

Я ПРИВЫК ИСПОЛЬЗОВАТЬ ЛЮБОЙ ПОТЕНЦИАЛ РОСТА

Рассказывает член-корр. РАН Евгений Николаевич Николаев



Не секрет, что в общемировой масс-спектрометрии российские специалисты играли и продолжают играть важнейшую роль. Но сегодня в подавляющем большинстве они работают за пределами нашей страны, зачастую занимая ключевые позиции в ведущих зарубежных компаниях. Однако есть и исключения. Так, один из крупнейших специалистов в области масс-спектрометрии, член-корр. РАН, профессор Сколтеха и Физтеха Евгений Николаевич Николаев живет и работает в России. При этом многогранность его деятельности удивляет. С 1968 года он занимался масс-спектрометрией и ее применениями в физике, химии, биологии и медицине. С именем Е.Н.Николаева связан ряд революционных работ в области ионного циклотронного резонанса с преобразованием Фурье (FT ICR), разработанные его группой ловушки используются сегодня в FT ICR-масс-спектрометрах компании Bruker.

Как удалось сохранить и развить научный потенциал, работая в нашей стране? В каких направлениях работает ученый сегодня? Каковы перспективные направления развития масс-спектрометрического анализа на основе ионно-циклотронного резонанса и масс-спектрометрии в целом? С этими вопросами мы обратились к Е.Н.Николаеву.

Евгений Николаевич, как вам удается сочетать столько направлений деятельности?

Я всю жизнь проработал в Институте химической физики им. Н.Н.Семенова РАН (ИХФ РАН), где в 1924 году

Н.Н.Семеновым и В.Н.Кондратьевым был изготовлен первый в Советском Союзе масс-спектрометр. Я пришел в этот институт, в лабораторию Виктора Львовича Тальрозе еще студентом в 1968 году. Стал заведующим

Евгений Николаевич Николаев, член-корр. РАН, д.ф.-м.н., профессор. С 1968 году занимается масс-спектрометрией и ее применениями в физике (взаимодействие атомных частиц с твердым телом, масса нейтрино, сверхточное определение масс ионов, ионный циклотронный резонанс), химии (ионно-молекулярные процессы, молекулярное распознавание хиральности, природа хиральной поляризации биосистем, детектирование и идентификация отравляющих и взрывчатых веществ), биологии (генотипирование, протеомика) и медицине (биомаркеры, иммунология, геронтология, идентификация вирусов и бактерий).

Руководит Центром масс-спектрометрии Российской академии наук, созданным на базе возглавляемой им лаборатории масс-спектрометрии биомолекул Института энергетических проблем химической физики (ИЭПХФ) им. В.Л.Тальрозе РАН и Института химической физики им. Н.Н.Семенова

РАН. Заведующий лабораторией ионной и молекулярной физики ИЭПХФ.

Профессор МФТИ и Центра космических исследований Сколтеха. Приглашенный профессор ряда зарубежных университетов: Университета Мец (Франция), Университета Ватерлоо (Канада), Делаверского и Аризонского университетов, Университета Пердью (США).

Выступил организатором четырех Всероссийских школ по масс-спектрометрии, ряда международных конференций, среди которых European Conference on FT ICR mass spectrometry (Москва, 2008), International Workshop on Imaging Mass Spectrometry (Москва, 2012), International Conference on Innovations in Mass Spectrometry Instrumentation (Санкт-Петербург, 2013; Москва, 2016).

В декабре 2016 года Евгению Николаевичу исполнилось 70 лет. Искренне поздравляем его с юбилеем, желаем новых научных свершений, новых направлений исследований, новых интересных работ!

лаборатории в ИХФ РАН в 1984 году, был тогда самым молодым завлабом в структуре ИХФ, как и академик В.Е.Фортов. Эта лаборатория до сих пор существует. В 1987 году ИХФ разделился, на основе Сектора физических методов стимулирования химических реакций ИХФ был создан Институт энергетических проблем химической физики (ИНЭПХФ РАН). Формально мы перешли в новый институт, но фактически ничего не изменилось.

В 1983 году мы получили масс-спектрометр на основе ионно-циклотронного резонанса с преобразованием Фурье. На этом приборе мы определяли массу нейтрино, измеряя разность масс в дублете T/He^3 , занимались многими красивыми вещами, например разгадкой парадокса хиральной асимметрии биологического мира. Выполняли ряд интересных работ в области физики твердого тела, тонкопленочных технологий, сотрудничали с российскими микроэлектронными предприятиями.

В 1990-е годы пришлось заняться выживанием, цепляясь за любые ресурсы. Тогда все рванули за границу, я же старался как-то сберечь и даже приумножить нашу аналитическую базу. Удалось сохранить лабораторию, мы делали классные работы. Однако пришлось изменить организационную форму – мы стали "многоликими", работая в рамках ряда лабораторий. Так, я по-прежнему возглавляю лабораторию в Институте энергетических проблем химической физики им. Тальрозе РАН и в то же время руковожу лабораторией в Институте биохимической физики им. Н.М.Эмануэля,

группой масс-спектрометрии отдела протеомных исследований и масс-спектрометрии НИИ биомедицинской химии им. В.Н.Ореховича, выступаю научным руководителем лаборатории ионной и молекулярной физики МФТИ, возглавляю созданный в 2004 году Центр масс-спектрометрии Российской академии наук на базе лаборатории масс-спектрометрии биомолекул ИБХФ им. Н.М.Эмануэля РАН и ИХФ им. Н.Н.Семенова РАН. Фактически мы поселились в различных научных центрах, но работы в основном проводят одни и те же люди. Так мы организованы, этот способ помог не только выжить, но и многое приобрести.

Привычка цепляться за доступные ресурсы до сих пор живет во мне, поэтому если я вижу где-то потенциал роста, пусть даже в зародыше, то мы предлагаем свои услуги. Недавний пример – Сколтех. Мы предложили свои возможности Центру космических исследований этого университета, и нас с удовольствием приняли. Сейчас мы начинаем развивать масс-спектрометрию и в этом научном центре, Сколтех – прекрасное место, чтобы делать науку.

Вся деятельность вашей группы в рамках различных научных центров посвящена схожим задачам?

Нет, все эти центры занимаются разными делами. Общего между нашими задачами только то, что они все масс-спектрометрические. Конечно, есть общие направления. Так как сейчас – век биологической масс-спектрометрии, основные инвестиции направ-

лены именно в эту область. А куда идут инвестиции, туда и народ. И сегодня почти вся масс-спектрометрия сосредоточена вокруг биологии и наук о жизни. Мы тоже вовлечены в это направление, работаем с четырьмя российскими медицинскими центрами. Это Центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И.Кулакова, НИИ пульмонологии, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А.Герцена и Центр нейрохирургии им. Н.Н.Бурденко. Поскольку в каждом из этих центров объекты исследования различаются, мы модифицируем серийные масс-спектрометры под конкретные задачи.

Если я вижу где-то потенциал роста, пусть даже в зародыше, то мы предлагаем свои услуги

Каковы наиболее значимые результаты вашего сотрудничества с биомедицинскими центрами?

Получено немало очень хороших результатов. Назову лишь некоторые. Так, совместно с Центром акушерства, гинекологии и перинатологии реализован проект по контролю состояния недоношенных детей. Они весят около 500 г и развиваются в кувезах, на искусственном дыхании. Мы анализируем выдыхаемый воздух и мочу, на основании чего можно определить состояние их здоровья – как работает пищеварительная система, нет ли инфекций и т.д.

В этом же Центре мы работаем над ранней диагностикой преэклампсии, до проявления ее физиологических признаков. И здесь тоже достигнуты определенные успехи. По масс-спектрам мочи беременных мы можем определить признаки этого заболевания, зачастую смертельного и для рожениц, и для детей. А при раннем обнаружении преэклампсии медики могут принять необходимые меры. Очень благородная задача.

В Центре онкологии им. П.А.Герцена мы занимаемся диагностикой на основе масс-спектрометрического анализа конденсата выдыхаемого воздуха. Довольно подышать 10 минут, чтобы получить достаточное коли-

чество конденсата, по которому мы можем определить несколько десятков белков, связанных с различными заболеваниями. Ведь каждая болезнь отличается своим уникальным набором биомаркеров – "отпечатком пальцев". Статистические методы обработки масс-спектров позволяют их классифицировать и связать с конкретным заболеванием. В частности, похоже, что удалось определить биомаркеры рака легких. Мы пытаемся добиться реализации последующих шагов – провести масштабные исследования и массовое сканирование населения – как сейчас проводят рентгеновские обследования легких. Ведь процедура очень проста – достаточно подышать 10 минут, и можно ставить диагноз. По крайней мере все легочные заболевания мы научились различать.

Аналогичные работы мы проводим с НИИ пульмонологии. Собственно, там мы их начинали, и даже сопровождали первую пересадку легких, следили за конденсатом выдыхаемого воздуха, наблюдали, как донорские легкие приживались.

Очень интересен проект с Центром нейрохирургии им. Н.Н.Бурденко. Мы придумали новый метод быстрого анализа пункции мозговой ткани. Ведь зачасную операцию на мозге проводятся по 8–9 часов. Так долго они длятся из-за того, что необходимо постоянно брать пункцию мозговой ткани и определять ее морфологию, отличать опухоль от здоровой ткани. Однако масс-спектрометрия позволяет непосредственно определять тип ткани и опухоли – по липидам и другим соединениям, экстрагированным из небольшого фрагмента ткани. Различных видов опухолей мозга достаточно много, сейчас мы нарабатываем базу знаний по ним.

Мы реализуем экспресс-анализ тканей, но в идеале стремимся выполнять его в режиме реального времени. Сегодня во всем мире просто семимильными шагами развивается новое направление – масс-спектрометрическая визуализация биологических объектов, которая делает ненужными различные красители и подобные методы анализа тканей. Недавно мы с директором Центра нейрохирургии А.А.Потаповым посетили новый центр масс-спектрометрии в крупной клинике в нидерландском Маастрихте. Видели, как в ходе хирургического вмешательства в реальном времени распознаются опухолевые ткани. Там масс-спектрометристы вместе с врачами – морфологами, хирургами – принимают участие в операции. Происходит взаимное проникновение – масс-спектрометристы в каком-то смысле становятся медиками, а врачи осваивают возможности клинической масс-спектрометрии.

Мы тоже движемся в данном направлении. Вскоре приступим к внедрению системы масс-спектрометрической визуализации медико-биологических образцов. Следующий шаг – онлайн-анализ тканей в ходе операции. Хирург должен постоянно знать, какая ткань под его инструментом. В нейрохирургии основной инструмент – это вакуумный отсос. Ткань из вакуумного отсоса можно сразу направлять в масс-спектрометр, и по характерным масс-спектрам – "отпечаткам пальцев" – определять ее морфологию. Подобными работами мы занимаемся в МФТИ. Там в рамках вузовской программы TOP-100 создана новая масс-спектрометрическая лаборатория, которая, очень надеюсь, позволит развивать данный проект.

Мы занимаемся и вопросами космической биомедицины. В частности, сотрудничаем с Институтом медико-биологических проблем РАН, где наша группа обеспечивает масс-спектрометрические исследования. В частности, работаем над очень важной и не до конца исследованной проблемой – влияние микрогравитации на здоровье космонавтов. И здесь тоже достигли определенных успехов. Например, получены очень интересные результаты по анализу крови 18 российских космонавтов. У них брали кровь перед полетом, сразу после и некоторое время спустя. Мы впервые выполнили количественный анализ белков – никто ранее этого не делал. Для этого мы использовали метод на основе изотопно-меченных пептидов, позволяющий очень точно измерять концентрацию белков в крови. Применяли контрольную панель из 142 белков, характерных для неинфекционных заболеваний, и в первую очередь – для диабета. Была слабая надежда, что отсутствие гравитации окажет воздействие на часть белков, подверженных влиянию диабета. И оказалось, что из 142 контролируемых белков 18 необратимо поменялись.

Мы знаем, что условия космического полета, микрогравитация сильно влияют на физиологию человека – из костей вымывается кальций, происходит перераспределение жидких сред организма и др. Но в молекулярном механизме этих процессов никто не разобрался. И наши работы – это первая попытка молекулярного подхода к исследованиям влияния микрогравитации. Эти исследования включены в программу последующих полетов, что было нетривиально, мы проходили через очень серьезную комиссию по отбору экспериментов. Так что надеемся получить интересные результаты.

Вы говорите о перспективных медико-биологических исследованиях, но когда масс-спектрометрия войдет в повседневную медицинскую практику?

Это уже произошло, и не только за рубежом. Сегодня в больницах масс-спектрометрический анализ стано-

вится рутинной процедурой. Характерный пример – технология Biotyper, продвигаемая компанией Bruker. MALDI Biotyper, – это программно-аппаратный комплекс для быстрой идентификации микроорганизмов. Он основан на наиболее простых времяпролетных MALDI-масс-спектрометрах серии FLEX производства Bruker. Метод позволяет идентифицировать микроорганизмы по уникальным наборам белков, в основном рибосомальных. В базе данных Biotyper содержатся "отпечатки пальцев" тысяч видов микроорганизмов.

Сейчас основной объем производства масс-спектрометров компании Bruker приходится именно на Biotyper. Это оборудование уже используется в очень многих клиниках, поскольку позволяет выполнять анализы значительно быстрее – по первичному посеву и даже непосредственно из физиологических жидкостей человека. Медики получили простой рабочий инструмент, эффективный не только для диагностики. С его помощью можно определять резистентность конкретного вида бактерий к определенным антибиотикам, чтобы точно подбирать курс лечения. Например, в Центре акушерства, гинекологии и перинатологии Biotyper работает круглосуточно.

Конечно, Biotyper – не единственная клиническая масс-спектрометрическая технология. С помощью масс-спектрометрии уже выполняется значительная часть биохимических анализов. Этот метод широко используется для анализа гормонов. И прогресс продолжится

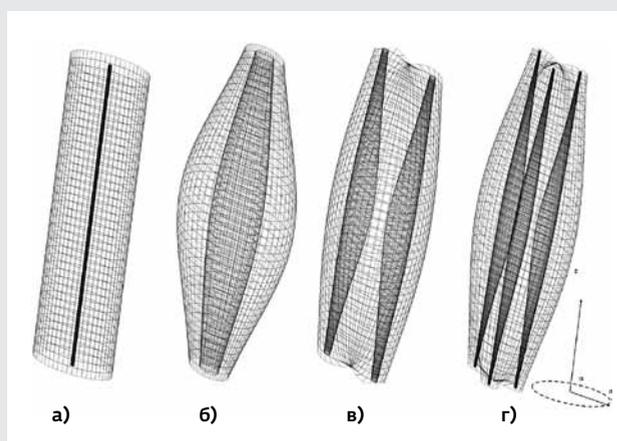
Наши работы – это первая попытка молекулярного подхода к исследованиям влияния микрогравитации

по мере того, как будут появляться новые разработки масс-спектрометров, ориентированных на медицинские задачи, и выявляться все новые биомаркеры заболеваний.

Подобные работы проводятся и в России. Например, Вадим Маркович Говорун в свое время создал протеемный центр в НИИ биомедицинской химии им. В.Н.Ореховича. Сегодня он возглавляет Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины (ФНКЦ ФХМ), созданный на базе НИИ физико-химической медицины и Клинической больницы № 123. Сейчас в ФНКЦ ФХМ сформирован большой парк масс-спектрометров,

Ловушки Кассини

Ловушки Кассини – новый класс электростатических ионных ловушек, являющийся дальнейшим развитием идеи К.Кингдона, Р.Найта и А.Макарова, воплощенной сегодня в ловушке Orbitrap. Впервые идея ловушек Кассини была предложена в 2009 году в работе сотрудника компании Bruker-Daltonik Клауса Кестера (*Köster C. The concept of electrostatic non-orbital harmonic ion trapping // International Journal of Mass Spectrometry. 2009. Vol. 287. P. 114–118*) и развита в последующей работе (*Köster C. Twin Trap or Hyphenation of a 3D Paul- and a Cassinian Ion Trap // Journal of American Society of Mass Spectrometry. 2015. Vol. 26. P.390–396*).



Ловушки Кассини различных порядков (более плотная сетка соответствует внутренним электродам): а) ловушка Кингдона (первый порядок), б) Orbitrap (первый порядок), в) классическая ловушка Кассини второго порядка, г) ловушка Кассини третьего порядка (из работы С.Көстер. *Twin Trap or Hyphenation of a 3D Paul- and a Cassinian Ion Trap // Journal of American Society of Mass Spectrometry. 2015. Vol. 26, p. 390–396*)

По определению, кривая Кассини – это геометрическое место точек, произведение расстояний от которых до двух заданных точек (фокусов) постоянно и равно квадрату некоторого числа a . Овалу Кассини соответствует уравнение $(x^2 + y^2)^2 - 2b^2 \times (x^2 - y^2) + b^4 = a^4$.

Эту кривую первым описал почти 350 лет назад известный астроном Джованни Доменико Кассини, полагая, что траектории планет вокруг Солнца соответствуют именно этим кривым (а не эллипсам по Кеплеру).

Потенциал электрического поля в прямоугольной системе координат в ловушках Кассини определяется как

$$\Psi(x, y, z) = \left[\frac{\ln\left(\frac{(x^2 + y^2)^2 - 2b^2(x^2 - y^2) + b^4}{a^4}\right)}{A \ln} + \frac{2z^2 - (2-c) \cdot x^2 - c \cdot y^2}{A \text{quad}} + d \right] \cdot U_{\text{Cassini}}$$

Здесь U_{Cassini} – напряжение между внешним и внутренним электродами, $A \ln = \ln(a_o^4/a_i^4)$, $A \text{quad} = 2(a_o^2 - a_i^2)$; $c^2 = 2a_i^2$. Часть уравнения под логарифмом соответствует уравнению овала Кассини, что и дало название ловушке. Уравнение описывает форму электродов, причем в ловушке может быть два и более внутренних электрода.

Ловушка Orbitrap является частным случаем ловушки Кассини. Действительно, Orbitrap описывается уравнением

$$\Psi(r, z) = \ln(r/r_i) \cdot U_{\text{In}} / R_{\text{In}} + (2z^2 - r^2 - c^2) \cdot U_{\text{quad}} / R_{\text{quad}} + U_{\text{off}}$$

где $R_{\text{In}} = \ln(r_o/r_i)$, $R_{\text{quad}} = r_o^2 - r_i^2$ and $c = r_i$; r_i и r_o – соответственно радиусы внутреннего и внешнего электродов в плоскости симметрии ловушки ($z = 0$). U_{off} – напряжение внутреннего электрода при $r = r_i$. Если положить $r^2 = x^2 + y^2$, $b=0$, $a_i = r_i$, $r_o = a_o$, то мы получим уравнение ловушки Кассини.

ведутся активные практические работы. В частности, они занимаются исследованиями микробиоты желудочно-кишечного тракта, а без масс-спектрометрии развитие таких исследований едва ли возможно.

Причем совершенно не обязательно оснащать каждую клинику собственным центром масс-спектрометрии. Например, я несколько раз посещал в Солт-Лейк-Сити вторую по величине в США аналитическую биохимическую лабораторию ARUP. Если клинике в любой точке страны нужен анализ, пробу помещают в контейнер и направляют в ARUP. У этой лаборатории есть договор с авиакомпанией Delta, сеть перевозок охвачена вся страна. В результате проба в тот же день поступает в Солт-Лейк-Сити. В лаборатории ей присваивается штрих-код, далее вся обработка автома-

тизирована – лента-транспортер перемещает образцы, специальные роботы выполняют пробоподготовку и направляют на исследование. В ARUP целый зал занят масс-спектрометрами. Данные анализа сразу направляются в клинику, а образцы помещаются на вечное хранение – в ARUP оборудовано специальное автоматизированное хранилище, несколько рядов многоэтажных холодильников. Фактически это биобанк, где человек может заказать хранение своих образцов на протяжении всей жизни. Анализ изменения, например, желудочной микробиоты на протяжении жизни очень важен для медиков. В результате клинике совсем не требуется собственный аналитический комплекс – достаточно создать несколько крупных высокопроизводительных роботизированных центров на всю страну.

Ваши исследования сосредоточены не только в области биомедицины? Вы продолжаете работы в области приборостроения, в частности – FT ICR масс-спектрометров?

Мы занимаемся исследованиями и разработками во многих направлениях, причем как в области прикладных аналитических задач, так и в сфере приборостроения. Это достаточно взаимосвязанные области.

В частности, мы выступаем лидерами в области FT ICR. В ИНЭПХФ РАН нами был создан новый класс ловушек – динамически гармонизированные ловушки Пеннинга. Сейчас такие ловушки под названием ParaCell и FT ICR-масс-спектрометры на их основе solarIX XR производит компания Bruker. Эти приборы широко используются для анализа различных сверхсложных смесей, прежде всего – нефти. Более того, в уникальном FT ICR-масс-спектрометре с магнитным полем 21 Тл, созданном в Национальной лаборатории сильных магнитных полей (NHMFL) совместно с компанией Bruker, также используется наша ловушка.

Создание новых ловушек стало возможным благодаря нашим работам в области математических методов моделирования ионных ловушек. Была разработана очень мощная программа для суперкомпьютерного моделирования движения ионных облаков. Она учитывала полные взаимодействия и между ионами, и ионов с отраженными зарядами. Подобного инструмента не было ни у кого. Программа универсальна, но в основном мы использовали ее для совершенствования ICR-ловушек, анализировали ловушки Orbitrap, а сейчас используем для создания прибора на основе ловушки Кассини.

Результаты моделирования привели к подлинному прорыву в области FT ICR. Ведь все думали, что FT ICR достиг предела разрешения на уровне 1 млн., обусловленного достижимым уровнем вакуума. Но когда мы стали разбираться, выполнили суперкомпьютерное моделирование, то увидели – все масс-спектрометрическое сообщество ошибается, и проблема не в вакууме, а в неправильной конструкции ловушки. Мы сделали на основе своих моделей ловушки нового типа – динамически гармонизированные FT ICR-ловушки, и сразу получили скачок разрешения на порядок. В частности, при относительно низких магнитных полях в 4,7 Тл мы достигли разрешения в 12 млн. (при $m/z = 675$) и 40 млн. с магнитом в 7 Тл, при анализе белка бычьего сывороточного альбумина (порядка 69 кДа) достигли разрешения 2 млн. Такое разрешение дало новое качество – появилась возможность измерять тонкую изотопную структуру веществ.

Например, недавно закончили анализ органики из лунного грунта, доставленный на Землю автоматической станцией "Луна-24" в 1976 году. Работа выполнялась совместно с немецкими коллегами, у которых есть опыт экстракции органики из метеоритов. Масс-спектрометрический анализ реголитов (основной лунный грунт) дал удивительный результат: оказалось, там очень богатая органика, как нефть, с массой молекул от 100 до 800 Да. Лунный грунт нам удалось проанализировать с рекордной разрешающей способностью – порядка

Лунный грунт нам удалось проанализировать с рекордной разрешающей способностью – порядка 10 миллионов

10 млн. До нас никто никогда такого уровня разрешения не достигал.

В целом мы работаем с достаточно разнообразным приборным парком. Это и масс-спектрометры на основе Orbitrap, и различные времяпролетные масс-спектрометры, и ионные ловушки. Конечно, многие работы проводим с помощью масс-спектрометров FT ICR, поскольку часть наших исследований находится на переднем фронте науки. В частности, мы занимаемся решением сложных задач в области анализов нефти. Несколько лет назад мы измерили возраст самой молодой на Земле нефти методом радиоуглеродного анализа на ускорительном масс-спектрометре. Ее обнаружили на Камчатке в кальдере вулкана Узон.

Вместе с профессором Ириной Владимировной Перминовой с химфака МГУ на базе FT ICR выполняли анализ гуминовых кислот, других природных соединений – того, что называют "болотной химией". В области петролеумики мы активно взаимодействуем с очень крупным Центром нефти и газа в Сколково. Он будет координировать все научные исследования в стране по нефти и газу. Мы ведем совместные работы, три наших сотрудника занимаются новыми подходами к анализам нефти.

Сейчас в Сколтехе вы входите Центр космических исследований. На что направлены работы в этой области?

В Сколтехе мы работаем над созданием масс-спектрометра для космических исследований. В пер-

вую очередь он предназначен для исследования полярных шапок Луны. Сейчас ведутся совместные российско-американские эксперименты по нейтронному картированию Луны (спутник НАСА LRO). Обнаружено много водорода на лунных полюсах, что позволяет предположить наличие воды. Но тот факт, что мы получили органику из приэкваториальных областей ("Луна-24" провела отбор грунта в юго-восточном районе Моря Кризисов), говорит о том, что органика должна быть везде. Причем если в экваториальных областях за счет солнечного излучения она испаряется, то на полярных шапках в кавернах и кратерах, скорее всего, лежит органика, которой миллиарды лет. Сейчас интересно доказать, что на Луне действительно много воды, и посмотреть, сколько органики. Это важно для будущих миссий – на Луне ведь планируют построить международную станцию. А вода – это потенциальное топливо, потому что ее можно разлагать на кислород и водород за счет солнечной энергии и использовать для дальнейшего освоения космоса с Луной как базой для дальнейших полетов.

Как видите, задача весьма амбициозна. Именно для ее решения мы создаем новый космический масс-спектрометр, причем на основе нового типа ловушек – так называемых ловушек Кассини. Собственно, популярная сегодня ловушка Orbitrap принадлежит к этой категории.

Мы создаем новый космический масс-спектрометр на основе ловушек Кассини

В основе электростатической ловушки Orbitrap лежит предложенная Кингдоном в США почти 100 лет назад, в 1923 году, и развитая в 1970-е годы (Найт) идея формирования поля, изменяющегося квадратично в аксиальном направлении и неважно как – в радиальном. Но довести эту идею до практического воплощения удалось только Александру Макарову, а затем компания ThermoFisher превратила Orbitrap в один из наиболее востребованных масс-спектрометров. Развив идею дальше, математики выявили целый класс ловушек, получивших название ловушки Кассини – форма эквипотенциальных поверхностей вну-

три такой ловушки соответствует овалам Кассини. Если в Orbitrap один веретенообразный внутренний электрод окружен поверхностью соответствующей формы, то в более широком классе ловушек Кассини может быть и два, и три, и четыре внутренних электрода. В целом такая система формирует поле, квадратичное в одном направлении. Измеряя частоты колебаний ионов в этом направлении, мы можем определить их массы.

Именно такую ловушку мы сейчас создаем в Сколтехе в рамках совместного проекта с Массачусетским технологическим институтом (MIT). Причем саму ловушку предполагается изготавливать методами 3D-печати. В результате впервые в приборостроении масс-спектрометр будет реализован полностью "цифровым" методом – от математических формул модели до управляющей программы для 3D-принтера. А дальше – детектирование сигналов, их цифровая обработка. Если у нас все получится, этот совершенно инновационный подход станет хорошим примером для приборостроительной индустрии и других промышленных отраслей.

Подчеркну, в рамках этой работы мы создаем не только ловушку, но полностью законченный прибор, от систем пробоотбора до обработки результатов анализа.

Космическое приборостроение, как правило, связано с созданием единичных приборов. Ваш совместный проект с MIT может получить развитие в виде массового продукта?

Конечно, и это одно из требований, прописанных в нашем гранте. Космический прибор должен быть легким, компактным и малопотребляющим, поскольку вывод на орбиту каждого килограмма груза стоит миллионы долларов. Но аналогичны требования и к носимому прибору. Если нам удастся создать такой масс-спектрометр, то мы, несомненно, будем думать о его промышленном выпуске для более массовых задач, например экологических. Миниатюрный масс-спектрометр можно разместить даже на борту беспилотного летательного аппарата, даже квадрокоптера. Представляете, какой спектр задач можно решать с помощью такого устройства? Вплоть до обнаружения подпольных производств водки – не нужно проникать на территорию, достаточно подлететь и проанализировать воздух в зоне вытяжной вентиляции. А наркотики?! Ведь просто по анализу канализационных сбросов можно определять места, где потребляют наркотики, – например, ночные клубы. И подобных применений очень много.

Если посмотреть чуть дальше – каковы, на ваш взгляд, возможности миниатюризации масс-спектрометров, нужно ли этим заниматься?

Технологически это возможно. Уже есть образцы масс-спектрометров, выполненных на кремниевых чипах, по технологиям микроэлектромеханических систем (МЭМС). Созданы миниатюрные МЭМС-насосы. Например, в MIT изготовлен плоский форвакуумный насос по технологиям МЭМС и 3D-печати. Он представляет собой пластинку, создающую над своей поверхностью относительно глубокий вакуум. Получены результаты в области систем ионизации на чипе. Конечно, масс-спектрометр на чипе не будет обладать возможностями FT ICR или Orbitrap, но для ряда задач селективного детектирования он вполне годится.

Будут ли востребованы подобные приборы?

Это невозможно предсказать. Но потребность в подобных устройствах видна, а прогресс в данном направлении за последние 10 лет идет очень бурно. Подобные устройства можно использовать для решения многих задач, например криминалистических. Но чтобы появились массовые приборы, нужна массовая потребность, такие анализаторы должны войти в быт. Как это может произойти? Хороший пример – автомобильная промышленность. Все нововведения начинаются с стоповых, эксклюзивных моделей. Такие машины покупают те, кто хочет выделиться и готов за это платить. Если на каком-то навороченном автомобиле ценой в несколько миллионов долларов поставить масс-спектрометр, который определяет качество воздуха в салоне, это будет круто. И его владелец сможет говорить: а у меня в автомобиле масс-спектрометр. Глядишь, вскоре и весь голливудский бомонд захочет автомобили с масс-спектрометром. Появятся деньги, а там и другие автомобилисты скажут: нам тоже нужен масс-спектрометр, мы жить без него не можем.

Конечно, есть и другие сценарии. Скажем, сейчас разрабатывают программы охраны мест обитания персон высокого ранга – нужно обеспечить пищевую безопасность, безопасность воздуха, воды. Для этого необходимы анализаторы. Но ведь подобные устройства могут быть востребованы и в быту – человек на кухне сразу определяет, что за продукты купил, нет ли в них каких-нибудь токсинов и т.п. Или что за вода течет из крана. Вспомните, когда случился Чернобыль, все стали покупать счетчики Гейгера, а до этого кто бы мог подумать, что такой специфический прибор окажется массово востребованным. Сейчас простой радиометр можно купить за 2–3 тыс. руб., а когда-то они стоили более 100 тыс. в пересчете на современные деньги.

Как только потребность возникает, бизнес на нее мгновенно реагирует, появляются деньги и соответственно вырастает продукт.

Масс-спектрометр на основе ионного циклотронного резонанса всегда был очень дорогим прибором. Есть ли тенденции к его удешевлению, к тому, чтобы метод стал более массовым?

Несмотря на конкурирующие решения, технология FT ICR остается весьма востребованной. Я недавно обсуждал со специалистами компании Bruker в Бре-

Глядишь, вскоре весь голливудский бомонд захочет автомобили с масс-спектрометром

мене перспективы модернизации их FT ICR-приборов и с удивлением узнал, что в 2015 году Bruker продала более 30 таких масс-спектрометров, в основном в Европу, Китай и Америку. Для масс-спектрометров данного класса это много. Значит, FT ICR-масс-спектрометры остаются востребованными. Они используются в двух основных областях. В первую очередь это нефтяная промышленность, потому что никакой другой метод не обеспечивает требуемое разрешение в столь сложных матрицах. Второе направление – это анализы "по нисходящей" (top-down) в протеомике.

Кроме того, до недавнего времени только FT ICR позволял определять тонкую изотопную структуру веществ. Сегодня подобными возможностями обладают и приборы на основе Orbitrap, но только на относительно малых массах. FT ICR позволяет различать тонкую изотопную структуру молекул, вплоть до 5000 Да, мы ее наблюдали даже в инсулине. FT ICR-масс-спектрометр способен видеть природные изотопы, разрешая мультиплеты. Там, где другой прибор показывает один пик, FT ICR регистрирует 10 пиков – становятся видны изотопы кремния, азота ^{15}N , оба изотопа кислорода – ^{17}O и ^{18}O , виден дейтерий. Когда мы наблюдаем эти мультиплеты и можем измерить их интенсивность, то сразу, непосредственно по спектру определяем атомный состав молекулы, ее брутто-формулу. Для метабомики это чрезвычайно

важно. Не нужно делать МС/МС-анализ, фрагментировать молекулу, что требует времени и снижает чувствительность.

В FT ICR до недавнего времени большую проблему составляла магнитная система. Для ионного циклотронного резонанса необходимы высокие магнитные поля, следовательно, сверхпроводящих соленоиды, их требуется периодически заправлять жидким гелием

Чтобы честно заработать в области приборостроения, нужна другая экономическая система

или азотом. Процедура эта не простая и не дешевая. Жидкий гелий постоянно дорожает, к тому же не везде он доступен, возникают проблемы с его транспортировкой. Я помню, как в 1990-е годы возил жидкий гелий на крыше своей машины и покупал его за наличку в Курчатовском институте – по безналу он стоил в 10 раз дороже.

Однако сегодня появились мощные необслуживаемые магниты, производимые компанией Bruker. Вы покупаете законченное устройство со встроенным компрессорным охладителем, никакие криогенные жидкости заливать не нужно. Собственно, подобные решения предлагались и раньше для ЯМР-систем. Но они отличались высоким уровнем электронных шумов, что мешало высокоточным измерениям. Теперь эта проблема решена, что сделало эксплуатацию FT ICR-приборов значительно проще и дешевле.

Кроме того, и с точки зрения пользователя масс-спектрометры становятся все проще и проще. Любой производитель стремится сделать свой прибор как можно более удобным для оператора. Ведь одно дело – исследовательский масс-спектрометр в университете. Там работают специалисты, им нужен доступ ко всем возможным настройкам прибора. Но для промышленных, рутинных задач анализатор должен быть очень простым, в сеть включил – и работает. Именно такими становятся и современные FT ICR-масс-спектрометры.

Ваша группа в России уникальна тем, что не только занимается практическим применением

масс-спектрометрии, но и создает аппаратные решения. На ваш взгляд, возможно ли в этой области создание российского продукта под российской торговой маркой?

Непростой вопрос. Когда-то в России было научное приборостроение, делались масс-спектрометры. Еще студентом я работал на советских масс-спектрометрах.

В 1990–2000-е годы появилось несколько групп, которые решили изготавливать свои масс-спектрометры. Яркий пример – А.Н.Веренчиков. Была предпринята серьезная попытка создания масс-спектрометра, но очень быстро стало понятным, что здесь заниматься подобными вещами невозможно. По совокупности причин – собственно, они составляют проблему любого малого бизнеса в нашей стране, – группа Веренчикова переехала в Черногорию. Они разработали классную машину для компании LECO – многоходовой времяпролетный масс-спектрометр (Pegasus HRT). Такой прибор очень востребован, потому что, если масс-спектрометр имеет разрешение порядка 1 млн. и время анализа около 100 мкс, его можно сочетать с системами предварительного разделения на основе ионной подвижности и хроматографии. Подобные решения очень нужны рынку.

Конечно, были и другие попытки создавать масс-спектрометры в нашей стране, в том числе в нашем институте, даже сделали прототип. Но случился кризис 1998 года, и группа разработчиков не то что прибыль от прибора не получила, а осталась должна государству.

Проблема в том, что Россия – это зона рискованного бизнеса. Ведь современный прибор представляет собой конструктор, совокупность стандартных компонентов от десятка фирм-производителей, скомпонованных под какую-то идею. В случае Orbitrap или FT ICR эта идея – уникальные ловушки. Если есть идея, прибор вполне можно создать, но дальше встает вопрос экономической целесообразности. При существующей в стране экономической конъюнктуре и условиях для малого бизнеса точки роста невозможны. Было несколько попыток, но они ни к чему не привели.

Конечно, появлялись и более успешные приборостроительные фирмы. Но в основном они носили коррупционный характер: скажем, кто-то из министерства их курирует, обеспечивая государственный заказ, естественно, зарабатывая на этом. А фирма фактически участвует в цепочке по отмыванию денег. На определенном этапе подобная схема позволяла разрабатывать хоть какую-то продукцию. Но чтобы

честно заработать в области приборостроения, нужна другая экономическая система. О ней все говорят, но что-то я не вижу чтобы она реально создавалась.

Кроме того, едва ли кто-то сможет конкурировать с ведущими зарубежными фирмами, которые работают на рынке 50 лет или больше. И какая бы идея ни родилась, эти компании воплотят ее значительно быстрее и качественней, у них рынок проработан по всему миру. Как с ними сопереживать? Единственная возможность – сотрудничать с ведущими фирмами в области исследований и разработок. Чем мы и занимаемся – по крайней мере, это позволяет оставаться в курсе всех новейших веяний.

Если посмотреть на направление масс-спектрометрии в целом – как вы видите его развитие в несколько отдаленной перспективе?

Фантазии обычно не выходят за рамки собственных желаний. Например, если нам удастся реализовать масс-спектрометр на основе ловушки Кассини, он может стать весьма массовым прибором, в том числе для бытовых применений.

Но ведь масс-спектрометрия чрезвычайно разнообразна. Этому направлению более 100 лет. Первый прорыв был в изотопной масс-спектрометрии еще в 1930-е годы, потом в химической масс-спектрометрии, в области анализа нефти – это 1950-е годы. Бурный прогресс в биологической масс-спектрометрии стартовал в конце 1970-х годов и продолжается до сих пор, потому что научились ионизовать, не разрушая, большие молекулы. Несомненно, будут появляться новые направления. И прогресс неизбежен в каждом.

Большие перспективы для прогресса видны в области комбинации масс-спектрометрических методов. Собственно, такие приборы уже выпускают многие ведущие компании. Например, масс-спектрометры компании ThermoFisher с ловушкой Orbitrap – это, как правило, двойные масс-спектрометры (Orbitrap и ионная ловушка), есть и тройные системы. Подобную идею развивает и Bruker: в приборе один интерфейс, но разные ловушки для разных задач. Скажем, быстрый анализ во времяпролетном масс-спектрометре и медленный – в FT ICR, но со сверхвысоким разрешением. У времяпролетного анализатора ограничено разрешение, но, в отличие от FT ICR, практически неограничен динамический диапазон. И такие комбинации будут все шире использоваться в различных областях.

Собственно, они уже используются. Например, во время миссии к комете Чурюмова-Герасименко (пер-

вая в мире мягкая посадка на комету, КА "Розетта" со спускаемым аппаратом "Филы", 12 ноября 2014 года) на борту было четыре масс-спектрометра. Причем разных, каждый решал свою задачу.

Во многом развитие будет связано с освоением простыми пользователями техники масс-спектрометрии. Так, если раньше для обычного медика масс-спектрометр был чем-то абсолютно непонятным, то сейчас он становится привычным прибором. Это уже вопрос образования: студентов в ряде мединститутов начинают знакомить с масс-спектрометрией с третьего курса, что, конечно, способствует проникновению масс-спектрометров в медицину. В результате клиники будут использовать не только простейшие технологии типа Biotyper, но и анализаторы тканей, системы масс-спектрометрической визуализации. Там тоже есть разные интересные комбинации.

Но все это – линейное предсказание. Однако жизнь-то нелинейная. Происходит какое-то открытие, и все меняется. Например, если произойдет прогресс в области высокотемпературных сверхпроводников, то резко подешевеют магниты, что придаст мощный импульс для технологий FT ICR.

Зачастую кажется, все уже изучено, но постепенно накапливаются новые знания, у приборов обнаруживаются новые качества и происходит взрывной скачок. Так было с нашими работами в области динамически гармонизированных ловушек. Вроде старый метод – и вдруг прогресс в разрешении на порядок, позволяющий создавать качественно новые приборы. Совсем недавний пример: на конференции Innovations in Mass Spectrometry Instrumentation 2016 в Москве был доклад Михаила Судакова, одного из крупнейших специалистов в области квадрупольных масс-спектрометров и ловушек. Он придумал, как обыкновенный квадруполь сделать масс-спектрометром высокого разрешения, на уровне десятков тысяч. Меня его доклад удивил, я просто не знал, что такое возможно. Ведь, казалось бы, метод, про который все известно, написаны десятки книг и сотни статей, много умных людей работали в этой области и Нобелевскую премию получили. Но и тут удалось найти совершенно неожиданные решения.

Вот такого рода идеи, открытия и прорывы позволяют развиваться в совершенно неожиданных направлениях. Однако их появление предсказать невозможно.

Спасибо за интересный рассказ.

С.Е.Н.Николаевым беседовал И.В.Шахнович