. Mass Spectrom. 29(11), 1069-1079 (2015).

PODĚKOVÁNÍ:

We gratefully acknowledge funding from Grant Agency of the Czech Republic project No 14-15771P.

WbP-011: From monomer to tetramer: Structural dynamics of WrbA protein probed by mass spectrometry

Alan Kádek ^{1,2 *}, Michal Rosůlek ^{1,2}, Zdeněk Kukačka ^{1,2}, David Řeha ³, Ondřej Vaněk ², Olga Ettrichová ³, Petr Man ^{1,2}, Rüdiger Ettrich ³, Petr Novák ^{1,2}

1. BioCeV - Institute of Microbiology CAS

2. Faculty of Science, Charles University in Prague

3. Institute of Nanobiology and Structural Biology CAS

The way proteins function in nature is often not only determined by their three dimensional structure, but also by their conformational dynamics and oligomeric state in solution. Such is also the case for WrbA (expanded as Tryptophan repressor-binding protein A), which is a flavin dependent oxidoreductase involved in the defense of many organisms against oxidative stress. High resolution structure of this protein was solved by X-ray crystallography [1] and revealed the protein in its biologically active homotetrameric assembly. However, it has also been found that in solution the protein is present in a dynamic equilibrium between its monomeric, dimeric and tetrameric species. Intriguingly, the protein was crystallized both with and without its FMN cofactor, but each time with protein dimer in crystal asymmetric unit formed through different oligomerization interface.

Therefore, in the present work we focused on studying the behavior of WrbA protein in solution. For this we combined analytical ultracentrifugation with a range of structural mass spectrometric techniques, ranging from protein native MS with ion mobility, through hydrogen/deuterium exchange to chemical cross-linking with different types of molecular probes. Together, the integrated data from these techniques enabled us to determine how external factors such as solution temperature, protein concentration and the presence of cofactor influence the oligomeric state of WrbA protein and its local conformational dynamics. Furthermore, it also provided an insight into the oligomerization mechanism and uncovered the interfaces involved in dimerization and tetramerization events.

* Korespondence: kadek@biomed.cas.cz

LITERATURA:

1. Kishko I. et al.: Acta Crystallogr. Sect. D Biol. Crystallogr. 69(9), 1748-1757 (2013).

PODĚKOVÁNÍ:

This work was partly funded by InStruct; Czech Science Foundation (P207/I0/1934); Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (LD15089) and European Regional Development Funds (CZ.1.05/1.1.00/02.0109); Research Project of Charles University (UNCE 204025/2012). Access to instruments and other facilities was supported by the EU (Operational Program Prague – Competitiveness project CZ.2.16/3.1.00/24023).

WeP-012: Conformation-specific interactions with Tomm34 modulate Hsp70 folding and ATPase activities

Jiri Hausner ^{1,2*}, Michal Durech ³, Filip Trcka ³, Dominika Coufalova ³, Petra Dvorakova ³, Lenka Hernychova ^{1,1}, Petr Man ^{1,1}, Petr Novak ¹, Borivoj Vojtesek ¹

1. Institute of Microbiology CAS, Prague, Czech Republic

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

3. RECAMO, Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno, Czech Republic

In the eukaryotic cells, Hsp70 and Hsp90 molecular chaperones mediate protein folding and pre-protein cytosolic transport in cooperation with number of co-chaperone proteins. Among the co-chaperones belong large group of proteins containing TPR domains which recognize C terminal EEVD motif of both molecular chaperones. Tomm34 protein, containing two TPR domains has been recently described as Hsp70/Hsp90 scaffolding co-chaperone. In this project we studied the architecture, ATP dependency and functional consequences of Hsp70 interaction with Tomm34 protein [1].

Chaperons (Hsp90 and Hsp70) and co-chaperones (Tomm34, HOP) and selected mutant variants of these proteins were expressed in *E. coli* and purified with by metal ion affinity chromatography. Following the purification, His-Tag was removed by TEV protease cleavage and gel filtration chromatography. Proper function of prepared proteins has been tested with pull-down assays, ITC experiments and luciferase refolding assay. Hydrogen/deuterium exchange experiments were performed for Hsp70 alone, or in the presence of co-chaperones, with or without ATP. Samples were analyzed by LC-FT-MS.

Pull down assays showed ATP dependency of Hsp70-Tomm34 interaction. Detailed study of the Hsp70-Tomm34 interaction involving individual Hsp70 domains, ATP/ADP/nucleotide-free conditions revealed that cooperation of both Hsp70 domains is required for binding and this interaction is driven by ATP binding to Hsp70.

* Korespondence: jiri.hausner@biomed.cas.cz

LITERATURA:

1. Mayer P. M.: Mol. Cell 39 (3), 321-331 (2010).

PODĚKOVÁNÍ:

This work has been supported by grants from the Czech Science Foundation (16-20860S) and European Regional Development Funds (CZ.1.05/1.1.00/02.0109 and CZ.1.05/2.1.00/03.0101).

WeP-013: Studium přírodních látek v malvicích a peckovicích s využitím multikanálového elektrochemického HPLC detektoru CoulArray a UHPLC/MS/MS

Kateřina Vyňuchalová ¹*, Petra Drábková ¹, **Aleš Horna** ¹, Radek Vávra ², Aneta Bílková ²

1. Institut Nutrice a Diagnostiky, RADANAL, s.r.o.

2. Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o.

Malvice a peckovice jsou zdrojem široké škály antioxidantů. Antioxidanty mají komplexní vliv na lidské zdraví počínaje schopností eliminovat negativní účinky volných radikálů v krvi, pozitivně působit na procesy regulace tlaku krve a hladiny glukózy v krvi až po snížení výskytu neurodegenerativních, kardiovaskulárních a onkologických onemocnění.

Antioxidanty se nacházejí prakticky ve všech rostlinných materiálech (plody, listy, kořeny rostlin). Trendem posledních let je identifikovat a kvantifikovat antioxidanty a to i ve složitých maticích se zvážením efektů přípravy vzorků a vlivu enzymů před analýzou. Pro komplexní účinek přírodních antioxidantů na lidské zdraví je nutné zvažovat i působení střevních bakterií.

K izolaci antioxidantů z malvic a peckovic byla použita jednoduchá extrakční technika methanolem. Následně byla pro stanovení obsahu antioxidantů v jednotlivých částech plodů použita gradientová separace na oktadecylové stacionární fázi s vodně-organickou mobilní fází (0.1 % kyseliny mravenčí v metanolu, resp. vodě) s hmotnostní detekcí s negativní elektrosprejovou ionizací v MRM módu (Multiple Reaction Monitoring). Nalezené hodnoty antioxidantů byly verifikovány HPLC analýzou s multikanálovou elektrochemickou detekcí CoulArray. Byly sledovány obsahy látek: katechin, epikatechin, floridzin, rutin, amygdalin. Vypracovaná metoda bude nadále zdokonalována a validována a používána pro potřeby našich výzkumných projektů pro výzkum bioaktivních látek zejména v jablkách a třešních.

* Korespondence: horna@radanal.cz

PODĚKOVÁNÍ:

Tato práce je podporována Národní Agenturou pro Zemědělský Výzkum (projekt č. QJ1510354) a MŠMT (projekt č. LF15006).

WeP-014: Fiducial markers for multimodal imaging

Tomáš Pluháček^{1,2}, **Jakub Přichystal**^{1,2*}, Dominika Luptáková¹, Oldřich Benada¹,
Vladimír Havlíček^{1,2}

1. Institute of Microbiology of the CAS v.v.i., Prague

2. RCPTM, Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science, Palacký University, Olomouc

Multimodal imaging is a rapidly growing and broad discipline widely used in the analysis of a variety of biological surfaces. Biological tissues are considered as spatially, morphologically and metabolically complex samples. Currently, the multimodal imaging approach involving MALDI, DESI, SIMS, LA-ICP ionization techniques is capable to provide a detailed insight into the molecular/elemental composition of biological surfaces and also could overcome the limitations of a single mass spectrometry imaging (MSI).

Images obtained by an each imaging technique could be slightly shifted due to the hardware setup of a given ion source. For the correct image fusion the fiducial markers (FMs) need to be applied. FMs' composition is driven by the fact that elements/molecules have to be detectable by each intended technique. Properly selected FMs then enable the comparison of 2D distribution images as well as 3D reconstruction of images across imaging techniques. Additionally, the 3D reconstruction requires a well-defined spacing between tissue sections throughout a biological specimen and the presence of three FMs.

In this contribution we probed the application of FMs for the alignment of the images obtained from MALDI, DESI and LA-ICP MSI. The FMs are based on the mixture of Rhodamine B (10 mg.mL⁻¹), ionic silver (100 mg.L⁻¹) and 100 nm gold nanoparticles (5 mg.L⁻¹) in poly[N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide] solution (100 mg.mL⁻¹), which was gradually injected into the biological samples with insulin syringe (300 μm needle OD). Our application of the FMs mixture led to accurate alignment and scaling of the 2D MSI images. This concept will further be tested in 3D multimodal approach and for application in scanning electron microscopy–energy dispersive X-ray spectroscopy (SEM-EDS).

* Korespondence: jakub.prichystal@seznam.cz

LITERATURA:

1. Chughtai K. et al.: Anal. Chem. 84 (4), 1817-1823 (2012).
2. Ferreira C.R. et al.: Anal. Lett. 47 (1), 91-101 (2014).
3. Potocnik N.O. et al.: Anal. Chem. 86 (14), 6781-6785 (2014).

PODĚKOVÁNÍ:

The authors gratefully acknowledge the support from the Ministry of Education, Youth and Sport of the Czech Republic (LO1305, LO1509) and Czech Science Foundation (16-20229S).

WeP-015: Functionalized MALDI surfaces for H/D exchange experiments

Michal Rosulek^{1,2*}, Petra Darebna¹, Petr Man¹, Michael Volny³, Petr Pompach¹, Petr Novak¹

1. Institute of Microbiology, Czech Academy of Sciences

2. Charles University in Prague, Faculty of Science

3. AffiPro, s.r.o., Mratin, Czech Republic

Biochemically activated surfaces, usually prepared by covalent immobilization of molecules, are widely used in many scientific and industrial areas. Several alternative methods for immobilization of biochemically active molecules onto conductive surfaces were recently published. Soft-landing, one of these approaches, was successfully used for nondestructive depositing of biomolecules in vacuum. Ambient soft-landing operating under atmospheric pressure enables noncovalent, but strong and stable interaction between the molecule and conductive surface. After deposition biomolecules still keep their biochemical activity after deposition using this approach.

Aspartic proteases pepsin, rhizopuspepsin and their mixture were deposited onto conductive glass surface using lab-made nano-electrospray apparatus operating under atmospheric pressure. Different parameters such as desolvation temperature, voltages and time of deposition were optimized to retain the biological activity of proteases during the ambient ion landing. The functionality of immobilized proteases on MALDI surfaces was demonstrated by *in-situ* digestion of myoglobin. Products of digestion were analyzed by MALDI-TOF and MALDI-FT ICR mass spectrometers. Sequence coverage of myoglobin reached hundred percent for each protease. Pepsin provided long peptides with low spatial resolution in comparison with rhizopuspepsin which produced shorter, but less overlapped peptides. The best results were achieved by mixture of both immobilized proteases. The proteases combination provided full sequence coverage of myoglobin with more overlapping peptides. Our preliminary results indicate high potential of proteolytic active chips prepared by ambient ion landing for fast protein hydrogen/deuterium exchange experiments.

* Korespondence: michal.rosulek@biomed.cas.cz

PODĚKOVÁNÍ:

This work has been supported by grants from the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (LH15010, LD15089), Grant Agency of Charles University (932316), the Czech Science Foundation (16-24309S) and European Regional Development Funds (CZ.1.05/1.1.00/02.0109).

WeP-016: MALDI and DESI mass spectrometry imaging of biological alterations in subcutaneous melanoma B16/F10 in C57BL/6 mice

Dominika Luptáková^{1*}, Milada Šírová¹, Blanka Říhová¹, Vladimír Havlíček¹

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

Matrix assisted laser desorption ionization (MALDI) mass spectrometry imaging is a powerful tool for investigating the distribution of small drugs, metabolites, lipids, peptides as well as proteins within the tissue. Desorption electrospray ionization (DESI), commercialized relatively recently works under ambient conditions. DESI imaging doesn't require any considerable sample preparation or matrix deposition, which brings good opportunity to monitor molecular changes also in the low mass range.

MALDI on FTICR instrument (Bruker Solarix) and DESI imaging (Synapt G2Si) were successfully applied for investigation of biological alterations in melanoma B16/F10 (ATCC CRL-6475) which is a metastazing poorly treatable tumor in C57BL/6 mice. Upon subcutaneous injection, the cancer cells form primary tumor focus. From the primary site the cancer cells spread typically to lungs and other organs. In fact, this increases the need of reliable melanoma biomarker discovery for possible future early diagnosis and treatment.

Our recent results revealed notably different lipid profiles of overall tumor spectrum and non-affected skin tissue spectrum. The most significant changes were observed in lipid composition which is in accordance with previously reported results linked to malignant transformations in cancer cells [1,2]. Phosphatidic acids (PA), phosphatidylethanolamines (PE) and phosphatidylcholines (PC) showed much higher abundance in tumor tissue contrary to controls. The most significant disease biomarker is PC(34:1), already reported in patent literature [3]. Metabolite differences are apparent even without the application of statistic tools. In tumor microenvironment we will attempt to distinguish the features coming from tumor tissue and/or from inflammation itself.

* Korespondence: dominika.luptakova@biomed.cas.cz

LITERATURA:

1. Tata A. et al.: Anal. Chem. 84, 6341 (2012).
2. Gerbig S. et al.: Anal. Bioanal. Chem. 403, 2315 (2012).
3. US patent WO2014116856A1, 2014.

PODĚKOVÁNÍ:

The authors gratefully acknowledge the support from the Ministry of Education, Youth and Sport of the Czech Republic (LO1509) and Czech Science Foundation (16-20229S, 14-12742S).

WeP-017: Differentiation of main pathogens in cystic fibrosis on the basis of combinations of headspace concentrations of multiple volatile metabolites

Pavel Pásztor¹, Kseniya Dryahina¹, Kristýna Sovová¹, Alexandr Nemeč²,
Pavel Dřevínek³, Patrik Španěl^{1*}

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

2. Laboratory of Bacterial Genetics, National Institute of Public Health, Prague

3. Department of Medical Microbiology, Charles University in Prague and Motol Hospital, Prague

As a contribution to the continuing search for biomarkers of lung and airways infection by *Pseudomonas aeruginosa* (PA) in cystic fibrosis (CF) patients, we have analysed the volatile metabolites released by common infectious bacteria in CF: *Staphylococcus aureus* (SA) and *Stenotrophomonas maltophilia* (SM). These pathogens are generally harmless to healthy people but they may cause serious infections in patients with severe underlying disease or impaired immunity including CF patients. Early diagnosis and antibiotic treatment of such infections can improve the prognosis and extend the patient's life.

Volatile organic compounds (VOCs) emitted from strains belonging to different species of CF pathogens were analysed by selected ion flow tube mass spectrometry (SIFT-MS). In order to avoid the influence of media composition during the in vitro studies all strains were cultured on three different liquid media. The headspace of the bacterial cultures was analysed using the standard set of SIFT-MS reagent ions to produce analyte ions that identify the neutral trace compounds present in the headspace. The count rates of these analyte ions provide accurate absolute quantification of the precursor neutral trace compounds down to concentrations as low as parts-per-billion by volume, ppbv. The concentration of compounds quantified by SIFT-MS were assessed by principal component analysis (PCA). PCA methods have been used in the present work to visualize the differences in the composition headspace concentration of VOCs emitted by different CF pathogens. The main compounds important for discrimination between the pathogens were then quantified in breath of 55 CF patients recruited at the Prague Motol University Hospital (37 were assessed as free from PA and 18 were infected with PA).

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

LITERATURA:

1. Shestivska V. et al.: J. Breath Res. 9, 027104 (2015).
2. Shestivska V. et al.: J. Appl. Microbiol. 113, 701-713 (2012).
3. Španěl P. et al.: Int. J. Mass Spectrom. 249/250, 230-239 (2006).

PODĚKOVÁNÍ:

We gratefully acknowledge funding from Czech Science Foundation GACR project No 14-14534S.

WeP-018: Identification of specific protein interaction partners of plant flotillins

Petra Junková^{1*}, Martin Janda^{1,2}, Jindřiška Angelini¹, Jan Martinec², Olga Valentová¹

1. University of Chemistry and Technology Prague

2. Institute of Experimental Botany AS CR

Analysis of protein interaction networks is of great importance in biological research, since understanding the principles of proteins collaboration would improve our knowledge of biological structures and mechanisms. The combination of affinity purification and mass spectrometry is currently the most powerful technique for the determination of specific protein interactors. In this study, we used the immunoaffinity purification coupled with mass spectrometric detection for the determination of specific interaction partners of plant flotillins, proteins that more likely participate in plant signal transduction pathways. However, flotillins are proteins associated to plasma membrane microdomains, which complicates their purification. Therefore, we used chemical crosslinking to maintain the specific interactions between the proteins in studied complexes prior to their extraction by ionic detergent and immunoaffinity purification. Using this approach, we were able to detect possible flotillins interactors, mainly participating in the response to water stress or in the protein transport.

* Korespondence: junkovap@vscht.cz

PODĚKOVÁNÍ:

This work was supported by Czech Science Foundation grant no. GA14-09685S.

WeP-019: XCMS: New Imatinib metabolites in human plasma

Ivo Vrobel ^{1,2*}, Kateřina Mičová ^{1,2}, Alžběta Gardlo ^{1,2}, Lukáš Najdekr ^{1,2},
David Friedecký ^{1,3}, Edgar Faber ⁴, Tomáš Adam ^{1,2}

1. Institute of Molecular and Translational Medicine, UP, Olomouc, Czech Republic

2. Department of Clinical Biochemistry, University Hospital, Olomouc, Czech Republic

3. Laboratory of Inherited Metabolic Disorders, University Hospital, Olomouc, Czech Republic

4. Hematooncology clinic, University Hospital, Olomouc, Czech Republic

The high resolution mass spectrometry (HRMS) is widely used in drug metabolism studies nowadays. Commonly methods employing known biotransformation reactions are used. However this approach can often miss uncommon reactions or structural rearrangements. Statistical analysis based on processed full scan HRMS data can be used to circumvent this problem and detect new xenobiotic metabolites [1].

In this study plasma samples from patients using imatinib (n = 19) were analyzed together with control samples from healthy volunteers (n = 19) by liquid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry (LC-HRMS, Orbitrap Elite MS). Data were processed by XCMS (peak finding) and CAMERA (isotope and adduct labeling) in R software. Resulting data matrix consisted of feature identities (retention time and m/z), feature abundanc and sample identities. The features occurring only in imatinib group were selected as potential metabolites (Mann-Whitney test, $p < 0.05$). After exclusion of already known imatinib metabolites, the rest of features unique for imatinib group were left for further MS2 – MS4 analysis. The Mass Frontier 7.0 software was used for identification of new metabolites and their fragments. Eleven new metabolites of phase I (e.g. dioxidation plus didehydrogenation) and phase II (e.g. conjugation with dipeptides) metabolism were identified. The limitation of described procedure is low sensitivity towards less abundant metabolites. Therefore the optimal procedure for drug metabolization study would comprise combination of both approaches, the first identifies unusual metabolites and the second sensitively captures predictable compounds.

* Korespondence: ivo.vrobel@gmail.com

LITERATURA:

1. Plumb R.S. et al.: Rapid Commun. Mass Spectrom. 17, 2632-2638 (2003).

PODĚKOVÁNÍ:

The infrastructural part of this project (Institute of Molecular and Translational Medicine) was supported from NPU I (LO1304). Czech Science Foundation Grant I 1910-N26 and IGA_LF_2016_014 grant are acknowledged.

WeP-020: Spectroscopic study of copper complexes with a pincer ligand

Ghazaleh Yassaghi¹, Jana Roithová^{1*}

1. Charles University in Prague, Prague, Czech Republic

Transition metals complexes with polydentate ligands find applications as catalysts in various reactions.^[1] They are particularly interesting because of their ability to stabilize higher oxidation states of the central metals.^[2-3] Pyridine dicarboxamide represents one of the members of the pincer ligand family and significant attention was payed to the research of its coordination chemistry.

In this work, negatively charged $[\text{Cu}(\text{L}-2\text{H})(\text{CH}_3\text{COO})]^-$ and $[\text{Cu}(\text{L}-2\text{H})(\text{CH}_3\text{O})]^-$ complexes ($\text{L}=\text{N},\text{N}'\text{-bis}[2,6\text{-diisopropylphenyl}]\text{-}2,6\text{-pyridinedicarboxamide}$) were studied in the gas phase by using electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MS). Unimolecular reactivity of both complexes shows a competition between the process leading to the reduction of copper(II) to copper(I) and the chemical reactivity of the counter ions. The first process is associated with the elimination of the counter ion as radical (i.e. acetoxy or methoxy radical). The chemical reactivity depends of the nature of the counter ion. The acetate counter ion is able to make a C-H activation of the ligand and therefore, we can observe elimination of neutral acetic acid in the collision induced dissociation (CID) experiment. The methanolate, on contrary, undergoes a rearrangement to form formaldehyde. The excess hydrogen atom can be transferred to one of the nitrogen atoms of the pincer ligand which would have to be associated with reduction of copper(II) to copper(0). Alternatively, the hydrogen atom can be transferred to the copper ion as hydride leaving the copper center in the oxidation state II. Infrared multiphoton dissociation (IRMPD) spectroscopy and DFT calculations clearly revealed that the second variant is correct.

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

LITERATURA:

1. David M. et al.: Chem. Rev. 14, 12024–12087 (2014).
2. Roithová J. et al.: Eur. J. Mass Spectrom. 18, 457–463 (2012).
3. Tolman B.T. et al.: J. Am. Chem. Soc. 133, 17602–17605 (2011).

PODĚKOVÁNÍ:

This work is supported by GAČR (14-20077S).

WeP-021: Vliv fyzikálního ošetření pomocí nízkoteplotního plazmatu na obsah mykotoxinů v zrně ječmene a ve sladu

Karolína Benešová^{1*}, Sylvie Běláková¹, Ivo Hartman¹, Miroslav Dienstbier¹, Petr Špatenka², Petr Bartoš³, Hana Kábelová³, Zbyněk Havelka³, Andrea Bohatá³

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

2. SurfaceTreat, a. s.

3. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Mykotoxiny jsou toxické nízkomolekulární sekundární metabolity mikroskopických vláknitých hub (plísní), které běžně kontaminují hospodářské plodiny a tím se dostávají dále do potravinářských výrobků a krmiv. Následné expozice mykotoxiny potom mohou mít řadu nebezpečných, akutních i chronických účinků na zdraví lidí zvířat. Mykotoxiny jsou chemicky i teplotně stabilní látky a jejich přechod do výrobků určených k lidské spotřebě závisí na jejich rozpustnosti, složení, použité výrobní technologii a dalších okolnostech. Eliminace rizik kontaminace mykotoxiny zahrnuje jednak preventivní postupy v průběhu vegetace a před sklizní, jednak následná posklizňová ošetření. Mezi tyto postupy patří použití různých chemikálií, radiační ozáření, ozonování, tepelná ošetřování, mechanické obušování zrn, alkalizace, vyluhování, izomerizační postupy, přípravky mikrobiální a enzymatické [1], v poslední době i parazitické fungální. Cílem je vyvinout takové technologie, které by byly netoxické, šetrné k životnímu prostředí, účinné na co nejširší spektrum mikroorganismů a jejich produktů a současně aplikovatelné v reálné zemědělské a zpracovatelské praxi. Moderní technologií, která přichází do průmyslové praxe, je opracování povrchů nízkoteplotním plazmovým výbojem. Výzkum směřuje také na modifikaci povrchu semen a plodů rostlin, kde při aplikaci dochází k dezinfekci plodů a inhibici plísní, a působením plazmatu za atmosférického tlaku k degradaci některých mykotoxinů [2].

Cílem naší práce bylo sledovat změny obsahu vybraných mykotoxinů v zrně ječmene a sladu vlivem ošetření pomocí nízkoteplotního plazmatu. K tomu jsme použili metodu LC-MS/MS [3].

* Korespondence: karkulkab@seznam.cz

LITERATURA:

1. Bhat R. et al.: Compr. Rev. Food Sci. F., 9, 57-81 (2010).
2. Park B.J. et al.: Surf. Coat. Tech., 201, 5733-5737 (2007).
3. Běláková S. et al.: Food Control 27, 93-98 (2014).

PODĚKOVÁNÍ:

Tato práce vznikla za podpory projektu TA04021252 – Vývoj zařízení pro fyzikální ošetření semen a sladu pomocí nízkoteplotního plazmatu.

WeP-022: Analysis of designer stimulants by Vacuum Ultraviolet Spectroscopy coupled to Gas Chromatography (GC-VUV)

Ludovít Škultéty^{1,2*}, Petr Fryčák³, Changling Qiu⁴, Karel Lemr^{3,1}, Kevin A. Schug⁴,
Vladimír Havlíček^{1,3}

1. Institute of Microbiology, v.v.i., The Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic

2. Institute of Virology, Biomedical Research Center, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovakia

3. Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science of Palacky University in Olomouc, Czech rep.

4. Department of Chemistry & Biochemistry, The University of Texas at Arlington, Arlington, TX, USA.

New designer drugs are chemical variations of older traditional stimulant drugs, popularly known as “bath salts”. These compounds are synthetic derivatives of psychedelic chemicals known as cathinones, tryptamines, phenethylamines and piperazines. They are chemically altered so that they are not technically illegal yet pose the same health risks as the controlled drugs. They may develop severe health symptoms including paranoia, rapid heart rates and suicidal thoughts. These new chemicals vary by slight changes to the chemical structure by variation in e.g. alkyl side-chains. These virtually endless possible chemical variations have given law enforcement and testing laboratories a series of challenges to overcome in order to provide testing of these new materials.

Since all chemical species absorb and have unique gas phase absorption cross sections in 120-240 nm wavelength range, we have chosen the universal detection capabilities of Vacuum Ultraviolet Detector (VUV) for analysis of these compounds. Fifteen different new designer drugs were probed (cathinones and phenethylamines). Mass detection limits and retention time for each analyte were recorded upon on-column injection. Then, we have prepared several mixtures and also shown the ability of VUV to distinguish isobaric substances. Because these compounds are generally basic amines, we successfully extracted them from urine under basic conditions.

* Korespondence: viruludo@savba.sk

PODĚKOVÁNÍ:

Acknowledgement. The authors gratefully acknowledge the support from Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (LO1509 and LH14064).

WeP-023: Sledování obsahu vybraných mykotoxinů v průběhu sladování v humnové sladovně

Sylvie Běláková^{1*}, Dagmar Matoulková¹, Karolína Benešová¹, Jiří Šusta²

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

2. Sladovna Bernard a.s.

Ječmen setý je základní surovinou pro výrobu sladu v tradičních pivovarských zemích. Na ječmeni se vyskytuje široké spektrum fytopatogenních hub, které napadají rostlinu během fází růstu, zrání, sklizně (*Fusarium*, *Alternaria*) a skladování (*Aspergillus*, *Penicillium*). Infekce ječmene těmito patogenními vláknitými mikromycetami vede k výnosovým ztrátám, snížení klíčivosti a sladovnické kvality zrna. Jako součást svého sekundárního metabolismu mohou patogenní plísně produkovat mykotoxiny [1].

Výroba sladu - řízené klíčení obilných zrn - je komplexní biologický proces, který zahrnuje širokou škálu biochemických a fyziologických reakcí. Při sladování kontaminovaného ječmene vznikají výhodné podmínky pro rozvoj toxinogenních plísň. Během máčení, klíčení i hvozďení jsou plísně stále schopny růstu a tvoření mykotoxinů [2].

Od roku 2014 probíhá v tradiční humnové sladovně v České republice pravidelný odběr meziproductů výroby sladu. V odebraných vzorcích je prováděno hodnocení mykoflóry a stanovení vybraných mykotoxinů a dalších faktorů, které mají vliv na kvalitu sladu.

Pro analytické stanovení vybraných mykotoxinů v meziproductech výroby sladu byla použita metoda LC-MS/MS po předchozím přečištění vzorků [3].

Cílem této práce je na základě dlouhodobého monitoringu procesu výroby sladu v reálných podmínkách sladovny nalézt vztahy mezi jednotlivými příčinami odpovědnými za kvalitu piva.

* Korespondence: sylvam@seznam.cz

LITERATURA:

1. Oliveira, P. M. et al.: Int. J. Food Microbiol., 156, 32-43 (2012).
2. Wolf-Hall, C. E.: Int. J. Food Microbiol., 119 (1-2), 89-94 (2007).
3. Běláková, S. et al.: Food Control, 37, 93-98 (2014).

PODĚKOVÁNÍ:

Práce vznikla za podpory projektu TE02000177 Centrum pro inovativní využití a posílení konkurenceschopnosti českých pivovarských surovin a výrobků.

WeP-024: Comparative proteomic study of smooth muscle cells isolated from systemic and pulmonary arteries

Adam Eckhardt ^{1*}, Marie Žaloudíková ², Lucie Kulhavá ¹, Richard Vytášek ², Karel Karmazín ², Kateřina Doušková ²

1. Institute of Physiology, Academy of Sciences of the Czech Republic

2. Department of Pathophysiology, 2nd Faculty of Medicine, Charles University in Prague

The cellular compositions of the systemic and pulmonary arterial walls are very similar. However the functional characteristics of these vessels show many differences. One of the most noticeable is in their reaction to hypoxia. We assume this difference can be consequence of the smooth muscle cells (SMCs) protein composition of the peripheral arteries. Thus we carried out the proteomic analysis of the SMCs obtained from the peripheral systemic and pulmonary vessels.

Peripheral pulmonary and mesenteric arteries were dissected from 6 adult males Wistar rats under the microscopic control. Smooth muscle cells were obtained by the enzymatic digestion of the vascular fragments and the isolated material was subjected to sonication in lysis buffer. Protein mixture was analyzed by two-dimensional gel SDS-polyacrylamide electrophoresis and identified using nLC-MS/MS.

We detected the significant differences in the protein composition between the samples separated from the pulmonary and systemic smooth muscle cells. We detected proteins more abundant in pulmonary SMCs (vinculin, annexins (A1, A3, and A5), 14-3-3 proteins (zeta/delta, theta, beta/alpha, eta), Rho GDP-dissociation inhibitor 1) and in systemic SMCs (disulfide-isomerase, aldehyde dehydrogenase).

These results bring new findings about extracellular matrix of pulmonary and systemic peripheral arterial walls.

* Korespondence: eckhardt@seznam.cz

PODĚKOVÁNÍ:

Acknowledgements: This work was supported by Czech Science foundation (n. 15-01948S) and with support for long-term conceptual development of research organization RVO: 67985823

WeP-025: Isomeric monoterpenes identification by the ionised fragments ratios with SIFT-MS and SIFDT-MS

Anatolii Spesyvyi^{1,2*}, Kristýna Sovová¹, Patrik Španěl¹

1. J. Heyrovsky Institute of Physical Chemistry of the ASCR, v. v. i.

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

Emissions of biogenic volatile organic compounds, BVOCs (especially isoprene, mono- and sesquiterpenes), play a critical role in tropospheric chemistry and are associated with ozone production and secondary aerosol formation [1]. Proper measurement of concentrations and fluxes of these compounds is thus important for the purpose of atmospheric photochemical modelling. Unfortunately currently the estimations of biogenic emissions are uncertain. The topic of BVOCs is therefore currently at the forefront of research interest in environmental mass spectrometry; however most of the techniques allow only off-line analysis of air sample (e.g. TD-GC/MS) whilst the on-line techniques (e.g. proton transfer reaction mass spectrometry, PTR-MS) quantify only a total concentration of mono- or sesquiterpenes [2]. Thus, there is a need for analytical technique or methodology that would allow selective monitoring of individual isomers of mono- and sesquiterpenes in real time. The aim of this study is to develop a new analytical method that would allow studies of BVOC in the atmosphere to be carried out selectively and specifically in real time using SIFT-MS and SIFDT-MS techniques. One way to distinguish terpenes isomers is based on differences between their ionised fragments fractions [3] as a function of a range of the collisional energies with the He carrier gas in a drift tube reactor.

* Korespondence: spesyvyi@gmail.com

LITERATURA:

1. Presto A.A. et al.: *Environmental Science & Technology* 39, 7046-7054 (2005).
2. Materic D. et al.: *Anal. Bioanal. Chem.* 407, 7757-7763 (2015).
3. Wang T.S. et al.: *Int. J. Mass Spectrom.* 228, 117-126 (2003).

PODĚKOVÁNÍ:

GACR project 13-28882S: Excitation, separation and fragmentation of ions by drift fields in SIFT-MS for immediate selective trace gas quantification

WeP-026: Využití GC-MS a GC-IRMS pro charakterizaci mikrobiálních populací při bioremediačních experimentech

Tomáš Cajthaml^{1*}, Steafno Covino^{1,2}, Alena Filipová^{1,2}

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

2. Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Ústav pro životní prostředí

Při studiu bioremediace organických polutantů pomocí degradujících mikroorganismů je k dispozici několik přístupů charakterizace a studia participujících mikroorganismů. Kromě analytického a ekotoxikologického vyhodnocení rozsahu biodegradace je důležitým aspektem popis a sledování vývoje mikroorganismů. K tomu lze využít klasické mikrobiologické techniky, které ovšem popisují pouze kultivovatelné mikroorganismy (cca 1-5% druhů), a s výhodou moderní postupy molekulární biologie založené obvykle na principu sekvence DNA. Dalším sice méně informačně obsažnějším, ale znatelně rychlejším a mnohdy přesnějším postupem je chemicko analytická analýza biomarkerů mikroorganismů např. analýza fosfolipidických mastných kyselin (PLFA). Tato technika umožňuje členění mikroorganismů na několik skupin (G+, G-, aktinomycety, houby apod.) a velice přesně popisuje změny v mikrobiální biomase těchto skupin. Pokud se využijí značené polutanty, lze sledovat i aktivní degradující mikrofloru a detekce ¹³C obohacení membránových mastných kyselin poskytuje nezvratný důkaz o probíhající mikrobiální transformaci. PLFA technika navíc umožňuje ekotoxikologické hodnocení antropogenně zatíženého prostředí. Výsledky prezentovaných studií při biodegradace polycyklických aromatických uhlovodíků pomocí metody kompostování ukázaly, že PLFA metoda je velice vhodná pro popis procesů při takto komplexních a heterogenních matric. Aplikace GC-IRMS umožnila sledovat dynamiku degradujících populací a prokázala, participaci jednotlivých skupin mikrobů při dekontaminaci v rozsahu 98-99%.

* Korespondence: cajthaml@biomed.cas.cz

PODĚKOVÁNÍ:

Tato práce byla finančně podpořena Centrem Kompetence Technologické Agentury ČR, projekt číslo TE01020218.

WeP-027: Stanovení a kvantifikace aldehydů jako nástroj pro monitorování toxického účinku železných nanočástic

Jaroslav Semerád^{1,2*}, Zdena Křesinová^{1,2}, Tomáš Cajthaml^{1,2}

1. Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Vídeňská 1083, Praha 4

2. Ústav pro životní prostředí, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze, Benátská 2, Praha 2

Během posledních dvaceti let dochází k enormnímu nárůstu ve vývoji a použití nanomateriálů. Neustále se zvyšující produkce nanočástic vede k jejich začleňování do životního prostředí, tedy ke zvýšení rizika pro živé organismy. Železné nanomateriály na bázi nulamocného nanoželeza (nZVI) se využívají v sanačních technologiích k dekontaminaci podzemních vod či kontaminovaných ploch. V místech aplikace železných nanomateriálů dochází k výraznému snížení celkové toxicity, avšak jejich potenciálně negativní účinek nebyl doposud dostatečně popsán. Jedinečné vlastnosti nZVI znesnadňují stanovení (eko)toxicity pomocí klasických *in vivo* testů.

Tato studie se zabývá novou metodou pro stanovení *in vitro* toxicity materiálů na bázi nZVI, kde je hlavním sledovaným toxickým účinkem míra oxidativního stresu (OS). OS nastává, dojde-li k porušení rovnováhy mezi tvorbou a degradací volných kyslíkových radikálů (ROS). U většiny známých nanomateriálů byla prokázána schopnost tento stres indukovat. V důsledku nadměrné produkce ROS dochází ke zvýšení interakcí s biomolekulami a vzniku nežádoucích, případně toxických produktů – markerů OS.

V této práci bylo pomocí předkolonové derivatizace a GC-MS-EI/NCI identifikováno a kvantifikováno několik aldehydů - markerů buněčného poškození vlivem OS. Při expozici bakteriálních kultur komerční formou nZVI - nanočástic NANOFER STAR o koncentracích 0,1 - 20 g/L byl pozorován znatelný nárůst v produkci především acetaldehydu a formaldehydu. Pozorovaný nárůst produkce aldehydů prokazuje schopnost železných nanočástic vyvolávat oxidativní stres.

* Korespondence: semerad@biomed.cas.cz

PODĚKOVÁNÍ:

Tento projekt byl realizován za finanční podpory ze státních prostředků prostřednictvím Centra kompetence Technologické agentury ČR č. TE01020218

WeP-028: Study of gold-acetonyl complexes

Mariarosa Anania¹, Thibault Terencio¹, Jana Roithová^{1*}

1. Charles University in Prague, Faculty of Science, Department of Organic Chemistry

Gold chemistry has acquired in the last decade a noteworthy importance in modern chemistry. Gold catalysis is in fact a powerful tool, enabling many synthetic transformations. [1] The formation of gold(I) complexes in the condensed phase was followed by means of Electrospray Ionization-Mass Spectrometry.

Upon addition of acetone to a solution of $[\text{Au}(\text{PMe}_3)]^+ [\text{SbF}_6]^-$ or $[\text{Au}(\text{IPr})]^+ [\text{SbF}_6]^-$, the formation of different monoaurated species is observed. Addition of water to this mixture leads also to the formation of diaurated complexes. Among others, a diaurated-acetonyl complex $[\text{Au}_2(\text{PMe}_3)_2(\text{CH}_2\text{COCH}_3)]^+$. The structure of this complex was confirmed by infrared multiphoton dissociation and density functional theory calculations. This complex has proven to be a valuable precatalyst in gold(I)-catalyzed reactions.[2]

When a mixture of acetone and acetone- d_6 was added to a solution of a gold(I) catalyst, a substantial difference between the formation of the labelled and unlabelled diaurated-acetonyl complex was observed. Their relative abundance gives the Kinetic Isotope Effect (KIE). The KIE is directly related to C-H bond activation of acetone. The results point out that the water content is inversely proportional to the KIE values, showing the importance of water in the reaction mechanism.

The gold-acetonyl complex formation is associated with the observation of a $[(\text{Au}_2(\text{PMe}_3)_2(\mu^2\text{-OH}))]^+$ species. Similarly, the amount of water is directly correlated to its appearance. This is consistent with the picture that this complex acts as a base in the reaction mixture.

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

LITERATURA:

1. Hashmi A. S. K.: Top. Organomet. Chem. 44, 143–164 (2013).
2. Gasperini D. et al.: Chem. - A Eur. J. 21, 5403–5412 (2015).

PODĚKOVÁNÍ:

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

WeP-029: Proteomic analysis of wort with focus on potential differentiation of malting barley cultivars

Martin Dušek^{1*}, Michaela Scigelová², Jana Olšovská¹

1. Výzkumný ústav pивovarský a sladařský, a.s

2. Thermo Fisher Scientific

Barley grain proteins can be classified into three groups according to their function: storage proteins, structural/metabolic proteins, and protective proteins. The profile of malt proteins in final wort preparation differ according to the barley cultivar and the malting process employed. Individual proteins critically impact the quality of the final product. While certain proteins are associated with such desirable features as foam formation, foam stabilization, and mouth feel of beer, others are implicated in haze formation, and have to be precipitated to guarantee the final product stability.

In our initial set of experiments we focused on the classification of proteins detectable in 9 different malt barley cultivars. We attempted a differential analysis to test whether individual cultivars could be reliably classified. Our attention then focused on protein modifications. We probed the proteins for glycosylations (serpin, the most abundant protein of barley malt, is known to be heavily glycosylated) and glycation (an artifactual modification of lysine residues with hexose arising in the process of wort boiling).

We relied on the combination of gel electrophoresis, quadrupole-Orbitrap hybrid mass spectrometry, and advanced data processing sw.

* Korespondence: dusek@beerresearch.cz

PODĚKOVÁNÍ:

This study was supported by the project Ministry of Agriculture of the Czech Republic No. RO1916 and Ministry of Education Youth and Sports of the Czech Republic No. LO 1312.

WeP-030: High resolution imaging of *Aspergillus fumigatus* infection

Tomáš Pluháček ^{1,2*}, Miloš Petřík ³, Dominika Luptáková ¹, Oldřich Benada ¹,
Andrea Palyzová ¹, Karel Lemr ^{1,2}, Vladimír Havlíček ^{1,2}

1. Institute of Microbiology ASCR, Prague

2. RCPTM, Department of Analytical chemistry, Faculty of Science, Palacký University, Olomouc

3. IMTM, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University, Olomouc

Aspergillus fumigatus, an airborne saprophytic fungus, is being a leading cause of different opportunistic pulmonary infections, comprising aspergilloma, invasive pulmonary aspergillosis (IPA), allergic bronchopulmonary aspergillosis, chronic pulmonary aspergillosis, chronic necrotizing aspergillosis and allergic fungal rhinositis. In immune-compromised patients the IPA is rapidly progressive disease with the short survival time, which accounts for more than 200,000 infections per year, with an associated mortality rate of 30 - 90 % [1,2].

In this sense, presented work has been focused on monitoring of disseminated aspergillosis in rat lungs via the gold and silver LA-ICP-MS imaging employing modified Grocott's methenamine silver staining and eosin counterstaining. Analysis of the gold and silver was carried out by the excimer laser ablation system Analyte G2 (Photon Machines, USA) coupled to a quadrupole ICP-MS spectrometer (ORS-ICP-MS Agilent 7700x, Agilent, Japan). The silver and gold distribution maps collected with the 5 µm laser focus provided reliable images of fungal hyphae deposition in tissues, so both can be used as excellent *Aspergillus* infection tracers. The limit of detection was determined for both ¹⁰⁷Ag and ¹⁹⁷Au as 0.03 µg.g⁻¹. The selective incorporation of Ag and Au into microbial hyphae and their low background noise were confirmed by energy dispersive X-ray scattering utilizing the submicron lateral resolving power [3].

In conclusion, the gold and silver LA-ICP-MS imaging with the lateral resolution getting close to the fungal hyphae diameter has a substantial potential to become a more sensitive alternative to current standard visualization tools used in clinical mycology.

* Korespondence: pluhacektomas20@seznam.cz

LITERATURA:

1. Pluhacek T. et al: Mass Spectrom. Rev. 35, 35-47 (2016).
2. Thornton C. R.: Expert. Rev. Immunol. 10, 771-780 (2014).
3. Pluhacek T. et al: submitted

PODĚKOVÁNÍ:

The authors gratefully acknowledge the support from the Ministry of Education, Youth and Sport of the Czech Republic (LO1305, LO1509) and Czech Science Foundation (P206/12/1150).

WeP-031: Lateral resolution of desorption nanoelectrospray ionization

Lucie Hartmanová^{1*}, Iveta Lorencová¹, Petr Fryčák¹, Hana Chmeličková², Tomáš Ingr³,
Vladimír Havlíček⁴, Karel Lemr¹

1. RCPTM, Faculty of science, Palacky University, 17. listopadu, Olomouc 771 46

2. Joint Laboratory of Optics of Palacký University, 17. listopadu, Olomouc 771 46

3. Department of Exp. Physics, Faculty of science, Palacky University, 17. listopadu, Olomouc 771 46

4. MBÚ AV ČR, Vídeňská 1083, Praha 4-Krč 142 20

Desorption nanoelectrospray ionization (nanoDESI) [1] represents a miniaturized version of desorption electrospray ionization (DESI) without the assistance of the nebulizing gas. For both techniques, work flow typically includes none or only minimal sample preparation. Compared to DESI, a nanoelectrospray tip ($2 \pm 1 \mu\text{m}$ I.D.) generates primary charged droplets of smaller sizes and lower spray liquid flow rates. NanoDESI coupling to a high resolution instrument and its lateral resolution are presented.

Experiments were carried out using a Q-TOF Premier mass spectrometer (Waters, Manchester, United Kingdom) coupled with home-made ion source (nanoDESI). The commercial inlet of a Q-TOF Premier with a sample cone was replaced by a custom-made axial inlet with a heated capillary [2].

Previously, nanoDESI has always been used with ion trap mass spectrometer. To acquire more experimental points per second, nanoDESI was newly coupled to a Q-TOF mass spectrometer. To evaluate the lateral resolution of nanoDESI, Rhodamine B patterns with six dye lines (30-60 μm wide) and seven spaces ($\sim 190 \mu\text{m}$) were prepared and the imaging scan was carried out in the x-axis. Lateral resolution of 30 μm was achieved. 2D imaging by nanoDESI was demonstrated on dye squares (60 x 60 μm). An imaging scan rate of 2.5 $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ and a step of 20 μm (or 5 μm) were applied along the x-axis and y-axis, respectively. Irregularities of dye patterns were well reflected in mass spectrometry images [3].

* Korespondence: lucie.hartmanova@upol.cz

LITERATURA:

1. Hartmanova L. et al., J Chromatogr A 2010, 1217, 4223.
2. Volny M. et al., Anal. Chem., 2014, 86, 3647.
3. Hartmanova L. et al., Analyst, 2016, accepted.

PODĚKOVÁNÍ:

The authors gratefully acknowledge the support by the Czech Science Foundation (project P206/12/1150) and by Palacký University (project IGA_PrF_2016_016).

WeP-032: Vývoj APCI iontového zdroje pro malé průtoky mobilní fáze**Vladimír Vrkoslav**^{1*}, Barbora Rumlová^{1,2}, Josef Cvačka^{1,2}*1. Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i.**2. Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta UK v Praze, Hlavova 2030/8, 128 43 Praha*

Uplatnění kapilárních kolon v kapalinové chromatografii výrazně rozšířila možnosti této separační techniky hlavně v oblasti separace peptidů. Pro detekci v průtocích stovek nl/min byla pro hmotnostně spektrometrickou detekci polárních látek vyvinut nanelektrospray. V oblasti nepolárních látek se nejvíce využívá chemická ionizace za atmosférického tlaku (APCI), kde se ionty vzniklé z par rozpouštědla v prostředí nebulizačního plynu a v přítomnosti korónového výboje přímo účastní procesu ionizace analytů. APCI iontové zdroje jsou ovšem konstruovány pro průtoky rozpouštědel řádově stovky $\mu\text{l}/\text{min}$ a nelze je přímo použít pro ionizaci v nízkých průtocích mobilní fáze. Předmětem této práce je vývoj mikro-APCI iontového zdroje. Vyhřívaný čip, který obsahuje kanálky pro přívod analytu a nebulizačního plynu [1], byl použit pro transport analytu do plynné fáze. Do prostoru mezi špičkou čipu a vstupem do hmotnostního spektrometru byla umístěna APCI jehla. Pro vytvoření korónového výboje bylo na jehlu vloženo napětí cca 3 kV. Měření citlivosti při různých konfiguracích byla prováděna s roztokem reserpinu (10 nebo $1\mu\text{g}/\text{ml}$) rozpuštěného ve směsi 2-propanol/voda. Byly optimalizovány parametry nastavení polohy čipu a jehly vůči vstupní kapiláře do hmotnostního spektrometru. Dále byl studován vliv průtoku roztoku analytu na intenzitu jeho signálu při zachování a) koncentrace a b) absolutního množství analytu. Intenzita signálu reserpinu dosažená po optimalizaci mikro-APCI iontového zdroje byla porovnána s citlivostí standardního APCI iontového zdroje.

* Korespondence: vrkoslav@uochb.cas.cz

LITERATURA:

1. Kauppila T. J. et al: Anal. Chem. 76 (22), 6797-6801 (2004).

PODĚKOVÁNÍ:

Tato práce byla financována z grantu GAČR 16-01639S a z projektu RVO 61388963. Autoři děkují skupině Prof. R. Kostianena (Oddělení farmaceutické chemie, Univerzita Helsinky, Finsko) za poskytnutí vyhřívaného čipu.

WeP-033: Gas phase kinetics of palladium assisted C-H activation

Vladimír Petrovič¹, Jiří Váňa^{1,2}, Jana Roithová^{1*}

1. Faculty of Science, Department of Organic Chemistry, Charles University in Prague

2. Institute of Organic Chemistry and Technology, University of Pardubice

Cyclopalladation has been proposed to be the initial and the rate limiting step of many palladium catalyzed C-H functionalizations, such as a site selective introduction of electrophilic functional groups to the aromatic compounds [1]. Since the usual methods of choice for kinetic studies (UV-VIS spectroscopy, NMR) often fail for metal-catalyzed reactions, we are developing new approaches using electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MS) conditions.

We will show our recent study involving C-H activation of acetanilides mediated by palladium trifluoroacetates. The goal was to determine the relative and absolute rate constants by simple ESI-MS analysis of a reaction mixture with running parallel reactions of two differently substituted acetanilides [2]. The absolute rate constants can be obtained by using Delayed reactant labelling method [3]. The trick of the method consists in monitoring parallel reactions in the given reaction mixture in that one of the reactions is started with a delay (here, a differently substituted acetanilide was added to the reaction mixture with a delay). Mutual evolution of the MS signals of the products of the reactions is related to the reaction kinetics. Using a series of time delays and series of differently substituted acetanilides, we have determined the absolute and relative rate constants for this palladium catalyzed C-H activation reaction. The results will be compared with DFT calculations.

* Korespondence: roithova@natur.cuni.cz

LITERATURA:

1. Novak Z. et. al.: *Angew. Chem. Int. Ed.* 55, 1988-1992 (2016).
2. Pfalz A et.al.: *Chem. Commun.* 1607-1618 (2009).
3. Roithova J. et. al.: *J. Am. Chem. Soc.* 137, 13647-13657 (2015).

PODĚKOVÁNÍ:

The authors gratefully acknowledge financial support from the European Research Council (StG ISORI, No. 258299).

WeP-034: Proteomic analysis of protein composition of rat forebrain cortex exposed to morphine for 10 days; comparison with animals exposed to morphine and subsequently nurtured for 20 days in the absence of this drug

Hana Ujcikova^{1*}, Miroslava Vosahlikova¹, Lenka Roubalova¹, Petr Svoboda¹

1. Institute of Physiology of the Czech Academy of Sciences, Videnska 1083, 142 20 Prague 4

Proteomic analysis was performed in post-nuclear supernatant fraction (PNS) prepared from forebrain cortex of rats exposed to increasing doses of morphine (10-50 mg/kg) for 10 days and sacrificed 24 h (group +M10) or 20 days (group +M10/-M20) after the last dose of morphine. PNS fraction was resolved by 2D-ELFO and stained by CBB. Analysis of the difference between (+M10) and (-M10) samples of PNS by PDQuest accompanied by MALDI-TOF MS/MS indicated the significant change of 28 proteins. Importantly, the number of altered proteins was decreased to 14 after 20 days of nurturing animals in the absence of morphine. This new and important finding indicating the ability of mammalian organism to return to physiological norm after drug withdrawal was verified by an independent methodology - label-free quantification technology termed MaxLFQ [1]. The 113 proteins were identified as altered by morphine in (+M10) samples when compared with (-M10) samples of PNS and this number was decreased to 19 after 20 days of nurturing the animals without this drug [2].

* Korespondence: Hana.Ujcikova@fgu.cas.cz

LITERATURA:

1. Cox J. et al.: Mol. Cell. Proteomics 13, 2513-2526 (2014).
2. Ujcikova H. et al.: J. Proteomics, doi:10.1016/j.jprot.2016.02.019 (2016).

PODĚKOVÁNÍ:

This work was supported by the GACR (P207/12/0919), Centrum of Neurosciences (P304/12/G069) and by Academy of Sciences of the Czech Republic (RVO: 67985823). The authors thank to Karel Harant from Mass Spectrometry and Proteomics Service Laboratory of Charles University, Faculty of Science, Biological section for performing MALDI-TOF MS/MS and label-free quantification.

WeP-035: The quantitative proteomic study of human saliva samples obtained from caries-free and caries-susceptible females

Lucie Kulhavá^{1,2*}, Adam Eckhardt¹, Ivan Mikšík³

1. Institute of Physiology of the Czech Academy of Sciences, Czech Republic

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

3. Institute of Physiology of the Czech Academy of Science, Czech Republic

Worldwide 10% adults in the age of 30 is caries-resistant and the reason of this resistance is unknown. This project will investigate the proteome of the saliva, especially focused on the proteins that can be involve in tooth caries pathogenesis. The study will compare the proteome of two population groups (caries-susceptible and caries-resistant).

The proteins of oral fluids were separated by two-dimensional electrophoresis and the resulting protein maps were quantitatively evaluated. Spots exhibiting statistically significant changes were excised and analyzed by nano-liquid chromatography coupled to a MaXis Q-TOF mass spectrometer.

Thus we revealed three proteins (zinc-alpha-2-glycoprotein (ZA2G), prolactin-inducible protein (PIP), glutathione S-transferase P (GSTP1)) with significantly higher expression in the caries-susceptible group and one protein (cystatin-SN (CYTN)) with significantly higher expression in the caries-free group. Our results demonstrates that the observed differences in the protein levels might have influence on the anticaries resistance.

This study comparing proteomes of whole saliva from carious-resistant and carious-susceptible people brings new findings to the saliva protection against tooth caries. These proteins could play specific role in the pathophysiology of dental caries.

* Korespondence: lucie.kulhava@fgu.cas.cz

PODĚKOVÁNÍ:

The study was supported by the Charles University in Prague, project GA UK No.322216.

WeP-036: Experimental and theoretical study of the gold(I)-cycloisomerization reaction of 1,6-enynes

Lucie Jašíková¹, **Michal Smoleň**¹, Jana Roithová^{1*}

1. Department of Organic Chemistry, Charles University in Prague, Czech Republic

The synthesis of rings is central to the art of organic synthesis. The cycloisomerization reactions of polyunsaturated hydrocarbons such as enynes or diynes represents an attractive and powerful transformation for the formation of new CC bonds. Many electrophilic metal complexes have been identified to efficiently catalyze the cycloisomerization reactions. The most commonly used are platinum and gold complexes. Interestingly, the stable cationic complexes of gold can efficiently promote the cycloisomerization processes at room temperature.

We have investigated the reaction mechanism and the nature of the intermediates for the gold(I) mediated cycloisomerization of a 1,6-enyne (1-(allyloxy)but-2-yne). The reaction starts with a η^2 coordination of the metal to the triple CC bond. The alkyne is thus susceptible to a nucleophilic attack. The nature of the intermediate formed in the following step probably depends on the substrate and on the catalysts and there is an ongoing discussion on this topic [1]. We have investigated the intermediates using infrared photodissociation spectroscopy [2,3] and employed $[\text{P}(\text{CH}_3)_3\text{Au}]\text{Cl}$ (activated by silver hexafluoroantimonate) and $[(\text{CH}_3\text{CN})(\text{IPr})\text{Au}]\text{BF}_4$ (IPr = 2,6-diisopropylphenyl) as catalysts. We have further probed the reaction kinetics by ^1H NMR spectroscopy and mass spectrometry using electrospray ionization.

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

LITERATURA:

1. Toste F.D. et al.: Nature 446, 395-403 (2007).
2. Roithová J. et al.: Int. J. Mass Spectrom. 354-355, 204-210 (2013).
3. Roithová J. et al.: J. Am. Chem. Soc. 136, 2960-2962 (2014).

PODĚKOVÁNÍ:

This work was supported by the European Research Council (StG ISORI).

WeP-037: MALDI TOF MS imaging of 3D neuroblastoma cell cultures

Markéta Machálková^{1*}, Adam Pruška¹, Jarmila Navrátilová¹, Jan Šmarda¹,
Jan Preisler^{1,2}

1. Faculty of Science, Masaryk University

2. CEITEC, Masaryk University

Matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry imaging (MALDI MSI) has become a routine technique for analyte visualization across biological samples. In a single experiment, it enables imaging both exogenous and endogenous compounds, such as drugs, proteins and lipids. Additional great benefit of this approach is no need for molecule labelling, in comparison with the methods such as fluorescent microscopy, immunohistochemistry etc.

In our study, 3D cell cultures SK-N-Be(2) and SH SY5Y were analyzed [1]. The cell formations (spheroids) were embedded in gelatine, frozen, cryo-sectioned into thin slices and thawed to conductive glass slides. For uniform matrix coating, commercial iMatrixSpray sprayer [2] was employed, its parameters were optimized and the results were compared with sublimation method. Developed protocols were applied to the analysis of spheroids treated by potential cancerostatics metaiodobenzylguanidine, perifosine and MK 2206. Initial images showing distribution of the drugs and selected lipids with CHCA and DHB matrices were acquired.

* Korespondence: marketa.machalkova@gmail.com

LITERATURA:

1. Liu X. et al.: Anal. Chem. 85(13), 6295-6302 (2013).
2. Stoeckli M et al.: CHIMIA 68(3), 146-149 (2014).

PODĚKOVÁNÍ:

We gratefully acknowledge the financial support of the Czech Science Foundation (GA15-05387S) and the project CEITEC 2020 (LQ1601) of the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

WeP-038: Zvýšení výkonu zobrazovací MALDI MS využívající skenování laserového paprsku

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

1. Ústav chemie, Masarykova univerzita, Brno

2. CEITEC, Masarykova univerzita, Brno

3. Fakulta strojního inženýrství, VUT, Brno

4. MassTech, Inc., Columbia, MD

Zobrazovací hmotnostní spektrometrie (MSI) využívající laserovou desorpci a ionizaci za účasti matrice (MALDI) je stále častěji využívaná technika pro mapování tkání na molekulární úrovni. Poslední generace time-of-flight (TOF) spektrometrů vybavená kHz lasery přinesla významné urychlení MALDI TOF MSI a umožnila tak šíření této techniky. I přes to mohou MSI experimenty trvat mnoho hodin, zvláště pak při mapování ve vysokém rozlišení. Doba mapování může být omezena frekvencí laseru, ale i přesuny stolků nesoucích vzorek mezi měřicími body a dobou potřebnou ke zpracování dat. Kombinací pohybů vzorku a skenování laserového paprsku jsme snížili čas mapování téměř o jeden řád oproti soudobé komerční instrumentaci [1]. V tomto příspěvku představujeme úpravu iontového zdroje laboratorně sestaveného hmotnostního spektrometru MALDI TOF pro zvýšení plošného rozlišení a další zrychlení techniky. Tento axiální hmotnostní spektrometr je vybaven 355-nm laserem o frekvenci 4 kHz, galvanometrickým optickým skenerem a iontovým zdrojem s mřížkovými elektrodami (oko 500 μm). Výkon přístroje byl testován na modelových vzorcích připravených sublimací, sprejováním a pomocí piezopipetoru.

V původním návrhu experimentů byl laser veden na MALDI terčík skrze mřížkové elektrody iontového zdroje. Během skenování docházelo k blokování paprsku drátky mřížky a k vytváření artefaktů v získaných mapách. V současném uspořádání byly odstraněny dva drátky extrakční elektrody. Vzniklým oknem lze skenovat laserový paprsek po povrchu vzorku v rozsahu 1,2 mm bez významných změn v osvitu. V tomto novém uspořádání byla mapa čítající 10000 pixelů (20- μm pixel, 20 pulzů na pixel) nahrána při frekvenci laseru 1 kHz za 6 minut, což je o více než řád rychleji v porovnání s komerčním přístrojem za stejných podmínek.

* Korespondence: buhbedna@gmail.com

LITERATURA:

1. Bednařík A. et al.: Anal. Chem. 86, 982–986 (2014).

PODĚKOVÁNÍ:

Děkujeme za finanční podporu Grantové agentuře České republiky (GA15-05387S) a projektu CEITEC 2020 (LQ1601).

WeP-039: Vývoj metody pro analýzu psychofarmak v reálné odpadní a podzemní vodě průmyslové oblasti obsahující suspendované částice s využitím SPE disků a UHPLC-ToFMS

Zdena Křesinová ^{1,2}, **Klára Petru** ^{1*}, Lucie Linhartová ¹, Tomáš Cajthaml ^{1,2}

1. Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 20, Praha 4

2. UK v Praze, Přírodovědecká fakulta, Ústav pro životní prostředí, Benátská 2, 128 01, Praha 2

V rámci této studie byla vyvinuta analytická metoda pro kvantitativní stanovení psychofarmak, jejich prekurzorů a rozkladných produktů ve vzorcích pocházejících z reálně dlouhodobě kontaminované lokality farmaceutické společnosti v Olomouci. Extrakce vzorků byla realizována pomocí SPE disků, separace a detekce analytů probíhala pomocí UHPLC-ToFMS. Analyty byly kvantifikovány v reálných vzorcích vody obsahujících suspendované pevné částice (SPM) a vysoké koncentrace ostatních organických látek (např. chlorovaných ethenů). Cílem práce bylo analyzovat devět sloučenin, a to tři běžná antidepresiva (tricyklická antidepresiva a antipsychotika), jedno antitusikum a pět s nimi souvisejících rozkladných produktů nebo prekurzorů. Nejprve byla s použitím SPE disků vyvinuta metoda pro extrakci vzorků vod (rozpuštěné analyty); výtěžnost 84 – 104%. Pro pevné matrice (kaly) byla navržena extrakční metoda za zvýšeného tlaku (PLE) s výtěžností 81 – 95%. Ve snaze ověřit metodu uplatňující SPE disky pro přípravu vzorků obsahujících SPM byla nekontaminovaná spodní voda obohacena různým množstvím (100 a 300 mg/L) kalu pocházejícího ze stejné lokality. Výtěžnosti se v případě nejvíce kontaminovaných kalů pohybovaly v rozmezí od 67 – do 119%. Vyvinutá metoda byla použita pro analýzu podzemních vod z industriální oblasti, ve kterých bylo nalezeno vysoké množství cílených analytů. Výsledky studie dokumentují a ukazují na vhodnost použití SPE disků pro účely environmentální analýzy reálně kontaminované podzemní vody.

* Korespondence: klara.petru@biomed.cas.cz

PODĚKOVÁNÍ:

Tato práce byla finančně podpořena Centrem Kompetence Technologické Agentury ČR, projekt číslo TE01020218.

WeP-040: Studium *in vitro* degradace PCB prostřednictvím ligninolytické houby *Pleurotus ostreatus*

Kamila Šrédlová^{1,2*}, Lucie Linhartová¹, Tatiana Stella¹, Tomáš Cajthaml^{1,2}

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

2. Ústav pro životní prostředí PFF UK

Polychlorované bifenylly (PCB) jsou perzistentní organické polutanty, které byly v minulosti hojně využívány. 750000 tun PCB stále zůstává v životním prostředí, PCB podléhají bioakumulaci v potravním řetězci a mají mnoho negativních účinků, mimo jiné, na lidské zdraví. Dnes využívané metody pro odstraňování PCB neodpovídají bezpečnostním a finančním požadavkům, proto jsou vyvíjeny metody levnější a méně rizikové, jako je například mykoremediace. Bylo prokázáno, že někteří zástupci skupiny ligninolytických hub *in vivo* degradují PCB, z nichž s největší účinností je schopen PCB degradovat *Pleurotus ostreatus*. Při dalším porovnání degradace PCB třemi různými kmeny *P. ostreatus* byla nejlepší účinnost zaznamenána u sbírkového kmenu 3004 CCBAS 278 (85 ± 4 % po 42 dnech) a u kmenu KRYOS využívaného v komerční pěstírně (82 ± 1 % po 42 dnech). Výzkum je v tuto chvíli zaměřen na popis mechanismu degradace PCB, a to *in vitro* degradačními testy s jednotlivými aparáty *P. ostreatus*. *In vitro* inkubační směs byla vždy upravena pro kvantitativní stanovení GC/MS. Prostřednictvím *in vitro* degradačních experimentů s extracelulární tekutinou *P. ostreatus* a částečně purifikovanou lakázou (majoritní enzym produkovaný *P. ostreatus*) bylo prokázáno, že první krok degradace PCB neprobíhá extracelulárně, ale na nitrobuněčné úrovni pravděpodobně prostřednictvím cytochromu P450 (CYP). Mikrosomální frakce obsahující CYP izolovaná z *P. ostreatus* byla schopna odstranit z původního množství 2 ppm po 1 h 46–51 % di- až tetrachlorovaných PCB kongenerů 4, 8, 18 a 45 a 25 % pentachlorovaného kongeneru 105, což v souladu s předchozími *in vivo* výsledky poukazuje na závislost degradace PCB především na počtu a uspořádání atomů chloru.

* Korespondence: lucie.linhartova@biomed.cas.cz

PODĚKOVÁNÍ:

Tato práce byla finančně podpořena Centrem Kompetence Technologické Agentury ČR, projekt číslo TE01020218.

WeP-041: Studium mechanismu biodegradace vybraných psychofarmak hlívou ústříčnou

Lucie Krejčová^{1,2}, **Zdena Hrsinová Křesinová**^{1,2*}, Tomáš Cajthaml^{1,2}

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

2. Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Ústav pro životní prostředí

Degradační potenciál ligninolytického kmene *Pleurotus ostreatus* (hlíva ústříčná) byl studován v rámci sanačních prací podzemních vod probíhajících na reálně kontaminované lokalitě v místě produkce léčiv v Olomouci. Na lokalitě byly vedle vysokého znečištění BTEX detekovány také vysoké koncentrace antidepresiv amitriptylinu a dosulepinu (prothiadenu), antipsychotika chlorprothixenu a dalších látek (prekurzorů syntézy a metabolitů) pocházejících z výroby psychofarmak v koncentracích dosahujících až jednotek mg/l.

Degradace vybraných látek byla studována prostřednictvím *in vivo* experimentů během kultivace kmene *P. ostreatus* na tekutém, uměle kontaminovaném médiu jednotlivými látkami a jejich směsí. Reziduální koncentrace látek byla detekována prostřednictvím UHPLC-ToF MS.

V průběhu 14 denní kultivace došlo ke snížení koncentrace 5 látek o 62-100% z původní koncentrace 10 mg/l. U amitriptylinu, metabolitu karbinol melitracenu a prekurzoru 2-isopropenyl-benzofenonu nebyla detekována žádná degradace. Naopak látky thiepinon a metabolit karbinol dosulepinu byly během prvních 7 dní kultivace zcela degradovány. Při degradaci směsi látek byla u 5 látek z 9 testovaných detekována degradace o 52-100% z původní koncentrace (2 mg/l každé látky). Testy akutní toxicity s *Vibrio fischeri* naznačily potenciálních tvorbu metabolitů, které vykazovaly vyšší toxicitu než některé původní látky. Hodnota EC50 se při testech akutní toxicity s *V. fischeri* u jednotlivých látek pohybovala v rozmezí od 5,45 mg/l do 131,98 mg/l. Při MS studiu metabolitů byla navržena struktura dvou majoritních metabolitů thiepinonu. V současnosti probíhá studium degradačních meziproduktů prostřednictvím LC-MS/MS.

* Korespondence: zkresin@biomed.cas.cz

PODĚKOVÁNÍ:

Tato práce byla finančně podpořena Centrem Kompetence Technologické Agentury ČR, projekt číslo TE01020218.

WeP-042: Biomimetics of biochemical redox reactions of xenobiotics using EC-ESI-MS

Jana Jaklová Dytrtová^{1,2*}, Michal Jakl³

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

2. Faculty of Physical Education and Sport, Charles University in Prague

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

The metabolic transformation of all xenobiotics (pharmaceuticals, pesticides, additives, supplements etc.) starts in liver. Xenobiotics follow a set of transformations under cytochrome P450, which is divided into phase I and phase II. Phase I includes oxidation, reduction, hydrolysis and/or dehydrogenation of the xenobiotic substrate. Classic biochemical studies of xenobiotics metabolism [1] are not useful for the detection of highly reactive (potentially very toxic) metabolites as well as for the detection of low concentrated metabolites, which are mostly adsorbed onto sample matrix. The hyphenation of electrochemistry with mass spectrometry (EC/MS) represents an instrumental ex situ approach for the study of these biochemical reactions [2]. Namely, oxidation as well as reduction can be easily provided. There are no demands on enzymes (oxidation/reduction is provided using working electrode), there is no interference with complicated biological matrices and the short-lived metabolites are immediately detected. The contribution shows the application of EC/MS for biomimetic transformation of Dasatinib.

* Korespondence: dytrtova@centrum.cz

LITERATURA:

1. Faber H. et al.: Anal. Chim. Acta 834, 9-21 (2014).
2. Jaklová Dytrtová J. and Jakl M.: Chem. Listy 110, 73-94 (2016).

PODĚKOVÁNÍ:

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

WeP-043: Dereplication of organic compounds from mass spectrometry imaging and liquid chromatography/mass spectrometry datasets

Jiří Novák^{1*}, Lucie Sokolová¹, Tomáš Pluháček¹, Jakub Přichystal¹, Karel Lemr¹, Vladimír Havlíček¹

1. Institute of Microbiology of the CAS, v.v.i., Vídeňská 1083, 142 20 Prague 4

Mass spectrometry imaging (MSI) data represents hundreds to thousands of mass spectra that are commonly processed manually to dereplicate organic compounds from an unknown sample. CycloBranch (<http://ms.biomed.cas.cz/cyclobranch/>) is our in-house open-source and cross-platform tool originally dedicated to *de novo* sequencing of nonribosomal peptides (NRPs) from accurate product ion mass spectra [1]. In this presentation we will present CycloBranch in dereplication of small molecular weight natural compounds from accurate MSI datasets.

The tool supports the standard imzML format for exchange of MSI data as well as native Bruker format. CycloBranch can be used for isotope data filtering facilitating the extraction of relevant biometals from MSI datasets. Batch processing of liquid chromatography–mass spectrometry files is also supported. The current compound libraries involve lipids (LipidMaps.org), microbial nonribosomal peptides and siderophores [2], microbial secondary metabolites and new designer drugs.

* Korespondence: jiri.novak@biomed.cas.cz

LITERATURA:

1. Novak J. et al.: *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.* 26(10), 1780-1786 (2015).
2. Pluhacek T. et al.: *Mass Spectrom. Rev.* 35(1), 35-47 (2016).

PODĚKOVÁNÍ:

The authors gratefully acknowledge the support from Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (LO1509 and LH14064) and Czech Science Foundation (P206/12/1150).

WeP-044: Study of gas-phase ion molecular reactions at temperatures relevant to the atmosphere of Titan

Illia Zymak^{1*}, Ján Žabka¹, Miroslav Polášek¹

1. J. Heyrovsky Institute of Physical Chemistry of the CAS, v. v. i., Prague, Czech Republic

Theoretical models of the chemical kinetics of the ionosphere of Saturn's moon, Titan, are highly dependent on the precision of the rates of the reactions of ambient ions with hydrocarbon molecules at relevant temperatures. To provide kinetics data closer to the required temperature, the newly built VT-SIFT instrument includes a novel temperature variable flow tube and temperature regulation system was used to study temperature dependence of $\text{CH}_3^+ + \text{O}_2$ and $\text{N}_2^+ + \text{CH}_4$ reactions over the temperature range 245 – 305 K.

The $\text{CH}_3^+ + \text{O}_2$ reaction proceeds thus $\text{CH}_3^+ + \text{O}_2 + \text{He} \rightarrow \text{CH}_3\text{O}_2^+ + \text{He}$ and $\text{CH}_3^+ + \text{O}_2 \rightarrow \text{HCO}^+ + \text{H}_2\text{O}$. The association channel is considered to be the most relevant channel for interstellar chemistry and was studied previously using the original SIFT instrument [1]. The exothermic binary channel becomes dominant at low number densities of neutrals. The measured rate constant for this channel $k_{1b} = (4.7 \pm 0.9) \cdot 10^{-11} \text{ cm}^3\text{s}^{-1}$ at $302 \pm 1 \text{ K}$, in agreement with a previous ICR measurement [2]. These results are used to estimate the absolute error of rate coefficient measurements using this new VT-SIFT instrument by comparison with published data [2]. The apparent small decrease of k at the lower temperature to of $248 \pm 5 \text{ K}$ is not statistically significant.

The reaction of the N_2^+ ions with methane has two exothermic bimolecular channels $\text{N}_2^+ + \text{CH}_4 \rightarrow \text{CH}_3^+ + \text{N}_2 + \text{H}$ and $\text{N}_2^+ + \text{CH}_4 \rightarrow \text{CH}_2^+ + \text{N}_2 + \text{H}_2$. The CH_3^+ formation channel is very dominant (>90% of the total products) [3]. The temperature dependence of the formation of the CH_3^+ ions was explored (the minor CH_2^+ channel neglected).

* Korespondence: illia.zymak@jh-inst.cas.cz

LITERATURA:

1. Adams N.G. and Smith D.: Chem. Phys. Lett., 79(3), 563-567 (1981).
2. Huntress W.T.: Astrophys. J. Suppl. S., 33(4), 495-514 (1977).
3. Tichý M. et al.: Int. J. Mass Spectrom. Ion Proc. 29(3), 231-247 (1979).

CoP-001: Bringing together chemistry and mass spectra information

Peter Szepe ¹, Ondrej Svoboda ¹, **Karla Jarkovska** ^{1*}, David Pech ¹, Max Sauer ¹

1. ChemAxon Kft., Budapest, Hungary

Since 1998 ChemAxon, a private cheminformatics company with headquarters in Budapest, brings chemical intelligence and expertise into the field. The primary mission of ChemAxon has always been to provide tools which add value to existing chemical data and enable the customer to fully profit from the results of his chemical assays.

Chemaxon currently provides tools which encompass domains from chemical visualization (Marvin) and search engine (JChem) to advanced database management (Instant JChem). Recently, the company has fully embraced web-oriented tools with its state-of-the-art brand new Plexus Suite.

The internal development in ChemAxon certainly does not stop here. This contribution shows that chemistry is always the state of mind for most ChemAxon people. Our goal is to merge our knowledge in chemistry, informatics and computational algorithms to provide a valuable tool for matching experimental spectra against a database of potential candidates. Even though we began the development of our spectral analysis tool only recently, it already shows very promising results in terms of both speed and accuracy.

* Korespondence: kjarkovska@chemaxon.com

Adam Tomáš	FrO-015	Ettrich Rüdiger	WeP-011
Adam Tomáš	FrO-018	Ettrichová Olga	WeP-011
Adam Tomáš	WeP-019	Faber Edgar	FrO-015
Anania Mariarosa	WeP-028	Faber Edgar	WeP-019
Angelini Jindřiška	WeP-018	Fenclová Marie	ThO-014
Bartoš Petr	WeP-021	Fesl Jan	FrO-017
Bazso Fanni	WeO-001	Filipová Alena	WeP-026
Bednář Jan	WeP-001	Flieger Miroslav	ThO-006
Bednařík Antonín	WeP-038	Franc Vojtěch	WeP-006
Běláková Sylvie	WeP-021	Friedecký David	FrO-015
Běláková Sylvie	WeP-023	Friedecký David	FrO-018
Belza Jan	ThO-009	Friedecký David	WeP-019
Benada Oldřich	WeP-014	Fryčák Petr	WeP-022
Benada Oldřich	WeP-030	Fryčák Petr	WeP-031
Benešová Iva	ThO-008	Gardlo Alžběta	FrO-015
Benešová Iva	ThO-013	Gardlo Alžběta	WeP-019
Benešová Karolína	WeP-021	Goldman Radoslav	WeP-009
Benešová Karolína	WeP-023	Gomory Agnes	WeO-001
Bílková Aneta	WeP-013	Goodlett David	PL-1
Bílková Zuzana	WeP-006	Grantz Šašková Klára	ThO-009
Bohatá Andrea	WeP-021	Grubhoffer Libor	WeP-005
Bumba Ladislav	WeP-003	Hajdúch Marián	ThO-007
Cajthaml Tomáš	WeP-026	Hajšlová Jana	ThO-014
Cajthaml Tomáš	WeP-027	Halada Petr	WeP-003
Cajthaml Tomáš	WeP-039	Halada Petr	WeP-007
Cajthaml Tomáš	WeP-040	Hartman Ivo	WeP-021
Cajthaml Tomáš	WeP-041	Hartmanová Lucie	WeP-031
Cebecauer Marek	WeP-010	Hausner Jiri	WeP-012
Cosson Jacky	ThO-010	Havelka Zbyněk	WeP-021
Coufalova Dominika	WeP-012	Havlíček Vladimír	WeP-014
Covino Steafno	WeP-026	Havlíček Vladimír	WeP-016
Crone Barbara	FrO-016	Havlíček Vladimír	WeP-022
Cuhra Petr	ThO-012	Havlíček Vladimír	WeP-030
Cvačka Josef	WeP-032	Havlíček Vladimír	WeP-031
Darebná Petra	WeP-009	Havlíček Vladimír	WeP-043
Darebna Petra	WeP-015	Hernychova Lenka	WeP-012
Dienstbier Miroslav	WeP-021	Hlavačková Kristýna	WeP-007
Dlabková Kristýna	ThO-008	Horna Aleš	WeP-013
Dlabková Kristýna	ThO-013	Houška Pavel	WeP-038
Doušková Kateřina	WeP-024	Hron Karel	FrO-015
Drábková Petra	WeP-013	Hrsinová Křesinová Zdena	WeP-041
Drahoš Laszlo	WeO-001	Hubálek Martin	ThO-009
Dryahina Kseniya	WeP-017	Chambron Jean-Claude	ThO-005
Dřevínek Pavel	WeP-017	Chmelíčková Hana	WeP-031
Durech Michal	WeP-012	Ingr Tomáš	WeP-031
Dušek Martin	WeP-029	Jáčová Jaroslava	FrO-015
Dvorakova Petra	WeP-012	Jáčová Jaroslava	FrO-018
Dvořák Vít	WeP-007	Jägerová Kateřina	ThO-008
Eckhardt Adam	WeP-024	Jakl Michal	WeP-042
Eckhardt Adam	WeP-035	Jaklová Dytrtová Jana	WeP-042

Janda Martin	WeP-018	Machálková Markéta	WeP-037
Janečková Hana	FrO-015	Man Petr.....	WeP-003
Jarkovska Karla	CoP-001	Man Petr.....	WeP-004
Jašík Juraj.....	WeO-002	Man Petr.....	WeP-011
Jašíková Lucie	WeP-036	Man Petr.....	WeP-012
Jořenek Miroslav	FrO-018	Man Petr.....	WeP-015
Junková Petra.....	WeP-018	Martinec Jan	WeP-018
Jurnečka David	WeP-003	Matoulková Dagmar	WeP-023
Kábelová Hana	WeP-021	Meyer Michel	ThO-005
Kádek Alan	WeP-004	Mičová Kateřina	FrO-015
Kádek Alan	WeP-011	Mičová Kateřina	WeP-019
Kanický Viktor	ThO-008	Mikšák Ivan	WeP-035
Kanický Viktor	ThO-013	Moos Martin	FrO-017
Karlíková Radana	FrO-015	Moskovets Eugene.....	WeP-038
Karmazín Karel	WeP-024	Mrázek Hynek	WeP-004
Karst Uwe	FrO-016	Najdekr Lukáš.....	FrO-015
Kavan Daniel	WeP-004	Najdekr Lukáš.....	FrO-018
Kavan Daniel	WeP-007	Najdekr Lukáš.....	WeP-019
Kolešová Anna.....	ThO-010	Navrátil Rafael	WeO-002
Koník Peter	WeP-005	Navrátilová Jarmila.....	WeP-037
Konvalinka Jan	ThO-009	Nemec Alexandr	WeP-017
Kosek Vít	ThO-014	Němec Ivan	WeO-002
Kotas Petr	ThO-010	Niehoff Ann-Christin	FrO-016
Kotas Petr	WeP-001	Novák Jiří.....	WeP-043
Kotas Petr	WeP-005	Novák Petr	WeP-004
Krejčová Lucie	WeP-041	Novák Petr	WeP-009
Kröger Sabrina.....	FrO-016	Novák Petr	WeP-011
Křesinová Zdena	WeP-027	Novak Petr	WeP-012
Křesinová Zdena	WeP-039	Novak Petr	WeP-015
Kuba Pavel.....	WeP-038	Novotny Milos V.....	ThO-011
Kubišta Jiří.....	WeP-010	Olšínová Marie	WeP-010
Kučera Radek	WeP-009	Olšovská Jana	WeP-029
Kukačka Zdeněk	WeP-011	Ondruš Jaroslav	WeP-005
Kulhavá Lucie.....	WeP-024	Ozohanics Oliver.....	WeO-001
Kulhavá Lucie.....	WeP-035	Palyzová Andrea	WeP-030
Kupčák Rudolf	WeP-006	Pásztor Pavel	WeP-017
Lacina Ondřej	ThO-014	Pech David	CoP-001
Lacinová Petra	WeP-008	Petr Šimek	FrO-017
Lemr Karel	PL-2	Petrovič Vladimír	WeP-033
Lemr Karel.....	WeP-022	Petrů Klára	WeP-039
Lemr Karel.....	WeP-030	Petrík Miloš.....	WeP-030
Lemr Karel.....	WeP-031	Pluháček Tomáš	WeP-014
Lemr Karel.....	WeP-043	Pluháček Tomáš	WeP-030
Linhart Otomar	ThO-010	Pluháček Tomáš	WeP-043
Linhartová Lucie.....	WeP-039	Polášek Miroslav	WeP-044
Linhartová Lucie.....	WeP-040	Pompach Petr	WeP-009
Lorencová Iveta	WeP-031	Pompach Petr	WeP-015
Luptáková Dominika	WeP-014	Preisler Jan	ThO-008
Luptáková Dominika	WeP-016	Preisler Jan	ThO-013
Luptáková Dominika	WeP-030	Preisler Jan	WeP-037

Preisler Jan	WeP-038	Španěl Patrik	WeO-003
Pruška Adam	WeP-037	Španěl Patrik	ThO-004
Přichystal Jakub	WeP-014	Španěl Patrik	WeP-010
Přichystal Jakub	WeP-043	Španěl Patrik	WeP-017
Qiu Changling	WeP-022	Španěl Patrik	WeP-025
Rodina Marek	ThO-010	Špatenka Petr	WeP-021
Roithová Jana	WeO-002	Šředlová Kamila	WeP-040
Roithová Jana	ThO-005	Štěrba Jan	ThO-010
Roithová Jana	WeP-020	Štěrba Ján	WeP-005
Roithová Jana	WeP-028	Štěrbová Jarmila	WeP-005
Roithová Jana	WeP-033	Šusta Jiří	WeP-023
Roithová Jana	WeP-036	Tarkowski Petr	FrO-018
Rosůlek Michal	WeP-004	Terencio Thibault	ThO-005
Rosůlek Michal	WeP-011	Terencio Thibault	WeP-028
Rosulek Michal	WeP-015	Topolčan Ondřej	WeP-009
Roubalova Lenka	WeP-034	Trcka Filip	WeP-012
Rumlová Barbora	WeP-032	Tříška Jan	WeP-001
Rutter Abigail V.	WeP-010	Tříška Jan	WeP-002
Řeha David	WeP-011	Turiak Lilla	WeO-001
Řehulka Pavel	WeP-006	Ujcikova Hana	WeP-034
Řehulková Helena	WeP-006	Vaculovič Tomáš	ThO-013
Říhová Blanka	WeP-016	Valentová Olga	WeP-018
Sanda Miloslav	WeP-009	Váňa Jiří	WeP-033
Sauer Max	CoP-001	Vancová Marie	WeP-005
Scigelová Michaela	WeP-029	Vaněk Ondřej	WeP-011
Semerád Jaroslav	WeP-027	Vávra Radek	WeP-013
Shestivska Violetta	WeP-010	Vecka Marek	WeP-008
Schug Kevin A.	WeP-022	Vékey Károly	WeO-001
Slavata Lukáš	WeP-004	Vilímek Josef	WeP-002
Smoleň Michal	WeP-036	Vojtesek Borivoj	WeP-012
Sokolová Lucie	WeP-043	Volf Petr	WeP-007
Sovová Kristýna	WeO-003	Volny Michael	WeP-015
Sovová Kristýna	WeP-010	Vosahlikova Miroslava	WeP-034
Sovová Kristýna	WeP-017	Vrchotová Naděžda	WeP-001
Sovová Kristýna	WeP-025	Vrkoslav Vladimír	WeP-032
Spesyvyi Anatolii	WeO-003	Vrobel Ivo	WeP-019
Spesyvyi Anatolii	WeP-025	Výňuchalová Kateřina	WeP-013
Stella Tatiana	WeP-040	Vytašek Richard	WeP-024
Stulík Jiří	WeP-006	Yassaghi Ghazaleh	WeP-020
Svoboda Michal	ThO-009	Zajoncová Ludmila	FrO-018
Svoboda Ondřej	CoP-001	Zelenák František	ThO-013
Svoboda Petr	WeP-034	Zeljković Čavar Sanja	FrO-018
Szepe Peter	CoP-001	Zymak Illia	WeP-044
Šebela Marek	WeP-006	Žabka Ján	WeP-044
Šebo Petr	WeP-003	Žaloudíková Marie	WeP-024
Šindelářová Kateřina	WeO-003		
Šinglárová Simona	WeP-008		
Šírová Mílada	WeP-016		
Škultéty Ludovít	WeP-022		
Šmarda Jan	WeP-037		

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

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

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

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

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

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

 **SHIMADZU**
Excellence in Science



MĚNÍ VŠECHNO

Nové Shimadzu LCMS-8060 přináší změnu ve Vaší práci, tak abyste mohli pracovat lépe a rychleji. LCMS trojitý kvadrupól kombinuje všechny Ultra Fast technologie a posouvá hranice LC-MS/MS kvantifikace pro aplikace, které vyžadují nejvyšší citlivost a stabilitu.

Nejlepší citlivost v celosvětovém měřítku
Založená na nové technologii UF-Qarray přináší nové limity citlivosti MRM a zlepšující citlivost ve full-scan režimu

Bezkonkurenční rychlost
Vzhledem ke sběru dat se skenovací rychlosti 30 000 u/sec a přepínáním polarity za 5 ms

Vynikající odolnost
Dosažení špičkové odezvy pro plochu piku s RSD 3,5 %, což dokazuje vysokou robustnost přístroje

Další úroveň prohlížení dat
Nový software LabSolutions Insight – maximální produktivita, flexibilita a jednoduchost použití

UFMS
ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY

www.shimadzu.cz

*2 400 vzorků na úrovni femtogramů alprazolamu, spikováno do extraktů lidské plazmy precipitovanými proteiny, měřeno po dobu 6 dnů (přes 400 změřených vzorků každý den)



Delivering Complete Solution for Your Analytical Research Tasks



- **PROTEOMICS AND METABOLOMICS**
Protein and Small Molecule Identification and Quantitation, Biomarker Discovery & Characterization, Lipidomics
- **CLINICAL RESEARCH**
Molecular Tissue (MALDI) Imaging, Microorganism Identification, Drug Monitoring and Toxicology Research
- **DRUG DISCOVERY AND DEVELOPMENT**
Metabolic Profiling, Compound Identification, Structure Elucidation, Small Molecule Tissue Imaging, DMPK and ADME Studies
- **FOOD, ENVIRONMENTAL AND FORENSIC**
Pesticide Screening and Quantification, Authenticity and Adulteration Testing, Comprehensive Forensic Toxicology
- **CHEMISTRY**
Organics, Polymers, Lipids, Petroleomics, DNA Quality Control

Novinky roku 2016

rapiflex™ MALDI Tissue typer™

Nejrychlejší a nejrobustnější řešení pro MALDI Imaging na bázi nové generace MALDI-TOF/TOF spektrometru



Klíčové vlastnosti Bruker rapiflex™:

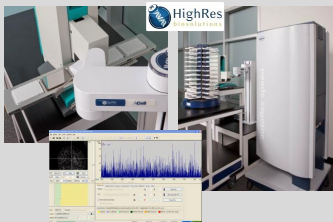
- **2015 ASMS „Product of the Show“**
- Smartbeam 3D laser s rychlostí 10 kHz a bezmotorovou zrcadlovou optikou
- MALDI Imaging s rychlostí až 50 full pixelů za sekundu (celý image za 1-2h)
- Otevřený MALDI iontový zdroj pro minimalizaci kontaminace; s možností rychlého manuálního čištění uživatelem
- prostorové rozlišení pixelu $\leq 10 \mu\text{m}$ s plným pokrytím vzorku v pixelu
- Pro více informací zadejte „rapiflex“ na www.youtube.com
- P. Chaurand, US Demo facility: „Holly sh... this thing is fast“

rapiflex = rychlost/robustnost/spolehlivost

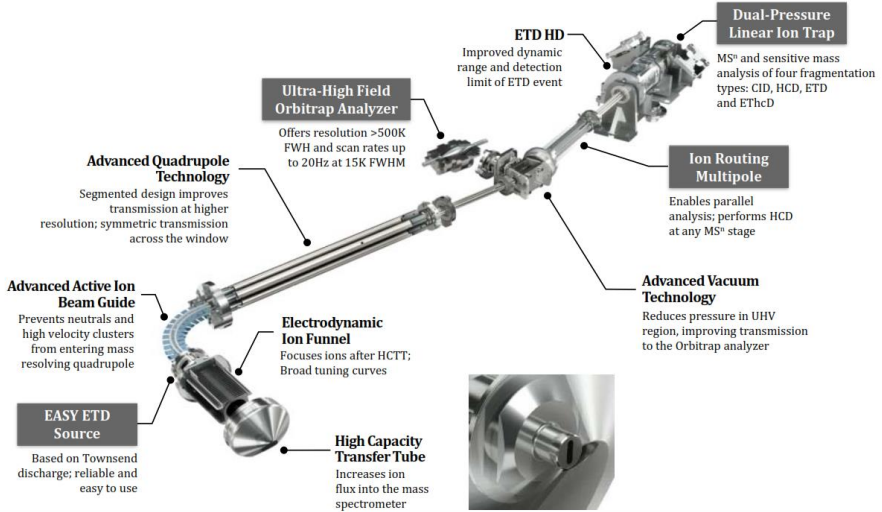
MALDI PharmaPulse™

Nejrychlejší a nejefektivnější MS-based řešení pro „pharma drug discovery“ biochemický screening

- 10-100x rychlejší než nejrychlejší multiplex LC-MS/MS
- „Label free, easy to multiplex“ MALDI MS detekce
- MALDI HTS (High Throughput Screening) s 0,5-1 s/vzorek
- Velmi rychlý vývoj „multi-assays“ bez nutnosti protílátek
- Kompletní robotizace: screening > 50 000 vzorků/den
- Nízká spotřeba rozpouštědel, reagentů i vzorků



Orbitrap Fusion Lumos Tribrid Mass Spectrometer



Sensitivity of a triple quadrupole MS

- ▶ Brightest Ion Source
- ▶ Advanced Quadrupole Technology
- ▶ Most Sensitive Detector

Selectivity of an Orbitrap

- ▶ Highest Resolution
- ▶ Highest Mass Accuracy
- ▶ Lowest Detection Limit

Versatility of a Tribrid

- ▶ Four Dissociation Techniques
- ▶ Unique Tribrid Architecture
- ▶ Full Experimental Flexibility

Nové hmotnostní spektrometry SCIEX X500R QTOF



Nejmenší MS s vysokým rozlišením (42000 FWHM)

Citlivost srovnatelná s trojitými kvadrupóly

Možnost SWATH akvizice dat

[SCIEX X500R](#)

SCIEX 6500+ (TQ a QTRAP)

Snížení mezí stanovitelnosti pro široký rozsah látek v nejobtížnějších maticích

Dynamický rozsah až 6 řádů

Přepínání polarity za 5 ms

Rozsah do m/z 2000

Skenování rychlostí až 20000 u/s

Kompatibilní s novou diferenční mobilitou iontů SelexION+ zvyšující selektivitu a zlepšující mez stanovitelnosti



[SCIEX 6500+](#)

Hmotnostní spektrometry pro měření izotopických poměrů



AMEDIS

AMEDIS, spol. s r.o.

Bobkova 786, 787, 198 00 Praha 9, tel.: (+420) 281 918 191

e-mail: sales@amedis.cz, www.amedis.cz

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

RUTINNÍ POUŽITÍ IONTOVÉ MOBILITY V MS

Měření hmotnosti, velikosti a tvaru molekul

High Definition Mass Spectrometry

VION® IMS QTof

Rozlišení > 50 000 FWHM

Přesnost hmoty < 1 ppm

Dynamický rozsah 10⁵

IDENTIFIKACE A KVANTIFIKACE LÁTEK NAJEDNOU



1

SYNAPT® G2-S



Ionizace ESI / APCI / APPI / AIMS / ETD

Rozhraní LC / GC / ČIP/ NANO / ASAP / REIMS

Informace o hmotnosti, velikosti a tvaru molekul

Dvoudimenzionální hmotnostní spektrometrie IMS-MS

SUPERSEKTRÁLNÍ MOLEKULÁRNÍ ZOBRAZOVÁNÍ DESI/MALDI

2

DETEKTOR QDa
s jednoduchým
kvadrupolem



KVADRUPOLY

Tandemové MS/MS:

XEVO TQ-S

XEVO TQ-S micro

XEVO TQD

3



CÍLENÁ KVANTIFIKACE, DATABÁZE ANALYTICKÝCH METOD QUANPEDIA

RAPID EVAPORATIVE IONIZATION MASS SPECTROMETRY (REIMS)

Inovativní odpařovací technika hmotnostní spektrometrie

On-line okamžitý výsledek bez přípravy vzorku

Selektivní odpověď během 1 s

4

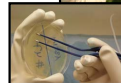


i-KNIFE

i-ENDOSCOPY

MIKROBIÁLNÍ ANALÝZA

ANALÝZA AUTENTIČNOSTI POTRAVIN



WWW.WATERS.COM



HPST, s.r.o.
Pisnická 372/20
142 00 Praha 4
Česká republika

Tel.: +420 244 001 231
Fax: +420 244 001 235
E-mail: info@hpst.cz
Web: www.hpst.cz

Autorizovaný
distributor
Agilent
Technologies




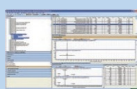
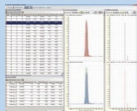
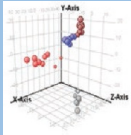


Agilent Technologies

Authorized Distributor



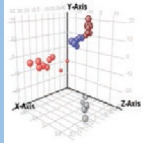

Agilent Technologies řešení pro METABOLOMIKU

www.agilent.com/chem/metabolomics

Discovery Metabolomics

Data Acquisition	Feature Finding	Alignment and Statistical Analysis	Identification	Pathway Analysis
Analytical Instruments	MassHunter Software	MassProfiler Professional Software		
	 Qual  Profinder	 Analysis and Visualisation	 ID Browser using METLIN Database and Agilent Fiehn Library	 Pathway Architect using public databases, such as KEGG

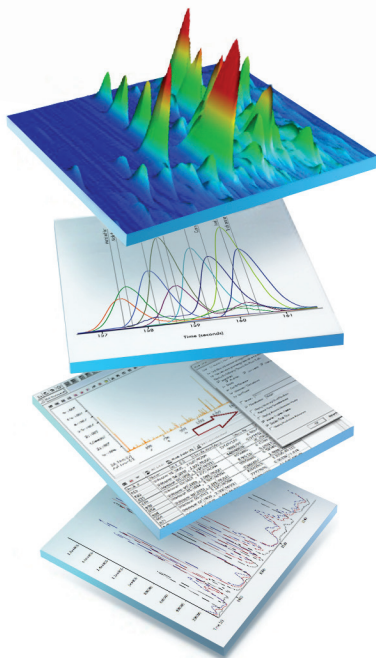
Targeted Metabolomics

Separation and Detection	MRM Quantification	Statistical Analysis	Pathway Analysis
Analytical Instruments	MassHunter Software	MassProfiler Professional Software	
	 Quant	 Analysis and Visualisation	 Pathway Architect using public databases, such as KEGG



ChromaTOF

Komprezivní řešení pro GCxGC-(HR)-TOF MS



- ▼ SEPARACE
- ▼ DEKONVOLUCE
- ▼ IDENTIFIKACE
- ▼ KVANTIFIKACE

Vše na jedné SW platformě

www.leco.com



LECO Instrumente Plzeň, s.r.o.
Plaská 66 | 323 00 Plzeň
info@leco.cz | +420 377 510 811

LECO[®]
Delivering the Right Results

CHEMAXON

SOFTWARE SOLUTIONS AND SERVICES
FOR CHEMISTRY AND BIOLOGY



WHO ARE WE?

ChemAxon is a leading company in cheminformatics, founded over 17 years ago.



chemaxon.com

AND WHAT DO WE DO?

ChemAxon provides chemical software development platforms and solutions for the biotechnology and pharmaceutical industries, which are successfully used in publishing, flavors and fragrances research, petroleum and fine chemicals development areas as well.

Our innovation targets are to become leaders in web-based data management solutions, to bridge chemistry and biology together, and to offer out-of-the-box solutions for cloud.

WHY DO OUR USERS PREFER US?

Because we are known for our robust and chemically intelligent software; because we develop our tools together with our users (the reason we have good quality software); because we have excellent support; and because we support academic research and teaching like no one else in the industry.