

---

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

---

Hradec Králové, 17. - 19. října 2012  
SBORNÍK PŘÍSPĚVKŮ

Sborník příspěvků z 2. konference  
České společnosti  
pro hmotnostní spektrometrii

---

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

*Olomouc a Hradec Králové 2012*

**Sborník příspěvků z 2. konference České společnosti  
pro hmotnostní spektrometrii**

**Autoři**

*Kolektiv autorů*

**Vydáno**

*Říjen 2012, 1. vydání*

**Vydavatel**

*Česká společnost pro hmotnostní spektrometrii*

*Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého*

*17. listopadu 1192/12*

*771 46 Olomouc*

*[www.czechms.org](http://www.czechms.org)*

**ISBN 978-80-905045-1-6**



ISBN 978-80-905045-1-6



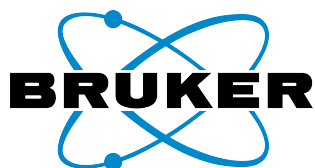
9 788090 504516 >

# Hlavní sponzoři konference

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



*Shimadzu Handels GmbH,  
organizační složka*



*Bruker s.r.o.*



*AB SCIEX*



*HPST s.r.o.*



*Waters*



## Další sponzoři



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



*Quinta-Analytica s.r.o.*

## Akademičtí partneři



*Přírodovědecká fakulta,  
Univerzita Palackého  
Sídlo ČSHS*



*Fakulta vojenského zdravotnictví,  
Univerzita obrany  
Spolupořadatel 2. konference ČSHS*



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

---

## 2. konference České společnosti pro hmotnostní spektrometrii

### **Datum konání**

17. - 19. října 2012

### **Místo konání**

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

### **Pořadatel**

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

### **Spolupracující akademické instituce**

Univerzita Palackého v Olomouci, Česká republika

Univerzita Karlova v Praze, Česká republika

Masarykova Univerzita v Brně, Česká republika

Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v.v.i., Česká republika

Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Česká republika

### **Výbor ČSHS**

Předseda: Jana Roithová

Místopředseda: Karel Lemr

Členové: Petr Halada, Jan Havliš, Lenka Hernychová, Petr Novák,  
Patrik Španěl a Michael Volný

**Program      středa 17. října 2012**

- 13:00 - 20:00      Registrace
- 14:30 - 15:30      Workshop firmy Waters
- 15:30 - 16:00      Přestávka
- 16:00 - 16:10      Zahájení 2. konference ČSHS
- 16:10 - 17:00      Dieter Gerlich (*Technische Universität Chemnitz*)  
    *PL-1      Polyatomic ions in traps: from molecules via clusters to nanoparticles*
- 17:00 - 17:10      Přestávka
- 17:10 - 18:40      I. Hmotnostní spektrometrie v iontové chemii**  
*(Předsedající: Patrik Španěl)*
- 17:10 - 17:40      František Tureček  
    *WeO-001      Cascade dissociations of peptide Ions: radical, carbene, and diazonium reactions*
- 17:40 - 18:00      Ján Tarábek  
    *WeO-002      Complementarity of mass spectrometry and electron paramagnetic resonance*
- 18:00 - 18:20      Anton Škríba  
    *WeO-003      Protonated sites and fragmentations of para-aminophenol*
- 18:20 - 18:40      Miroslav Polášek  
    *WeO-004      Laboratory studies on negative ion/molecule processes relevant to the ionosphere of Titan*
- 18:40 - 19:00      Přestávka na kávu a čaj
- 19:00 - 20:00      Workshop firmy AB SCIEX
- 20:10 - 20:30      Vernisáž publikace ČSHS „*Počátky a historie československé hmotnostní spektrometrie*”
- 20:30 - 24:00      Párty na uvítanou a sekce plakátových sdělení

---

**Program      čtvrtek 18. října 2012**

- 09:00 - 10:30      II. Hmotnostní spektrometrie v potravinářství, průmyslu  
a ochraně prostředí  
(Předsedající: Michal Holčapek)**
- 09:00 - 09:30      Ivan Víden  
*ThO-005      Přírodní a syntetická barviva v tkaninách*
- 09:30 - 09:50      Erich Leitner  
*ThO-006      GC-MS for the determination of Off-Flavours*
- 09:50 - 10:10      Tereza Tylová  
*ThO-007      Detekce vybraných skupin antibiotik ve vodách na území České  
republiky za použití metody SPE a UPLC-ToFMS*
- 10:10 - 10:30      Jana Hajšlová  
*ThO-008      TBA*
- 10:30 - 10:50      Přestávka na kávu a čaj
- 10:50 - 12:20      III. Hmotnostní spektrometrie v organické analýze  
(Předsedající: Vladimír Vrkoslav)**
- 10:50 - 11:20      Jana Roithová  
*ThO-009      Hmotnostní spektrometrie ve výzkumu reakčních mechanismů*
- 11:20 - 11:40      Jan Preisler  
*ThO-010      Application of nanoparticles in desorption mass spectrometry*
- 11:40 - 12:00      Jana Jaklová Dyrtrtová  
*ThO-011      Dimethyl sulphoxide ability to interact with lecithin proved using  
electrospray ionization mass spectrometry*
- 12:00 - 12:20      Lukáš Krásný  
*ThO-012      In-situ obohacení fosforylovaných peptidů pro MALDI MS*
- 12:30 - 13:30      Workshop firmy Shimadzu
- 13:30 - 14:30      Oběd



**14:30 - 16:00 IV. Hmotnostní spektrometrie v biologii**

*(Předsedající: Petr Man)*

- 14:30 - 15:00 Marek Šebela  
*ThO-013 Analysis of protein glycosylation using a simple microgradient separation device combined off-line with MALDI-TOF/TOF MS analysis*
- 15:00 - 15:20 Tomáš Ječmen  
*ThO-014 Odkrývání membránové topologie cytochromů P450 2B4 a b5 pomocí značení fotoaktivovatelnou nanosondou ve spojení s hmotnostní spektrometrií*
- 15:20 - 15:40 Violetta Shestivska  
*ThO-015 Mass spectrometry as a tool for searching for volatile biomarkers of lung bacterial infection*
- 15:40 - 16:00 Petr Pompach  
*ThO-016 Site specific glycoforms of haptoglobin in liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma*
- 16:00 - 16:20 Přestávka na kávu a čaj
- 16:20 - 17:30 Schůze ČSHS a volby nového výboru
- 17:30 - 18:30 Volno
- 18:30 - 19:30 Workshop firmy HPST
- 19:30 - 24:00 Večeře a sekce plakátových sdělení

---

**Program pátek 19. října 2012**

- 09:00 - 10:30 V. Hmotnostní spektrometrie v klinické a farmaceutické analýze a metabolomice**  
*(Předsedající: Miroslav Flieger)*
- 09:00 - 09:30 Petr Šimek  
*FrO-017 Hmotnostní spektrometrie v metabolomické analýze*
- 09:30 - 09:50 Hana Janečková  
*FrO-018 Untargeted metabolomic analysis of urine samples for diagnosing inherited metabolic disorders*
- 09:50 - 10:10 Kseniya Dryahina  
*FrO-019 Stanovení koncentrací těkavých biomarkerů v lidském dechu pomocí SIFT-MS*
- 10:10 - 10:30 Jana Tomková  
*FrO-020 Rozšířené vyšetřování DMP technikou tandemové hmotnostní spektrometrie z krevních skvrn*
- 10:30 - 10:50 Přestávka na kávu a čaj
- 10:50 - 11:50 Workshop firmy Bruker
- 12:00 - 12:50 Miloš Novotný (*Indiana University*)  
*PL-2 Hyphenating mass spectrometry: now and then*
- 12:50 - 12:55 Udělení čestného členství
- 12:55 - 13:05 Patrik Španěl, Jan Havliš a kol.  
*Česká terminologie v hmotnostní spektrometrii*
- 13:05 - 13:10 Závěr konference
- 13:10 - 14:00 Oběd

## **PL-1: Polyatomic ions in traps: from molecules *via* clusters to nanoparticles**

Dieter Gerlich <sup>1,2\*</sup>

*1. Institute of Physics, University of Technology, 09107 Chemnitz, Germany*

*2. Faculty of Mathematics and Physics, Charles University, 121 16 Prague, Czech Republic*

---

A variety of trapping instruments have been developed in the last decades for studying the structure of molecular ions and various collision processes with ions (bimolecular reactions, radiative association, growth of clusters). A rather unexplored field is the confinement of individual charged nano- or micrometer sized particles and their interaction with electrons, atoms and/or photons.

Many devices for guiding storing or selecting ions are based on inhomogeneous rf fields created by suitable multi electrode arrangements. In this talk, after some motivation of our work from astrochemistry, I will give an introduction into this technology and its history. In the main part, I will present a collection of highlights from the past illustrating the wide range of applications in fundamental physics, spectroscopy, astrochemistry, mass spectrometry and material science. Ongoing and planned new developments such as buffer gas cooling below 1 K or superimposing rf and magnetic fields will be briefly mentioned.

\* Korespondence: [gerlich@physik.tu-chemnitz.de](mailto:gerlich@physik.tu-chemnitz.de)

## PL-2: Hyphenating mass spectrometry: now and then

Miloš Novotný<sup>1\*</sup>

*1. Department of Chemistry, Indiana University, Bloomington, IN 47405, USA*

---

The first demonstrations of the resolving power of highly efficient capillary columns in GC (mostly for hydrocarbons) during the 1960 left the chromatography practitioners facing a big problem: now that we can prove that our samples are really complex, what is their actual molecular composition? The retention data gathering then preoccupied many laboratories, while in a different scientific community (mass spectrometry), the experiments were underway to combine GC with mass spectrometry (MS). Poor performance of chromatographic columns in the early GC-MS work did not bother mass spectrometrists a great deal, while few separation scientists were in possession of these complicated, expensive and, at times, unpredictable machines. After a brief era of research on “molecule separators” in GC-MS, technological advances of the early 1970s enabled a straightforward coupling of capillary GC to MS and practically retired packed GC columns for most applications. Within a decade, GC-MS became nearly routine, and we then worried a lot about how to couple LC with MS. Coincidentally, new ionization techniques in MS made it almost suddenly possible to analyze large biological molecules, and ultimately, permit LC-MS and various other “hyphenations” to occur. Today’s methods of biochemical analysis are entirely dependent on various combinations of capillary separation techniques and MS, as is being amply demonstrated in the fields of proteomics, glycomics and metabolomics. While these methodologies provide biologists and medical scientists with new tools of discovery, further advances in instrumentation and bioanalytical chemistry are still desirable for the benefits of disease biomarker discovery, systems biology, and design of modern pharmaceuticals through recombinant technologies.

\* Korespondence: [novotny@indiana.edu](mailto:novotny@indiana.edu)

## **WeO-001: Cascade dissociations of peptide ions: radical, carbene, and diazonium reactions**

František Tureček<sup>1\*</sup>, Ales Marek<sup>1</sup>, Chang Xue<sup>1</sup>

*1. University of Washington*

---

Peptide sequencing by tandem mass spectrometry mostly relies on collision or electron-induced dissociations of singly or multiply charged ions produced by MALDI or electrospray ionization. In de novo methods, the peptide sequence is "read" from a ladder of m/z values corresponding to backbone fragments. The fragments often contain the intact original peptide sequence motifs that are not revealed by the primary sequence read-out which frequently misses some backbone cleavages. To extract additional structure information, the primary fragment ions can be activated and the dissociations in the MS<sub>n</sub> spectra interpreted as to the nature, content, and sequence of amino acid residues. Backbone fragments of the z-type are often produced by electron capture of transfer dissociation (ExD) of multiply-charged peptide ions. The z-ions are cation-radicals that undergo characteristic radical-driven dissociations of the backbone and side chains, depending on the amino acid nature and sequence. Specific functional groups can be introduced into peptides to generate complementary z and c-ion series that can provide additional structure information. Interesting reactivity upon CID or ExD can also be induced by diazirine moieties that are used to interrogate through-space contacts in peptide ions. Examples of experimental spectra and quantum-chemistry calculations of ion structures and transition states will be presented.

\* Correspondence: [turecek@chem.washington.edu](mailto:turecek@chem.washington.edu)

### **LITERATURA:**

1. Chung T.W. et al. J. Am. Soc. Mass Spectrom. 23, 1336-1350 (2012).
2. Zimnicka M. et al J. Am. Soc. Mass Spectrom. 23, 608-620 (2012).

## WeO-002: Complementarity of mass spectrometry and electron paramagnetic resonance

Tarabek Jan<sup>1\*</sup>

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

---

Very often the redox reactions, involving the ions, can not be described by a simple one-electron transfer mechanism. Preceding and follow-up reactions may take place and thus "complicate" the redox process. Electron paramagnetic resonance (EPR) is used for determination of radical ions (anions or cations) in such processes. However the follow-up reaction of radical ions often leads to formation of diamagnetic intermediates or products having a closed shell electronic configuration and thus inaccessible for detection by EPR.

Luckily the mass spectrometry (MS) and especially the ESI-MS (electrospray ionization) enables us to study such kind of "closed shell" ions and therefore completes the reaction mechanism. Two case studies of the EPR/MS combination namely from the field of coordination chemistry and electrochemistry will be presented.

\* Korespondence: [tarabek@uochb.cas.cz](mailto:tarabek@uochb.cas.cz)

### **PODĚKOVÁNÍ:**

*The collaboration of Alexandra Tsybizova and Detlef Schroeder (IOCB Prague) as well as the group of Prof. Dunsch (IFW Dresden) are very much acknowledged. This work was supported by the Academy of Sciences of the Czech Republic (RVO 61388963), the European Research Council (AdG HORIZOMS), the Grant Agency of the Academy of Sciences of the Czech Republic (Grant No. IAA400550704), DFG-GACR project 203/07/J067 and Slovak Grant Agency VEGA (Project No 1/0774/08).*

**WeO-003: Protonated sites and fragmentations of para-aminophenol**

Anton Škríba <sup>1</sup>\*

*1. Univerzita Karlova v Praze*

---

Structure and unimolecular reactivity of protonated para-aminophenol were studied by means of mass spectrometry, IRMPD spectroscopy, and DFT calculations. It is revealed that protonation of para-aminophenol takes place at the nitrogen atom. Under the conditions of the IRMPD experiment, thermodynamically favored elimination of a water molecule is observed, whereas under the CID experiment kinetically favored elimination of ammonia prevails. The IRMPD spectrum as well as all fragmentation pathways are rationalized based on DFT calculations.

This presentation will be also held as an introduction of the so called classroom articles in IJMS.

\* Korespondence: [anton.skriba@gmail.com](mailto:anton.skriba@gmail.com)

**LITERATURA:**

1. Chiavarino B. et al.: J. Phys. Chem. A 110, 9352 (2006).
2. Schröder D. et al.: J. Phys. Chem. A 110, 8346 (2006).
3. Roithova J.: Chem. Soc. Rev. 41, 547 (2012).

**PODĚKOVÁNÍ:**

*This work was supported by the European Research Council (StG ISORI). The results from CLIO were obtained thanks to the funding from the European Union's Seventh Framework Programme (FP7/2007-2013) under grant agreement n° 226716." The CLIO staff, particularly Joel Lemaire, are gratefully acknowledged for their help and assistance.*

---

## WeO-004: Laboratory studies on negative ion/molecule processes relevant to the ionosphere of Titan

Miroslav Poláček<sup>1\*</sup>, Ján Žabka<sup>1</sup>, Christian Alcaraz<sup>2</sup>, Claire Romanzin<sup>2</sup>,  
Véronique Vuitton<sup>3</sup>, Daniela Ascenzi<sup>4</sup>

1. Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v. v. i., Praha 8

2. Laboratoire de Chimie Physique, Univ. Paris Sud 11, Orsay, France

3. Institut de Planétologie et d'Astrophysique de Grenoble, CNRS, Univ. J. Fourier, Grenoble, France

4. Department of Physics, University of Trento, Povo, Trento, Italy

---

Titan, Saturn's largest moon, exhibits a dense atmosphere mainly composed of molecular nitrogen and methane, as well as numerous other organic compounds, including nitriles, which contribute to the formation of a thick orange haze. The chemistry taking place in its atmosphere is complex and still not completely understood. Yet, results from the Cassini-Huygens mission have shown that ionospheric chemistry must play a more important role than previously thought. The discovery of  $\text{CN}^-$ ,  $\text{C}_3\text{N}^-$  and  $\text{C}_5\text{N}^-$  together with a large amount of heavy cations and anions in the upper atmosphere [1] came indeed as a surprise and suggests that they contribute to the formation of aerosols particles. Moreover, the Saturnian magnetosphere is dominated by neutrals originating from the icy satellites and ring system. These neutrals are ionized producing a plasma composed of protons,  $\text{H}_2^+$ , and so-called "water group" ions  $\text{O}^+$ ,  $\text{HO}^+$ ,  $\text{H}_2\text{O}^+$  and  $\text{H}_3\text{O}^+$ . [2] Velocity of the plasma near Titan is  $170 \text{ km s}^{-1}$ , which results in an experimentally found precipitation of these ions with energies of 1-4 keV at Titan. [3] It has been speculated that a few percent of such oxygen-containing ion flux is converted to  $\text{O}^-$  ions that may contribute to the Titan's negative ion chemistry.

In this presentation, the results of several laboratory experiments and calculations aimed at understanding various aspects of the formation, decomposition, structure and reactivity of negative ions relevant to the Titan's ionosphere will be shown and discussed.

\* Korespondence: [miroslav.polasek@jh-inst.cas.cz](mailto:miroslav.polasek@jh-inst.cas.cz)

### LITERATURA:

1. Coates A.J. et al.: Geophys. Res. Lett. 34, L22103 (2007).
2. Arridge C.S. et al.: Space. Sci. Rev. 162, 25, (2011).
3. Hartle R.E. et al.: Planet. Space Sci. 54, 1211 (2006).

### PODĚKOVÁNÍ:

*This work was supported by the Czech Science Foundation (Grant No. P208/11/0446), COST program, Action CM0805 "The Chemical Cosmos: Understanding Chemistry in Astronomical Environments", and the Academy of Sciences of the Czech Republic and the Italian Consiglio Nazionale delle Ricerche via the bilateral scientific cooperation agreement AVCR-CNR 2010-2012.*



**ThO-005: Přírodní a syntetická barviva v tkaninách**Ivan Víden <sup>1\*</sup>, David Kohout <sup>1</sup>, Josef Chudoba <sup>1</sup>, Jiří Kosina <sup>1</sup>*1. VŠCHT*

---

Studium složení a obsahu barviv v textiliích, zejména pak ve vybledlých materiálech historické povahy, je značně komplikované díky nízkým koncentracím chromoforů a zpravidla vysokému obsahu rušivých látek matrice (textilní vlákna a degradační produkty). Z hlediska chemické struktury můžeme přírodní barviva dělit na polyenová, chinonová, naftochinonová, antrachinonová, indolová, flavonolová, isoflavonová, xanthenová a isochinolinová. Pro potřeby sledování barviv v historických tkaninách byla pozornost soustředěna na produkty získávané z mořeny barvířské. Zkoumanými barvicími zdroji byly kořeny mořeny barvířské (*Rubia tinctorum L.*), a dále košenila získávaná ze samičky červce nopálového (*Coccus cacti*). Mořena barvířská je nejznámějším červeným mořidlovým barvivem již od starověku a je nejčastějším červeným barvivem v Evropě, Indii a na Středním Východě. Barvicími látkami jsou molekuly alizarin ( $C_{14}H_8O_4$ ) a purpurin ( $C_{14}H_8O_5$ ), v menším množství jsou v mořeně zastoupeny další aglykony.

Extrakce tkanin byly prováděny methanolem a pro polárnější chromofory směsí methanol-chloroform s přidavkem 5% kyseliny mravenčí. Další úprava vzorku zahrnuje filtraci, zahuštění extraktu v proudu dusíku a zpětné rozpuštění analytů do mobilní fáze.

HPLC separace byla prováděna na koloně Kinetex gradientovou elucí (reverzní fáze), složky gradientu tvoří acetonitril a voda vždy s přidavkem 0,1% kyseliny mravenčí.

Bylo prokázáno, že zkoumaná přírodní barviva poskytovala nejlepší ionizační odezvu při použití ESI v záporném módu, zatímco u syntetických barviv tomu bylo právě naopak. U námi zkoumaných syntetických barviv obsahujících chlor dochází primárně k tvorbě iontu  $[M-Cl]^+$ .

\* Korespondence: [ivan.viden@vscht.cz](mailto:ivan.viden@vscht.cz)

**ThO-006: GC-MS for the determination of off-flavours**

Erich Leitner <sup>1,2 \*</sup>

*1. Graz University of Technology*

*2. Institute of Analytical Chemistry and Food Chemistry*

---

By definition an off-flavour is something that changes the original taste and smell of a product in an abnormal way. Although the definition sounds quite simple the determination of the responsible substances can be a really tricky task, because there are many possibilities to induce undesirable smell in products.

There are several sources for off-flavours: there can be some contamination from packaging materials, microbiological activities or chemical reactions like lipid oxidation. Besides only one single component, normally at very low concentrations down to the nanogram per kilogram range or a combination of several components can induce the changes in the products smell.

In this presentation several strategies for sample preparation and detection, identification and quantification demonstrated on some real world samples using GC-MS will be given.

\* Korespondence: [erich.leitner@tugraz.at](mailto:erich.leitner@tugraz.at)

## ThO-007: Detekce vybraných skupin antibiotik ve vodách na území České republiky za použití metody SPE a UPLC-ToFMS

Tereza Tylová<sup>1,2\*</sup>, Miroslav Flieger<sup>1</sup>, Jana Olšovská<sup>3</sup>

1. Mikrobiologický ústav AVČR v.v.i.

2. Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta

3. Výzkumný ústav pivovarský a sladařský

---

Celosvětová spotřeba antibiotik je charakterizována stále vzrůstající tendencí a je spojena s rozvojem bakteriální rezistence [1-2]. Ačkoliv je situace v České republice označována za jednu z nejdůležitějších v Evropě [3], stále je u nás, na rozdíl od okolních států, nedostatek informací o výskytu antibiotik v životním prostředí. Metoda sestávající z extrakce tuhou fází (SPE) a ultraúčinné kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí za využití analyzátoru doby letu (UPLC-ToFMS) byla proto vyvinuta za účelem stanovení nejčastěji předepisovaných antibiotik v ČR ve vodách. Byla vybrána antibiotika používaná jak u lidí, tak ve veterinární medicíně. Analyzováno bylo 19 látek patřících do 5-ti antibiotických skupin: tetracykliny, makrolidy, sulfonamidy, fluorochinolony a linkosamidy. Pro kvantifikaci látek byla použita metoda tzv. „matrix-matched“ kalibrace s přidávkou vnitřního standardu pro každou antibiotickou skupinu. Dosažené výtěžnosti extrakce byly pro většinu analytů vyšší než 80 % a limit kvantifikace metody byl pro většinu látek nižší než 10 ng L<sup>-1</sup>. Metoda byla aplikována na vzorky z přítoků a odtoků čistíren odpadních vod z 6-ti různých lokalit v ČR, přičemž všechny vzorky byly pozitivní alespoň na některé ze sledovaných antibiotik v koncentracích v řádu jednotek až stovek ng L<sup>-1</sup>. Analýzy také odhalily nedostatečnou účinnost čistíren odpadních vod. Výsledky potvrdily závažnost aktuálního stavu znečištění vod v ČR reziduálními antibiotiky a nutnost se touto problematikou dále zabývat.

\* Korespondence: [tylova.tereza@seznam.cz](mailto:tylova.tereza@seznam.cz)

### LITERATURA:

1. Dinh Q.T. et al.: Talanta 85, 1238-1245 (2001).
2. Halling-Sorensen B.: Arch. Environ. Contam. Toxicol. 40, 451-460 (2001).
3. [www.sukl.cz/hodnoceni-vyvoje-distribuce-vybrane-skupiny-lecivych-3](http://www.sukl.cz/hodnoceni-vyvoje-distribuce-vybrane-skupiny-lecivych-3) (2012).

### PODĚKOVÁNÍ:

*Tato práce vznikla za podpory grantů MSM0021620857, 1M06011 a SVV 2012-256201 MŠMT ČR a RVO: 61388971.*

---

## ThO-009: Hmotnostní spektrometrie ve výzkumu reakčních mechanismů

Jana Roithová<sup>1\*</sup>

*1. Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze*

---

Hmotnostní spektrometrie je jednou z nejdůležitějších metod při určování struktury nových organických látek. Vedle analytického použití má stále důležitější roli i ve studiu mechanismů organických reakcí. Díky elektrosprejové ionizaci lze detekovat důležité reakční intermediáty rovnou z reakční směsi. Bude představena nová metoda, jak získat informace o intermediátech v roztoku pomocí korelace s hmotnostními spektry [1]. Další velmi rychle se rozvíjející metoda je akční iontová spektroskopie, která umožňuje získat infračervená a ultrafialová spektra vybraných iontů a rozšiřuje tak paletu metod pro určování struktury iontů [2]. V přednášce bude vysvětlen princip experimentálních metod a představeno použití metody pro studium komplexů nenasyčených uhlovodíků se zlatem [3] a výzkum adice alkoholů na trojnou vazbu alkyňů katalyzované komplexy zlata [1].

\* Korespondence: [roithova@natur.cuni.cz](mailto:roithova@natur.cuni.cz)

### LITERATURA:

1. Roithová J. et al.: *Angew. Chem. Int. Ed.* 51, 8378 – 8382 (2012).
2. Roithová J.: *Chem. Soc. Rev.* 41, 547–559 (2012).
3. Jašíková L. and Roithová J.: *Organometallics* 31, 1935–1942 (2012).

### PODĚKOVÁNÍ:

*Výzkum byl financován z grantu Grantové agentury České republiky (207/11/0338) a Evropské výzkumné komise (ERC StG ISORI).*

## ThO-010: Application on nanoparticles in desorption mass spectrometry

Jan Preisler <sup>1\*</sup>, Iva Tomalová <sup>1</sup>, Huan-Tsung Chang <sup>2</sup>

1. CEITEC and Department of Chemistry, Faculty of Science, Masaryk University, Brno, Czech Republic

2. Department of Chemistry, National Taiwan University, Taipei, Taiwan

---

Nanomaterials can serve as an alternative to matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI) matrix for the analysis of numerous analytes. This lecture will give a brief overview of nanoparticles used in the process called surface-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry (SALDI MS).

Selected applications of gold nanoparticles (AuNPs) in SALDI MS will be presented to demonstrate the potential and limitations of SALDI MS. AuNPs were used as a matrix for quantitative analysis of melamine in infant formula and grain powder and glutathione in grape leaves. Although quantitative analyses using SALDI MS without any internal standard is possible, use of the internal standard for quantitative analysis is strongly advised. In the last example, SALDI-MS serves as a useful tool to examine the reaction process. In this case, AuNPs served as an efficient SALDI substrate to monitor redox reactions during nanoparticle formation process.

\* Korespondence: [preisler@chemi.muni.cz](mailto:preisler@chemi.muni.cz)

### PODĚKOVÁNÍ:

*We gratefully acknowledge the Czech Science Foundation (P206/10/J012) and CEITEC - Central European Institute of Technology (CZ.1.05/1.1.00/02.0068).*

---

## ThO-011: Dimethyl sulphoxide ability to interact with lecithin proved using electrospray ionization mass spectrometry

Jana Jaklová Dyrtrtová<sup>1\*</sup>, Michal Jakl<sup>2</sup>

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

Flemingovo nám. 2. 166 10 Praha 6 Česká Republika

2. Dept. of Agro-Environmental Chemistry and Plant Nutrition,

FAFNR Czech Univ. of Life Sciences Prague

---

Dimethyl sulphoxide (DMSO) is frequently used to membrane penetration [1] in case of drug delivery. DMSO decreases the membrane thickness, induces formation of transient water pores, or destroys the bilayer structure [1]. Despite of many studies, its application in the cell biology is more or less empirical. The proper evaluation of DMSO – phospholipid structures is missing. As a representative phospholipid lecithin (1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine) was used, which is also commonly used for preparation and experiments with artificial membranes [2].

Under ESI conditions were observed one-to-one interactions of DMSO with lecithin. The stability of the complexes was determined using collision induced dissociation experiments by comparing appearance energies of daughter ions [3].

\* Korespondence: [dytrtova@centrum.cz](mailto:dytrtova@centrum.cz)

### LITERATURA:

1. Gurtovenko A.A. et al.: J. Phys. Chem. B 111, 10453-10460 (2007).
2. Jaklová Dyrtrtová J. et al.: Czech. Chem. Commun. 76, 1917-1930 (2011).
3. Zins E.L. et al.: J. Mass Spectrom. 45, 1253-1260 (2010).

### PODĚKOVÁNÍ:

*This work was supported by the Academy of Sciences of the Czech Republic (RVO 61388963) and by the Ministry of Education of the Czech Republic (S grant).*

**ThO-012: *In-situ* obohacení fosforylovaných peptidů pro MALDI MS**

Lukáš Krásný<sup>1,2\*</sup>, Petr Pompach<sup>1,3</sup>, Martin Strohalm<sup>1</sup>, Veronika Obšilová<sup>4</sup>,  
Marcela Strnadová<sup>1</sup>, Petr Novák<sup>1,3</sup>, Michael Volný<sup>1,5</sup>

1. Mikrobiologický ústav AV ČR

2. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

3. Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy

4. Fyziologický ústav AV ČR

5. Dpt. of chemistry, University of Washington

---

Fosforylace proteinů byla popsána před více než 50 lety a v současnosti je považována za jeden z nejvýznamnějších mechanismů signalizace v buňce. Hmotnostní spektrometrie (MS), která po objevu měkkých ionizačních technik zásadně vstoupila do oblasti proteomiky, se uplatňuje i ve výzkumu fosforylací proteinu, ať už pro určení počtu fosfátových skupin či pro určení místa fosforylace [1]. Detekce fosforylovaných peptidů pomocí MS je však obtížná z důvodu suprese signálu. Tento fakt je často obcházen obohacením fosfopeptidů ve vzorku určeném pro MS analýzu. Často používanými metodami obohacení jsou afinitní chromatografie s využitím imobilizovaného kovu, či oxidu kovů [2]. Novější metody se zaměřují na obohacení před analýzou přímo na MALDI desce [3]. Výhodou tohoto postupu je možnost pracovat s malými objemy a případná automatizace celého procesu. Zásadním krokem je však příprava modifikovaného MALDI povrchu.

V této práci představujeme nový způsob elektrosprejové modifikace (tzv. ambient ion landing) MALDI povrchů oxidy titanu, zirkonu a hafnia, který je velmi rychlý a časově i materiálně nenáročný. Připravené povrchy mají velký aktivní povrch, při omývání i při samotném MALDI experimentu jsou však dostatečně stabilní. Technika *in-situ* obohacení byla testována na dvou standardních proteinech, kaseinu a *in-vitro* fosforylované trehalase, jejichž tryptické štěpy obsahující fosforylací byly úspěšně obohaceny a měřeny v uspořádání MALDI-TOF a MALDI-FTICR MS.

\* Korespondence: [lukas.krasny@biomed.cas.cz](mailto:lukas.krasny@biomed.cas.cz)

**LITERATURA:**

1. Mann M. et al.: Trends Biotechnol. 20 (6), 261-268 (2002).
2. Dunn J. et al.: Mass Spectrom. Rev. 29 (1), 29-54 (2010).
3. Blacken G.R. et al.: J. Am. Soc. Mass Spectrom. 20 (6) 915-926 (2009).

**PODĚKOVÁNÍ:**

*Tato práce byla finančně podporována Grantovou agenturou ČR (projekt P206/10/P018 a P207/11/0455), Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy (LC545, ME10013), Interní grantovou agenturou Mikrobiologického ústavu AV ČR (RVO61388971) a výzkumným projektem Fyziologického ústavu AV ČR (AV0Z50110509).*

---

## ThO-013: Analysis of protein glycosylation using a simple microgradient separation device combined off-line with MALDI-TOF/TOF MS analysis

Marek Šebela<sup>1,2\*</sup>, Pavel Řehulka<sup>3</sup>, Vojtěch Franc<sup>2</sup>, Radka Končítíková<sup>2</sup>, René Lenobel<sup>2</sup>, David Kopečný<sup>2</sup>, Catherine Madzak<sup>4</sup>, Jan Novák<sup>5</sup>

1. *Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, Katedra biochemie*

2. *Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, Centrum Regionu Haná*

3. *Univerzita obrany Hradci Králové, Fakulta vojenského zdravotnictví, Ústav molekulární patologie*

4. *INRA, UMR 1319 Micalis, Jouy-en-Josas, France*

5. *University of Alabama at Birmingham, Department of Microbiology, Birmingham, USA*

---

Glycosylation is a common post-translational modification of proteins and thus it is not surprising that glycoproteins are involved in various cellular pathways. For that reason, the analysis of protein glycosylation provides a substantial part of information, which is necessary for understanding the physiological role of glycoproteins. The application of a protein/peptide separation combined with (tandem) mass spectrometry is often used to gain a deeper insight into glycoprotein structure. In the described workflow, glycoproteins are analyzed using an off-line combination of a simple microgradient device for reversed-phase separation of peptides, glycopeptides and glycans with the subsequent MALDI-TOF/TOF mass spectrometric analysis. The glycoprotein of choice is first digested with a selected proteolytic enzyme either in-solution or in-gel and the resulting peptide mixture is then separated and deposited on the MALDI target plate, where the eluent fractions are mixed with MALDI matrix on the sample spot. In the next step, MALDI-TOF/TOF tandem mass spectrometry of glycopeptides provides information about both the peptide (glycosylation site) and glycan moiety. In the case of N-glycosylated proteins, the initial application of deglycosylation enzymes like endoglycosidase H can be useful for a simultaneous analysis of both deglycosylated proteins/peptides and the released glycans (also with or without the corresponding LC separation). The presented approach was applied for the structural study of maize cytokinin oxidase/dehydrogenase isoenzyme 1 (ZmCKO1; EC 1.5.99.12), pea seedlings diamine oxidase (PSAO, EC 1.4.3.22) and human immunoglobulin alpha 1 (IgA1). Results of these analyses as well as some related experimental issues are discussed.

\* Correspondence: [marek.sebela@upol.cz](mailto:marek.sebela@upol.cz)

### PODĚKOVÁNÍ:

*This work was supported by grant no. 522/08/0555 from the Czech Science Foundation and by a long-term organization development plan no. 1011 from the Faculty of Military Health Sciences, University of Defence, Czech Republic.*



## **ThO-014: Odkrývání membránové topologie cytochromů P450 2B4 a b<sub>5</sub> pomocí značení fotoaktivovatelnou nanosondou ve spojení s hmotnostní spektrometrií**

Tomáš Ječmen<sup>1,2\*</sup>, Monika Koberová<sup>2</sup>, Petr Novák<sup>1,2</sup>, Petr Hodek<sup>2</sup>, Jiří Hudeček<sup>2</sup>,  
Miroslav Šulc<sup>1,2</sup>

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

*2. Univerzita Karlova*

---

Savčí cytochromy P-450 (P450) jsou terminálními oxygenasami systému oxygenas se smíšenou funkcí, který je v organismu zodpovědný za biosyntézu endogenních látek, detoxikaci látek cizorodých, metabolismus většiny léčiv a bohužel také aktivaci některých chemických karcinogenů. Katalytické vlastnosti některých izoform tohoto enzymu mohou být ovlivňovány jeho redoxním partnerem cytochromem b<sub>5</sub> (cyt b<sub>5</sub>).

Oba cytochromy jsou ukotveny v lipidické membráně hydrofobními doménami. Pro nedostatek vhodných experimentálních metod nejsou jejich třídídimenzionální struktura a vzájemná orientace dosud známy, což brání v plném objasnění účinku P450 a detailního mechanismu jeho modulace.

Pro mapování experimentálně obtížně dostupného hydrofobního prostředí lipidické membrány jsme vyvinuli novou metodu značení fotoaktivovatelnou nanosondou. Tou byl rekombinantní cyt b<sub>5</sub> s fotoaktivovatelným analogem methioninu (fotomethionin) začleněným do aminokyselinové sekvence proteinu, a to v oblasti jeho membránové kotvy a spojovací domény (v pozici původních methioninů 96, 126 a 131).

Aktivací postranního řetězce fotomethioninu UV zářením vzniká reaktivní karbeniový biradikál, který kovalentně modifikuje molekuly v blízkém okolí (např. interagující hydrofobní část P450). Aktivací systému obou cytochromů rekonstituovaných v lipidické membráně jsme vytvořili 3 kovaletní komplexy patrné na 1D elektroforéze. Binární komplex P450 2B4:cyt b<sub>5</sub> jsme proteolyticky štěpili a pomocí hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením identifikovali tři páry interagujících peptidů.

Výsledky ukazují na 2 vzájemné orientace studovaných proteinů a dále budou sloužit k validaci vytvořeného *in silico* modelu jejich membránové interakce.

\* Korespondence: [tomas.jecmen@centrum.cz](mailto:tomas.jecmen@centrum.cz)

### **PODĚKOVÁNÍ:**

*Financováno z grantů GAČR (P207/12/0627 a 305/09/H008) a UNCE (204025/2012).*

## ThO-015: Mass spectrometry as a tool for searching for volatile biomarkers of lung bacterial infection

Violetta Shestivska<sup>1</sup>, Alexander Nemeč<sup>2</sup>, Kseniya Dryahina<sup>1</sup>, Kristýna Sovová<sup>1</sup>, Patrik Španěl<sup>1\*</sup>

1. J. Heyrovsky Institute of Physical Chemistry of Science, Academy of Science of the Czech Republic

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

The debilitating genetic disease cystic fibrosis (CF) is commonly accompanied by lung infection with bacterial species *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* and *Stenotrophomonas maltophilia* which is a major factor influencing the clinical outcome of CF. Current monitoring of CF lung infections usually involves sputum samples that are assessed by standard microbiology practice. Should a volatile biomarker (or biomarkers) of bacterial infections that appears in exhaled breath be positively recognized, then measurement of this could help in monitoring infection progression and response to treatment.

**Aims:** To characterize the volatile metabolites produced by diverse strains of *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* and *Stenotrophomonas maltophilia* in order to evaluate their potential for use as biomarkers of lung infection in noninvasive breath analysis.

**Methods and Results:** Volatile organic compounds (VOCs) emitted from clinical strains of different bacterial cystic fibrosis pathogens of lung infection were analysed by gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) and selected ion flow tube mass spectrometry (SIFT-MS). The data indicate that these two methods are complimentary and their combination is synergic when used together for gas analysis. Moreover, the data show the wide quantitative variation in the VOC emissions from the different bacterial strains. It thus appears that a single biomarker of bacterial species like *Pseudomonas aeruginosa* is unlikely to be recognized, and further studies are needed to show whether or not a group of several biomarkers could be more specific.

\* Correspondence: [shestivsk@seznam.cz](mailto:shestivsk@seznam.cz)

### LITERATURA:

1. Španěl P. and Smith D.: Eur. J. Mass Spectrom. 13, 77-82 (2007).
2. Thorn R.M.S. et al.: J. Microbiol. Methods 84, 258-264 (2011).
3. Shestivska V. et al.: J. Appl. Microbiol. 113, 701-71 (2012).

### PODĚKOVÁNÍ:

*Acknowledgements: This work was supported by grant 203/09/0256 from the Czech Science Foundation (GACR).*

## **ThO-016: Site specific glycoforms of haptoglobin in liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma**

Petr Pompach <sup>1,2\*</sup>, Zuzana Brnakova <sup>2</sup>, Miloslav Sanda <sup>2</sup>, Jing Wu <sup>2</sup>, Radoslav Goldman <sup>2</sup>

*1. Mikrobiologický ústav AVCR, v.v.i*

*2. Department of Oncology, Georgetown University*

---

Haptoglobin is a liver secreted glycoprotein with four N-glycosylation sites. Its glycosylation was reported to change in several cancer diseases which prompted us to examine site specific glycoforms of haptoglobin in liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. To this end, we have used two dimensional separation composed of hydrophilic interaction and nano reverse phase chromatography coupled to QTOF mass spectrometry of the enriched glycopeptides. Our results show increased fucosylation of haptoglobin in liver disease with up to six fucoses associated with specific glycoforms of one glycopeptide. Structural analysis using exoglycosidase treatment and MALDI-MS/MS of detached permethylated glycans led to the identification of Lewis Y type structures observed particularly in the pooled hepatocellular carcinoma sample. To confirm the presence of the Lewis Y structures, we have used immunoaffinity detection with Lewis Y specific antibodies and confirmed the quantitative increase by a newly optimized LC-MS-MRM assay. The presence of multiply fucosylated Lewis Y glycoforms of haptoglobin in the disease context could have important functional implications.

\* Korespondence: [pompach@biomed.cas.cz](mailto:pompach@biomed.cas.cz)

### **PODĚKOVÁNÍ:**

*This work was supported by RO1 CA115625 and CA135069 awarded to RG and the CCSG grant NIH P30 CA51008 to the Lombardi Comprehensive Cancer Center supporting the Proteomics and Metabolomics Shared Resource.*

## FrO-017: Mass spectrometry in metabolomic analysis

Petr Šimek <sup>1,2\*</sup>, Lucie Řimnáčková <sup>1,3</sup>, Jana Cimlová <sup>1</sup>, Petra Berková <sup>1</sup>,  
Helena Zahradníčková <sup>1</sup>

*1. Biologické centrum AV ČR, v.v.i.*

*2. Jihočeská univerzita, fakulta zdravotně-sociální*

*3. Univerzita Karlova, přírodovědecká fakulta*

---

Mass spectrometry is an indispensable tool in the molecular analysis of primary and secondary metabolism. Because of the absence of amplification methods that are commonly employed by other “omics” technologies, targeted and non-targeted analytical approaches must rely on multiple mass spectrometric platforms enabling comprehensive analysis of metabolite entities and maximizing metabolite coverage within biological systems. In this talk, metabolite workflows and promising analytical platforms will briefly be reviewed and evaluated with particular attention to the latest achievements obtained by the metabolomic analytical strategies in the fields of biological, clinical and pharmaceutical research.

\* Korespondence: [simek@bclab.eu](mailto:simek@bclab.eu)

### **PODĚKOVÁNÍ:**

*IGA MZD NT11513-5, GAČR P206/10/2401.*

## FrO-018: Untargeted metabolomic analysis of urine samples for diagnosing inherited metabolic disorders

Hana Janečková<sup>1\*</sup>, Petr Wojtowicz<sup>1</sup>, Karel Hron<sup>1</sup>, Anders Brunsvik<sup>2</sup>, Elon Correa<sup>3</sup>, Andrew Vaughan<sup>3</sup>, David Friedecký<sup>1</sup>, Per Bruheim<sup>4</sup>, Royston Goodacre<sup>3</sup>, Tomáš Adam<sup>1</sup>

1. Palacký University, Olomouc, Czech Republic

2. SINTEF, Trondheim, Norway

3. University of Manchester, Manchester, UK

4. Norwegian University of Science and Technology, Trondheim, Norway

---

*Background:* Metabolomics has become an important tool in clinical research and diagnosis of human diseases. In this work we focused on the diagnosis of inherited metabolic disorders (IMDs) in urine samples using an untargeted metabolomic approach.

*Methods:* Urine samples were diluted by mobile phase to creatinine concentration of 0.5 mmol/L. Separations were performed on UHPLC Agilent 1200 Series with an aminopropyl column (Luna 3  $\mu$ m NH<sub>2</sub>, 2  $\times$  150 mm, Phenomenex, Torrance, CA). The mobile phase consisted of ammonium acetate (20 mmol/L, pH 9.45) as eluent A and acetonitrile as eluent B. Gradient elution was used at 0.25 mL/min with total analysis time of 35 min. Detection was performed with Agilent G6520A Q-TOF fitted with electrospray ionisation in positive and negative mode. Data were statistically processed by principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA) using R software.

*Results:* We compared 14 control urine samples with 21 samples from 9 various patients with 4 different IMDs – cystinuria, maple syrup urine disease, adenylosuccinate lyase deficiency, and galactosemia. All control samples were distinguished from patient samples using unsupervised statistical tools. Patients with identical disease were recognized using the PCA approach and also clustered together in HCA.

*Conclusion:* This study shows that untargeted metabolomics can be applied for diagnosing various IMDs.

\* Korespondence: [janeckovah@gmail.com](mailto:janeckovah@gmail.com)

### PODĚKOVÁNÍ:

*This work was supported by grants IGA MZČR NT12218 and LF UP 2012-016. The infrastructural part of this project (Institute of Molecular and Translational Medicine) was supported from the Operational programme Research and Development for Innovations (project CZ.1.05/2.1.00/01.0030).*

## FrO-019: Stanovení koncentrací těkavých biomarkerů v lidském dechu pomocí SIFT-MS

Kseniya Dryahina<sup>1\*</sup>, Kristýna Sovová<sup>1</sup>, Violetta Shestivska<sup>1</sup>, Luděk Hrdlička<sup>2</sup>, Milan Lukáš<sup>2</sup>, Patrik Španěl<sup>1</sup>

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

2. Klinické centrum Iscare

Už po staletí je známo, že některé choroby vedou k přítomnosti látek v lidském dechu, ale až donedávna neexistovaly jednoduché a objektivní metody, jak měřit jejich koncentrace. Přitom je naděje, že klinická diagnostika pomocí analýzy dechu by byla neinvazivní a poměrně rychlá, jak se již ukazuje v některých oborech, jako diagnostika astmatu nebo žaludečních infekcí. Hmotnostní spektrometrie v proudové trubici s vybranými ionty, SIFT-MS, umožňuje absolutní stanovení stopových koncentrací plynů a těkavých organických látek ve vzduchu (lidském dechu). SIFT-MS kombinuje techniku rychlé proudové trubice, chemické ionizace a hmotnostního spektrometru. Koncentrace stopových molekul plynu lze kvantifikovat v reálném čase z poměru intenzit a známých rychlostních konstant a fyzikálních parametrů. V prezentaci se zaměřím na využití SIFT-MS pro studium dechu pacientu s idiopatickými střevními záněty (IBD). V naší studii byla metoda SIFT-MS použita pro analýzu přítomnosti těkavých biomarkerů IBD v dechu pacientů, rozdíly v jejich koncentracích byly zkoumány ve vztahu k přítomnosti IBD a aktivitě choroby. Soubor tvořilo celkem 48 IBD pacientů, 28 s ulcerózní kolitidou (UC) a 20 s Crohnovou chorobou (CD). Významné rozdíly mezi podskupinami pacientů byly zjištěny v koncentracích pentanu, sirouhlíku, acetonu a propanolu: koncentrace pentanu byla signifikantně zvýšena u pacientů s CD (aktivní i v remisi) oproti kontrolní skupině zdravých jedinců. Koncentrace sirouhlíku byla signifikantně zvýšena u pacientů s aktivní CD a koncentrace acetonu a propanolu byly signifikantně zvýšeny u pacientů, kteří v den měření absolvovali kolonoskopii. Užití dechové analýzy pomocí SIFT-MS je tedy přínosné pro neinvazivní diagnostiku a monitoraci aktivity IBD. Další slibnou oblastí použití analýzy dechu je včasná diagnostika bakteriálních infekcí u pacientů s cystickou fibrózou (CF) v návaznosti na studium těkavých látek uvolňovaných bakteriálními kulturami.

\* Korespondence: [dryahina@jh-inst.cas.cz](mailto:dryahina@jh-inst.cas.cz)

### LITERATURA:

1. Smith D. and Španěl P.: Mass Spectrom. Rev. 30, 236-267 (2011).
2. Hrdlička L. et al.: Gastroent. Hepatol. 66(2), 125-130 (2012).
3. Shestivska S. et al.: J. Appl. Microbiol. 113, 701-713 (2012).

### PODĚKOVÁNÍ:

*Tato práce vznikla na základě finanční podpory grantové agentury akademie věd (AVČR), (projekt číslo 203/09/0256).*

## **FrO-020: Rozšířené vyšetřování DMP technikou tandemové hmotnostní spektrometrie z krevních skvrn**

Jana Tomková<sup>1\*</sup>, David Friedecký<sup>1</sup>, Vojtěch Bekárek<sup>1</sup>, Tomáš Adam<sup>1</sup>, Eva Hlídková<sup>1</sup>, Darina Behúlová<sup>2</sup>

*1. LDMP, LF UP a FN Olomouc*

*2. Detská fakultná nemocnica s poliklinikou Bratislava*

---

Od října roku 2009 probíhá v České republice celoplošný novorozenecký laboratorní screening všech narozených dětí s cílem odhalení možných dědičných poruch metabolismu. Na základě tohoto rozšířeného vyšetřování je možno kromě deseti základních chorob, jejichž screening plyne ze zákona, vyšetřit širší počet onemocnění.

Cílem bylo vytvořit rozhodovací limity pro další metabolity potřebné pro diagnostiku. Byla použita metoda stanovení aminokyselin a acylovaných karnitinů bez derivatizace (Chromsystems) na přístroji Ultimate 3000 RS (Dionex) a API 4000 (AB Sciex).

Na základě provedení 20 000 analýz vzorků krevních skvrn jsme provedli statistické vyhodnocení naměřených dat a definovali jsme rozhodovací limity metabolitů a jejich poměrů. Metoda byla ověřena na vzorcích pacientů, u kterých byla diagnostikována onemocnění, která nejsou zahrnuta v celoplošném laboratorním novorozeneckém screeningu.

Rozšířené vyšetřování DMP je aktivní vyhledávání chorob v jejich předmanifestním stadiu tak, aby se tyto choroby diagnostikovaly a léčily dříve, než se stačí projevit a způsobit dítěti nevratné poškození zdraví.

\* Korespondence: [jantomkova@gmail.com](mailto:jantomkova@gmail.com)

## WeP-001: Rovnováhy fosfinových komplexů chloridu palladnatého v ESI-MS spektrech.

Vojtěch Šádek<sup>1\*</sup>, Detlef Schröder<sup>1</sup>

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

Chlorid palladnatý ochotně tvoří klastry a komplexy. Pokud nemá vhodný ligand, tvoří širokou škálu klastrů o velikostech od oligomerních klastrů po polymerní nanočástice. V opačném případě tvoří jednojaderné nebo dvojjaderné komplexy.

Rovnovážná složení roztoků s různou koncentrací chloridu palladnatého a fosfinových ligandů byly určovány hmotnostní spektrometrií s elektrosprejovou ionizací. Pro studium aniontových spekter byl využit difenyl(m-sulfonato-fenyl)fosfin jako charge-tag. Tento sulfonovaný trifenylfosfin v roztoku téměř kvantitativně disociuje a tvoří fosfinové částice se záporným nábojem, takže není potřeba narušovat koordinační sféru centrálního atomu ionizací.

V řadách vzorků se dvěma různými fosfinovými ligandy se projevovalo chování, které neodpovídalo elementárním asociačně-disociačním rovnováhám. V těchto rovnovážných systémech byly při určitých koncentracích dalších fosfinových ligandů vyšší míra výskytu klastrů s více než jedním palladiovým centrem. Byly proto proměřovány různé série vzorků a hledá se vhodný popis pro soustavu rovnováh, která by byla schopna vystihnout a vysvětlit nepravidelné chování tohoto kvarterního systému.

\* Korespondence: [sadek@uochb.cas.cz](mailto:sadek@uochb.cas.cz)

### LITERATURA:

1. Šádek V. et al.: *Int. J. Mass Spec.* 304(1), 9-14 (2011).
2. Stark J.L. and Whitmire K.H.: *A. Cryst. C* 53(6), 7 (1997).

### PODĚKOVÁNÍ:

*Tato práce byla vypracována za podpory grantové agentury AV ČR (Z40550506) a European Research Council (AdG HORIZOMS).*



## **WeP-002: GC/MS analýza produktů bakteriálního rozkladu PCB v dlouhodobě kontaminované půdní matrici**

Zdena Křesinová<sup>1</sup>, Lucie Hostačná<sup>1</sup>, Tomáš Cajthaml<sup>1\*</sup>

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

---

Kyseliny chlorbenzoové (CBAs) jsou významným kontaminantem životního prostředí, jejichž hlavním zdrojem je bakteriální degradace polychlorovaných bifenylů. Tyto kyseliny se kumulují v životním prostředí a díky svému inhibičnímu působení na PCB-degradující bakterie mají negativní vliv na celý degradační proces.

Analýza CBAs z půdy pocházející z oblasti Lhenic zahrnovala použití urychlené extrakce rozpouštědlem, přečištění pomocí gelově-permeační chromatografie, derivatizaci a GC/MS. Validace zvolené analytické metody po aplikaci na GC/MS poskytla u analytů 2-CBA; 3-CBA; 4-CBA a 2,3,4,5-CBA limit stanovitelnosti 0,003 µg/g, u ostatních analytů 0,001 µg/g. Analýza 15 derivátů CBAs v půdě dlouhodobě kontaminované PCB prokázala přítomnost všech chlorbenzoových kyselin. Nejvyšší koncentrace byla zjištěna pro derivát 2,4-CBA 0,852 µg/g. Nejnižší koncentrace byla zjištěna pro 2,6-CBA 0,041 µg/g.

\* Korespondence: [zkresin@biomed.cas.cz](mailto:zkresin@biomed.cas.cz)

### **PODĚKOVÁNÍ:**

*Tento projekt byl realizován za finanční podpory ze státních prostředků prostřednictvím Centra kompetence Technologické agentury ČR č. TE01010218.*

---

## WeP-003: Tebuconazole complexes with zinc and cadmium ions investigated using electrospray ionization mass spectrometry

Jana Jaklová Dyrtrtová <sup>1</sup>\*, Renáta Norková <sup>1,2</sup>, Jindřich Fanfrlík <sup>1</sup>, Michal Jakl <sup>3</sup>

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

*2. Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science,*

*Charles University in Prague*

*3. Department of Agro-Environmental Chemistry and Plant Nutrition, CZU in Prague*

---

The frequent use of pesticides in crop protection leads to their accumulation in soil as well as their complex formations with ions present in soils. The formation of the complexes can change an ability of pesticides and ions to penetrate biological membranes and enter to biota. The complexation of zinc and cadmium ions with tebuconazole (1) was studied using electrospray ionization mass spectrometry. Experiments with model solutions containing 1 and  $ZnCl_2$  or  $CdCl_2$  reveal the initial formation of the  $Zn(II)$  or  $Cd(II)$  (M) species under ESI conditions  $[M(1)_{2,3,4}]^{2+}$ ,  $[MCl(1)_{1,2}]^+$  which have similar stability (approx.  $124 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) and  $[M(1)_{1,2}(1-H)]^+$  whose stability is high (approx.  $212 \text{ kJ mol}^{-1}$ ). The  $Zn(II)$  complexes with 1 are more stable than its analogues with  $Cd(II)$ . The reason why the deprotonation of 1 makes the complexes more stable was proved experimentally using deuterization of 1 and theoretically by computations. The total yield of 1 protonation is 75 %, whereas only 2/3 of protonated 1 is via O group.

\* Korespondence: [dytrtova@uochb.cas.cz](mailto:dytrtova@uochb.cas.cz)

### PODĚKOVÁNÍ:

*This work was supported by the European Research Council (AdG HORIZOMS) and GAAV ČR (RVO61388963).*

## **WeP-004: Structural model of lymphocyte receptor NKR-P1C revealed by mass spectrometry and molecular modelling**

Petr Novak<sup>1,2\*</sup>, Daniel Rozbesky<sup>2,1</sup>, Petr Man<sup>1,2</sup>, Zofie Sovova<sup>3,4</sup>, Rudiger Ettrich<sup>3,4</sup>, Julien Marcoux<sup>5</sup>, Carol Robinson<sup>5</sup>

*1. Institute of Microbiology, Prague*

*2. Charles University, Prague*

*3. Institute of Nanobiology and Structural Biology, Nove Hradý*

*4. University of South Bohemia, Nove Hradý*

*5. University of Oxford, Oxford*

---

NKR-P1C is an activating immune receptor expressed on the surface of mouse natural killer cells. It has been widely used as a marker for NK cell identification in different mice strains. Here we present the solution structure of C-type lectin domain of this important receptor. Recombinant protein was expressed in *E. coli*, purified and refolded *in vitro*. Mass spectrometry, in combination with protein chemical cross-linking, was used to obtain a set of distance constraints. These distances were incorporated into molecular modelling and the overall fold of the proposed structure was corroborated by ion-mobility mass spectrometry. The results indicate that the extended loop of NKR-P1C, previously described as detached from the protein core in a structure of homologous NKR-P1A, is located close to the core of the protein. This may indicate its implication in ligand binding.

\* Korespondence: [pnovak@biomed.cas.cz](mailto:pnovak@biomed.cas.cz)

### **PODĚKOVÁNÍ:**

*The Grant Agency of the Czech Republic (P207/10/1040 and P207/10/1934), the Academy of Sciences of the Czech Republic (Institutional Research Concept AV0Z50200510) and from the Grant Agency of Charles University (403211/2011 and Project UNCE #42)*

## WeP-005: Necílová kvantifikace tříd lipidů pomocí HILIC-LC/MS

Eva Cífková<sup>1\*</sup>, Miroslav Lísa<sup>1</sup>, Michal Holčápek<sup>1</sup>

*1. Univerzita Pardubice*

Lipidy jsou důležitou složkou všech biologických tkání. Lipidomika se snaží o pochopení funkce lipidů v biologických systémech a vysvětlení mechanismu vzniku a průběhu mnoha metabolických chorob. Poruchy metabolismu lipidů mohou vést ke vzniku aterosklerózy, diabetu, rakoviny, kardiovaskulárních onemocnění, obezity, cévních mozkových příhod, atd. Z tohoto důvodu byla optimalizována metoda pro charakterizaci lipidů ve složitých biologických tkáních pomocí hydrofilní interakční kapalinové chromatografie (HILIC) a hmotnostní spektrometrie, která poskytuje separaci až 19 tříd složených lipidů v jedné analýze [1]. Pro kvantifikaci separovaných tříd lipidů v HILIC analýze byla vyvinuta necílová lipidomická kvantifikace pomocí jednoho interního standardu (IS) a odezvových faktorů tříd lipidů. Koncentrace jednotlivých tříd lipidů byly získány integrací píků v HILIC módu a následným vynásobením odezvovými faktory, které byly vypočítány z kalibračních křivek pro dané třídy lipidů a vztaženy ke kalibrační křivce IS. Necílová lipidomická kvantifikace byla porovnána s běžně používanými kvantifikačními metodami lipidů pomocí skenu jedné nebo více iontových reakcí (SRM) na hmotnostním analyzátoru trojitý kvadrupol (QqQ). Ve srovnání s konvenční SRM kvantifikací, naše necílová metoda umožňuje kvantifikovat všechny separované třídy lipidů bez předchozí znalosti SRM přechodů a použití interního standardu pro každou lipidickou třídu. Necílová lipidomická kvantifikace může být vhodným nástrojem pro komplexní charakterizaci lipidických tříd v různých biologických materiálech a hledání rozdílů v lipidickém složení zdravých a nemocných tkání.

\* Korespondence: [eva.cifkova@upce.cz](mailto:eva.cifkova@upce.cz)

### LITERATURA:

1. Lísa M.: J. Chromatogr. A 1218, 5146 (2011).

### PODĚKOVÁNÍ:

*Tato práce byla podporována grantovým projektem 203/09/0139 (Grantová agentura České republiky).*

## **WeP-006: Primary structure of thermostable cellobiose dehydrogenase probed by mass spectrometry**

Alan Kádek<sup>1,2</sup>, Petr Man<sup>1,2</sup>, Petr Novák<sup>1,2</sup>, Roland Ludwig<sup>3</sup>, Petr Halada<sup>1\*</sup>

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

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

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

---

Cellobiose dehydrogenase (CDH), the extracellular enzyme of fungal origin, is typically a monomeric glycoprotein consisting of two domains connected by a linker. The bigger C-terminal catalytically active domain contains FAD as cofactor, the smaller N-terminal domain harbors a cytochrome b-type haem. The unique combination of one haem and one flavin within a single molecule ensures unique electrocatalytic properties and makes CDH an emerging enzyme for a number of bioelectrochemical applications. However, because of the flexible interdomain linker preventing crystallisation the native structure of the intact CDH is not well understood at present.

Our study is focused on the determination of native conformation of CDH from the thermophilic ascomycete *Myriococcum thermophilum* (MtCDH) using hydrogen/deuterium exchange mass spectrometry (HDXMS). MtCDH represents a real challenge for HDXMS because of large size (100 kDa), presence of several disulfide bonds and extensive glycosylation. The complete sequence coverage of MtCDH and the detailed knowledge of its primary structure including posttranslational modifications is a prerequisite for successful HDXMS experiment. Therefore we employed a set of biochemical techniques combined with mass spectrometry and solved disulfide pattern of MtCDH, N-glycosylation of the domains as well as O-glycosylation of the linker region. To get the complete sequence coverage we also optimized the digestion conditions (use of different proteases, elevated digestion temperature, deglycosylation, and disulfide bond reduction).

\* Korespondence: [halada@biomed.cas.cz](mailto:halada@biomed.cas.cz)

### **PODĚKOVÁNÍ:**

*This work was supported by the Grant Agency of the Czech Republic (P206/12/0503) and by the Institutional Research Project of the Institute of Microbiology (RVO61388971).*

---

## WeP-007: The influence of temperature on the ability of dimethyl sulphoxide to complex with Ca(II) proved using electrospray ionization mass spectrometry

Michal Jakl<sup>1</sup>, Jana Jaklová Dyrtrtová<sup>2\*</sup>, Jana Roithová<sup>3</sup>

*1. Dept. of Agro-Environmental Chemistry and Plant Nutrition,  
FAFNR Czech Univ. of Life Sciences Prague*

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

*3. Dept. of Organic and Nuclear Chemistry, Faculty of Science, Charles University in Prague*

---

Dimethyl sulphoxide (DMSO) has amphiphilic structure and hence can be incorporated into cell membranes. The DMSO incorporation enhances effective membrane penetration, and induces cell fusion and differentiation. DMSO is also routinely used as a cryoprotectant. The mechanism of the DMSO effect consists in a decrease of the membrane thickness, induction of the formation of transient water pores, or damage of the bilayer structure [1]. Despite of many studies, its application in the cell biology is more or less empirical.

As calcium is essential for plant nutrition and has many functions in organisms [2], the study of its interactions with DMSO is relevant. Two types of complexes ( $[\text{Ca}(\text{DMSO})_{3,4,5,6}]^{2+}$  and  $[\text{CaCl}(\text{DMSO})_{3,4}]^+$ ) were detected using electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MS) as a soft ionization technique. The stability of the complexes was determined using collision induced dissociation experiments by comparing appearance energies of daughter ions [3]. The appearance energies for fragmentations of Ca/DMSO complexes from both groups depend on temperature at which these complexes were formed.

\* Korespondence: [dytrtova@uochb.cas.cz](mailto:dytrtova@uochb.cas.cz)

### LITERATURA:

1. Gurtovenko A.A. et al.: J. Phys. Chem. B 111, 10453-10460 (2007).
2. White P.J. et al.: Ann. Bot. 92, 487-511 (2003).
3. Zins E.L. et al.: J. Mass Spectrom. 45, 1253-1260 (2010).

### PODĚKOVÁNÍ:

*This work was supported by the Academy of Sciences of the Czech Republic (RVO 61388963), the European Research Council (AdG HORIZOMS), and by the Ministry of Education of the Czech Republic (S grant).*

## Wep-008: Kvantifikace stopových množství pentanu v dechu pomocí reagentu O<sub>2</sub><sup>+</sup> v SIFT-MS

Patrik Španěl<sup>1\*</sup>, Kseniya Dryahina<sup>1</sup>, Kristýna Sovová<sup>1,2</sup>, Veronika Pospíšilová<sup>1,2</sup>,  
Luděk Hrdlička<sup>3</sup>, Dana Ďuricová<sup>3</sup>, Violetta Shestivská<sup>1</sup>, Martin Bortlík<sup>3</sup>,  
Naděžda Machková<sup>3</sup>, Milan Lukáš<sup>3</sup>

*1. Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR*

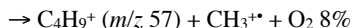
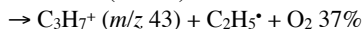
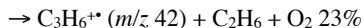
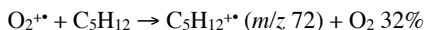
*2. PřF UK Praha*

*3. Klinické a výzkumné centrum pro střevní záněty, ISCARE Lighthouse a 1. LF UK v Praze*

---

Pentan vzniká při peroxidaci ω-6 mastných kyselin, způsobené volnými radikály. Tento proces doprovází v lidském metabolismu zánětlivá onemocnění kdy zvýšená míra peroxidace lipidů způsobuje poškození tkáně. Pentan tak představuje biomarker aktivity zánětu a na základě jeho správného a přesného stanovením v dechu pomocí SIFT-MS [1] je možno navrhnou neinvazivní dechový test pro diagnostiku přítomnosti zánětů a monitorování jejich terapie.

Selektivní chemická ionizace stopových množství pentanu, C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>, v matrici vydechaného vzduchu bez použití separace představuje poměrně náročný problém z hlediska iontové chemie a to proto, že jeho protonová afinita je menší než protonová afinita H<sub>2</sub>O a současně nereaguje s NO<sup>+</sup>. Jediný vhodný iontový reagent, který současně nereaguje s hlavními složkami vzduchu je O<sub>2</sub><sup>+</sup> :



Poster ukáže výsledky vývoje a validace metody. Také budou představeny výsledky analýzy dechu pacientů trpících zánětlivými střevními onemocněními [2, 3].

\* Korespondence: [spanel@jh-inst.cas.cz](mailto:spanel@jh-inst.cas.cz)

### LITERATURA:

1. Španěl P. and Smith D.: Mass Spectrom. Rev. 30(2), 236-267 (2011).
2. Hrdlička L. et al: Gastroenterology 142(5), S-784 (2012).
3. Hrdlička L.: Gastroent. Hepatol. 66(2), 125–130 (2012).

---

## **WeP-009: Extending the linear range of the SALDI-MS analyses using the internal standard technique**

Iva Tomalová<sup>1\*</sup>, Huan-Tsung Chang<sup>2</sup>, Jan Preisler<sup>1</sup>

*1. CEITEC and Masarykova Univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav Chemie*

*2. National Taiwan University, Department of Chemistry*

---

Surface-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry (SALDI MS) employing gold nanoparticles (Au NPs) has been presented as a useful method for the both qualitative and quantitative analysis of low molecular weight analytes[1]. Besides the well-known benefit, such as the improvement in the analysis precision, the use of an internal standard was observed to significantly extend the linear range of SALDI MS. Without the use of the internal standard, the linear range is presumably limited by the saturation of the Au NP surface where the desorption process takes place: at higher analyte concentration, an imperfect, multilayer assembly is formed leading to inefficient desorption and/or ionization and thus to reduced linearity and poor reproducibility. An internal standard can partially eliminate this limitation: as long as the Au NP surface is not fully saturated, the signal intensities of the analyte and the internal standard do not affect each other; with further increase of the analyte concentration, the signal intensity of the internal standard is gradually suppressed preserving the linearity the analyte/internal standard ratio.

Although quantitative analyses using SALDI MS without any internal standard were presented, based on our findings the use of the internal standard for quantitative analysis is highly recommended. The limited Au NP surface as well as interfering components can have notable consequences in analyses of complex samples, especially if the nanoparticles are employed as extraction/concentration probes.

\* Korespondence: [iva.tomalova@gmail.com](mailto:iva.tomalova@gmail.com)

### **LITERATURA:**

1. Chen W.T. et al.: J. Chin. Chem. Soc. 58(6), 769-778 (2011).

### **PODĚKOVÁNÍ:**

*Czech Science Foundation (P206/10/J012), CEITEC - Central European Institute of Technology (CZ.1.05/1.1.00/02.0068), National Science Council of Taiwan (NSC 99-2923-M-002-004-MY3)*



## WeP-010: Pd-katalyzovaná přímá arylace indolů

Štěpánka Janková<sup>1\*</sup>, Jana Roithová<sup>1</sup>

*1. Přírodovědecká fakulta, UK v Praze*

---

C-H aktivační reakce jsou zajímavou strategií při syntéze nových C-C vazeb. Nejčastěji jsou tyto reakce katalyzovány komplexy přechodných kovů – palladiem, rutheniem nebo rhodiem. Pro naši studii jsme si vybrali přímou C-2 aryloci indolů za mírných podmínek v přítomnosti palladiového katalyzátoru a stříbrných solí v roli bází. Reakce byla studována pomocí hmotnostně spektrometrických technik.

\* Korespondence: [jankovas@seznam.cz](mailto:jankovas@seznam.cz)

### LITERATURA:

1. Lyons T.W. et al.: Chem. Rev. 110 (2), 1147-1169 (2010).
2. Lebrasseur N. et al.: J. Am. Chem. Soc. 130 (10), 2926-2927 (2008).

### PODĚKOVÁNÍ:

*Tato práce byla finančně podporována projektem GAČR (207/11/0338).*

## WeP-011: *Nepenthesins* – carnivorous plant proteases as a tool for hydrogen/deuterium exchange mass spectrometry

Alan Kádek <sup>1,2\*</sup>, Petra Darebná <sup>2</sup>, Petr Halada <sup>1</sup>, Petr Novák <sup>1,2</sup>, Petr Man <sup>1,2</sup>

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

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

---

Pitcher plants (genus *Nepenthes* - láčkovky) are carnivorous plants inhabiting tropical areas of southeastern Asia – mainly Borneo and Sumatra. Their prey-trapping mechanism is based on a leave-derived conical organ called “pitcher” used for trapping and digestion of insects. Digestive fluids present in the pitcher have been shown to contain several interesting enzymes, among which acidic aspartic proteases called nepenthesins are especially appealing for their potential use in hydrogen/deuterium exchange (HDX) mass spectrometry.

In this work we enriched nepenthesins from the pitcher fluid of multiple *Nepenthes* species and used them for protein digestion in HDX workflow. We compared digestion efficiency and cleavage specificity of nepenthesins with pepsin, a gold standard for protein digestion in HDX.

\* Korespondence: [kadek@biomed.cas.cz](mailto:kadek@biomed.cas.cz)

### PODĚKOVÁNÍ:

*The authors thank Dr. Vlastik Rybka from Prague Botanical Garden in Troja for the access to nepenthes collection and valuable advice. This work has been financially supported by the Grant Agency of the Czech Republic (GACR P206/12/0503) and by the Institutional Research Project of the Institute of Microbiology (RVO61388971).*

## WeP-012: Speeding up MS imaging with fast mirror scanning

Antonín Bednařík<sup>1\*</sup>, Pavel Kuba<sup>1</sup>, Lukáš Ertl<sup>1</sup>, Eugene Moskovets<sup>2</sup>, Jan Preisler<sup>1</sup>

*1. Masaryk University, Brno, Czech Republic*

*2. MassTech, Inc. 6992 Columbia Gateway Drive, Suite #160, Columbia, MD 21046, USA*

---

High resolution mass spectrometry imaging (MSI) analysis may involve mass spectra recording from 10 000 or more measurement points. Though a new generation of mass spectrometers with kHz lasers brought significant decrease of MSI time, one image acquisition can still consume many hours. In such a device utilizing high repetition laser the total imaging time is no longer limited only by the data acquisition but also by the speed of the target stage translation. With a proper design of ion source optics, speeding up of the MSI can be achieved by substitution of the stage translation with a fast scanning mirror redirecting the desorption laser beam in micrometer scale.

Imaging performance of our laboratory-built high-throughput axial TOF mass spectrometer prototype is described. The prototype is equipped with 2 kHz 355 nm Nd:YAG laser, a fast precision scanning mirror (6810P; Cambridge Technology), ion extraction optics with grids, laboratory-built pulse ion extraction system and an ion reflector (ABI 4700). Imaging experiments were conducted in the linear and the reflector modes, with and without mirror scan compensation for the stage translation movements. A mixture of four model peptides (bradykinin, angiotensin I, renin and adrenocorticotrophic hormone) was used as model sample. This mixture was deposited on the target plate by simple micropipette solution application or by common MSI deposition techniques, airbrush coating and piezo-nanospotting.

The imaging speed of our prototype was compared with 1 kHz AutoFlex<sup>TM</sup> Speed (Bruker Daltonics). The acquisition time of 10 000-point image decreased from 150 minutes on AutoFlex<sup>TM</sup> Speed to 12.5 minutes on our prototype. The scanning mirror utilization brings also some limitations. A signal and m/z resolution loss along the several millimeter scan across the sample was observed. Also, desorption laser travel over the extraction grids in the ion optics can result in MS image distortion.

\* Korespondence: [silverseal@seznam.cz](mailto:silverseal@seznam.cz)

### PODĚKOVÁNÍ:

*This work was supported by Czech Science Foundation (P206/10/J012) and CEITEC - Central European Institute of Technology (CZ.1.05/1.1.00/02.0068).*

---

## WeP-013: Characterization of protein changes in macrophages membrane rafts induced by *Francisella tularensis* internalization

Marek Link <sup>1\*</sup>, Anetta Härtlova <sup>2</sup>, Jiří Stulík <sup>1</sup>

1. *Fakulta vojenského zdravotnictví Univerzity obrany*

2. *Molecular Infection Medicine Sweden, Umeå Centre for Microbial Research, Umeå University, Sweden*

---

**Introduction:** Proteomic technologies are a valuable tool for the biologically oriented research. We used a quantitative proteomic approach to study the interaction between the bacteria and the host cell. *Francisella tularensis* is a highly virulent bacterium causing a zoonotic disease tularemia. It is an intracellular pathogen invading many types of cells, where it survives, proliferates and finally kills the host cells to spread further [1]. Membrane rafts are temporal membrane domains, concentrating signaling molecules, and several bacteria exploit these domains for entry and manipulation of host signaling pathways and vesicular trafficking, that enables them to reside inside the host cells [2]. We therefore performed a quantitative proteomic experiment to characterize the macrophage membrane rafts composition change induced by *F. tularensis* LVS infection, in vitro.

**Results:** We established the in vitro infection model and isolation of membrane rafts as DRMs, and we adopted a SILAC labeling approach as a platform for quantitative assessment of infection induced protein composition changes. The ultimate sample analysis composed of off-line two-dimensional LC separations and MALDI-TOF/TOF analysis. We identified 461 unique DRMs-associated proteins in a biological replicate 1, and 342 unique DRMs-associated proteins in a biological replicate 2. Of these, a total of 289 unique DRMs-associated proteins were identified reproducibly from the two biological replicates at FDR of 1%. The proteins were filtered to obtain those, which displayed significant changes in the DRMs proteome upon infection. The five proteins were recruited and the four proteins were less abundant in DRMs in response to bacterial invasion. The biological significance of selected proteins will be elucidated in the forthcoming experiments. We expect from the results to get insight into connection of the initial step of *Francisella tularensis* invasion with the intracellular trafficking mechanism.

\* Korespondence: [link@pmfhk.cz](mailto:link@pmfhk.cz)

### LITERATURA:

1. Asare R. et al.: *Front. Microbio.* 1:145 (2011).
2. Härtlova A. et al.: *Microbiol. Immunol.* 54, 237–245 (2010).

### PODĚKOVÁNÍ:

*This work was financially supported by Ministry of Defence of the Czech Republic (ZHN RO, POV Francis).*

---

## **WeP-014: Utilization of UHPLC in connection with fast MS detector for monitoring of vitamin D in current clinical research**

Lenka Krcmova<sup>1,2\*</sup>, Jiri Plisek<sup>1,2</sup>, Roman Oros<sup>3</sup>, Tanausú Vega Morales<sup>4</sup>, Sarah Montesdeoca Esponda<sup>4</sup>, Eva Kasalova<sup>1,2</sup>, Dagmar Solichova<sup>2</sup>, Milan Blaha<sup>5</sup>, Lubos Sobotka<sup>2</sup>

*1. Department of Analytical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Charles University, Hradec Kralove*

*2. Dept. of Metabolic Care and Gerontology, University Hospital Hradec Kralove*

*3. Shimadzu GmbH, Ocelarska 35/1354, 190 00 Prague 9, Czech Republic*

*4. Dept. of Chemistry, University of Las Palmas de Gran Canaria, Spain*

*5. Dept. of Internal Medicine, University Hospital, Hradec Kralove*

---

Vitamin D deficiency has increasingly manifested in the general population due to lack of sun exposure, poor nutritional status, and enhanced use of sunscreens. Inadequate levels of vitamin D can lead to increased risk of cancer, diabetes mellitus, chronic pain, osteoporosis and hypertension. Laboratory determination of serum vitamin D levels has provided phenomenal growth over the past several years and its measurement may be utilized diagnostically. 25-Hydroxy vitamin D (25-OH-D) is the primary circulating form and represents the clinical marker of general status of vitamin D in human serum. The endogenously derived 25-OH vitamin D3 (cholecalciferol) accounts for approximately 95% of the total circulating 25-OH-D pool. In contrast, 25-OH vitamin D2 (ergocalciferol) is derived from plant sources and normally represents a minor component unless supplements containing significant amounts of ergocalciferol are used by the patient.

In our study, rapid sample preparation procedure performed before UHPLC analysis coupled with core shell technology and tandem mass spectrometry were applied for monitoring of metabolites 25-OH D3 and 25-OH D2 in human serum. Biological samples were collected during the year 2011 from patients with familiar hypercholesterolemia treated with LDL apheresis and from patients suffering from AMD (Age-related macular degeneration) treated with hemorheopheresis. All the measurements were carried out on the chromatographic system UHPLC Nexera, Shimadzu (Kyoto, Japan) equipped with on-line Degasser DGU 20A3, two pumps LC30-AD, Autosampler SIL/30 AC, Rack changer II – autosampler for microtitrate plates, Column oven CTO-20 AC, communication bus module CBM-20A. For the detection was used LC-MS 8030 provide by Shimadzu (Kyoto, Japan). The new method with modern instrumentation is suitable for large sequences of samples in clinical research and analysis in biochemical laboratories in routine practice.

\* Korespondence: [lenkakrcmova@seznam.cz](mailto:lenkakrcmova@seznam.cz)

### **PODĚKOVÁNÍ:**

*This study was supported by the Charles University in Prague - Project SVV 2012-265-002, Project UNCE 17/2012 and Institutional Research of University Hospital in Hradec Králové number 8122. Acknowledgement also belongs to Shimadzu GmbH Czech Republic.*

---

## WeP-015: Vybrané fusariové mykotoxiny v ječmeni a sladu

Karolína Benešová <sup>1</sup>\*, Sylvie Běláková <sup>1</sup>, Renata Mikulíková <sup>1</sup>, Zdeněk Svoboda <sup>1</sup>

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

Jednotlivé druhy mikroskopických hub rodu *Fusarium* jsou široce rozšířené rostlinné patogeny. Často bývají označovány jako “polní plísně”, které poškozují zrna i jiné rostlinné tkáně v předsklizňovém období. Za příznivých podmínek však mohou růst také v průběhu skladování. Jsou producenty značně rozdílných sekundárních metabolitů – mykotoxinů, které ovlivňují zdraví lidí a zvířat. Hlavní třídy mykotoxinů produkované rody *Fusarium* zahrnují trichotheceny, fumonisiny a zearalenon [1].

Byl sledován výskyt trichothecenových mykotoxinů: deoxynivalenolu (DON), nivalenolu (NIV), T-2 toxinu, HT-2 toxinu; fumonisinů (FB1, FB2) a zearalenonu (ZON) ve vzorcích ječmene a sladu.

Homogenizované vzorky ječmene a sladu byly po extrakci přečištěny přes imunaafinitní kolonku a po zakoncentrování byly analyzovány pomocí LC-MS/MS[2]. Metody byly validovány. U žádného vzorku nebyl překročen maximální legislativní limit pro deoxynivalenol a zearalenon v nezpracovaném ječmeni a sladu [3], pro ostatní sledované mykotoxiny (nivalenol, T-2, HT-2 a fumonisiny) nebyl tento limit stanoven.

\* Korespondence: [karkulkab@seznam.cz](mailto:karkulkab@seznam.cz)

### LITERATURA:

1. Glenn A.E.: Anim. Feed Sci. Technol. 137, 213-240 (2007).
2. Zöllner P. and Mayer-Helm B.: J. Chromatogr. A 1136, 123-169 (2006).
3. Commission regulation (EC) No 1881/2006, L364, 5-24 (2006).

### PODĚKOVÁNÍ:

*Výsledky byly získány v rámci řešení projektu MŠMT CZ 1.07/2.4.00/31.0026.*

## **WeP-016: Stable isotope labeling by amino acids in cell culture (SILAC) of murine bone marrow derived primary dendritic cells reveals extensive arginine metabolism**

**Ivo Fabrik** <sup>1\*</sup>, Marek Link <sup>1</sup>, Pavel Řehulka <sup>1</sup>, Anetta Härtlová <sup>2</sup>, Adéla Strašková <sup>3</sup>, Jiří Stulík <sup>1</sup>

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

*2. Department of Molecular Biology, Umeå University, Umeå, Sweden*

*3. Centre of Advanced Studies, Faculty of Military Health Sciences, University of Defence*

---

Adaptive immunity is sophisticated system capable of specific and powerful response toward antigens. Nevertheless, the whole machinery must be tightly regulated to prevent immunopathology. Dendritic cells (DC) play a key role in ignition of adaptive immunity and, as the most efficient antigen presenting cells, they direct target-specific response. Unfortunately, our knowledge regarding DC behavior on molecular level is far from complete. The main reason lies in troublesome isolation and identification of DCs in vivo or lack of suitable cell line model. Bone marrow-derived primary DCs (BMDC) offer compromise in terms of relatively homogenous population and biological relevance. In this study, we wanted to evaluate feasibility of SILAC-based labeling of BMDC in hope this will introduce the cell model for quantitative proteomics. BMDC progenitors were isolated from femur and tibia bone marrow of C57BL/6 mice and then cultivated in the presence of home-made GM-CSF to induce differentiation. For SILAC experiments, arginine and lysine labeled by <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N isotopes were used in cell culture media. Immature state of differentiated BMDCs was confirmed by co-cultivation with LPS of E.coli. For initial proteomic experiments including evaluation of labeling efficiency, cells were lysed and whole cell lysates were digested by trypsin. Peptides were separated on nano-LC system coupled with automated MALDI-spotting device. Peptides MS and MS/MS spectra were measured on MALDI-TOF/TOF instrument. Results showed extensive arginine-to-proline conversion yielding [Pro+6] side-product from [Arg+10]. Moreover, isotopic envelopes of heavy peptide signals were distorted. It was found this was due to redistribution of <sup>15</sup>N from heavy labeled arginine to other amino acids. Overall, these effects deteriorated protein identification, quantitation accuracy and evaluation of labeling efficiency. Several ideas how to deal with the problems will be outlined.

\* Korespondence: [fabrik@pmfhk.cz](mailto:fabrik@pmfhk.cz)

### **LITERATURA:**

1. Weintz G. et al.: Mol. Syst. Biol. 6 (371), (2010).

### **PODĚKOVÁNÍ:**

*This work was supported by specific research project from Ministry of Education, Youth and Sports of Czech Republic*

---

---

## WeP-017: Charakterizace diaurovaných komplexů pomocí infračervené multifotonové disociační spektroskopie

Lucie Jašíková<sup>1\*</sup>, Jana Roithová<sup>1</sup>

*1. Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra organické a jaderné chemie*

---

Homogenní katalýza zlatem je jednou z nejdynamičtější se rozvíjejících oblastí ve výzkumu organokovových reakcí. Je všeobecně přijímáno, že kation zлата reaguje s trojnou vazbou pomocí  $\pi$ -koordinace. V poslední době se však stále častěji hovoří o roli acetylidů zлата v mechanismu reakcí katalyzovaných zlatem. Jde o tzv. duální aktivaci, při které vznikají diaurované intermediáty v reakcích alkynů. [1,2]

Jelikož reakce katalyzované zlatem probíhají v iontovém stavu, můžeme je studovat pomocí hmotnostní spektrometrie. My jsme hmotnostní spektrometrii využili ke studování struktury diaurovaných komplexů. Pomocí infračervené multifotonové disociační spektroskopie jsme byli schopni charakterizovat komplex mezi kationem zлата a zlatným acetylidem. Celou studii jsme poté doplnili teoretickými výpočty.

\* Korespondence: [lucie.jasikova@centrum.cz](mailto:lucie.jasikova@centrum.cz)

### LITERATURA:

1. Roithová J. et al.: Angew. Chem. Int. Ed. 51, 8378 (2012).
2. Hashmi A. S. K. et al.: Organometallics 31, 644 (2012).



## **WeP-018: Hexosaminidase: Uncovering region of propeptide-catalytic unit interaction**

Zdeněk Kukačka <sup>1,2\*</sup>, Petr Pompach <sup>1,2</sup>, Petr Man <sup>1,2</sup>, Karel Bezouška <sup>2</sup>, Petr Novák <sup>1,2</sup>

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

2. Přírodovědecká fakulta, UK

---

Fungal  $\beta$ -*N*-acetylhexosaminidases (EC 3.2.1.52) are inducible extracellular glycosidases involved in many biological processes. They belong to exoglycosidases, catalysing the cleavage of the terminal GalNAc and GlcNAc residues from different types of glycans. The native enzyme from *Aspergillus oryzae* CCF 1066 is composed of two propeptides (each 10 kDa) and two catalytic units (each 65 kDa). The propeptides are noncovalently associated with the catalytic units and are essential for the enzyme activity. In this paper we uncover the region of propeptide-catalytic unit interaction. Results originated from chemical cross-linking experiments are in good correlation with X ray diffraction data of whose structure of enzyme has been recently solved.

\* Korespondence: [kukacka@biomed.cas.cz](mailto:kukacka@biomed.cas.cz)

### **PODĚKOVÁNÍ:**

*This work was supported by grants of the Grant Agency of the Czech Republic (P207/10/1040 and P207/10/1934), Institutional Research Concept (RVO61388971) and Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (1M0505, LC7017 and LC545).*

## WeP-019: Určování poloh dvojných vazeb u triacylglycerolů s využitím APCI-MS/MS

Eva Háková<sup>1\*</sup>, Vladimír Vrkoslav<sup>2</sup>, Josef Cvačka<sup>2</sup>

1. Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze

2. Ústav organické chemie a biochemie, Akademie věd České republiky

Triacylglyceroly (TGs), estery mastných kyselin a glycerolu jsou základní složkou tukových tkání v tělech většiny živých organismů, kde plní funkci zásobní látky pro skladování energie. Patří k nepostradatelné složce výživy lidské populace a zastoupení jednotlivých mastných kyselin v TGs určuje jejich výživovou hodnotu. Velké množství nasycených mastných kyselin obsažené v potravě má negativní vliv na výskyt civilizačních chorob. Naproti tomu konzumace tuků obsahujících polynasycené mastné kyseliny s dvojnými vazbami ve vhodných polohách riziko civilizačních chorob snižuje.

Tato práce se zabývá vývojem APCI-MS/MS techniky pro určování polohy dvojných vazeb mastných kyselin vázaných v TGs. Důraz je kladen na studium fragmentačních spekter TGs připravených procesem randomizace, kterým je umožněno získat TGs s navázanými různými mastnými kyselinami, jak s nasyceným tak s nenasyceným řetězcem. Příprava vhodných standardů byla prováděna randomizačními reakcemi [2] v mikroměřítku s celkovou navázkou TGs 10 mg. Studium APCI-MS a MS/MS spekter bylo prováděno pomocí instrumentu LCQ Fleet (Thermo Fisher Scientific). Pro ionizaci TGs je využívána chemická ionizace za atmosférického tlaku (APCI), která poskytuje informace o molární hmotnosti, z níž lze určit celkový počet uhlíků a dvojných vazeb v řetězcích mastných kyselin. Díky využití APCI jako ionizačního zdroje a acetonitrilu jako mobilní fáze lze v MS spektrech pozorovat spolu s molekulovým aduktem  $[M+H]^+$ , také ion  $[M+C_3H_5N]^+$  [1]. V CID MS/MS spektrech  $[M+C_3H_5N]^+$  byly jednoznačně identifikovány ionty, které charakterizují polohu dvojných vazeb v řetězcích mastných kyselin TGs.

\* Korespondence: [hakovaev@natur.cuni.cz](mailto:hakovaev@natur.cuni.cz)

### LITERATURA:

1. Vrkoslav V. et al.: Anal. Chem. 83, 2978–2986 (2011).
2. Lisa M. et al.: Anal. Chem. 81, 3903–3910 (2009).

### PODĚKOVÁNÍ:

*Tato práce je financována z projektu GAČR 203/09/0139 a projektu RVO 61388963.*

## **WeP-020: Image versus information: phospholipid profiling by FTICR MS imaging**

Martin Strohalm <sup>1</sup>, Lukáš Krásný <sup>1</sup>, Marcela Strnadová <sup>1</sup>, Michael Volný <sup>1</sup>, Petr Novák <sup>1</sup>,  
Vladimír Havlíček <sup>1\*</sup>

*I. Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i.*

---

Mass spectrometry imaging (MSI) has become very popular in recent years due to the possibility of parallel analysis of biomolecules without chemical labeling. Some of the most often analyzed biomolecules are lipids, especially phospholipids, have been measured in many different tissues [1]. The distribution of lipids in tissues or monitoring the differences between healthy and diseased tissue have been of large interest of many researchers. Unfortunately, current commercial imaging software has lagged behind the technology, thus the interpretation of signals in MSI spectrum is not easy and any data processing is almost impossible. Standard available software allows for basic operations with the average spectrum, however, average spectrum does not contain complete data information, as strictly located signals may merge with the noise and therefore can easily be overlooked [2]. In this work, we present a lipid profiling mass imaging method for data acquired on high resolution mass spectrometer. This method allows us to identify lipids in tissues directly from the profiling experiments, which combines the average and overlay spectrum, image analysis and special tools of the open source mMass software [3].

\* Korespondence: [vlhavlic@biomed.cas.cz](mailto:vlhavlic@biomed.cas.cz)

### **LITERATURA:**

1. Murphy R. et al.: J. Lipid Res. 50, S317-S332 (2009).
2. McDonnell L. et al.: J. Am. Soc. Mass Spectrom. 21, 1969-1978, (2010).
3. Strohalm M. et al.: Anal. Chem. 82, 4648-4651 (2010).

### **PODĚKOVÁNÍ:**

*The work was supported by Czech Science Foundation (Projects H-084 and P206/12/1150). Other support was provided by the Ministry of Education, Youth, and Sports of the Czech Republic (ME10013) and by an Institutional research concept of the Institute of Microbiology (AV0Z50200510).*

---

## WeP-021: Lysine residues of Mason-Pfizer monkey virus matrix protein supports the viral budding

Petra Junková<sup>1\*</sup>, Prchal Jan<sup>1</sup>, Hrabal Richard<sup>1</sup>, Hynek Radovan<sup>1</sup>

*1. Institute of Chemical Technology, Prague*

---

Mason-Pfizer monkey virus (M-PMV) belongs to the retroviruses of type D. During the budding process, their protein capsids are formed in the cytoplasm prior to association with a host cell membrane. Matrix protein, the N-terminal domain of Gag polyprotein, plays the crucial role for capsid-membrane interaction. For the viral release, mainly N-terminal myristoylation of this protein is essential. However, also other factors such as positively-charged amino acids and a specific interaction with membrane phospholipids, predominantly with phosphatidylinositol-(4,5)-bisphosphate (PI(4,5)P<sub>2</sub>), were shown to be significant for the interaction.

To reveal particular lysine residues involved in the capsid-membrane interaction and to determine a region responsible for the specific interaction with PI(4,5)P<sub>2</sub>, M-PMV matrix protein was bound to artificial liposomes containing PI(4,5)P<sub>2</sub>. The surface accessibility of individual lysine residues was investigated using the surface mapping method. Compared to free matrix protein, whose all lysine residues were accessible, only four from twelve residues were modified on the matrix protein bound to the liposomes. These results indicate that the non-accessible residues are involved in the interaction. Moreover, six from these eight non-accessible residues occurs in a region around cavity where we assume, according to the previous NMR studies, the specific interaction with PI(4,5)P<sub>2</sub>. Our findings thus indicate that lysine residues evidently participate on capsid-membrane interactions and, additionally, we managed to identify the region on matrix protein responsible for specific interaction with PI(4,5)P<sub>2</sub>.

\* Korespondence: [junkovap@vscht.cz](mailto:junkovap@vscht.cz)

### **PODĚKOVÁNÍ:**

*Finacial support from specific university research (MSMT No 21/2012), Czech Science Foundation grant P302/12/1895 and Czech Ministry of Education grant LH12011 is gratefully acknowledged.*

## WeP-022: Comparison of three ionization techniques for screening of opiates in human urine

Lucie Borovcová<sup>1</sup>, Michaela Théroová<sup>1</sup>, Lucie Hartmanová<sup>1\*</sup>, Karel Lemr<sup>1</sup>

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

---

Opiates are controlled substances that exhibit narcotic effects and relieve the pain but also create psychological and physical dependence. They cause mood swings (euphoria, sedation), tremor, insomnia etc. In this study, ionization of three opiate representatives (morphine, 6-acetylmorphine and morphine-3 $\beta$ -D-glucuronide) using electrospray, nanoelectrospray and desorption nanoelectrospray was evaluated.

Experiments were performed using an Ion Trap mass spectrometer, LCQ Duo or LCQ Deca (Thermo Finnigan USA) equipped with three ion sources - electrospray (ESI), nanoelectrospray (nanoESI) and desorption nanoelectrospray (nanoDESI). Their tolerance to salt contained in samples was compared. ESI did not render satisfactory spectra. NanoESI and nanoDESI showed higher tolerance and were tested for urine sample analysis. Human urine was spiked by opiates and their deuterated analogues were used as internal standards. To get sufficient limit of detection, solid phase extraction for sample purification and analyte preconcentration was necessary using nanoESI. SPE was carried out using Waters OASIS MCX columns. Phosphate buffer (pH=8.5) for conditioning, acetate buffer (pH=4) for elution of impurities and methanol:water = 98:2 (v/v) for analyte elution were applied. Eluates were evaporated to dryness and dissolved in 100  $\mu$ l of methanol:water:HCOOH = 50:49:1 (v/v). These samples were analyzed by nanoESI without chromatographic separation and morphine and acetylmorphine were well detected (hydrolysis would be necessary for morphine-3 $\beta$ -D-glucuronide to concern it to morphine). NanoDESI was used without any urine purification and preconcentration. All three compounds were detected in urine samples. The found limit of detection was comparable (cca 0.1mg/l) for both "nano" ionization techniques.

\* Korespondence: [lucie.hartmanova@gmail.com](mailto:lucie.hartmanova@gmail.com)

### PODĚKOVÁNÍ:

*The authors gratefully acknowledge the support by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (ME10013) and Operational Program Research and Development for Innovations - European Regional Development Fund (project CZ.1.05/2.1.00/03.0058) and Palacký University (PrF\_2012\_020).*

## WeP-023: Porovnání extrakčních metod lipidů vernixu caseosy

Radka Míková<sup>1,2\*</sup>, Vladimír Vrkoslav<sup>1</sup>, Petra Horká<sup>1,2</sup>, Marie Záborská<sup>1,2</sup>,  
Antonín Doležal<sup>3</sup>, Richard Plavka<sup>3</sup>, Josef Cvačka<sup>1</sup>

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

2. Katedra analytické chemie PŘF UK v Praze, Hlavova 8, 128 43 Praha 2

3. Gynekologicko-porodnická klinika 1. LF UK a VFN, Apolinářská 18, Praha 2

Vernix caseosa je bílá krémovitá látka pokrývající pokožku výhradně lidských novorozenců. Tvoří se ve třetím trimestru těhotenství na povrchu těla, kde zůstává až dva týdny po narození. Před narozením vernix chrání pokožku hlavně před macerací, při porodu slouží jako lubrikant a po narození především zabraňuje infekci a zajišťuje termoregulaci. Protože se vernix tvoří až ve třetím trimestru, předčasně narozené děti jej postrádají a může u nich docházet mimo jiné k vysychání a tedy k tepelným ztrátám. Aby bylo možné nalézt co nejhodnější náhradu pro tyto děti, je nutné vernix detailně studovat.

Vernix je tvořen z 80% vodou, dále pak proteiny (10%) a lipidy (10%). Obsahuje odloučené kožní buňky schopné absorbovat vodu. Právě tyto buňky výrazně znesnadňují extrakci lipidů. Navíc rozsah polarit lipidů vernixu je obrovský (od nepolárního skvalenu, přes voskové estery, cholesterylestery a diestery diolů až po polární triacylglyceroly, mastné kyseliny, ceramidy a fosfolipidy).

V této práci byly porovnávány dvě extrakční metody: extrakce pomocí chloroformu a methanolu (1) a extrakce pomocí methyl-terc-butyl etheru (2). Extrakty byly porovnávány přímým nástřikem na ESI-Orbitrap-MS s vysokým rozlišením v pozitivním a negativním modu. Metody byly hodnoceny podle počtu píků ve spektru a podle množství vyextrahovaných lipidů. Z obou extrakčních metod byly získány podobné výsledky: ve spektrech extrakce podle Folche bylo  $3241 \pm 237$  píků a bylo vyextrahováno  $25.0 \pm 1.7$  mg lipidů a ve spektrech druhé testované metody bylo  $3177 \pm 346$  píků a  $24.7 \pm 4.2$  mg lipidů. Obě metody jsou tedy vhodné pro extrakci lipidů vernixu caseosy.

\* Korespondence: [radka.mikova@uochb.cas.cz](mailto:radka.mikova@uochb.cas.cz)

### LITERATURA:

1. Folch J. et al: J. Biol. Chem. 226, 497-509 (1957).
2. Matyash V. et al: J. Lipid Res. 49, 1137-1146 (2008).

### PODĚKOVÁNÍ:

*Tato práce je financována z grantu GA ČR 203/09/0139 a výzkumných záměrů Z4 055 0506, MSM 0021620857, RP 14/63, SVV 261 204.*

## **WeP-024: Monitorování změn lipidů u pacientů s kardiovaskulárními onemocněními**

Blanka Červená<sup>1\*</sup>, Eva Cífková<sup>1</sup>, Miroslav Lísa<sup>1</sup>, Michal Holčápek<sup>1</sup>, Joanna Znaleziona<sup>2</sup>, Jitka Vostálová<sup>2</sup>, Jan Galuszka<sup>3</sup>

*1. Univerzita Pardubice, FCHT, Studentská 573, 53210 Pardubice, Česká republika*

*2. Univerzita Palackého Olomouc, Tř. Svobody 8, 77126 Olomouc, Česká republika*

*3. Fakultní nemocnice Olomouc, I. P. Pavlova 185/6, 77900 Olomouc, Česká republika*

---

Kardiovaskulární onemocnění (CVDs) patří mezi nejčastěji se vyskytující onemocnění na světě a tvoří jednu z nejčastějších příčin úmrtí. Mezi rizikové faktory těchto onemocnění patří nevhodný životní styl, kouření, strava a nedostatek pohybu. Významnou roli u CVDs hrají lipidy, což jsou nízkomolekulární látky s významnou biologickou funkcí (složky buněčných membrán, zdroj energie, signální molekuly aj.). Změna v koncentraci či struktuře lipidů může významně přispět k rozvoji CVDs. Skupina 50 mužů byla rozdělena do 5 skupin (zdraví dárce, obézní a 3 typy kardiovaskulárních onemocnění). Vzorek každého pacienta byl rozdělen na erythrocyty a plazmu a ta byla dále frakcionována na lipoproteinové frakce VLDL, LDL a HDL. Celkový lipidový extrakt byl extrahován dle Folche [1] a polární lipidy byly separovány pomocí UHPLC-MS/ESI na GlcCer, PE, PC, IS, SM a LPC. Nepochární lipidy byly rozděleny pomocí HPLC-MS/APCI na CE, TG, DG a Chol. Methylestery mastných kyselin (FAMES) byly separovány pomocí GC/FID a identifikovány pomocí komerčně dostupných standardů. Rozdíly mezi FAMES jednotlivých skupin nebyly statisticky významné. Největší rozdíl byl nalezen mezi koncentracemi PC a SM u erythrocytů. Výsledky byly také zpracovány statisticky pomocí PCA a byly identifikovány 2 skupiny – skupina zdravých dárců a pacientů s CVDs. Obézní pacienti se nacházeli v obou skupinách, což může být způsobeno tím, že se mohou mít některé skryté příznaky CVDs, které se mohou projevit později. Cílem této studie je najít lipidové biomarkery kardiovaskulárních onemocnění a přispět k včasnému odhalení těchto onemocnění.

\* Korespondence: [blanka.cervena@upce.cz](mailto:blanka.cervena@upce.cz)

### **LITERATURA:**

1. Folch F.: J. Biol. Chem. 226, 497 (1957).

### **PODĚKOVÁNÍ:**

*Tato práce byla podpořena grantem č. 206/11/0022 (Grantová agentura České republiky).*

---

## WeP-025: Využití ambientních ionizačních technik DESI a DAPPI pro studium lipidů

Jan Rejšek<sup>1,2\*</sup>, Filip Kaftan<sup>2</sup>, Josef Cvačka<sup>2</sup>

1. Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta,  
Katedra analytické chemie, Praha

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

---

Ambientní ionizací v hmotnostní spektrometrii se rozumí ionizace, která probíhá v otevřeném prostoru vně hmotnostního spektrometru. V dnešní době je známo asi 30 typů ambientních ionizačních technik [1]. Jejich hlavními výhodami jsou rychlost analýzy a fakt, že nevyžadují předúpravu vzorku.

V této práci byly studovány lipidy a lipidové extrakty pomocí desorpčního elektrospreje (DESI, desorption electrospray ionization) a desorpční fotoionizace za atmosférického tlaku (DAPPI, desorption atmospheric pressure photoionization). Tyto metody využívají sprejování rozpouštědel k desorpci a ionizaci analytu z pevného substrátu. Jejich ionizační účinnost a citlivost závisí na mnoha proměnných, např. na vzdálenosti sprejeru od pevného substrátu a úhlu, který svírají, průtoku plynu, průtoku mobilní fáze, složení mobilní fáze, které je potřeba optimalizovat. Zdroj pro DESI/DAPPI zkonstruovaný v laboratoři umožňoval ovládat polohou sprejeru pomocí počítačového programu. Zkoumanými substráty byly sklo, Teflon a silikagelová vrstva TLC desek. Sledovanými analyty byly nízkomolekulární látky jako aldehydy či fosfolipidy a komplexní přírodní matrice novorozenecký mázek (vernix). Pro efektivní ionizaci a desorpci látek obsažených v novorozeneckém mázku se ukázala DESI jako nevyhovující a byla nahrazena DAPPI, jež je aplikovatelná i na méně polární látky.

\* Korespondence: [janrejsek@centrum.cz](mailto:janrejsek@centrum.cz)

### LITERATURA:

1. Ifa D.R. et al.: Analyst 135, 669-681 (2010).

### PODĚKOVÁNÍ:

*Tato práce byla financována z projektu GACR P206/12/0750 a programu interní podpory projektů mezinárodní spolupráce AV ČR M200551204.*



## WeP-026: Rostlinné sulfoquinovosyldiacylglyceroly – izolace a analýza

Marie Zábranská <sup>1,2\*</sup>, Vladimír Vrkoslav <sup>1</sup>, Josef Cvačka <sup>1</sup>

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

2. Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze

---

Sulfoquinovosyldiacylglyceroly (SQDG) patří mezi glyceroglykolipidy. V minoritním množství se vyskytují v membránách fotosyntetizujících organismů, kde nesou záporný náboj. SQDG jsou v posledních letech intenzivně zkoumány pro jejich protinádorové a protivirové účinky [1].

Cílem této práce je izolace, separace a identifikace oxidovaných a neoxidovaných forem SQDG z rostlin. K analýze izolovaných SQDG byla použita vysokoúčinná kapalinová chromatografie s reverzní fází ve spojení s hmotnostní detekcí a elektrosprejovou ionizací v záporném módu. SQDG byly identifikovány jako deprotonované molekuly [M-H]<sup>-</sup>. Fragmentační spektra byla měřena kolizně indukovanou disociací (CID) v dependentním skenu. Pro správnou identifikaci vázaných mastných kyselin je nutné použít hmotnostní spektrometr s vysokým rozlišením, protože fragmentační hmotnostní spektra oxidovaných a neoxidovaných forem SQDG jsou velmi podobná. Hlavní fragmenty odpovídají ztrátám mastných kyselin vázaných v poloze *sn-1* a *sn-2* na glycerolu [2].

V rámci této práce byly doposud analyzovány SQDG z tabáku virginského, roketky seté a meduňky lékařské, u kterých bylo identifikováno 19 SQDG (4 oxidované/15 neoxidovaných), 30 SQDG (15 oxidovaných/15 neoxidovaných) a 32 SQDG (15 oxidovaných/17 neoxidovaných). Pro určení struktury zejména oxidovaných mastných kyselin bude optimalizována metoda plynové chromatografie s hmotnostní detekcí.

\* Korespondence: [marie.zabranska@uochb.cas.cz](mailto:marie.zabranska@uochb.cas.cz)

### LITERATURA:

1. Maeda N. et al.: Food Chem. 112(1), 205-210 (2009).
2. Welti R. et al.: Anal. Biochem. 314, 149-152 (2003).

### PODĚKOVÁNÍ:

Tato práce je financována z grantu GA ČR 203/09/0139, výzkumného záměru MSM 0021620857 a projektů RVO 61388963 a SVV 2012-265201.

## WeP-027: Určení polohy dvojných vazeb mastných kyselin vázaných v triacylglycerolech novorozeneckého mázku

Vladimír Vrkoslav<sup>1</sup>, Kateřina Netušilová<sup>2</sup>, Radka Míková<sup>1,3</sup>, Miroslav Lísa<sup>2</sup>,  
Michal Holčapek<sup>2</sup>, Antonín Doležal<sup>4</sup>, Richard Plavka<sup>4</sup>, Josef Cvačka<sup>1\*</sup>

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

2. Katedra analytické chemie, Fakulta chemicko-technologická, UPa,  
Studentská 573, 532 10 Pardubice 2

3. Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, UK, Hlavova 2030/8, 128 43 Praha 2

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

Novorozenci jsou při porodu pokryti bílou až nažloutlou látkou podobnou krému – novorozeneckým mázkem (vernix caseosa, VC). VC se objevuje pouze u lidských novorozenců. Plní řadu funkcí: Před porodem chrání kůži před macerací, během porodu plní funkci lubrikantu a po porodu novorozence chrání před infekcemi a prochlazením. VC je z 80 % tvořen vodou, v 10 % jsou zastoupeny proteiny a zbylých 10 % procent tvoří lipidy. Lipidová složka je složena z široké škály lipidových tříd různé polaritě (např. voskové estery, diestery diolů, triacylglyceroly, fosfolipidy). Komplexnost materiálu podtrhuje velká variabilita mastných kyselin vázaných ve většině tříd lipidů [1].

Tato práce popisuje využití HPLC/APCI-MS pro analýzu mastných kyselin vázaných v triacylglycerolech. Důraz byl kladen na určení polohy dvojných vazeb nenasycených mastných kyselin. Pomocí preparativní TLC byla izolována frakce triacylglycerolů. Mastné kyseliny vázané v triacylglycerolech byly převedeny na methyl estery a analyzovány metodou HPLC/APCI-MS. V APCI-MS spektrech methyl esterů mastných kyselin se za přítomnosti acetonitrilu v mobilní fázi vyskytoval spolu s majoritním iontem  $[M+H]^+$  také ion  $[M+C_3H_5N]^+$ . V MS/MS spektrech aduktů  $[M+C_3H_5N]^+$  byly identifikovány ionty, které definují polohu dvojných vazeb mastné kyseliny [2]. Další informace o variabilitě mastných kyselin byly získány z retenčních časů. V HPLC/APCI-MS chromatogramu bylo pozorováno 45 nasyčených methyl esterů mastných kyselin, 62 methyl esterů s jednou dvojnou vazbou a 5 methyl esterů s dvěma dvojnými vazbami. Ve vzorku byly pozorovány methyl estery mastných kyselin v rozsahu 10 až 33 uhlíků, přičemž převažovaly estery kyselin se sudým počtem uhlíků. Dvojných vazeb se vyskytovaly v polohách n-4 až n-13, u většiny methyl esterů však v polohách n-6 až n-11.

\* Korespondence: [cvačka@uochb.cas.cz](mailto:cvačka@uochb.cas.cz)

### LITERATURA:

1. Hauff S. and Vetter W.: J. Chromogr. A 1217 (52), 8270-8278 (2010).
2. Vrkoslav V. and Cvačka J.: J. Chromogr. A, v tisku (2012).

### PODĚKOVÁNÍ:

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

## **WeP-028: Potential of ion mobility-mass spectrometry in analysis of technical samples of polyacrylic acids**

**Kristína Slováková**<sup>1\*</sup>, Dominic Roberts<sup>2</sup>, Karel Lemr<sup>1</sup>

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

*2. Waters, Atlas Park, Simonway, Manchester, UK*

---

Polyacrylic acids (PAA) belong to potential environmental pollutants due to their extensive use and solubility in water contributing to their distribution in environment. They are produced as a mixture of oligomers that can further differ in a head group. PAA mixtures contain tens of compounds. The aim of this work is development of an analytical method allowing fast characterization of commercial PAA products.

Ion mobility mass spectrometric experiments were carried out using a SYNAPT G2-S spectrometer (Waters, Manchester, UK) using flow injection analysis with negative electrospray ionization.

The results demonstrated that ion mobility-mass spectrometry is a powerful tool for identification of oligomers in complicated mixtures. It allowed fast characterization of samples. Drift time vs  $m/z$  plot rendered “fingerprint” i.e. characterization and discrimination of technical samples. The data offered easy recognition of oligomeric ions with different charges, detection of oligomers with different head group and the separation of analytes from possible interferences. Ion mobility separation made easier mass spectra interpretation as none or only partial overlap of different charge series occurred.

\* Korespondence: [slovakova.kristina@gmail.com](mailto:slovakova.kristina@gmail.com)

### **PODĚKOVÁNÍ:**

*The authors gratefully acknowledge the support by Palacky University (PrF 2012 020) and by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (ME10013) and Operational Program Research and Development for Innovations - European Regional Development Fund (project CZ.1.05/2.1.00/03.0058).*

## **WeP-029: HPLC/MS analysis of polyphenolic compounds in herbs and evaluation of their antioxidant capacity**

Lenka Česlová <sup>1\*</sup>, Petra Dinisová <sup>1</sup>, Sylvie Běláková <sup>2</sup>, Zuzana Štenclová <sup>1</sup>, Jan Fischer <sup>1</sup>

1. *Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, KALCH*

2. *Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s.*

---

This study deals with identification and quantification of phenolic compounds in herbs, specifically in nettle (*Urtica dioica*), elderberry flower (*Sambucus nigra*), linden (*Tilia Cordata*) and mint (*Mentha Piperita*). The influence of season, location of harvest and treatment of herbs was investigated. First, their antioxidant capacity was evaluated using methods based on radical scavenging activity of antioxidant (DPPH and ABTS) and method based on ferric reducing antioxidant power (FRAP). The standard Trolox was used for comparison of all used methods (TEAC, Trolox equivalent antioxidant capacity). Further, high performance liquid chromatography method has been developed for separation of phenolic acids and flavonoids in one analysis. The optimization was performed for 17 selected standards of phenolic compounds. The best separation was achieved using column with C18 chemically bonded stationary phase and aqueous methanol with 0.3% (v/v) formic acid as a mobile phase. Unknown compounds were identified using coupling of high performance liquid chromatography with mass spectrometry with electrospray ionization.

\* Korespondence: [lenka.ceslova@upce.cz](mailto:lenka.ceslova@upce.cz)

## **WeP-030: Diode laser thermal vaporization inductively coupled mass spectrometry for determination of trace elements in microsamples**

Pavla Foltynová<sup>1,2\*</sup>, Viktor Kanický<sup>1,2</sup>, Jan Preisler<sup>1,2</sup>

*1. Central European Institute of Technology, Masaryk University*

*2. Department of Chemistry, Faculty of Science, Masaryk University*

---

A new method for determination of trace elements in submicroliter sample volumes using diode laser thermal vaporization inductively coupled mass spectrometry (DLTV ICP MS) is presented.[1]

Common laser-based sample introduction methods use an expensive high-energy pulse laser, whereas DLTV employs a low-cost near infrared continuous-wave diode laser. The diode laser energy is sufficient to induce pyrolysis of the preprinted paper with depositing micro-volume samples and the generated aerosol is carried out into the ICP MS and tested. The limits of detection of Co, Ni, Zn, Mo, Cd, Sn and Pb deposited on the preprinted paper were found to be in the range of 4 – 300 pg. The technique was applied to determination of lead in whole blood and tin in canned food without any sample treatment. Selection of optimal conditions, experimental arrangement, raster, scan speed etc. will be discussed.

Moreover, a simple laboratory-built tubular laser ablation chamber equipped with a more powerful NIR diode laser was constructed. Prototype chamber placed on a common syringe pump produced rapid line scans across samples (~ 8 s/sample) and the least dead volume minimizing aerosol diffusion and providing very fast wash-out. Analysis of Pb in blood samples using a prearranged calibration set on preprinted filter paper in the laboratory-built chamber will be demonstrated. Combination of low-cost instrumentation and a common filter paper with simple sample preparation provides alternatives to conventional analysis of metals in liquid samples. The advantages of LDTV are also very low consumption of sample solution, easy sample archiving and transportation and option of prearranged multi-elemental calibration sets.

\* Korespondence: [pavla.foltynova@gmail.com](mailto:pavla.foltynova@gmail.com)

### **LITERATURA:**

1. Foltynová P.: Anal. Chem. 84, 2268-2274 (2012).

### **PODĚKOVÁNÍ:**

*Czech Science Foundation (P206/12/0538) and CEITEC - Central European Institute of Technology (CZ.1.05/1.1.00/02.0068).*

---

## WeP-031: Hydrogen/deuterium exchange mass spectrometry in the structure study of oncoproteins

Lenka Hernychova<sup>1,2</sup>, Petr Man<sup>3</sup>, Terry Gray<sup>4</sup>, Alan Healy<sup>4</sup>, Karlene Ball<sup>4</sup>, Borivoj Vojtesek<sup>1</sup>, Ted Hupp<sup>4\*</sup>

*1. RECAMO, Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno, CZ*

*2. Faculty of Military Health Sciences, UO, Hradec Kralove, CZ*

*3. Institute of Microbiology AS CR v.v.i., Prague, Czech Republic*

*4. Edinburgh Cancer Research Centre, University of Edinburgh, Western General Hospital, Edinburgh, Scotland*

---

Hydrogen/deuterium exchange coupled to mass spectrometry is a well established technique for the characterization of protein-protein interactions and the monitoring of conformational changes in proteins. This approach is based on a chemical reaction when covalently bonded amide hydrogen in the peptide bonds of the proteins is replaced by deuterium atom. The exchange reactions are based on comparison of the solvent accessibility of various parts of the proteins in solutions with either light water (H<sub>2</sub>O) or heavy water (D<sub>2</sub>O). Nevertheless this method is unable to determine the structure of the proteins or define secondary structure elements.

Our study was focused to characterize the structure changes of the oncoproteins involved in p53 signalling pathway caused by interaction with selected ligands. Two different approaches were applied: (1) global kinetics was used for analysis of the intact recombinant proteins and (2) local kinetics of protein after proteolysis was utilized to get detailed information of conformation changes. Obtained data contributed to map structure changes and help to resolve binding sites involved in protein complexes. These findings give possibility to better disentangle the oncoprotein interaction network which is important for understanding of mechanisms of cancer transformation and for design of novel tumour specific drugs.

\* Korespondence: [lenka.hernychova@mou.cz](mailto:lenka.hernychova@mou.cz)

### **PODĚKOVÁNÍ:**

*The work was supported by the European Regional Development Fund and the State Budget of the Czech Republic (RECAMO, CZ.1.05/2.1.00/03.0101) and BBSRC-UK, and Cancer Research-UK.*

## **WeP-032: Direct coupling of droplet microfluidics with TOF-MS: developing a new tool for on-line single droplet analysis**

Michael Volný<sup>1</sup>\*, Joelle Rolfs<sup>1</sup>, Bejan Hakimi<sup>1</sup>, Thomas Schneider<sup>1</sup>, Dingsheng Liu<sup>1</sup>,  
Daniel Chiu<sup>1</sup>, Frantisek Turecek<sup>1</sup>

*1. University of Washington*

---

*Introduction:* Droplet microfluidics has attracted much attention in recent years because droplet generation in microfluidic devices has found applications in a wide range of areas, such as the analysis of target samples that rely on compartmentalization, separation of components encapsulated in droplets, and the synthesis, mixing, and/or crystallization within droplets. Encapsulations of cells, proteins, and DNA have also been demonstrated. As interests grow in the field of droplet-based microfluidics, more technologies are being developed to control, manipulate, and functionalize droplets. Another important aspect is detection of the droplets contents. In this work we present a new platform for direct on-line coupling of droplet microfluidics with mass spectrometer.

*Methods:* A commercially available ESI-TOF mass spectrometer (LCT Premier, Waters) was thoroughly modified to accommodate the interface compatible with single droplet introduction. The original ion source assembly was removed (up to the first rf focusing element of the ion optics) and replaced by a new chamber that contains transport ion optics. In the new arrangement the standard Z-spray inlet was replaced by an inlet capillary which is in line with the ion optics main axis. Transport between the ambient environment and the ion funnel is provided by a heated stainless-steel capillary, which is glass-lined on the inside to prevent ion discharge.

*Preliminary Data:* We demonstrated a significant sensitivity improvement in Atmospheric Pressure Chemical Ionization (APCI) mode due to the installation of an additional vacuum region that allows usage of flared capillary with large internal diameter. Preliminary data showed that ion currents about 3-6nA could be transmitted into ion tunnel and further inside the instrument.

\* Korespondence: [volny@uw.edu](mailto:volny@uw.edu)

---

## WeP-033: Chemical cross-linking and hydrogen/deuterium exchange as an alternative approach to studying the protein structure

Daniel Rozbeský<sup>1,2\*</sup>, Petr Man<sup>1,2</sup>, Zdenek Kukacka<sup>1,2</sup>, Petr Novak<sup>1,2</sup>

*1. Institute of Microbiology, Academy of Science of the Czech Republic*

*2. Department of Biochemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague, Czech Republic*

---

Determination of the three-dimensional structures of proteins has traditionally been realized by X-ray crystallography and NMR spectroscopy. Although these techniques provide high resolution atomic data, they have some limitations.

Chemical cross-linking and Hydrogen/Deuterium (H/D) exchange combined with high resolution mass spectrometry offer alternative an approach to studying the protein structure. This method is fast, is general and uses small amounts of material.

Our aim was to gain insight into structure of NKR-P1A and NKR-P1C protein, important activating receptors which play a key role in eliminating virally infected and tumor cells.

We used homobifunctional cross-linking reagents DSS and DSG (amine–amine coupling) and heterobifunctional cross-linking reagent EDC (carboxyl–amine coupling). Mass spectrometry was used for cross-links identification and furthermore for precise revealing which residues were involved in the cross-link. The residues which were within a certain distance of each other were converted into covalent bonds by a cross-linking reagent and therefore provided distance constraints which were used for protein structure modeling.

In the second approach, H/D exchange combined with mass spectrometry was applied to study the NKR-P1A loop conformation. The aim of this analysis was to compare the kinetics of H/D exchange for NKR-P1A and NKR-P1A in which the loop was removed and replaced with two alanines. H/D exchange revealed that the solution structure differs from the crystal structure in the conformation of the conserved loop. While the conserved loop is in close proximity to compact core in solution, it is extended from the core in the crystal structure where it interacts with the surface of a symmetry-related molecule.

Finally, distance constraints derived from cross-linking and information on local solvent accessibility of proteins derived from H/D exchange have been implemented in the modeling of both receptors.

\* Korespondence: [rozbesky@gmail.com](mailto:rozbesky@gmail.com)

### PODĚKOVÁNÍ:

*Financial support from the Grant Agency of the Czech Republic (P207/10/1040, 303/09/0477 and 305/09/H008) and from the Grant Agency of Charles University (403211/2011 and Project UNCE).*



## WeP-034: Stanovení benzodiazepinů v nemocničních laboratořích

Marek Mucha <sup>1</sup>\*, Jiří Kalina <sup>1</sup>, Petr Kurka <sup>2</sup>

1. Katedra chemie, Přírodovědecká fakulta Ostravské univerzity

2. Ústav soudního lékařství, Fakultní nemocnice Ostrava

---

Benzodiazepiny, které jsou v současnosti mezi lékaři velmi oblíbenými psychofarmaky, se díky svým tlumivým účinkům na centrální nervovou soustavu používají jako sedativa, anxiolytika či jako premedikace před plánovaným chirurgickým zákrokem. Mezi jejich nežádoucí účinky patří hlavně únava a ospalost [1,2]. S jejich oblíbeností souvisí také jejich stále se zvyšující spotřeba a tedy i nutnost jejich rychlého stanovení, k němuž se používá kapalinový chromatogram ve spojení s hmotnostním spektrometrem. Bohužel ne každá nemocniční laboratoř si může hmotnostní spektrometr dovolit. Nabízí se tedy otázka, zda je hmotnostní spektrometr při běžné nemocniční analýze zapotřebí. Na tuto otázku odpověděl náš výzkum, v rámci kterého bylo provedeno srovnání dvou metod za pomoci jejich parametrů (limitů detekce a kvantifikace, linearity, opakovatelnosti, reprodukovatelnosti, přesnosti a správnosti). První byla metoda užívaná na Ústavu soudního lékařství Fakultní nemocnice Ostrava, využívající hmotnostní spektrometr jako detektor, druhou pak metoda s UV detekcí vyvinutá na Přírodovědecké fakultě Ostravské univerzity [3]. Získaná data pak ukázala, že k běžným nemocničním analýzám benzodiazepinů zcela postačuje kapalinový chromatograf s UV detekcí.

\* Korespondence: [marek.mucha@centrum.cz](mailto:marek.mucha@centrum.cz)

### LITERATURA:

1. Lüllmann H. et al. Farmakologie a toxikologie. Grada Publishing, a.s., ISBN 80-247-0836-1 (2004).
2. Wenke M. et al. Farmakologie: učebnice pro lékařské fakulty. Avicenum, (1986).
3. Mucha M.: Diplomová práce, Ostravská univerzita v Ostravě, (2012).

### PODĚKOVÁNÍ:

*Příspěvek byl vypracován v rámci grantu SGS identifikační číslo sgs16/PřF/2012 a projektu Institut environmentálních technologií, reg. č. CZ.1.05/2.1.00/03.0100 podporovaného Operačním programem Výzkum a vývoj pro Inovace, financovaného ze strukturálních fondů EU a ze státního rozpočtu ČR. Poděkování rovněž patří Ústavu soudního lékařství FNO za umožnění provádění velké části prací na tomto pracovišti.*

Adam Tomáš .....	FrO-018	Gerlich Dieter .....	PL-1
Adam Tomáš .....	FrO-020	Goldman Radoslav .....	ThO-016
Alcaraz Christian .....	WeO-004	Goodacre Royston .....	FrO-018
Ascenzi Daniela .....	WeO-004	Gray Terry .....	WeP-031
Ball Karlene .....	WeP-031	Hakimi Bejan .....	WeP-032
Bednařík Antonín .....	WeP-012	Háková Eva .....	WeP-019
Behúlová Darina .....	FrO-020	Halada Petr .....	WeP-006
Bekárek Vojtěch .....	FrO-020	Halada Petr .....	WeP-011
Běláková Sylvie .....	WeP-015	Härtlova Anetta .....	WeP-013
Běláková Sylvie .....	WeP-029	Härtlová Anetta .....	WeP-016
Benešová Karolína .....	WeP-015	Hartmanová Lucie .....	WeP-022
Berková Petra .....	FrO-017	Havlíček Vladimír .....	WeP-020
Bezouška Karel .....	WeP-018	Healy Alan .....	WeP-031
Blaha Milan .....	WeP-014	Hernychova Lenka .....	WeP-031
Borovcová Lucie .....	WeP-022	Hlídková Eva .....	FrO-020
Bortlík M. ....	WeP-008	Hodek Petr .....	ThO-014
Brnakova Zuzana .....	ThO-016	Holčapek Michal .....	WeP-005
Bruheim Per .....	FrO-018	Holčapek Michal .....	WeP-024
Brunsvik Anders .....	FrO-018	Holčapek Michal .....	WeP-027
Cajthaml Tomáš .....	WeP-002	Horká Petra .....	WeP-023
Cífková Eva .....	WeP-005	Hostačná Lucie .....	WeP-002
Cífková Eva .....	WeP-024	Hrdlička Luděk .....	WeP-008
Cimlová Jana .....	FrO-017	Hrdlička Luděk .....	FrO-019
Correa Elon .....	FrO-018	Hron Karel .....	FrO-018
Cvačka Josef .....	WeP-019	Hudeček Jiří .....	ThO-014
Cvačka Josef .....	WeP-023	Hupp Ted .....	WeP-031
Cvačka Josef .....	WeP-025	Chang Huan-Tsung .....	ThO-010
Cvačka Josef .....	WeP-026	Chang Huan-Tsung .....	WeP-009
Cvačka Josef .....	WeP-027	Chiu Daniel .....	WeP-032
Červená Blanka .....	WeP-024	Chudoba Josef .....	ThO-005
Česlová Lenka .....	WeP-029	Jakl Michal .....	ThO-011
Darebná Petra .....	WeP-011	Jakl Michal .....	WeP-003
Dinisová Petra .....	WeP-029	Jakl Michal .....	WeP-007
Doležal Antonín .....	WeP-023	Jaklová Dytřtová Jana .....	ThO-011
Doležal Antonín .....	WeP-027	Jaklová Dytřtová Jana .....	WeP-003
Dryahina Kseniya .....	ThO-015	Jaklová Dytřtová Jana .....	WeP-007
Dryahina Kseniya .....	FrO-019	Jan Prchal .....	WeP-021
Dryahina Kseniya .....	WeP-008	Jan Tarabek .....	WeO-002
Đuricová D. ....	WeP-008	Janečková Hana .....	FrO-018
Ertl Lukáš .....	WeP-012	Janková Štěpánka .....	WeP-010
Ettrich Rudiger .....	WeP-004	Jašíková Lucie .....	WeP-017
Fabrik Ivo .....	WeP-016	Ječmen Tomáš .....	ThO-014
Fanfrlík Jindřich .....	WeP-003	Junková Petra .....	WeP-021
Fischer Jan .....	WeP-029	Kádek Alan .....	WeP-006
Flieger Miroslav .....	ThO-007	Kádek Alan .....	WeP-011
Foltynová Pavla .....	WeP-030	Kaftan Filip .....	WeP-025
Franc Vojtěch .....	ThO-013	Kalina Jiří .....	WeP-034
Friedecký David .....	FrO-018	Kanický Viktor .....	WeP-030
Friedecký David .....	FrO-020	Kasalova Eva .....	WeP-014
Galuszka Jan .....	WeP-024	Koberová Monika .....	ThO-014

Kohout David .....	ThO-005	Novák Petr .....	WeP-018
Končítíková Radka .....	ThO-013	Novák Petr .....	WeP-020
Kopečný David .....	ThO-013	Novak Petr .....	WeP-033
Kosina Jiří .....	ThO-005	Novotny Milos .....	PL-2
Krásný Lukáš .....	ThO-012	Obšilová Veronika .....	ThO-012
Krásný Lukáš .....	WeP-020	Olšovská Jana .....	ThO-007
Krcmova Lenka .....	WeP-014	Oros Roman .....	WeP-014
Křesinová Zdena .....	WeP-002	Plavka Richard .....	WeP-023
Kuba Pavel .....	WeP-012	Plavka Richard .....	WeP-027
Kukacka Zdenek .....	WeP-033	Plisek Jiri .....	WeP-014
Kukačka Zdeněk .....	WeP-018	Polášek Miroslav .....	WeO-004
Kurka Petr .....	WeP-034	Pompach Petr .....	ThO-012
Leitner Erich .....	ThO-006	Pompach Petr .....	ThO-016
Lemr Karel .....	WeP-022	Pompach Petr .....	WeP-018
Lemr Karel .....	WeP-028	Pospíšilová Veronika .....	WeP-008
Lenobel René .....	ThO-013	Preisler Jan .....	ThO-010
Link Marek .....	WeP-013	Preisler Jan .....	WeP-009
Link Marek .....	WeP-016	Preisler Jan .....	WeP-012
Lísa Miroslav .....	WeP-005	Preisler Jan .....	WeP-030
Lísa Miroslav .....	WeP-024	Radovan Hynek .....	WeP-021
Lísa Miroslav .....	WeP-027	Rejšek Jan .....	WeP-025
Liu Dingsheng .....	WeP-032	Richard Hrabal .....	WeP-021
Ludwig Roland .....	WeP-006	Roberts Dominic .....	WeP-028
Lukáš Milan .....	WeP-008	Robinson Carol .....	WeP-004
Lukáš Milan .....	FrO-019	Roithová Jana .....	ThO-009
Madzak Catherine .....	ThO-013	Roithová Jana .....	WeP-007
Machková N. ....	WeP-008	Roithová Jana .....	WeP-010
Man Petr .....	WeP-004	Roithová Jana .....	WeP-017
Man Petr .....	WeP-006	Rolfs Joelle .....	WeP-032
Man Petr .....	WeP-011	Romanzin Claire .....	WeO-004
Man Petr .....	WeP-018	Rozbesky Daniel .....	WeP-004
Man Petr .....	WeP-031	Rozbeský Daniel .....	WeP-033
Man Petr .....	WeP-033	Řehulka Pavel .....	ThO-013
Marcoux Julien .....	WeP-004	Řehulka Pavel .....	WeP-016
Marek Ales .....	WeO-001	Řimnáčová Lucie .....	FrO-017
Míková Radka .....	WeP-023	Sanda Miloslav .....	ThO-016
Míková Radka .....	WeP-027	Shestivská Violetta .....	WeP-008
Mikulíková Renata .....	WeP-015	Shestivska Violetta .....	ThO-015
Montesdeoca Esponda Sarah .....	WeP-014	Shestivska Violetta .....	FrO-019
Moskovets Eugene .....	WeP-012	Schneider Thomas .....	WeP-032
Mucha Marek .....	WeP-034	Schröder Detlef .....	WeP-001
Nemec Alexander .....	ThO-015	Slováková Kristína .....	WeP-028
Netušilová Kateřina .....	WeP-027	Sobotka Lubos .....	WeP-014
Norková Renáta .....	WeP-003	Solichova Dagmar .....	WeP-014
Novák Jan .....	ThO-013	Sovová Kristýna .....	ThO-015
Novák Petr .....	ThO-012	Sovová Kristýna .....	FrO-019
Novák Petr .....	ThO-014	Sovová Kristýna .....	WeP-008
Novak Petr .....	WeP-004	Sovova Zofie .....	WeP-004
Novák Petr .....	WeP-006	Strašková Adéla .....	WeP-016
Novák Petr .....	WeP-011	Strnadová Marcela .....	ThO-012

---

Strnadová Marcela .....	WeP-020
Strohalm Martin .....	ThO-012
Strohalm Martin .....	WeP-020
Stulík Jiří .....	WeP-013
Stulík Jiří .....	WeP-016
Svoboda Zdeněk .....	WeP-015
Šádek Vojtěch .....	WeP-001
Šebela Marek .....	ThO-013
Šimek Petr .....	FrO-017
Škríba Anton .....	WeO-003
Španěl Patrik .....	ThO-015
Španěl Patrik .....	FrO-019
Španěl Patrik .....	WeP-008
Štenclová Zuzana .....	WeP-029
Šulc Miroslav .....	ThO-014
Thérová Michaela .....	WeP-022
Tomalová Iva .....	ThO-010
Tomalová Iva .....	WeP-009
Tomková Jana .....	FrO-020
Turecek Frantisek .....	WeP-032
Tureček František .....	WeO-001
Tylová Tereza .....	ThO-007
Vaughan Andrew .....	FrO-018
Vega Morales Tanausú .....	WeP-014
Víden Ivan .....	ThO-005
Vojtesek Borivoj .....	WeP-031
Volný Michael .....	ThO-012
Volný Michael .....	WeP-020
Volný Michael .....	WeP-032
Vostálová Jitka .....	WeP-024
Vrkoslav Vladimír .....	WeP-019
Vrkoslav Vladimír .....	WeP-023
Vrkoslav Vladimír .....	WeP-026
Vrkoslav Vladimír .....	WeP-027
Vuitton Véronique .....	WeO-004
Wojtowicz Petr .....	FrO-018
Wu Jing .....	ThO-016
Xue Chang .....	WeO-001
Zábranská Marie .....	WeP-023
Zábranská Marie .....	WeP-026
Zahradníčková Helena .....	FrO-017
Znaleziona Joanna .....	WeP-024
Žabka Ján .....	WeO-004



# Committed to Your Success



## Advanced Mass Spectrometry Solutions

- Ion Trap: amaZon series
- ESI-(Q)-TOF: micrOTOF series
- UHR-TOF: maXis
- MALDI-TOF/(TOF): flex series
- FTMS: solariX series

Contact us for more details and a system demonstration! [www.bruker.com/ms](http://www.bruker.com/ms)

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

### Proteomics

- Top-down and Bottom-up Strategies
- Flexible Quantitation
- Detailed Intact Protein and PTM Analysis

### Biomarker Analysis

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

### Small Molecules/Metabolites

- Fastest Parallel Multitarget Screening
- Forensic Toxicology
- Pesticide and Food Analysis

### Target Screening

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

### Contact

**Bruker s.r.o.**  
Zdráhalova 10, 613 00 Brno  
tel.: +420 544 526 988  
fax: +420 544 526 989  
e-mail: [obchod@bdal.cz](mailto:obchod@bdal.cz)  
web: [www.bruker-sro.cz](http://www.bruker-sro.cz)

Innovation with Integrity

Mass Spectrometry

PUSHING THE LIMITS IN SENSITIVITY



Exceedingly sensitive.  
Sharply focused.

THE 6500 SERIES WITH IONDRIVE™ TECHNOLOGY



See what couldn't be seen. Until now. The new AB SCIEX 6500 LC/MS/MS series with multi-component IonDrive™ technology is the world's most sensitive triple quadrupole, improving sensitivity up to 10X and detector dynamic range by 20X over the best selling high performance triple quad – with no compromise in mass range.

Unique QTRAP® linear ion trap technology and optional SelexION™ differential ion mobility technology help enhance data quality and improve throughput while reducing the need for sample preparation. When merged with the Eksigent ekspert™ microLC 200 system, the functionally stackable design reduces lab space by 100%, while minimizing maintenance costs and reducing mobile phase costs by up to 95%.



The new AB SCIEX 6500 Series. It's the farsighted successor to a long line of leading AB SCIEX mass spec systems.

Explore visionary sensitivity at [www.absciex.com/6500-jasms](http://www.absciex.com/6500-jasms)

**AB SCIEX**

© 2012 AB SCIEX. For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures. The trademarks mentioned herein are the property of AB SCIEX Pte. Ltd. or their respective owners.

# The Leadership Trio

## *UPLC/MS* ULTRA FAST MASS SPECTROMETRY

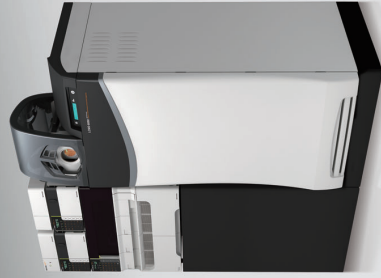
Whether GC/MS/MS or LC/MS/MS analysis, Shimadzu's triple quads define a new global standard.

exceptional speed and ultimate ease of use.



### GCMS-TQ8030 – Fast Track

- GC/MS/MS with highest detection speeds world-wide
- Proprietary technologies enhance selectivity, sensitivity and throughput
- Breakthrough in ease of use



### LCMS-8080 – Power Tower

- Perfect solution for highly sensitive compound detection in complex matrices
- Combines with the lowest carry-over front end HPLC to achieve best quantitative performance
- User-friendly, robust solution for a wide range of applications



### LCMS-8040 – Powered by Ambition

- The world's fastest LC/MS/MS tandem mass spectrometer
- Expanded range of high-throughput analysis at lower levels of detection
- Proprietary technologies to speed up applications



[www.shimadzu.eu](http://www.shimadzu.eu)

# You are ready

Building on industry-leading capabilities, our new line of **mass spectrometers** identify, quantitate and confirm compounds in the most demanding samples. Whether unraveling protein structures, developing new drugs, or analyzing trace pesticides, we help move your science and productivity forward with industry-leading technology and expertise. And as you drive discovery and face new unknowns, our advanced systems and software provide unprecedented confidence in the final result. Whatever challenges arise in the future, you'll be ready.

## for the toughest challenges in mass spectrometry

• see our **new line up** at [www.thermoscientific.com/ready](http://www.thermoscientific.com/ready)

© 2011 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.



Czech Republic contact: Thermo Fisher Scientific, +420-274820377, [analyze.cz@thermofisher.com](mailto:analyze.cz@thermofisher.com)



**Orbitrap™ Elite Hybrid LC-MS**  
Gold standard for accurate mass and now to 240,000 resolution



**Q Exactive Benchtop Orbitrap**  
High resolution, accurate mass and simultaneous qual/quant

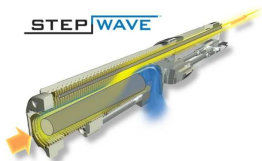


**Velos Pro Ion Trap**  
Fastest, most sensitive ion trap with HCD fragmentation



**TSQ Quantum XLS Ultra GC-MS/MS**  
High sensitivity and selectivity in GC and LC triple quadrupole MS





KAPALINOVÁ CHROMATOGRAFIE  
HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE  
ŘÍZENÍ A MANAGEMENT DAT  
SPOTŘEBNÍ MATERIÁL



XEVO TQD



XEVO TQ



XEVO TQ-S

ANALYZÁTORY DOBY LETU (TOF)  
TROJITÉ KVADRUPLY  
HYBRIDNÍ SYSTÉMY  
LC/MS, GC-MS

## SYNAPT® G2-S

2D MS SEPARACE – HMOTA, VELIKOST, TVAR IONTU  
HIGH DEFINITION MASS SPECTROMETRY  
IONIZACE: ESI / APCI / APPI / MALDI / ETD  
ROZHRANÍ LC / GC / CE / CHIP / NANO  
ROZLIŠENÍ ~ 40 000 – 50 000 FWHM  
PŘESNOST HMOTY < 1 PPM RMS  
DYNAMICKÝ ROZSAH 10<sup>5</sup>



# Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

WWW.WATERS.COM

## Novinky v oblasti hmotnostní spektrometrie od Agilent Technologies



- ✓ Kapalinové chromatografy řady Infinity 1200 zahrnující řešení od standardní chromatografie přes **UHPLC** až k nano LC v provedení **Chip LC**
- ✓ Univerzální LC detektor – **Single Qvadrupole**
- ✓ Kompletní portfolio **QqQ** zahrnující nabídku od **QqQ** ekonomické třídy až po nejcitlivější **QqQ 6490**
- ✓ Non-target screening pomocí High Resolution **TOF a QTOF** včetně nejnovějších technologií- jet stream technology, hexabore capillary a dual-stage iFunnel
- ✓ Kompletní SW řešení včetně knihoven pro- **metabolomiku, proteomiku, analýzu potravin, forenzní analýzu, toxikologii a klinické aplikace**

### Zvolte si tu správnou techniku pro nejlepší výsledky

- ✓ **GC/MSD – jedinečný jednoduchý kvadrupól**
- ✓ **GC/IT – iontová past s dostupnou MS/MS**
- ✓ **GC/Q-TOF – postavena na léty ověřené technologii**
- ✓ **GC/QQQ – nepřekonatelná robustnost a spolehlivost v reálných maticích**
- ✓ **Mobilní GC/MSD – výkonně MSD skutečně kdekoli**
- ✓ Vysoká robustnost všech systému - **CFT Backflush**
- ✓ **Stále unikátní GC 7890 Agilent Technologie**

**První GC/Q-TOF Agilent Technologies 7200**

**Nejprodávanější GC/QQQ Agilent 7000B**



- ✓ **ICP-MS/MS 8800 series – první ICP-QQQ**
- ✓ **ICP-MS 7700 series – standard v oblasti ICP/MS**
- ✓ **12 instalací 7700 series v ČR za posledních 24 měsíců.**
- ✓ Třetí generace kolizně-reakční cely pro **dokonalé a spolehlivé odstranění polyatomických interference** – nepřekonatelný výkon!
- ✓ HMI (High Matrix Interface) pro **přívod koncentrovaných (zasolených) vzorků.**
- ✓ Agilent **ICP-MS MassHunter software**
- ✓ **Spojení ICP-MS s LC, GC, CE nebo LA**