

MALDI-TOF/TOF Self User Training

2013. 12. 31

Jinyoung Kim

UNIST Central Research Facilities (UCRF)





UCRF Self-user System

1. UCRF 회원가입 및 출입신청

- UCRF homepage : <http://ucrf-eng.unist.ac.kr/main/main.php>
- 출입신청 담당자 (유혜정 B122, 4038) 방문 → 신청서 작성 → 담당교수 서명
→ 담당자에게 제출

2. Log in system (True Café)

- True Café와 장비 프로그램이 충돌하여 MALDI-TOF 장비는 True Café를 사용하지 않습니다.

3. Data Upload & Download System (Core FTP)

- 분석 PC 보호차원에서 모든 Self-user 및 의뢰자 사용 (강제)
- Core FTP 설치후 IP, ID, PW, Port 정보 입력 후 사용
- USB없이 본인의 PC에서 결과를 바로 다운 받아 볼수 있음.
- 용량초과시 자동삭제 기능 → 반드시 본인 Data 관리는 철저히 할 것.

4. Logbook

- 법적 감사자료
- 새벽에 측정이 끝나는 Self-user를 위한 메모 가능



Data Upload & Download System

외부 PC 접속시

Site Manager dialog box for external PC connection. The 'Host / IP / URL' field is highlighted with a red box and contains '10.24.9.42'. The 'Port' field is also highlighted with a red box and contains '22'. Other fields include Site Name (New_Site), Username (sophia), Password (masked), Timeout (60), Retries (66), and Connection (FTP).

UCRF 내부 PC 접속시

Site Manager dialog box for UCRF internal PC connection. The 'Host / IP / URL' field is highlighted with a red box and contains '100.100.100.100'. The 'Port' field is also highlighted with a red box and contains '22'. Other fields include Site Name (New_Site), Username (sophia), Password (masked), Timeout (60), Retries (66), and Connection (FTP).

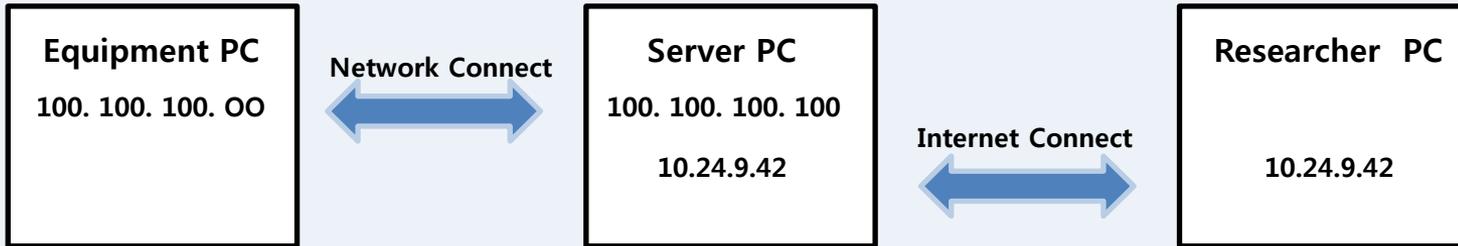
Common ID : sophia

Common PW : 0687

절대 개별 ID와 PW를 만들지 말 것.



Data Upload & Download System



Core FTP LE - 10.24.9.42:22

File View Sites Manage Help

250 CWD command successful. "/" is current folder.
 PWD
 257 "/" is current directory.
 PASV
 227 Entering Passive Mode (10,24,9,42,146,187).
 LIST
 Connect socket #1020 to 10.24.9.42, port 37563...
 150 Opening data conn
 226 File sent ok
 Transferred 4,523 byte: 분석 PC or My PC

Server PC

Filename	Size	Date
..		09/13/13 09:07
Fax		08/13/13 11:28
Malvern Instruments		09/19/12 10:43
SAP		10/03/13 17:24
Scanned Documents		08/13/13 11:28
경남은행		08/07/13 15:49
Self 교육.xlsx	14 KB	09/26/12 17:59
XRF_data_보정.xls	112 KB	12/27/12 13:22
거래내역조회_2009_출력.pdf	45 KB	08/07/13 16:13
동위원소실가동률계산_박지혜.xlsx	32 KB	04/26/13 18:00

Filename	Size	Date
<..>		
..		
Company		10/04/13 11:...
Labs		10/06/13 20:...
Program		09/02/13 12:...
toengineer		01/30/13 10:...
touser		10/04/13 15:...
UCRF		10/02/13 17:...
UCRF 로그복관리		10/01/13 14:...
AFM 스캐너수리 요구내역.xlsx	0	04/27/13 15:...



A Record of Equipment Use

Approval	Manager

Equipment			
University or Company			
Client	Department <small>(Supervisor)</small>		Position
	Name		Contact number
	E-mail	<small>(Please write the contact number and e-mail address in case of an outside client)</small>	
User	Department <small>(Supervisor)</small>		Position
	Name		Contact number
Date	From () Month - () Day - () Year to () Month - () Day - () Year (Total use time : hours , [: - :] minutes		
Sample		No. of samples	
Details about use of equipment			
Details about use of hazardous materials			
Equipment state (problem and repair)	Cleanliness	Good	Poor

- 교수님 성함과 본인 이름, 연락처 기재 요망 (실험실번호 X, 개인연락처)
- 시간은 True Café 사용을 하지 않으므로 본인이 사용한 시간 확인 후 기재 요망
- 장비 이상 발견 시, 장비 상태에 기재 또는 담당자에게 즉각 연락 바람.
- 의도성이 있는 로그북 미작성자의 경우 경고 후 재발할 경우, 3개월 사용 금지
- 담당자 서명란에 사인 금지



Sample Request

- 의뢰 시 시료양은 극미량도 가능하며, 아래와 같은 샘플 정보 동봉 요망

본인이름 : 홍길동

- 담당교수 : 000

- 연락처 : 010-0000-0000

- 이메일 : hongkildong@unist.ac.kr

- 샘플 녹일 수 있는 solvent : Chloroform

- 매스 측정 범위 : 0 ~ 3,000

- 매트릭스 : 2,5-DHB

Name : Hong Kil Dong

- Professor : 000

- Phone : 010-0000-0000

- E-mail : hongkildong@unist.ac.kr

- Dissolve solvent : Chloroform

- Mass range : 0 ~ 3,000

- Matrix : 2,5-DHB

- Self-User의 경우, Target plate와 matrix는 따로 준비하여 사용 바랍니다.



제1장 총칙

제1조(목적) 이 지침은 「연구지원본부 운영규정」제9조에 의하여 울산과학기술대학교 연구지원본부(이하 “연구지원본부”라 한다)의 운영에 필요한 세부 사항을 정함을 목적으로 한다.

제2조(적용범위) 이 지침은 본 대학교의 교수, 대학원생, 학부생, 연구원 및 연구지원본부 수시 출입자, 그리고 장비 담당자에게 적용된다.

제3조(용어의 정의) 이 지침에서 사용하는 용어의 정의는 다음 각 호와 같다.

1. “자율 사용”이라 함은, 본 대학교에 소속된 교직원 또는 학생 중에서 연구지원본부에서 정한 절차를 따라 자율 사용 자격을 얻은 자가, 장비담당자의 도움 없이 독립적으로 장비를 이용하는 것을 말한다.
2. “자율 사용자”라 함은, 제1호의 “자율 사용”에 관한 자격을 얻은 자를 말한다.
3. “분석 및 공정 의뢰”라 함은, 연구지원본부의 공용장비를 이용하여 시험분석 또는 공정의 결과를 얻기 위하여 장비담당자에게 일련의 분석 및 공정 과정을 의뢰하는 것을 말한다.

제2장 운영관리

제4조(출입관리) ① 연구지원본부의 각 실 중 출입 제한이 있는 실험실의 출입 권한을 얻기 위해서는 신청서를 작성하여 지도 교수와 연구지원본부의 담당자의 승인을 득한 후 등록해야 한다.

- ② 장비 유지관리 및 보수의 목적으로 출입하고자 하는 경우, 담당자의 동행 또는 승인 하에 출입해야 한다.
- ③ 출입자 안전 교육이 필요한 실험실은 실별로 정한 별도의 교육을 선행하여 실시한 후 출입을 허가한다.

제5조(분석 및 공정 의뢰) ① 연구지원본부에서 지원 가능한 분석 및 공정에 대한 의뢰는 의뢰자와 장비 담당자간 사전에 직접 협의한다.

- ② 분석 및 공정을 의뢰하는 자는 담당자가 장비 또는 시설의 정상적인 작동과 안전을 유지하는데 필요한 정보 및 연구 내용을 파악할 수 있도록 협조하여야 한다.
- ③ 분석 및 공정 서비스는 선착순 응대하는 것을 기본 방침으로 하며, 장비 점검 및 수리 등 특이사항 발생 시에는 장비 담당자의 판단에 따라 의뢰 내용을 유보 또는 취소할 수 있다.
- ④ 의뢰자로부터의 특별한 요청이 없을 경우, 각 담당자는 의뢰 결과를 통보한 날로부터 7일을 초과한 시점에 시료를 폐기할 수 있고 3개월을 초과한 시점에 분석 및 공정 서비스 결과물 또는 결과 데이터를 폐기할 수 있다.

제6조(자율 사용 자격) ① 자율 사용 자격을 취득할 수 있는 자는 본 대학교에 소속된 대학원생, 연구원, 교수, 그리고 지도 교수의 승인을 얻은 학부생으로 제한한다.

② 자율 사용 자격은 각 실험실 별로 정한 조건(안전 교육, 장비 사용 교육, 평가 등)을 만족시키는 자에게 부여한다.

③ 자율 사용자 명단은 6개월마다 갱신하여 연구지원본부 홈페이지에 공지된다.

④ 장비 사용 최소 횟수(최근 6개월간 10회) 미만일 경우 또는 장비 담당자의 판단에 의하여 자격이 취소될 수 있으며, 자격이 취소되었을 경우 담당자와 협의 후 재교육을 통하여 자격 부여가 가능하다.

제7조(자율 사용자의 의무) ① 자율 사용자는 장비 사용시 교육 받은 내용을 준수하고, 특이사항 발생시 담당자와 반드시 협의하며 연구 장비·시설의 작동과 안전 유지에 협조하여야 한다.

② 자율 사용자는 해당 장비의 이용기간 동안 본인의 부주의로 발생한 사고, 기기 손상, 고장 및 분실 등에 대해 책임을 지고 보상한다.

③ 장비 사용 시작 시점의 24시간 전에 예약한 장비 사용 예약의 취소 기한은 예약한 사용 시간의 시작 시점으로부터 12시간 전 까지이며, 예약 취소를 원할 때는 반드시 장비 담당자에게 정규근무시간(평일 09:00~18:00) 중에는 전화 또는 메일로, 정규 근무시간이 아닌 때에는 메일로 연락을 취해야 한다.

④ 장비 사용 시작 시점으로부터 24시간 전에 예약한 장비 사용 예약의 취소 기한은 예약한 사용 시간의 시작 시점이 되기 전까지이며, 예약 취소를 원할 때는 반드시 장비 담당자에게 정규근무시간(평일 09:00~18:00) 중에는 전화 또는 메일로, 정규 근무시간이 아닌 때에는 메일로 연락을 취해야 한다.

⑤ 야간 또는 장비 담당자의 정규 근무시간(평일 09:00~18:00)이 아닌 때에 장비 사용 후에는 소등·출입문단속·주변 정리 등을 확인하고 퇴실한다.



제8조(자율 사용 제한) ① 연구지원본부는 사용자 다수의 편의와 쾌적한 연구환경 유지 및 사용자의 장비 사용 의식 수준 제고를 위하여 사용자에게 제재를 가할 수 있다.

② 제1항의 제재 기준은 「별표1.공용장비 사용자 벌점 부과 및 조치 기준」에 따른다.

제9조(시험분석료 청구) ① 분석 및 공정 의뢰자 또는 자율 사용자에게 분석 및 공정 종료 후 익월에 시험분석료 청구서를 발송하며, 시험분석료는 계좌로만 납입할 수 있다.

② 분석 및 공정 의뢰자와 자율 사용자는 「연구지원본부 운영규정」제8조에 정한 시험분석료 기준에 의하여 청구되는 금액을 소정의 절차를 따라 납부할 의무를 가진다.

③ 「연구지원본부 운영규정」제8조에 정한 시험분석료 기준은 의뢰 또는 사용 전에 의뢰자 또는 사용자에게 제공될 수 있다.

④ 최초 의뢰 또는 사용시에는 사업자 등록증 및 통장 사본을 연구지원본부 행정실에 송부하여야 한다.

⑤ 사업자 등록증의 변경이 있을 시 미리 행정 담당자에게 변경 사실을 고지하고 사본을 송부하여야 한다.

⑥ 시험분석료 청구서는 연구지원본부 행정실에서 발급하며, 청구서 송부 시점으로부터 1개월 이내에 납부하여야 한다. 납부가 연체되는 경우, 연구지원본부는 해당 사용자 및 연구실에 서비스 지원을 중단할 수 있다.

⑦ 분석 및 공정 의뢰자의 실수로 인해 분석 및 공정 과정에 소요되는 시간이 증가한 경우 시험분석료를 추가로 청구할 수 있다.

제10조(기타) 이 지침의 시행에 필요한 기타 세부 사항은 각 실별 규정에 따른다.



UCRF 벌점 부과 기준

순번	벌점 부과 내용	벌점
[장비 사용 자격]		
1	해당 장비에 대하여 직접 사용이 허가 되지 않은 사용자가 기기를 사용	5
2	장비 예약하지 않고 장비 사용	3
3	장비 예약자 본인이 아닌 자가 장비를 사용	3
[장비 사용 예약]		
4	허용시간 이외의 시간에 장비 예약 및 사용	1
5	장비 예약시간을 초과하여, 예약시간 종료 전에 초과시간에 대한 예약 없이 장비 사용	1
6	장비 예약 취소 사실 통보 없이 해당 시간에 장비 사용하지 않은 경우	3
7	「연구지원본부 운영지침」제7조의 내용을 기준으로, 장비 예약 취소 기한이 지나서 예약을 취소한 경우	1
8	예약 후 장비담당자에게 통보하지 않고 기기 사용	1
[부주의한 행동]		
9	장비 사용 중 허용되지 않은 기능 조작	3
10	장비 사용 중 장비의 이상이나 고장 발견 후 담당자에게 즉시 고지하지 않은 경우	3
11	사용자 부주의로 기기 손상 및 고장	5
12	사용자 부주의로 장비 부속품 분실 또는 파손	5
13	장비 사용 후 장비사용일지를 작성하지 않거나 허위 작성 또는 일부만 작성	1
14	담당자가 장비 또는 시설의 정상적인 작동과 안전을 유지하는 데에 반드시 파악해야할 시료의 정보를 제공하지 않아 장비 손상 및 고장을 초래	3
15	야간 또는 장비 담당자의 정규 근무시간이 아닌 때에 장비 사용 후 소등, 출입문단속, 주변 정리 등을 확인하지 않고 퇴실	3
16	유독 물질 및 가스의 누출 또는 화재 발생의 위험을 초래	5
17	타인의 개인물품(분석 및 공정 소모품 및 기자재)을 사전 동의 없이 사용하거나 훔치는 행위	5



UCRF 조치기준

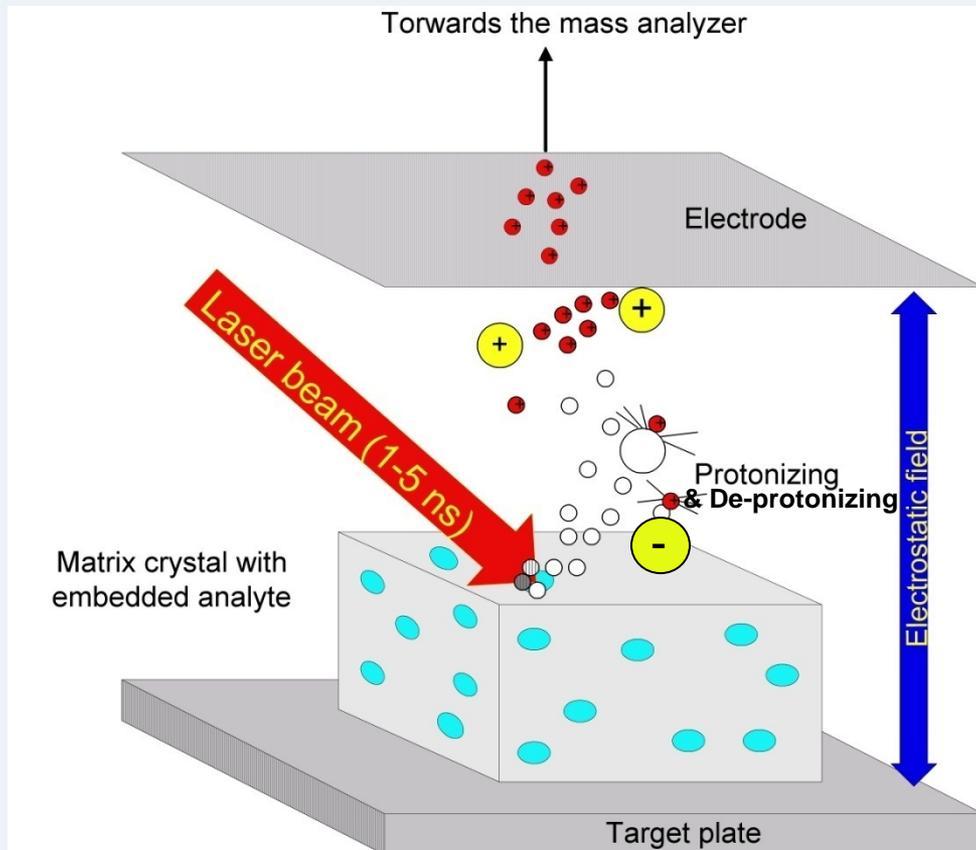
구 분	별점	조 치 내 용
(장비 사용자 개인)		
개인에게 부과된 벌점 합산	5점 이상	장비 담당자가 사용자 및 지도교수에게 이메일로 통보(벌점 8점 이상일 시 장비 사용이 3개월간 금지됨을 공지)하고 해당 사용자의 벌점 내역을 기기실에 게시
	8점 이상	장비 담당자가 사용자 및 지도교수에게 사용자의 해당 장비 사용이 3개월간 금지되고 재교육 후 사용이 가능함을 이메일로 통보하고 지도교수에게 공문 발송, 해당 사용자의 벌점 내역을 기기실에 게시
(사용자 소속 연구실)		
동일 연구실에서 동일 장비에 대하여 연구실 소속 학생들에게 부과된 벌점 합산	12점 이상	장비 담당자가 지도교수의 해당 사육사에게 벌점 15점 이상일 시 해당 연구실의 해당 장비 사용이 3개월간 금지됨을 이메일로 통보
	15점 이상	장비 담당자가 지도교수에게 해당 연구실의 해당 장비 사용이 3개월간 금지됨을 이메일로 통보, 지도교수에게 공문 발송, 해당 사용자의 벌점 내역을 기기실에 게시
동일 연구실에서 연구지원본부 전체 장비에 대하여 연구실 소속 학생들에게 부과된 벌점 합산	20점 이상	연구지원본부에서 지도교수와 소속 학생에게 벌점 25점 이상일 시 해당 연구실의 연구지원본부 전체 장비 사용이 1개월간 금지됨을 이메일로 통보
	25점 이상	연구지원본부에서 지도교수와 소속 학생에게 해당 연구실의 연구지원본부 전체 장비 사용이 1개월간 금지됨을 이메일로 통보, 지도교수에게 공문 발송, 해당 벌점 내역을 연구지원본부 게시판에 게시



What is MALDI

Matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI) is a soft ionization technique used in mass spectrometry, allowing the analysis of biomolecules (biopolymers such as DNA, proteins, peptides and sugars) and large organic molecules (such as polymers, dendrimers and other macromolecules), which tend to be fragile and fragment when ionized by more conventional ionization methods. It is similar in character to electrospray ionization in that both techniques are relatively soft ways of obtaining large ions in the gas phase, though MALDI produces many fewer multiply charged ions.

MALDI is a two step process. First, desorption is triggered by a UV laser beam. Matrix material heavily absorbs UV laser light, leading to the ablation of upper layer (~micron) of the matrix material. The hot plume produced during ablation contains many species: neutral and ionized matrix molecules, protonated and deprotonated matrix molecules, matrix clusters and nanodroplets. **Second, the analyte molecules are ionized (more accurately protonated or deprotonated) in the hot plume.** Ablated species may participate in the ionization of analyte, though the mechanism of MALDI is still debated.



Matrix Properties*:

- 1) Mix well with analyte, and separate molecules of analyte.
- 2) No chemical reaction and no adduct formation with analyte
- 3) Absorbption of UV
- 4) Desorption upon laser irradiation
- 5) Support ionization

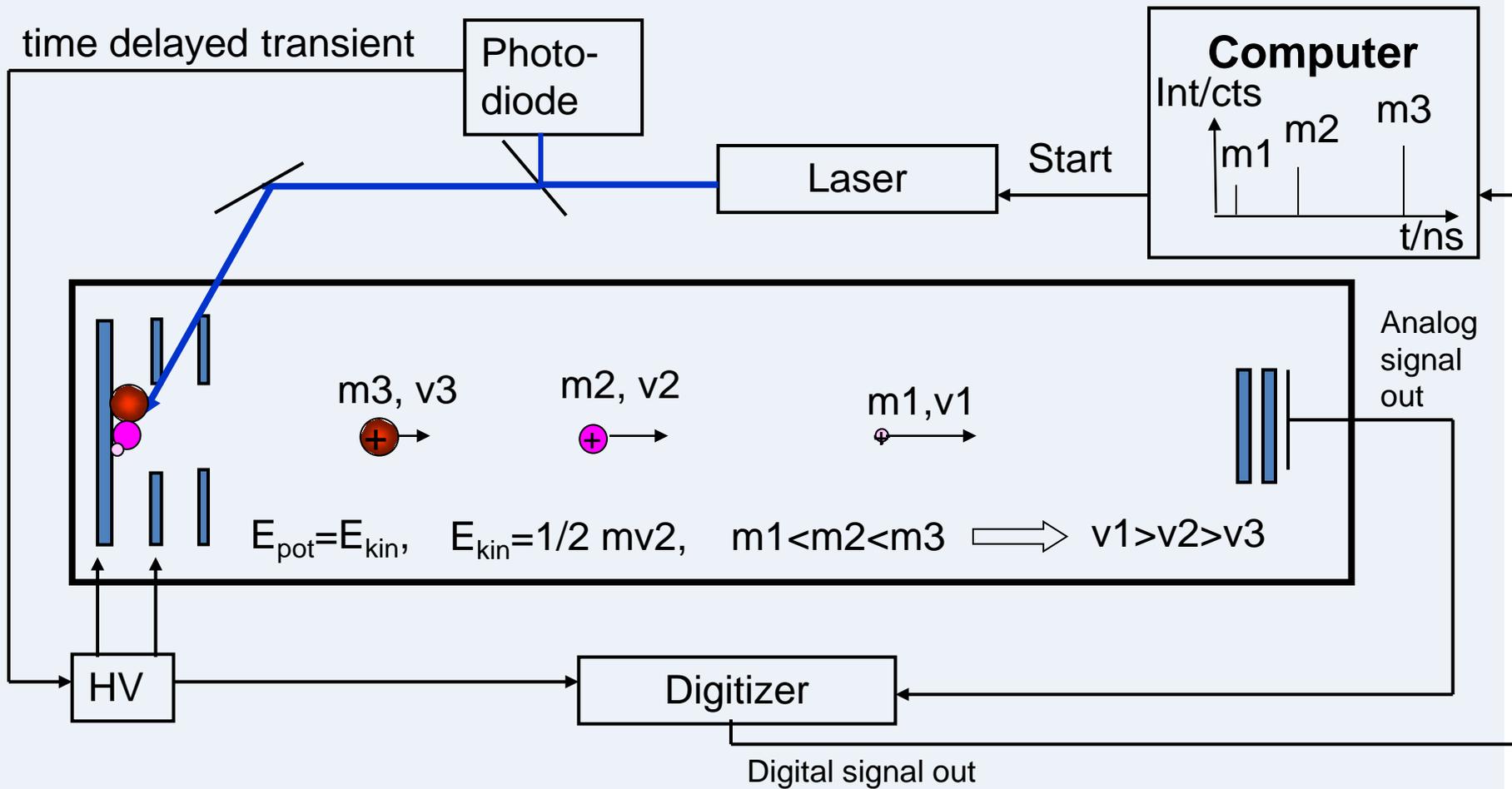
- Michael Karas, Doris Bachmann and Franz Hillenkamp; Anal. Chem. 1985, 57, 2935-2939.
- Ronald C. Bavis and Brian Chait; Rapid Com. In Mass Spectr. Vol.3, No. 7, 1989
- Michael Karas, Matthias Glückmann and Jürgen Schäfer; J. Mass Spectr. 35, 1-12, (2000)

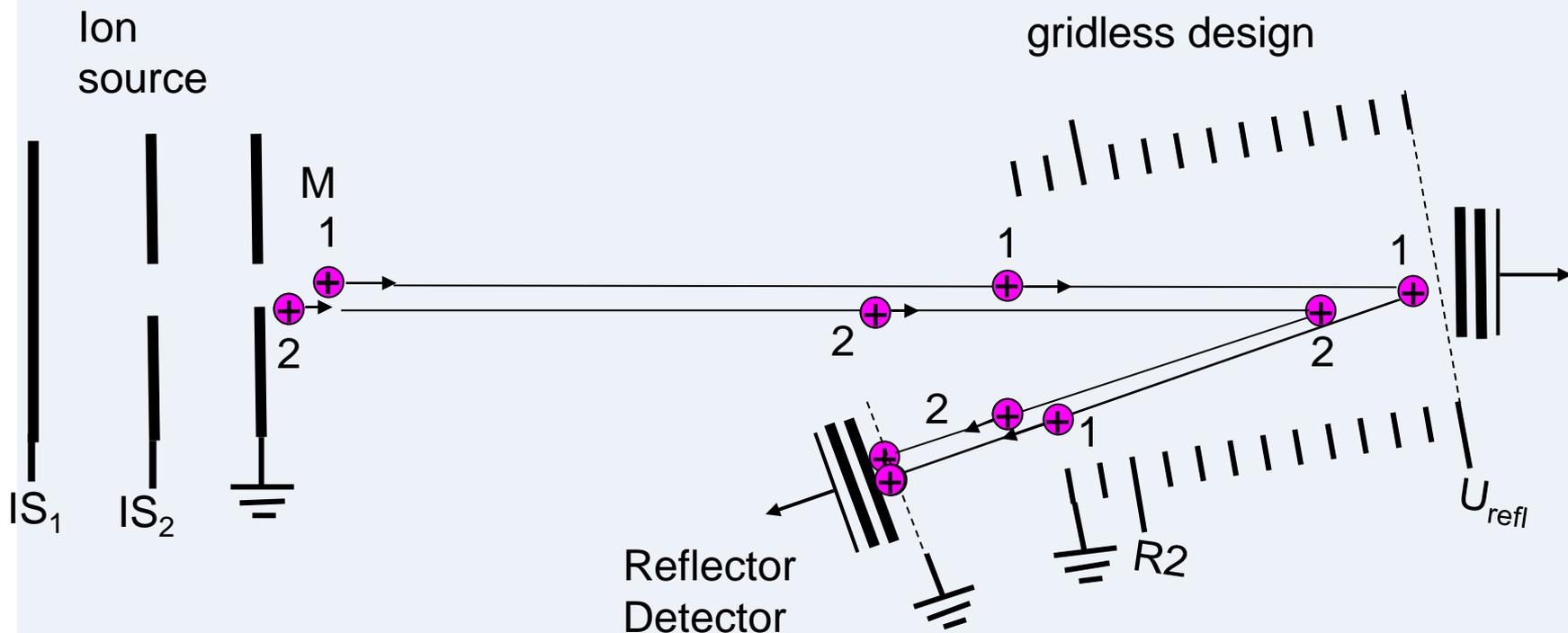


What is TOF MS

TOF MS is the abbreviation for Time of Flight Mass Spectrometry.

Charged ions of various sizes are generated on the sample slide, as shown in the diagram. A potential difference V_0 between the sample slide and ground attracts the ions in the direction shown in the diagram. The velocity of the attracted ions v is determined by the law of conservation of energy. As the potential difference V_0 is constant with respect to all ions, ions with smaller m/z value (lighter ions) and more highly charged ions move faster through the drift space until they reach the detector. Consequently, the time of ion flight differs according to the mass-to-charge ratio (m/z) value of the ion. The method of mass spectrometry that exploits this phenomenon is called Time of Flight Mass Spectrometry.





- The reflector or ion mirror compensates for the initial energy spread of ions of the same mass coming from the ion source, and improves resolution.
- Increasing of resolution and signal-to noise by focusing the ions in time and space!



Features of MALDI-TOF

- Soft ionization - analyze intact biomolecules and synthetic polymers
- Broad mass range - analyze a wide variety of biomolecules
- Simple mixtures are okay
- Relatively tolerant of buffers and salts
- Fast data acquisition
- Easy to use and maintain, no water or gas hook ups required
- High sensitivity, superior mass resolution and accuracy

Important parameters

- correct mixture using suitable solvent, matrix and cationization agent

Matrices

DHB

HCCA

Ferulic acid

IAA

Dithranol

DCTB

Hydrophilic



Hydrophobic

Polymers

Polyethylene glycol

Polydimethylsiloxane

Polytetramethylene glycol

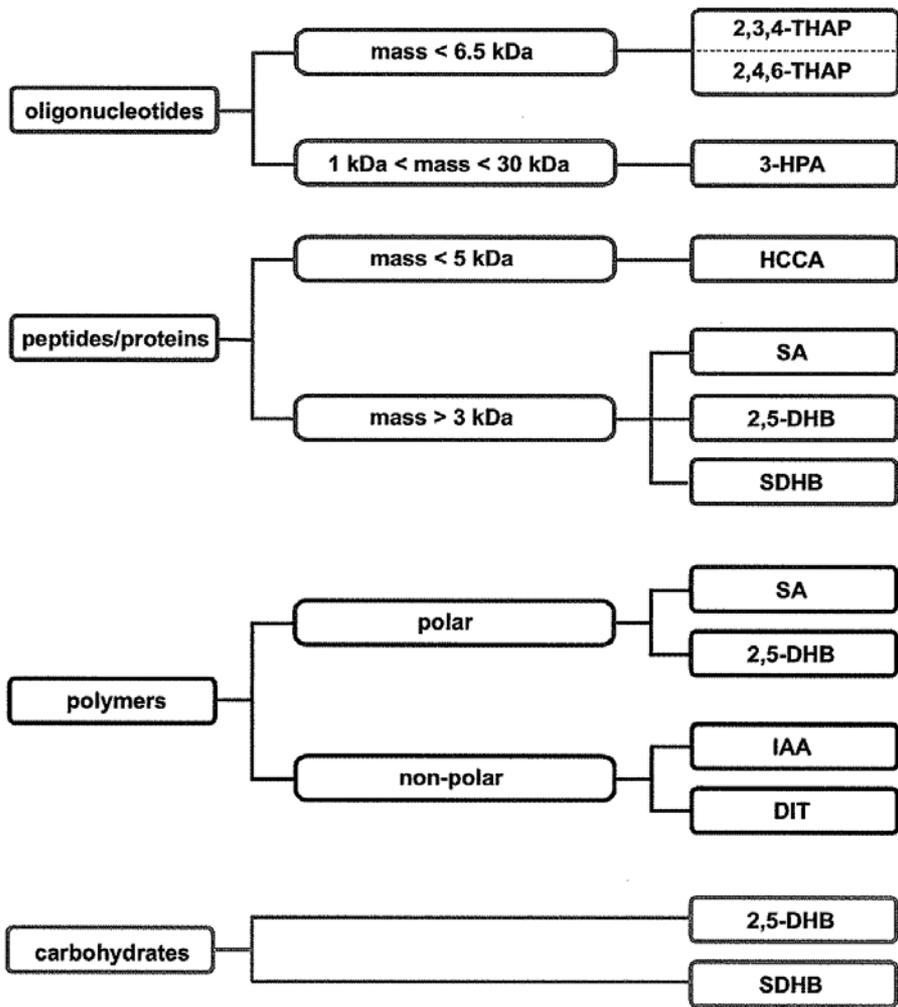
Polymethylmethacrylate

Polystyrene

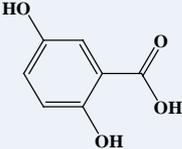
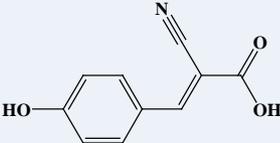
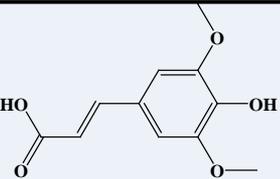
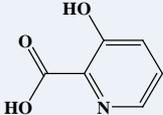
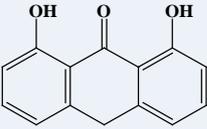
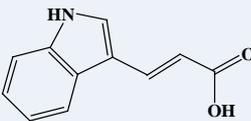
Polyisoprene

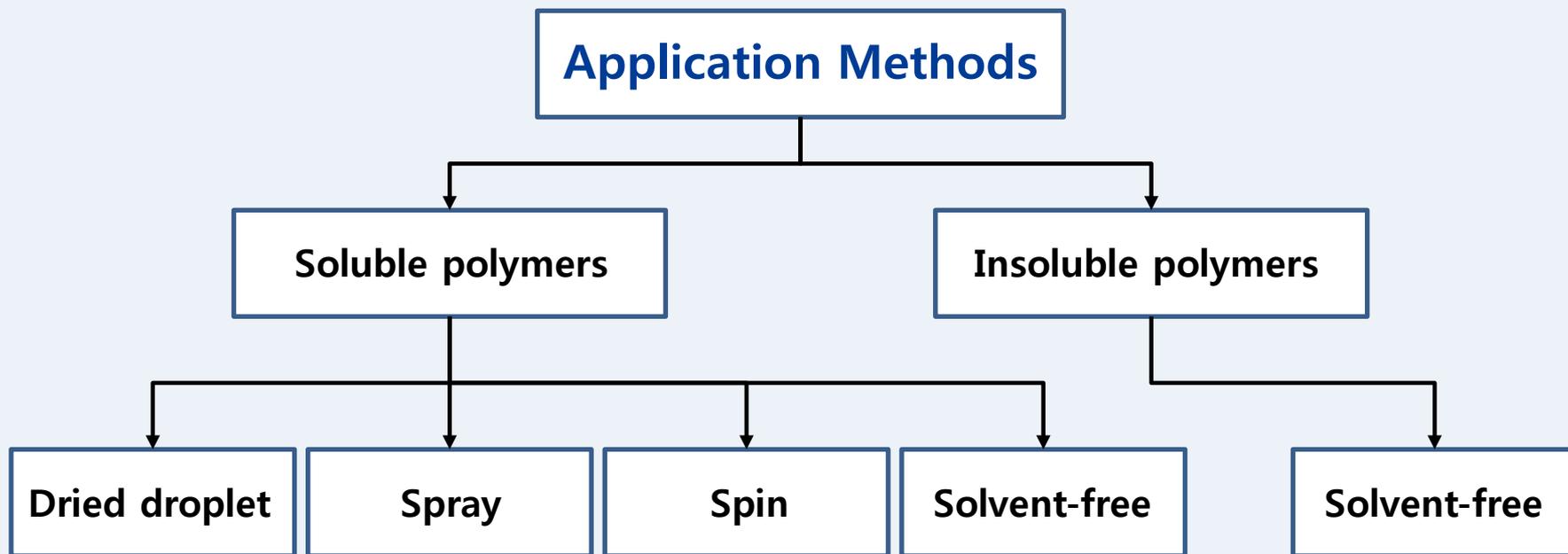


Matrix Guide to Sample Preparation



* Please refer to the attached file(MatrixSelection.pdf) for details

Matrix	Abbr.	Formular	CAS No.	Solvent	Compound
2,5-Dihydroxybenzoic acid MW = 154.12	DHB		490-79-9	THF Aceton DMF Acetonitrile Water	Peptides, Proteins Oligosaccharides Lipids Synth. Polymers Small. Org. molecules
α -Cyano-4-hydroxy cinnamic acid MW = 189.17	CCA		28166-41-8	THF DMF EtOH Acetonitrile Water	Peptides Proteins Oligosaccharides
<i>trans</i> -3,5-dimethoxy-4-hydroxy-cinnamic acid MW = 224.21	SA (Sinapinic acid)		530-59-6	DMF EtOH Acetonitrile Water	Proteins
3-Hydroxypicolinic acid MW = 139.11	3HPA		874-24-8	Acetonitrile Water	Nucleotides
1,8,9-Trihydroxy-antracene MW = 226.23	Dithranol		1143-38-0	THF Chloroform	Unpolar Synth. polymers
<i>trans</i> -Indole-3-acrylic acid MW = 187.19	IAA		530-59-6	THF Aceton	Unpolar Synth. polymers



Preferred application: fast and homogenous (flat)

- no separation
- high shot-to-shot reproducibility

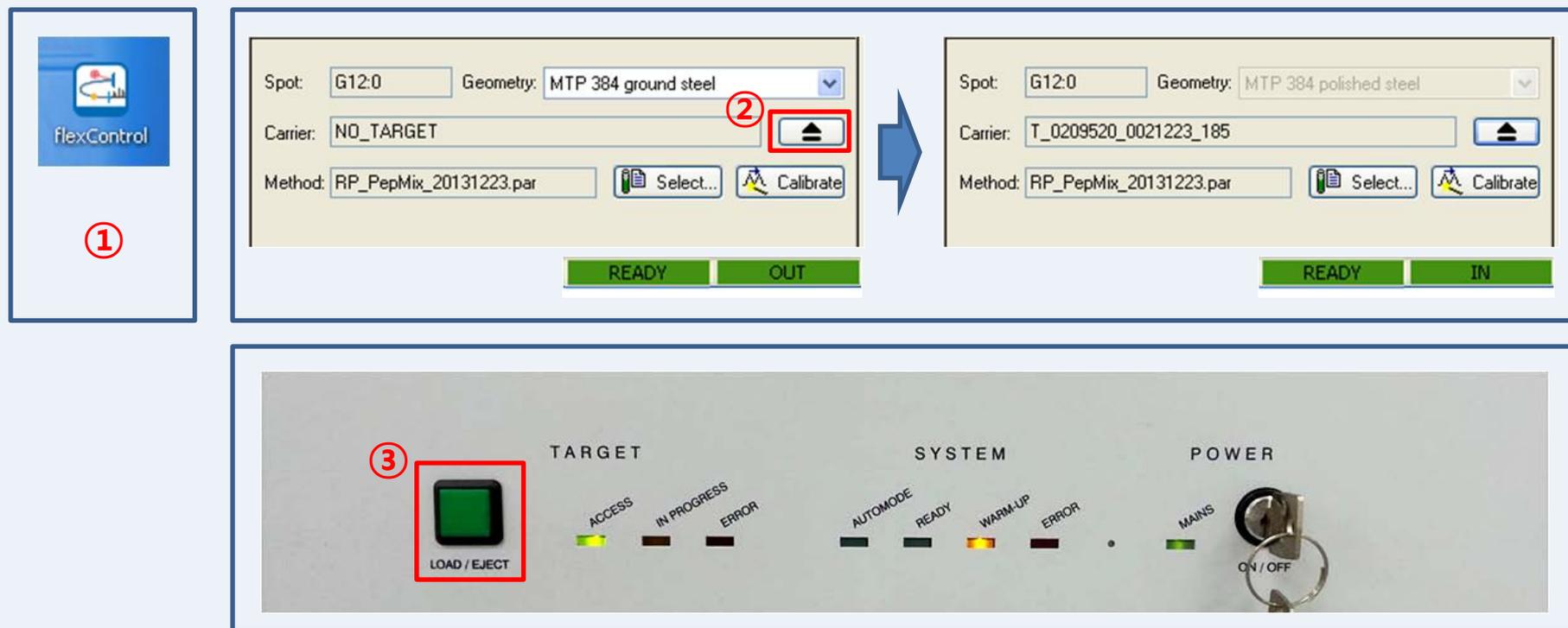


Linear or Reflector / Positive or Negative

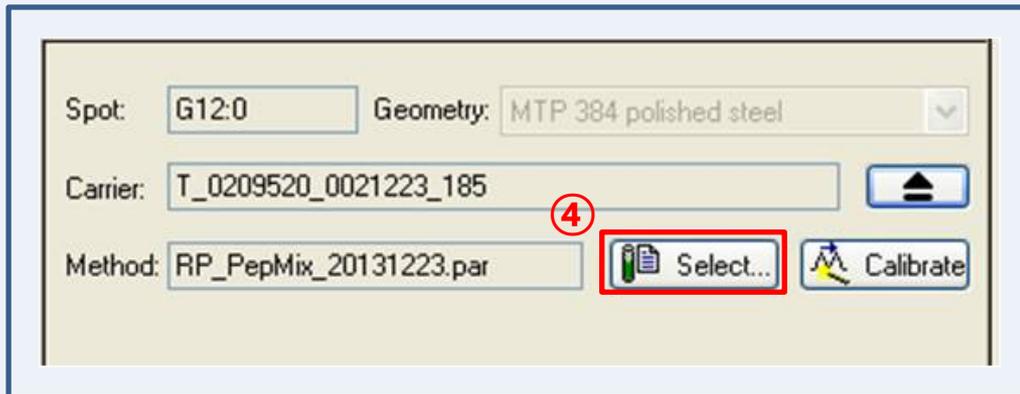
1. Reflector mode is used in the mass range up to 7 kDa, where the isotopes of the oligomers can be seen
2. Sometimes it makes sense to use the reflector mode to obtain oligomeric resolution also in the higher mass range
3. Linear mode is used for masses above 7 kDa
4. Normally polymers are observed as cation-attached species
5. Anions are only observed in the case of present negative charges in the polymer such as Poly(styrenesulfonate). In this case all cations have to be exchanged against ammonium



1. 장비에 Target plate를 장착시킨다.



2. 바탕화면에서 ① flexControl을 실행시키고,
3. flexControl 창의 ②, 또는 장비의 ③을 눌러 Target을 인식시킨다.
Carrier 부분에 target이 인식되고,
하단의 OUT 부분이 IN으로 인식되는 것을 확인 할 수 있다.



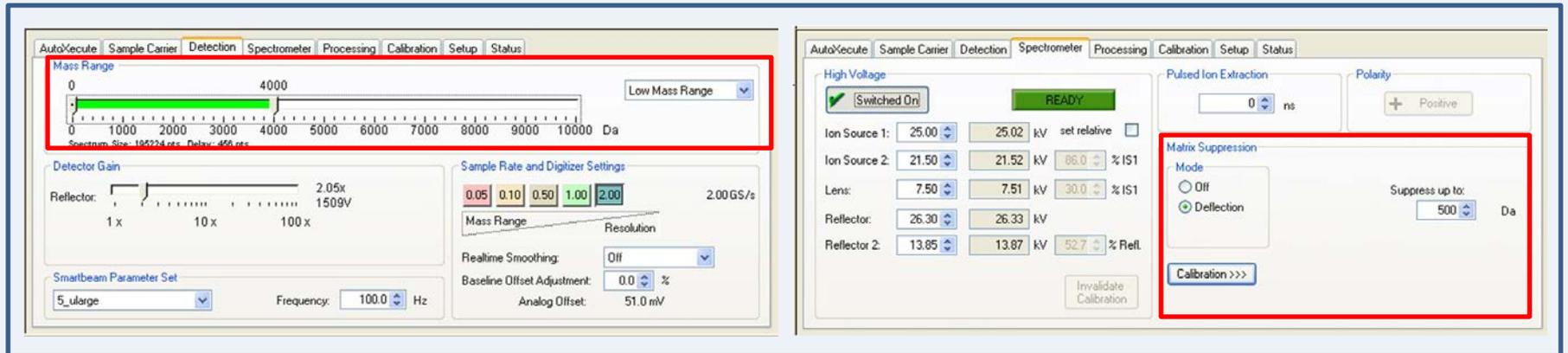
4. ④ Select를 눌러 사용할 method를 선택합니다.

Reflectron / Positive

Reflectron / Negative

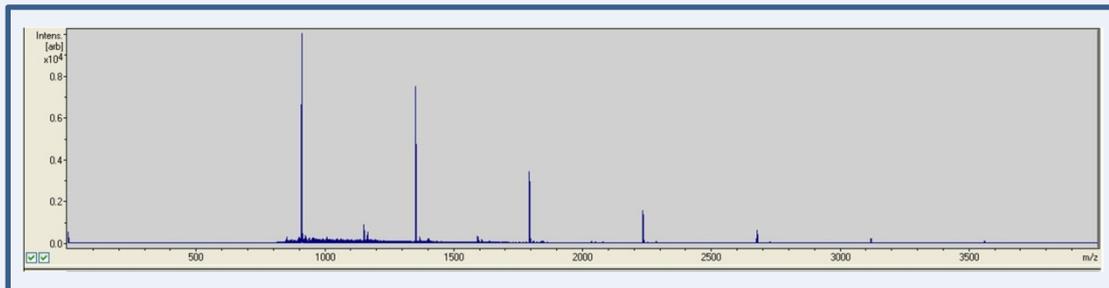
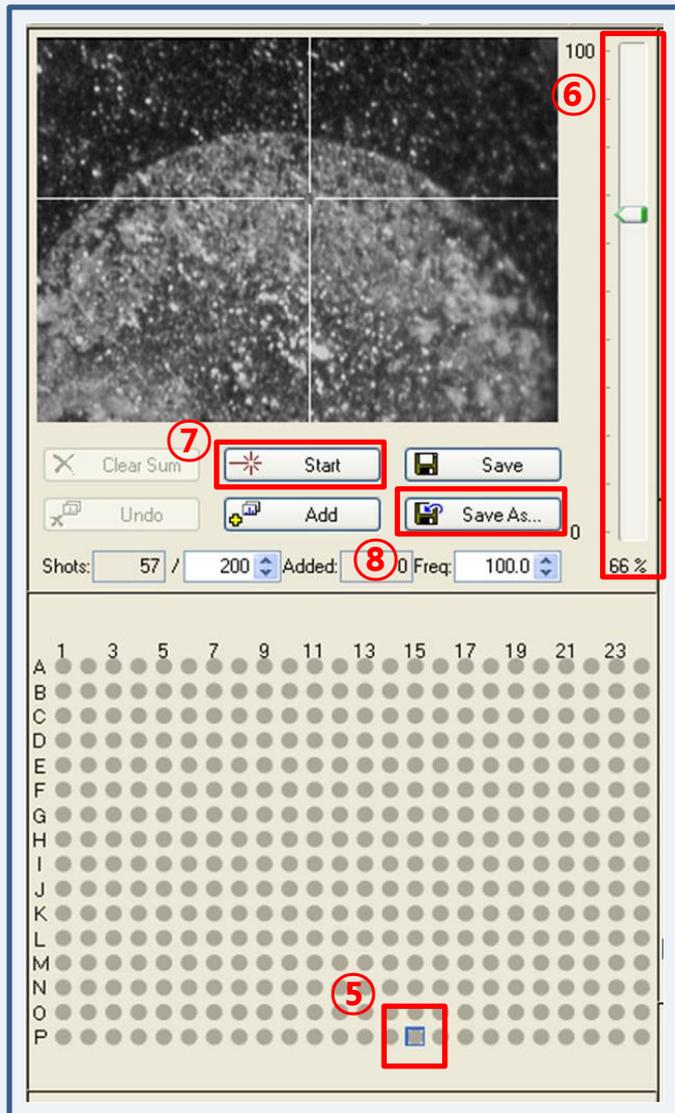
Linear / Positive

Linear / Negative

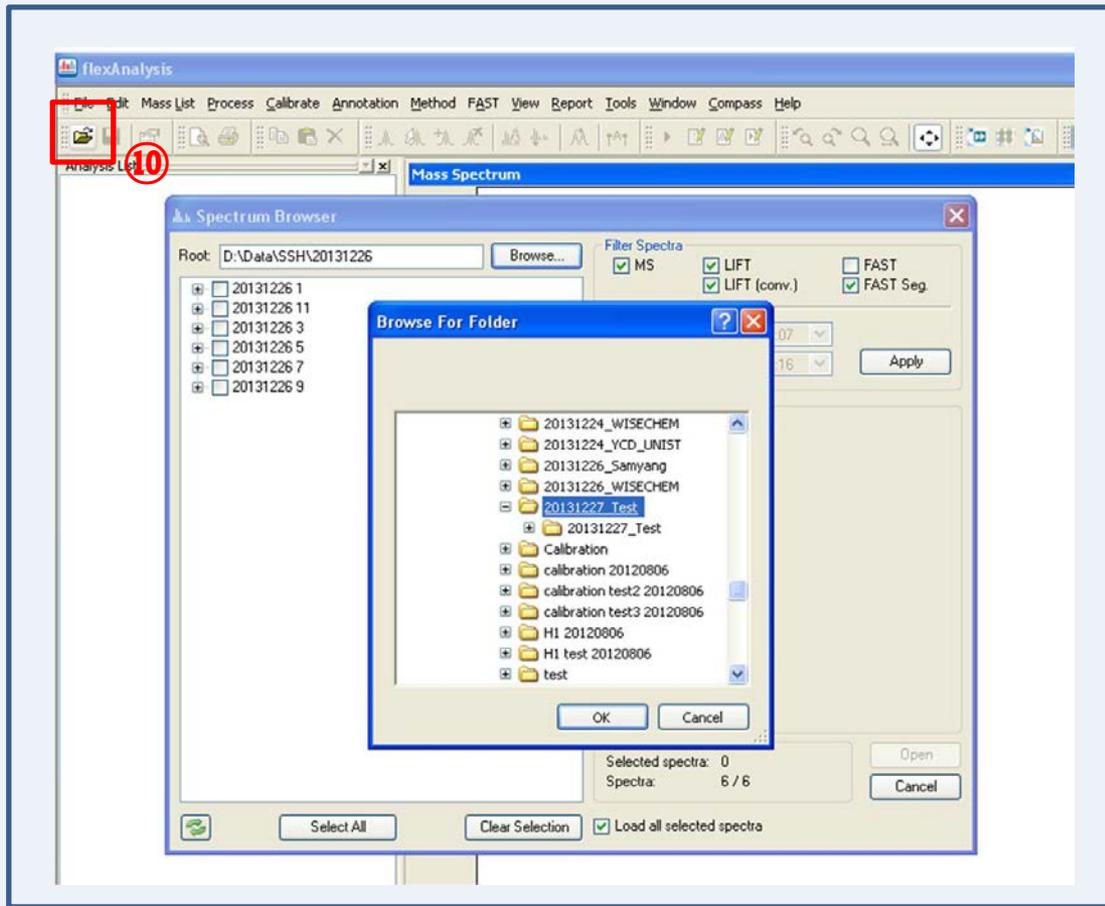
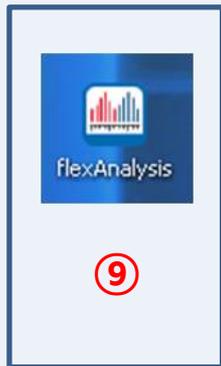


The image displays two panels from a software interface. The left panel is the 'Detection' tab, showing a 'Mass Range' slider from 0 to 10000 Da, currently set to 0-4000 Da. Below it are 'Detector Gain' and 'Sample Rate and Digitizer Settings' sections. The right panel is the 'Spectrometer' tab, showing 'High Voltage' settings and a 'Matrix Suppression' section where 'Deflection' is selected and 'Suppress up to:' is set to 500 Da. Both the 'Mass Range' and 'Matrix Suppression' sections are highlighted with red boxes.

5. Detection tab에서 mass range를 설정한다.
6. Spectrometer tab에서 matrix suppression을 설정한다.
보통 matrix 간섭 현상 때문에 500 이하는 suppression 시킨다.

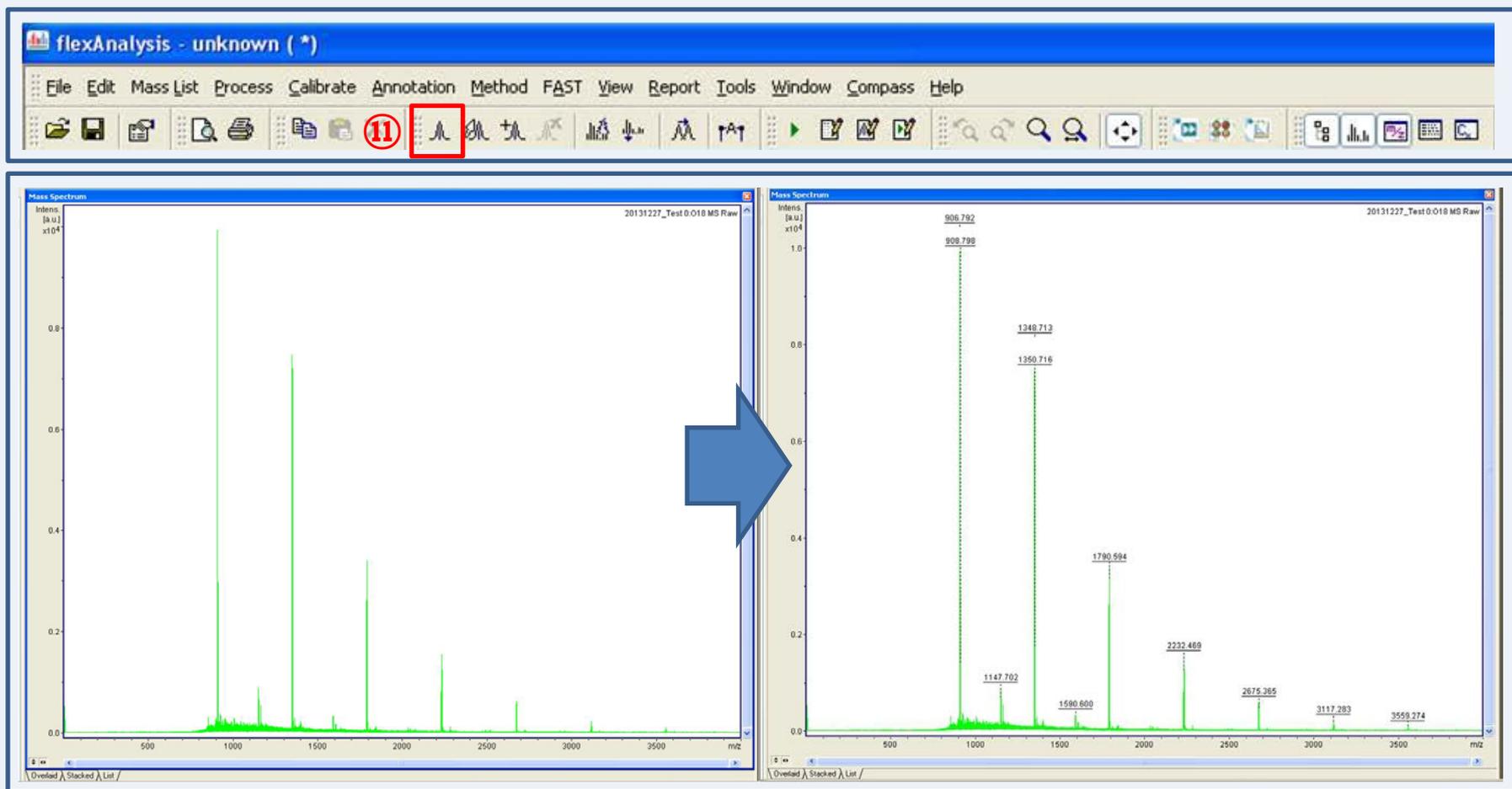


7. ⑤에서 Sample이 놓인 위치를 선택하여 target을 움직인다.
8. ⑥으로 레이저의 세기를 조절한다.
9. ⑦ Start를 눌러 스펙트럼을 얻는다.
10. 얻어진 스펙트럼은
⑧ Save As를 눌러 저장한다.

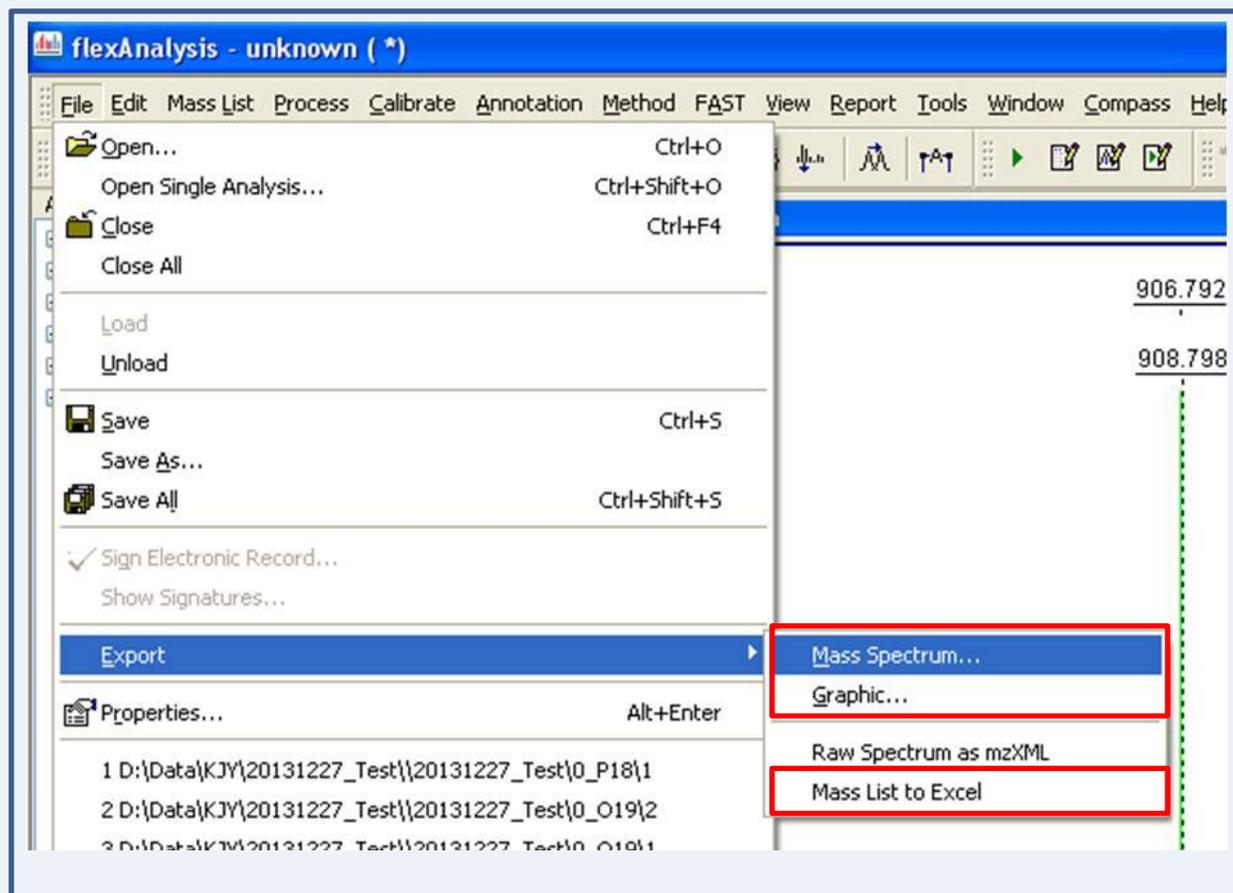


11. 바탕화면에서 ⑨ flexAnalysis를 실행시킨다.

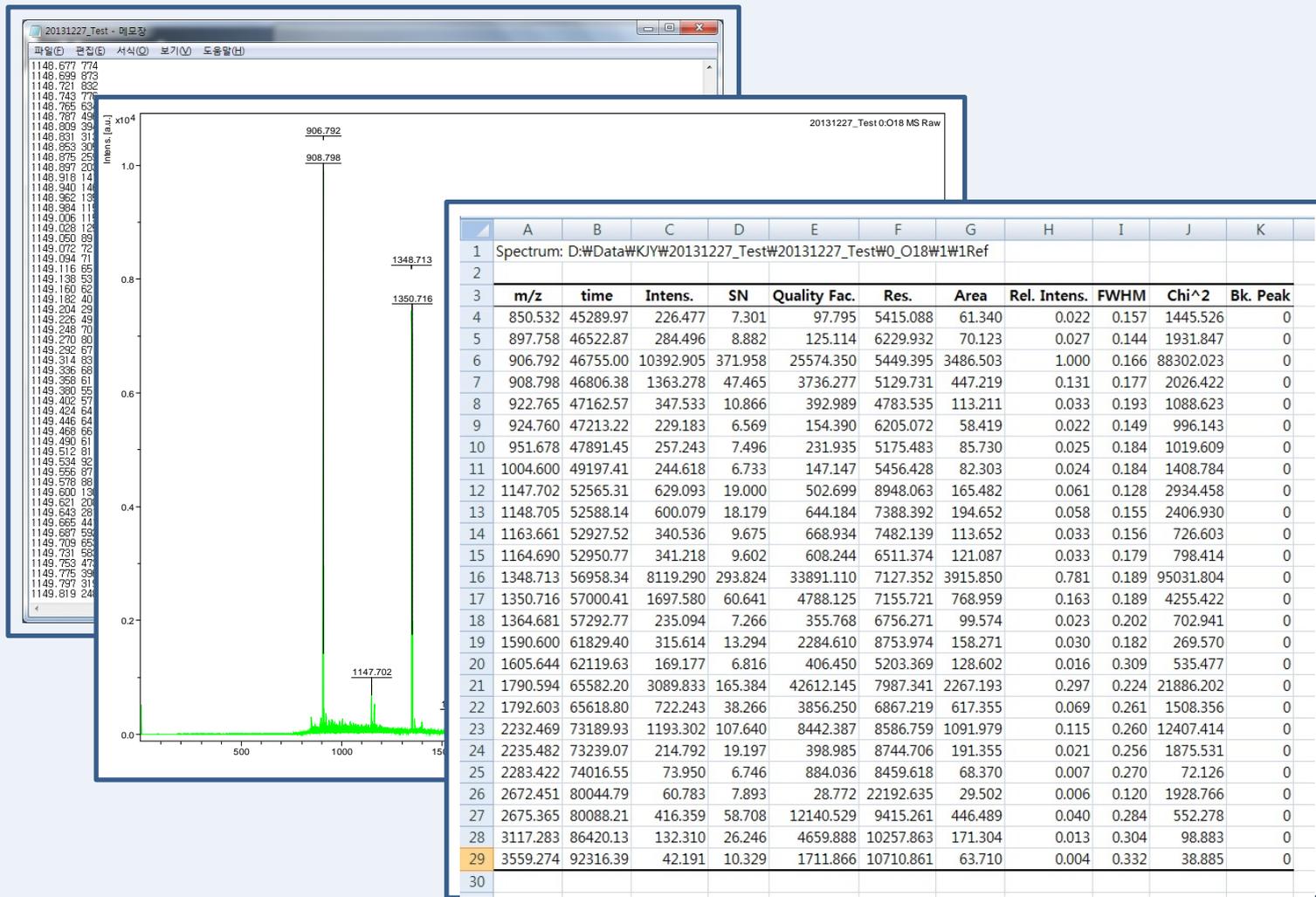
12. flexAnalysis 창에서 ⑩을 클릭하여 저장된 스펙트럼을 연다.



11. ⑪을 클릭하여 스펙트럼에 m/z값을 labeling한다.



12. Mass Spectrum, Graphic, Mass List to Excel을 클릭하여 분석결과를 export 시킨다.



13. 데이터 획득