

Experimentální podmínky pro vyhodnocení fragmentace

Chemikálie

- acetonitril LC-MS, VWR, Fontenay-sous-Bois, Francie
- ethanol, VWR, Rosny-sous-Bois-cedex, Francie
- voda LC-MS grade, Millipore, destilovaná v přístroji Milli Q RG, Burlington, USA
- kyselina mravenčí: VWR International S.A.S., Fontenay-sous-Bois, Francie
- hydroxid sodný, Sigma-Aldrich, Steiheim, Německo $\geq 98\%$
- leucin enkefalin acetát hydrát, Sigma-Aldrich, Steiheim, Německo, čistota $\geq 95\%$

Přístrojové vybavení

- HPLC systém: Waters ACQUITY UPLC I-Class System, USA
- kolona: Waters Acquity UPLC Protein BEH C4, 1,7 μm , 2,1 mm x 50 mm, USA
- hmotnostní spektrometr: Waters SYNAPT G2-Si, USA
- vyhodnocující program: UNIFI, Waters, USA
- digitální váhy: Sartorius ME5-OC, Sartorius, Německo
- automatické pipety: Eppendorf Reference 2, Eppendorf, Německo

Podmínky chromatografické separace

Teplota kolony:	40 °C
MF:	0,1% HCOOH v H ₂ O (A) : 0,1% HCOOH v ACN (B)
Průtok mob. fáze:	0,4 ml/min
Gradientová eluce:	0 min – 98 % A, 2 % B 1 min – 98 % A, 2 % B 15 min – 2 % A, 98 % B 15,1 min – 98 % A, 2 % B 17 min - 98 % A, 2 % B
Dávkovaný objem:	0,5 μl
Teplota autosampleru:	15 °C

Tab. 1: Podmínky hmotnostní detekce

mód	parametr	rozsah
+	napětí na vst. kuželu:	20 V
	napětí na kapiláře:	2 kV
	desolvační teplota:	500°C
	průtok desolvačního plynu:	1000 L/h
	průtok plynu na vst. kuželu:	50 L/h
	nebulizátor	6 bar
	nižší kolizní energie	4 V
	vyšší kolizní energie	15-50 V
	teplota ve zdroji	120°C
	skenovací čas	0,085 s
-	napětí na vst. kuželu:	40 V
	napětí na kapiláře:	2,5 kV
	desolvační teplota:	500°C
	průtok desolvačního plynu:	1000 L/h
	průtok plynu na vst. kuželu:	50 L/h
	nebulizátor	6,5 bar
	nižší kolizní energie	4 V
	vyšší kolizní energie	15-50 V
	teplota ve zdroji	120°C
	skenovací čas	0,085 s