

LA SPECTROMÉTRIE DE MASSE SALDI

(SURFACE-ASSISTED LASER DESORPTION/IONIZATION)

Par Wendy MÜLLER

Aspirante F.R.S.-FNRS au Laboratoire de Spectrométrie de Masse
(MSLab – ULiège)

1. INTRODUCTION : LA SPECTROMÉTRIE DE MASSE, QUELQUES GÉNÉRALITÉS

La **spectrométrie de masse** est une technique essentielle, tant en chimie analytique, qu'en chimie physique, biologie, sécurité alimentaire, sciences biomédicales, environnementales ou encore forensiques. Cette technique permet de **mesurer la masse d'atomes, molécules et complexes chargés** (rigoureusement, il faudrait plutôt parler du rapport « masse sur charge » (m/z)) et ainsi de les **identifier**, d'en **étudier les propriétés** et dans certaines conditions, de les **quantifier**. En pratique, l'analyse par spectrométrie de masse repose sur la séparation en phase gazeuse d'ions en fonction de leur m/z . Un **spectromètre de masse** est donc constitué d'une **source d'ionisation** (qui transfère les constituants de l'échantillon vers la phase gazeuse et les ionise), d'un **analyseur** (qui sépare les ions en fonction de leur m/z) et d'un **détecteur** (qui détecte ces ions).

2. LA SPECTROMÉTRIE DE MASSE MALDI

Il existe plusieurs sources d'ionisation, une des plus célèbres étant la **technique d'ionisation** appelée « **MALDI** » (pour *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization*). En spectrométrie de masse MALDI, les molécules de l'échantillon à analyser sont au préalable co-cristallisées avec une grande quantité de **matrice organique**, qui (i) protège les analytes de l'irradiation directe du laser (et limite ainsi leur fragmentation) et (ii) « assiste » la désorption et l'ionisation des analytes (d'où le nom de cette technique) (**Fig. 1**). Au cours de l'analyse, un faisceau laser UV irradie le mélange co-cristallisé échantillon-matrice. Le rôle de la matrice organique est alors d'absorber l'énergie du laser pour **promouvoir la désorption** des analytes et de **fournir une source d'ionisation**, généralement par (dé)protonation. La technique MALDI est notamment couramment utilisée pour l'analyse de macromolécules telles que des **protéines** ou des **polymères**. Par contre, cette technique n'est **pas recommandée pour l'analyse de**

petites molécules (< 700 Da). En effet, sous l'influence de l'irradiation laser, les molécules de l'échantillon ne sont pas les seules à s'ioniser. Les molécules de la matrice organique (qui sont des petites molécules organiques), elles aussi, se désorbent, s'ionisent et peuvent également se fragmenter. L'ionisation de la matrice et sa potentielle fragmentation conduisent alors à la formation de nombreux ions de faibles m/z , interférant avec la mesure des ions d'intérêt de petite masse moléculaire. Les **petites molécules** sont néanmoins d'un grand intérêt. Elles peuvent, par exemple, jouer un rôle clé dans des processus biochimiques, tels que le développement d'une maladie ou dans la communication intercellulaire. Par conséquent, l'analyse de petites molécules (métabolites, lipides, etc.) par spectrométrie de masse suscite un intérêt grandissant. Les problèmes associés à la matrice organique rencontrés en MALDI ont dès lors encouragé la recherche d'alternatives parmi lesquelles se trouve une technique de spectrométrie de masse employant des **nanosubstrats** à la place d'une matrice organique pour « assister » la désorption et l'ionisation des analytes.

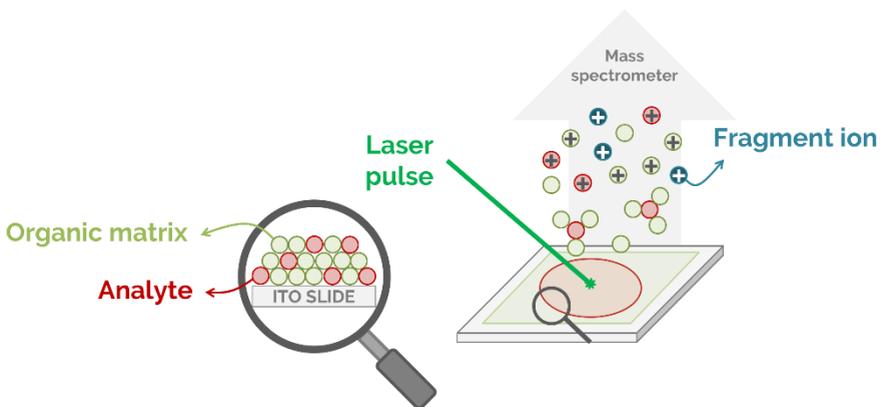


Figure 1. Représentation schématique des processus de désorption et ionisation laser en spectrométrie de masse MALDI. Crédit : Wendy Müller

3. LA SPECTROMÉTRIE DE MASSE SALDI

Cette technique alternative de spectrométrie de masse porte le nom de « **SALDI** » pour *Surface-Assisted Laser Desorption/Ionization* car elle repose sur l'utilisation de **surfaces nanostructurées** qui peuvent être, par exemple, des nanoparticules, des supports solides nanostructurés (e.g. silicium poreux, réseaux de « nano-poteaux », de nano-cônes (**Fig. 2**)) ou des nano-clusters de métal pulvérisés. La technique SALDI n'est pas si récente que cela puisque sa première utilisation remonte à 1988 lorsque K. Tanaka employa une poudre de cobalt ultrafine dispersée dans une matrice liquide

de glycérol pour analyser des peptides et des protéines intactes par spectrométrie de masse. Ces travaux permettront d'ailleurs à Tanaka d'être l'un des lauréats du Prix Nobel de Chimie de 2002. Cependant, ce n'est qu'en 1995 que le nom et l'acronyme « SALDI » seront proposés par J. Sunner et ses collègues pour souligner le rôle crucial de la surface nanostructurée dans le mécanisme fondamental de désorption/ionisation laser.

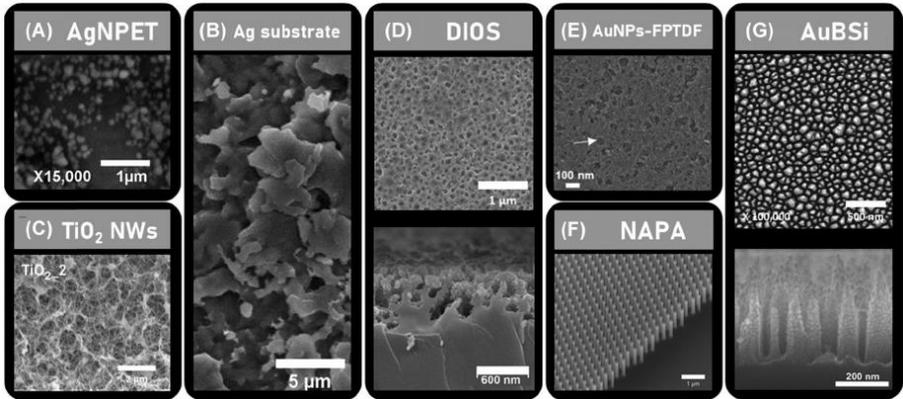


Figure 2. Images acquises par microscopie électronique à balayage de (A) AgNPET, support recouvert de nanoparticules d'argent, (B) nanosubstrat en argent, (C) nanofils en TiO_2 , (D) DIOS, silicium poreux, (E) AuNPs-FPTDF, film poreux de TiO_2 fonctionnalisé avec des nanoparticules d'or, (F) NAPA, nano-poteaux de silicium et (G) AuBSi, nano-cônes de « silicium noir » recouverts de nanoparticules d'or. Reproduit de Müller, W.H., Verdin, A., De Pauw, E., Malherbe, C., & Eppe, G. (2020). *Mass Spectrometry Reviews*.

Outre la **morphologie** des nanosubstrats employés en spectrométrie de masse SALDI (SALDI-MS), leur **composition chimique** est également très diversifiée, allant des métaux (or, argent, platine), aux matériaux carbonés (carbone, graphène, graphite) en passant par les oxydes métalliques (oxyde de titane, oxyde de zinc) ou encore le silicium. L'avantage principal des nanosubstrats en SALDI réside en la **quasi-absence d'interférence** générée dans la région des **faibles m/z** lors de leur utilisation, ce qui rend la technique SALDI particulièrement intéressante pour l'étude de **petites molécules**. En ce sens, la technique SALDI représente une technique complémentaire à la technique MALDI, qui elle, est particulièrement efficace pour l'étude des molécules de plus haute masse moléculaire (> 1000 Da). Ainsi, aujourd'hui, la spectrométrie de masse SALDI offre de belles perspectives dans de nombreux domaines de recherche, tels que la biomédecine, l'analyse de médicaments, l'analyse environnementale ou encore forensique, par exemple.

4. LA SPECTROMÉTRIE DE MASSE SALDI À L'ULIÈGE

Depuis maintenant quelques années, le Laboratoire de Spectrométrie de Masse (MSLab) de l'unité de recherche MolSys de l'Université de Liège développe une expertise en spectrométrie de masse SALDI. Les recherches sont menées dans plusieurs volets de cette thématique, tels que l'expérimentation de **nouveaux nanosubstrats**, l'étude des **mécanismes fondamentaux** de désorption/ionisation laser ou encore **l'imagerie** par spectrométrie de masse SALDI d'échantillons biologiques.

4.1. Tests de nouveaux nanosubstrats pour des applications en SALDI-MS

Si de nombreux nanosubstrats peuvent être utilisés en SALDI-MS, tous ne sont cependant pas égaux en termes de performance analytique. Le choix du nanosubstrat dépendra de plusieurs facteurs, et en particulier, des molécules que l'on souhaite analyser et de la nature de l'échantillon. **Plusieurs types de substrats sont actuellement testés au MSLab**, parmi lesquels se trouvent des nanoparticules d'or mais également des substrats plus élaborés tels que des supports nanostructurés en silicium ou encore des membranes poreuses en alumine.

4.2. Etude des processus fondamentaux de désorption/ionisation laser

Bien que les techniques de spectrométrie de masse à désorption/ionisation laser se soient rapidement développées, la **compréhension des mécanismes fondamentaux** régissant les processus de désorption et d'ionisation demeure encore incomplète. L'étude de ces mécanismes reste en effet un défi majeur en raison, non seulement, de leur complexité mais également de la grande diversité de substrats et matrices organiques assistant ces processus. Cependant, l'étude des phénomènes de désorption et d'ionisation, ainsi que de l'influence des propriétés des nanosubstrats et des paramètres opérationnels sur ces processus est essentielle, tant d'un point de vue **fondamental** que pour le développement et l'optimisation d'**applications analytiques**. Pour l'instant, au MSLab, les études physico-chimiques de la technique SALDI se concentrent sur l'évaluation du taux de fragmentation et sur l'efficacité de désorption/ionisation de **petites molécules modèles** (*i.e.* sels de benzyropyridinium), couramment nommées « **molécules thermomètres** ».

4.3. Imagerie moléculaire d'échantillons biologiques

Si la spectrométrie de masse permet de détecter et d'identifier des molécules, l'imagerie, quant à elle, apporte en plus une **information spatiale**. **L'imagerie** par spectrométrie de masse permet en effet de **visualiser la localisation** des molécules au

sein d'échantillons qui peuvent parfois s'avérer complexes, tels que des tissus biologiques, des empreintes, des échantillons cancéreux, des cellules, etc. Au sein du MSLab, l'imagerie par spectrométrie de masse SALDI se concentre pour l'instant sur l'analyse de coupes de cerveaux de souris (**Fig. 3**), en vue d'optimiser la technique. Les cerveaux de souris font en effet partie des échantillons biologiques les plus étudiés dans le domaine, notamment en raison de leur petite taille et de leur structure interne caractéristique (qui est aujourd'hui bien documentée, notamment à travers d'atlas, tels que le *Allen Mouse Brain Atlas*). Des biopsies de tissus cancéreux ont également été imagées par spectrométrie de masse SALDI (**Fig. 3**). L'analyse a notamment permis de mettre en évidence les zones cancéreuses de ces échantillons.

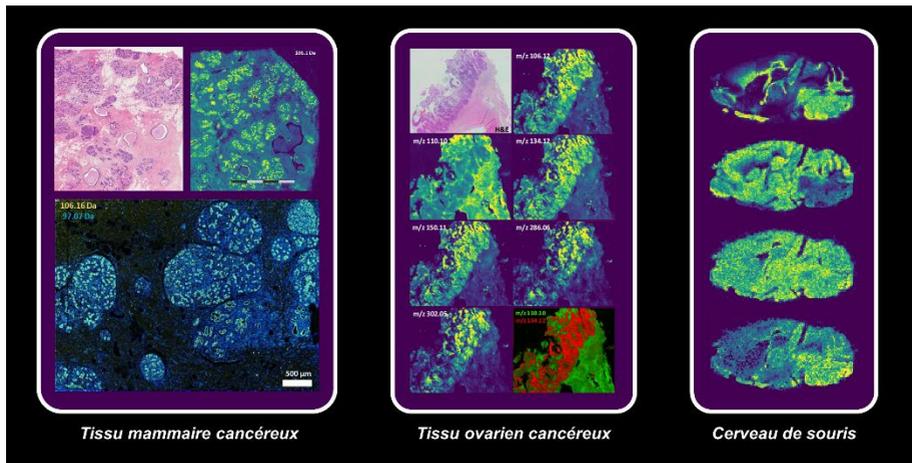


Figure 3. Imagerie par SALDI-MS de différents échantillons biologiques : (gauche) tissu mammaire cancéreux, (milieu) tissu ovarien cancéreux et (droite) cerveau de souris. Crédit : Alexandre Verdin et Wendy Müller

5. PUBLICATIONS RÉCENTES DU MSLAB EN SPECTROMÉTRIE DE MASSE SALDI

Müller, W. H., De Pauw, E., Far J., Malherbe, C., & Eppe, G. (2021). Imaging lipids in biological samples with Surface-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry: A concise review of the last decade. *Progress in Lipid Research*, 83, 101114.

Müller, W. H., Verdin, A., Kune, C., Far, J., De Pauw, E., Malherbe, C., & Eppe, G. (2021). Dual-polarity SALDI FT-ICR MS imaging and Kendrick mass defect data filtering for lipid analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 413(10), 2821-2830.

Müller, W. H., Verdin, A., De Pauw, E., Malherbe, C., & Eppe, G. (2020). Surface-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry imaging: A review. *Mass Spectrometry Reviews*.

6. CONTACTS



Wendy MÜLLER

wmuller@uliege.be

Prof. Gauthier EPPE

g.eppe@uliege.be

MSLab

www.mslab.uliege.be