

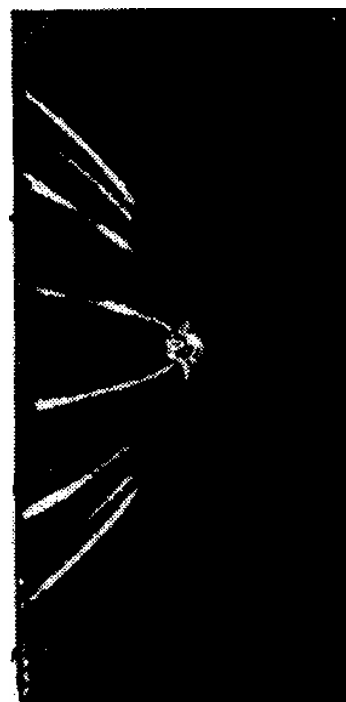
СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ЕЕ РАЗВИТИЯ

Горшков М.В.

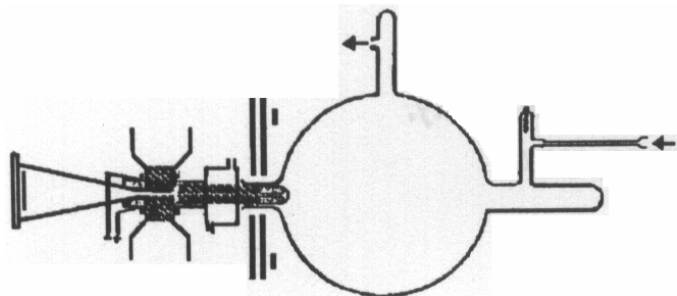
Лаборатория физических основ и техники масс-спектрометрии биополимеров
Институт энергетических проблем химической физики РАН



Масс-спектрометрия - это физический метод измерения отношения массы заряженных частиц материи (ионов) к их заряду и определения количества ионов с определенным отношением массы к заряду.



Magnetic Field Deflection (top quadrant) ↑
Electric Field Deflection ←
Magnetic Field Deflection (bottom quadrant) ↓



Томсон (J.J.Thomson) - 1912 г. создает первый прототип масс-спектрометра и измеряет масс-спектры компонент воздуха

История масс-спектрометрии

- 1912** — Томсон создает первый масс-спектрометр и получает масс-спектры молекул кислорода, азота, угарного газа, углекислого газа и фосгена.
- 1913** — С помощью своего масс-спектрометра Томсон открывает изотопы неона: неон-20 и неон-22.
- 1923** — Астон изменяет с помощью масс-спектрометра дефект массы.
- 1934** — Конрад применяет масс-спектрометрию для анализа органических молекул.
- 1940** — Нир с помощью препаративного масс-спектрометрии выделяет уран-235
- 1948** — Камероном и Эггером создан первый масс-спектрометр с время-пролетным масс-анализатором.
- 1953** — Пауль патентует квадрупольный масс-анализатор и ионную ловушку.
- 1956** — МакЛаферти и Голке создают первый газовый хромато-масс-спектрометр
- 1966** — Мансон и Филд открывают химическую ионизацию
- 1972** — Каратаев и Мамырин изобретают время-пролетный масс-анализатор с фокусировкой, значительно улучшающий разрешение анализатора.
- 1974** — Первый жидкостный хромато-масс-спектрометр создан Арпино, Болдуином и МакЛаферти
- 1981** — Барбер, Бордоли, Седжвик и Тайлор создают ионизатор с бомбардировкой быстрыми атомами (FAB)
- 1982** — Первый масс-спектр целого белка (инсулин) с помощью бомбардировки быстрыми атомами (FAB)
- 1983** — Бланки и Бестал изобретают термоспрей.
- 1984** — Александров и Фенн независимо друг от друга изобретают электроспрей
- 1987** — Танака, Карас, и Хилленкамп изобретают ионизацию лазерной десорбцией при содействии матрицы (MALDI).
- 1999** — Александр Макаров изобретает электростатическую ионную ловушку.

ДВЕ ТЕХНОЛОГИИ, ОПРЕДЕЛИВШИЕ СОВРЕМЕННОЕ РАЗВИТИЕ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

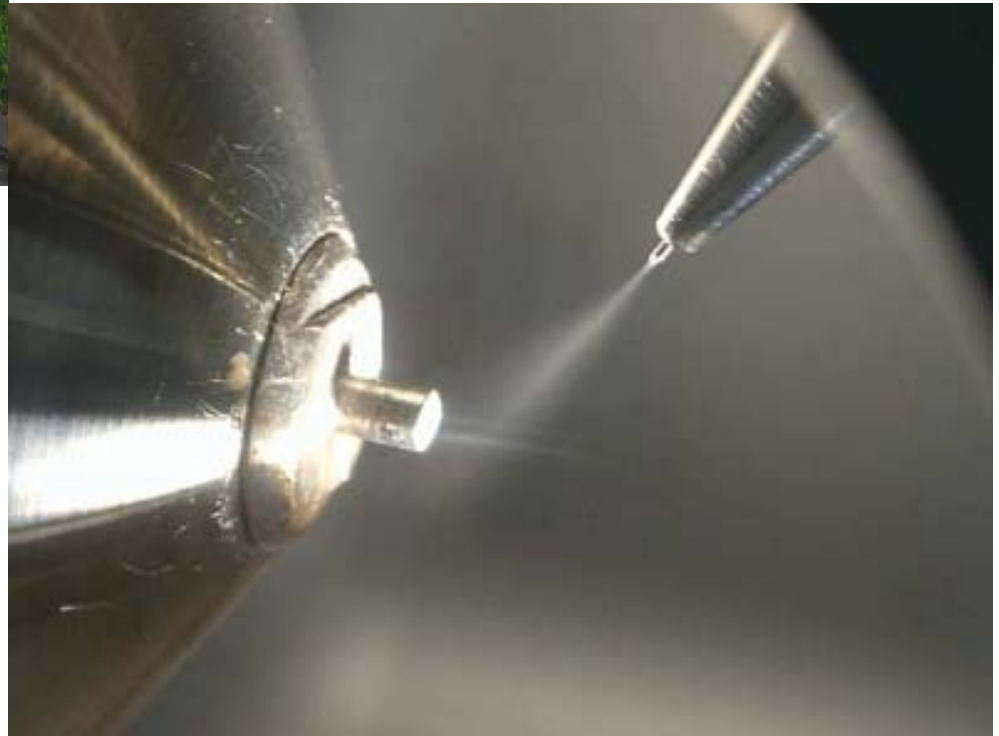
Электроспрей (ESI)

Лазерная десорбция/ионизация на матрице (MALDI)

- Возможность получать ионы макромолекул в газовой фазе
- Макромолекулы не разрушаются в процессе ионизации
- Сохраняются нековалентные комплексы макромолекул
- Высокая эффективность ионизации
- Возможность получения многозарядных ионов (электроспрей)

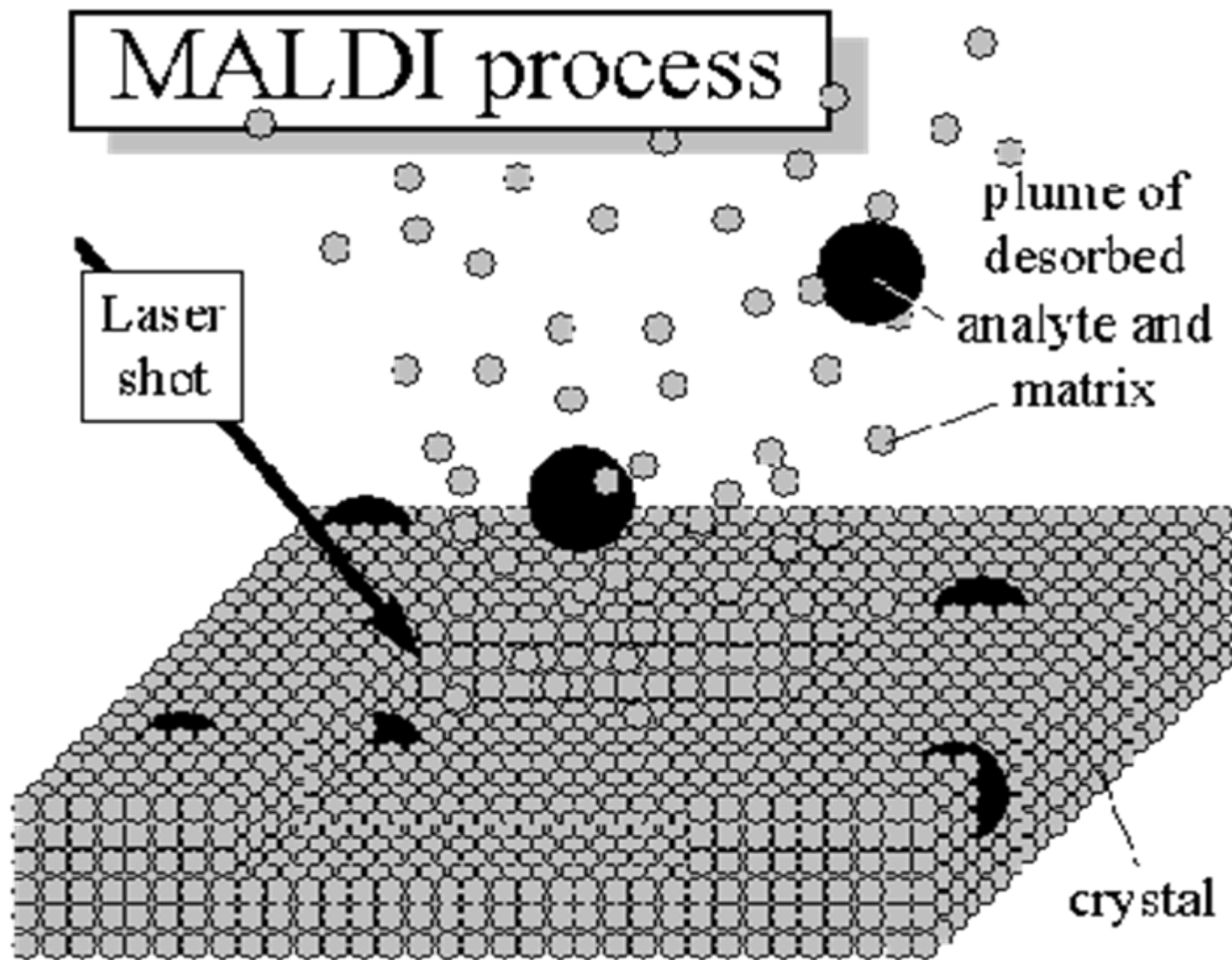
ЭЛЕКТРОСПРЕЙ (1984)

J. Fenn

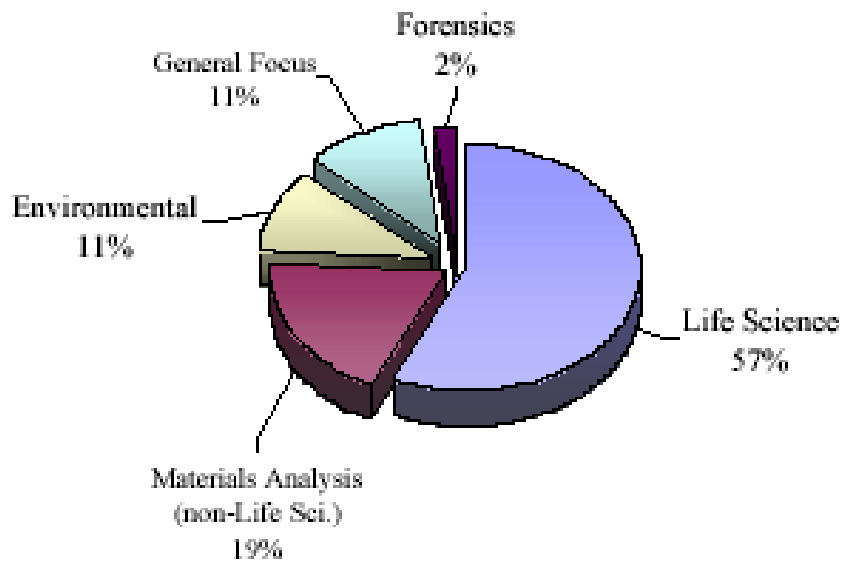
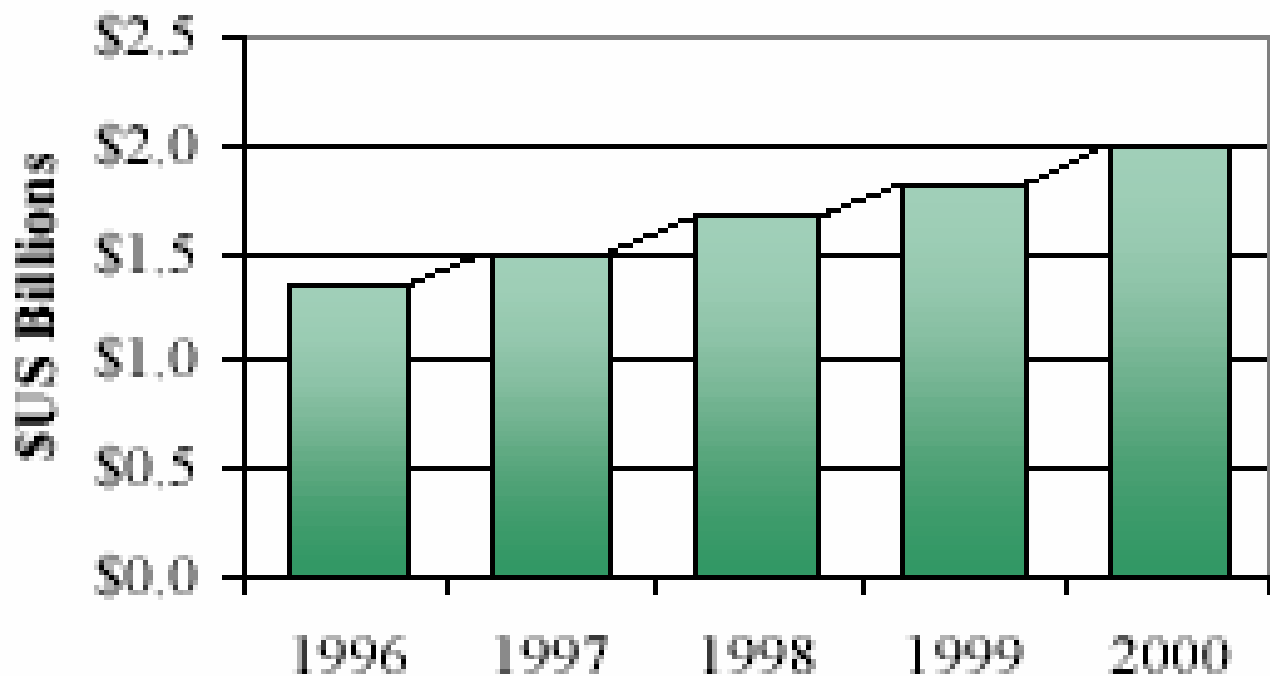


Лазерная десорбция-ионизация на матрице (1987)

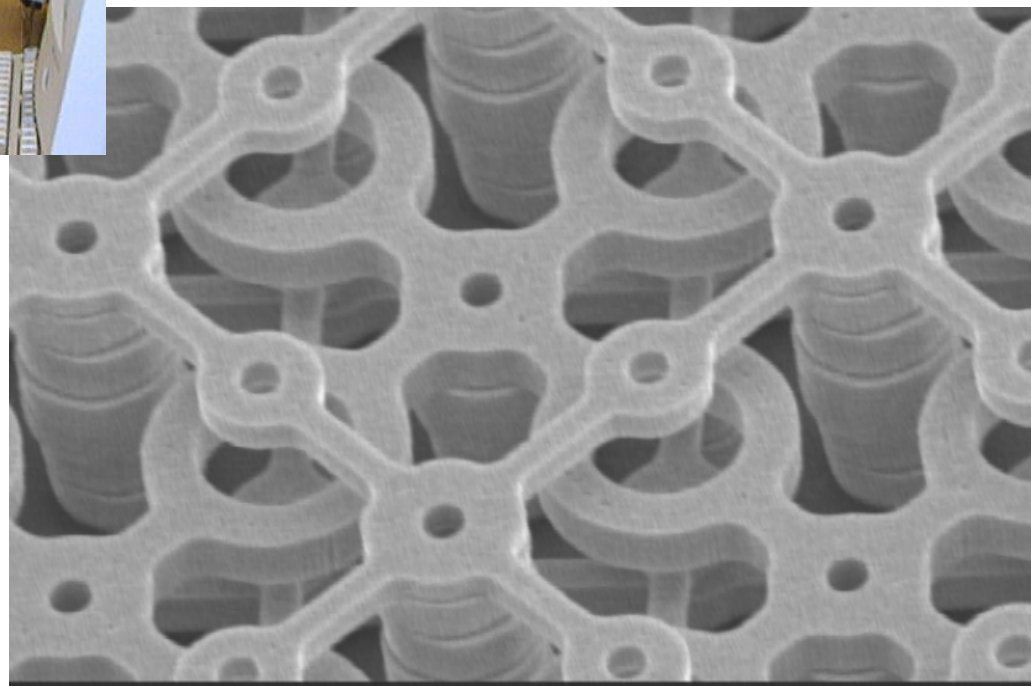
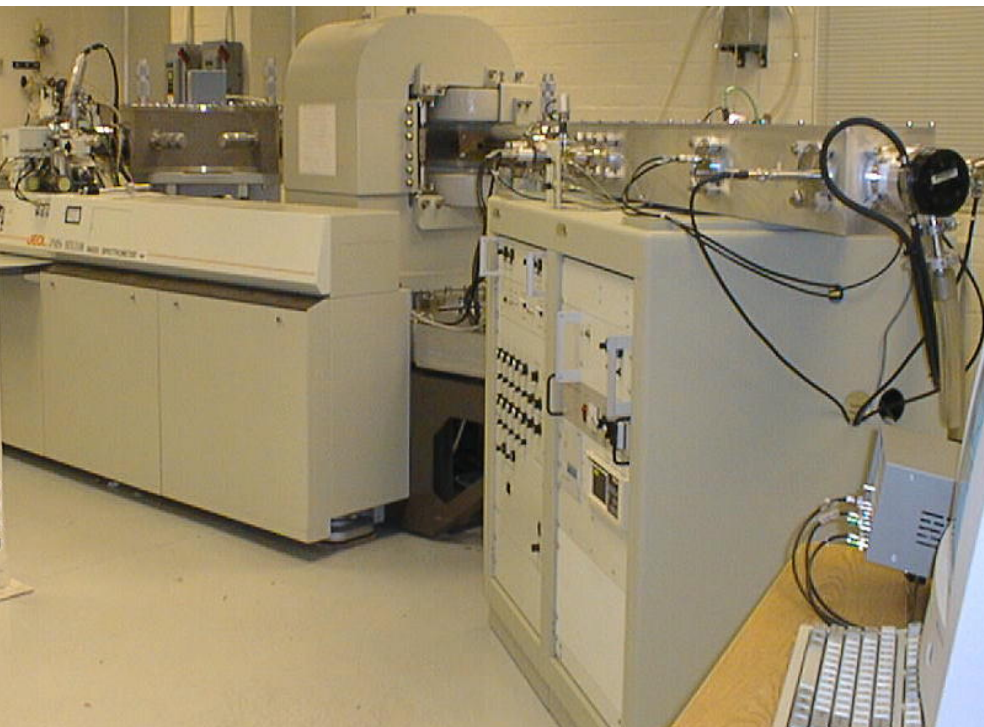
К. Tanaka, М. Karas, F. Hillenkamp



Mass Spectrometry Historical Demand



по данным SDI Market Research



*Sandia National Laboratories.
#Sandia is a multiprogram laboratory operated
by Sandia Corporation, Lockheed Martin
Company, for the US Department of Energy*

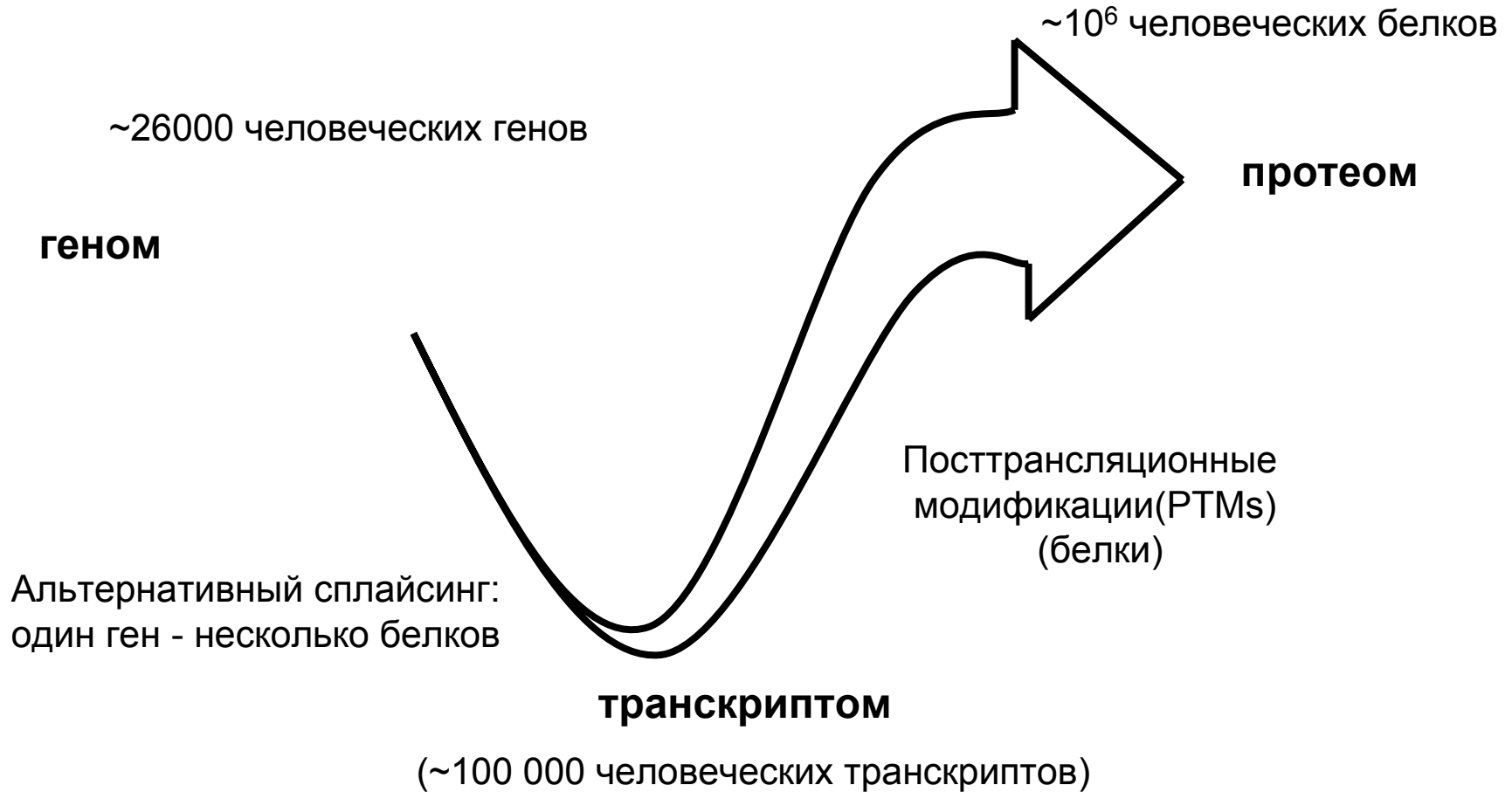
MESA West t

10kU

2 μ m

x9,500

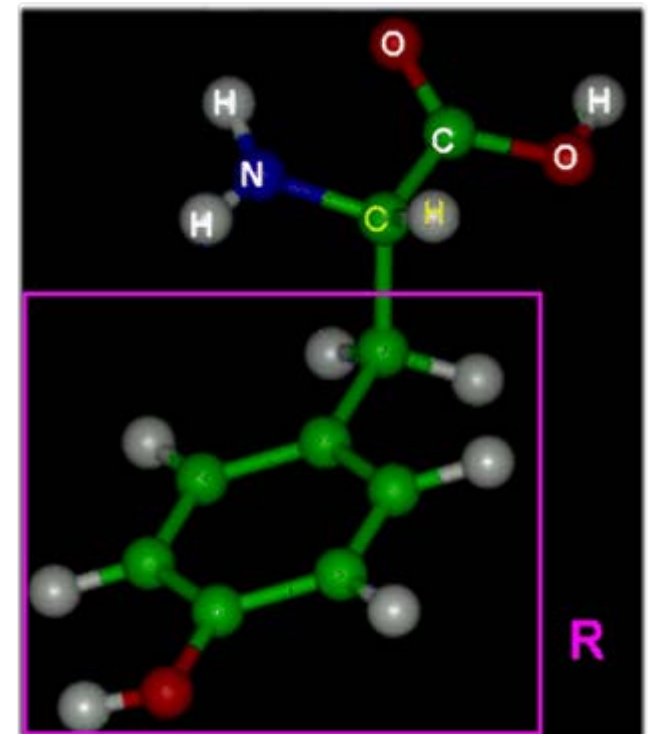
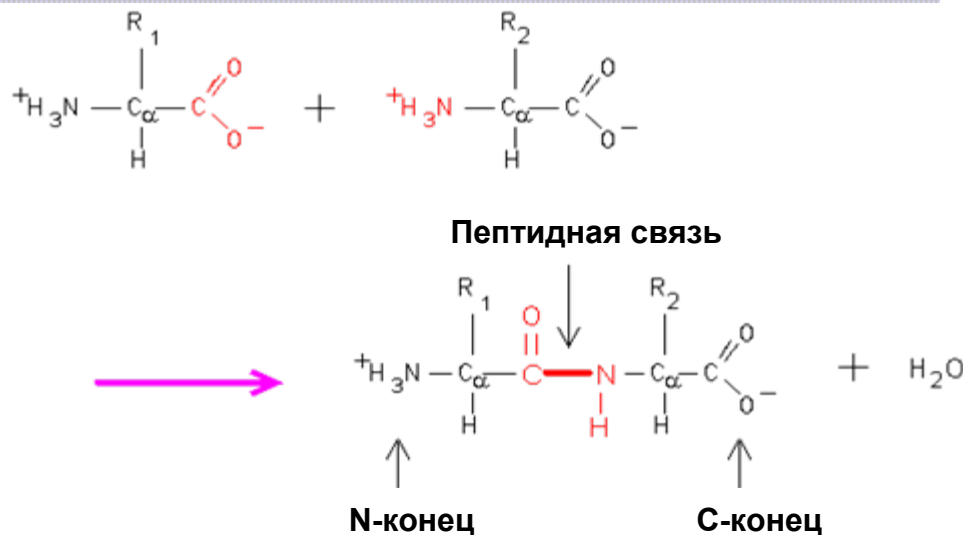
От генома к протеому



Белки – основные функциональные элементы биосистем



3-х мерная структура белка
RNaseA: <http://www.rcsb.org/pdb>

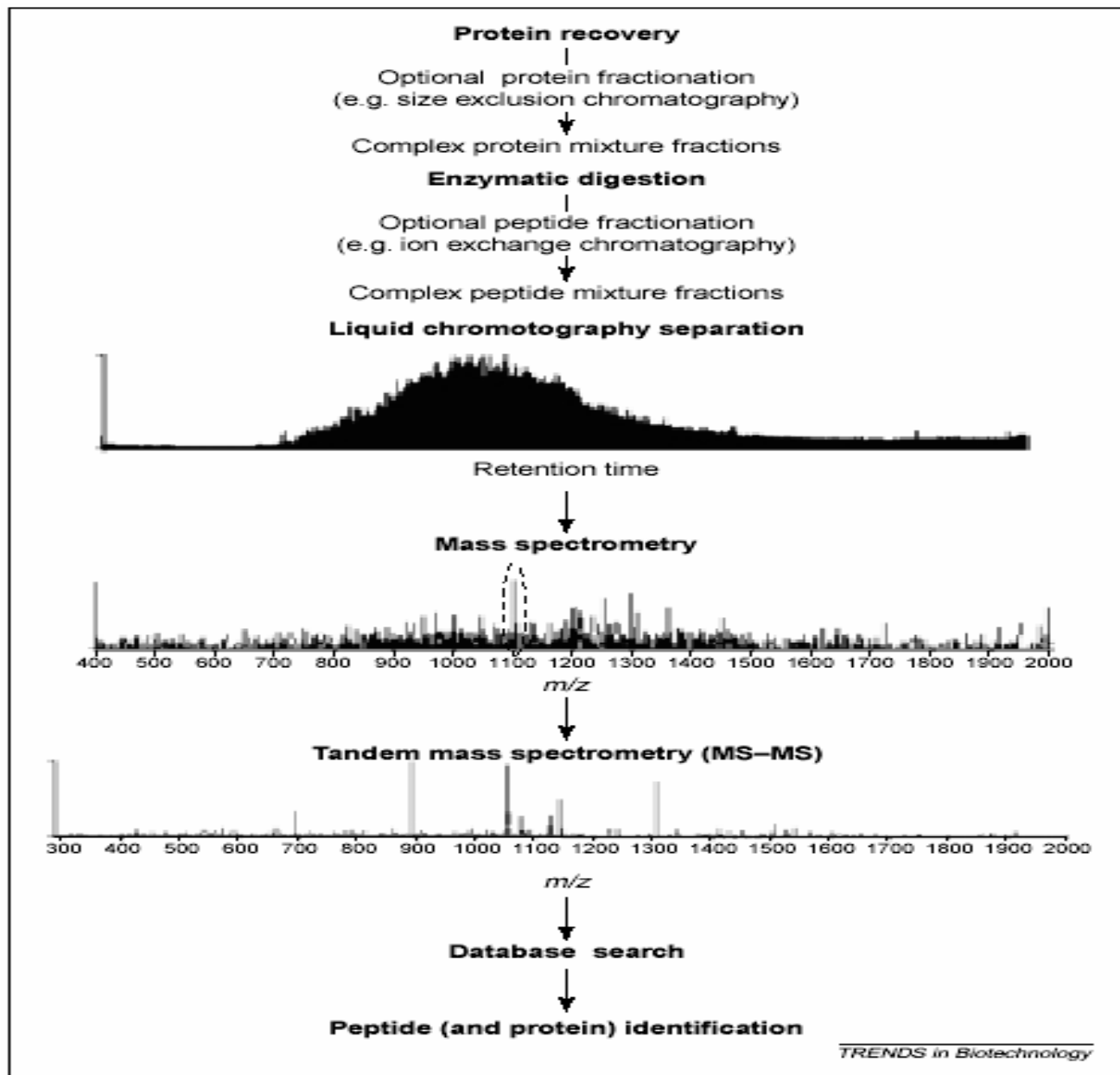


Первичная структура белка



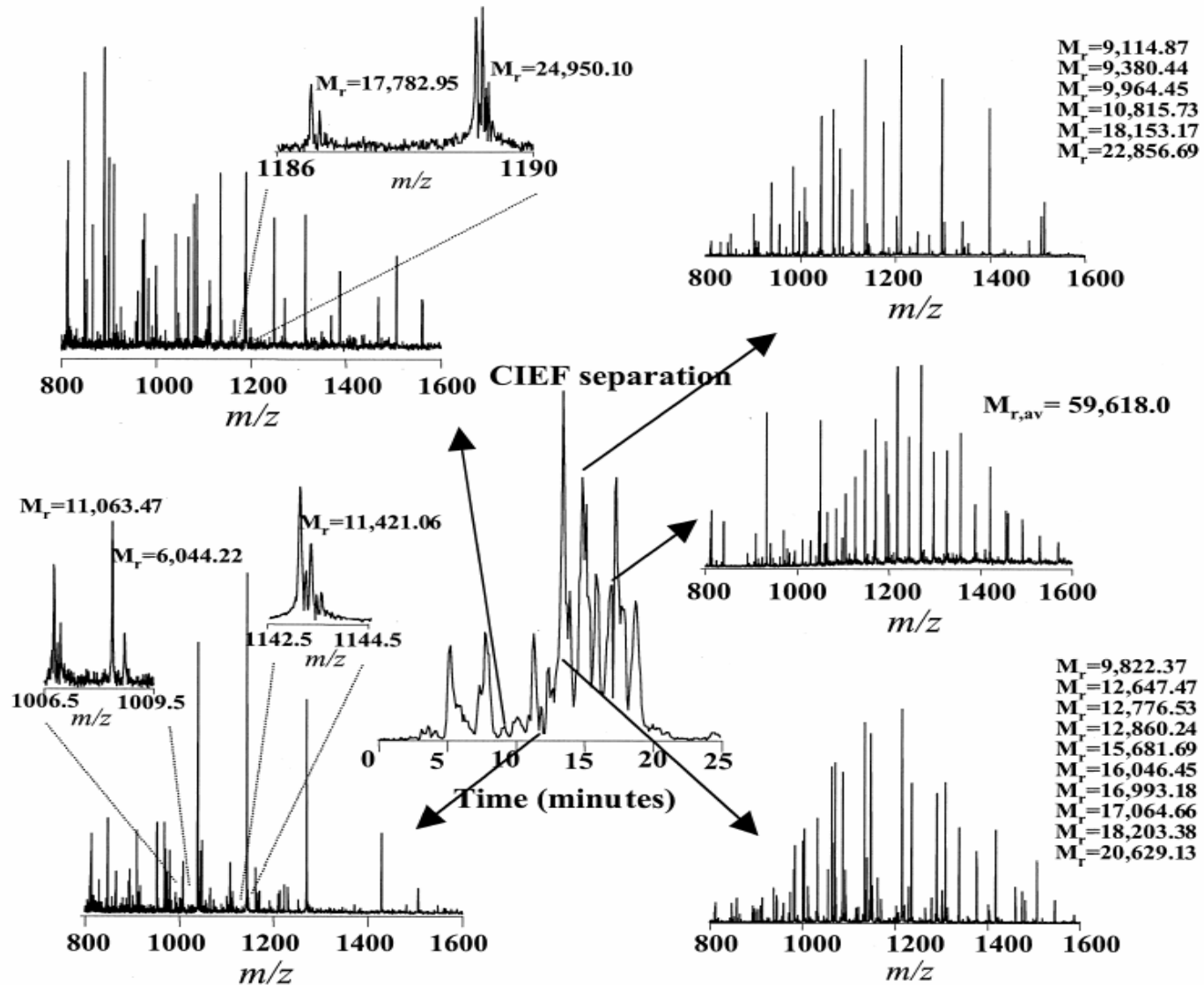
В настоящее время, первичная структура белков и пептидов определяется практически исключительно масс-спектрометрическими методами исключительно

Экспериментальный цикл идентификации белков и пептидов



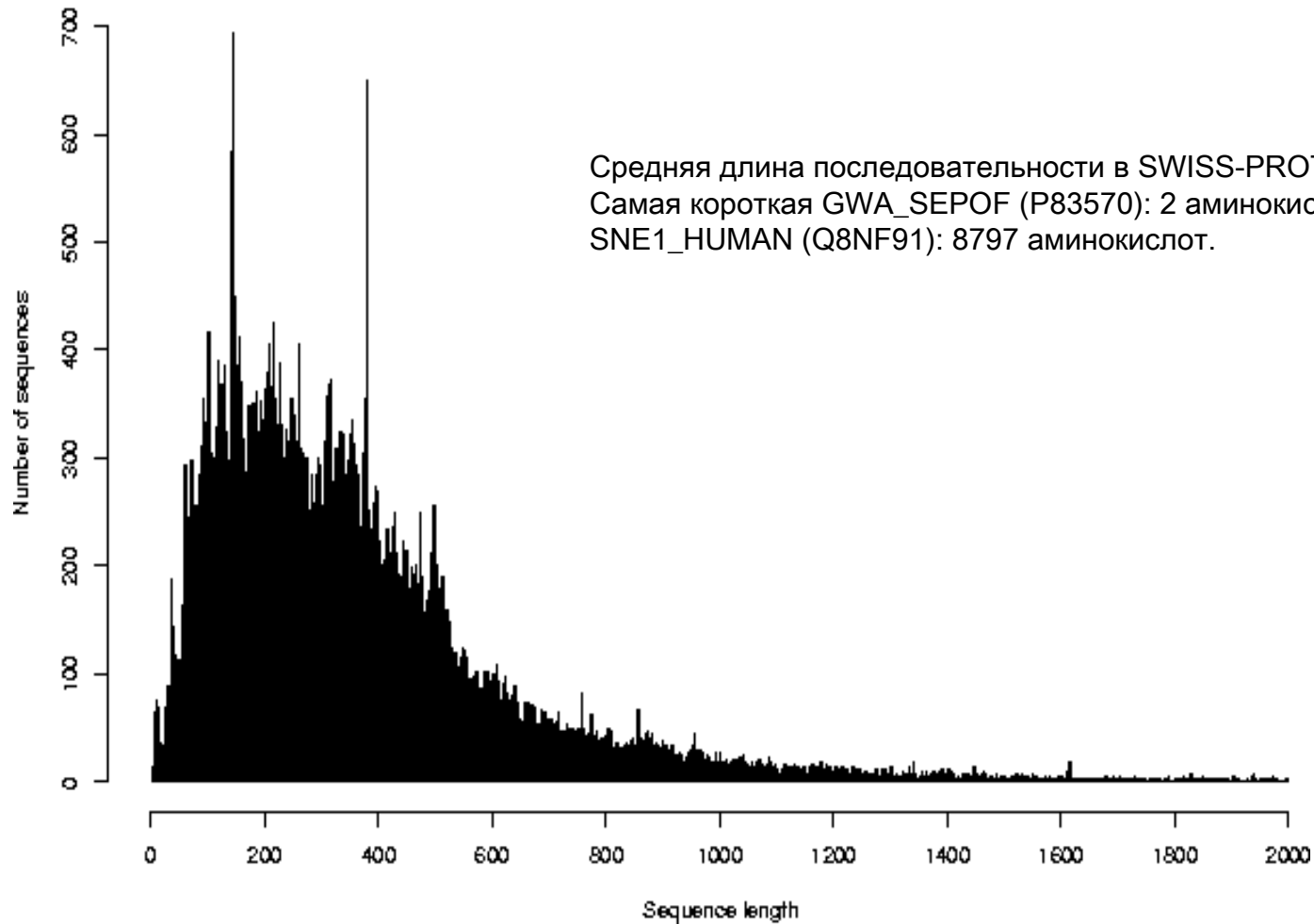
Анализ бактерии кишечной палочки *E. coli* методом масс-спектрометрии ИЦР в комбинации с капиллярным электрофорезом.

В каждом эксперименте длительностью 30 мин проводится идентификация 900 белков



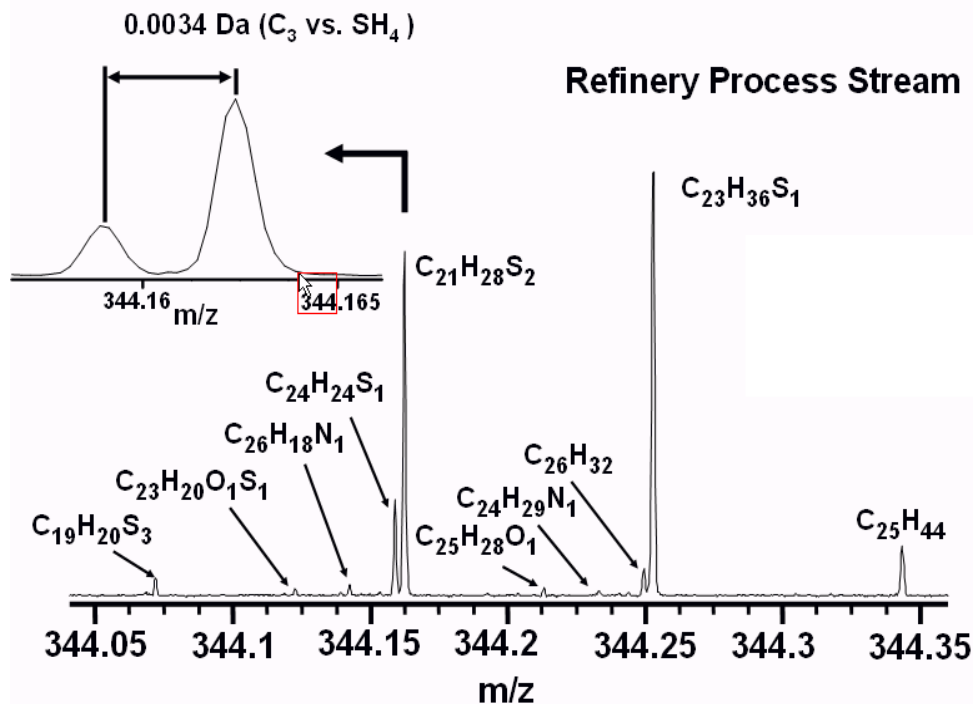
Масштаб зарегистрированных протеомных данных

Распределение последовательностей белков, представленных в базе данных SWISS-PROT по длине аминокислотной последовательности

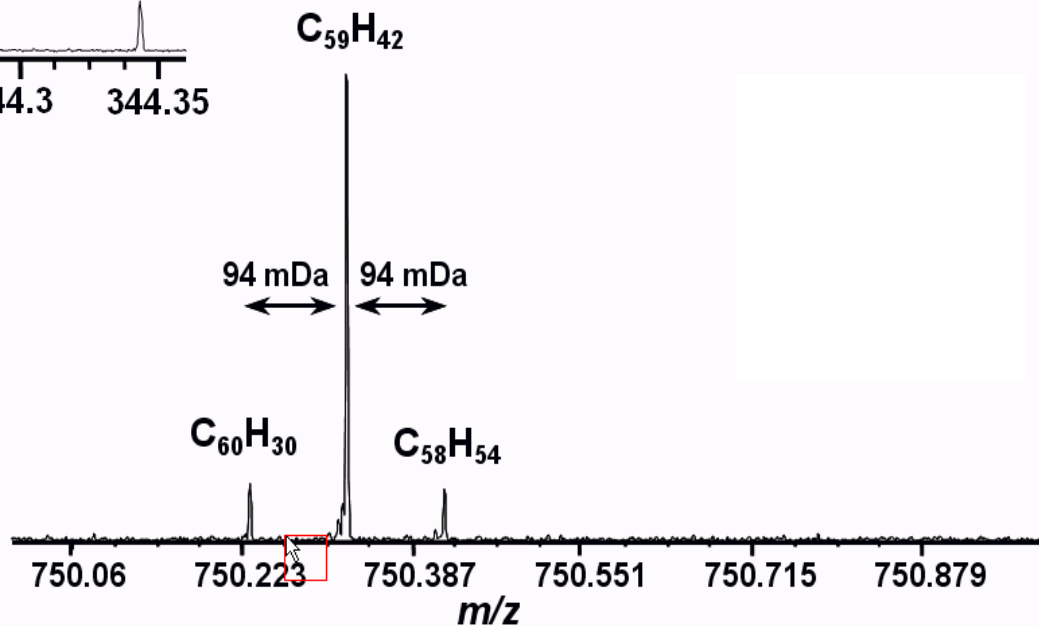


База данных SWISS-PROT 48.8 от 10.01.06: содержит 205780 последовательностей, состоящих из 74 898 419 аминокислот.

Определение элементного состава веществ с помощью масс-спектрометрии высокого разрешения



данные из Schaub, T.M.; Linden, H.B.;
Hendrickson, C.L. and Marshall, A.G., *Rapid
Commun. Mass Sp.*, 18, 1641-1644, 2004

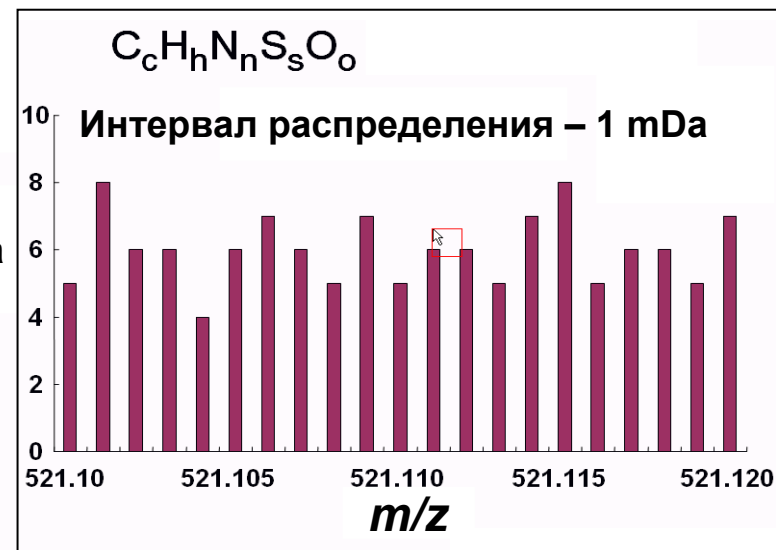
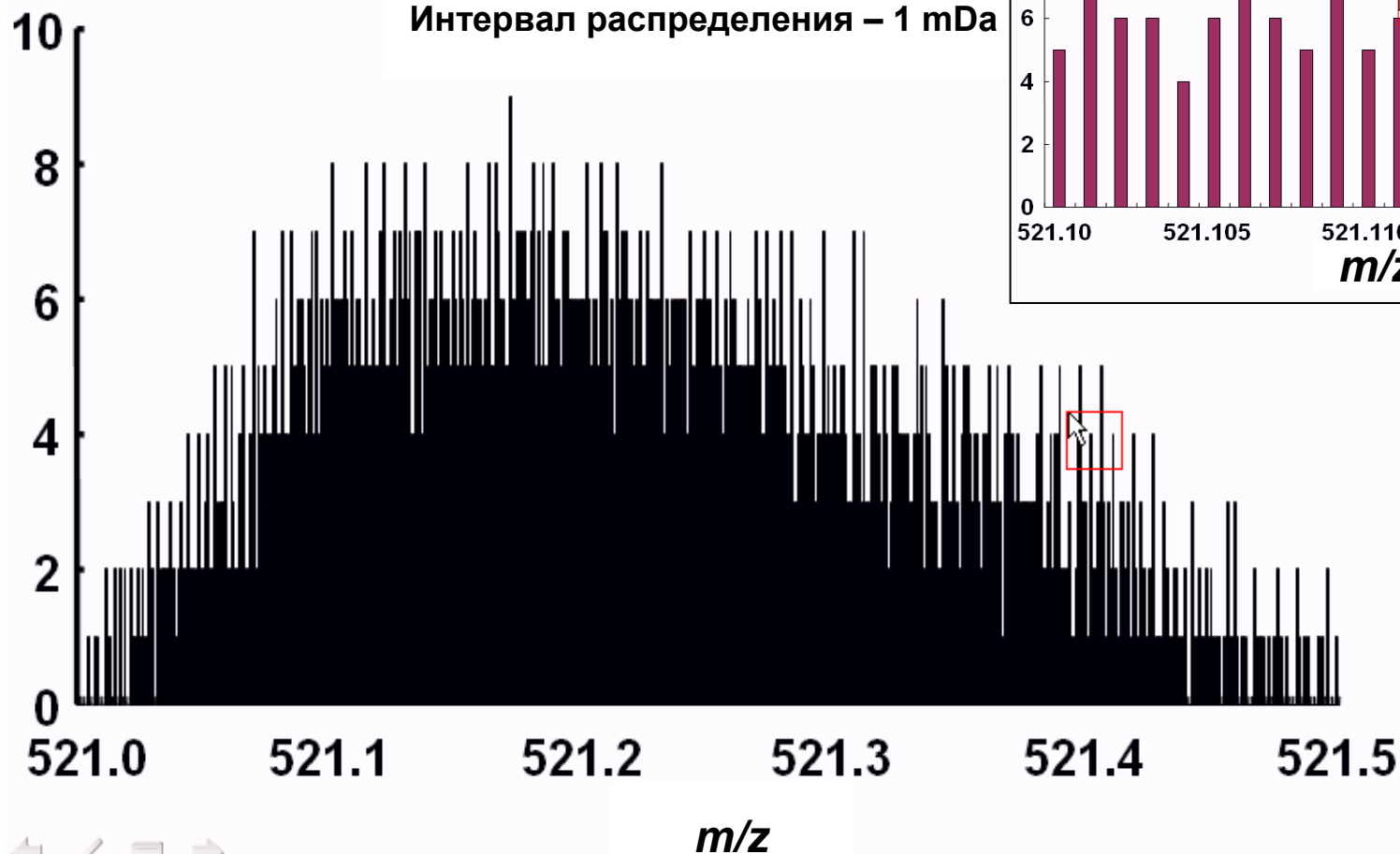


данные из Talyzin, A.V.; Tsybin, Y.O.; Schaub,
T.M.; *J. Phys. Chem. B*, 109, 12742-12747, 2005

Распределение возможных элементных составов органического соединения
в интервале молекулярных масс 0.5 Da на массе 521 Da при точности
измерения 2 ppm



Интервал распределения – 1 mDa



Распределение возможных элементарных составов
органического соединения в интервале молекулярных масс
20 mDa на массе 521 Da



Интервал распределения – 0.5 mDa



Точность измерения - 1 ppm



m/z



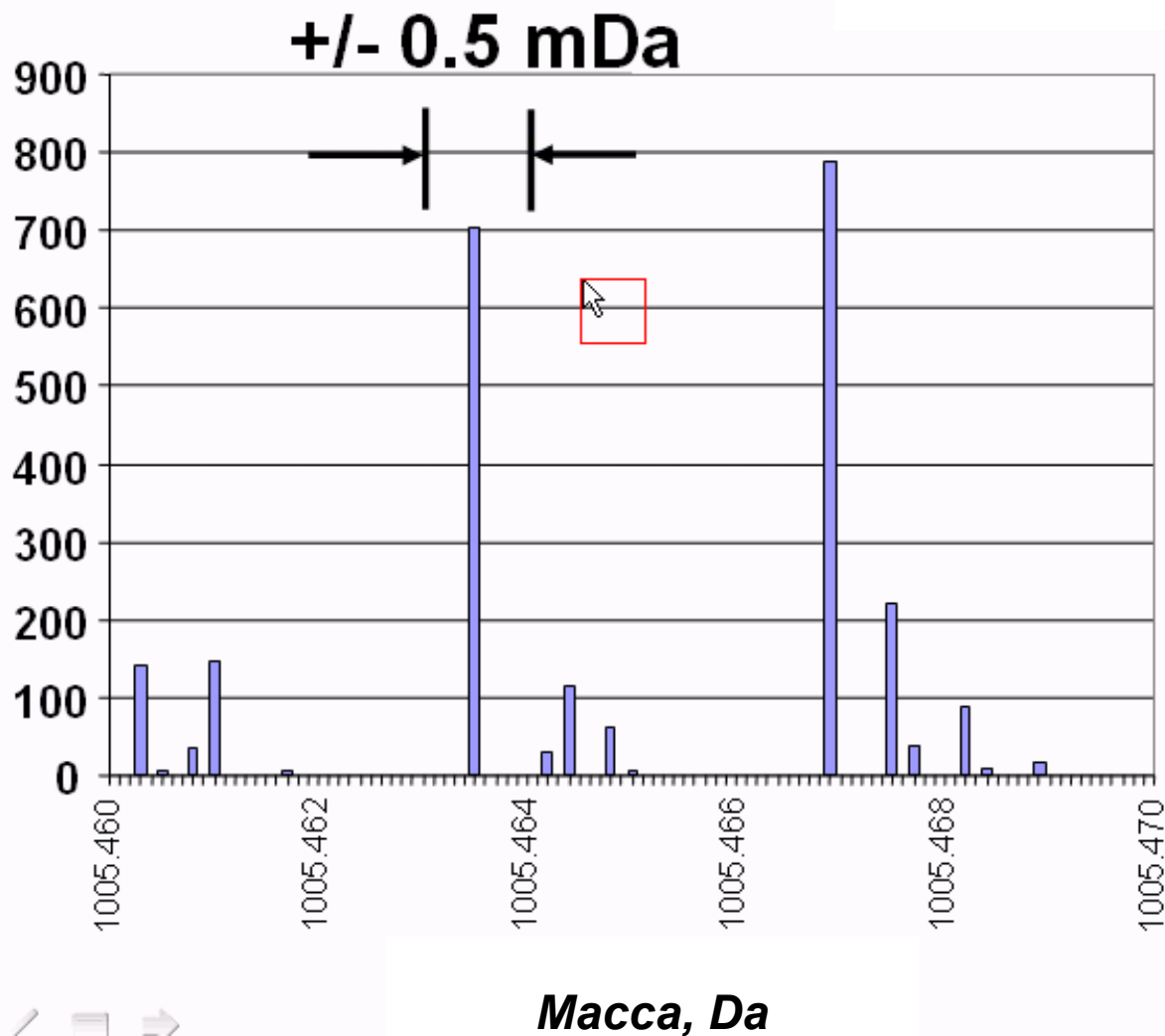
Интервал распределения – 0.1 mDa



Точность измерения - 0.2 ppm

m/z

Распределение возможных аминокислотных композиций в интервале молекулярных масс 10 mDa для пептида массой 1005 Da при точности измерения 0.5 ppm



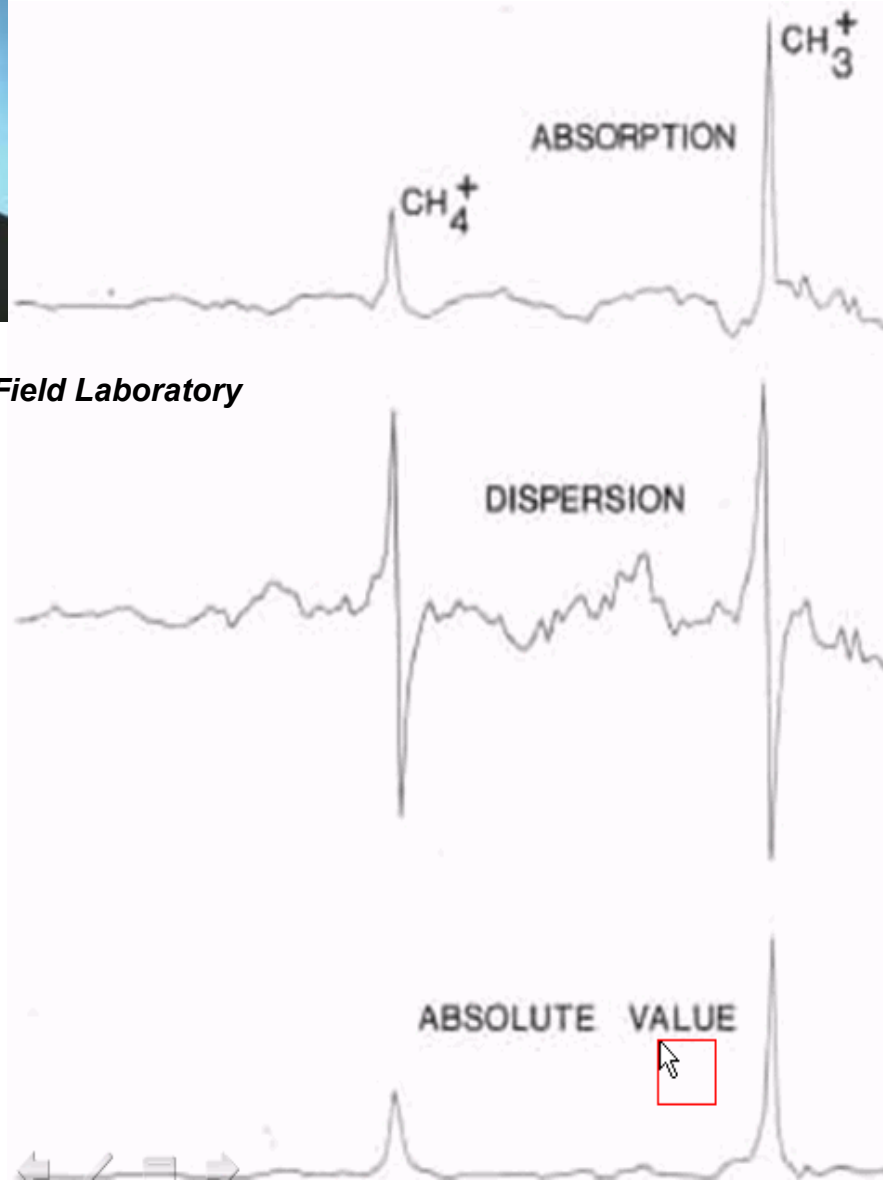
НАИБОЛЕЕ ЗНАЧИМЫЕ ТЕХНОЛОГИИ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ РАЗВИТИЕ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ В ПОСЛЕДНЕЕ ДЕСЯТИЛЕТИЕ

- Масс-спектрометрия ионного циклотронного резонанса с преобразованием Фурье как наиболее точный метод определения масс - FTICR-MS (M. Comisarow, A. Marshall, U. British Columbia, Канада, 1974)
- Масс-рефлектрон – Б.А. Мамырин, В.И.Каратаев, ФТИ им. А.Ф. Иоффе РАН, 1972)
- Время-пролетная масс-спектрометрия с ортогональным вводом ионов, масс-рефлектроном и атмосферным источником ионизации - ESI-oTOF-MS (А. Ф. Додонов, И. Чернушевич, В. Лайко, ИНЭП ХФ РАН, Россия, 1991)
- «Линейная» ионная ловушка на основе радиочастотного мультиполя – LIT (D/ Douglas, U. British Columbia, Канада, 1993)
- Фрагментация ионов биомолекул на основе захвата медленных электронов – ECD (P. A. Zubarev, Cornell U., США, 1998)
- Масс-спектрометр на основе гиперболоидальной динамической электростатической ловушки – Orbitrap (А. А. Макаров, HD Technologies, Англия, 1999)

Масс-спектрометрия ионного циклотронного резонанса с преобразованием Фурье (1974 г)

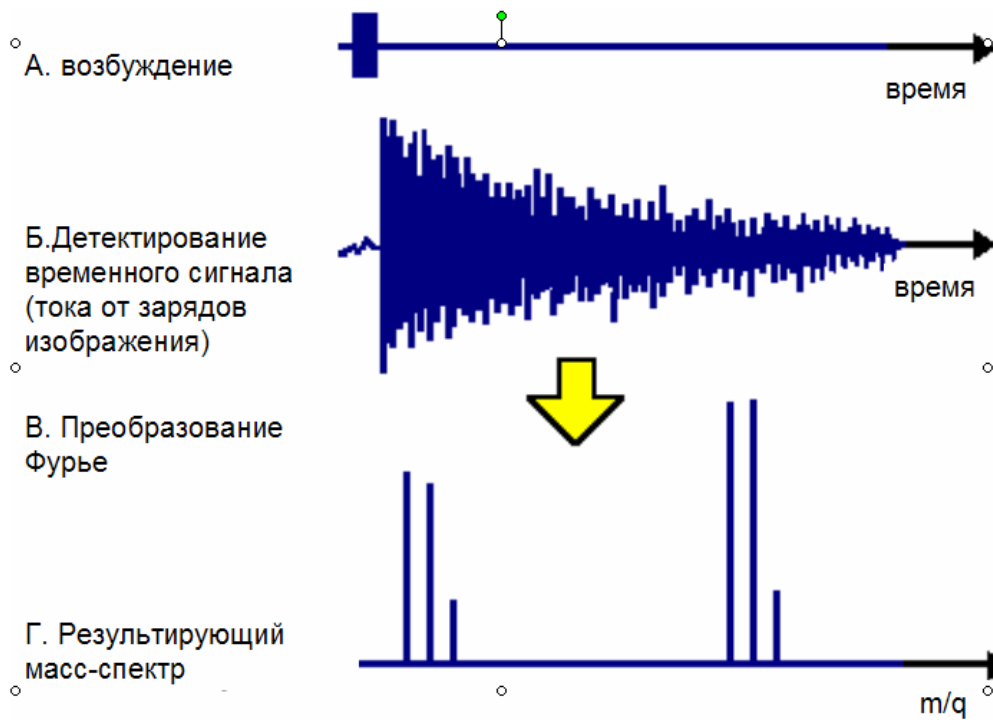
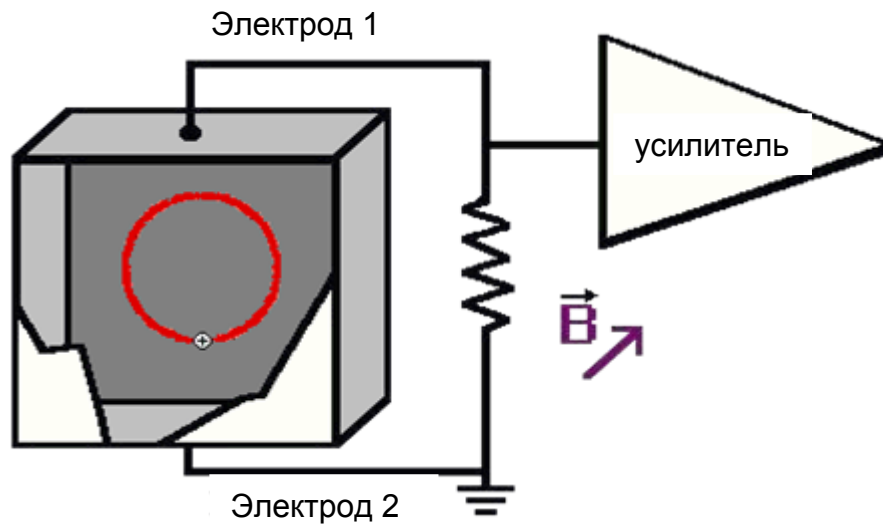


Alan G. Marshall
National High Magnetic Field Laboratory

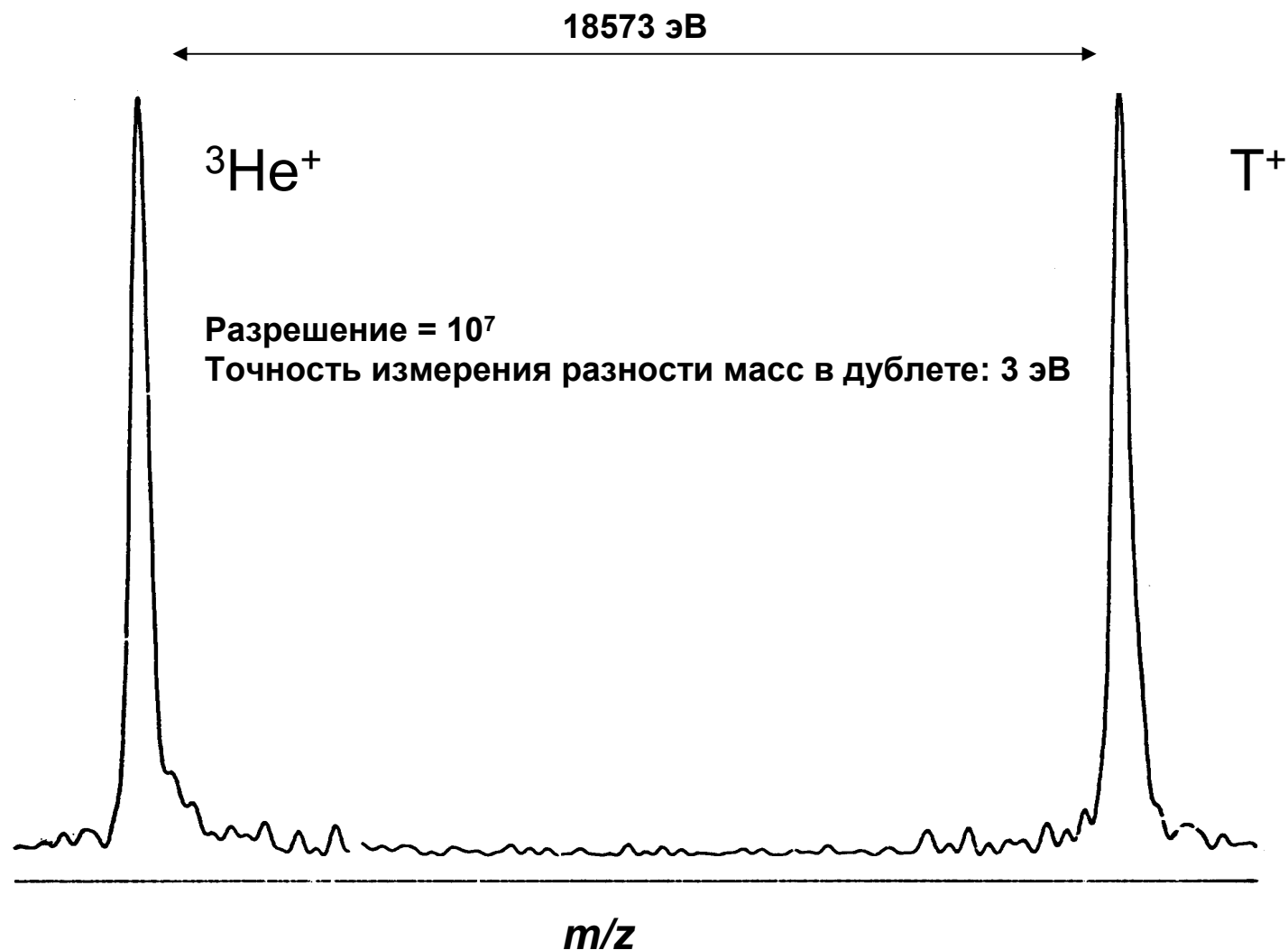


Comisarow & Marshall,
"Selective-Phase Ion Cyclotron
Resonance Spectroscopy,"
Can. J. Chem. **1974**, 52, 1997-
1999

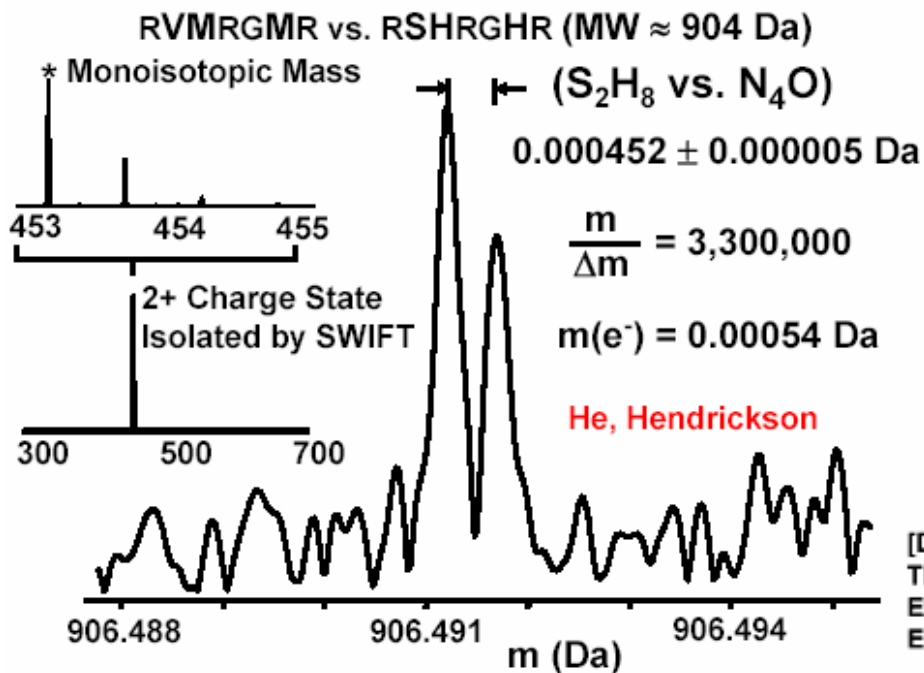
Принципы масс-спектрометрии ИЦР



Возможности масс-спектрометрии ИЦР: первая демонстрация разделения дублета ${}^3\text{He}^+/\text{T}^+$ и измерения разности масс (1984)



Возможности масс-спектрометрии ИЦР для разрешения дублетов макромолекул с близкими массами

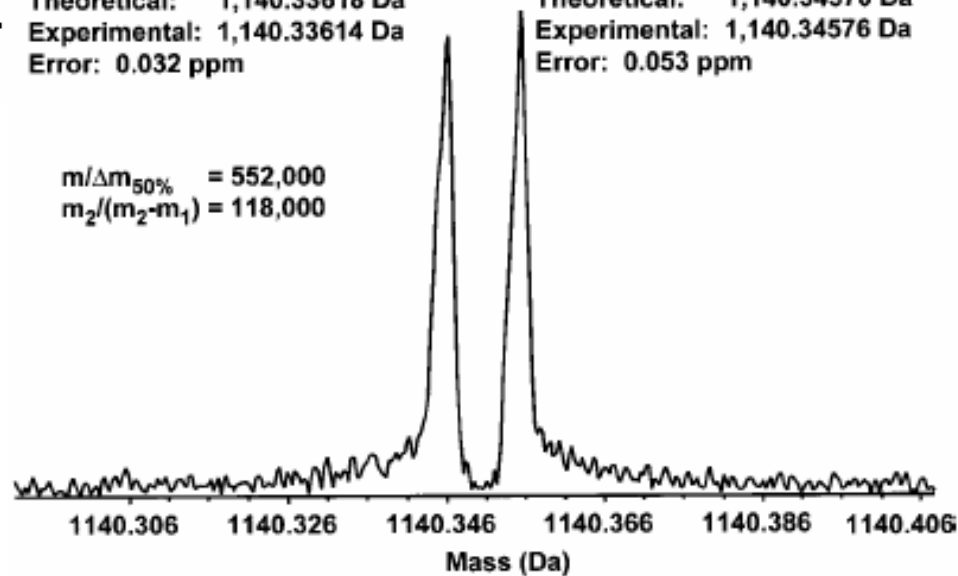


[DY[SO₃H]MGWMDF-NH₂ - 2H]²⁻
 Theoretical: 1,140.33618 Da
 Experimental: 1,140.33614 Da
 Error: 0.032 ppm

[DY[PO₃H₂]MGWMDF-NH₂ - 2H]²⁻
 Theoretical: 1,140.34570 Da
 Experimental: 1,140.34576 Da
 Error: 0.053 ppm

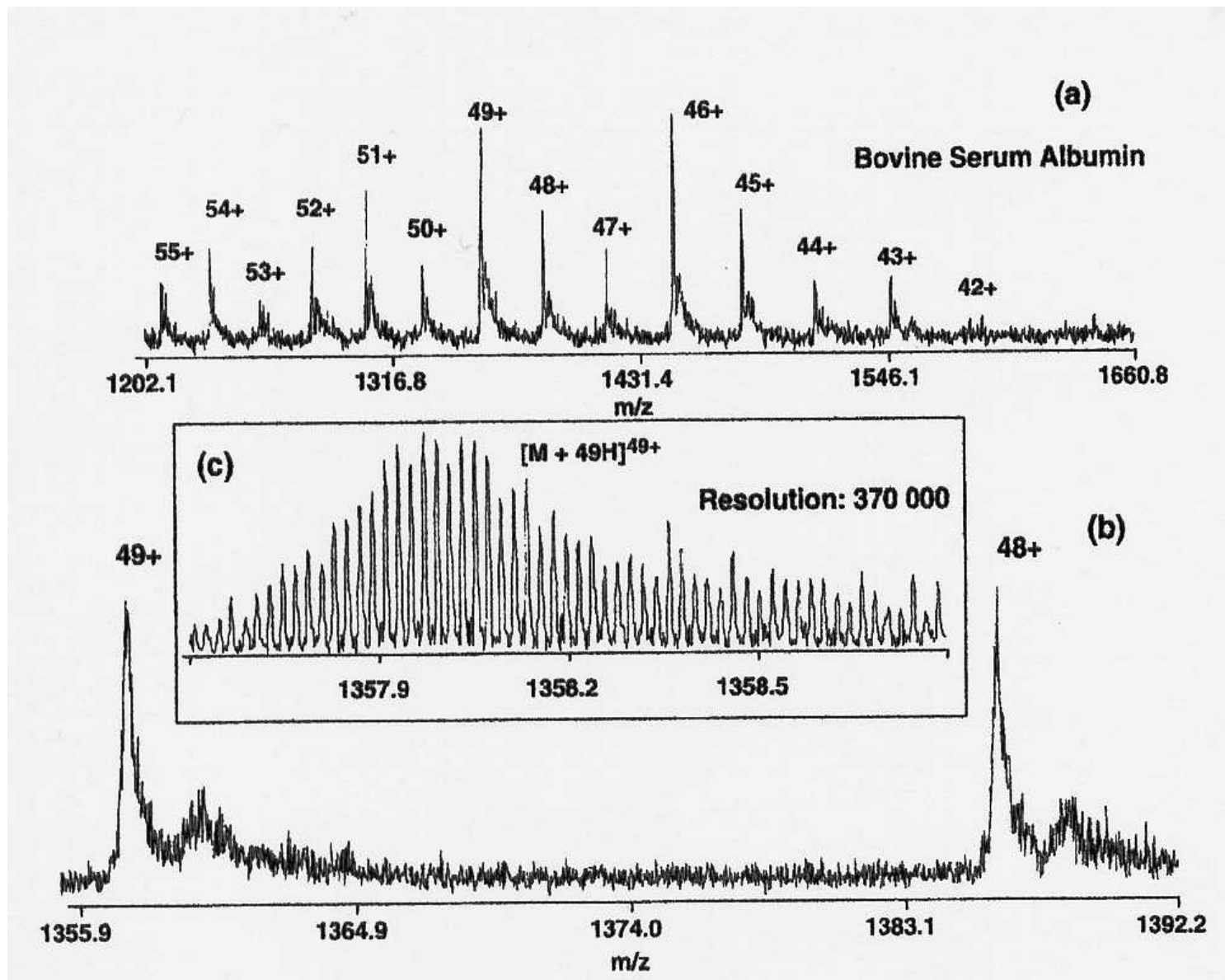
$$\frac{m}{\Delta m_{50\%}} = 552,000$$

$$\frac{m_2}{(m_2 - m_1)} = 118,000$$

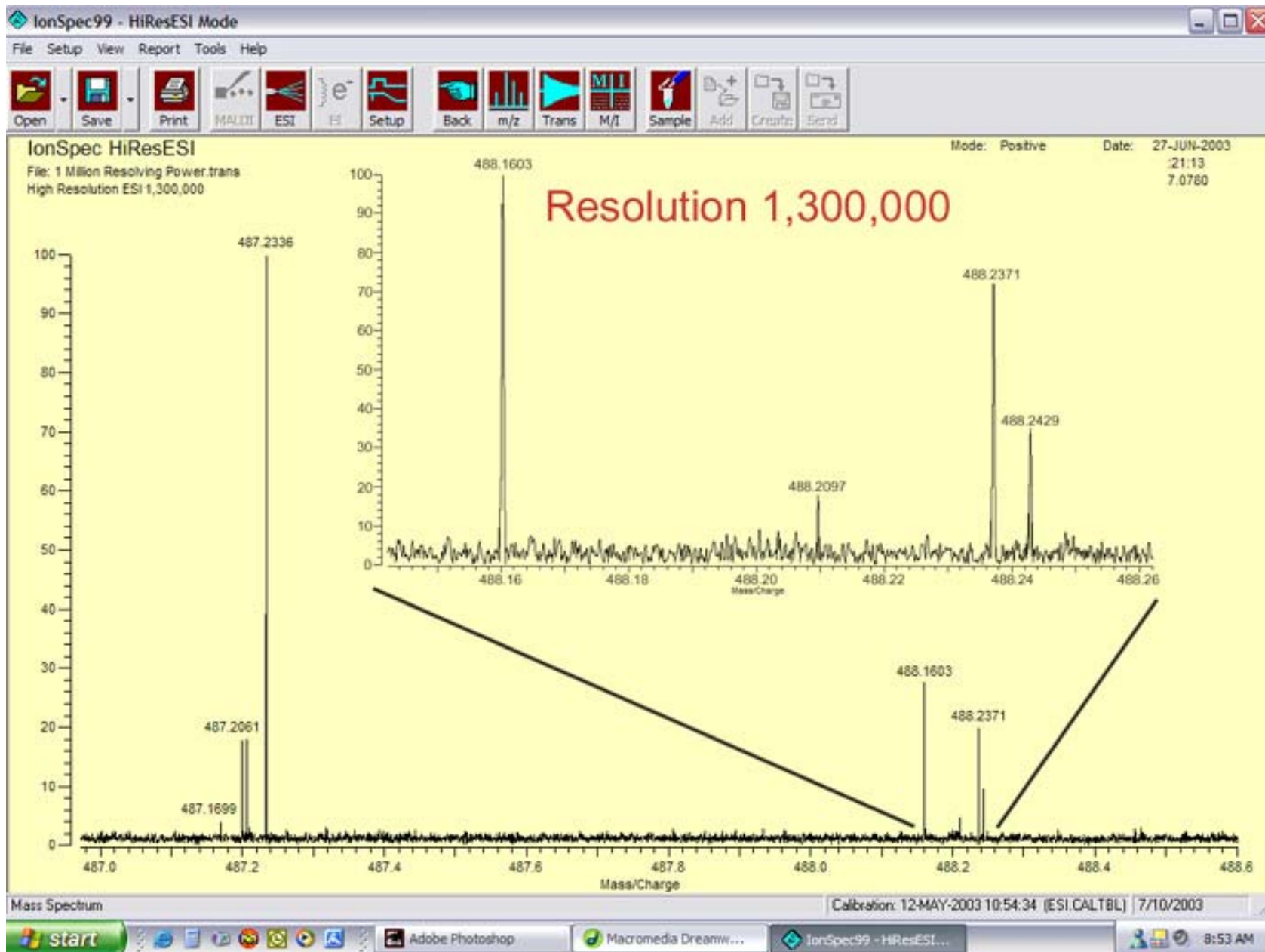


данные из F. He, C.L. Hendrickson, and A.G. Marshall, *Analytical Chemistry*, 2001

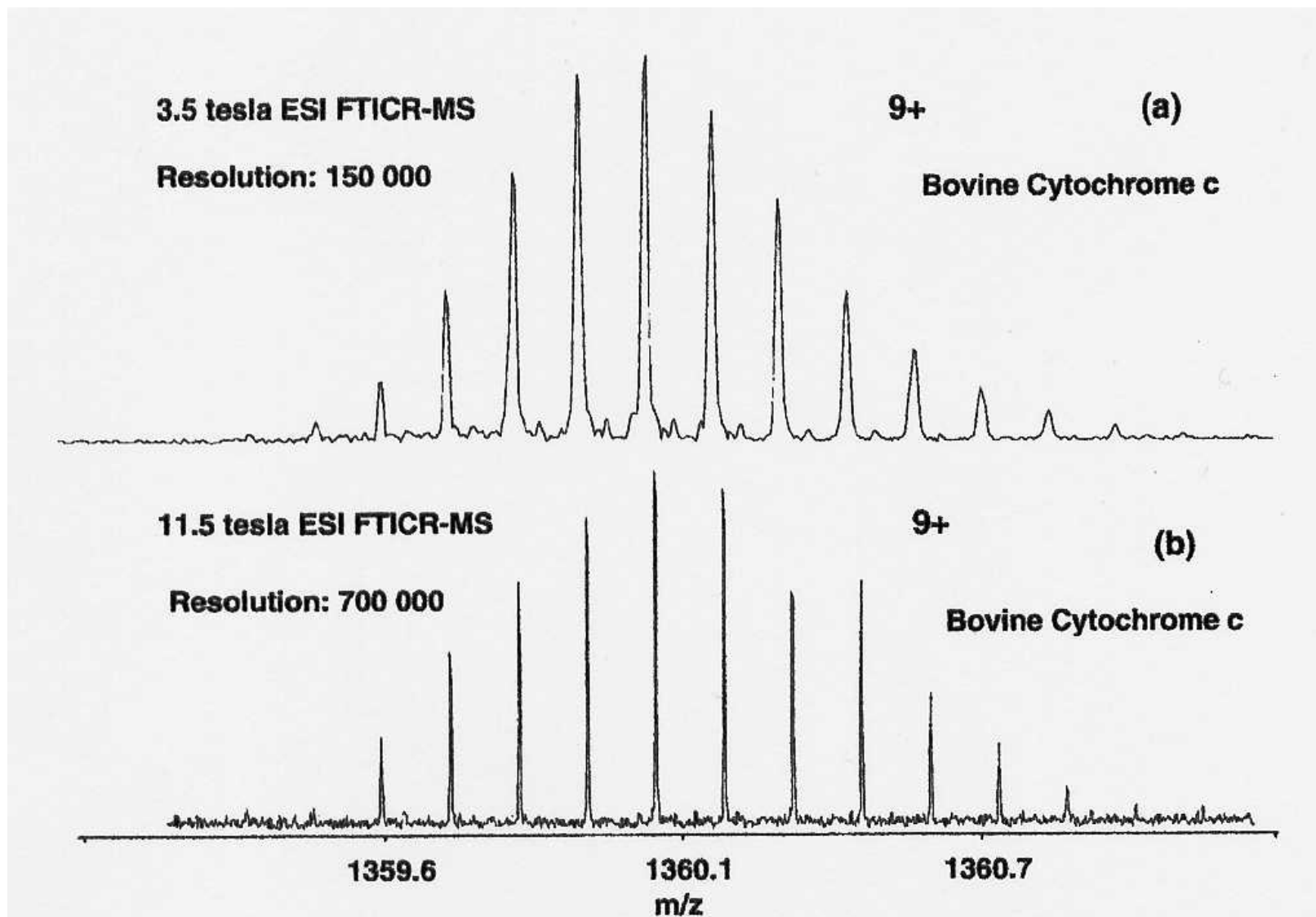
11.5 Тесла масс-спектрометр ИЦР с источником ESI: масс-спектры белков



Коммерческий масс-спектрометр ИЦР фирмы IonSpec, Inc. (США)



Зависимость масс-спектральных характеристик от величины магнитного поля в масс-спектрометрии ИЦР



3 Тесла гибридный масс-спектрометр ИЦР с источником ESI

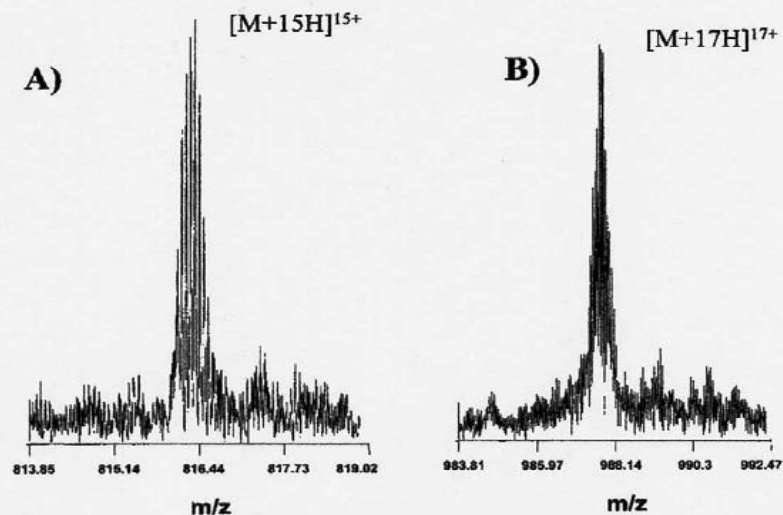
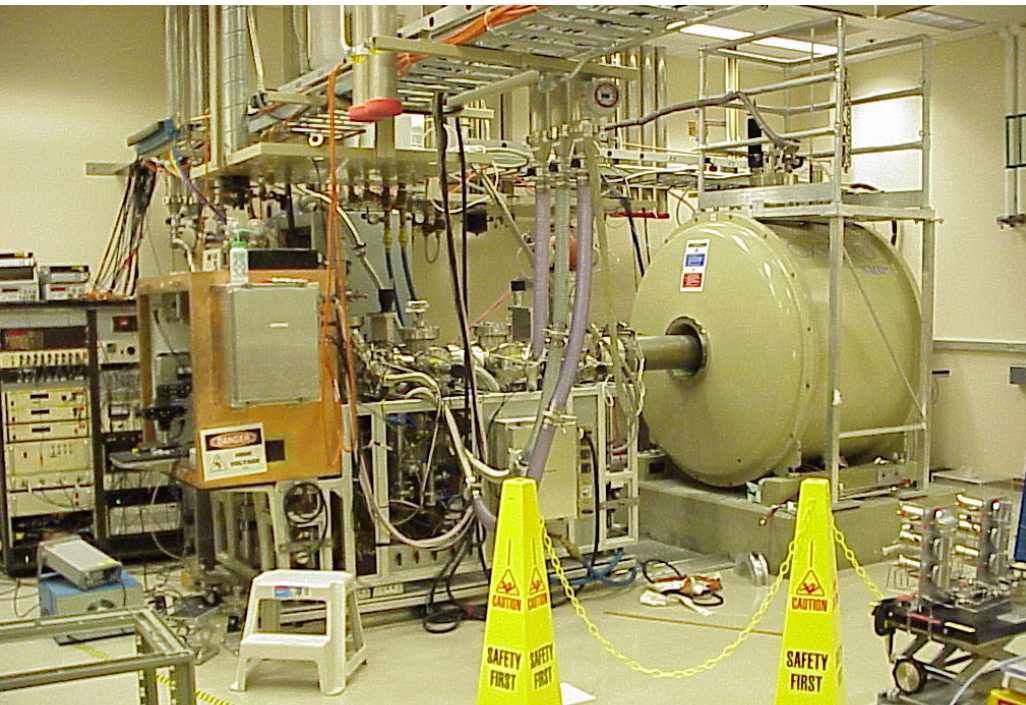


Figure 10. Portions of mass spectra showing $[M + 15H]^{15+}$ ions of horse cytochrome *c* (A) and $[M + 17H]^{17+}$ ions of horse myoglobin (B). Sample concentrations were 0.4 nM. Total consumed for each protein was 135 μ mol (\sim 81 300 molecules).

from M.E. Belov, M.V. Gorshkov, H.R. Udseth, R.D. Smith, *Analytical Chemistry*, 2000



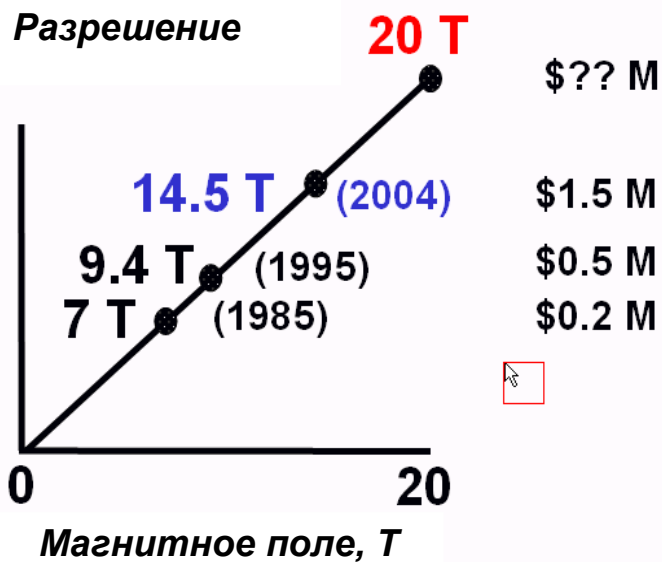
Сверхпроводящий магнит на 12 Тесла с пассивной защитой

Pacific Northwest National Laboratory, operated by Battelle Memorial Institute for U.S. Department of Energy

14.5 Тесла гибридный масс-спектрометр ИЦР с комбинированным источником ESI/MALDI



National High Magnetic Field Laboratory, U.S. National Sciences Foundation



Возможности масс-спектрометрии ИЦР в слабых магнитных полях

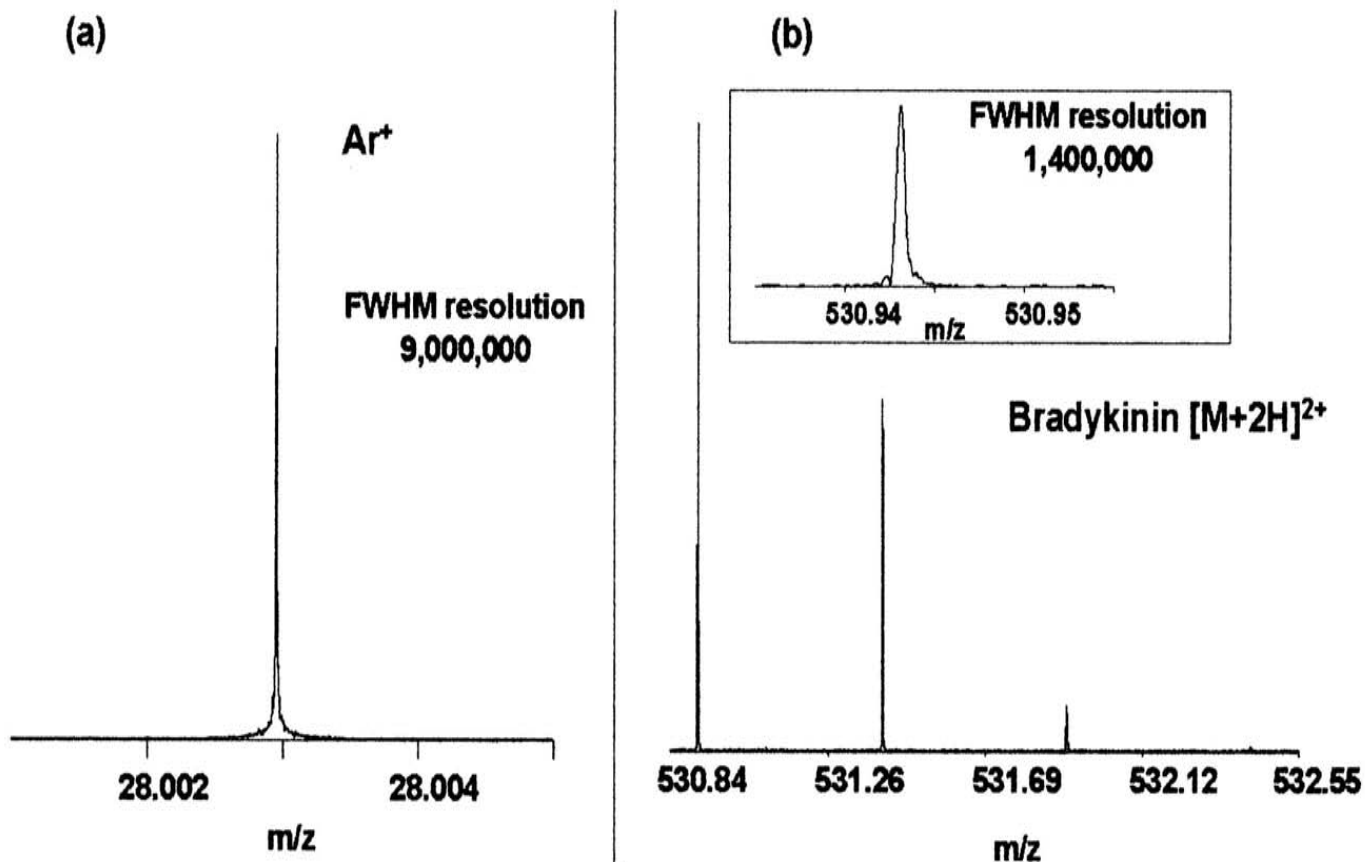
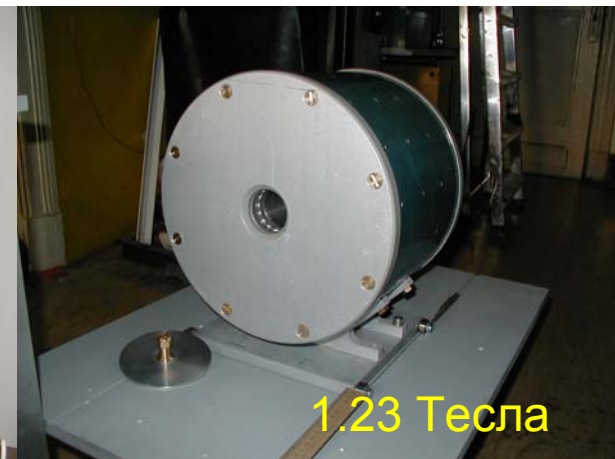


Figure 6. High resolution FT-ICR spectra of (a) N_2^+ ions produced by electron ionization (FWHM resolution is 9×10^6) and (b) bradykinin 2+ charge-state ions produced by ESI (FWHM resolution is 1.4×10^6).

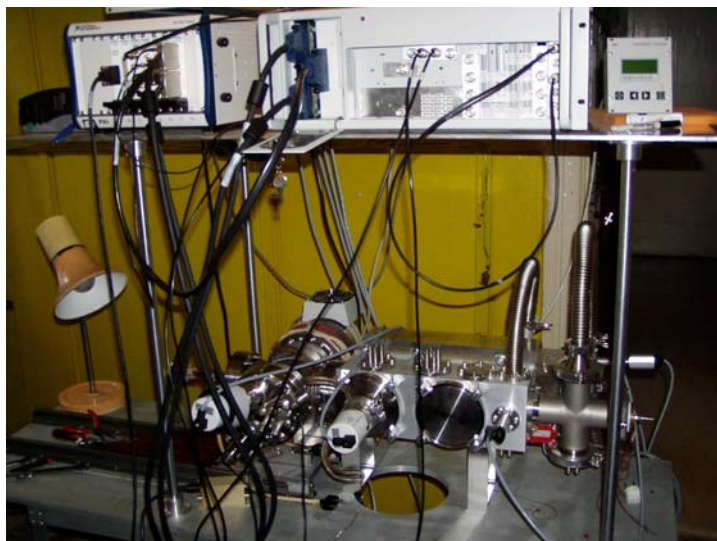
Масс-спектрометрия ИЦР на постоянном магните с атмосферными источниками ионизации с аксиальным профилем магнитного поля (ИНЭП ХФ РАН, Россия/SESI, США)



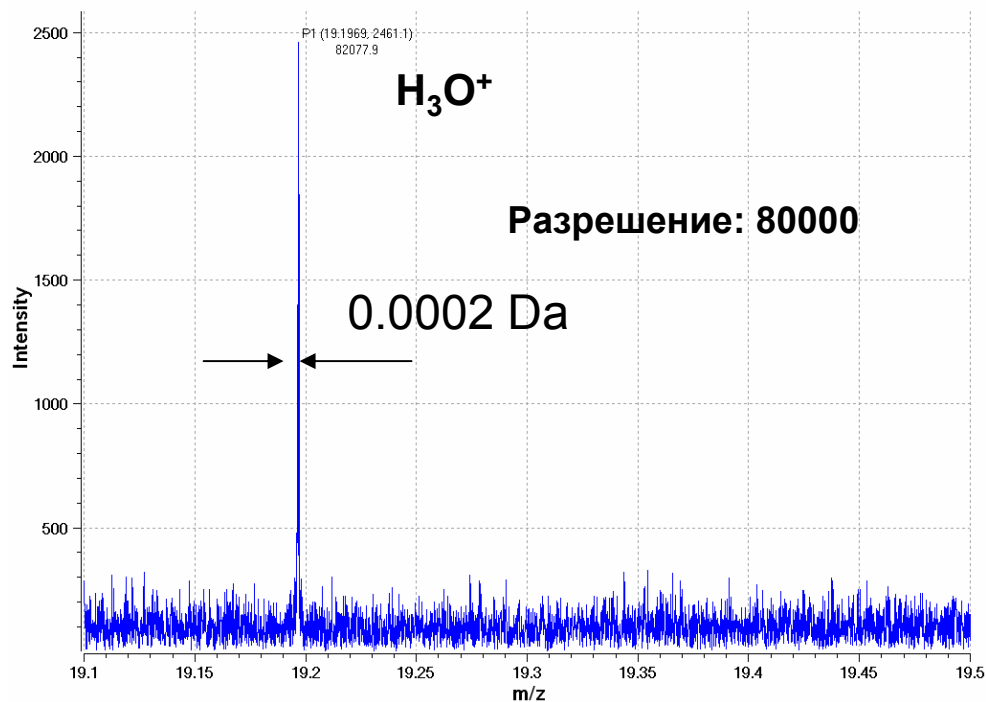
M.V. Gorshkov, U.S. Patent Appl., 2005



Spectrum Plot



0.95 Т гибридный масс-спектрометр ИЦР, ИНЭП ХФ РАН



Современные коммерческие гибридные масс-спектрометры ИЦР со сверхпроводящими магнитами

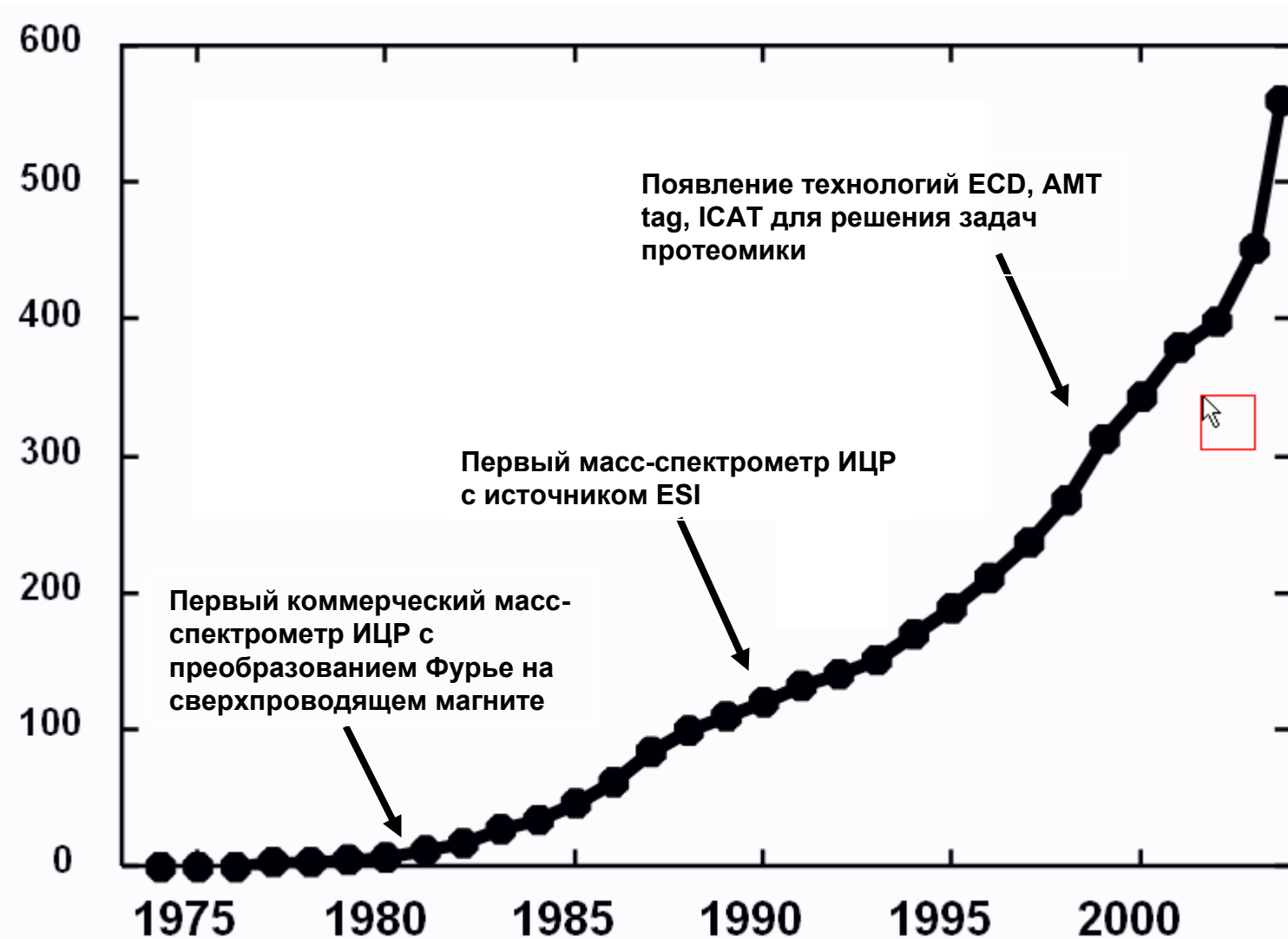


*Thermo Fisher Scientific, США
7 Тесла масс-спектрометр LTQ FT
www.thermofisher.com*



*Bruker Daltonics
7 Тесла масс-спектрометр APEX Qe
www.bdal.com*

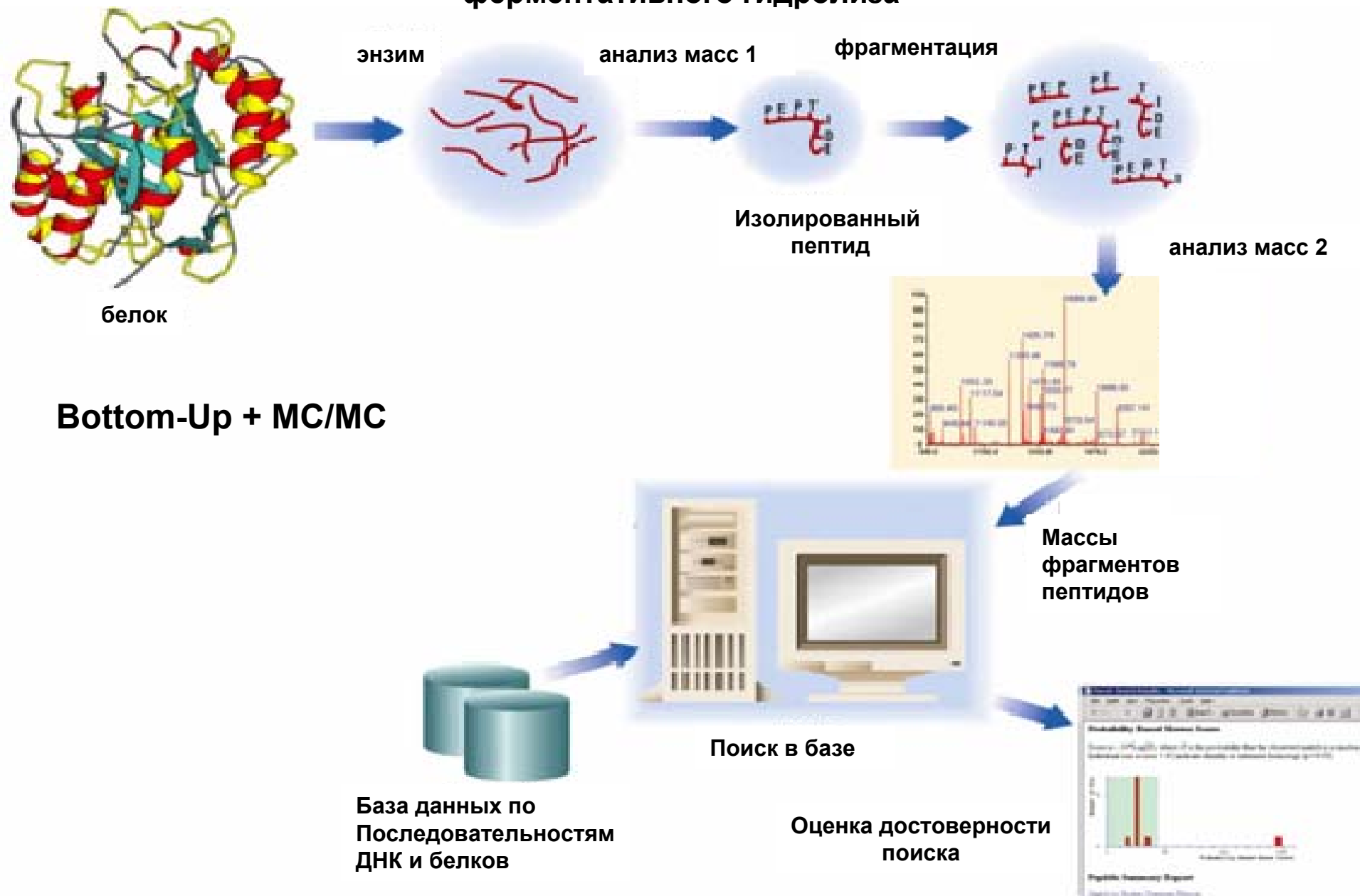
Диаграмма роста числа установленных коммерческих масс-спектрометров ИЦР по всему миру



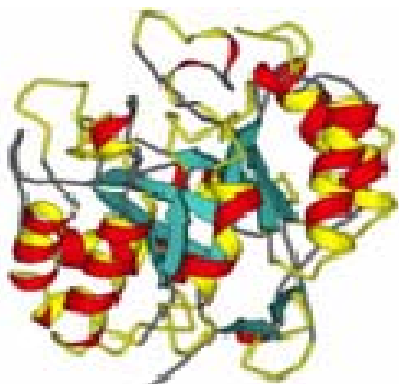
на основе данных, представленных проф. Аланом Маршаллом (A.G. Marshall)



Два подхода к идентификации белков в протеоме сложного организма. 1. Масс-спектрометрия пептидных составляющих белка, полученных на основе ферментативного гидролиза



Два подхода к идентификации белков в протеоме сложного организма. 1. Масс-спектрометрия пептидных составляющих белка, полученных на основе ферментативного гидролиза

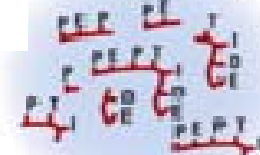


белок

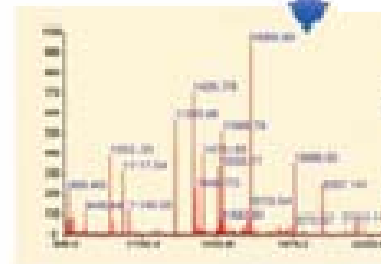
Top-Down

Транспортировка в вакуум

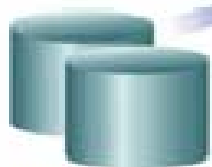
Фрагментация в ионной ловушке



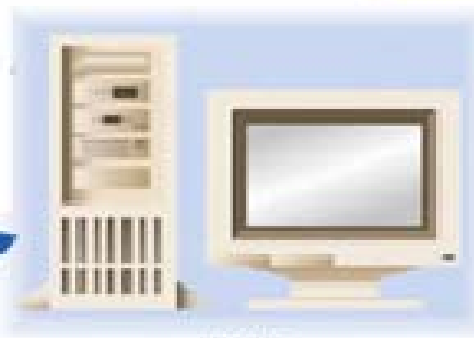
анализ масс



Массы фрагментов пептидов

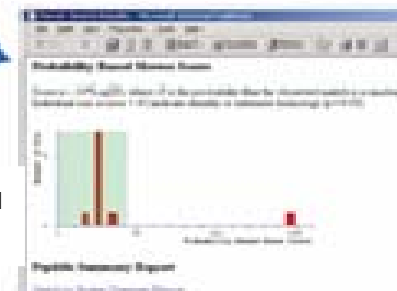


База данных по Последовательностям ДНК и белков



Поиск в базе

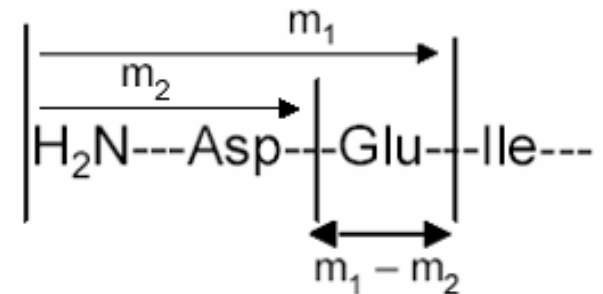
Оценка достоверности поиска



Определение последовательности аминокислот в пептидах

KETAALKFERQYL

K	ETAALKFERQYL
KE	TAAALKFERQYL
KET	AAALKFERQYL
KETA	AAKFERQYL
KETAA	AKFERQYL
KETAAA	KFERQYL
KETAAAK	FERQYL
KETAAAKF	ERQYL
KETAAAKFE	RQYL
KETAAAKFER	QYL
KETAAAKFERQ	YL
KETAAAKFERQY	L

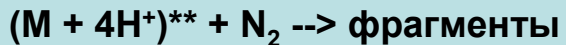


Для однозначного секвенирования надо порвать все пептидные связи

Методы фрагментации в пептидах

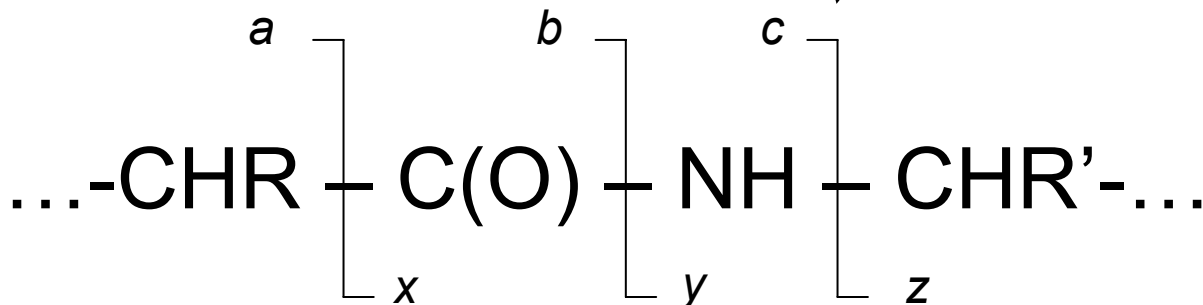
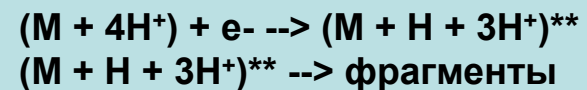
Столкновения ионов с нейтральными молекулами
буферного газа (Collision Activated Dissociation - CAD)

1960s, 1990s



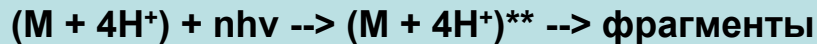
Рекомбинация ионов с электронами низкой
энергии (Electron Capture Dissociation – ECD)

1998



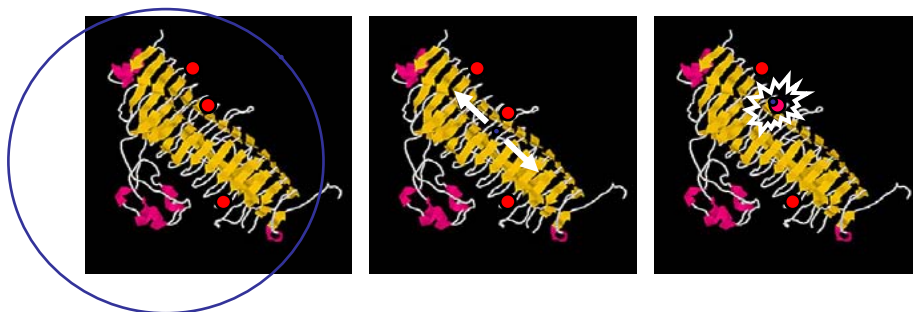
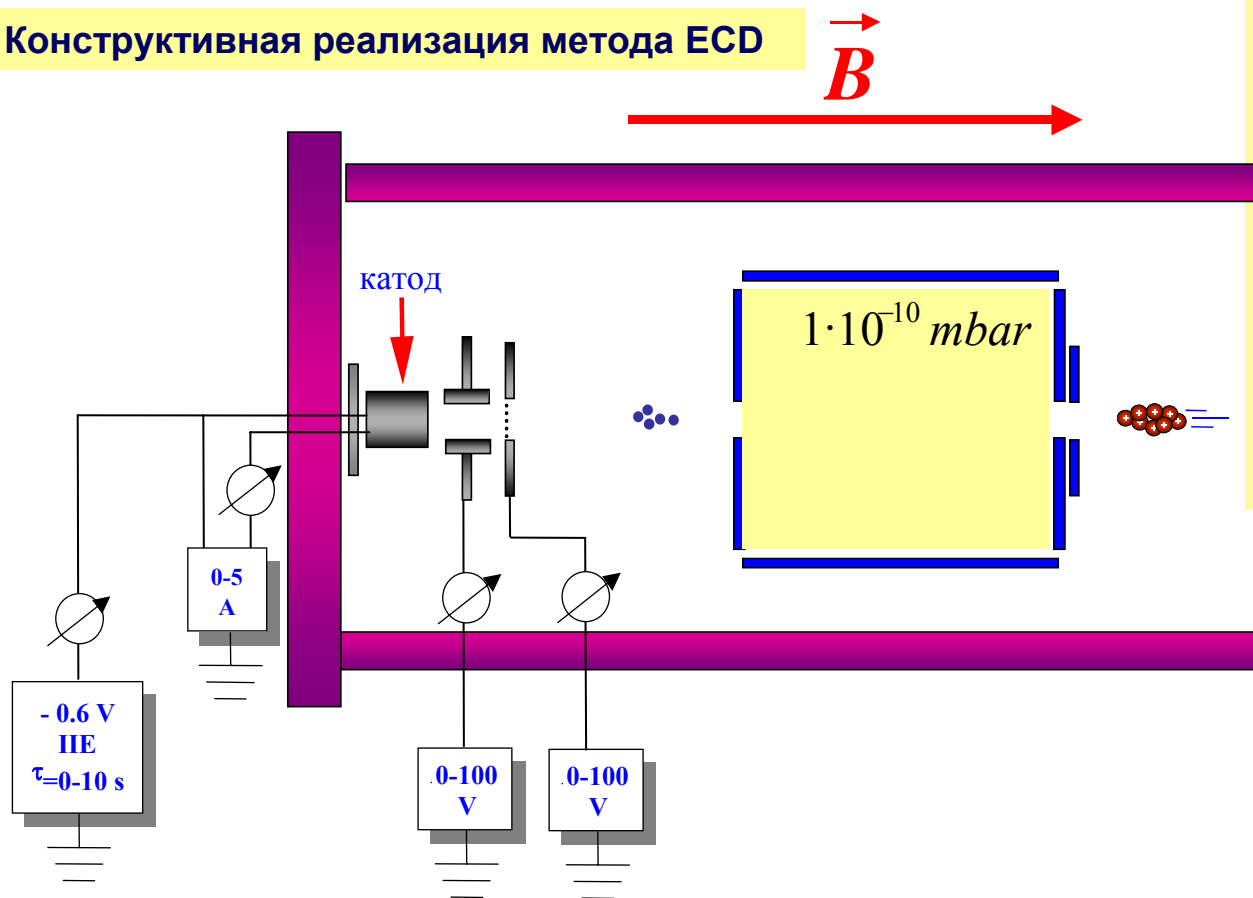
Многофотонное поглощение ионами излучения в ИК диапазоне
(Infra-Red Multiple Photon Dissociation - IRMPD)

1960s, 1995



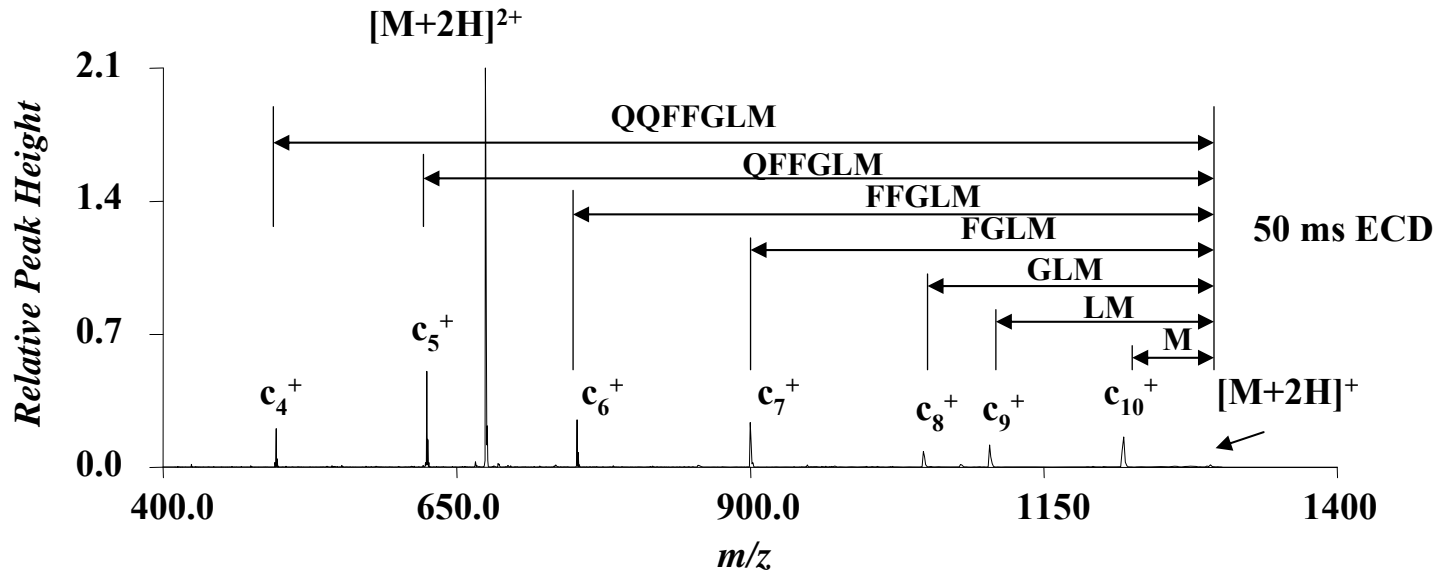
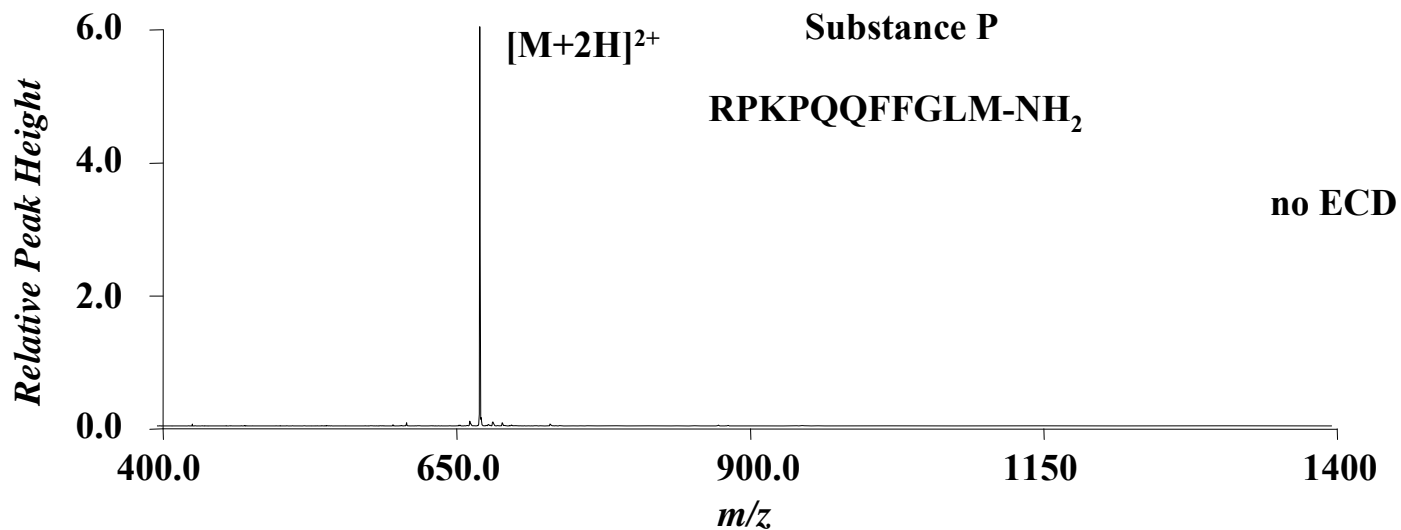
Рекомбинация ионов с электронами низкой энергии (Electron Capture Dissociation – ECD)

Конструктивная реализация метода ECD

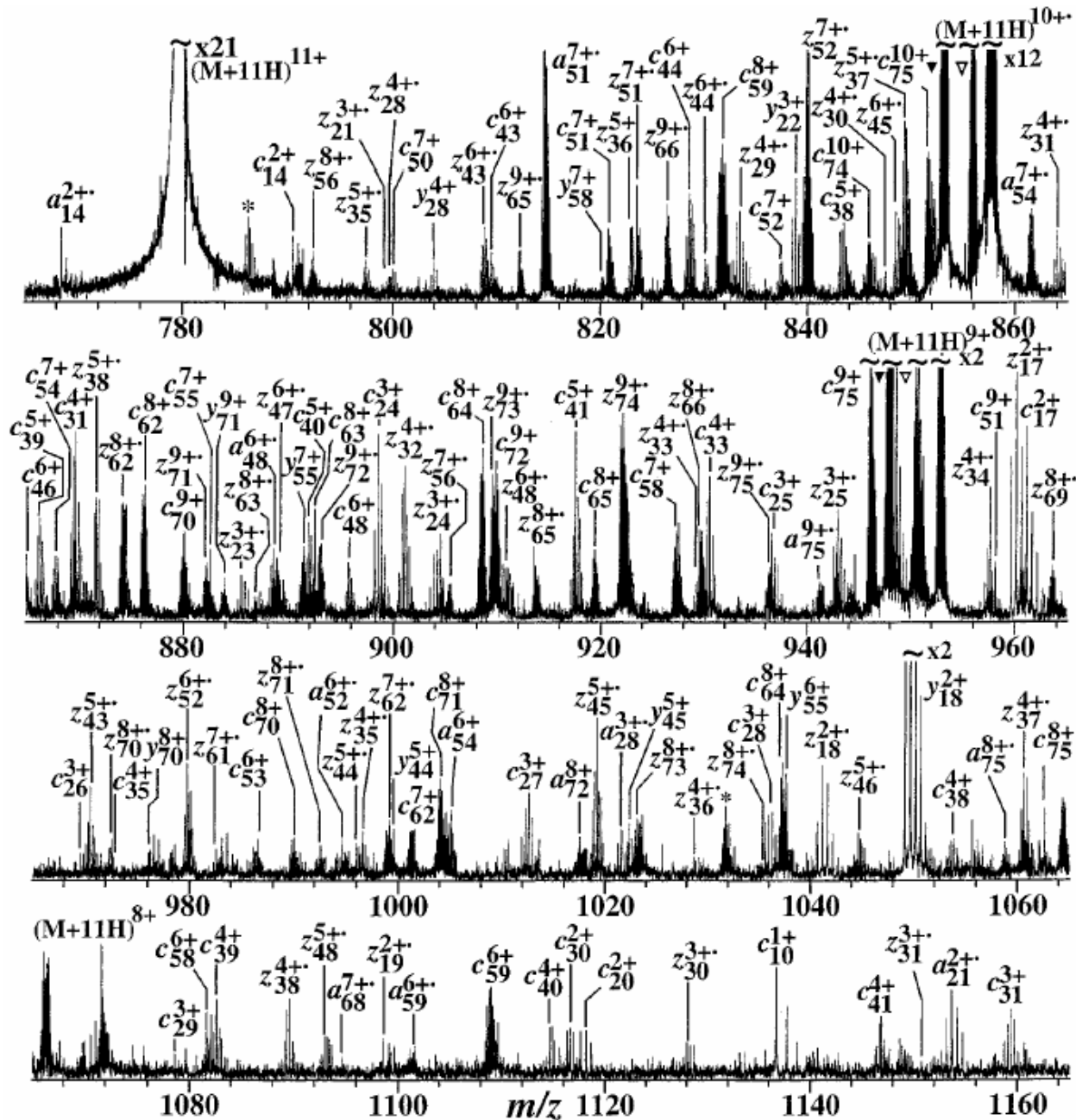


Р.А. Зубарев
Университет г.Уппсала, Швеция

Секвенирование пептидов методом ECD



Спектр фрагментации 11-зарядного белка убикитина полученный методом ECD



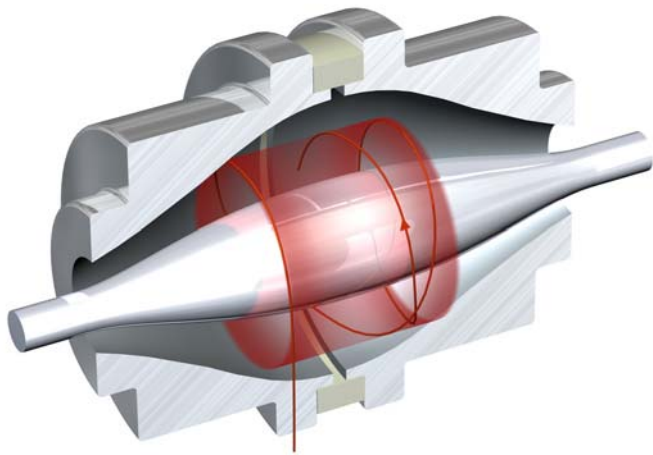
данные из R.A. Zubarev, et al.,
Analytical Chemistry, 2000

Масс-спектрометр на основе электростатической ловушки - Orbitrap

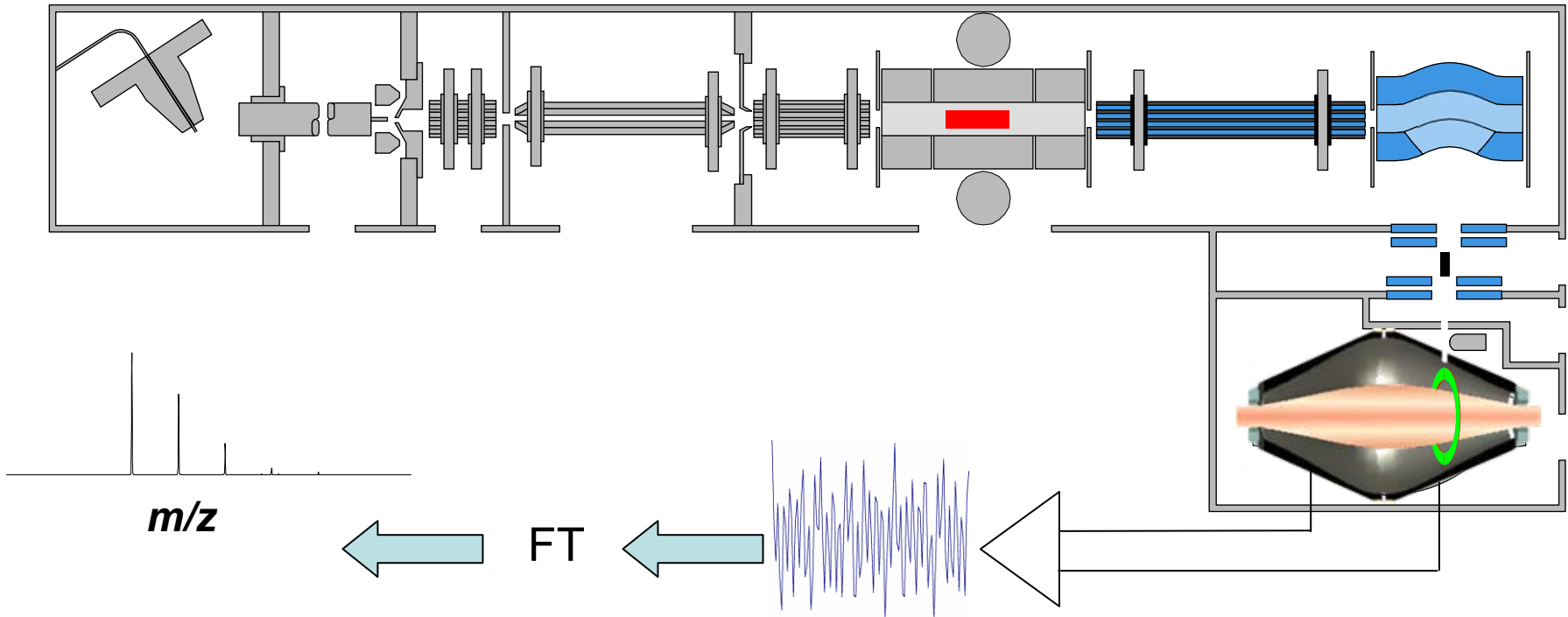


A.A. Makarov, *Analytical Chemistry*, v.72 (2000), No.6, p.1156-1162.
A.A. Makarov, *U.S. Pat. 5,886,346*, 1999.

$$\omega_z = \sqrt{\frac{k}{m/q}}$$



A. A. Макаров
Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany

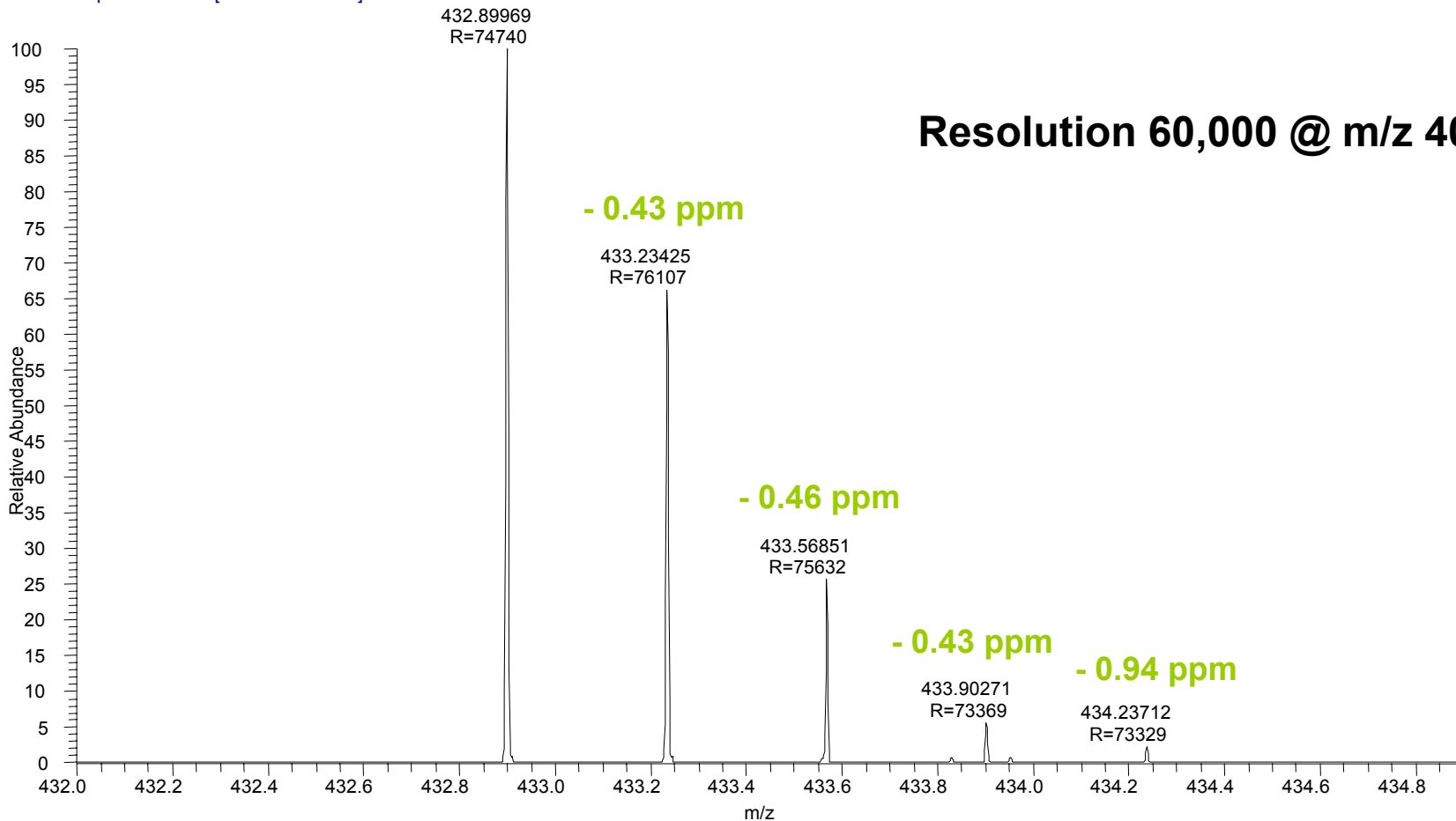


Orbitrap – это высокие разрешение и точность измерения масс, сравнимые с ИЦР масс-спектрометрией

Angiotensin I ³⁺

PepMix_2 #43 RT: 0.74 AV: 1 NL: 6.10E6
T: FTMS + p ESI Full ms [115.00-1400.00]

0.19 ppm

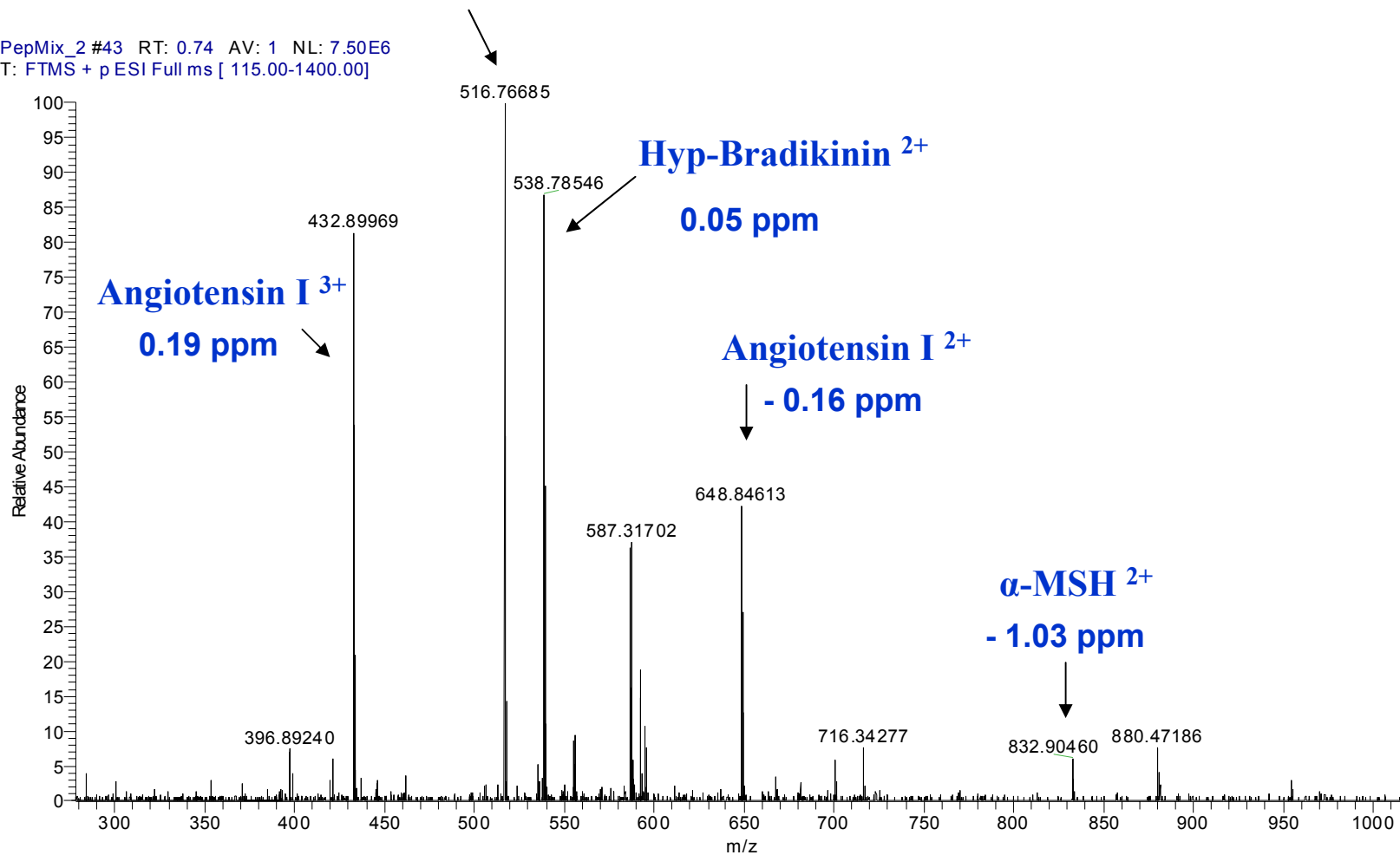


Широкий диапазон одновременно измеряемых масс

Val⁵-Angiotensin II ²⁺
- 0.27 ppm

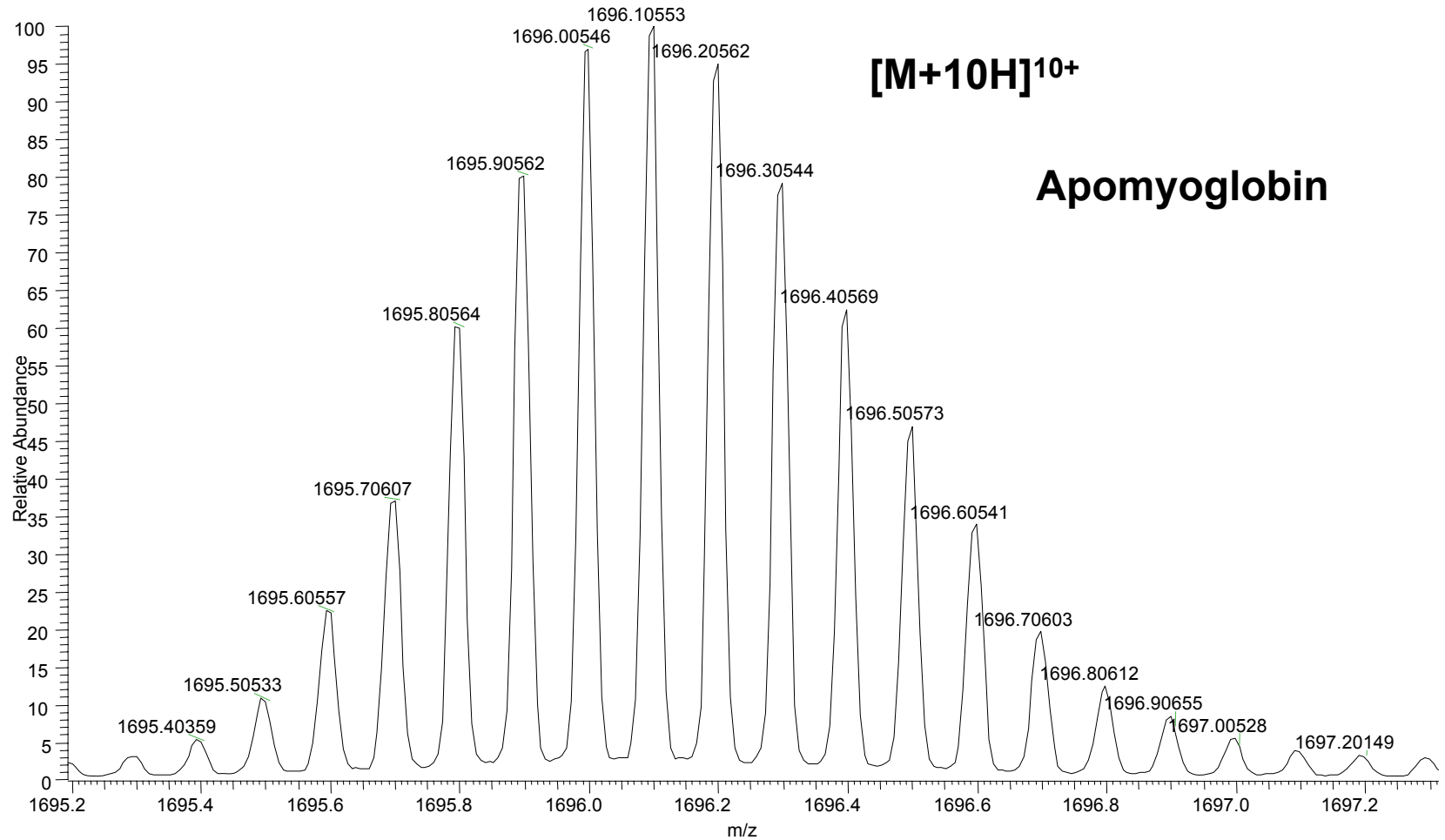
Resolution 60,000 @ m/z 400

PepMix_2 #43 RT: 0.74 AV: 1 NL: 7.50E6
T: FTMS + p ESI Full ms [115.00-1400.00]



Высокий динамический диапазон

MYO_1 #254-342 RT: 4.29-6.94 AV: 89 NL: 1.97E6
T: FTMS + p ESI SIM ms [1683.50-1708.50]



Преимущества Orbitrap

- Высокое разрешение и точность измерения масс
- Отсутствие магнитного поля
- Малогабаритность
- Отсутствие химического шума
- Высокая чувствительность

Недостатки Orbitrap

- Нестабильность шкалы масс – необходимость перекалибровки
- Длительное время для переключения режимов детектирования положительных и отрицательных ионов
- Отсутствие возможностей фрагментации ионов



III Съезд ВМСО: 3-8 сентября 2007

Новости

09.11.2006

**Памяти Бориса Васильевича
Розьнова**

02.11.2006

Вакансии в Samsung Electronics

24.10.2006

**Книга А.Т.Лебедев "Масс-
спектрометрия в органической
химии"**

Russian English

→ Вход для членов ВМСО

E-mail:

6 октября 2006 года прошел очередной Совет ВМСО

Среди его решений:

1. Провести очередной III съезд ВМСО, совмещенный с 2 Всероссийской конференцией с международным участием «Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы» в период 03-08 сентября 2007 года. Базовый размер оргвзноса на эту конференцию установить:

- для членов ВМСО – 3000 рублей,
- для студентов и аспирантов – 1500 рублей,
- для прочих лиц – 4500 рублей.

Освободить от оргвзноса делегатов от региональных организаций по квоте 1 чел. на 10 членов организации.

2. Провести семинар «Газовая хроматография – масс-спектрометрия: практические аспекты» в период февраль-март 2007 года

3. Объявить начало выдвижения претендентов на медаль «За выдающиеся заслуги в области масс-спектрометрии» и в почетные члены ВМСО. Срок выдвижения претендентов установить до 31.01.2007.

4. Поддержать претендента на медаль, выдвинутого президентом ВМСО А.Т.Лебедевым Макарова А.А., претендентов в почетные члены ВМСО профессора, чл.-кор. НАН Украины Черепина В.Т. (выдвинут украинским региональным обществом ВМСО), профессора, д.х.н. Заикина В.Г. (выдвинут президентом ВМСО А.Т.Лебедевым), проф., д.х.н. Чижова О.С. (выдвинут президентом ВМСО А.Т.Лебедевым)

5. Установить размер вступительных и членских взносов на 2007 год:

- базовый – 400 рублей,
- для членов Совета общества – 700 рублей,
- льготные: для аспирантов – 200 рублей,
- для пенсионеров и студентов – 100 рублей.

6. Подготовить и издать монографию В.Г.Заикина "Масс-спектрометрия синтетических полимеров".



ВМСО Съезды Новости Журнал «Масс-спектрометрия» Публикации Контакты

III Съезд ВМСО:
3-8 сентября 2007

Новости

09.11.2006
[Памяти Бориса Васильевича Рольнова](#)

02.11.2006
[Вакансии в Samsung Electronics](#)

24.10.2006
[Книга А.Т.Лебедев "Масс-спектрометрия в органической химии"](#)

Russian English

Вход для членов ВМСО

E-mail:

Пароль:

[Регистрация](#) [Забыли пароль?](#)

[Vmso.ru](#) » [Журнал «Масс-спектрометрия»](#) »

- [Архив номеров](#)
- [Оглавления номеров](#)
- [Правила для авторов](#)
- [Подписка на журнал](#)

Журнал "Масс-спектрометрия"

ISSN 1817-969X (Print), ISSN 1817-9746 (Online)

Решением Совета ВМСО журнал будет распространяться по следующему принципу:

1. Каждая региональная организация ВМСО получает бесплатно квотированное количество экземпляров. Квота составляет 1 экз. на 10 членов ВМСО. В случае, если кол-во человек в организации менее 10, организация получает 1 номер на неполные 10 человек. Так, например, если в организации:
 - 3 человека – 1 экземпляр
 - 10 человек – 1 экземпляр
 - 11 человек – 2 экземпляра
 - 23 человек – 3 экземпляра и т.д.
2. Остальные номера журнала будут распространяться по подписке.

Ниже представлены номера журнала, вышедшие в 2006 году.

Внимание! Для скачивания необходимо ввести ваш логин и пароль, указанные при регистрации в обществе, а также иметь оплаченную заранее подписку на журнал.

Скачать:

- [Журнал "Масс-спектрометрия" Т.3 №1 \(Размер: 3,38 Mb\)](#)
- [Журнал "Масс-спектрометрия" Т.3 №2 \(Размер: 3,2 Mb\)](#)
- [Журнал "Масс-спектрометрия" Т.3 №3 \(Размер: 2,46 Mb\)](#)

Всероссийское масс-спектрометрическое общество сегодня

- На сегодняшний день ВМСО объединяет более 600 масс-спектрометристов
- 42 отделения в России
- Зарубежные представители из Казахстана, Украины, Великобритании, Германии, Швеции и США
- ВМСО зарегистрировано в Минюсте РФ как Общероссийская Общественная Организация
- Общество имеет свою символику, Интернет-сайт, журнал. Учреждены звание «Почетный член ВМСО» и золотая медаль «За заслуги в развитии масс-спектрометрии»
- Издается журнал «Масс-спектрометрия»: прошел все утверждения в Министерстве Печати и внесен в российский каталог печати.

Российская информационная группа масс-спектрометристов за рубежом (Russian MS Info Group)

