

Servicios en espectrometría de masas

MALDI-TOF

Brochure informativo ampliado



**UNIVERSIDAD
NACIONAL
DEL LITORAL**

**SECRETARÍA DE
VINCULACIÓN Y TRANSFERENCIA
TECNOLÓGICA**

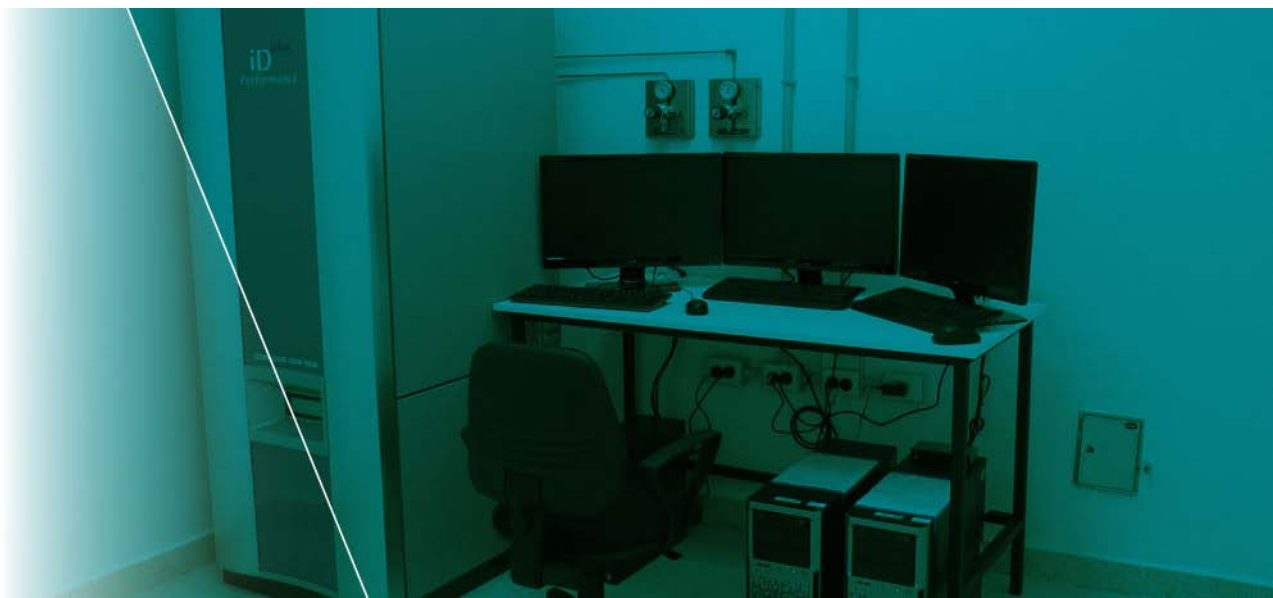
**FBCB • FACULTAD
DE BIOQUÍMICA
Y CIENCIAS BIOLÓGICAS**

01. Introducción

La Universidad Nacional del Litoral (UNL), con financiamiento del Gobierno de la provincia de Santa Fe, adquirió equipamientos de alta complejidad para poder ofrecer un servicio de excelencia.

El laboratorio de Espectrometría de Masas ubicado en la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas (FBCB) cuenta ahora con un equipo MALDI-TOF llamado así por sus siglas en inglés (Matrix Assisted Laser Desorption/ionization y Time of Flight) y un nano HPLC acoplado a Accu spott un sistema separativo que da una herramienta fundamental en el área de la proteómica.

El equipamiento es el segundo en el país con éstas características y octavo en Latinoamérica. Permite profundizar estudios actuales e incursionar en nuevas líneas de investigación en áreas como la bromatología, nutrición, microbiología de alimentos, industrias de biofármacos, biopolímeros etc. Sin lugar a dudas hoy el Laboratorio de Espectrometría de Masas posiciona a la UNL en un lugar de liderazgo y representa una excelencia para los investigadores y jóvenes doctores que se formarán con él.



02. Descripción del equipamiento

a. Nano HPLC:

Contamos con un cromatógrafo líquido de alta presión marca Shimadzu modelo NEXERA que trabaja con cantidades de muestras muy reducidas, que son separadas a altas presiones en columnas capilares que soportan flujos de hasta 50 microlitros por minuto, lo que lo diferencia con los HPLC tradicionales. "Al ser bidimensional cuenta con un sistema de válvulas que nos brindan la posibilidad de poder ir separando el analito que queremos estudiar de su matriz.

El nano HPLC tiene acoplado un equipo Accu Spot que es un robot que se encarga de sembrar las muestras directamente en las placas de MALDI. Las mismas poseen pocillos donde la muestra va a ser sembrada junto con un reactivo denominado matriz de MALDI que va a permitir la ionización de la muestra". Es una herramienta muy utilizada para separar muestras complejas de péptidos antes de ser analizadas por espectrometría de masas.

b. MALDI-TOF:

Es un tipo de espectrómetro de masas (marca Shimadzu modelo Axima ID Plus) en el cual se ioniza las moléculas presentes en la muestra y al mismo tiempo desencadena un proceso de desorción, que es el paso de la muestra del estado sólido a gaseoso lo que luego permite que dichas moléculas se aceleren a través de un campo eléctrico y sean separadas por su relación masa/carga a través de un tubo de vacío hasta llegar al detector.

Finalmente, en el detector se genera una señal, que es comparada por medio de dos servidores cargados con bases de datos de proteínas y microorganismos. Esto nos permitirá reconocer nuevos marcadores para el diagnóstico y seguimiento de numerosas patologías y la identificación rápida de microorganismos en muestras clínicas con una alta exactitud y precisión.

Es una herramienta muy utilizada para separar muestras complejas de péptidos antes de ser analizadas por espectrometría de masas.

03. Espectrometría de masas

La espectrometría de masas es una técnica que permite determinar la distribución de las moléculas de una sustancia en función de su masa/carga.

Existen diferentes equipos hoy en día que se utilizan para diferentes tipos de moléculas y diferentes matrices. El MALDI-TOF Técnica desarrollada en 1987 por el ingeniero japonés Koichi Tanaka. Consiste en una ionización suave del analito que provoca la vaporización de intactas moléculas termolábiles, no volátiles tales como proteínas, lípidos, hidratos de carbono, etc. en un rango de peso molecular entre 2 a 100 kDa, a un relativo bajo costo y resultado inmediato.

Dentro de las aplicaciones se encuentran la proteómica donde se pueden identificar péptidos y proteínas en mezclas simples y complejas, analizar modificaciones post traduccionales y determinar pesos moleculares de compuestos intactos. La identificación de los compuestos se realiza a través de un buscador (MASCOT) en librerías en bases de datos. Otras aplicaciones incluyen el análisis de Oligonucleico, lípidos, polímeros y microorganismos. Ésta última aplicación es una herramienta muy útil en la microbiología ya que acelera los tiempos en los diagnósticos permitiendo tratamientos muchos más efectivos en pacientes críticos.

*Acelera los tiempos en los diagnósticos
permitiendo tratamientos muchos más efectivos
en pacientes críticos.*



04. Servicios

. Área Microbiología

Cuenta con el servicio de tipificación de microorganismos. El mismo utiliza una base de datos llamada SARAMIS. Es un método rápido y confiable que sólo necesita el aislamiento del microorganismo en una placa de petri y se puede contar con los resultados en menos de 24 horas.

Puede ser utilizado en prestadores de salud y laboratorios vinculados al diagnóstico de enfermedades. La rapidez en la obtención de los resultados es de vital importancia para el diagnóstico de enfermedades en pacientes críticos.

Las industrias utilizan el servicio a modo de control de calidad de sus áreas y sistemas ya que en caso de encontrar contaminaciones pueden resolver el problema rápidamente y no cortar la línea de producción.

. Área Proteómica

Se brindan servicios de determinación de pesos moleculares de grandes biomoléculas como proteínas, lípidos, inmunoglobulinas etc.

Además, se puede lograr la identificación de las proteínas provenientes de geles o en solución a través de una digestión con tripsina y búsqueda en librerías con MASCOT.

Dentro de la proteómica contamos con una nano HPLC que permite la identificación de mezclas simples de proteínas digeridas en solución.

Estamos en continuo desarrollo de nuevas áreas como ser la lipidómica, hidratos de carbonos, saponinas, inmunoglobulinas etc.

Buscamos ser un soporte de la comunidad científica y que ellos puedan contar con ésta herramienta para dar sostén y calidad a sus investigaciones.

05. Ventajas / Innovación

a. Área Microbiología

El MALDI-TOF es el método más recientemente aprobado para la identificación de microorganismos y su ventaja radica en la rapidez de los resultados y que sólo necesita el microorganismo crecido en una placa de Petri para poder lograr su identificación.

Comparado con el método gold estándar que es la secuenciación que demora semanas o meses en dar el resultado el MALDI sólo demora una hora en analizar una placa con 23 muestras diferentes y su análisis en comparación es de muy bajo costo.

.Experiencias

Hace poco tiempo se trabajó con el caso de un paciente de 5 años que ingresó a un hospital de la ciudad de Santa Fe con una infección en la rodilla provocada por una astilla que lo lesionó jugando. La misma se repetía y aumentaba con el tiempo.

El trabajo de los profesionales del hospital en conjunto con el equipo de nuestro laboratorio, se pudo identificar el microorganismo causante en una hora, a partir del uso del MALDI-TOF. Los médicos cambiaron el tratamiento antibiótico y resolvieron rápidamente el problema. Similar procedimiento se realizó con otro paciente menor de edad al que el perro de la familia había mordido causando una infección que necesitaba urgencia en su tratamiento.

Su base de datos SARAMIS (Spectral Archive and Microbial Identification System) contiene información de bacterias, levaduras y hongos filamentosos cargados con el sistema de superespectros de comparación. Es un sistema abierto que permite cargar microorganismos de interés y mantener información de especies endémicas de ciertas regiones. La desventaja de su aplicación es que un microorganismo que no esté presente en la base de datos no va a poder ser identificado.

En la industria se utiliza como control de calidad de áreas estériles solucionando rápidamente los problemas que puedan surgir durante la elaboración de un producto, Muchas veces la presencia de un microorganismo frena todo un sistema de producción y la identificación rápida del mismo es fundamental para evitar pérdida de tiempo y dinero.

b. Área Proteómica

Es el estudio a escala de las proteínas, en particular a su estructura y función, constituye hoy en día uno de los principales campos de investigación en el área de las ciencias de la vida, con aplicaciones en entornos muy diversos. La proteómica es una ciencia relativamente reciente.

Para su despegue definitivo, ha sido necesaria la consolidación definitiva de la espectrometría de masas como técnica aplicada al análisis de moléculas biológicas y el crecimiento exponencial en el número de entradas correspondientes a genes y/o

proteínas en las bases de datos. Esto, combinado con el empleo de potentes métodos de fraccionamiento y separación de péptidos y proteínas como el 2D-PAGE7 (electroforesis de poliacrilamida de dos dimensiones) y la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), ha permitido consolidar la proteómica, desde mediados de los años 1990 como ciencia para el análisis masivo de proteínas.

En el campo de la biomedicina pueden destacar aplicaciones como identificación de biomarcadores, determinación de mecanismos moleculares, etc.

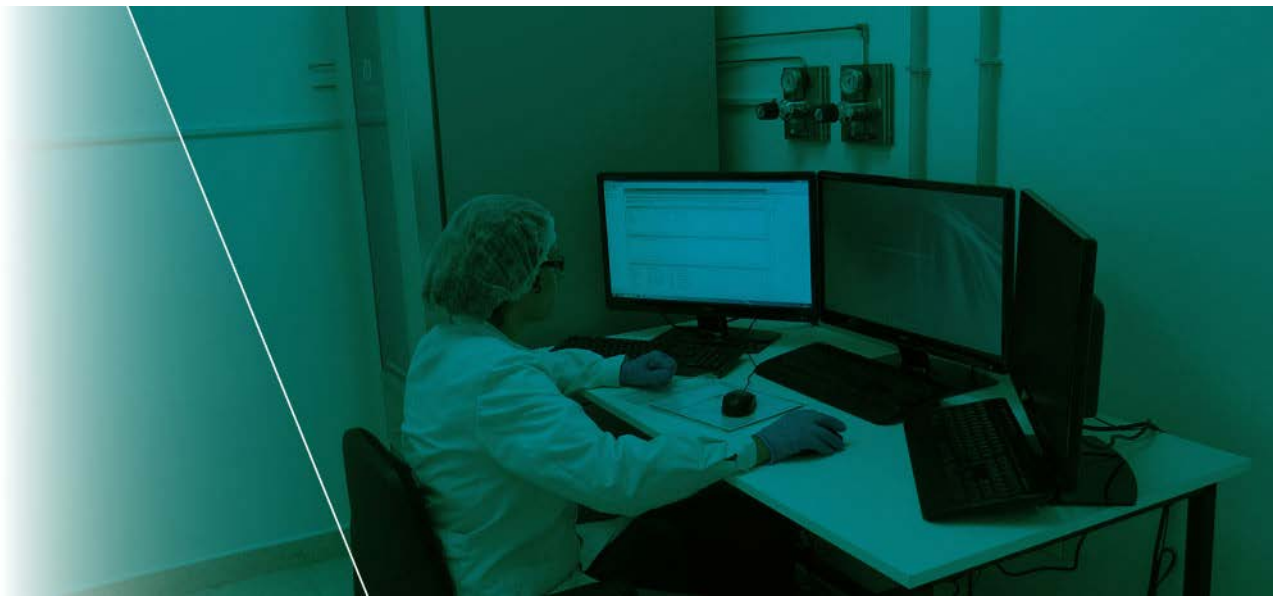
.Experiencias

Se articula cotidianamente con grupos de investigación que necesitan un soporte técnico analítico que respalde sus análisis. Conjuntamente con estos grupos trabajamos en el desarrollo del análisis y la preparación de las muestras.

Tenemos el caso de investigadores trabajando en proteínas marcadoras en cerebro de ratas, algunos que intentan purificar proteínas de quesos y lácteos y necesitan verificar si la proteína aislada era la indicada, otras consultas vienen de laboratorios que comercializan hormonas proteicas y utilizan nuestro equipo como control de calidad de las mismas.

. Base de datos SARAMIS

La identificación de microorganismos se realiza mediante una base de datos SARAMIS denominado SuperSpectra™. El SuperSpectra™ se genera sobre la base de mediciones de microorganismos bien conocidos y contiene conjuntos de géneros, especies y biomarcadores de cepas que son característicos para el grupo respectivo de microorganismos. La primera base de datos SARAMIS™ incluyó espectros de más de 2.000 especies y 500 géneros. Desde el principio en 1999 están disponibles hoy en día, más de 2800 identificaciones de microorganismos. Las extensiones de la base de datos se llevan a cabo regularmente.



. Equipo de trabajo

El Laboratorio de Espectrometría de Masas cuenta con un equipo de trabajo bien conformado donde existe una figura analítica con mucha experiencia en espectrometría de masas y altamente capacitada para manejar el sistema MALDI-TOF que resuelve la parte técnica del equipo y sus alcances en las diferentes áreas de trabajo

Hay también una figura que brinda soporte en el área de microbiología resolviendo las diferentes preparaciones de muestras ya sean bacterias, hongos o levaduras y resolviendo casos complejos en pacientes críticos cuando la definición del análisis es clave. Dentro de la proteómica el equipo puede resolver problemas complejos y continuamente está en la búsqueda de brindar calidad a los trabajos de los solicitados.

Dentro de las demás áreas como la identificación de polímeros sintéticos, lípidos etc se involucran doctores e investigadores quienes colaboran con la puesta a punto de los métodos de trabajo.

Para la realización de estos servicios, además del equipo de trabajo del laboratorio, contamos con equipos de investigación de nuestra institución y una red de investigadores de todo el país, con quienes resolvemos solicitudes que escapan a lo convencional. La Técnica de trabajo es muy reciente y se podemos plantear giros en investigaciones a partir de ésta herramienta. El apoyo no solo se brinda en el análisis sino también en la interpretación de los resultados que se obtienen.

Todas estas capacidades quedan dentro de un establecido sistema de calidad que permite un trabajo ordenado y confiable de alta calidad.

Contamos con equipos de investigación de nuestra institución y una red de investigadores de todo el país, con quienes resolvemos solicitudes que escapan a lo convencional.

06. Sistema de calidad

El Laboratorio de Espectrometría de Masas puso en funcionamiento un sistema de trabajo a través de las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) con la implementación de un Manual de la Calidad y Procedimientos Operativos Estándares (POES) que lo sustentan. Dentro del Sistema de Calidad propuesto como modalidad de trabajo se encuentran las calificaciones y certificaciones anuales de los equipos que están a cargo de la firma Jenck quien fue la proveedora de los equipos y es representante oficial de Shimadzu en Argentina.

Todos los calibrantes y actualizaciones de los servidores también están bajo procedimiento y son ejecutados por la empresa Jenck quien garantiza anualmente el buen funcionamiento de los equipos, así como también asiste en circunstancias de mantenimiento y prevención.

07. Equipo de trabajo

- Responsable del Laboratorio: Ana Clara Lorenzi
- Asesor área de proteómica: Carlos Figueroa
- Asesor área microbiología: Matías Cabeza
- Asesor área polímeros sintéticos: Mariana Yossen
- Asistente administrativo: Daniela Cibils

08. ¿Cómo contratar servicios?

El Laboratorio de Espectrometría de Masas pertenece al Sistema Nacional de Espectrometría de Masas (SNEM) quienes registran a través de un sistema de turnos el funcionamiento de nuestro laboratorio. Los interesados en solicitar análisis deben reservar su turno en la web www.espectrometria.mincyt.gob.ar, cualquiera fuere el análisis requerido.

Contamos un sistema de gestión de calidad con procedimientos estrictos que son enviados a los clientes para el seguimiento del protocolo de análisis ya sea en la preparación de la muestra, el envío de la misma y luego la recepción de los resultados.

Todos los documentos (POEs) pertenecen a un sistema de calidad tipo BPL y están preparados para guiar a los clientes desde el pedido del turno a la recepción del resultado.

. Empresas e institutos que trabajaron con nosotros

- Lafedar
- Eriochem
- Zelltek
- Molinos Agros
- Ciaty
- INLAIN
- IAL
- FCB Cátedra de Microbiología
- FCB Cátedra de Micología
- ISAL

Más información

Para conocer más detalle sobre nuestro equipamiento y servicios



Contacto

Universidad Nacional del Litoral
Centro para la Transferencia de los Resultados de
la Investigación - CETRI-Litoral
Edificio Jorge Sabato
Pasaje Martínez 2626 (S3002AAB). Santa Fe.
Argentina
+54 (0342) 4551211 - 4571234
cetri@unl.edu.ar

Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas
Laboratorio de Espectrometría de Masas
+54 (0342) 4575206 - int. 130 (lunes a viernes de
10.00 a 18.00 h.)

maldi-unl@fcb.unl.edu.ar