

*Кельщева О.А.^{1,2}, Сергиенко А.Д.¹, Ильющонок С.К.²,
Горбунов А.Ю.³, Мурадымов М.З.¹, Краснов Н.В.¹, Подольская Е.П.^{2,1}*
**Модификация МАЛДИ-мишени оксидами металлов для проведе-
ния пробоподготовки перед масс-спектрометрическим анализом**

¹Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация

²Институт токсикологии ФМБА России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

³НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека ФМБА России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Анализ биологических веществ требует использования высокочувствительных аналитических методов. Часто не только низкая концентрация аналита, но и малое количество образца, доступное для анализа, является ограничивающим фактором. МАЛДИ-масс-спектрометрия показывает выдающуюся чувствительность, однако, возможности метода упираются в трудности с объединением его с процессом подготовки пробы.

На сегодняшний день предложены несколько подходов к созданию «лаборатории на мишени», которые позволили бы проводить пробо-

подготовку образца непосредственно на поверхности мишени-носителя образцов для масс-спектрометрического анализа (МАЛДИ мишень). Так, поверхность мишени модифицируют различными структурами, позволяющими экстрагировать целевые соединения и удалять примеси. В первую очередь сюда относят аффинное концентрирование аналитов для целей фосфопротеомики и аддуктомики.

Способы модификации поверхности весьма разнообразны, а в основу активной поверхности могут входить и сорбенты для металл-аффинной хроматографии (МАХ).

В нашей работе предложен метод модифицирования поверхности МАЛДИ-мишени металл-аффинными сорбентами на основе оксидов металлов в ходе бескапельного электрораспыления при атмосферном давлении в нормальных условиях. Способ прост в исполнении, не требует применения высоких температур и полимеров.

Суспензия сорбента в растворе для электрораспыления (50% водный раствор ацетонитрила с добавкой муравьиной кислоты до 0,1%) поступает через металлический капилляр, к которому подается напряжение от 4000 до 4800 В. Напротив торца капилляра в качестве противоиэлектрода расположена МАЛДИ-мишень. В ходе электрораспыления коллоидного раствора образуется конус жидкости, из вершины мениска которого происходит полевая десорбция заряженных частиц сорбента. Таким способом на МАЛДИ мишени были сформированы пятна металл-аффинных сорбентов на основе оксида меди (II) и оксида никеля. Полученные пятна представляют собой достаточно тонкий слой частиц, устойчивый к механическому воздействию и растворителям, используемым для МАХ.

На МАЛДИ мишени, модифицированной сорбентами, провели пробоподготовку образца гидролизата глобина человека, содержащего аддукты метаболита диклофенака. На пятно сорбента наносили 3 мкл буфера для сорбции (0,1% водный раствор ТФУ), в каплю буфера добавляли 1 мкл образца гидролизата, выдерживали 20 минут. Затем каплю удаляли и промывали пятно буфером для сорбции. Далее на пятно сорбента нанесли 5 мкл 70% водного раствора ацетонитрила и 1 мкл МАЛДИ матрицы (α -циано-4-гидроксикоричная кислота). После высыхания мишень помещали в масс-спектрометр и с пятна сорбента записывали масс-спектр. После металл-аффинного анализа в спектрах детектируются и идентифицируются сигналы, соответствующие аддуктам пептидов глобина человека с метаболитом диклофенака. При этом при удалении супернатанта и на стадии отмывки поверхности пятна сорбента происходит удаление примесей и нецелевых соедине-

Республиканская конференция с международным участием, посвященная 80-летию со дня рождения Т. С. Морозкиной: ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ КАК ОСНОВА СОВРЕМЕННОЙ МЕДИЦИНЫ, Минск, 29 мая 2020 г.

ний, достигается эффект концентрирования и повышения чувствительности детекции.

Таким образом, с использованием метода электрораспыления была проведена модификация поверхности мишени для МАЛДИ-масс-спектрометрии сорбентами на основе оксидов меди и никеля. На пятнах сорбентов была проведена металл-аффинная экстракция, которая позволила детектировать и идентифицировать аддукт метаболита диклофенака с глобином человека в образце гидролизата.