

MODELO DE FUNCIONAMENTO

Dezembro de 2013

1. Estrutura da Unidade de Massa ITQB/iBET (UniMS)

Missão

A missão da UniMS é assegurar o desenvolvimento do *know-how* e das infra-estruturas de suporte envolvendo Espectrometria de Massa, de modo a proporcionar uma plataforma tecnológica capaz de providenciar serviços à comunidade científica e à indústria.

Estrutura Organizativa

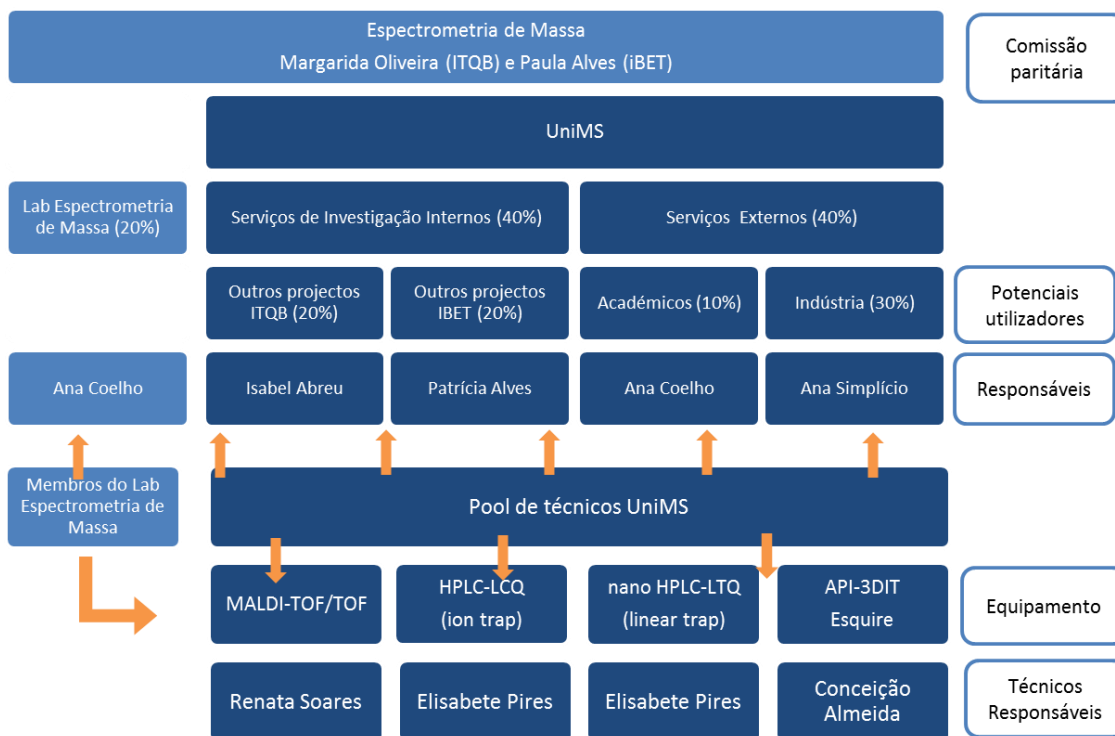
O serviço de análises de espectrometria de massas (UniMS) foi formalmente separado do Laboratório de investigação de espectrometria de massa do ITQB (responsável: Ana Coelho).

A coordenação da atividade da UniMS está agora a cargo de uma Direção de Utilizadores (DU), que é subordinada à Comissão Paritária (CP).

A CP é formada por Margarida Oliveira e Paula Alves.

A DU é atualmente composta por Ana Luísa Simplício, Isabel Abreu, Patrícia Alves e Susana Araújo e tem como função procurar soluções que permitam o funcionamento sustentado da UniMS, garantindo acesso a todos os investigadores das instituições pertencentes ao Laboratório Associado de Oeiras (LAO), principalmente ITQB e iBET, sem prejuízo dos serviços externos. Neste sentido, a DU deve desenhar modelos e procedimentos de funcionamento, propor preços a cobrar à investigação interna e aos serviços externos (académicos e indústria), gerir o equipamento e os recursos humanos ao serviço da UniMS e servir de interface entre o pessoal técnico e investigadores que necessitem de apoio no desenho de experiências. Qualquer decisão tomada pela DU será comunicada à CP que poderá aprovar, pedir reformulações ou exercer o seu direito de veto. A DU tem também como função aconselhar a CP e/ou as Direções dos Institutos sobre assuntos relacionados com o funcionamento da UniMS, como por exemplo aquisições ou arranjos de equipamento.

A alocação/divisão de tempos entre o laboratório de investigação em espectrometria de massa e os diferentes potenciais utilizadores da UniMS, determinada pela CP e pela DU, encontra-se esquematicamente representada na figura seguinte:



Recursos Humanos da UniMS

Os técnicos atualmente afetos aos serviços de espectrometria de massa da UniMS têm atribuídas funções de responsabilidade sobre o equipamento, execução de ensaios, implementação de métodos, manutenção de sistema de qualidade e gestão diária do laboratório (receção de amostras, realização de encomendas, faturação de ensaios, ...). Os técnicos são o ponto de contacto (unims.technicians@itqb.unl.pt/unims.technicians@ibet.pt) para serviços e análises a contratar por parte de investigadores que já têm acesso à UniMS ou que são utilizadores independentes dos equipamentos.

- Conceição Almeida (x1744) é responsável pelo espectrómetro de massa API-Ion Trap Bruker (Esquire).
- Elisabete Pires (x1418, x1364) é responsável pelos espectrómetros de massa API – Ion Trap Thermo (LCQ e LTQ), pelos sistemas HPLC (microAS e surveyor) e pelo nanoLC.
- Renata Soares (x1418, x1364) é responsável pelo MALDI-TOF/TOF e spotter.

A DU é o ponto de contacto para investigadores e serviços de indústria que visem a contratação de serviços da UniMS ou pretendam fazer desenvolvimento de novas metodologias (unims.direction@itqb.unl.pt / unims.direction@ibet.pt).

- Ana Luísa Simplício (x1741) é responsável pelos contactos com a indústria.
- Isabel Abreu (x1660) é responsável pelo acesso de investigadores ITQB/IGC.
- Patrícia Alves (x1434) é responsável pelo acesso de investigadores iBET/CEDOC.

Ana Coelho (responsável pelo laboratório de Espectrometria de Massa do ITQB, x1451) serve a UniMS garantindo o acesso de investigadores externos ao Laboratório Associado de Oeiras (unims.direction@itqb.unl.pt / unims.direction@ibet.pt).

Na eventualidade de haver indisponibilidade pontual de algum elemento da DU ou de Ana Coelho para contacto de acesso aos serviços UniMS, os restantes elementos da DU serão responsáveis por apresentar uma resposta à solicitação em causa desde que esta chegue através dos endereços de e-mail previamente mencionados.

2. Serviços da UniMS

Os serviços actualmente disponibilizados pela UniMS de acordo com o tipo de equipamento disponível (para mais informações sobre as potencialidades e características dos diversos equipamentos consultar o site da UniMS <http://www.itqb.unl.pt/facilities/UniMS/>), são os seguintes:

- MALDI-TOF/TOF

O MALDI-TOF/TOF é um sistema *high-throughput* composto por fonte de ionização suave MALDI (*matrix assisted laser desorption ionization*) e dois tubos de voo (*TOF, time-of-flight*), utiliza amostras co-cristalizadas com uma matrix que absorve a energia do laser e a transfere para a amostra fazendo com que esta ionize. A amostra voa então pelo TOF e a sua razão massa-carga (m/z) é determinada.

O MALDI tem a potencialidade de analisar amostras em modo linear para medição de massas acima dos 4000 Da, de analisar amostras em modo MS para massas abaixo dos 4000 Da, e em modo MS/MS para a fragmentação de amostras previamente analisadas por MS. Este espectrómetro de massa é atualmente maioritariamente utilizado para identificação de proteínas, determinação de massa molecular e análise do perfil de pureza. O MALDI-TOF/TOF pode também ser acoplado (*off-line*) com o sistema nanoLC-*spotter* para separação prévia de amostras complexas.

O sistema é relativamente simples de operar e a UniMS pode proporcionar formação aos utilizadores desde que o volume de utilização pelos interessados assim o justifique.

Os serviços disponibilizados neste equipamento são:

- Identificação de proteínas
- Determinação de massa molecular de compostos (gama de trabalho até 70 kDa)
- Avaliação de perfis de pureza de proteínas
- Avaliação de heterogeneidade proteica

- ESQUIRE

Consiste num *ion trap* de injeção direta composto por fonte de ionização suave (electrospray ionization - ESI ou nanoESI) ou química (APCI, Atmospheric Pressure Chemical Ionization).

Este equipamento é usado habitualmente para caracterização de biomoléculas e moléculas sintetizadas pelos grupos de investigação do ITQB/IBET.

Serviço disponibilizados neste equipamento:

- Determinação de massa molecular e de padrões de fragmentação de péptidos, de compostos orgânicos, organometálicos e líquidos iónicos.

- LCQ e LC-MS

Este analisador de massas *ion trap* pode ser utilizado para injeção direta de amostras ou acoplado a um sistema LC (Surveyor, Thermofinnigan) para separação de amostras complexas. Este equipamento pode ser utilizado com fonte de ionização suave (ESI), e ionização química (APCI). Este espectrómetro de massa é maioritariamente utilizado para determinação de massa molecular e padrões de fragmentação de proteínas, péptidos, compostos orgânicos e organometálicos.

Experiência e aplicações possíveis:

- Separação e/ou identificação de compostos orgânicos;

Exº: compostos macrocíclicos; polímeros; líquidos iónicos; compostos orgânicos; compostos organometálicos;

- Identificação de metabolitos e produtos de degradação;

Exº: estudos de estabilidade de fármacos ou químicos em meios químicos ou fluidos biológicos.

- Estudo de reações enzimáticas;

Exº: bioremediação enzimática de compostos na indústria têxtil e estudos farmacocinética de activação de profármacos.

- Identificação da composição de amostras naturais ou suas frações;

Exº: Caracterização/identificação da composição em compostos fenólicos e antioxidantes.

- LTQ e LC-MS/MS (nano, micro e convencional)

O analisador de massas *ion trap* linear pode ser utilizado para injeção direta de amostras, mas é maioritariamente utilizado quando acoplado a um sistema LC (microAS, ThermoFinnigan) ou a um sistema LC de fluxos nano (Easy nanoLC, ThermoFinnigan) para separação de amostras complexas. Este equipamento pode trabalhar com ionização suave, quer para fluxos convencionais quer para fluxos nano (ESI e nanoESI), e pode ainda trabalhar com ionização química (APCI). Este sistema tem capacidade de MSⁿ, ou seja de fragmentar moléculas (MS/MS) várias vezes, permitindo observar por exemplo modificações pós-traducionais de proteínas. O LTQ é atualmente maioritariamente utilizado em ensaios para vários tipos de amostras, nomeadamente misturas de proteínas, péptidos, oligossacáridos, lípidos e compostos orgânicos. É também utilizado para ensaios de quantificação relativa.

Experiência e aplicações possíveis:

- Análise de proteínas intactas
- Análise de proteomas/subproteomas
- Identificação de outros compostos de síntese ou naturais

e.g. polímeros; saponinas; fitoquelatinas; compostos fenólicos.

3. Desenvolvimento e Implementação de métodos (D&I) na UniMS

A UniMS disponibiliza D&I de métodos para:

- i) Ir ao encontro de necessidades específicas de grupos de investigação do ITQB e iBET;
- ii) Criar potenciais novos serviços a disponibilizar interna e externamente, potencialmente aumentando o leque de clientes da unidade e assim a sua viabilidade económica;
- iii) Criar experiência e conhecimento na equipa UniMS pela contribuição activa na produção científica do LAO e no suprimento das necessidades da indústria.

Deste modo, neste momento está em curso a implementação das seguintes metodologias a disponibilizar em breve:

- Identificação e quantificação de fosfolípidos;
- Quantificação de oligossacáridos;
- Identificação e caracterização de modificações pós-traducionais: N-glicosilação e fosforilação;

- Serviço de análise de amostras em géis bi-dimensionais (2DE e 2D-DIGE);

Modelo de seleção e funcionamento deste tipo de serviço:

a. A UniMS poderá desencadear e autofinanciar a implementação de métodos que considere de utilidade global.

b. D&I dentro da UniMS poderá ser solicitada pelos grupos internos interessados e será suportada por estes, relativamente a custos específicos com reagentes e com o tempo de máquinas UniMS necessário.

- Neste caso o apoio necessário por parte dos técnicos da UniMS poderá ser financiado pelas Instituições ITQB e iBET, disponibilizando uma percentagem do tempo do técnico para D&I, a gerir por este, sem que sejam prejudicados serviços estratégicos da UniMS. Como contrapartida o grupo de investigação responsável pelo projeto disponibilizará o processo final desenvolvido para utilização potencial como "serviço da UniMS". Qualquer "invenção" será tratada segundo as regras institucionais de IP.

- Os técnicos poderão ser co-autores em publicações envolvendo essa implementação/desenvolvimento.

Para ter acesso a esta opção, o grupo de investigação interessado deverá apresentar uma proposta formal de uma página, justificando o estudo, identificando o seu potencial e descrevendo como será assegurado o pagamento dos custos associados. A proposta deverá conter uma previsão do tempo necessário de máquina e de recursos humanos da UniMS, e será enviada à DU. Esta fará uma primeira avaliação da proposta e, caso apresente os argumentos necessários, apresenta-la-à à CP para posterior aprovação.

4. Acesso aos Serviços da UniMS

Terão acesso aos serviços da UniMS todos os **investigadores ITQB e iBET e do restante Laboratório Associado de Oeiras**. Estes serão considerados serviços internos que serão pagos de acordo com a tabela de preços em vigor (ver seção 6 deste documento).

Para requisição de serviços tabelados deverá ser preenchido o formulário de serviços MS (disponibilizado em <http://www.itqb.unl.pt/facilities/UniMS/services>) e enviado por e-mail ou entregue juntamente com as amostras.

A tabela de preços apresentada abaixo contempla a possibilidade de uso independente ou com o auxílio dos técnicos UniMS.

São **utilizadores independentes**, utilizadores com treino especializado em espectrometria de massa, que tenham recebido treino específico para o equipamento e metodologias da UniMS e

que sejam por isso creditados pela UniMS. Estes utilizadores têm acesso direto aos equipamentos, mediante supervisão mínima dos técnicos UniMS e pagarão apenas a utilização do equipamento (os reagentes específicos para as análises serão adquiridos pelos próprios). Em caso de danos dos equipamentos, os utilizadores independentes serão responsabilizados (financeiramente), caso se prove que os danos resultaram da má utilização dos equipamentos ou de negligência e poderá ser-lhes retirada a autorização para utilização independente.

Terão também acesso aos serviços da UniMS **investigadores externos ao Laboratório Associado de Oeiras**, mediante contacto com Ana Coelho (na sua ausência, com qualquer elemento da DU), e após determinação do tipo de serviço e orçamento por parte da UniMS. Estes serviços terão por base os preços de serviços externos ou preços RNEM, caso façam parte da rede RNEM.

Terão ainda acesso aos serviços quaisquer clientes da indústria que assim o requeiram, mediante contacto com Ana Luísa Simplício (na sua ausência, qualquer elemento da DU), orçamentação do serviço e aceitação por parte da UniMS.

Qualquer trabalho interno ou externo não contemplado na tabela apresentada seção 6 estará sujeito a orçamento.

Formação

Qualquer investigador interno terá o direito de solicitar utilização independente da UniMS, caso se justifique (pessoas cujo período de permanência prevista no ITQB/iBET e volume de utilização justifiquem a sua formação). No entanto, caberá ao técnico responsável pela formação decidir se o utilizador está apto para efetuar uma correta utilização do equipamento em causa. A lista atualizada dos utilizadores independentes encontra-se junto das técnicas da UniMS (gabinete 4.01). A utilização dos equipamentos pelos utilizadores independentes está sujeita a regras e às indicações específicas dos técnicos, sempre que estas sejam justificadas.

A formação será individual ou em grupo, de acordo com as solicitações, necessidades específicas e disponibilidade dos técnicos.

Horário de atendimento

Salvo imprevistos, um técnico estará sempre disponível para atendimento ao público nos horários habituais de trabalho (9h-18h, de segunda a sexta).

Marcações

Qualquer pessoa que esteja autorizada e pretenda usar o equipamento de forma independente, deve proceder à marcação da utilização (ou solicitar a marcação por um dos técnicos ou à DU), com a devida antecedência, no calendário adequado, conforme disponibilizado em <http://unims.itqb.unl.pt>.

A marcação só se considera efetiva depois de um dos técnicos da UniMS a confirmar.

5. Obrigações dos utilizadores e potenciais utilizadores

Na submissão de projetos:

Todos os investigadores que pretendam incluir serviços de MS nos seus projetos devem confirmar previamente com a DU a possibilidade de execução dos serviços requeridos. Caso o serviço seja aceite, devem alocar nos seus projectos uma verba, na rubrica “aquisições e serviços” para “aquisição de serviços de manutenção e peças dos espectrómetros de massa” e para “consumíveis para espectrometria de massa”.

Na utilização independente:

Todos os utilizadores independentes são obrigados a cumprir as regras e a preencher os registos de utilização conforme descrito para cada equipamento nos documentos que estão junto destes e acessíveis aos utilizadores.

Quando os trabalhos forem sujeitos a publicação:

Quando os resultados de serviços prestados pela UniMS forem incluídos em publicações, deve ser prestado um agradecimento à Unidade na secção adequada com uma frase do tipo “MS data provided/obtained by the UniMS – Mass Spectrometry Unit, ITQB/IBET, Oeiras, Portugal”.

Agradecimento à rede RNEM deve ser também prestado quando o equipamento LTQ for usado.

6. Preços dos serviços actualmente disponibilizados e modos de pagamento

A tabela abaixo apresenta os preços dos diversos serviços actualmente disponibilizados, por tipo de análise/equipamento e/ou por tempo de utilização.

Os pagamentos podem ser efectuados das seguintes formas:

Quando estiver contemplado em projetos: facultando a possibilidade dos técnicos UniMS gerirem o valor atribuído às tarefas de espectrometria de massa no âmbito do projeto.

Quando for um serviço fora de projetos:

ITQB: pagamento interno à linha UniMS ITQB a partir de linhas não alocadas a projetos.

iBET: pagamento ao projeto 10. Este pagamento é possível entre unidades infraestruturais do iBET usando orçamentos próprios.

Análise	# amostras ou horas	Preço interno LAO (€)	Preço RNEM (€)	Preço externo (€)	Utilizadores independentes (€)
Ionização a pressão atmosférica					
ESI moleculas pequenas *		15 [°]	20 [°]	30 [°]	-
Fragmentação Adicional		10 [°]	15 [°]	20 [°]	-
ESI Proteínas		20 [°]	40 [°]	55 [°]	-
LC-ESI-MS					
€/hora	1 amostra	90 [°]	120 [°]	175 [°]	28 ¹
	>1 amostras	40 [°]	50 [°]	70 [°]	
nanoLC-ESI-MS					
€/hora	1 hora	150 ²	150 ²	150 ²	-
€/hora	>8 horas	100 ²	100 ²	100 ²	-
MALDI-TOF/TOF					
Medição de massa intacta		20 [°]	30 [°]	50 [°]	-
Identificação de proteínas	1 amostra	40 [°]	45 [°]	50 [°]	-
	>1 amostra	20 [°]	25 [°]	30 [°]	-
	>50 amostras	10 [°]	10 [°]	10 [°]	-
nanoLC-spotter MALDI MS (€/hora)		70 ²	70 ²	110 ²	50 ³
nanoLC-spotter MALDI MS/MS (€/hora)		100 ²	100 ²	150 ²	
€/hora		28 ⁴	-	-	28 ⁴
Outros					
Digestão de proteínas	1 amostra	20 [°]	35 [°]	50 [°]	-
	>1 amostra	10 [°]	15 [°]	20 [°]	-
Procedimento de limpeza		5 [°]	10 [°]	15 [°]	-

IVA não incluído.

[°] Preços que não sofreram alteração.

¹ O preço foi estabelecido para pequenas moléculas, péptidos e proteínas. Inclui manutenção de equipamento, e amortização. Não inclui desenvolvimento de metodologia, colunas HPLC, consumíveis e custos com pessoal UniMS.

² O preço foi estabelecido para pequenas moléculas, péptidos e proteínas. Os preços foram baseados noutros Nós da RNEM e incluem consumíveis, colunas HPLC, custos com pessoal UniMS, custos de amortização e manutenção de equipamento. Não inclui custos com desenvolvimento de metodologia. ³ O preço foi estabelecido para pequenas moléculas, péptidos e proteínas. Os preços foram baseados noutros Nós da RNEM e incluem consumíveis, e custos de amortização e manutenção de equipamento. Não inclui custos com pessoal UniMS, custos associados a desenvolvimento de métodos e colunas HPLC.

⁴ Inclui custos de manutenção de amortização do equipamento. Não inclui custos com pessoal UniMS nem com consumíveis.

7. Gestão de equipamentos (manutenção e calibração)

A gestão global da calibração e manutenção dos equipamentos da UniMS é da responsabilidade dos técnicos da UniMS.

Os custos de manutenção, reparação e calibração, incluindo os respetivos consumíveis, serão sempre que possível da responsabilidade da UniMS. Os custos que não possam ser cobertos pela UniMS serão distribuídos entre o ITQB e o iBET, com base na taxa efetiva de utilização do equipamento, no ano anterior, pelas duas instituições.

Os custos com consumíveis para análises de utilizadores independentes e para serviços de D&I deverão ser cobertos pelos utilizadores.