

ВСЕ ОПРЕДЕЛЯЕТСЯ ЛОГИКОЙ СОБЫТИЙ

О развитии времяпролетных масс-спектрометров и создании приборов для российского рынка рассказывает д.т.н. **Анатолий Николаевич Веренчиков**



Масс-спектрометрия – одно из самых динамичных направлений науки и техники за последние два десятка лет. Причем в ее развитии велика роль отечественных исследователей. Один из них – Анатолий Николаевич Веренчиков, ныне – президент и исполнительный директор компании Mass Spectrometry Consulting Ltd. Эта компания с 2003 года занимается разработками в области многоотражательной времяпролетной масс-спектрометрии, сначала – в Санкт-Петербурге, а с 2006 года – в Черногории. В 2011 году компания LECO на основе этих разработок представила системы Citius HRT (золотая награда Pittcon Editors' Award) и Pegasus HRT, обладающие уникальными характеристиками. Сегодня серия систем газовой хроматографии/времяпролетной спектрометрии Pegasus активно развивается.

Над чем сегодня работает исследователь, каковы перспективы направления многоотражательной времяпролетной масс-спектрометрии, есть ли новые проекты? Обо всем этом нам рассказал Анатолий Николаевич Веренчиков.

Анатолий Николаевич, вернувшись в Россию в 2000 году, вы начали работать над созданием многоотражательного времяпролетного масс-спектрометра в Институте аналитического приборостроения. Как оказалось, что в результате ваша группа переехала в Черногорию, а сам прибор производится американской компанией LECO?

Ученые должны себя реализовывать, потому что они работают там, где востребован их труд, где им интересно. Все работы, в которых я участвовал – от азотов, от создания метода "электроспрей" для масс-спектрометрического анализа биомолекул до времяпролет-

ных масс-спектрометров – все это непрерывный процесс развития и реализации идей. Я уже 30 лет чувствую себя пулей, летящей в одном направлении. И работа с LECO – продолжение этого движения.

Создание нового прибора – это очень масштабная работа. Причем чем дальше, тем серьезнее вызовы, тем острее конкуренция. Нужно развивать свои методы, аппаратуру, и делать это по-любительски уже невозможно. Чтобы конкурировать с серьезными компаниями, нужна серьезная команда специалистов, финансирование, техническая и рыночная поддержка. Опытная команда сложилась, а вот со всем остальным в России была проблема.

Поэтому изначально было понятно, что необходим серьезный партнер. С 2000 года мы создали в Санкт-Петербурге компанию Alpha и вели совместный проект с базирующейся в Манчестере фирмой MassLab (Thermo Finnigan) – дочерней структурой корпорации Thermo Electron (ныне Thermo Fisher Scientific). Причем тогда в MassLab работал создатель технологии Orbitrap Александр Макаров. Но в 2002 году компания MassLab была расформирована, проект был прекращен. Эта неудача отбила желание работать с публичными акционерными компаниями. В итоге мы договорились с частной американской компанией

А.Н.Вереников с 1982 года работал в Институте аналитического приборостроения АН СССР в лаборатории Л.Н.Галль, в группе, занимавшейся ионизацией электро-распылением. В 1984 году был удостоен золотой медали АН СССР для молодых ученых. Летом 1991 года А.Н.Вереников выигрывает конкурс на позицию в Национальном научно-техническом фонде Канады (National Science and Engineering Foundation of Canada), предложив программу создания времяпролетного масс-спектрометра с ортогональным ускорителем и ионизацией электрораспылением (ESI-oTOF и ESI-Q-oTOF). В 1993 году первая модель прибора ESI-oTOF была представлена на конференции Американского масс-спектрометрического общества. С 1993 года А.И.Вереников работал в компании Vestec под руководством знаменитого исследователя М.Вестала. В 1993 году Vestec была поглощена фирмой PerSeptive Biosystems, которая затем вошла в Applied Biosystems Incorporation (ABI), позднее объединившуюся с

компанией SCIEX (AB SCIEX). При участии А.И.Вереникова был создан компактный коммерческий ESI-oTOF-прибор Mariner с разрешением 5000, в 1997 году получивший серебряную награду Pittcon Editors' Award.

В 2000 году А.Н.Вереников возвращается в Россию, развивая тематику многоотражательных времяпролетных масс-спектрометров. С 2003 года его группа начинает сотрудничать с компанией LECO. В 2007 году часть этой группы во главе с А.Н.Верениковым переезжает в Черногорию, где в 2006 году была создана компания MSC-CG. В феврале 2011 на выставке Pittcon компания LECO представила систему Citius – комбинацию жидкостного хроматографа и многоотражательного планарного времяпролетного масс-спектрометра, которому была присуждена золотая награда Pittcon Editors' Award. Сегодня LECO активно развивает это направление, предлагая систему газовой хроматографии/масс-спектрометрии Pegasus HRT.

LECO. Здесь рукопожатие было эквивалентно подписанию бумаг – с ними очень приятно работать. В 2003 году мы создали новую компанию – Mass Spectrometry Consulting (MSC) и вместе с LECO двинулись дальше.

Сначала пытались вести разработку в России. Однако при создании прибора необходимо решать одновременно и финансовые, и инженерно-технические вопросы, закупать материалы и комплектующие и т.д. В нашей стране это оказалось труднореализуемо. Партнеры не хотели ездить в Россию. А мы постоянно сталкивались с проблемами логистики. Несколько раз серьезная аппаратура "тонула в болотах Финляндии". И мы поняли, что дальше так работать нельзя, потому что при создании нового прибора на счете каждые полгода, все меняется очень динамично. Пока мы ждем очередной поставки, просто теряем время. В конце концов мы нашли площадку с более благоприятными условиями в

Черногории, где создали компанию MSC-CG. Так что все определялось простой логикой событий.

Собственно, мы и так опоздали. Прототип прибора сделали в 2006 году*, но только в 2011 году был представлен коммерческий продукт – времяпролетный масс-спектрометр высокого разрешения (HRT) в комбинации с газовым и жидкостным хроматографом (соответственно, Pegasus GC-HRT и Citius LC HRT). На выставке Pittcon 2011 года система Citius была удостоена золотой награды Pittcon Editors' Awards, однако в серию пошла именно система на основе газовой хроматографии Pegasus. Возможно, если бы мы изначально избежали ряда организационных и логистических проблем, то смогли бы создать промышленный образец к 2006–2007 годам. И тогда мы бы существенно опередили конку-

рентов – компании ThermoFisher с системами на основе орбитальных ловушек Orbitrap и Bruker с технологией maXis.

Развитие линейки оборудования Pegasus продолжается?

Конечно. С одной стороны, компания LECO развивает технологию двумерной газовой хроматографии (ГХ-ГХ), что в сочетании с времяпролетным масс-спектрометром высокого разрешения обеспечивает уникальные возможности анализа. Достигается высокая селективность и скорость сканирования спектров, лучшее отношение сигнал/шум, возможно определение веществ в следовых количествах и т.п. Сложилось целое сообщество специалистов, которые очень увлечены этой технологией и ждут новых приборов.

Кроме того, было подписано соглашение о сотрудничестве и совместном развитии технологии многоотражательной времяпролетной масс-спектрометрии с одним из лидеров в области жидкостной хроматографии (по условиям

* См.: A. Verenichkov, Multi-reflecting Time-of-Flight Mass Spectrometer and a Method of Use, US7385187, 2003; A. Verenichkov, M. Yavor, Yu. Khasin, Multi-reflecting Time-of-Flight Mass Spectrometer with Orthogonal Acceleration, US7772547; 2005

соглашения я пока не могу раскрыть подробности), что важно для анализа высокомолекулярных нелетучих соединений для таких программ, как протеомика и метаболомика. В этом консорциуме мы продолжаем развивать системы и с газовой, и с жидкостной хроматографией.

Однако пропорционально времени пролета растет и период между инъекциями ионных пакетов, поскольку необходимо избегать интерференции между ионами различных пакетов. Не решает проблему и предварительное накопление ионов – например, в ионной ловушке начинают про-

частой инъекции импульсов с кодированными временными интервалами (Encoded frequent pulsing)**. Он позволяет очень существенно, на два порядка, повысить чувствительность системы. Суть метода "Мульти-старт" – мы многократно увеличиваем частоту ввода ионных пакетов в масс-спектрометр, но через нерегулярные временные интервалы. Затем, программно обрабатывая спектр, устраняем эффект наложений спектров ионов из различных пакетов. В результате, стократно повышая скорость ввода пакетов, мы на два порядка расширяем как динамический диапазон, так и чувствительность. При этом избавляемся от ограничений по диапазону масс ионов. Становится возможным фактически неограниченно повышать длину пролета, не создавая компромисса с рабочим циклом и с эффективностью прибора.

Кроме того, мы ведем разработку системы с разрешением на уровне 1 млн. для получения массовой точности на уровне ppb (10^{-9}). В 2009 году был создан первый прототип, а следующие прототипы уже нацелены на подготовку серийного прибора. Помимо технологии "Мультистарт", в нем будет реализован ряд новых идей, например, новый метод формирования субнаносекунд-

Мы ведем разработку системы с разрешением на уровне 1 млн. для получения массовой точности порядка 10^{-9}

Будет ли совершенствоваться сама технология многоотражательной времяпролетной масс-спектрометрии?

Безусловно. Она прошла несколько этапов развития. Сначала мы сосредоточились на достижении высокой разрешающей способности. Продемонстрировали разрешение в 100 тыс., затем – в 500 тыс. Однако разрешение растет в ущерб эффективности источника ионов. Поэтому следующий этап – повысить чувствительность прибора.

Суть проблемы в том, что на входе масс-спектрометра используются в основном непрерывные источники ионов (например, на основе электрораспыления) или квазинепрерывные, такие как MALDI. Но затем ионы группируются в пакеты и дискретно вводятся в масс-спектрометр с помощью ортогонального ускорителя. Чтобы повысить разрешение, мы увеличиваем длину пути, а значит – и время пролета ионов.

являться эффекты объемного заряда, возникает ограничение по диапазону массы ионов и т.п.

В результате, если в обычных однопроходных времяпролетных масс-анализаторах эффективность источников составляет 10–20%, то в многоотражательном масс-спектрометре для анализа используются доли процента от исходного числа ионов в источнике. Так, если в источнике, в зависимости от типа, формируется поток ионов порядка 10^9 – 10^{11} ион/с, анализатор способен работать с потоками на уровне 10^6 ион/с. Выигрывая в разрешении, мы проигрывали в чувствительности.

Для преодоления всех этих проблем мы уже много лет ведем работы в области мультиплексирования ионных пакетов. В частности, последние пять-шесть лет активно развиваем нашу патентованную технологию с условным названием "Мультистарт" – метод

** См.: Electrostatic mass spectrometer with encoded frequent pulses, Patent US8853623 B2, приоритет 30.04.2010 г.;

A.Verenchikov, Tandem Time-of-Flight Mass Spectrometer and Method of Use, US7196324, 2002;

A.Verenchikov, V.Makarov, Tandem Time-of-Flight Mass Spectrometry with Non-Uniform Sampling, WO2013192161, 2012

A.Verenchikov, Ion mobility Spectrometer with High Throughput, WO2014021960, 2012;

A.Verenchikov, V. Artaev, Multi-reflecting Mass Spectrometer with High Throughput, WO2014176316, 2013

ных ионных пакетов, улучшение ионных зеркал, снижение аббераций ионных линз и компактная компоновка анализатора в цилиндрической геометрии. В результате надеемся получить прибор, где длина пролета ионов составит сотни метров для высокой разрешающей способности, а его чувствительность будет на уровне однопроходных время-пролетных масс-анализаторов. При этом сам масс-спектрометр останется компактным, с камерой порядка метра.

В исследовательской программе мы атакуем проблему эффективности тандемных приборов. Сегодня в стандартных системах (например, сочетающих квадрупольный масс-фильтр и времяпролетный анализатор) тандемные спектры получают последовательно,

единовременно выделяя только один компонент и теряя остальные. Это приводит как минимум к стократным потерям чувствительности и времени. Мы проведем целый ряд решений, позволяющих анализировать спектры различных компонентов параллельно, устраняя потери на последовательное выделение родительских ионов. В результате может появиться турбо-технология следующего поколения, позволяющая обеспечить на порядок более высокую производительность, скорость и вместе с тем детальность анализа – если, конечно, позволят фундаментальные ограничения.

Реализовывать все эти идеи вы будете совместно с западными партнерами?

Когда мы начинали совместную работу, то, естественно,

брали на себя определенные обязательства. Ведь подобные отношения – это как семья, нас пускают в святая святых, предоставляют закрытые сведения о компании, мы открываем свою эксклюзивную информацию. Здесь измен не прощают. Создание сложных систем – это всегда совместная работа. Никто не будет инвестировать немалые деньги и время своих инженеров в разработку технологии, если она не защищена. Поэтому все наши разработки защищены примерно 30 патентами, и для других игроков эта область надежно закрыта. Поэтому альтернатив нет – создан хороший, работающий альянс. В его рамках компания MSC-CG занимается контрактными исследованиями. Нужно продолжать совместные разработки, доводить их до коммерческой реализации.

Однако ничто не мешает нам вести разработки в других направлениях. Поэтому два года назад мы организовали в Черногории еще одну компанию – Q-Tek, задача которой – разработка и производство приборов для российского рынка. Компания создана совместно с Александром Николаевичем Ведениным, директором российской фирмы "Интерлаб".

Российский рынок нуждается в дешевом компактном масс-анализаторе для решения промышленных задач

Вы считаете российский рынок настолько перспективным, что специально для него создаете новый бизнес?

В последние годы ситуация в России начинает меняться. Объем российского рынка масс-спектрометрического оборудования не маленький – по грубым оценкам, он составляет 70–80 млн. долл. в год. Сейчас рост приостановился, но мы не сомневаемся, что это временное явление и рассчитываем на восстановление рынка. Круг решаемых задач в России очень широк. Появляются новые фармацевтические компании, новые высокотехнологические производства. Все они нуждаются в масс-спектрометрических технологиях, причем не только исследовательского, но и рутинного уровня, для промышленных задач. Поэтому здесь в первую очередь необходим дешевый компактный масс-анализатор. Именно поэтому мы и взялись

за разработку и производство квадрупольного хромато-масс-спектрометра. Это базовый прибор, который более всего востребован в России.

Конечно, я никогда не решился бы на организацию производства продукции без сотрудничества с продающей организацией. Поэтому мы и развиваем этот проект совместно с компанией "Интерлаб", зани-

мающейся поставками аналитического оборудования на российский рынок. Ее специалисты обладают большим опытом, знают рынок и умеют на нем работать, компания располагает службой сервисной поддержки клиентов. Немаловажно, что "Интерлаб" не только работает в сложившихся секторах, но и умеет создавать новые рынки для приборов. Руководство компании отличается очень творческий, креативный подход, потому мне и нравится с ними взаимодействовать.

Подчеркну, мы предлагаем дешевый массовый прибор для рутинных анализов. Но помимо стандартных областей, он будет эффективен и в различных специализированных решениях, в частности, в составе микробиологического анализатора, поставляемого компанией "Интерлаб". Аналогичная система уже применяется в нескольких госпиталях Москвы.

В целом, сегмент клинических применений очень перспективен для технологичной масс-спектрометрии. Ведь постоянно возникает проблема идентификации типов патогенных бактерий. Лечить больных нужно немедленно, а стандартный метод анализа – посев пробы – может дать результаты через несколько суток. Методики же на основе масс-спектрометрии позволяют получать точные результаты в течение часа, по карбо-гидратной оболочке бактериальных клеток. В частности, специалисты компании "Интерлаб" развивали подобную методику 10 лет. Сейчас это успешно работающий метод, позволяющий распознавать более 50 видов патогенных бактерий. Ряд российских научных центров разрабатывает свои методики и нуждается в аппаратной поддержке. И это – лишь некоторые из возможных рынков для наших приборов. Открывается много других направлений. Так, я выступал с докладом на VII съезде Всероссийского масс-спектрометрического общества и даже не ожидал, сколько новых возможностей продемонстрирует эта конференция. Так что в коммерческом успехе проекта я не сомневаюсь.

Учитывая все это, мы за год сформировали сильную команду, которая уже успела разработать новый квадрупольный хромато-масс-спектрометр "Хромасс".

До сих пор вы специализировались на создании время-пролетных приборов. Теперь же речь идет о квадрупольном масс-спектрометре, тем более созданном фактически за год. За счет чего удалось достичь такого результата?

Конечно, физика времяпролетных и квадрупольных масс-спектрометров различается. И естественно, что для меня самое главное – времяпролетные технологии. Однако занимаясь ими, наша команда развила высокий профессиональный уровень в ионной оптике в целом. Не менее важно, что за эти годы мы соз-

нальную команду, которая в рекордные сроки сумела создать абсолютно новый прибор с рядом уникальных характеристик, по некоторым параметрам превосходящий западные аналоги. Любая западная компания потратила бы на разработку квадрупольного масс-спектрометра не менее 5-7 лет. На рынке известно немало

только на одном, базовом типе прибора. Располагая такой мощной группой разработчиков и эффективной системой сбыта, обладая многими элементами международной кооперации, можно пойти существенно дальше.

В целом, наша компания потихоньку набирает вес. С ней все больше считаются, все больше доверяют. Чем дальше, тем больше возможностей открывается перед нами. Тем более, что мы абсолютно открыты для сотрудничества – нет никаких предубеждений, никакой предвзятости.

Всего за год мы разработали новый квадрупольный хромато-масс-спектрометр "Хромасс" с уникальными характеристиками

дали полностью сбалансированную, эффективную команду для решения серьезных научно-технических задач, с очень серьезной командой порядка 50 специалистов. В нашем коллективе в Черногоории работает не только группа физиков, но и программисты, и инженеры-конструкторы, очень сильная электронная группа. Есть свое производство, подразделение сборки, группа логистики.

Обладая такой структурой, мы фактически из своих резервов сформировали новую команду в составе 15 человек, организовав новую компанию и воспроизведя уже отработанную технологию организации процесса разработки. В результате новая группа, пользуясь консультациями экспертов, сумела в совершенно рекордные сроки, за год, создать прототип нового прибора.

Обладая таким уникальным опытом, мы создали новую высоко профессио-

историй, когда известные корпорации, оперируя крупными суммами и серьезными командами, потерпели на этом пути фиаско. Мы же продемонстрировали уникальную скорость и уникальную эффективность в создании технологии.

Принципиально, что изначально вместе с прибором создается необходимый комплект программного обеспечения для решения специальных задач. Ведь рынку нужен не просто прибор, а законченное решение – умное устройство, оснащенное специальными программными приложениями. Уже пройдены критические точки разработки этой технологии. Надеемся приступить к предварительным метрологическим испытаниям прибора в начале 2016. Если все пройдет успешно, то к концу 2016 года мы будем готовы к коммерческим поставкам.

Естественно, мы планируем не останавливаться

Вы объективно один из тех немногочисленных специалистов, которые определяют развитие всего направления современной масс-спектрометрии. Куда движется это направление, каким мы увидим его в будущем?

Очень сложно однозначно ответить на подобный вопрос. Если говорить об областях применения, то практически все сходится на том, что в ближайшее время нас ждет массовое внедрение масс-спектрометрии в клиническую практику. Можно приводить множество примеров, показывающих высокую эффективность таких решений. Один из наиболее ярких – Mayo Clinic, где используют 60 масс-анализаторов для стандартных клинических анализов. С одной стороны, это связано с существенным расширением возможностей масс-спектрометрических систем. С другой – сами приборы дошли до такого уровня надежности простоты и поль-

зования, что их могут эксплуатировать обычные лаборанты.

С точки зрения физики приборов ситуация также будет меняться. Ведь если посмотреть на основные параметры масс-спектрометров – на чувствительность, точность определения массы, скорость сканирования, разрешающую способность и т.п., то они растут быстрее, чем параметры производительности компьютеров. За 30 лет только моей практики каждый из этих показателей вырос на многие порядки. Это означает, что вскоре мы окажемся в ситуации, когда интегральная производительность прибора, скорость информационного потока будет определяться скоростью компьютерной обработки, вычислительной мощно-

стью электроники. Собственно, уже сейчас потоки информации от масс-спектрометра совершенно несоизмеримы с тем, что человек физически может воспринять. Скоро люди просто забудут, что такое визуальный анализ масс-спектров – их будут рассматривать только великие эстеты. Первичная обработка спектров полностью станет делом компьютеров. Даже сегодня базовых наработок в физике приборов достаточно, чтобы реализовать такой подход.

Поэтому я думаю, что время физиков в масс-спектрометрии заканчивается. Этой волны разработок, когда именно физическая реализация определяет возможности прибора, хватит еще на 10-15 лет. А дальше разви-

тие пойдет в сторону законченных прикладных решений. Хотя, конечно же, сколько раз предрекали конец различным технологиям и тенденциям – они-де исчерпали себя, вышли в тираж, – но этого все не случалось. Придумывают какие-то особые технические решения, технологии снова становятся конкурентными, находят свои ниши, свои интересные приложения. Масс-спектрометрия – это очень интересная и динамичная область. Тут всем хватит места для творчества и реализации своих возможностей.

Спасибо за интересный рассказ.

С А.Н.Веренчиковым
беседовали К.Гордеев и
И.Шахнович

НОВЫЕ КНИГИ ИЗДАТЕЛЬСТВА "ТЕХНОСФЕРА"



МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ В ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ.

Изд. 2-е, перераб. и доп.

Лебедев А.Т.

М.: ТЕХНОСФЕРА, 2015. – 704 с.
ISBN 978-5-94836-409-4

Издано при финансовой поддержке Федерального агентства по печати и массовым коммуникациям в рамках Федеральной целевой программы "Культура России (2012–2018 годы)"

Цена: 1188 руб.

В учебном пособии рассматриваются основы современной масс-спектрометрии органических соединений: методы ионизации и разделения ионов, физико-химические аспекты процессов масс-спектрометрической фрагментации, наиболее важные направления фрагментации важнейших классов органических соединений, аналитические аспекты масс-спектрометрии, а также области применения масс-спектрометрии. Большой раздел посвящен масс-спектрометрии биоорганических соединений. Отдельная глава повествует о масс-спектрометрии без пробоподготовки. Основное внимание уделено подходам для установления структуры органических соединений по масс-спектрам. Этот материал подкреплен большим количеством задач, решение которых позволит получить практические навыки работы со спектрами.

Для студентов старших курсов химических, биохимических, химико-технологических, биомедицинских и экологических специальностей, а также аспирантов, преподавателей и научных сотрудников, работающих в перечисленных выше областях.

КАК ЗАКАЗАТЬ НАШИ КНИГИ?

✉ 125319 Москва, а/я 91; ☎ (495) 956-3346, 234-0110; knigi@technosphere.ru, sales@technosphere.ru