

Massespektrometri

FORSIDE / GLOSSARY ITEM / MASSESPETROMETRI

[← Back to Glossary Index](#)

Massespektrometri er en metode, der bestemmer massen af atomer og molekyler. Det er en meget anvendelig metode, som blandt andet kan bruges til at bestemme massen af organiske forbindelser, som er alt for små, til at vi kan veje dem med en vægt. Det kan f.eks. være **kulhydrater**, **lipider**, **proteiner** og **DNA**. Med avancerede former for massespektrometri kan forskere endda bestemme rækkefølgen af **aminozyrer** i et protein – sagt med andre ord, er det muligt at identificere proteinsekvenser med massespektrometri.

Teknikken bag

Det grundlæggende princip bag massespektrometri er, at en prøve med molekyler sendes igennem et massespektrometer, hvor den bliver udsat for et magnetfelt. Magnetfeltet får molekylerne til at accelerere. Hvor hurtigt molekylerne accelererer, afhænger af hvor tunge de er. Sammenhængen mellem kraft, acceleration og masse hedder Newtons 2. lov. Den siger, at kraften (F) er lig med massen (m) ganget med accelerationen (a).

Faktaboks

Sammenhængen mellem kraft (F), masse (m) og acceleration (a) kan beskrives med Newtons 2. lov. Den kraft, som en genstand bliver påvirket med, er lig med genstandens masse ganget med dens acceleration.

Newtons 2. lov

$$F = m \cdot a$$

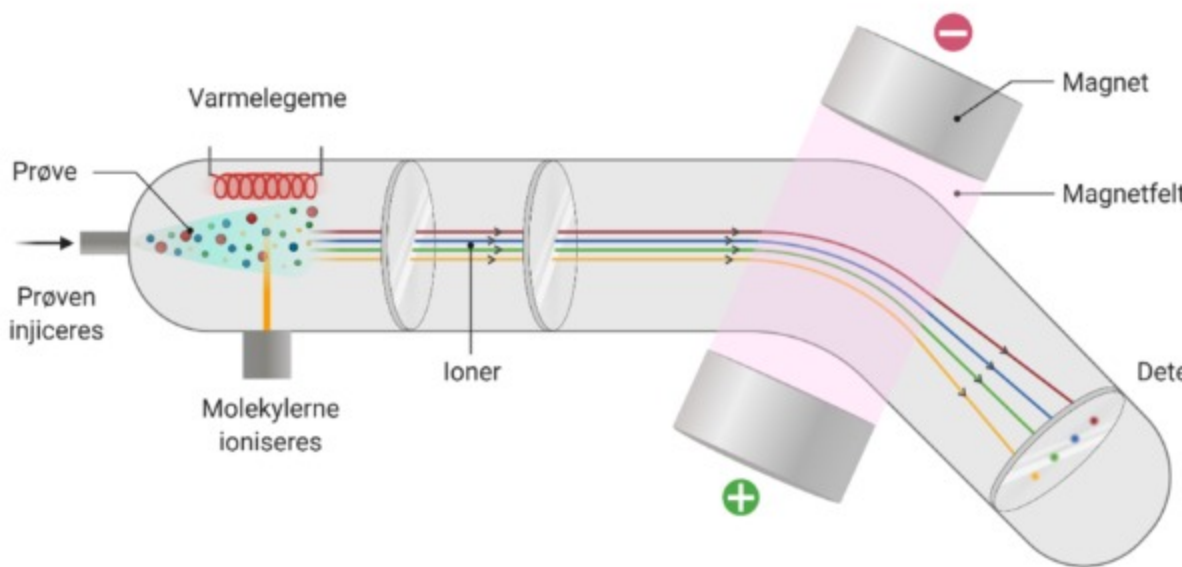
Før magnetfeltet kan påvirke molekylerne i prøven, er de nødt til at have en ladning. Hvis molekylerne ikke har en ladning, vil de bare flyve direkte igennem magnetfeltet uden at blive påvirkede. Det nytter ikke noget, for magnetfeltets påvirkning er absolut nødvendig for at kunne bestemme massen af molekylerne. Molekyler er normalvis ikke ladede, fordi de har det samme antal elektroner som protoner. Hvis molekylerne skal blive ladede, er de nødt til at have et ulige antal elektroner og protoner. Det kan opnås, ved at molekylerne mister en elektron. Den proces kaldes også ionisering, fordi molekylerne bliver til ioner.

Ionisering

Der findes forskellige metoder til at ionisere molekylerne. Molekylerne kan f.eks. blive ioniserede ved at bombardere dem med elektroner. Når elektronstrålen rammer en elektron i molekylerne, kan den skubbe elektronen af. Hvis molekylerne mister én elektron, bliver de ioniserede og får ladningen +1. De ladede molekyler kan nu blive påvirket af magnetfeltet.

Når de ioniserede molekyler passerer gennem magnetfeltet, vil de blive afbøjede. På figur 1 kan du se en tegning af molekylernes vej igennem et massespektrometer. Molekylernes afbøjning afhænger af deres masse. Hvis molekylerne er lette, vil de accelerere meget, og så vil deres vej gennem massespektrometret blive meget afbøjet. Hvis molekylerne er tunge, vil de kun accelerere lidt, og så vil de ikke blive særlig meget afbøjede. Det letteste molekyle på figur 1 er den gule, som afbøjer mest, mens det tungeste molekyle er den røde, som afbøjer mindst.

Massespektrometri



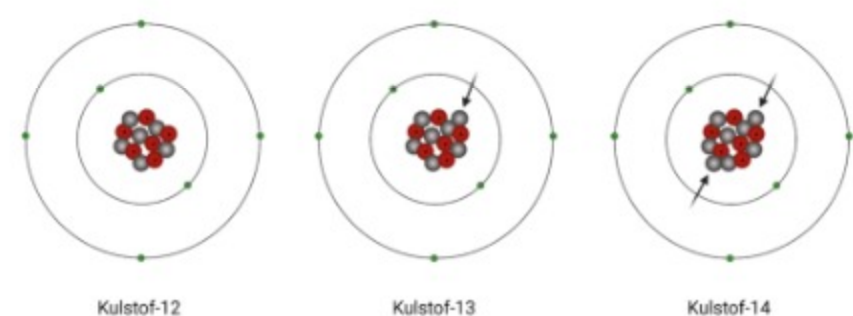
Figur 1: Massespektrometri. En prøve med molekyler sendes ind i massespektrometret. Molekylerne bliver ioniserede af en elektronstråle og bliver opvarmede, så de kommer på gasform. Inde i massespektrometret bliver ionerne påvirkede af en kraft fra et magnetfelt, som accelererer og afbøjer dem. Newtons 2. lov, $F=m \cdot a$, beskriver sammenhængen mellem kraft (F), masse (m) og acceleration (a). Magnetfeltets kraft er konstant, så ionernes acceleration afhænger af deres masse. De tungeste ioner accelererer mindst (rød), og de letteste ioner accelererer mest (gul). Ionernes acceleration måles med en detektor, hvorefter deres masse kan bestemmes.

Alle de afbøjede molekyler bliver til sidst målt af en detektor, som måler deres acceleration. Når acceleration (a) er målt, kan Newtons 2. lov bruges til at bestemme massen (m) af molekylerne – se igen formelen for Newtons 2. lov. Kraften (F) fra magnetfeltet er en kendt størrelse, for forskeren indstiller selv magnetfeltets kraft på massespektrometret inden forsøget.

Et eksempel på anvendelse af massespektrometri

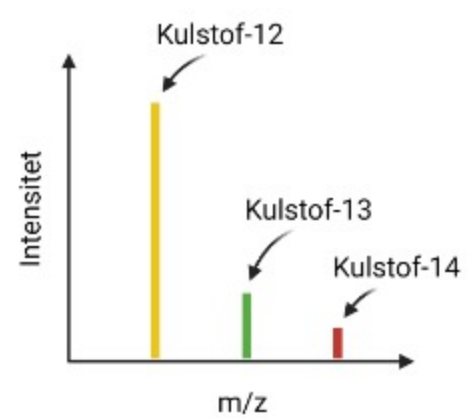
Massespektrometri kan bruges til mange forskellige formål. Metoden kan for eksempel bruges til at bestemme mængden af forskellige isotoper i en prøve. Isotoper er atomer, som har lige mange protoner, men et forskelligt antal neutroner. Antallet af neutroner i et atom har indflydelse på, hvor meget det vejer. Vi kan bruge kulstof, der har 6 protoner, som et eksempel. Kulstof-12 er den hyppigst forekommende kulstofisotop på jorden, men der findes også andre kulstofisotoper. For eksempel kulstof-13, der udgør omkring 1% af jordens kulstof, og kulstof-14 som findes i meget små mængder. Af de tre kulstofisotoper er kulstof-12 den letteste, fordi den har 6 neutroner, og kulstof-14 er den tungeste, fordi den har 8 neutroner. På figur 2 kan du se en tegning af de tre kulstofisotoper.

Kulstofisotoper



Figur 2: Tre forskellige kulstofisotoper som kan identificeres med massespektrometri. De tre isotoper har forskellig masse, fordi de har et forskelligt antal neutroner i atomkernen. På figuren er neutronerne grå, og de ekstra neutroner i kulstof-13 and kulstof-14 er markeret med pile. Protonerne i isotoperne er røde, og elektronerne er grønne. I et massespektrometer vil kulstof-12 accelerere mest og blive mest afbøjet, fordi det er den letteste isotop. Kulstof-14 vil accelerere mindst og blive mindst afbøjet i massespektrometret, fordi det er den tungeste isotop. Forskere kan bruge forholdet mellem kulstof-14 og kulstof-12 i et organisk materiale til at bestemme, hvor gammelt det er.

Massespektrum



Figur 3: Massespektrum for tre kulstofisotoper. Massen divideret med ladningen (m/z) kan aflæses på første-aksen. Hvis ladningen af isotoperne er +1, er m/z det samme som massen. Intensiteten af hver isotop kan aflæses på anden-aksen. Den fortæller noget om, hvor mange der er af hver slags.

Proteinsekventering med massespektrometri

Massespektrometri kan bruges til at bestemme rækkefølgen af aminosyrer i et protein, kaldet proteinsekvensen. På figur 4 kan du se, hvordan man bestemmer en proteinsekvens med massespektrometri.

Proteiner fragmenteres til peptider

Før proteinet kan indsættes i massespektrometret, skal det klippes i mindre stykker. Det gøres ofte med trypsin, som er et **enzym**, der klipper proteiner over. De små peptinstykker kaldes peptider, og de kan indsættes i massespektrometret. Massespektrometret laver et massespektrum for hvert peptid. Dét massespektrum sammenligner forskerne med massespektra fra en kæmpestor database for at finde et match, og på den måde regne ud hvordan peptidet er opbygget.

Massespektrum database

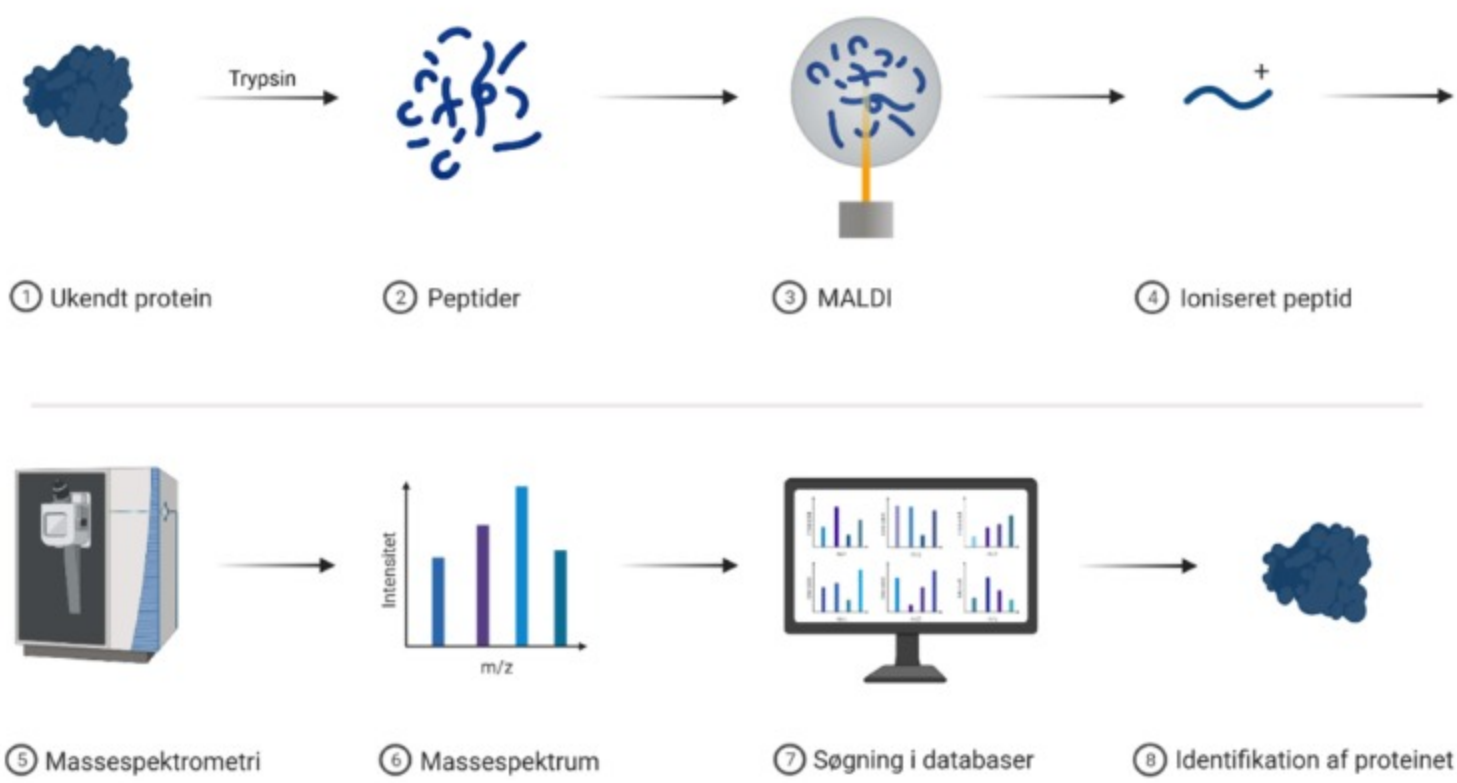
På figur 4 kan du se et eksempel på et massespektrum i trin 6, som bruges til at søge i en database i trin 7. Den store database består af massespektra, som en computer har lavet ud fra en genom-database. Computeren har taget alle DNA-sekvenserne i genom-databasen og omdannet dem til proteinsekvenser ved hjælp af proteinsyntesen også kaldet [det centrale dogme](#). Derefter har computeren regnet ud, hvordan massespektrummet for hvert peptid i proteinerne vil se ud. Alle disse potentielle massespektra er samlet i en database, som forskerne kan søge i. Når forskerne har fundet et match mellem deres peptids massespektrum og et massespektrum fra databasen, kan de identificere sammensætningen af aminosyrer i deres peptid. Det matchende massespektrum fra databasen har en computer lavet ud fra et helt bestemt peptid.

Aminosyrerne i forskernes eget peptid, må være de samme, og det er derfor, at forskerne kan identificere dem. Når forskerne har gjort det for ét peptid, skal de også gøre det for alle de andre peptider i proteinet. Husk på, at de startede med at klippe proteinet i mindre stykker for at kunne indsætte det i massespektrometret. Når forskerne har identificeret aminosyrerne i alle peptiderne, kan de samle alle puslespilsbrikkerne og bestemme hele proteinsekvensen.

Ionisering

En meget vigtig del af massespektrometri er at ionisere molekylerne, så de kan påvirkes af magnetfeltet. For at kunne bestemme en proteinsekvens med massespektrometri skal proteinet ioniseres, uden det bliver fuldstændig ødelagt. Hvis proteinet bliver ødelagt og splittet til aminosyrer under ioniseringen, bliver aminosyrerne i alle peptiderne målt i tilfældig rækkefølge. Så kan proteinsekvensen ikke identificeres. Forskere har udviklet forskellige metoder, som kan ionisere proteinerne på en skånsom måde. En af disse metoder hedder MALDI, som står for Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation. Med MALDI bliver peptiderne lagt ind i en form, som kan absorbere lys. Når en laser rammer formen, bliver peptiderne ioniserede og slipper fri af formen. På figur 4 kan du se hele workflowet for, hvordan en proteinsekvens identificeres med massespektrometri.

Massespektrometri workflow



Figur 4: Workflowet for proteinsekventering med massespektrometri. I trin 1 til 2 bliver proteinet klippet i stykker til mindre peptider med enzymet trypsin. I trin 3 bliver peptiderne ioniseret af en laser i en proces kaldet Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation (MALDI). I trin 4 til 5 bliver de ioniserede peptider indsat i massespektrometret. I trin 6 dannes et massespektrum for hver peptid, som sammenlignes med computer-lavede massespektra fra en database i trin 7. Når forskerne har fundet matchende massespektra i databasen for alle peptiderne i deres protein, kan de til sidst samle puslespillet og identificere proteinsekvensen i trin 8.

Alle figurer er lavet med Biorender.com

[← Back to Glossary Index](#)