

*Ильюшонок С.К.¹, Подольская Е.П.^{2,3}, Горбунов А.Ю.⁴, Краснов Н.В.³,
Кельцьева О.А.^{2,3}, Мурадымов М.З.⁴*

**Модификация малди мишени металл-афинными сорбентами в
ходе электрораспыления в нормальных условиях**

¹Институт биомедицинских систем и биотехнологий Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого, Санкт-Петербург, Российская Федерация

²Научно клинический центр токсикологии имени академика С.Н.Голикова Федерального медико-биологического агенства России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

³Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация

⁴Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека Федерального медико-биологического агенства России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

В наше время молекулярная биология, а также смежные с ней отрасли науки, такие как протеомика и фосфотеомика, достигли пика своего развития. Стимулирующим фактором стало изучение и расширение возможностей одного из самых чувствительных аналитических методов анализа: масс-спектрометрия с мягкими методами ионизации, в частности, матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация и ионизация электрораспылением.

Известны различные методы пробоподготовки, способствующие концентрированию целевого компонента (аналита) и очищению пробы от примесей.

Нами предложен принципиально новый способ модифицирования поверхности мишени для МАЛДИ масс-спектрометрии: ее покрытие металл-аффинными сорбентами посредством бескапельного электрораспыления при атмосферном давлении в нормальных условиях. Такими сорбентами в нашей работе выступали материалы на основе диоксида циркония ZrO_2 двух видов (нанопорошок Sigma-Aldrich и пористый нанодисперсный порошок).

Для покрытия поверхности мишени указанными материалами суспензия сорбента в растворе для электрораспыления (50% водный ацетонитрил с 1% муравьиной кислотой) подавалась через металлический капилляр, находящийся под напряжением 4,7 кВ. Роль противоионного электрода выполняла МАЛДИ мишень. При таком распылении образовывавшийся жидкостный менис принимал форму конуса Тейлора, с острия которого имела место быть полевая десорбция заряженных частиц. В итоге на поверхности ячеек мишени образовались пятна нанопорошка ZrO_2 и пористого нанодисперсного ZrO_2 . Данные пятна демонстрировали устойчивость к механическому воздействию и различным растворителям, которые были использованы в процессе пробоподготовки.

На полученных в ходе бескапельного электрораспыления пятнах ZrO_2 была проведена металл-аффинная хроматография смеси триптического гидролизата глобина человека и синтетических фосфорилированных пептидов. По результатам МАЛДИ масс-спектрометрического анализа исходной смеси были обнаружены только сигналы пептидов гемоглобина и двух нефосфорилированных форм синтетических пептидов. В свою очередь по результатам анализа образцов после металл-аффинной хроматографии на пятнах пористого нанодисперсного ZrO_2 и нанопорошка ZrO_2 были детектированы интенсивные сигналы фосфорилированных пептидов. При этом следует отметить, что сигналы фосфорилированных пептидов в случае использования пористого нанопорошка ZrO_2 имели более высокую интенсивность по сравнению с неспецифически связывшимися пептидами глобина. По всей видимости, это связано с преимуществами пористой структуры частиц сорбента

По итогам работы установлена возможность модификации МАЛДИ мишени нанопорошком диоксида циркония посредством бескапельного электрораспыления. Ячейки мишени, покрытые ZrO_2 подобным образом, были успешно использованы для специфичной экстракции фосфорилированных пептидов из смеси синтетических пептидов и триптического гидролизата глобина методом металл-аффинной хроматографии.