СЪЕЗД ВМСО И ВСЕРОССИЙСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ "МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ И ЕЕ ПРИКЛАДНЫЕ ПРОБЛЕМЫ"

УДК 621.384.8
ВАК 02.00.02

Липеева А.В., к.х.н., ООО "ЛабПроМедиа", mond_05@list.ru

С 30 октября по 3 ноября 2023 года в Москве, на базе Института физической химии и электрохимии имени А.Н.Фрумкина РАН и Института нефтехимического синтеза им. А.В.Топчиева РАН прошел XI съезд Всероссийского масс-спектрометрического общества и X Всероссийская конференция с международным участием "Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы". В первый день съезда состоялось общее собрание членов ВМСО. В научной части программы было заслушано 15 пленарных лекций, представлено 70 секционных устных и 60 стендовых докладов. На конференции во второй раз вручалась премия, учрежденная выдающимся ученым, создателем принципиально нового типа масс-спектрометров на базе орбитальных ловушек Александром Алексеевичем Макаровым для молодых ученых, работающих в области научного приборостроения. Помимо этого, в рамках конференции Фонд "Развитие химической физики" впервые провел конкурс на получение премии за лучшую научную работу среди студентов и аспирантов, представивших устный доклад.
В кратком обзоре мы рассказываем лишь о некоторых докладах, прозвучавших на конференции.

В первый день съезда состоялось общее собрание членов ВМСО. С отчетным докладом перед участниками выступил президент ВМСО, д.х.н., профессор Альберт Тарасович Лебедев. По окончании организационной части съезда начала работу научно-практическая конференция, на которой было заслушано 15 пленарных лекций, представлено 70 секционных устных и 60 стендовых докладов. Работа велась в 5 секциях: приборостроение, изотопная масс-спектрометрия, органическая масс-спектрометрия, применение масс-спектрометрии для аналитических целей (экология, допинг-контроль, контроль продукции и процессов и т.д.), неорганическая и элементная масс-спектрометрия, масс-спектрометрия в медицине и биологии.

Как отметили организаторы научного форума, среди участников конференции было традиционно много молодых ученых, которые представили результаты своих исследований в соавторстве со старшими коллегами. Премию А.А.Макарова получил сотрудник ФТИ РАН и ИАП РАН Иван Александрович Громов за разработку масс-спектрометра для анализа водородно-гелиевых смесей. Создание таких приборов необходимо для развития атомной промышленности. Премия Фонда "Развитие химической физики" за лучшую научную работу среди студентов и аспирантов, представивших устный доклад, была присуждена студентке магистратуры Московского физико-технического института, младшему научному сотруднику Федерального исследовательского центра химической физики им. Н.Н.Семенова РАН Дарье Дмитриевне Емекеевой. Ее работа связана с применением масс-спектрометрии для изучения патогенеза болезни Альцгеймера (рис.1).

В пленарных докладах и на устных сессиях конференции рассматривались вопросы развития методов масс-спектрометрии (МС) и их практического применения, а также основные проблемы и вызовы в данной научно-технологической области. Помимо этого, прозвучали сообщения от компаний "МС-Аналитика", НКЦ "Лабтест", "АльгимедТехно", "АкваХром", ЛЕКО Рус", "Энерголаб" о современных решениях в области хромато-масс-спектрометрического оборудования на рынке России и СНГ. Мемориальная сессия была посвящена выдающимся советским и российским масс-спектрометристам – Лидии Николаевне Галль (1934–2023), Владимиру Георгиевичу Заикину (1941–2023) и Игорю Александровичу Ревельскому (1936–2023).

Научную программу конференции открыла пленарная лекция академика РАН, д.х.н., проф. Валентина Павловича Ананикова "Масс-спектрометрия и машинное обучение в нанотехнологиях и катализе". Несмотря на то что МС является самым мощным методом обнаружения отдельных соединений даже в сложных матрицах, полное определение сигнала по-прежнему остается большой проблемой. Для исследователей все еще актуальна задача установления структуры вещества по спектру. Научная группа В.П.Ананикова активно

DOI: 10.32757/2619-0923.2024.1.27.22.35

Рис.1. *Президент ВМСО профессор Альберт Тарасович Лебедев вручает Ивану Александровичу Громову премию А.А.Макарова, справа – победители конкурса Фонда "Развитие химической физики" и представитель Фонда, руководитель Института энергетических проблем химической физики им. В.Л.Тальрозе к.т.н. Михаил Владимирович Горшков. Фото: Ольга Макарова / Пресс-служба ИФХЭ РАН*

исследует проблему создания алгоритмов для решения этой проблемы. В своем докладе академик поделился последними разработками для эффективной интерпретации данных МС. Был продемонстрирован новый подход к детальному анализу, основанный на деизотопировании, выполняемом с помощью деревьев решений с градиентным усилением и нейронной сети, которая генерирует молекулярные формулы на основе тонкой изотопной структуры (табл.1).

Примечательно, что некоторые компоненты описываемого решения будут работать для всех диапазонов возможных разрешений (отрисовка структур, различные визуализации). Проверка присутствия соединений проверена для спектров, получаемых от приборов с высоким разрешением, поскольку они обеспечивают достаточную точность измерения массы. В то же время модели классификации пригодны и для спектров более низкого разрешения, но прогнозы будут основываться только на общей интенсивности каждого агрегированного изотопного варианта (требующего переобучения моделей). Деизотопирование будет работать с любыми спектрами, но пороговые параметры потребуют дополнительной настройки. Методы успешно апробированы на трех примерах: фрагментно-ионный анализ при секвенирова-

Табл.1. *Подход к интерпретации данных МС с помощью деревьев решений и деизотопирования*

	Приборы со сверхвысоким разрешением	Приборы высокого разрешения	Другие приборы
Деизотопирование	Полная поддержка	Полная поддержка, присутствуют ложные прогнозы	Полная поддержка, присутствуют ложные прогнозы
Модели классификации	Полная поддержка	Полная поддержка, присутствуют ложные прогнозы	Может работать для некоторых элементов, не проверено
Модели регрессии	Полная поддержка	Не поддерживается	Не поддерживается
Проверка наличия соединения	Полная поддержка	Полная поддержка	Может работать для некоторых элементов, не проверено
Отрисовка	Полная поддержка	Полная поддержка	Полная поддержка

нии белков для протеомики, анализ природных образцов для наук о жизни и исследование каталитической системы в реакции кросс-сочетания Соногаширы. Во всех случаях система корректно определяла структуры компонентов по соответствующим спектрам [1].

МЕДИЦИНА

Масс-спектрометрия, благодаря своей точности и универсальности, стала мощным аналитическим инструментом для диагностики, прогнозирования заболеваний и исследований молекулярных механизмов патологических процессов. Она активно изучается как эффективный инструмент рутинного клинического использования, в том числе в неинвазивной диагностики для раннего выявления заболеваний. Пленарный доклад к.ф-м.н. Владимира Евгеньевича Франкевича, зав. отделом системной биологии в репродукции Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России (Москва) был посвящен применению масс-спектрометрического анализа в акушерстве и гинекологии в самых разных состояниях: от эндометриоза и рака молочной железы до преэклампсии, задержки внутриутробного развития, респираторного дистресс-синдрома новорожденных и даже нарушения сердечного ритма и проводимости у плода. Нарушение сердечной деятельности (СД) вызывает низкий сердечный выброс, водянку плода, задержку внутриутробного развития, преждевременные роды, а также внутриутробную, неонатальную и младенческую смертность. Дигоксин и соталол – препараты, использующиеся для корректировки нарушений СД плода, обладают отсроченным наступлением равновесной концентрации и при длительном применении нужно тщательно контролировать их содержание в организме. Для мониторинга дигоксина в крови матери обычно используются иммунологические тесты, но эти методы имеют относительно низкую специфичность к гликозидам (т.е. дигоксину) с высоким уровнем перекрестных реакций с дигоксиноподобными иммунореактивными факторами. В современных лабораториях все большее количество исследований проводится с использованием золотого стандарта диагностики – высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС). В докладе были продемонстрированы результаты исследований фармакокинетики дигоксина и соталола у взрослых и новорожденных с помощью ВЭЖХ-МС/МС по собственным оригинальным методикам. Стоит отметить, что трансплацентарная фармакокинетика и фармакодинамика распространенных тахиаритмических препаратов для плода существенно отличаются от таковых для взрослых из-за наличия трех кругов кровообращения (материнского, фетального и плацентарного) и сложности их взаимодействия [2]. Однако коллектив ученых ФГБУ НМИЦ АГП им. В.И.Кулакова успешно провел полный трансплацентарный мониторинг дигоксина и соталола, установив точные соотношения концентраций препаратов в крови матери и плода, их распределение, а также возможные факторы, влияющие на эффективность лекарственного воздействия.

Помимо этого, в докладе были представлены возможности масс-спектрометрии для решения уникальных проблем, связанных с COVID-19 во время беременности. Вирус SARS-CoV-2 не только оказывает влияние на мать во время беременности, но и повышает риск осложнений в раннем неонатальном периоде и может иметь отдаленные последствия для здоровья новорожденного. С помощью ВЭЖХ-МС/МС было определено влияние COVID-19 на аминокислотный состав венозной крови беременных, амниотической жидкости и плазмы пуповинной крови для разработки диагностической панели, а также анализа возможных последствий для новорожденного. Основную группу составили 29 пациенток с подтвержденным диагнозом COVID-19; контрольную группу – 17 соматически здоровых женщин. На первом этапе работы был проведен анализ аминокислотного профиля. Обнаруженные различия в содержании аминокислот в различных биологических жидкостях позволили разработать модели логистической регрессии. В результате экспериментов было установлено статистически значимое изменение биосинтеза и путей метаболизма ряда аминокислот, задействованных в реализации воспалительной реакции, изменений энергетического метаболизма, нарушений регуляции экспрессии и транскрипции белковых молекул для матерей и новорожденных в группе с COVID-19. Эти результаты планируется использовать для выбора направления дальнейших исследований возможных последствий для здоровья новорожденных от матерей, перенесших COVID-19, и определения требований к лечению и медицинской помощи беременным женщинам и новорожденным после постановки диагноза COVID-19 [3].

Доклад к.х.н. Виталия Алексеевича Иоутси, специалиста по жидкостной хроматографии, масс-спектрометрии и органическому синтезу из Национального медицинского исследовательского центра эндокринологии Минздрава России (Москва) был посвящен применению газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ-МС) и ВЭЖХ-МС/МС в эндокринологии, где основными объектами исследования являются железы внутренней секреции (гипоталамус, гипофиз, эпифиз, щитовидная и паращитовидные железы, поджелудочная железа, надпочечники, параганглии, тимус, семен-

ники, яичники и плацента). Они вырабатывают большое количество разнообразных гормонов, которые выполняют роль регуляторов биохимических процессов в организме. По своей химической природе среди них можно выделить соединения белковой и стероидной природы, производные жирных кислот, биогенные амины.

Наиболее распространенными методами анализа этих веществ в биологических жидкостях являются иммунохимические методы, основанные на взаимодействии анализируемого компонента с антителом, несущим люминесцентную, радиоактивную или ферментную метку. Несмотря на очевидные достоинства этих методов – экспрессность и возможность автоматизации, они имеют ряд существенных недостатков. В первую очередь это возможность протекания перекрестных реакций антител с близкими по строению к анализируемым антигенам веществами, что особенно ярко проявляется в случае низкомолекулярных гормонов и их метаболитов. Это приводит к искажению результатов и введению в заблуждение аналитиков и клиницистов.

Единственным на данный момент альтернативным вариантом анализа сложных смесей гормонов и их метаболитов в биологических образцах является использование методов хромато-масс-спектрометрии, которые позволяют добиваться требуемого уровня селективности при весьма высоком уровне чувствительности. ГХ-МС и ВЭЖХ-МС/МС позволяют надежно разделять, идентифицировать и проводить количественный анализ низкомолекулярных гормонов, их предшественников и метаболитов. Так, был продемонстрирован разработанный автором метод количественного определения эстрона (E1), эстрадиола (E2) и эстриола (E3) в сыворотке крови с помощью ВЭЖХ-МС/МС, совмещенной со спектрометрией приращения ионной подвижности. Данный подход позволил определить анализируемые компоненты без использования дериватизации с пределами обнаружения 4,5, 18 и 45 фг для El, E2 и E3 соответственно при вводе указанных количеств через хроматографическую колонку. Нижние пределы количественного определения при этом составили 0,1, 0,5 и 0,5 пг $мл^{-1}$ в сыворотке для E1, E2 и E3. Данным методом проанализировано 114 образцов пациентов разного пола и возраста, в результате чего показана его пригодность для диагностических целей [4].

Доклады членов исследовательской группы д.х.н. Александра Игоревича Ревельского продолжили актуальную тему применения ВЭЖХ в медицинских целях. К.х.н. Алиса Константиновна Паутова (Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии, г. Москва) в своем докладе "Диагностическая значимость ароматических метаболитов и способы их определения в сыворотке крови и спинномозговой жидкости методами хромато-масс-спектрометрии" представила новые запатентованные методики определения сепсис-ассоциированных метаболитов (ароматические, летучие жирные и дикарбоновые кислоты) в сыворотке крови и спинномозговой жидкости методами ГХ-ПИД, а также методом жидкостно-жидкостной экстракции или микросорбционного концентрирования в шприце, заполненном различными сорбентами (MEPS), с последующим ГХ-МС анализом. А.К.Паутова подчеркнула, что сыворотка крови и спинномозговая жидкость являются сложными матрицами, в состав которых входят различные соединения, и разработка чувствительной методики совместного определения данных соединений крайне необходима для качественного анализа и постановки диагноза. Своевременный мониторинг сепсис-ассоциированных метаболитов особенно необходим для пациентов с высоким риском развития инфекционных осложнений и неблагоприятного исхода, в критическом состоянии поступающих в отделения реанимации как после плановых хирургических вмешательств, так и при экстренной госпитализации.

Тему анализа низкомолекулярных микробных и митохондриальных метаболитов в спинномозговой жидкости методом ГХ-МС подняла и Наталья Анатольевна Бурнакова (МГУ им. М.В.Ломоносова). В своем докладе она продемонстрировала успешное применение новых условий для одновременного определения ароматических (БК, ФПК, ФМК, п-ГБК, п-ГФУК, п-ГФПК, ГВК и п-ГФМК), летучих жирных (C3, i-C4, C4, i-C5, C5 и C6) и дикарбоновых (янтарная и фумаровая) кислот в образцах СМЖ нейрохирургических пациентов с применением ЖЖЭ и силилирования целевых соединений непосредственно в объеме органического экстрагента с последующим анализом полученных производных методом ГХ/МС.

Динамические изменения концентрации тирозина, фенилаланина и триптофана в крови также можно рассматривать как потенциальные биомаркеры различных заболеваний. Некоторые ароматические метаболиты, такие как 4-гидроксифенилмолочная, 4-гидроксифенилуксусная, фенилмолочная и 4-гидроксибензойная кислоты, уже продемонстрировали свою диагностическую значимость у пациентов в критическом состоянии и пациентов с синдромом после COVID-19. В своем докладе "Разработка и валидация методики определения диагностически значимых метаболитов α-аминокислот в сыворотке крови с использованием метода ВЭЖХ-МС/МС" Павел Дмитриевич Соболев (ООО "Экзактэ Лабс", Москва) коснулся применения ВЭЖХ-МС/МС для определения этих соединений. Были продемонстрированы результаты раз-

работки и валидации методики анализа шести фенил- и пяти индол-содержащих кислот в сыворотке крови с использованием метода ВЭЖХ-МС/МС. Для извлечения исследуемых соединений был использован метод осаждения белков метанолом. В качестве внутреннего стандарта (ВС) использовалась схожая с аналитами по хроматографическим и экстракционным показателям индол-3-уксусная кислота-d4. Автор подчеркнул, что разработанная методика была валидирована согласно требованиям Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA), изучены все параметры, необходимые для подтверждения надежности получаемых аналитических результатов: степень извлечения и матричный эффект, нижний предел количественного определения, диапазон определяемых содержаний, точность и прецизионность методики, селективность, эффект переноса пробы, стабильность соединений. Нижние пределы количественного определения аналитов варьируются от 0,02 до 0,25 мкМ. Степень извлечения всех аналитов и ВС достигает 100%, эффект матрицы незначителен, и предложенная может быть успешно использована в рутинной клинической практике медицинских центров [5].

Тему определения аномального содержания в биологических образцах человека таких биомаркеров, как стероидные гормоны, аминокислоты, углеводы, белки и пептиды, продолжил доклад д.х.н. Эдуарда Даниэлевича Вирюса из Научно-исследовательского института общей патологии и патофизиологии (Москва) "Хромато-масс-спектрометрия эндогенных биоиндикаторов: проблемы прецизионного определения и пути их решения". Основной проблемой в определении этих соединений является отсутствие по-настоящему холостого образца для приготовления градуировочного раствора, в котором бы не присутствовали эндогенные соединения. Э.Д.Вирюс провел сравнительный анализ существующих подходов к решению проблемы прецизионного определения эндогенных биоиндикаторов – метода добавок, метода коррекции фона, использования суррогатного аналита и суррогатной матрицы. Методы добавок, коррекции фона и суррогатного аналита позволяют использовать ту же самую матрицу для приготовления градуировочных растворов и для анализа. В свою очередь, в методе суррогатной матрицы используется синтетическая матрица, которая имитирует аутентичную. Были представлены достоинства и недостатки каждого из подходов, а также обсуждена валидация методик определения эндогенных соединений на основе данных подходов.

ПРОТЕОМИКА

Термин "протеомика" означает систематический анализ профилей белков тканей и указывает на протеины, экспрессируемые геномом. В отличие от геномики, которая рассматривает один геном на организм, протеомика имеет дело с множеством протеомов. В то время как геном является постоянной особенностью организма, протеом изменяется в зависимости от природы ткани, состояния развития, здоровья или болезни и эффективности лечения. Методологически в протеомике выделяют несколько направлений, главными среди которых являются функциональная, структурная и медицинская (клиническая) протеомика. Функциональная протеомика исследует информацию о межбелковых взаимодействиях и их влиянии на экспрессию и модуляцию активности генов, а также пост-трансляционную модификацию белков в составе белковых комплексов. Структурная протеомика, несмотря на то что является классическим направлением исследования белков, активно развивается вследствие усовершенствования аналитических методов. Количественный полнопротеомный анализ является одним из ключевых источников информации о механизмах жизнедеятельности клеток в условиях химиотерапевтического воздействия, выяснения его механизмов и поиска лекарственных мишеней. В настоящее время существуют две почти равные по значимости и частоте использования протеомные методики (А и Б) с использованием разных методов масс-спектрометрии. Выбор зависит от конкретной задачи, при этом зачастую используют комбинацию обоих подходов (рис.2).

При этом низкая производительность такого анализа, основанного на жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии, является одним из основных факторов, ограничивающих масштаб таких исследований. Так, анализ взаимодействия только для одной системы "лекарство-протеом" может занимать сотни часов инструментального времени, это ограничивает широкое использование полнопротеомного анализа в разработке новых лекарственных препаратов и выяснении механизмов их действия.

Проблема частично решается использованием мультиплексинга на основе изобарных меток, что тем не менее не снимает актуальности задачи сокращения времени анализа из-за цены такого решения. Группа исследователей Института энергетических проблем химической физики им. В.Л.Тальрозе (Москва) уже несколько лет работает над решением этой проблемы, разрабатывая методы так называемой ультракороткой протеомики, позволяющие осуществлять анализ

ХРОМАТОГРАФИЯ –
ОБЛАСТЬ НАШЕЙ КОМПЕТЕНЦИИ

Технологии, оборудование, расходные материалы

РАЗРАБАТЫВАЕМ

Технологии очистки субстанций.

Методы выделения и очистки примесей.

Сорбенты для всех видов жидкостной хроматографии.

Методики контроля безопасности и подлинности продуктов питания и кормов.

ПРОИЗВОДИМ

Сорбенты для хроматографии.

Концентрирующие патроны «Диапак».

Аналитические ВЭЖХ-колонки Diaspher® и Nautilus®.

Аналитические комплекты для экологического анализа и контроля подлинности и безопасности продуктов питания и кормов.

Препаративные колонны динамического аксиального сжатия AXIOMA® диаметром 100 и 200 мм для очистки субстанций методом ВЭЖХ.

Стеклянные колонки аксиального сжатия диаметром от 24 до 450 мм, объемом до 50 л.

Автоматизированные хроматографические комплексы низкого давления AXIOMA® для очистки субстанций с потоками элюента до 2 литров в минуту.

ПРЕДЛАГАЕМ

Разработку технологий очистки субстанций под ключ и наработку стандартных образцов или примесей субстанций для фармацевтических компаний и других организаций, когда это сложно или невыгодно делать на собственном производстве.

АО «БиоХимМак СТ»

119234, г. Москва,
ул. Ленинские горы, МГУ, 1/11

(495) 939-59-67
(495) 939-58-06
info@bcmst.ru

www.bcmst.ru

BCM

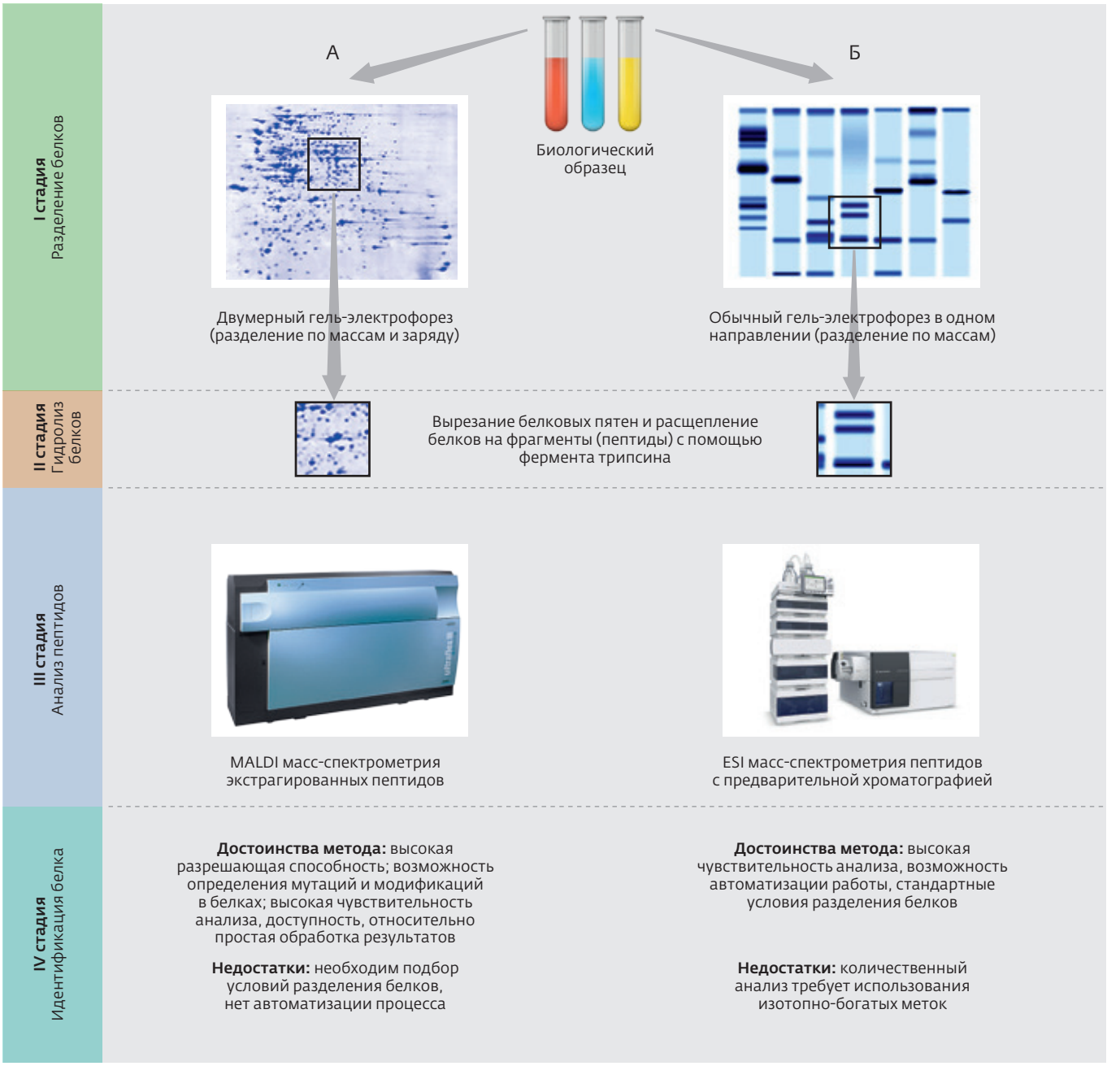

Рис.2. *Стандартная схема протеомного исследования*

в режиме минутных градиентов разделения смесей протеолитических пептидов. В своем докладе к.ф.-м.н., к.т.н. Михаил Владимирович Горшков рассказал о достигнутых успехах в этой области. Метод DirectMS1, развиваемый в лаборатории института, позволяет исключить стадию фрагментации, что в свою очередь дает возможность использования ультракоротких (до нескольких минут) времен разделения протеолитических смесей пептидов. В настоящее время метод обеспечивает глубину покрытия протеома клеток человека 2500 белков при частоте ложных открытий (FDR) 1% при использовании 5-минутных градиентов ЖХ и общего времени выполнения 7,3 минуты. В то время как стандартные подходы МС/МС обеспечивают идентификацию 4000–5000 белков в течение нескольких часов инструментального времени (рис.3).

В докладе были представлены результаты индивидуального сравнения данных количественного анализа DirectMS1 с тремя популярными методами на основе МС/МС: количественным анализом без меток (LFQ) и тан-

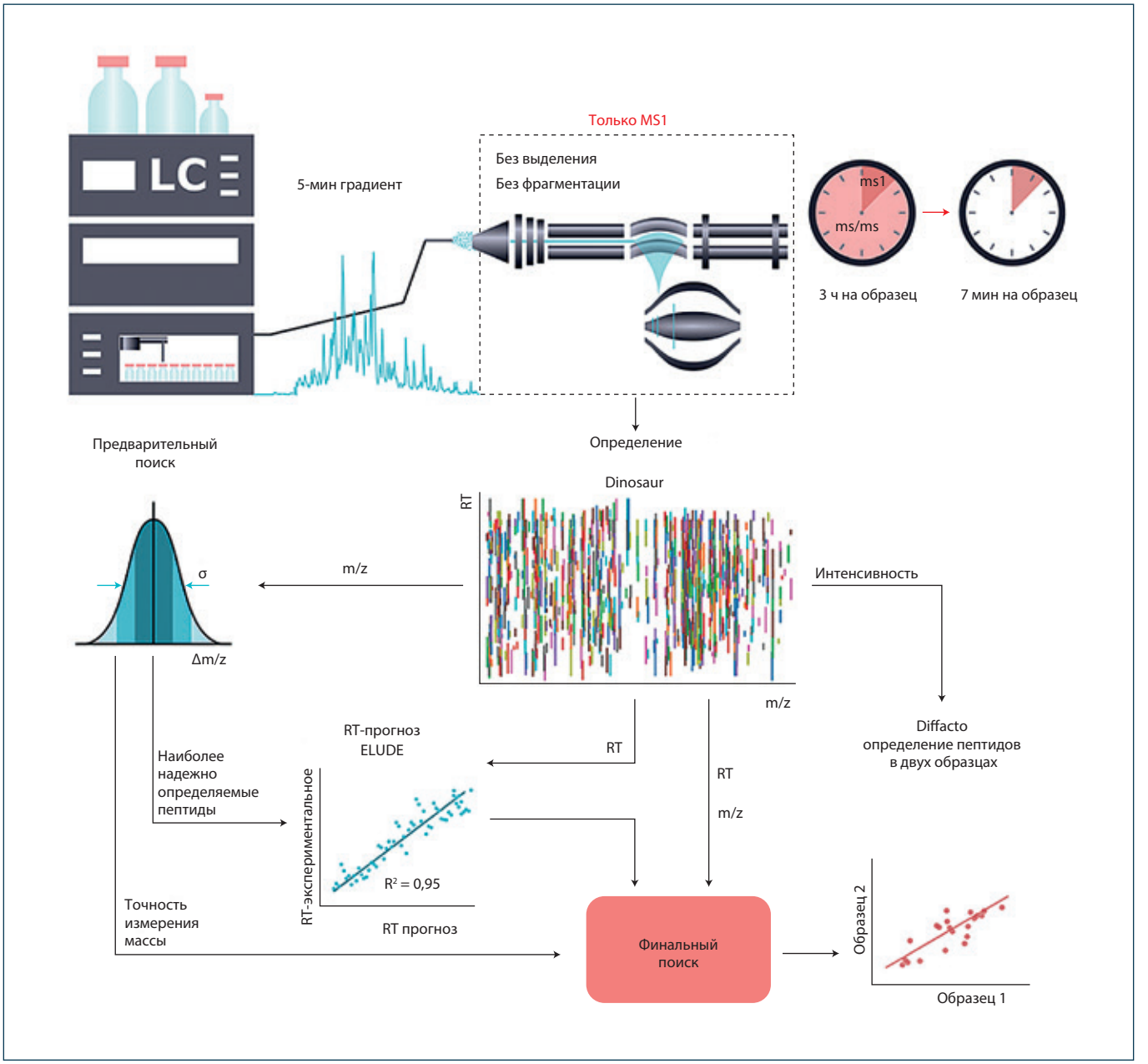

Рис.3. *Рабочий процесс DirectMS1. Идентификация и количественный анализ белка выполняются с использованием данных LC-MS1*

демным массовым меточным количественным анализом (TMT), оба основаны на различных типах сбора данных (DDA и DIA). Серия полнопротеомных анализов известных образцов – смесь белков UPS1, добавленных в разных концентрациях в гидролизат Echerichia coli, используемый в качестве фона, и набор клеток глиобластомы, показала, что более точный количественный анализ белков дает именно метод DirectMS1 по сравнению с подходами без меток на основе МС/МС [6].

Не менее интересным был доклад еще одного исследователя ИНЭПХФ им. В.Л.Тальрозе Валерия Ивановича Постоенко, посвященный разработке программного обеспечения для определения интенсивности пептидов, на основании которых затем рассчитываются интенсивности белков, позволяющие проводить анализ их дифференциальной экспрессии. Программа IQMMA (Intensity-based Quantitative Mix and Match Approach) – количественный подход к смешиванию и сопоставлению на основе интенсивности, реализованный на языке Python, объединяет ряд алгоритмов обнаружения пептидных свойств и возвращает наиболее вероятные значения интенсивности для идентификации на основе МС/МС (рис.4).

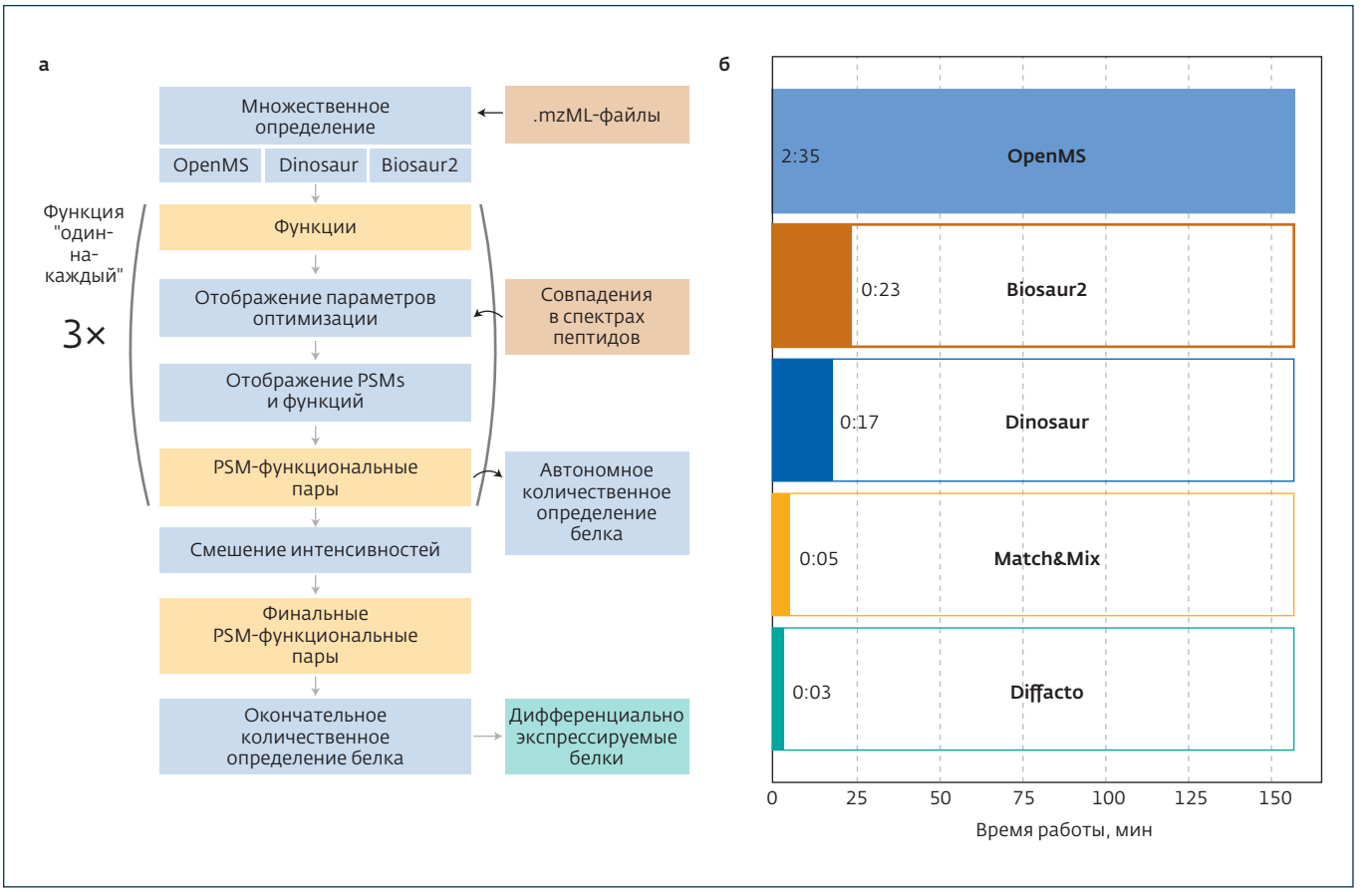

Рис.4. *Общая схема рабочего процесса IQMMA (а); диаграмма распределения времени обработки между всеми этапами IQMMA на набор данных E.coli, от 15 до 7,5 нг белков E. coli (б)*

В IQMMA на основе доступных протеомных данных были протестированы три алгоритма с открытым исходным кодом: Dinosaur, biosaur2 и OpenMS FeatureFinder. Ни один из них не был признан оптимальным при индивидуальном применении ко всем наборам тестовых данных, однако их совместное использование оказалось эффективным для последующего количественного определения белков. Использование IQMMA позволяет увеличить число достоверно обнаруживаемых дифференциально экспрессируемых белков в сравнении со стандартным подходом к анализу.

ЭКОЛОГИЯ И ХИМИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ

В настоящее время масс-спектрометрия высокого разрешения является наиболее мощным инструментом секвенирования пептидов. Секвенирование de novo сверху вниз требует точных измерений массы и применения дополнительных методов тандемной масс-спектрометрии для запуска фрагментации. Наиболее эффективными для этой цели являются ионно-циклотронный резонанс с Фурье-преобразованием или различные орбитальные ловушки. В своем докладе "Применение метода EThcD для de novo секвенирования природных пептидов амфибий методом сверху вниз" д.х.н., проф. Альберт Тарасович Лебедев поделился результатами исследований нового МС метода EThcD, доступного на некоторых вариантах орбитальных ловушек. EThcD (Electron-Transfer/Higher-Energy Collision Dissociation) представляет собой комбинацию ETD и HCD, где предшественник пептида первоначально подвергается действию иона в линейной ионной ловушке, которая генерирует c- и z-ионы. На втором этапе полностью ионная фрагментация HCD применяется ко всем ионам, полученным из ETD, для генерации b- и y-ионов перед окончательным анализом. Исследования проводились на приборах Orbitrap Fusion и Orbitrap Elite ETD с Easy nano-LC 1000 хроматографом (Thermo Fisher Scientific, USA) для изучения секрета амфибий Rana arvalis, Rana temporaria, Pelophylax Esculentus complex, отловленных в разных регионах России и Словении. Первоначально метод был апробирован для эффективного (>90%) дифференцирования изомерных Leu/Ile. Автор отметил, что пептиды лягушек обладают широчайшим спектром

ХРОМАТОГРАФИЯ И МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ

FARCITECH 中仪远大

УВЭЖХ-МС/МС FCI-LCMS-4200

Новейшая масс-спектрометрическая система, сочетающая в себе лучшие мировые технологии. Уникальный блочный дизайн создан с учетом повышенных требований к надежности и удобству обслуживания. Запатентованный источник ионизации ортогональной конструкции типа «сепарационный конус» с вертикальным распылением под углом 90°, высокой степенью защиты от загрязнения и низким фоновым шумом. Превосходная количественная воспроизводимость результатов при чувствительности по резерпину 100 000:1 и с разрешением 0,6–0,8 во всем диапазоне масс до 2000 а.е.м.

ВЭЖХ-СИСТЕМЫ СЕРИИ CI-HPLC-2100

Первоклассное качество в сочетании с удобным блочным дизайном. В серии представлены насосы различного типа: бинарный, кватернарный градиентный, изократический. Давление до 55 МПа (550 бар). Комплектуется широким спектром детекторов и коллектором фракций.

ГХ-СИСТЕМА FCI-GC-2100

Универсальная модель для широкого круга рутинных и исследовательских задач с автоматизированной электронной системой управления . Детекторы ПИД, ДТП, АФД, ПФД, ЭЗД с установкой до 3-х одновременно. Возможна работа с набивными колонками. Автосамплеры для ввода жидких образцов и равновесного пара.

ЭЛЕМЕНТНЫЙ И ИЗОТОПНЫЙ АНАЛИЗ

МАСС-СПЕКТРОМЕТРЫ С ИНДУКТИВНО-СВЯЗАННОЙ ПЛАЗМОЙ СЕРИИ FQUAD

Квадрупольный масс-спектрометр Shaanxi Far-Citech серии fQuad воплощает в себе наиболее современные технологии и обеспечивает высокочувствительный и точный, надежный и высокопроизводительный макро- и микроэлементный анализ наряду с изотопным скринингом.

ЭЛЕМЕНТНЫЕ АНАЛИЗАТОРЫ NC TECHNOLOGIES (ИТАЛИЯ)

Две серии элементных анализаторов:

ECS 40 – однореакторная система для CHNS-O анализа;

ECS 80 – двухреакторные системы CHNS-O, CN, CN Soil, N Protein.

Превосходные аналитические характеристики.
Сверхнизкое потребление гелия.
Низкая стоимость расходных материалов.
Совместим с изотопным масс-спектрометром (IRMS).

мс-аналитика
ХРОМАТОГРАФИЯ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ
www.analytica.ms

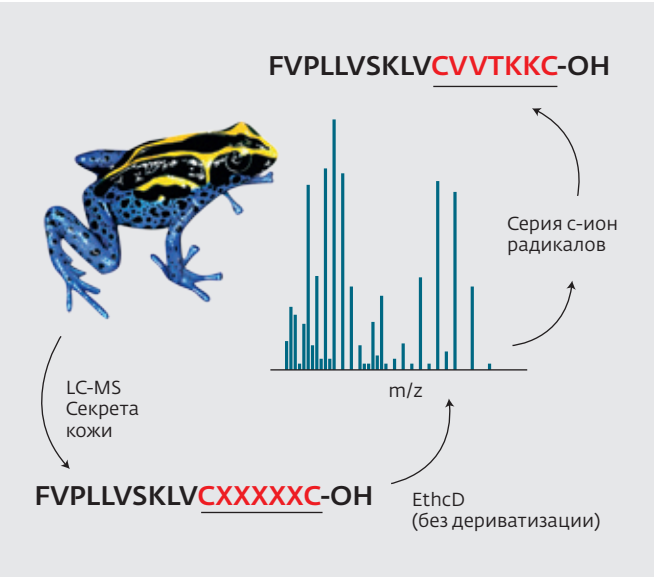

Рис.5. *Преимущества метода EThcD для de novo секвенирования природных пептидов амфибий*

биологической активности, оставаясь единственной защитой этих животных от микроорганизмов и хищников. Их длина составляет 13–46 ак, некоторые содержат С-концевой дисульфидный цикл, в последовательности может быть до 7–8 изомерных Leu/Ile и 7–8 Lys/Arg. Эта особенность делает неэффективным подход снизу вверх из-за высокой вероятности потери коротких протеолитических фрагментов (рис.5).

EThcD-подход дает возможность обнаружить мельчайшие изменения в составе пептидомов кожи, что важно для изучения различий между популяциями одного и того же вида. Нисходящее секвенирование MS de novo позволило выявить полные последовательности всех обнаруженных пептидов, включая дифференциацию между изомерными Leu/Ile и внутри дисульфидного цикла без стадии химической дериватизации. Для максимальной эффективности метода секвенирования планируется автоматизация процесса обработки результатов, поскольку пока работы проводились ручной интерпретацией спектров [7].

Масс-спектрометрию ион-циклотронного резонанса с преобразованием Фурье (МС ИЦР ПФ) в экосистемной метаболомике подробно рассмотрела в своем докладе д.х.н., проф. МГУ имени М.В.Ломоносова Ирина Васильевна Перминова. Одной из задач этой обширной области является создание новых материалов и процессов, направленных на имитацию и воспроизведение естественных механизмов поддержания жизни на молекулярном уровне. Гуминовые вещества (ГВ) – биомакромолекулы, входящие в состав остатков растений и других живых организмов, составляют от 50 до 90% органического вещества почвенных и водных экосистем, считаются соединениями, выполняющими на Земле множество жизнеобеспечивающих функций. ГВ регулируют транспорт и доступность биогенных элементов для растений, иммобилизуют и снижают токсичность опасных элементов в загрязненных экосистемах, защищают растения от неспецифических абиотических стрессов, играют ключевую роль в плодородии почвы. Знание химических механизмов, лежащих в основе этих жизненно важных функций ГВ, можно использовать для очистки почвы и воды, секвестрации углерода, восстановления плодородия почв, питания растений. Единственным методом, адекватным сложности строения ГС, является МС ИЦР ПФ. В докладе были рассмотрены авторские подходы к численному описанию молекулярного пространства ГС путем преобразования диаграммы Ван Кревелена в k-мерный вектор, отражающий вклад основных биопрекурсоров. Предложенный метод имеет важное значение для направленного поиска фармацевтически активных субстанций гуминовой природы на основе раскрытия взаимосвязи между молекулярным составом ГС и их биологической активностью. Для установления химической природы молекулярных носителей биологической активности ГС предложены методы дерепликации и визуализации химического пространства, что позволяет направленно выделять компоненты ГВ с заданным хемотипом из сложных смесей [8].

Процедура подготовки питьевой воды многостадийна, причем образование вредных для здоровья побочных продуктов дезинфекции (ППД) происходит на стадии, когда дезинфицирующий реагент взаимодействует с антропогенными и природными соединениями, которые присутствуют в природной воде. Это касается не только питьевой воды, но и, например, воды бассейнов. В последнее время для анализа качества воды все чаще используются методы ВЭЖХ-МСВР и ГХ-МСВР. Коллектив авторов Северного (Арктического) федерального университета им. М.В.Ломоносова (Архангельск) представили ряд докладов с результатами исследований в данной области.

Доклад м.н.с. Сергея Александровича Сыпалова "Новый подход к нецелевому скринингу бромсодержащих побочных продуктов дезинфекции в водопроводной воде" был посвящен проблемам дезинфекции питьевой воды, основным методом которой до сих пор является хлорирование. В условиях водного хлорирования образуются побочные продукты дезинфекции (ППД), которые обладают более высокой токсичностью относительно хлорсодержащих аналогов. В докладе был продемонстрирован новый подход, основанный

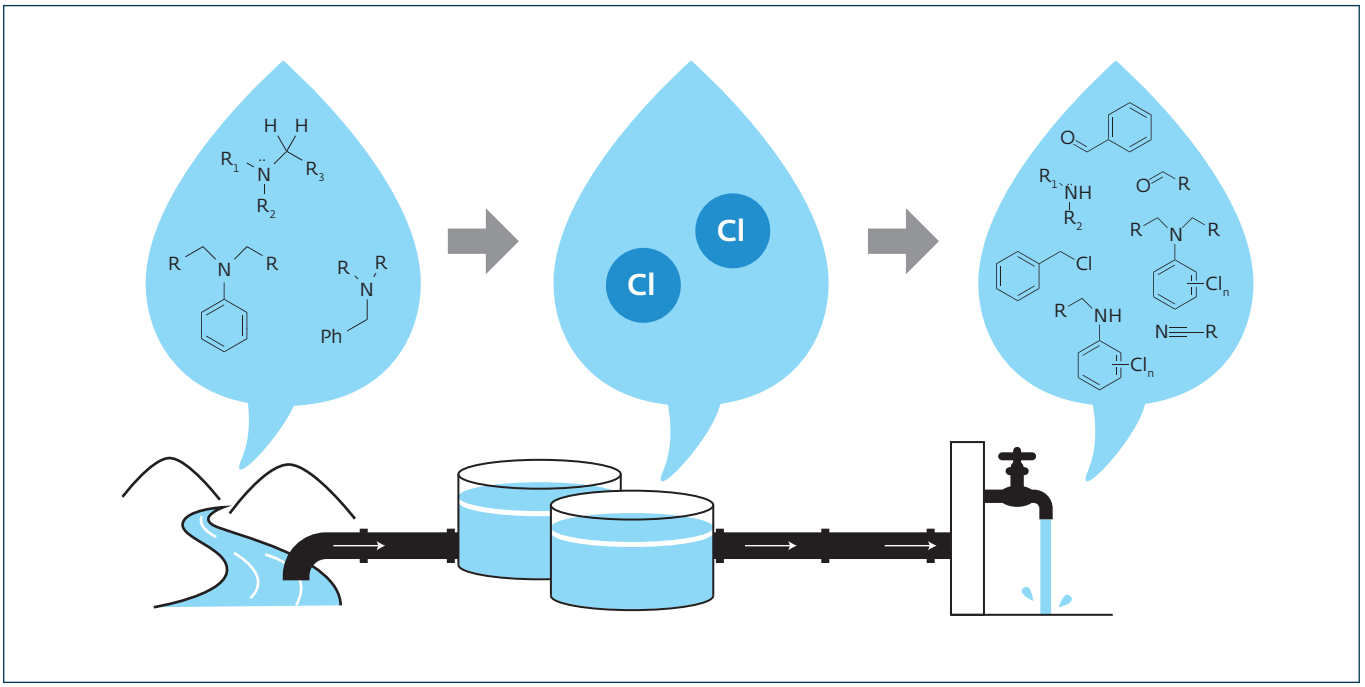

Рис.6. *Побочные продукты, образующиеся при хлорировании воды*

на применении комбинированного метода анализа (ВЭЖХ-ИСП-МС и ВЭЖХ-МСВР) для поиска и определения побочных продуктов дезинфекции водопроводной воды. Применение данного сочетания методов обладает преимуществами для нецелевого поиска Br-ППД благодаря селективному аналитическому отклику ИСП-МС, что упрощает задачи обнаружения соединений при анализе сложных объектов методом ВЭЖХ-МСВР, становится возможным проводить количественный анализ соединений без использования индивидуальных стандартов. Результаты апробации данного метода, продемонстрированные в докладе, позволили с хорошей точностью обнаружить в экстрактах водопроводной воды десять бромсодержащих соединений, в том числе смешанные (Br и Br+Cl) галогенированные амиды жирных кислот.

Продолжил тему доклад "N-деалкилирование аминов при обеззараживании воды" сотрудника МГУ им. М.В.Ломоносова Артема Сергеевича Сурмилло. Были представлены результаты изучения процессов трансформации органических веществ в условиях водного хлорирования, а также влияния ППД на организм человека. Среди многочисленных неизвестных ППД наименее исследованными являются азотсодержащие соединения, которые образуются в результате потери алкильных фрагментов при аминогруппе. При хлорировании и хлораминировании третичных алкиламинов, помимо продуктов N-деалкилирования, образуются альдегиды, нитрилы, галонитроалканы, а также канцерогенные N-нитрозамины (рис.6).

Автор продемонстрировал результаты изучения механизмов протекающих процессов трансформации ароматических аминов. Продукты трансформации анализировали методами ВЭЖХ-МСВР и ГХ-МСВР. Анализ продуктов окисления показал образование N-деалкилированных аминов и соответствующих альдегидов, а также иминных катионов – интермедиатов реакции одноэлектронного окисления [9].

Разнообразные методы масс-спектрометрии широко применяются также в пищевой промышленности для контроля качества и безопасности пищевых продуктов. Целый ряд докладов ведущих ученых в данной области были посвящены разработке новых методик применения МС для определения аллергенов, пестицидов, остатков лекарственных средств в продуктах питания. Так, доклад к.х.н. Дмитрия Михайловича Мазура "ГХ/ГХ-МСВР с комплементарными методами ионизации в нецелевом анализе аллергенов: чрезмерность или необходимость?" осветил инструментальные возможности МС для определения состава сложной смеси 130 аллергенов различной структуры. Для идентификации использовали библиотеки масс-спектров NIST20, масс-спектрометрию высокого разрешения (МСВР) и общие правила фрагментации органических соединений в условиях ЭИ и ХИ. Комбинация методов ЭИ и ХИ позволила установить молекулярные формулы более чем для 95%

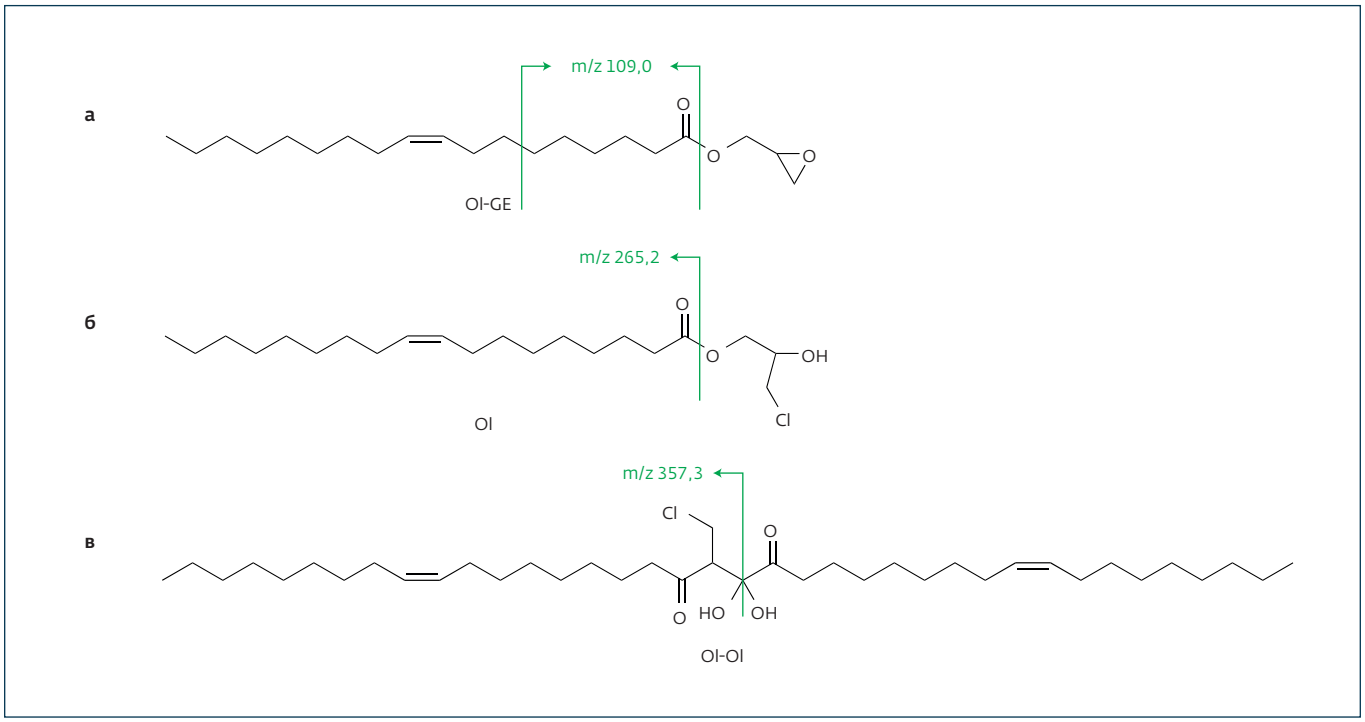

Рис.7. *Характерные фрагментации эфиров 3-монохлорпропандиола (3-МХПД) и глицидиловых эфиров*

анализируемых веществ. Степень ненасыщенности для оставшихся 5% соединений не превышала 3, выявляя в основном структуры алициклических или ненасыщенных спиртов.

Как было показано в докладе Александра Михайловича Лебедева из Всероссийского государственного центра качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов (ВГНКИ) "Определение 3-МХПД и глицидола в пищевых продуктах", методом ГХ-МС/МС с использованием трехквадрупольного хромато-масс-спектрометра возможно с высокой точностью проанализировать концентрации опасных канцерогенных соединений – эфиров 3-МХПД и глицидиловых эфиров жирных кислот, которые образуются при термической обработке продуктов питания. Ученый подчеркнул, что в странах ЕС установлены допустимые уровни данных загрязнителей в продуктах питания и разработан ряд рекомендаций по минимизации загрязнения путем оптимизации технологических процессов и выбора сырья. Однако в России данной проблеме до сих пор не уделяется должного внимания. Предложенный метод показал хорошую линейность диапазоне от 0,1 до 5,0 мг/кг с погрешностью (расширенной неопределенностью) от 30 до 50% в зависимости от концентрации, приемлемую повторяемость результатов и отсутствие матричных эффектов (рис.7).

Анализ 76 различных образцов пищевых продуктов показал, что концентрации 3- МХПД варьировались от "не обнаружено" до 2,3 мг/кг, глицидола – от "не обнаружено" до 2,8 мг/кг. Исследования образцов отечественной пищевой продукции подтвердили актуальность проблемы, выявив сравнительно высокие концентрации эфиров 3-МХПД и глицидола в кондитерских изделиях, мороженом и сыре.

* * * *

В 2023 году мировая научная общественность отметила 110-летие масс-спектрометрии, датой рождения которой принято считать выход в свет публикации Дж.Дж.Томпсона Rays of positive electricity. Масс-спектрометрия сегодня – это мощный многоцелевой метод химического анализа, без которого сложно представить как любые естественно-научные исследования, так и решение широкого спектра практических задач в различных отраслях народного хозяйства. Масс-спектрометрические методы широко применяются в биологии, медицине, омиксных науках и технологиях, фармацевтике, химии и нефтехимии, энергетике, экологии, материаловедении, криминалистике и многих других областях. Участники XI съезда ВМСО и конференции "Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы" представили результаты научных исследований, рассказали о перспективах развития

метода и актуальных задачах, поделились проблемами и обсудили пути их решения. Конференция в очередной раз продемонстрировала свою ключевую роль в координации деятельности и консолидации масс-спектрометристов России, способствовала установлению новых контактов и дальнейшему развитию плодотворного сотрудничества научного-технологического сообщества на благо устойчивого развития.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Boiko D.A.**, **Kozlov K.S.**, **Burykina Yu.V** et al. Fully automated unconstrained analysis of high-resolution mass spectrometry data with machine learning // J. Am. Chem. Soc. 2022. Vol. 144. P. 14590–14606.
2. **Starodubtseva N.**, **Kindysheva S.**, **Potapova A.** et al. Transplacental Therapeutic Drug Monitoring in Pregnant Women with Fetal Tachyarrhythmia Using HPLC-MS/MS // International Journal of Molecular Sciences. 2023. Vol. 24. N. 3. P. 1848.
3. **Ломова Н.А.**, **Чаговец В.В.**, **Долгополова Е.Л.** и др. Изменение аминокислотного профиля в системе "мать–плод" при COVID-19 // Вестник РГМУ. 2022. № 3. С. 53–63.
4. **Иоутси В.А.**, **Панов Ю.М.**, **Усольцева Л.О.** и др. Анализ эстрогенов сыворотки крови с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием, совмещенной со спектрометрией приращения ионной подвижности // Масс-спектрометрия. 2022. Т. 19. № 1. С. 35–42.
5. **Sobolev P.D.**, **Burnakova N.A.**, **Beloborodova N.V.** et al. Analysis of 4-Hydroxyphenyllactic Acid and Other Diagnostically Important Metabolites of α-Amino Acids in Human Blood Serum Using a Validated and Sensitive Ultra-High-Pressure Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Method // Metabolites. 2023. Vol. 13. N. 11. P. 1–15.
6. **Ivanov M.V.**, **Bubis J.A.**, **Gorshkov V.A.** et al. DirectMS1: MS/MS-free identification of 1000 proteins of cellular proteomes in 5 minutes // Anal. Chem. 2020. Vol. 92. N. 1. P. 1346–1354. DOI: 10.1021/acs.analchem.9b05095.
7. **Vasileva I.D.**, **Samgina T.Y.**, **Meng Z.** et al. EThcD Benefits for the sequencing inside intramolecular disulfide cycles of amphibian intact peptides // J. Am. Soc. Mass Spectrom. 2023. Vol. 34. P. 1979–1988.
8. **Perminova I.V.** From green chemistry and nature-like technologies towards ecoadaptive chemistry and technology // Pure and Applied Chemistry. 2019. Vol. 91. N. 5. P. 851–864.
9. **Mazur D.M.**, **Surmillo A.S.**, **Sypalov S.A.** et al. N-dealkylation of amines during water disinfection Revealing a new direction in the formation of disinfection by-products // Chemosphere. 2024. Vol. 1. P. 141117.

Премия "Глобальная энергия" 2023 года за исследования в области сорбционного преобразования теплоты

Ассоциация по развитию международных исследований и проектов в области энергетики "Глобальная энергия" – неправительственная организация, созданная для продвижения и поддержки инноваций в области энергетики, а также развития международного сотрудничества. Организация существует с 2002 года и является оператором одноименной премии. Главной целью премии "Глобальная энергия" является поощрение ученых за выдающиеся результаты научных разработок и системные исследования глобальных проблем, направленных на устойчивое развитие цивилизации.

Лауреатом "Глобальной энергии" в 2023 году в номинации "Новые способы применения энергии" стал профессор Института холодильной и криогенной техники (ИХКТ) Шанхайского университета Цзяотун Ручжу Ван (Wang Ruzhu).

Премия присуждена за исследования в области сорбционного охлаждения, которые значительно усовершенствовали технологию использования низкосортной тепловой энергии для создания высокоэффективного охлаждения, а также за значительный вклад в разработку теплового насоса на основе осушителя, удвоившего энергоэффективность охлаждения и обогрева. Профессор Ван долгое время сотрудничает с Институтом катализа СО РАН.

Лауреатом премии в номинации "Нетрадиционная энергетика" стал директор – основатель Пекинского института наноэнергии и наносистем Чжун Линь Ван (Китай) за изобретение трибоэлектрических наногенераторов как новой энергетической технологии для автономных систем, интернета вещей, робототехники, искусственного интеллекта и крупномасштабного сбора "голубой энергии".

Номинация "Традиционная энергетика" осталась в 2023 году без победителя – из-за жесткой конкуренции ни один из кандидатов не смог набрать необходимое количество голосов членов международного комитета премии.

1 января начался прием заявок на премию "Глобальная энергия" – 2024. Призовой фонд премии составляет 39 млн рублей. Инициаторами заявки могут выступить ученые, исследователи и представители академических организаций, готовые предоставить развернутые обоснования для выдвижения кандидата, а также список его научных работ и ключевых заслуг.

www.globalenergyprize.org