

Utilisation de l'acétone comme solvant d'électronébulisation pour l'analyse de protéines en mode DESI : un mécanisme impliquant une solvatation externe

Nicolas Auzeil(1) • Anna Warnet • Jean-Claude Tabet(2)

(1)Laboratoire de chimie et toxicologie analytique et cellulaire, Univ. Paris Descartes • (2)Institut Parisien de Chimie Moléculaire (UMR 7201, CNRS, Univ. Pierre et Marie Curie (UPMC), Paris, France

La désorption/ionisation en mode DESI (Desorption-Electrospray-Ionization) a été introduite en 2004 par Cooks. Elle implique le bombardement par un jet de gouttelettes chargées d'une surface sur laquelle l'échantillon est déposé puis séché. Parmi les différentes surfaces utilisées comme cibles, il faut citer: le verre, les polymères synthétiques (PMMA, PTFE), les tissus, les membranes et divers papiers. Pour obtenir le jet de microgouttelettes primaires, le mélange de solvants méthanol/eau est le plus couramment employé, mais d'autres mélanges de solvants sont possibles, qu'ils soient protiques ou non. Cette méthode permet l'analyse d'échantillons dans les conditions d'ionisation ambiante et selon Cooks, avec pertinence, a un caractère «universel». En effet, le mode DESI-MS a été appliquée avec succès pour détecter des composés de faibles moléculaires comme les composés impliqués dans le domaine : (i) des fraudes, du dopage, et des médicaments, (ii) de l'environnement avec les toxiques chimiques industriels, (iii) de la sécurité (explosifs et armes chimiques), et (iv) des sciences de la vie (métabolomique, lipidomique, peptidomique et autres formes omiques) bien que peu de protéines ont été étudiées alors que ce mode est employé en imagerie. Si plusieurs études mécanistiques ont été abordées par le groupe de Cooks, le mécanisme de formation des ions à partir de protéines mérite d'être exploré avec plus de détails, surtout quand on veut étudier dans le futur des systèmes non covalent intacts. En fait, ce qui est clairement montré c'est le mécanisme de formation en surface de mince couche de solvant chargée sur l'échantillon, et par dépression à l'entrée du capillaire de transfert et par effet de champs entre la surface et ce capillaire qui apparaît. Il y a un transfert des microgouttelettes secondaires qui émergent d'où peuvent être éjectés des agrégats multichargés dans le tube d'échantillonnage. Ceux-ci au niveau du skimmer pourront être désolvatés.

Afin de préciser les modes d'ionisation qui se produisent quand des solvants inhabituels aprotiques sont employés, nous présentons une étude basée sur le comportement du lysozyme déposé sur cible constituée par du PTFE, et soumis à l'acétone anhydre utilisé comme solvant de pulvérisation. Le lysozyme a

été choisi comme modèle afin d'optimiser la détection de protéines dans un milieu biologique. Le rôle joué par différents paramètres d'ordre physico-chimique a été exploré (dépôt vs surface, orientation et potentiel de la cible, solvants, gaz ambiant etc...). Ainsi, avec un spray préparé à partir de méthanol aqueux acidifié, le spectre de masse montre une distribution de protons dont le nombre évolue de 6 à 12 (pic de base correspondant au +9 avec une charge moyenne allant de 8,7 à 10,1 respectivement pour l'ESI et le DESI). A côté des ions $[M+nH]^n$, d'autres espèces comme $[M+(n-2)H+Ca]^{n-1}$ [Ca^{2+} considéré à la place de $(K+H)$] sont présents avec une abondance relative selon la valeur de l'état de charge. Le calcul de la masse moyenne mono isotopique était 14 296,85 Da (mesurée avec un Orbitrap), avec une précision allant jusqu'à 5 ppm pour des dépôts de 50 pmole à 50 fmole. Le changement du méthanol aqueux par l'acétonitrile aqueux, diminue de manière spectaculaire la sensibilité de détection du lysozyme, tandis que l'acétone pure étonnamment permet de le détecter selon un signal identique sans consommer l'ensemble de l'échantillon d'où une durée de signal plus longue liée à la faible solubilité du lysozyme dans l'acétone. Lors de la présentation, il sera proposé un mécanisme d'ionisation avec l'acétone en milieu ambiant.