

*Кельцеева О.А.^{1,2}, Дубакова П.Д.², Александрова И.В.²,
Суходолов Н.Г.^{3,1}, Подольская Е.П.^{2,1}*

Модификация поверхности мишени для масс-спектрометрического анализа пленками Ленгмюра-Блоджетт

¹ФГБУН «Институт аналитического приборостроения Российской академии наук», г. Санкт-Петербург, Россия

²ФГБУР «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», г. Санкт-Петербург, Россия

³ ФГБОУВО «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург, Россия

За последние несколько десятилетий масс-спектрометрия (МС) стала одним из основных аналитических методов, применяемых в естественнонаучных областях. В последнее время ряд исследователей пришли к выводу, что поверхность мишеней, используемых в масс-спектрометрическом анализе методом матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации (МАЛДИ-МС), после соответствующей модификации металл-аффинными сорбентами может использоваться для селективного обогащения при проведении протеомных исследований. Требованиям, предъявляемым к таким сорбентам, отвечают пленки стеаратов металлов, полученные по технологии Ленгмюра-Блоджетт (ЛБ). Как известно, ионы переходных металлов, согласно концепции кислотно-основного основания Пирсона, могут с различной эффек-

тивностью взаимодействовать с функциональными группами органических и биологических молекул, и было показано, что стеараты металлов могут быть использованы в качестве металл-аффинных сорбентов.

Технология ЛБ предполагает перенос монослоя на твердую подложку после его формирования на поверхности водной субфазы. Нами было сделано предположение, что монослой может быть получен на капле, когда геометрия самой капли субфазы на гидрофобной поверхности обуславливает формирование монослоя, а скорость испарения растворителя обеспечивает коллапсирование монослоя во время получения. Сам процесс не занимает много времени. При этом легко варьировать тип металла, вводимого в монослой и, следовательно, регулировать сродство получаемого сорбента к различным анализам.

Целью работы было провести модификацию поверхности пятен мишени для МАЛДИ-масс-спектрометрии различными сорбентами и провести пробоподготовку, селективную концентрацию аналита непосредственно перед масс-спектрометрическим анализом. В качестве субфазы для образования монослоя на поверхности мишени был выбран водный раствор соли металла (0,001 моль/л) объемом 0,7 мкл. Раствор стеариновой кислоты в гексане (0,001 моль/л) наносили на поверхность капли. Насыщенный раствор стеариновой кислоты в гексане скатывался по капле, расслаиваясь на поверхности водной фазы, а после высыхания водной части на пятне мишени образовывалась характерная неоднородная поверхность, обладающая гидрофобными свойствами, что позволяло наносить на ее поверхность водную каплю объемом до 10 мкл, и таким образом обеспечивало условия для проведения металл-аффинной экстракции.

В качестве образца был использован триптический гидролизат, содержащий ковалентные аддукты метаболитов лекарственного препарата диклофенака с глобином человека, так как из-за низкой чувствительности к диклофенаку и его производным при регистрации масс-спектров в режиме положительных ионов детекция сигналов целевых аддуктов весьма затруднительна.

Для обогащения на пятно сорбента на мишени наносили 8 мкл 0.1% водного раствора трифторуксусной кислоты (0.1 % ТФУ) к которому добавляли 1 мкл образца (концентрация глобина до триптического гидролиза составляла 0,3 мг/мл) и инкубировали в течение 20 минут. Затем раствор удаляли, пятно дважды промывали 8 мкл 0.1 % ТФУ и добавляли 2 мкл насыщенного раствора α -циано-4-гидроксикоричной кислоты в 50% водном ацетонитриле. После высушивания мишень помещали в масс-спектрометр, и регистрировали масс-спектры в ре-

жиме положительных ионов. Показано, что после металл-аффинной экстракции в спектре надежно детектируются и идентифицируются сигналы, соответствующие аддуктам диклофенака с глобином человека. Предложенный подход прежде всего создан в качестве альтернативы трудоемкой пробоподготовке биопроб, при этом при удалении супернатанта и на стадии отмывки поверхности модифицированного пятна происходит удаление примесей и нецелевых соединений, достигается эффект концентрирования и повышения чувствительности детекции.