ЛЕГЕНДА МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

УДК 621.384.8
ВАК 02.00.02

Гудилин Д.Ю., к.т.н., dug@list.ru

26 декабря 2021 года в возрасте 98 лет ушел из жизни Фред Маклафферти (Fred McLafferty), выдающийся американский химик-аналитик, внесший огромный вклад в развитие масс-спектрометрии и ряда других направлений химического анализа. Маклафферти более 70 лет занимался аналитической химией в компании Dow Chemical (1950–1964), университете Пердью (1964–1968) и Корнеллском университете (с 1968 года до конца жизни). Его имя увековечено в названии химической реакции, которая происходит при фрагментации молекул ряда органических соединений в масс-спектрометре. Маклафферти участвовал в создании первого прибора ГХ-МС, был одним из составителей и инициатором публикации библиотек масс-спектров, сыграл важную роль в развитии современной протеомики.

ИЗ УНИВЕРСИТЕТА НА ФРОНТ, С ФРОНТА В УНИВЕРСИТЕТ

Фред Маклафферти родился 11 мая 1923 года в Эванстоне, штат Иллинойс (США). Вскоре его семья переехала в штат Небраска, где он закончил школу и в 1940 году поступил в университет. Через три года Маклафферти получил степень бакалавра, но вынужден был прервать обучение – в 1944 году его призвали в армию США.

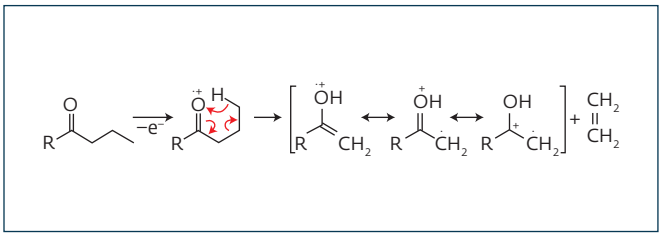
Маклафферти служил рядовым в пехоте, воевал в Европе на Западном фронте, на передовой. Был ранен и удостоился медали "Пурпурное сердце". Как и многие фронтовики, о войне он рассказывает неохотно и без ностальгических восторгов. "Я не продал бы свой военный опыт даже за миллион долларов, но и ни за какие деньги не согласился бы пережить его еще раз", – сказал Маклафферти в 2013 году в интервью журналу the Analytical Scientist. Звучит не только афористично, но и очень злободневно. Свои успехи в военном деле он оценивал очень скромно, но гордился боевыми товарищами, один из которых удостоился высшей военной награды США – Медали Почета. Следует отметить, что за всю Вторую мировую войну этой медалью было награждено менее 400 человек.

Демобилизовавшись, осенью 1945 года Маклафферти вернулся в университет и закончил его в 1947 году, получив степень магистра аналитической химии.

ПЕРЕГРУППИРОВКА МАКЛАФФЕРТИ

В 1950 году Маклафферти защитил в Корнеллском университете докторскую диссертацию, посвященную исследованию соединений хлора и фтора, затем некоторое время работал в Айовском университете, однако вскоре ушел в промышленный сектор – химическую компанию Dow Chemical в Мидленде, штат Мичиган. В лабораториях Dow Chemical он впервые получил возможность работы на масс-спектрометре. Как позднее вспоминал ученый

DOI: 10.32757/2619-0923.2021.1-2.20.66.69



Перегруппировка Маклафферти с отрывом этилена

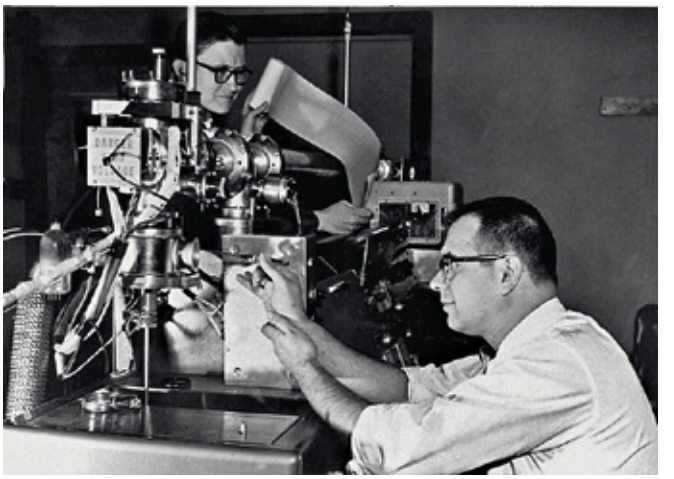
[1], в то время развитию масс-спектрометрии способствовали в большей степени работы лабораторий промышленных компаний, чем научных и университетских центров, из которых лишь немногие располагали масс-спектрометрами и практически все испытывали проблемы с финансированием.

Важнейшим направлением совершенствования масс-спектрометрических методов в 1950-х годах было изучение механизмов фрагментации молекул различных типов. В этой области стал работать и Маклафферти. Получив и изучив около 4 тыс. масс-спектров имевшихся в лаборатории Dow Chemical эталонных веществ, он обнаружил сходство молекулярных перегруппировок в соединениях разных классов [2, 3]. Знание характера такой перегруппировки позволяет определять структуру неизвестной органической молекулы по ее масс-спектру. Соответствующий эффект был назван "перегруппировкой Маклафферти".

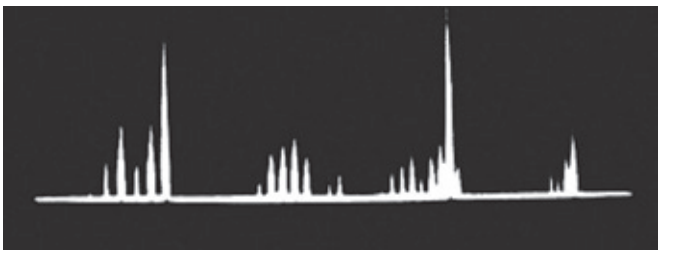
Как показали проведенные Маклафферти исследования, открытое им явление наблюдается в масс-спектрометрии на этапе фрагментации альдегидов, кетонов, карбоновых кислот, эфиров кислот и других соединений, содержащих ненасыщенную группу C=O, C=N, C=C или C=S, а также атом H в γ-положении относительно такой группы [3]. Перегруппировка заключается в миграции атома H в молекулярном ионе от g-атома C к атому O, N, C или S. Миграция происходит через шестичленное переходное состояние и сопровождается выделением нейтральной молекулы. Перегруппировка является региоселективной, а для ее реализации расстояние между ненасыщенной группой и атомом H не должно превышать 0,18 нм.

ПЕРВЫЙ В МИРЕ ПРИБОР ГХ-МС

В годы Второй мировой войны масс-спектрометрия начала все более широко использоваться для количественного анализа органических соединений в нефтяной промышленности. В начале 1950-х годов открылись перспективы соединения масс-спектрометрии с газовой хроматографией, что обещало новые возможно-



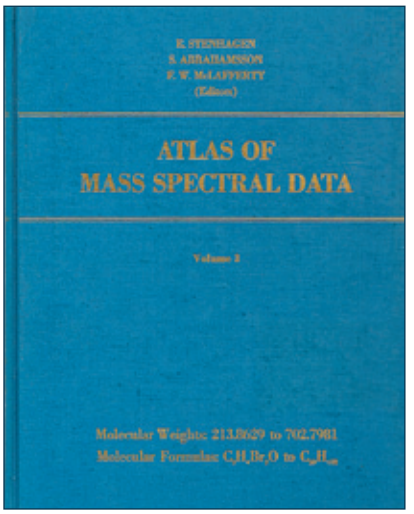
Фред Маклафферти (слева) и Роланд Гольке в лаборатории Dow Chemical



Масс-спектр ацетона, полученный на приборе ГХ-МС первого поколения – фотография экрана осциллографа

сти исследования и идентификации органических соединений. Однако серьезной технической проблемой, затруднявшей создание приборов ГХ-МС, была низкая скорость как самих масс-анализаторов, так и самописцев, фиксировавших масс-спектры.

Зимой 1955/56 годов Маклафферти участвовал в первых экспериментах в области ГХ-МС [4]. Кроме него в научную группу входил его коллега по Dow Chemical Роланд Гольке (Roland Gohlke), а также Билл Уайли (Bill Wiley) и Ян Макларен (Ian McLaren) из исследовательской лаборатории приборостроительной компании Bendix. В экспериментах использовался созданный Bendix прототип времяпролетного масс-спектрометра, который обладал разрешающей способностью по массе около 200 и скоростью 10 тыс. масс-спектров в секунду. Важнейшей инновацией было отображение результатов измерений в режиме реального времени на экране осциллографа. Для их регистрации использовался фотоаппарат Polaroid. Благодаря перечисленным новшествам масс-спектрометр впервые удалось подключить к газовому хроматографу. Как результат этого и других проектов, уже в 1956 году Bendix наладила выпуск коммерче-



Первое издание библиотеки масс-спектров

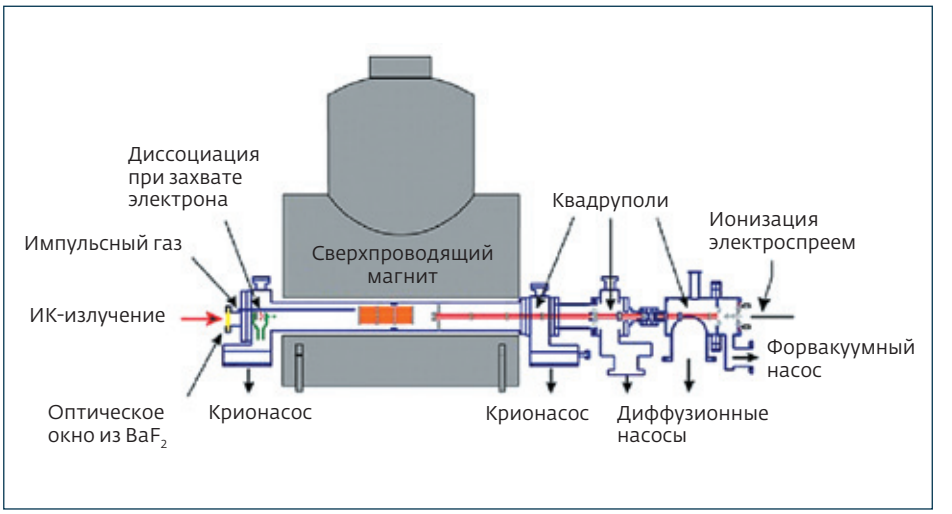


Схема масс-спектрометра, использовавшегося в лаборатории Маклафферти для TDP-исследований

ских времяпролетных масс-спектрометров, некоторые из которых использовались для реализации метода ГХ-МС [4].

ФОРМИРОВАНИЕ И ПУБЛИКАЦИЯ БИБЛИОТЕК МАСС-СПЕКТРОВ

Важнейшим условием для широкого внедрения масс-спектрометрии в научную и промышленную практику было создание библиотек эталонных масс-спектров. Как уже упоминалось, в Dow Chemical имелись эталонные образцы нескольких тысяч химических соединений, и Маклафферти постепенно регистрировал их масс-спектры, создавая основу будущей библиотеки. Эта работа выполнялась в основном на энтузиазме, когда приборы освобождались от основных задач.

В конце 1960-х годов Маклафферти объединил накопленные данные с библиотекой, собранной Эйнаром Стенхагеном (Einar Stenhagen) из Гетеборгского университета. Результатом стала публикация в 1969 году первой открытой библиотеки, включавшей в себя 6,8 тыс. масс-спектров [5], причем третий участник проекта – Сикстен Абрахамссон (Sixten Abrahamsson) настоял на том, чтобы книга комплектовалась магнитным носителем с записанной на него базой данных. Благодаря этому задолго до создания глобальных сетей все заинтересованные специалисты получили доступ к цифровой библиотеке масс-спектров.

В дальнейшем Маклафферти продолжал работу над пополнением библиотек. Так, девятое издание справочника, увидевшее свет в 2009 году, содержало уже около 660 тыс. масс-спектров 592 тыс. химических соединений [6].

ВКЛАД В РАЗВИТИЕ ТАНДЕМНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

Во второй половине 1960-х годов, в период работы в университете Пердью и после перехода Корнеллский университет, Маклафферти одним из первых начал использовать в своих исследованиях тандемные масс-спектрометры. Например, в 1966 году методом МС/МС были исследованы изомеры ксилола и изучены некоторые проблемы химической ионизации [7].

По мере усложнения исследуемых соединений росли и требования к применяемым приборам. Так, уже во второй половине 1970-х годов актуальным стало исследование полипептидов, белков и других крупных молекул, однако для этого требовалось существенное повышение разрешения по массе. Маклафферти принял участие в разработке первого тандемного масс-спектрометра с двойной фокусировкой [8], ставшего основным исследовательским инструментом в 1980-е годы. Однако для задач протеомики его возможностей не хватало, поэтому начало исследований белков пришлось отложить на последнее десятилетие XX века.

ПИОНЕР В TOP-DOWN-ПРОТЕОМИКЕ

В поздний период своей карьеры Маклафферти внес значимый вклад в развитие современной протеомики, в частности в разработку и реализацию секвенирования белков целиком – "сверху вниз" (top-down proteomics, TDP). В отличие от идентификации "снизу вверх" (bottom-up), когда исходную сложную молекулу предварительно разделяют на отдельные пептиды, TDP позволяет со значительно большей точностью установить изоформу белка. Например, только такой подход

обеспечивает получение необходимой информации для исследования посттрансляционных модификаций в белках.

В середине 1980-х годов в лаборатории Маклафферти в Корнеллском университете был установлен прибор с масс-анализатором ионно-циклотронного резонанса с фурье-преобразованием, который позволял исследовать соединения с молекулярной массой более 16 кДа. Через несколько лет он был дооснащен квадрупольной секцией и системой ионизации электрораспылением, причем в создании последней помогал будущий нобелевский лауреат Джон Фенн (John Fenn).

На новом приборе в 1990-х годах начали проводится TDP-исследования полипептидов [9]. В частности, при изучении тиаминазы I была выявлена неоднородность по молекулярной массе и определено положение активного центра фермента [10]. В этом проекте фрагментация проводилась в источнике ионов путем изменения разницы потенциалов между соплом и скиммером (отбирающим электродом). Также в лаборатории Маклафферти была показана эффективность применения капиллярного электрофореза для разделения макромолекул в масс-спектрометрических исследованиях сложных белков [11]. В 1999 году с помощью TDP удалось получить модель карбоангидразы с молекулярной массой 29 кДа [12].

Перечисленные исследования проводились в период, когда в протеомике преобладал подход "снизу вверх", более простой с методологической точки зрения и позволявший обходится менее сложным оборудованием. В результате именно работы группы Маклафферти в значительной степени способствовали поддержанию интереса к TDP и создали основу для дальнейшего развития этого направления.

* * * *

Маклафферти считал себя удачливым ученым, хотя вряд ли его можно назвать баловнем судьбы. Однако благодаря упорному труду он рационально использовал открывавшиеся возможности. Например, после защиты диссертации он вынужденно ушел в промышленность, поскольку в университетах, где учился и проводил свои первые научные исследования, для него не нашлось вакантного места. Но именно благодаря переходу в Dow Chemical Маклафферти уже в начале 1950-х годов получил возможность заняться масс-спектрометрией, так как ни в Корнеллском, ни в Айовском университетах не было масс-спектрометрических приборов.

Оставив яркий след во множестве областей аналитической химии, Маклафферти был обойден вниманием Нобелевского комитета, хотя за долгую карьеру успел поработать с несколькими будущими лауреатами самой престижной премии. Тем не менее он является единственным на сегодняшний день масс-спектрометристом, в честь которого названа химическая реакция. Заслуги его отмечены более чем двумя десятками званий и наград различных научных сообществ, включая членство в трех академиях наук, звания почетного доктора в университетах Небраски, Льежа и Пердью, премии и медали. Научное наследство Маклафферти включает в себя более 500 статей и монографий.

ЛИТЕРАТУРА

1. **McLafferty F.** A century of progress in molecular mass spectrometry // Annu Rev Anal Chem (Palo Alto Calif). 2011. Vol. 4. P. 1–22.
2. **McLafferty F.** Mass spectrometric analysis. Broad applicability to chemical research // Anal. Chem. 1956. Vol. 28. P. 306–316.
3. **McLafferty F.** Mass spectrometric analysis: molecular rearrangements // Anal. Chem. 1959. Vol. 31. P. 82–87.
4. **Gohlke R.**, **McLafferty F.** Early gas chromatography/mass spectrometry // J. Am. Soc. Mass Spectrom. 1993. Vol. 4. P. 367–371.
5. **Abrahamsson S.**, **Stenhagen E.**, **McLafferty F.** Atlas of Mass Spectral Data. New York: Wiley, 1969. 2354 p.
6. **McLafferty F.** Registry of mass spectral data and registry combined with NIST / 9th ed. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell, 2009.
7. **McLafferty F.**, **Bryce T.** Metastable ion characteristics: characterization of isomeric molecules // Chem. Commun. 1967. P. 1215–1217.
8. **McLafferty F.**, **Todd P.**, **McGilvery D.**, **Baldwin M.** High-resolution tandem mass spectrometry (MS/MS) of increased sensitivity and mass range // J. Am. Chem. Soc. 1980. Vol. 102. P. 3360–3363.
9. **McLafferty F.** High-resolution tandem FT mass spectrometry above 10 kDa // Acc. Chem. Res. 1994. Vol. 27. P. 379–386.
10. **Kelleher N.**, **Costello C.**, **Begley T.**, **McLafferty F.** Thiaminase I (42 kDa) heterogeneity, sequence refinement, and active site location from high-resolution tandem mass spectrometry // J. Am. Soc. Mass Spectrom. 1995. Vol. 6. P. 981–984.
11. **Valaskovic G.**, **Kelleher N.**, **McLafferty F.** Attomole protein characterization by capillary electrophoresis-mass spectrometry // Science. 1996. Vol. 273. P. 1199–1202.
12. **Kelleher N.**, **Lin H.**, **Valaskovic G.**, **Aaserud D.**, **Fridriksson E.**, **McLafferty F.** Top down versus bottom up protein characterization by tandem high-resolution mass spectrometry // J. Am. Chem. Soc. 1999. Vol. 121. P. 806–8012.