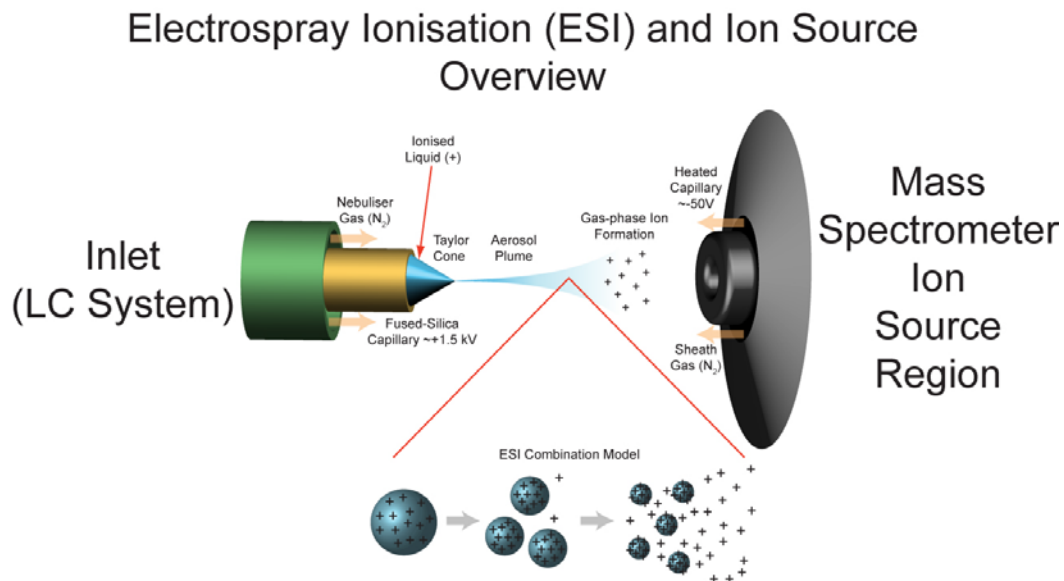


## ESPECTROMETRÍA DE MASAS DE TIPO ELECTROSPRAY (ES/MS)

La ionización mediante electrospray se basa en una elegante idea propuesta por Dole en los años 60 que fue puesta a punto por Fenn et al en 1988, hecho por el que le dieron el premio nobel en química en el año 2002. El desarrollo de este método de ionización coincidió en el tiempo con la aparición del método de ionización MALDI. Ambos métodos, conocidos como “soft-ionization”, marcaron un antes y un después en las técnicas de manipulación de péptidos y proteínas al permitir su análisis mediante espectrometría de masas.

### IONIZACIÓN POR ELECTROSPRAY

La muestra en solución se hace pasar a través de un capilar al que se aplica un alto potencial eléctrico, a la salida del capilar la solución se dispersa en forma de spray formado por pequeñas gotas cargadas, las cuales se evaporan rápidamente bien por un proceso de desorción del campo eléctrico ó de evaporación del solvente, liberando moléculas (péptidos ó proteínas) protonadas a la fase gaseosa. Los iones generados pueden estar protonados de forma múltiple dando lugar a diferentes especies para una misma molécula. En el caso de péptidos y proteínas, el extremo N-terminal y los residuos de histidina, arginina y lisina son los candidatos a protonarse.

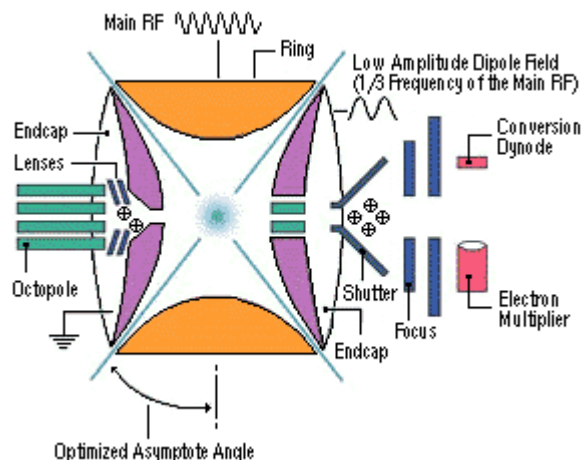


Todo el proceso de ionización se realiza a presión atmosférica. Al igual que la ionización MALDI es un método de ionización suave ya que no se detecta fragmentación de las moléculas.

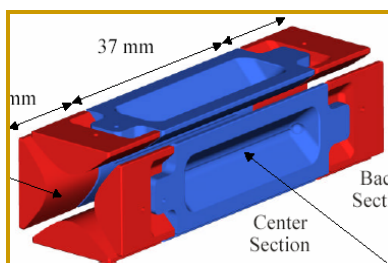
## ANALIZADOR DE TRAMPA IÓNICA (IT)

La ionización por electrospray se puede acoplar a múltiples analizadores entre los que se encuentra la trampa iónica. El cuadrupolo de trampa iónica clásico (trampa iónica tridimensional) está formado por tres electrodos: el electrodo anular, el electrodo de entrada y el electrodo de salida, que forman una cavidad en la cual es posible almacenar y analizar iones.

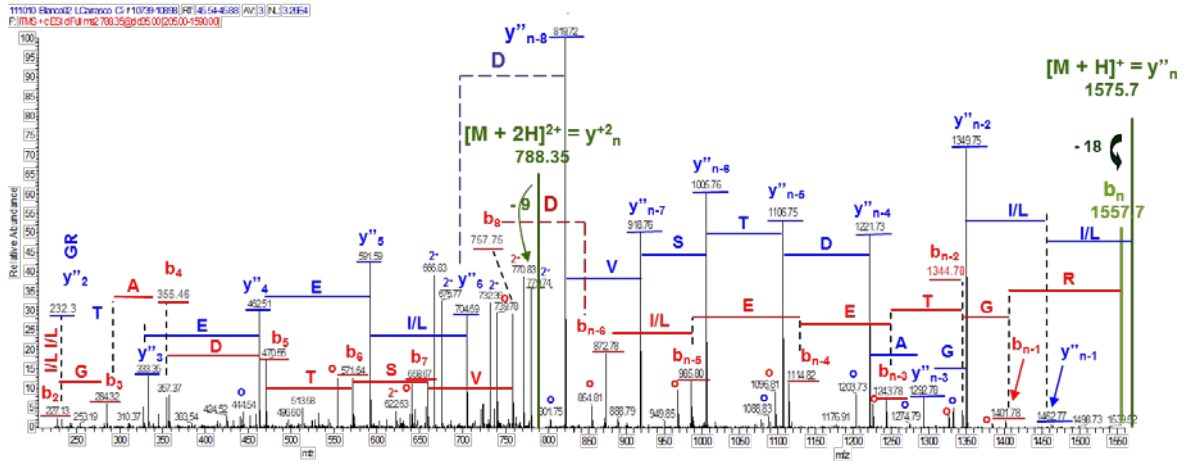
Los iones formados en la fuente entran en el analizador donde se aplican diferentes voltajes generando un campo eléctrico tridimensional en la cavidad de la trampa. Este campo atrapa y concentra los iones dada su trayectoria de oscilación estable. La naturaleza de la trayectoria depende del potencial y de la relación masa-carga ( $m/z$ ) de los iones. Durante la detección, los potenciales de los electrodos se alteran para provocar inestabilidad en las trayectorias de los iones y expulsarlos en la dirección axial en función de su relación  $m/z$  dando lugar a un espectro de masas (MS).



Las limitaciones fundamentales de las trampas iónicas tradicionales han llevado a los investigadores a estudiar nuevas geometrías de confinamiento. Esto ha conducido al desarrollo de una trampa iónica lineal. Aquí lineal se refiere al hecho, de que el confinamiento en el campo de RF existe solo en dos dimensiones ( $x$  e  $y$ , radial). La trampa iónica lineal consiste en cuatro barras paralelas cortadas en tres secciones con una ranura longitudinal en dos barras de la sección central, para la extracción de iones. El funcionamiento interno es esencialmente el mismo que en la trampa tradicional, con la particular diferencia, de que los iones son extraídos radialmente a través de las ranuras practicadas en las barras de los electrodos.



La eficacia de confinamiento y la capacidad de almacenamiento son muy superiores a la de la trampa clásica lo que se traduce directamente en una mayor sensibilidad, mayores límites de detección, mayor rango dinámico y mejor rendimiento en experimentos MS<sup>n</sup>. Una de las características del cuadrupolo de trampa iónica es su capacidad para aislar un ion y fragmentarlo mediante CID (Disociación Inducida por Colisión), obteniéndose así lo que se denomina “espectro de fragmentación” ó espectro MS/MS. Los espectros de fragmentación contienen la información acerca de la secuencia aminoácida del péptido aislado.



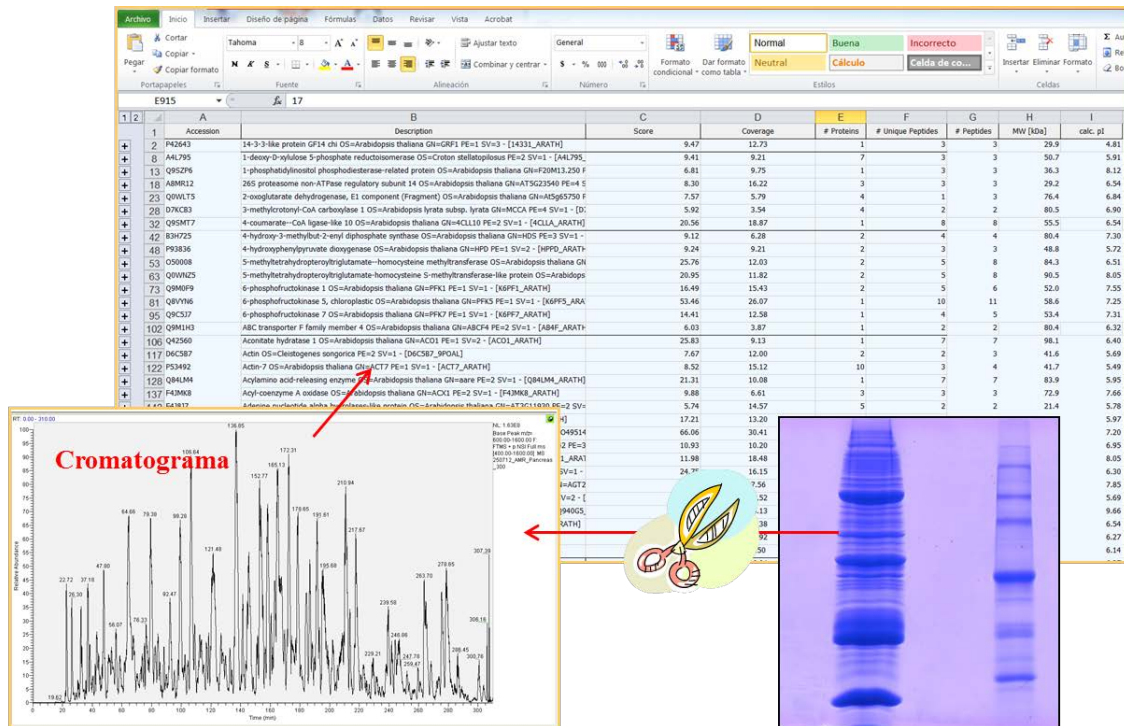
De este modo podemos identificar proteínas, ya no solo a partir de datos de masa sino también de datos de secuencia con un alto nivel de confianza.

### ACOPLAMIENTO LC-ESI-IT

El hecho de que la ionización mediante ESI sea a partir de la muestra en solución, permite su acoplamiento a técnicas de cromatografía líquida como HPLC (“cromatografía líquida de alta resolución”).



De esta forma se pueden analizar de forma automática mezclas complejas de péptidos con una muy alta sensibilidad programando el analizador para que fragmente “todas” las especies (“*Exclusión Dinámica*”) contenidas en la mezcla ó un número determinado de péptidos (“*Monitorización de iones aislados-SMIM*”) si disponemos de información adicional (previa) sobre su masa. Este último método se emplea principalmente para la caracterización de modificaciones postraduccionales.



## Bibliografía:

- Dole, M. et al. (1968) *J. Chem. Phys.* 49, 2240-2249
- Fenn, J.B. et al. “Electrospray ionization for mass spectrometry of large biomolecules » *Science* (1989), 246, 64-71
- Mann, M. and Wilm, M. “Electrospray mass spectrometry for protein characterization” *TIBS*, (1995), 20(6), 219-224
- Aebersold, R. and Mann, M. “Mass spectrometry-based proteomics”. *Nature* (2003), 422, 198-207
- Nguyen, S., Fenn, J.B. “Gas-phase ions of solute species from charged droplets of solutions”, *PNAS* (2007), 104(4):1111-7

- Emilio Gelpí. “Métodos y mecanismos de ionización”, *Manual de Proteómica*, 2014; 127-172.
- Scigelova, M., Bodas, B. and Schwartz, J. “Espectrómetro de masas de trampa iónica cuadrupolar”, *Manual de Proteómica*, 2014; 313-328
- Scigelova, M., Bodas, B. and Makarov, A. “FTMS Espectrometría de masas por transformada de Fourier”, *Manual de Proteómica*, 2014; 289-311
- Martínez-Acedo, P., García-Marqués, F.J., Núñez, E. and Vázquez, J. “Mecanismos de fragmentación de iones peptídicos mediante disociación inducida por colisión (CID)”, *Manual de Proteómica*, 2014; 395-407