

MODELO DE FUNCIONAMENTO

Março de 2016

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

Missão

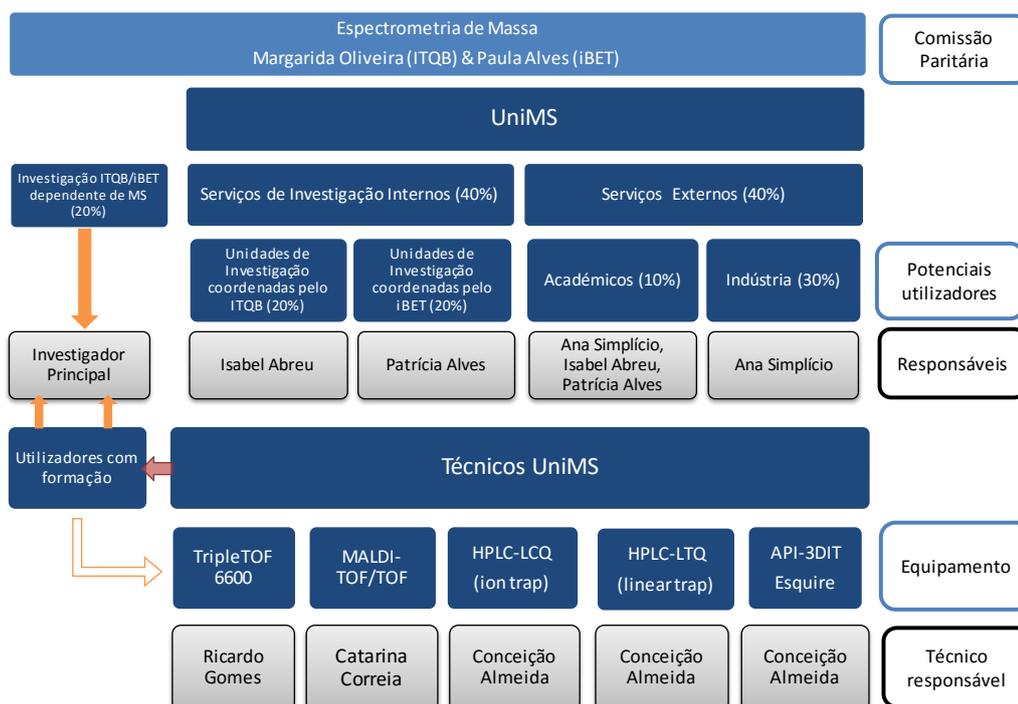
A missão da UniMS é assegurar o desenvolvimento do *know-how* e das infraestruturas de Espectrometria de Massa do ITQB e iBET, de modo a proporcionar uma plataforma tecnológica capaz de providenciar serviços à comunidade científica e à indústria.

Estrutura Organizativa

A coordenação da atividade da UniMS está a cargo de uma Direção de Utilizadores (DU), que é subordinada à uma Comissão Paritária (CP) envolvendo a Direção do ITQB e do iBET, sendo formada por Margarida Oliveira e Paula Alves.

A DU é atualmente composta por Ana Luísa Simplício, Isabel Abreu e Patrícia Alves e tem como função procurar soluções que permitam o funcionamento sustentado da UniMS, garantindo acesso a todos os investigadores pertencentes ao ITQB e iBET, e unidades de investigação por eles coordenadas, sem prejuízo dos serviços externos. Neste sentido, a DU deve desenhar modelos e procedimentos de funcionamento, propor preços a cobrar pelos serviços prestados, sugerir aquisição e gerir o equipamento, gerir os recursos humanos e servir de interface entre o pessoal técnico e investigadores que necessitem de apoio no desenho de experiências. Qualquer decisão funcional tomada pela DU será comunicada à CP que poderá aprovar, pedir reformulações ou exercer o seu direito de veto.

A alocação/divisão de tempos entre os potenciais utilizadores da UniMS, determinada pela CP e pela DU, encontra-se esquematicamente representada na figura seguinte:



Equipa UniMS

Comissão Paritária: Margarida Oliveira e Paula Alves

Direção de Utilizadores: Ana Simplício, Isabel Abreu, Patrícia Alves

Técnicos: Catarina Correia, Conceição Almeida, Ricardo Gomes

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 do sistema da qualidade e gestão diária do laboratório, ensaios, ...). Os técnicos são o ponto de contato (unims.technicians@itqb.unl.pt; unims.technicians@ibet.pt) para serviços e análises a contratar por parte de investigadores que já têm acesso de rotina à UniMS ou que são utilizadores independentes dos equipamentos.

- Conceição Almeida (x1467, x1744) é responsável pelos espectrómetros de massa API – Ion Trap Thermo (LCQ e LTQ), pelos sistemas HPLC (microAS e surveyor) e pelo espectrómetro de massa API-Ion Trap Bruker (Esquire).
- Catarina Correia (x1468, x1407) é responsável pelo MALDI-TOF/TOF, spotter e nanoLC.
- Ricardo Gomes (x1791, x1792) é responsável pelo TripleTOF.

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

- Ana Luísa Simplício (x1782) é responsável pela coordenação dos clientes industriais.
- Isabel Abreu (x1647) é responsável pelo acesso de investigadores que pertençam a Unidades de Investigação coordenadas pelo ITQB.
- Patrícia Alves (x1434) é responsável pelo acesso de investigadores que pertençam a Unidades de Investigação coordenadas pelo IBET.

O acesso de investigadores externos pertencentes às Unidades de Investigação coordenadas pelo ITQB ou IBET será sempre garantido por um dos elemento da DU (unims.direction@itqb.unl.pt/unims.direction@ibet.pt). Na eventualidade de indisponibilidade pontual de algum elemento da DU, ficarão os restantes elementos 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, por exemplo para análise de proteomas.

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 massas de cadeias leves e pesadas de IgG
- Perfis de glicosilação (N-glicanos)
- Determinação de massa molecular (gama de trabalho até 70 kDa)
- Avaliação de perfis de pureza de proteínas
- Avaliação de heterogeneidade proteica
- ESQUIRE (MSⁿ)

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 (LC-MSⁿ)

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;
Ex^o: compostos macrocíclicos; polímeros; líquidos iónicos; compostos orgânicos; compostos organometálicos;
- Identificação de metabolitos e produtos de degradação;
Ex^o: estudos de estabilidade de fármacos ou químicos em meios químicos ou fluidos biológicos.
- Estudo de reações enzimáticas;
Ex^o: bioremediação enzimática de compostos na indústria têxtil e estudos farmacocinética de activação de profármacos.

- Identificação da composição de amostras naturais ou suas frações;

Ex^o: Caracterização/identificação da composição em compostos fenólicos e antioxidantes.

- LTQ (LC-MSⁿ - fluxos 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. 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 pequenas moléculas
- Análise de proteínas intactas
- Identificação de outros compostos de síntese ou naturais

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

- TripleTOF 6600 com aquisição SWATH 2.0 (LC-MS/MS - fluxos nano e micro)

O novo sistema TripleTOF 6600 da SCIEX (equipamento híbrido com dois tipos de analisadores de massa, Quadrupolo e TOF) é actualmente o TripleTOF topo de gama do mercado. É um sistema de alta performance, com elevada reprodutibilidade, que acoplado ao SWATH Acquisition 2.0 consegue detectar teoricamente todos os péptidos em qualquer corrida. Este sistema permite trabalhar numa ampla gama de concentrações (superior a 5 ordens de magnitude), isolamento de iões até 2250 m/z (no 1^o quadrupolo, Q1), elevada estabilidade na precisão de massas, e com uma elevada velocidade e resolução (100 MS/MS por segundo; 30,000 de resolução TOF em MS/MS). Combinado com aquisição SWATH (*sequential window acquisition of all theoretical fragment ion spectra*) permite uma quantificação com elevada resolução e definir rapidamente um perfil molecular. Apenas numa corrida obtém-se o arquivo digital completo dessa amostra que poderá ser interrogado inúmeras vezes (aquisição feita com um algoritmo “*data independent*”). É um sistema extremamente versátil que poderá ser usado em inúmeras aplicações para investigação na área das ‘Omics, para descoberta de novos biomarcadores, e também para caracterização/controlo da qualidade de biomoléculas terapêuticas.

Experiência e aplicações possíveis:

- Identificação de proteínas
- Identificação de Modificações pós-traducionais
- Determinação de massa molecular (gama de trabalho até 150-180 kDa)
- Avaliação de perfis de pureza de proteínas
- Avaliação de heterogeneidade proteica
- Análise comparativa de Proteomas
- Análise de anticorpos
- Análise de glicopéptidos
- Identificação e quantificação de Metabolitos (em desenvolvimento)
- ...

Tecnologia SelexION™ - em implementação.

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 ITQB, iBET e unidades de investigação por eles coordenadas, e no suprimento das necessidades da indústria.

Deste modo, neste momento e na sequência da aquisição de um novo equipamento (Triple TOF) está em curso a implementação das seguintes metodologias a disponibilizar em breve:

- Identificação e caracterização de modificações pós-traducionais: N-glicosilação, fosforilação,...;
- Proteómica comparativa (análise SWATH);
- Caracterização de anticorpos (IgG).

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 com interesses particulares, e, nesse caso será suportada por estes, relativamente a custos específicos com reagentes, tempo de máquinas UniMS e recursos humanos necessários.
 - Caso o procedimento solicitado seja de utilidade para uma audiência mais alargada, o investigador pode solicitar co-participação dos custos com recursos humanos às Instituições ITQB e iBET, que, caso aceite, disponibilizará uma percentagem do tempo do técnico para D&I, a gerir por este, desde que não 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**. 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 potenciais **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. Terão também acesso aos serviços da UniMS **investigadores externos ao ITQB e IBET**, mediante contacto com Direção de Utilizadores. Estes serviços terão por base os preços de serviços externos ou preços RNEM/IGC/iNOVA4HEALTH/MOSTMICRO/GREEN-it, caso façam parte de alguma destas redes, institutos ou unidades de investigação.

Terão ainda acesso aos serviços quaisquer clientes industriais, que, mediante contacto com a DU, poderão solicitar orçamentação para os trabalhos requeridos.

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).

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.

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 espetrómetros 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.

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.

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

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	Preço interno ITQB-NOVA iBET (€)	Preço RNEM/IGC/iNOVA4HEALTH MOSTMICRO/GREEN-it (€)	Preço externo (€)	Utilizadores independentes (€/h)
Ionização a pressão atmosférica (LCQ/LTQ)					
ESI moléculas pequenas*		15	20	30	-
Fragmentação Adicional		10	15	20	-
ESI Proteínas		20	40	55	20 ¹
LC-ESI-MS (LTQ)					
€/hora	1 amostra	90	120	175	28 ¹
	>1 amostras	40	50	70	
TripleTOF 6600⁵ (LC-ESI-MS)					
Proteoma*	1 amostra	150 ²	160 ²	185 ²	-
	>8 amostras	115 ²	125 ²	150 ²	-
Medição de massa intacta		50	60	70	-
Identificação de proteínas a partir de gel	1 amostra	80	90	100	-
	>1 amostras	60	70	80	
	>50 amostras	50	50	50	
MALDI-TOF/TOF 4800 plus (MALDI-TOF MS)					
Medição de massa intacta		20	30	50	28 ⁴
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	
Outros					
Digestão de proteínas em gel	1 amostra	20	25	35	-
	>1 amostra	10	15	20	-
Digestão de proteínas em solução	Depende da quantidade de proteína	100 €/100 µg de proteína			
Procedimento de limpeza		5	10	15	-

IVA não incluído.

* Preços podem variar dependendo da complexidade da amostra (preço base para gradiente 90 min); estes preços aplicam-se para amostras já quantificadas.

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.

⁵ Preço análises SWATH sob orçamento.

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.