

УДК 621.384.668.8: 537.534.3

© А. Н. Арсеньев, Д. Н. Алексеев, Г. В. Бельченко, М. А. Гаврик, Н. В. Краснов, П. С. Корякин, И. А. Краснов, И. В. Курнин, Ш. У. Мьяльдзин, М. З. Мурадымов, А. Г. Монаков, В. Г. Павлов, А. В. Зверева, С. Н. Никитина, Е. П. Подольская, С. С. Присяч, С. Ю. Семенов, М. Н. Краснов, А. В. Самокиш

## СПЕКТРОСКОПИЯ ПЕПТИДОВ, БЕЛКОВ И ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ ИЗ РАСТВОРОВ МЕТОДОМ ИОННОЙ ПОДВИЖНОСТИ

Исследованы возможности получения спектров ионной подвижности пептидов, белков и олигонуклеотидов в положительной и отрицательной модах с использованием источника ионов с полевой десорбцией ионов из раствора при динамическом делении потока распыляемой жидкости при атмосферном давлении и нормальных условиях. В качестве исследуемых объектов использовались растворы: алифатических четвертичных аминов  $Me_4N$  и  $Et_4N$ , аргинина (175 Да), резерпина (608.68 Да) в положительной моде, макробиомолекул Human serum albumin (69 367 Да), Hemoglobin Human (16 000 Да), Apoferritin (445 000 Да), Myoglobin (17 083 Да), Chymotrypsinogen A (25 666 Да), синтетических олигонуклеотидов и додецила сульфата натрия (265 Да) в положительной и отрицательной модах. Исследования проводились на опытном образце аналитического комплекса ЭС-ИДС (электроспрей, источник ионов,—ион-дрейфовый спектрометр), разработанного по заказу ФМБА России по Федеральной целевой программе "Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009–2014 годы)".

*Кл. сл.:* спектрометр ионной подвижности, пептиды, белки, олигонуклеотиды, электрораспыление жидкости

### ВВЕДЕНИЕ

Развитие аналитических приборов и методик в последние десятилетия для решения аналитических задач в биохимии, химии, фармацевтике, токсикологии, криминалистике и мониторинге окружающей среды в значительной степени состоит в создании приборных комплексов, основанных на хорошо известных ранее отдельных мощных аналитических методах, уже воплощенных в приборы. Таковы, например, газовые хроматографы (ГХ), жидкостные хроматографы (ВЭЖХ), масс-спектрометры (МС), ион-дрейфовые спектрометры (ИДС). Постановка задач по высокочувствительному анализу сложных смесей привела к созданию приборных комплексов ГХ-МС — для решения задач химии и нефтехимии, ВЭЖХ-МС — для решения задач в биотехнологии, медицине. При этом получило мощный толчок развитие программного обеспечения как для управления приборными комплексами, так и по обработке аналитической информации. Отдельной задачей стоял вопрос соединения приборов в комплекс при всей их несовместимости по условиям функционирования: например, газовый хроматограф или жидкостный хроматограф и вакуумная система масс-спектрометра. Отдельной задачей являлось и получение ионов анализируемых веществ: желателно моле-

кулярных и основных осколков. Кроме того, свои требования накладывали анализируемые вещества (лабильная биоорганика) для ВЭЖХ-МС. Тем не менее совершенствование конструкции источника ионов с электронным ударом и разработка нового метода получения ионов биоорганических веществ из растворов позволили удачно провести сочетание приборов в аналитические комплексы. Приборные комплексы ГХ-МС и ВЭЖХ-МС являются универсальными приборами с высокими аналитическими параметрами. Такие приборы позволяют решать сложные аналитические задачи в различных областях знаний. Но существует множество задач для аналитической химии, для решения которых на первый взгляд не требуются универсальные и дорогие приборы. К таким задачам можно отнести контроль за взрывчатыми веществами, наркотиками, химически опасными веществами. Эти задачи надо решать оперативно в реальном масштабе времени с минимумом пробподготовки и желателно с использованием малогабаритных приборов хотя бы по сравнению с классическими приборными комплексами.

Для решения таких задач был выбран еще один метод аналитической химии — метод плазменной хроматографии [1], в дальнейшем названный "спектрометрия ионной подвижности". Спектрометрия ионной подвижности является высокочув-

ствительным и быстродействующим методом и, что немаловажно, весьма малогабаритным. Приборы, реализующие метод спектрометрии ионной подвижности, работают при атмосферном давлении. Поэтому для получения ионов необходимы методы ионизации при атмосферном давлении. К таким методам относится ионизация при атмосферном давлении, например, в плазме коронного разряда или метод электрораспыления анализируемого раствора. Развитие приборов на основе спектрометрии ионной подвижности развивалось вначале по двум направлениям: малогабаритные детекторы на специфические вещества, находящиеся в виде пара или газа с ионизацией при атмосферном давлении, и в виде детектора для газовых хроматографов. Оба направления прекрасно развивались и достигли больших успехов и в плане разработки приборных комплексов ГХ-ИДС [2], и в виде самостоятельных детекторов для анализа атмосферного воздуха и разработки методик анализа.

Направление, связанное с использованием ион-дрейфовых спектрометров в качестве самостоятельного детектора для анализа веществ в растворах получило развитие только в виде приборов по анализу смывов на предмет поиска следов взрывчатки. При этом использовался метод получения ионов анализируемого вещества электрораспылением раствора в виде модификации метода "электроспрей", а именно в виде наноспрея [3]. Идея использования ион-дрейфовых спектрометров в качестве детектора для жидкостных хроматографов развития не получила, т. к. поток анализируемого раствора в источниках ионов ион-дрейфового спектрометра составлял порядка 0.02–1 мкл/мин, что не соответствует потоку на выходе из капиллярных колонок жидкостных хроматографов (200–1000 мкл/мин) для реализации хроматографических методик для различных классов разделяемых веществ. Хроматографические потоки элюэнта вызывают сложности и в процессе электрораспыления, так и в перегрузке ион-дрейфового спектрометра конденсатом элюэнта на элементах входного тракта спектрометра и дрейфовой зоны. В настоящее время довольно широко используются приборные комплексы, состоящие из жидкостного хроматографа, ион-дрейфового спектрометра в качестве дополнительного разделяющего анализируемые ионы устройства и масс-спектрометра как высокочувствительного детектора. И в таких приборных комплексах поток анализируемого раствора, поступающего в источник ионов с электрораспылением, не превышает единиц мкл/мин. [4]. Исследования последних лет показывают, что интерес к созданию ион-дрейфового спектрометра с источником ионов с электрораспылением растворов сохраняется в силу необходимости расширения круга детекторов

для жидкостной хроматографии, например для возможности разделения и детектирования изомеров веществ.

Актуальность создания ион-дрейфового спектрометра с электрораспылительным источником ионов для хроматографических потоков элюэнта обусловлена тем, что, обладая преимуществами относительно низкой стоимости, простоты эксплуатации и малыми массогабаритными характеристиками, такой прибор мог бы существенно расширить возможности жидкостного хроматографа при решении конкретных аналитических задач.

### ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ К ПРИБОРУ

Создание ион-дрейфового спектрометра с электрораспылительным источником ионов с хроматографическими потоками элюэнта предполагает решение следующих технических задач:

- разработку источника ионов, работающего с потоками раствора до 200 мкл/мин и не перегружающего парами растворителя дрейфовую зону;
- обеспечение нормальных условий работы спектрометра;
- двухполярный режим работы спектрометра для регистрации ионов либо в положительной, либо в отрицательной модах;
- наличие усилителя ионного тока спектра подвижности оптически "развязанного" по высокому напряжению;
- создание программного обеспечения для управления, регистрации и предварительной обработки спектров подвижности и/или хромато-дрейф-спектрограмм, аналогично хромато-масс-спектрограммам.

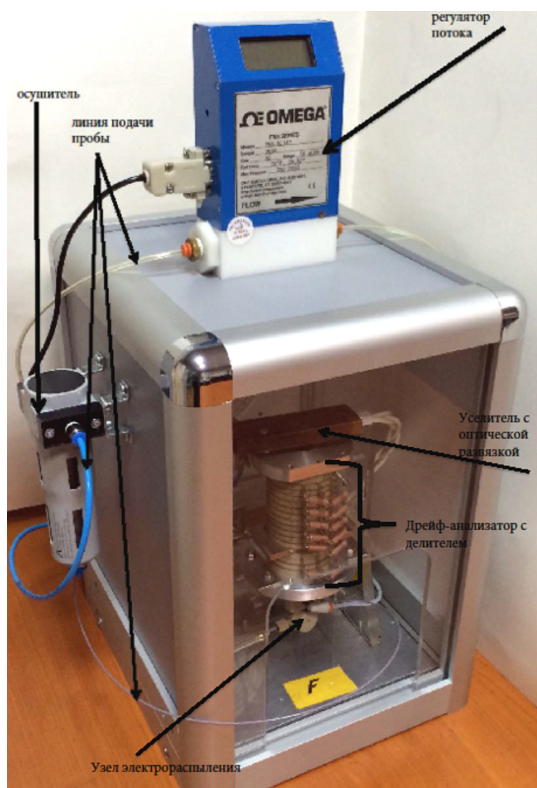
Источник ионов с электрораспылением хроматографических потоков элюэнта, работающий при нормальных условиях и не перегружающий дрейфовую зону, подробно описан в [5–7]. Получены стабильные режимы распыления растворов в широком диапазоне скоростей потоков до 200 мкл/мин [8]. Применение откачки излишков парогазовой смеси из области распыления (мениска жидкости) позволяет при нормальных условиях не перегружать дрейфовую зону спектрометра и не забрызгивать управляющий затвор Бредбена.

Структура ион-дрейфового спектрометра с таким электрораспылительным источником ионов представляет собою последовательность устройств. Узел электрораспыления, через который подается элюэнт и производится откачка парогазовой смеси излишков раствора, находится под нулевым потенциалом, соответственно под этим же потенциалом находится и система подачи рас-

творя от жидкостного хроматографа или жидкостного микронасоса. Такое подключение узла электрораспыления позволяет улучшить электробезопасность работы на комплексе. Противозлектрод в виде диафрагмы находится под регулируемым напряжением 3–3.5 кВ и на расстоянии 1 см относительно металлического капилляра узла электрораспыления; за противозлектродом расположена область десольватации протяженностью 1.5 см, заканчивающаяся управляемым затвором Бредбери—Нильсена, находящегося под потенциалом 4–4.5 кВ относительно "земли". На управляющий затвор подаются открывающие затвор прямоугольные импульсы с регулируемой длительностью от 20 до 200 мкс и варьруемой амплитудой в диапазоне от 75 до 150 В. Длительность переднего фронта импульса составляет 20 нс, заднего фронта 25 нс. В зависимости от выбранного режима регистрации ионов импульсы генерируются в положительной или отрицательной моде. Сетки затвора изготовлены из нержавеющей стали в виде проволочек диаметром 50 мкм с шагом 800 мкм, что является оптимальным с точки зрения максимума импульса ионов при максимальной ширине по полувисоте импульса [9, 10]. Дрейф-спектрометр

представляет собой классический вариант в виде набора металлических и изолирующих колец с внутренним диаметром 2.5 см и общей длиной зоны дрейфа от затвора до коллектора 5.5 см, а диаметр коллектора составляет 0.8 см. Напряженность электрического поля в зоне дрейфа составляет порядка 800 В/см и может плавно регулироваться оператором. За корпусом дрейфовой камеры к хвостовику коллектора присоединено предварительное устройство регистрации, усиливающее сигнал в  $10^3$  и преобразующее его в цифровой поток данных. Предварительное устройство регистрации работает под потенциалом 8.5–9 кВ относительно "земли", что также требует введения оптически развязанного канала передачи данных. Общее управление всеми устройствами иондрейфового спектрометра осуществляется при помощи устройства управления, синхронизации и регистрации. Это устройство реализует канал управления источниками питания RS-485, формирует последовательность импульсов для работы блока управления сетками, формирует набор управляющих сигналов для работы АЦП предварительного устройства регистрации, а также осуществляет связь с управляющим компьютером верхнего уровня по каналу USB.

Для обеспечения работы устройства электрораспыления и дрейфовой камеры в состав прибора вошли: осушитель воздуха Festo LF-1/8-D-MINI 40, воздушный микронасос Tomas 50 096 для подачи дрейфового газа в анализатор (осушенный воздух 0.5 л/мин), воздушный микронасос Tomas 50 200 для откачки парогазовой смеси из области электрораспыления (лабораторный воздух не более 3.5 л/мин), измеритель потока газа OMEGA 2317 для контроля потоков дрейфового газа и парогазовой смеси. В состав прибора во-



**Рис. 1.** Фото аналитической части разработанного спектрометра ионной подвижности



**Рис. 2.** Фото блока цифровой и аналоговой электроники спектрометра ионной подвижности в изолирующем корпусе без внешнего корпуса

шли: персональный компьютер (ноутбук) с установленным разработанным программным обеспечением, принтер и в зависимости от исполнения либо шприцевой микронасос (для исполнения ЭС-ИДС), обладающий параметрами не хуже микронасоса Harvard Apparatus Sigle Syringe Pump MA1 70-2208 Model 11 Plus, либо микроколоночный жидкостный хроматограф (для исполнения ЖХ-ЭС-ИДС), обладающий параметрами не хуже микроколоночного жидкостного хроматографа "Милихром А-02". Разрешающая способность разработанного ион-дрейфового спектрометра с электрораспылительным источником ионов составляет 25 на уровне 50 % высоты пика, скорость сканирования единичных спектров подвижности не менее 20 спектров в секунду.

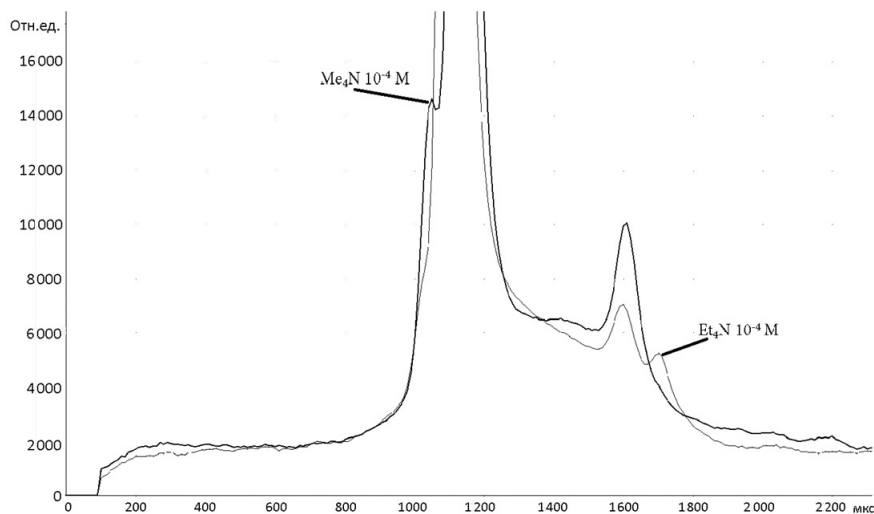
Программное обеспечение состоит из двух программ — программы "СИП Регистрация" для управления работой дрейф-спектрометра и регистрации спектров подвижности и программы "СИП Обработка" предназначенной для обработки и сохранения спектрометрической информации.

Программы "СИП Регистрация" и "СИП Обработка" не требуют инсталляции и готовы к использованию. Для полноценной работы с программами необходима операционная система MS Windows XP. На рис. 1 и 2 показаны аналитический и электронный блоки ион-дрейфового спектрометра соответственно. Вариант исполнения приборного комплекса — настольный.

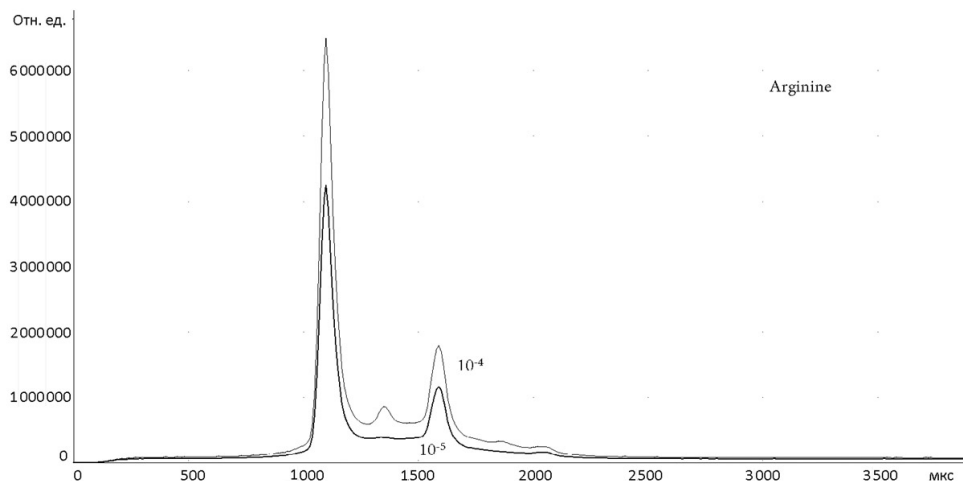
### РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для определения аналитических характеристик опытного образца ион-дрейфового спектрометра

с электрораспылительным источником ионов проведены первые тестовые измерения. Для экспериментов использовались растворы следующих веществ: алифатических четвертичных аминов  $\text{Me}_4\text{N}$  и  $\text{Et}_4\text{N}$ , Arginine (аргинина) и Reserpinum (резерпина), макробиомолекул — Human serum albumin (69 367 Да), Hemoglobin Human (16 000 Да), Apoferitin (445 000 Да), Myoglobin (17 083 Да), Chymotrypsinogen A (25 666 Да), Sodium dodecyl sulfate (SDS) (додецил сульфат натрия (265 Да) химический детергент, использующийся для разрушения клеточных мембран с целью высвобождения содержимого клеток, синтетические олигонуклеотиды. Концентрация каждого вещества в анализируемых растворах колебалась от  $10^{-4}$  до  $10^{-5}$  М. В качестве растворителя использовалась смесь воды и ацетонитрила в соотношении 50 : 50 % в присутствии 0.25 % муравьиной кислоты. Подкисление раствора муравьиной кислотой используется в электроспрей-источниках ионов для более эффективного получения положительных ионов исследуемых веществ. На рис. 3 представлен спектр подвижности смеси алифатических четвертичных аминов  $\text{Me}_4\text{N}$  и  $\text{Et}_4\text{N}$  из раствора. Для улучшения визуального восприятия приводимых экспериментальных спектров подвижности отдельных веществ или для их разных концентраций на рисунках приводятся наложенные спектры подвижности в одном масштабе с совмещением старта записи спектра подвижности и одинаковой длительностью записи спектров. На рис. 4 приведены наложенные спектры подвижности Arginine из раствора при концентрации  $10^{-4}$  М (верхний спектр) и  $10^{-5}$  М (нижний спектр). Рис. 5 демонстрирует спектры подвижности Reserpinum при концентрации  $10^{-5}$  М (нижний спектр) и  $5 \cdot 10^{-5}$  М (верхний спектр).

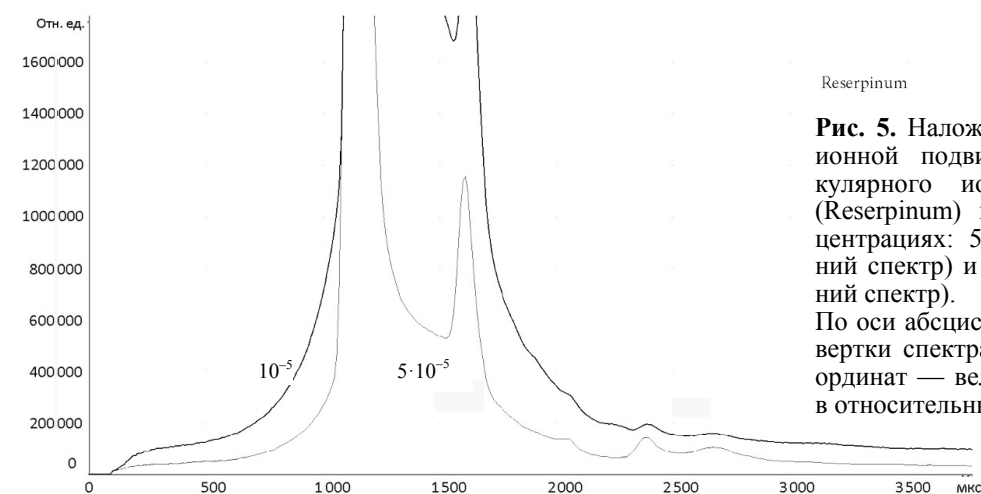


**Рис. 3.** Спектр ионной подвижности молекулярных ионов смеси алифатических четвертичных аминов  $\text{Me}_4\text{N}$  и  $\text{Et}_4\text{N}$  в растворе. По оси абсцисс — время развертки спектра (мкс), по оси ординат — величина сигнала в относительных единицах



**Рис. 4.** Наложенные спектры ионной подвижности молекулярного иона аргинина (Arginine) при двух концентрациях:  $10^{-4}$  М (верхний спектр) и  $10^{-5}$  М (нижний спектр).

По оси абсцисс — время развертки спектра (мкс), по оси ординат — величина сигнала в относительных единицах

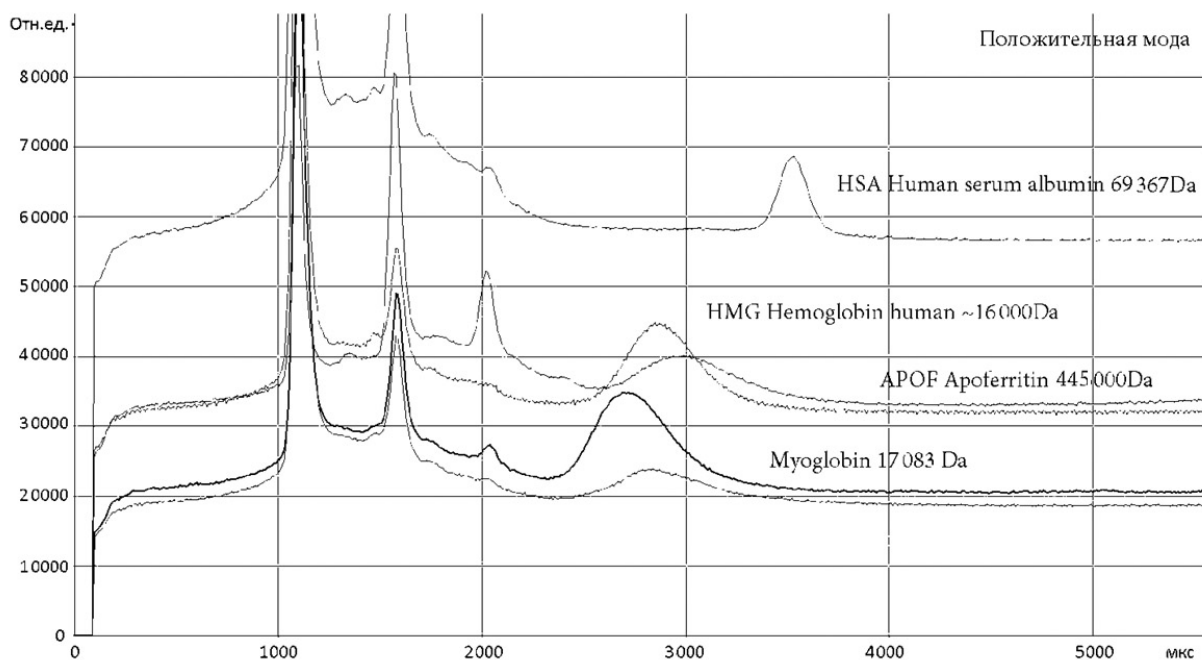


**Рис. 5.** Наложенные спектры ионной подвижности молекулярного иона резерпина (Reserpinum) при двух концентрациях:  $5 \cdot 10^{-5}$  М (верхний спектр) и  $10^{-5}$  М (нижний спектр).

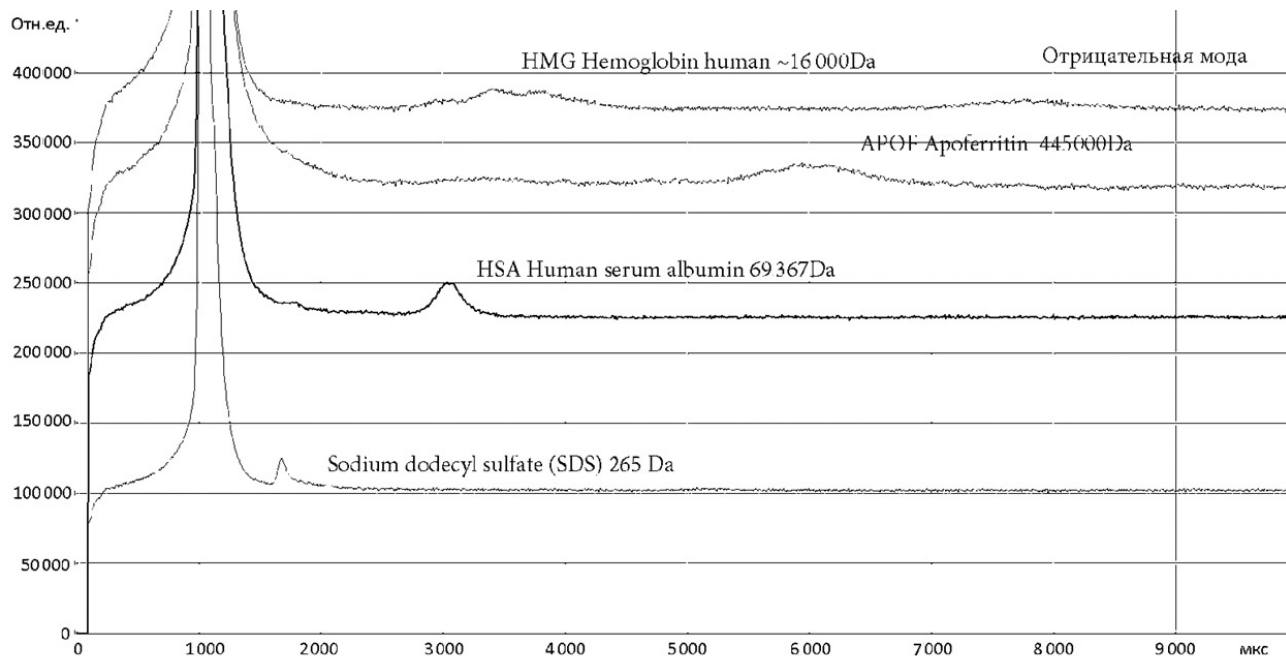
По оси абсцисс — время развертки спектра (мкс), по оси ординат — величина сигнала в относительных единицах

Из спектров подвижности различных веществ представленных на рис. 3–5 видно, что существенное влияние на вид спектра подвижности оказывает присутствие ионов, которые считаются ионами растворителя и его ионных кластеров. При этом в спектрах подвижности исследованных веществ как в положительной, так и в отрицательной моде могут существовать один или два пика, относимые к растворителю, что может также характеризовать исследуемое вещество, т. к. во всех экспериментах использовался одинаковый растворитель. На рис. 6 представлены наложенные спектры подвижности макробиомолекул, полученные в положительной моде. Следует отметить, что при разнице в массах молекулярных ионов почти в 30 раз характерные пики на спектрах подвижности располагаются в довольно узком временном промежутке, за исключением пика, соответствующего HSA. В спектре подвижности

смеси даже из двух этих веществ был бы получен неразрешенный пик молекулярных ионов, извлечь информацию из которого представляется довольно трудной задачей. Для устранения этой трудности при работе с макромолекулами становится востребованным приборный комплекс ЖХ-ЭС-ИДС. Для сравнения можно рассмотреть спектры ионной подвижности Аromyoglobin (16 951 Да) [11], Insulin (5 806 Да) [12], Cytochrome C (12 364 Да) [12], Gramicidin S (1 141 Да), Valinomycin (1 112 Да) [12, 13]. Для молекулярных ионов малой массы, полученных в основном при ионизации в газовой фазе, принято говорить о влиянии на ширину молекулярного пика в спектре подвижности следующих факторов: кулоновское отталкивание ионов одного заряда, ион-молекулярные реакции ионов исследуемого вещества с молекулами дрейфового газа и/или его примесями, а также и диффузионное расширение,



**Рис. 6.** Наложенные спектры ионной подвижности молекулярных ионов макробиомолекул. Положительная мода. По оси абсцисс — время развертки спектра (мкс), по оси ординат — величина сигнала в относительных единицах



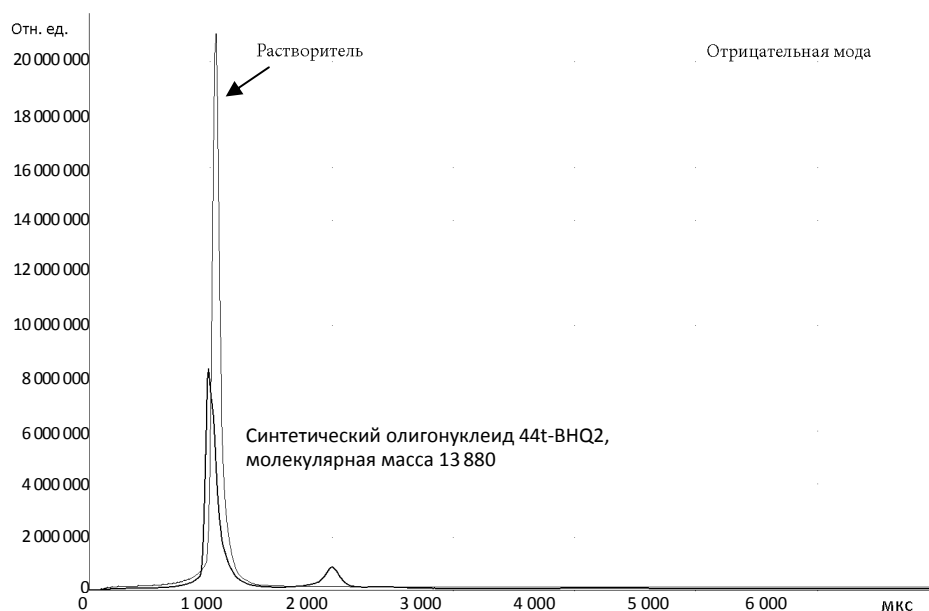
**Рис. 7.** Наложенные спектры ионной подвижности молекулярных ионов макробиомолекул. Отрицательная мода. По оси абсцисс — время развертки спектра (мкс), по оси ординат — величина сигнала в относительных единицах

то для макробиомолекул эти факторы могут быть неосновными или вообще не влиять. Например,

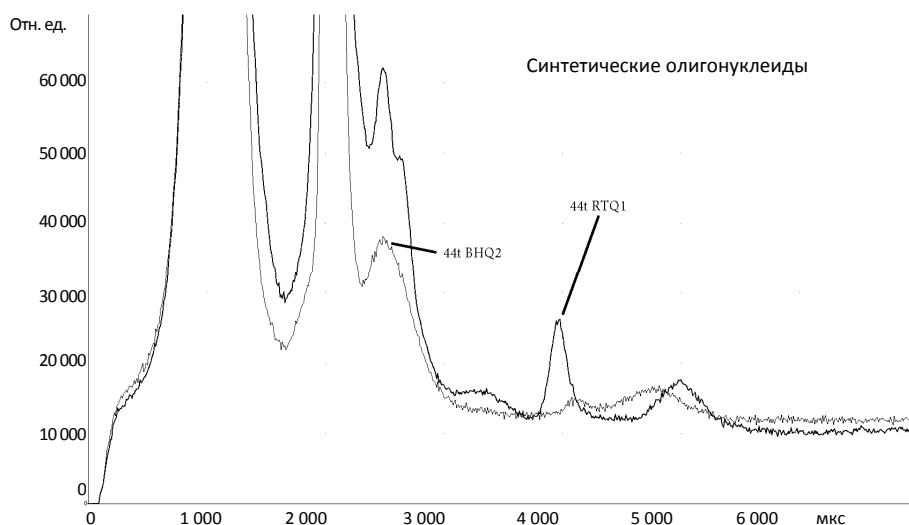
отсутствие ион-молекулярных реакций с дрейфовым газом, т. к. в качестве дрейфового газа в ос-

новном выступает чистый воздух (азот, кислород), а потенциалы ионизации компонентов воздуха много выше потенциалов ионизации макромолекул. Влияние на ширину молекулярного пика в спектре подвижности может вносить изотопное распределение в молекулярном ионе. Можно предположить, что для макромолекул пространственная структура молекулярного иона зависит от расположения и количества зарядов

на молекуле в зависимости от pH раствора (соотношение положительных и отрицательных зарядов на молекуле) и что мало влияет на молекулы малой массы: например, SDS с массой 265 Да в положительной моде не регистрируется (рис. 6), а в отрицательной моде (рис. 7) хорошо виден. О количественности измерений говорить трудно, особенно для смесей, т.к. особенностью электро-распылительных источников ионов



**Рис. 8.** Спектр ионной подвижности молекулярного иона синтетического олигонуклеотида 44t-BHQ2. По оси абсцисс — время развертки спектра (мкс), по оси ординат — величина сигнала в относительных единицах



**Рис. 9.** Наложенные спектры ионной подвижности молекулярных ионов синтетических олигонуклеотидов 44t-BHQ2 и 44t-RTQ1. По оси абсцисс — время развертки спектра (мкс), по оси ординат — величина сигнала в относительных единицах, увеличен масштаб



является то, что при равных концентрациях анализируемых веществ наиболее интенсивный молекулярный пик будет соответствовать веществу с большим сродством к протону, что в свою очередь приводит к перераспределению зарядов.

На рис. 7 представлены наложенные спектры подвижности макро биомолекул, полученные в отрицательной моде. Для экспериментов использовался тот же раствор веществ, что и для положительной моды. В отрицательной моде зарегистрирован спектр подвижности молекулярного иона SDS, который, как отмечено выше, в положительной моде не регистрировался. Из сопоставления спектров подвижности следует, что существенно изменились времена дрейфа молекулярных ионов в большую сторону, опять же за исключением молекулярного иона HAS, время дрейфа которого сократилось. Можно предположить, что соотношение зарядов у молекулярного иона HAS смещено в сторону отрицательных зарядов, а следовательно и скорость дрейфа при прочих равных параметрах эксперимента увеличена, а время дрейфа соответственно уменьшило.

В связи с получением таких спектров подвижности ионов макро молекул, интересным становится исследование спектров подвижности макромолекул при разных значениях pH раствора (разных соотношения положительных и отрицательных зарядов на молекуле).

В отрицательной моде зарегистрирован спектр подвижности молекулярного иона синтетического олигонуклеотида 44t-BHQ2 с молекулярной массой 13 880 Да, полученного из раствора, состоящего из ацетонитрила и воды в равных пропорциях. Спектр подвижности молекулярного иона для одного синтетического олигонуклеотида выглядит достаточно простым (рис. 8), но наложенные спектры подвижности молекулярного иона другого синтетического олигонуклеотида 44t-RTQ1, отличающегося от первого другим присоединенным красителем, хорошо совпадают, и отличие в спектрах можно увидеть только при масштабировании спектров по координате интенсивности сигнала рис. 9.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получены экспериментальные результаты по спектроскопии пептидов, белков и олигонуклеотидов методом ионной подвижности на опытно образце аналитического комплекса ЭС-ИДС (электроспрей, источник ионов,—ион-дрейфовый спектрометр) в положительной и отрицательной модах с использованием нового источника ионов с электрораспылением анализируемых растворов макромолекул с молекулярной массой до 445 000 Да, что

на настоящий момент в 3–6.5 раза лучше, чем результаты, полученные в [14–16]. Показано, что при анализе спектров подвижности молекулярных ионов макромолекул необходимо учитывать особенности молекул, механизм ионообразования, структуру молекул и их зарядовое состояние в зависимости от pH раствора. Показана универсальность разработанного приборного комплекса на основе ион-дрейфового спектрометра при работе с положительными и отрицательными ионами. Новый электрораспылительный источник ионов позволяет работать в широком диапазоне скоростей подачи анализируемого раствора до 200 мкл/мин при нормальных условиях. В ходе экспериментальных исследований получена высокая стабильность работы приборного комплекса и воспроизводимость результатов в течение нескольких дней без калибровок и подстроек. Экспериментальные результаты, полученные при анализе растворов макромолекул, позволяют говорить о перспективных исследованиях в этом направлении.

*Авторы выражают благодарность Федеральному медико-биологическому агентству за поддержку работы, проводимой в рамках Федеральной целевой программы "Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009–2014 годы)".*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cohen M.J., Karasek F.W. Plasma chromatography — a new dimension for gas chromatography and mass spectrometry // J. Chrom. Sci. 1970. Vol. 8, No. 6. P. 330–337.
2. Gas Chromatograph Detector. PCP, inc Ion mobility spectrometer // NASA SBIR Success. US.
3. Coy S.L., Krylov E.V., Nazarov E.G., Fornace A.Y.Jr., Kidd R.D. Differential mobility spectrometry with nanospray ion source as a compact detector for small organics and inorganics // Int. J. Ion Mobil. Spec. 2013. Vol. 16, No. 3. P. 217–227. DOI 10.1007/s12127-013-0136-3.
4. Hoiness H., Almirall J. Speciation effect of solvent chemistry on the analysis of drugs and explosives by electrospray ion mobility mass spectrometry // Int. J. Ion Mobil. Spec. 2013. Vol. 16, No. 2. P. 237–246. DOI 10.1007/s12127-013-0136-2.
5. Самокиш В.А., Краснов Н.В., Мурадымов М.З. Электроспрей-источник ионов с динамическим делителем потока жидкости // Научное приборостроение. 2012. Т. 22, № 3. С. 5–12.
6. Samokish V.A., Krasnov N.V., Muradymov M.Z. Electrospray ion source with a dynamic liquid flow splitter // Rapid Commun. mass spectrometry. 2013. Vol. 27, No. 8. P. 904–908. DOI 10.1002/rcm 6524.
7. Арсеньев А.Н., Краснов Н.В., Мурадымов М.З. Исследования стабильности электрораспыления при динамическом делении потока жидкости // Масс-спектрометрия. 2014. Т. 11, № 1. С. 36–38.



8. *Arseniev A.N., Krasnov N.V., Muradymov M.Z.* Investigation of electrospray stability with dynamic liquid flow splitter // *J. Anal. Chem.* 2014. Vol. 69, No. 14. P. 30–32.
9. *Курнин И.В., Краснов Н.В., Самокиш В.А.* Оптимальный режим работы затвора Бредбери—Нильсена в ион-дрейфовом спектрометре // *Научное приборостроение.* 2011. Т. 21, № 2. С. 34–40.
10. *Kurnin I.V., Krasnov N.V., Semenov S.Y., Smirnov V.N.* Bradbery—Nilsen gate electrode potential switching modes optimizing the ion packet time width in an ion mobility spectrometer // *Int. J. Ion Mobil. Spec.* June 2014. Vol. 17, No. 2. P. 79–85. DOI 10.1007/s1227-014-0152-x.
11. *Cox K.A., Julian R.K., Cooks R.G., Kaiser R.E.* Conformer selection of protein ions by ion mobility in a triple quadrupole mass spectrometer // *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 1994. Vol. 5. P. 127–136.
12. *Guevremont R., Michael K.W., Wang S.J., Ding L.* Combined ion mobility/time-of-flight mass spectrometry study of electrospray-generated ions // *J. Anal. Chem.* 1997. Vol. 69. P. 3959–3965.
13. *Wyttenbach T., Batka J.T., Gidden J., Bowers M.T.* Host/guest conformation of biological systems: valinomycin alkali ions // *Int. J. Mass Spectrom.* 1999. Vol. 193. P. 143–152.
14. *Karas M., Hillenkamp F.* Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10 000 daltons // *Anal. Chem.* 1988. Vol. 60. P. 2 299–2 301.
15. *Kirpekar F., Nordhoff E., Kristiansen K. et al.* Matrix assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of enzymatically synthesized RNA up to 150 kDa // *Nucleic Acids Res.* 1994. Vol. 22. P. 3 866–3 870.
16. *Fenn J.B., Mann M., Meng C.K., Wong S.F. et al.* Electrospray ionization for spectrometry of large biomolecules // *Science.* 1989. Vol. 246, No. 4 926. P. 64–71. DOI 10.1126/science.2675315.

**Институт аналитического приборостроения РАН, г. Санкт-Петербург** (Арсеньев А.Н., Алексеев Д.Н., Бельченко Г.В., Гаврик М.А., Краснов Н.В., Корякин П.С., Краснов И.А., Курнин И.В., Мьяльдин Ш.У., Мурадymов М.З., Монаков А.Г., Павлов В.Г., Зверева А.В., Никитина С.Н., Подольская Е.П., Присяч С.С.)

**Научно-технический центр радиационно-химической безопасности и гигиены Федерального медико-биологического агентства России, г. Москва** (Семенов С.Ю.)

**ООО "Грант Инструмент", г. Санкт-Петербург** (Краснов М.Н., Самокиш А.В.)

Контакты: *Краснов Николай Васильевич*, krasnov@alpha-ms.com

Материал поступил в редакцию: 13.01.2015

## SPECTROSCOPY OF PEPTIDES, PROTEINS AND OLIGONUKLEOTIDES FROM SOLUTIONS BY ION MOBILITY

**A. N. Arseniev<sup>1</sup>, D. N. Alekseev<sup>1</sup>, G. V. Belchenko<sup>1</sup>, M. A. Gavrik<sup>1</sup>,  
N. V. Krasnov<sup>1</sup>, P. S. Koryakin<sup>1</sup>, I. A. Krasnov<sup>1</sup>, I. V. Kurnin<sup>1</sup>, Sh. U. Myaldzin<sup>1</sup>,  
M. Z. Muradymov<sup>1</sup>, A. G. Monakov<sup>1</sup>, V. G. Pavlov<sup>1</sup>, A. V. Zvereva<sup>1</sup>,  
S. N. Nikitina<sup>1</sup>, E. P. Podolskaya<sup>1</sup>, S. S. Prisyach<sup>1</sup>,  
S. Yu. Semenov<sup>2</sup>, M. N. Krasnov<sup>3</sup>, A. V. Samokish<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>*Institute for Analytical Instrumentation of RAS, Saint-Petersburg, RF*

<sup>2</sup>*Scientific and Technical Center for Radiation and Chemical Safety and Hygiene of the Federal Medical and Biological Agency of Russia, Moscow, RF*

<sup>3</sup>*Ltd "Grant Instrument", Saint-Petersburg, RF*

The capability of producing an ion mobility spectra of peptides, proteins and oligonucleotides in positive and negative modes using an ion source with field desorption ion from solution under dynamic flow dividing spraying liquid at atmospheric pressure and normal conditions. As of the objects used solutions: aliphatic quaternary amines Me<sub>4</sub>N and Et<sub>4</sub>N, arginine (175 Da), reserpine (608.68 Da) in positive mode, macro biomolecules Human serum albumin (69 367 Da), Hemoglobin Human (16 000 Da), Apoferritin (445 000 Da), Myoglobin (17 083 Da), Chymotrypsinogen A (25 666 Da), and synthetic oligonucleotides doditsela sodium sulfate (265 Da) in positive and negative modes. The studies were conducted on the prototype analytical

complex ES-IDS (electrospray ion source — ion drift spectrometer), developed at the request of FMBA of Russia under the Federal Target Program "National System of chemical and biological safety of the Russian Federation (2009–2014)".

*Keywords:* ion mobility spectrometer, peptides, proteins, oligonucleotides, electrospray liquid

## REFERENCES

1. Cohen M.J., Karasek F.W. Plasma chromatography — a new dimension for gas chromatography and mass spectrometry. *J. Chrom. Sci.*, 1970, vol. 8, no. 6, pp. 330–337.
2. Gas Chromatograph Detector. PCP, inc Ion mobility spectrometer. *NASA SBIR Success*. US.
3. Coy S.L., Krylov E.V., Nazarov E.G., Fornace A.Y.Jr., Kidd R.D. Differential mobility spectrometry with nanospray ion source as a compact detector for small organics and inorganics. *Int. J. Ion Mobil. Spec.*, 2013, vol. 16, no. 3, pp. 217–227. DOI 10.1007/s12127-013-0136-3.
4. Hoiness H., Almirall J. Speciation effect of solvent chemistry on the analysis of drugs and explosives by electrospray ion mobility mass spectrometry. *Int. J. Ion Mobil. Spec.*, 2013, vol. 16, no. 2, pp. 237–246. DOI 10.1007/s12127-013-0136-2.
5. Samokish V.A., Krasnov N.V., Muradymov M.Z. [Electrospray ion source with a dynamic division of fluid flow]. *Nauchnoe Priborostroenie* [Science Instrumentation], 2012, vol. 22, no. 3, pp. 5–12. (In Russ.).
6. Samokish V.A., Krasnov N.V., Muradymov M.Z. Electrospray ion source with a dynamic liquid flow splitter. *Rapid Commun. mass spectrometry*, 2013, vol. 27, no. 8, pp. 904–908. DOI 10.1002/rcm 6524.
7. Arseniev A.N., Krasnov N.V., Muradymov M.Z. [Researches of stability of electrodispersion at dynamic division of a stream of liquid]. *Mass-spektrometriya* [Mass Spectrometry], 2014, vol. 11, no. 1, pp. 36–38. (In Russ.).
8. Arseniev A.N., Krasnov N.V., Muradymov M.Z. Investigation of electrospray stability with dynamic liquid flow splitter. *J. Anal. Chem.*, 2014, vol. 69, no. 14, pp. 30–32.
9. Kurnin I.V., Krasnov N.V., Samokish V.A. [Optimum operating mode of a lock of Bradbury—Nielsen in an ion a drift spectrometer]. *Nauchnoe Priborostroenie* [Science Instrumentation], 2011, vol. 21, no. 2, pp. 34–40. (In Russ.).
10. Kurnin I.V., Krasnov N.V., Semenov S.Y., Smirnov V.N. Bradbery—Nielsen gate electrode potential switching modes optimizing the ion packet time width in an ion mobility spectrometer. *Int. J. Ion Mobil. Spec.*, June 2014, vol. 17, no. 2, pp. 79–85. DOI 10.1007/s1227-014-0152-x.
11. Cox K.A., Julian R.K., Cooks R.G., Kaiser R.E. Conformer selection of protein ions by ion mobility in a triple quadrupole mass spectrometer. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 1994, vol. 5, pp. 127–136.
12. Guevremont R., Michael K.W., Wang S.J., Ding L. Combined ion mobility/time-of-flight mass spectrometry study of electrospray-generated ions. *J. Anal. Chem.*, 1997, vol. 69, pp. 3959–3965.
13. Wyttenbach T., Batka J.T., Gidden J., Bowers M.T. Host/guest conformation of biological systems: valinomycin alkali ions. *Int. J. Mass Spectrom.*, 1999, vol. 193, pp. 143–152.
14. Karas M., Hillenkamp F. Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10 000 daltons. *Anal. Chem.*, 1988, vol. 60, pp. 2299–2301.
15. Kirpekar F., Nordhoff E., Kristiansen K. et al. Matrix assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of enzymatically synthesized RNA up to 150 kDa. *Nucleic Acids Res.*, 1994, vol. 22, pp. 3866–3870.
16. Fenn J.B., Mann M., Meng C.K., Wong S.F. et al. Electrospray ionization for spectrometry of large biomolecules. *Science*, 1989, vol. 246, no. 4926, pp. 64–71. DOI 10.1126/science.2675315.

Contacts: *Krasnov Nikolay Vasil'evich*,  
krasnov@alpha-ms.com

Article received in edition: 13.01.2015