

Développement du couplage «Off line» de l'électrophorèse capillaire(CE) avec la spectrométrie de masse(MS) à source d'ionisation laser assistée par matrice(MALDI). Application à la protéomique

M. Biacchi(1) • F. Varemé(2) • A. Hagège(3) • Y. Francois(1) • E. Leize(1)

(1)Labo. de Dynamique et Structure Moléculaire par Spectro. de Masse (LDSM2), CNRS-UMR7177, Inst. de Chimie, Strasbourg • (2)Labo. de Chimie Analytique et Sces Séparatives, CNRS-UMR 7178, Inst. pluridisciplinaire H. Curien, Strasbourg • (3)Inst. de bio. environnementale et biotechnologie IBEB/BVEM, UMR 6191 CNRS-CEA-Aix-Marseille II

L'identification et la caractérisation de protéines apparait comme un des défis les plus importants posé aux sciences analytiques ces dernières années. En effet, les protéines et les peptides jouent un rôle primordial dans les voies de régulation biologiques, ce qui implique le développement de techniques analytiques de plus en plus puissantes et sensibles pour répondre à cette demande constante de caractérisation et d'identification.

La grande variété de méthodes compatibles avec la CE (électrophorèse capillaire de zone (CZE), électrochromatographie en phase micellaire (MEKC), isotachophorèse (ITP), focalisation isoélectrique capillaire (CIEF)), le gain en temps d'analyse, la faible quantité d'échantillon mise en jeu et l'augmentation de l'efficacité font de la CE une excellente alternative aux techniques chromatographiques classiques. Le couplage de la CE avec la MS, qui permet de bénéficier à la fois de l'efficacité de la CE, et de la sélectivité et de la sensibilité de la MS, est une technique de choix pour l'identification et la caractérisation de biomolécules (petites molécules, protéines intactes, acides aminés) [1]. Pour des raisons d'interface, la grande majorité des couplages CE-MS sont des couplages « On line » réalisés avec une source électrospray (ESI).

La source MALDI est une source d'ionisation couramment utilisée dans le domaine de la protéomique [2]. Cependant, la source MALDI n'est pas compatible avec un couplage « On line » aux techniques séparatives chromatographiques et électrocinétiques. De plus, l'utilisation de la source MALDI non couplée, ne permet pas d'obtenir l'information complète sur l'étude de mélange peptidique complexe.

Par conséquent, le développement d'un couplage CE-MALDI « Off line » avec collecteur de fraction a été entrepris dans notre laboratoire. Le couplage CE-MALDI « Off line », compatible avec une source MALDI, consiste à introduire une étape de collection de fraction en sortie de CE afin d'augmenter le nombre de dépôts sur plaque MALDI et ainsi obtenir une information complète de l'échantillon. Ce couplage a été développé sur une digestion peptidique d'albumine bovine (BSA),

sélectionnée comme protéine modèle.

La finalité de notre étude a été de voir la complémentarité du couplage CE-MALDI avec les couplages classiquement utilisés en protéomique (NanoLC-MS).