

SHIMADZU: ПРИМЕНЕНИЕ НОВЫХ МЕТОДОВ ИНСТРУМЕНТАЛЬНОГО АНАЛИЗА В ФАРМАЦЕВТИКЕ, БИОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ И САНИТАРНОМ КОНТРОЛЕ



■ **А.Б. Сухомлинов**, директор компании «ШимЮкрейн» – генерального дистрибьютора аналитического оборудования Shimadzu Corporation в Украине и Республике Молдова

Вплоть до последнего времени возможность прямого инструментального анализа макромолекул оставалась только мечтой исследователей. Положение серьезным образом изменилось лишь несколько лет назад, когда работники лабораторий (исследовательских, производственных и контрольно-экспертных) получили в свое распоряжение новые аналитические методы и соответствующие приборы, позволяющие уверенно выполнять необходимые измерения.

Среди ряда методов этого направления, пожалуй, наиболее эффективным оказалась время-пролетная масс-спектрометрия в сочетании с лазерной десорбцией/ионизацией при содействии матрицы. Английская аббревиатура для названия этого масс-спектрометрического метода – **MALDI-TOF** – широко используется на практике без перевода. Именно этому методу посвящена настоящая статья.

Когда в 2002 году Нобелевский комитет объявил о присуждении Нобелевской премии по химии сотруднику японской приборостроительной корпорации **Shimadzu** молодому исследователю



Фото 1. Вручение Нобелевской премии по химии сотруднику Shimadzu Corporation К. Танака за разработку методов «мягкой» ионизации в масс-спектрометрическом анализе биологических макромолекул

Коичи Танака (Фото 1) за разработку методов «мягкой» ионизации в масс-спектрометрическом анализе биологических макромолекул, это сразу же вызвало огромный интерес аналитиков, усилившийся после знакомства с тезисами Нобелевской лекции лауреата, содержащей интригующий девиз: «как заставить слонов летать». Не секрет, что уже параллельно с развитием основ методологии в течение 10 лет, с момента первой публикации **К. Танака** на указанную тему в 1988 году до вручения ему Нобелевской премии в 2002 году, происходило также и совершенствование аппаратного оформления нового метода.

Несколько приборостроительных компаний уже в то время начали выпускать приборы небольшими сериями. Но именно в последние пять лет отмечено бурное развитие как самой методологии, так и приборов, позволяющих достаточно просто, но в то же время с высокой эффективностью решать задачи прямого анализа макромолекул. Не

удивительно, что корпорация **Shimadzu**, где по-прежнему трудится в своей лаборатории Нобелевский лауреат – автор метода **К. Танака**, вносит заметный вклад в создание и производство новых приборов, представляющих собой масс-спектрометрические системы с лазерной десорбцией/ионизацией при содействии матрицы, совмещенные с времяпролетным масс-анализатором.

В настоящее время **Shimadzu** производит четыре модели масс-спектрометров типа **MALDI-TOF**, образующих серию под названием **AXIMA**. Для данной серии общей является схема процесса – макромолекулы, заключенные в матрице, под действием лазерных импульсов десорбируются и ионизируются, а затем ускоряются электромагнитным полем. Различные ионы затем детектируются по истечению определенного времени пролета, пропорционального массе иона, образуя масс-спектр пробы.

Самой популярной в этой серии приборов является модель **AXIMA Assurance** (Фото 2), отличающаяся простотой конструкции и, соответственно, доступной ценой. Простота конструкции заключается в применении времяпролетного масс-анализатора линейного типа. В то же время прибор отличается высокими техническими характеристиками. Диапазон масс – от 1 до 500000 а.е.м., разрешение – более 5000 FWHM, чувствительность – (Glu-1-Fibrinopeptide) 0,25 фемтомоль. Максимальная частота

Фото 2. MALDI TOF масс спектрометр Shimadzu AXIMA Assurance

«выстрелов» лазера составляет 50 Гц. Прибор оснащен полностью автоматической системой ввода пробы. Могут использоваться планшеты с 384 лунками. Программное обеспечение управляет перемещением столика так, чтобы проба точно подстраивалась под фокус лазера. Область применения этого прибора самая широкая. На предприятиях он используется для контроля качества продукции. Также эффективен он при определении молекулярной массы исследуемого белка или других биополимеров. С помощью этого прибора удобно осуществлять высокопроизводительный контроль качества олигонуклеотидов, а также автоматическое масс-типирование белка и детектирование биомаркеров. В последнее время данный прибор начал широко применяться для экспрессной и надежной идентификации микроорганизмов. Не последнюю роль в этом плане сыграло применение новой базы данных масс-спектров нативных микроорганизмов **SARAMIS**. Система **AXIMA&SARAMIS** позволяет идентифицировать 380 клинических проб в течение 5 часов с впечатляющей скоростью – менее минуты на одну пробу.

Вторая, более сложная модель линейки **MALDI-TOF** масс-спектрометров **Shimadzu**, **AXIMA Confidence**, предусматривает возможность работы времяпролетного масс-анализатора как в линейном, так и в рефлекторном режиме. Последнее свойство обеспечивает повышенное разрешение (15000 FWHM), что важно при исследовании структуры биомолекул. **AXIMA Confidence** дает возможность дополнительной фрагментации пептидов с образованием метастабильных фрагментов, позволяет частично определить аминокислотную последовательность исследуемого белка. Так же, как и предыдущая модель, **AXIMA Confidence** может использоваться для автоматического масс-типирования и детектирования белка.

Третья модель серии, **AXIMA Performance**, представляет собой прибор с двойным анализатором типа TOF/TOF или TOF2. Режимы измерений MS/MS, реализуемые на этом приборе, позволяют получать больше информации для более широкого класса анализируемых соединений, в числе которых пептиды, сахара, липиды.

Четвертая модель серии, **AXIMA Resonance**, сочетает в своей конструкции вакуумный источник ионов **MALDI**, квадрупольную ионную ловушку и время-пролетный масс-анализатор с рефлектором. Этот прибор дает возможность работать в режимах MS и MSn как в положительной, так и в отрицательной полярности. С помощью данного прибора можно проводить экспресс-анализ малых молекул и получать обширную информацию по фрагментации. Уникальная функциональность этого прибора позволяет изучать аминокислотную последовательность и структуру белков и пептидов. Он может быть также использован для изучения структурных особенностей других биополимеров.

Особенностью производственной линейки **Shimadzu** в разделе оборудования для анализа макромолекул является разработка и выпуск ряда вспомогательных приборов, использование которых в сочетании с мощными средствами измерения, описанными выше, обеспечивает быстроту и надежность анализа, удобство работы с микроколичествами пробы. Так, например, автоматическая станция химической обработки мембран с разделенными белками **ChiP-1000** (Фото 3) позволяет наносить реагент объемом несколько десятков пиколитров на мембрану с перенесенными на нее белками для **MALDI** масс-спектрометрии. Этот прибор позволяет сохранить анализируемую PVDF мембрану. Использование **ChiP-1000** дает возможность повторного анализа одного и того же образца для иммуно-блоттинга и масс-спектрометрии. При необходимости совмещения жидкостной хроматографии и масс-спектрометрического анализа в режиме **MALDI** удобно использовать прибор **AccuSpot** (Фото 4), в



Фото 3. Автоматическая станция химической обработки мембран с разделенными белками Shimadzu ChiP 1000

котором элюент, выходящий из хроматографической колонки, смешивается с матрицей и наносится на планшет в совмещенном блоке. Система позволяет комбинировать одномерную или двумерную жидкостную хроматографию и **MALDI** масс-спектрометрическое детектирование. Микрофракционирование возможно одновременно на 996-луночных или 384-луночных планшетах. Скорость нанесения матрицы варьируется от 0,1 мкл/мин до 50 мкл/мин. Особенно эффективно сочетание **ВЭЖХ** и **MALDI-TOF** масс-спектрометрии для анализа сложных биологических образцов, нативных биологических жидкостей, таких как сыворотка и плазма крови, молекулярно-массового распределения полимерных смесей и т.п.



Фото 4. Модуль сопряжения ВЭЖХ и MALDI-TOF масс-спектрометра Shimadzu AccuSpot

SHIMADZU
Solutions for Science
since 1875
Шимадзу Европа ГмБХ

Москва, 119049,
4-й Добрынинский пер-к, 8, офис 13-01
Тел.: (495) 989-13-17; (495) 989-13-18
Факс: (495) 989-13-19
E-mail: smo@shimadzu.ru
Web: http://www.shimadzu.ru