

|  |   |
|--|---|
| Projektszám: <b>89öu2</b>  | HUF 2 248 000<br>EUR 440                      |
| Pályázó neve: <b>MTA-PE Transzlációs Glikomika Kutatócsoport</b>   | Intézménye: <b>Pannon Egyetem</b>             |
| Projektpartner neve: <b>Klinikai Biokémiai Központ</b>   | Intézménye: <b>Innsbruck-i Orvosi Egyetem</b> |
| Pályázat címe: <b>Kapilláris elektroforézis – elektropray ionizációs tömegspektrométer kapcsolás modellezése és vizsgálata</b> |   |

**A projekt jellege: (kérjük bejelölni)**

- Workshop, konferencia
- Publikáció, tananyag
- **Kutatási együttműködés**
- Oktatási program

**Beszámoló/Eredmények**

A tömeg-spektrométerrel kapcsolt kapilláris elektroforézis kapcsolás (CE-MS) az egyik legigéretesebb bit-analitikai eljárás, ahol az elektropray ionizáció (ESI) domináns szerepet játszik. Az elektropray ionizációs interfész többféle funkcióval rendelkezik: i) fizikailag pozicionálja a CE kapillárist, ii) zárja az áramkört mind a CE mind az MS oldalon, iii) segíti a megfelelő csepp-párolgást, ami feltétlen szükséges a szabad ionon kialakulásához. Mivel az elektropray folyamata bonyolult, összetett folyamat, ezért Osztrák – Magyar kutatási együttműködés keretén belül vizsgáltuk az ESI tulajdonságait illetve gyakorlati alkalmazási lehetőségeit. Az osztrák csoport vizsgálta a CE-ESI-MS kapcsolás kísérleti oldalát, különös tekintettel az ún. mennyiségi proteomikára. A magyar csoport numerikus áramlási modellek segítségével vizsgálta a kapilláris elektroforézis – elektropray ionizációs tömegspektrométer kapcsolás tulajdonságait, minimálisra csökkentve a szükséges fizikai kísérletek számát, melyek idő és erőforrásigénye jelentős tényező.

A hatékony közös munka eredménye képen egy szakcikket nyújtottunk be közlésre egy rangos nemzetközi lektorált folyóirthez, melyben a rendkívül kis térfogatú porózus ESI hegyet alkalmazó kapilláris elektroforézis – tömegspektrométer kapcsolás segítségével vizsgáltuk SILAC jelölt élesztő törzseket. A munka során kiemelkedően sok foszfolipidet és egyéb módosított peptidet (acetilált, deaminált, stb.) azonosítottunk ún. minta koncentráció segítségével nélkül. Az általunk kifejlesztett stratégia számtalan előnnyel rendelkezik az egy lépéses emésztésnek és az integrált, teljesen automatizált CE-MS mérésnek köszönhetően. Az eljárás rendkívül kis mintamennyiséget (kb. 40 nL) igényel, így a minták vizsgálata könnyen megismételhető illetve ellenminta tárolására van lehetőség.

A modellezés és szimuláció alprojekt az elektropray ionizáció hidrodinamikai leírását célozza, melyben az ún. Taylor kúp kialakulását vizsgáltuk numerikus áramlási (CFD) módszerek alkalmazásával. A modellezés során – a legegyszerűbb esetben – feltételeztük, hogy egy egyfázisú rendszer áramlik a nagyfeszültségű tér hatására kialakult elektrooszmózis miatt. A jelenség leírására az általánosan használt Navier – Stokes egyenlet módosított alakját használtuk. Az összefüggés a folytonossági tétel alapján a tömbfázisban a sebesség tér eloszlást írja le az idő függvényében és nem az egyéni részecskék pályáját számolja.

Publikációs jegyzék: K. Faserl, L. Kremser, H. Lindner, M. Müller, D. Teis, L. Hajba, A. Guttman: New Advances in Quantitative Proteomics: Capillary electrophoresis – mass spectrometry using a neutral surface coated column with an integrated porous sprayer, LCGC Europe (2015), Submitted

|  |  |  |
|--|--|--|
| Project number: <b>89öu2</b>   |  | HUF 2 248 000<br>EUR 440                         |
| Applicant name: <b>MTA-PE Translational Glycomics Research Group</b>   |  | Institution: <b>University of Pannonia</b>       |
| Partner name: <b>Center for Clinical Biochemistry</b>  |  | Institution: <b>Innsbruck Medical University</b> |
| Project title: <b>Erstellung von Modellen zur Kopplung von Kapillarelektrophorese mit Massenspektrometrie mittels Elektrospray-Ionisation (CE-ESI-MS) und deren experimentelle Evaluierung</b> |  |  |

**Project type:**

- Workshop, conference
- Publication, educational material
- Research project
- Educational program

**Results / Report**

Capillary electrophoresis coupled with mass spectrometry (CE-MS) is one of the most promising bio-analytical methods, wherein electrospray ionization (ESI) plays dominant role. ESI interfaces in CE-MS have various roles: i) physically position the CE capillary close to the MS orifice, ii) close the electrical circuit for both the CE and ESI sides and iii) support the proper droplet formation required for creation of free, gas phase ions. Since the entire ESI process is very complex, a joint research program was conducted in order to investigate the characteristics of the ionization phenomena and its practical implications. The Austrian group focused on the experimental evaluation of CE-MS coupling using ESI with special emphasis on quantitative proteomics. While the Hungarian group developed numerical simulation models to help effective evaluation of the integrated CE-MS hyphenation applying ESI with a minimum number of actual experiments.

As a first achievements of this close collaboration a peer-reviewed journal article is being published on ultralow flow CE-MS analysis using an integrated porous sprayer for relative quantification of SILAC labeled yeast strains. A very high number of phosphopeptides and other modified peptides (e.g. acetylated, deaminated, etc.) were identified and quantified without the need of any sample enrichment strategies. This novel approach offers several substantial benefits such as the workload of the method is strongly reduced due to the single in-solution digestion step and the CE-MS analyses steps were fully automated. Because of the small sample consumption (c.a. 40 nL) the samples could be easily reanalyzed or stored for later use.

Modeling and simulation part focused on the electro-hydrodynamic description of the formed so called Taylor cone by computational fluid dynamics (CFD). In a simple case scenario, the modeled device was assumed to be a single-phase system, where a liquid was flowing in a capillary due to the electroosmotic flow generated by the applied electric field. This phenomenon was modeled using the modified ( $\rho eE$  term is added to the RHS of the original equation) Navier-Stokes equation of fluid motion, which is the generally used continuum mechanics model for describing the flow of incompressible fluids. Our approach described the velocity flow field as a function of time, rather than the exact position of any part of it, i.e., it treats the flow as a bulk.

Publication: K. Faserl, L. Kremser, H. Lindner, M. Müller, D. Teis, L. Hajba, A. Guttman: New Advances in Quantitative Proteomics: Capillary electrophoresis – mass spectrometry using a neutral surface coated column with an integrated porous sprayer, LCGC Europe (2015), Submitted

## **Abschlußbericht**

### **Weitere Fragen zu den Ergebnissen:**

#### **1. Nutzung und Verbreitung der Ergebnisse:**

Welchen konkreten Nutzen konnten Sie und Ihr Kooperationspartner aus dem Projekt gewinnen. Bitte denken Sie insbesondere an Publikationen, Experimente, gemeinsame Seminare, Sommerschools und/oder an eine anderweitige Umsetzung in die Praxis.

#### **2. Durchführung:**

Welche konkrete Änderungen gegenüber der Planung ergaben sich hinsichtlich Inhalte und Mitarbeit/Anzahl der Teilnehmer während des Projektverlaufes?

#### **3. Bewertung:**

Bitte führen Sie besonders positive, aber auch negative Beobachtungen und Erfahrungen an. Ev. langfristige Auswirkungen Ihres Projektes?

#### **4. Perspektiven:**

Hat sich eine Fortführung der Kooperation ergeben?

- a. Welche geplante Fortführung gibt es?
- b. Welche konkrete Fortführung gibt es?

#### **5. Verbesserungsvorschläge:**

Nenne Sie uns, Bitte, Verbesserungsvorschläge, wie Sie Ihre Arbeit oder wie wir unseren Service besser gestalten könnten?

Datum:

---

Antragsteller (Unterschrift)

---

Projektpartner (Unterschrift)