

Source à Désorption Laser (assistée par matrice) pour Jets Moléculaires de Peptides Neutres :

Applications aux Mesures de Dipôle Électrique



Rodolphe Antoine
Laboratoire de Spectrométrie Ionique et Moléculaire
UMR 5579 CNRS et Université Lyon I



Journée VAPOMOLEC
Vaporisation et Caractérisation d'Édifices Moléculaires Complexes
14 juin 2007, SOLEIL, Saint Aubin

Dipôle Electrique, Biomolécules et Agrégats

*...Structure et Dynamique
de Systèmes Complexes...*

Deux Thématiques

Agrégats en phase gazeuse

Biomolécules en phase gazeuse

Trois Expériences

Mesures de dipôle électrique

Photodissociation (et fluorescence)
sur des molécules piégées

Mobilité ionique

NEUTRES

IONS

Dipôle Electrique, Biomolécules et Agrégats

*...Structure et Dynamique
de Systèmes Complexes...*

Deux Thématiques

Agrégats en phase gazeuse

Biomolécules en phase gazeuse

Trois Expériences

Mesures de dipôle électrique

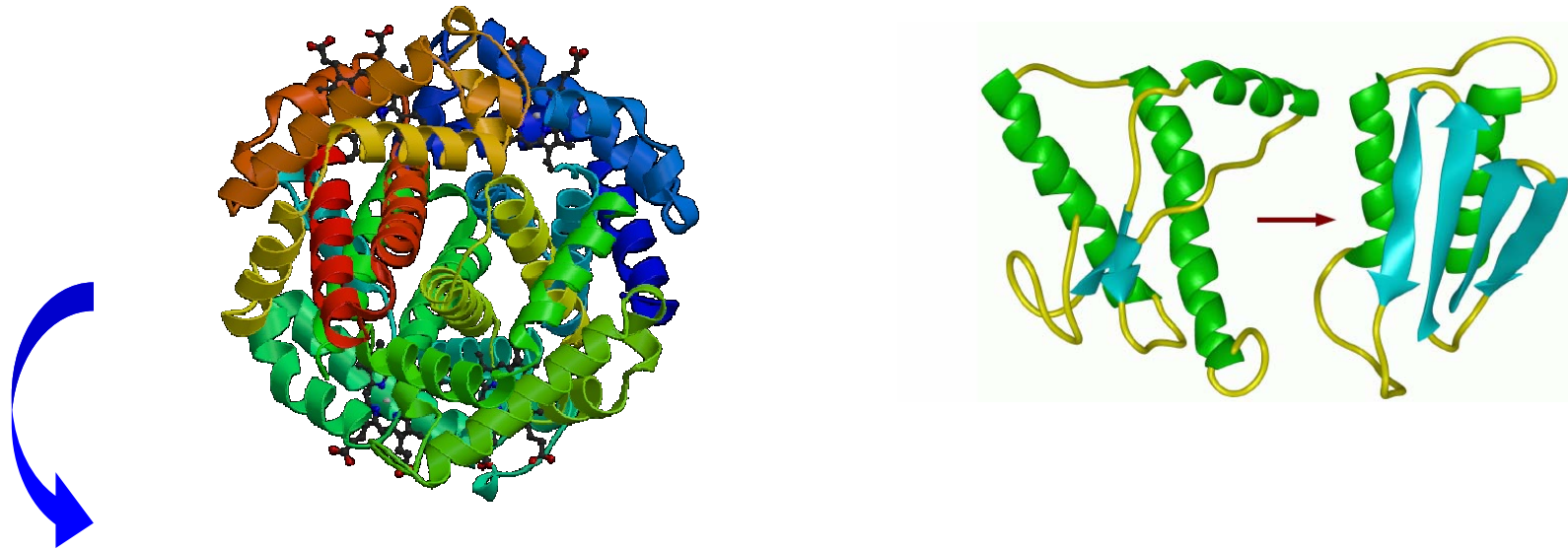
Photodissociation (et fluorescence)
sur des molécules piégées

Mobilité ionique

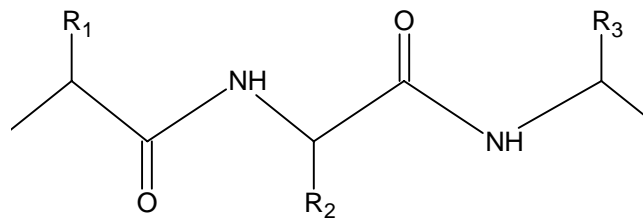
NEUTRES

IONS

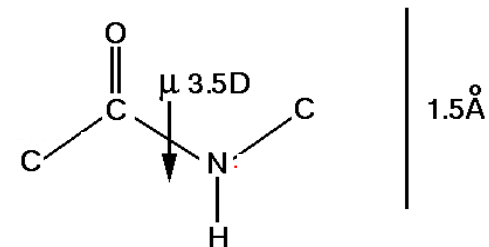
Structure et Thermodynamique de Peptides en Phase Gazeuse



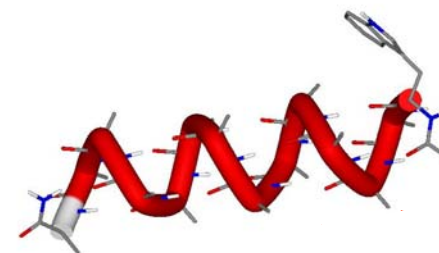
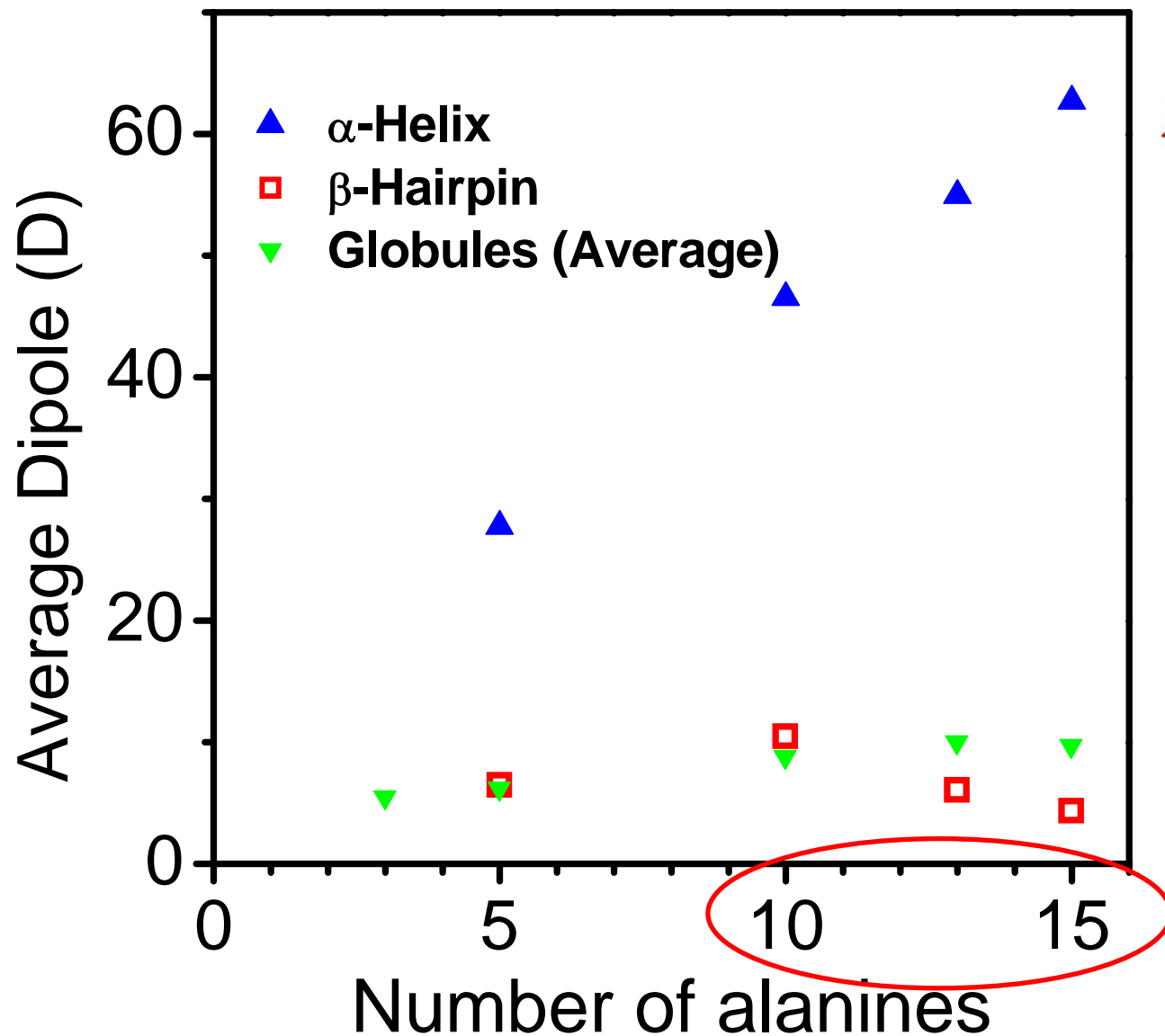
Facteurs intrinsèques qui gouvernent la conformation des protéines



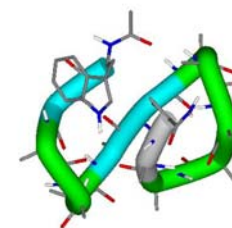
Observable : DIPOLE ELECTRIQUE



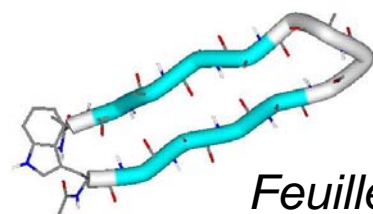
Dipôle électrique de polypeptides isolées



Hélice α

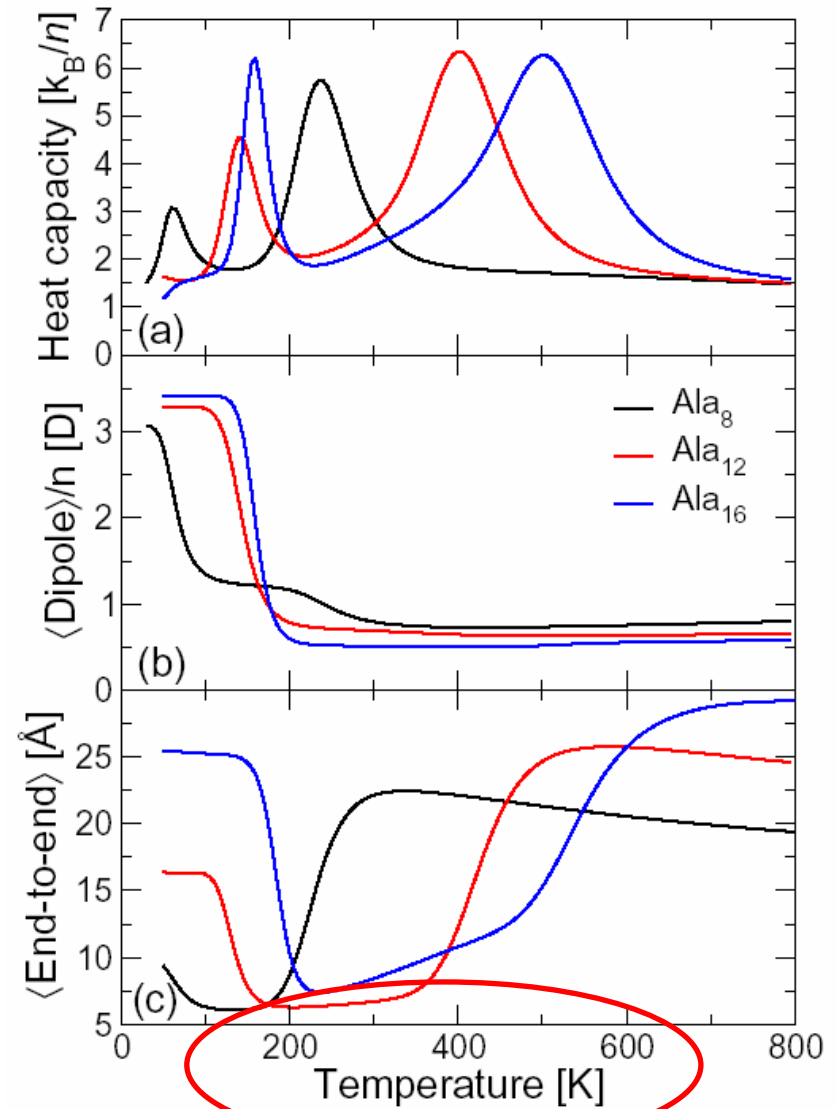
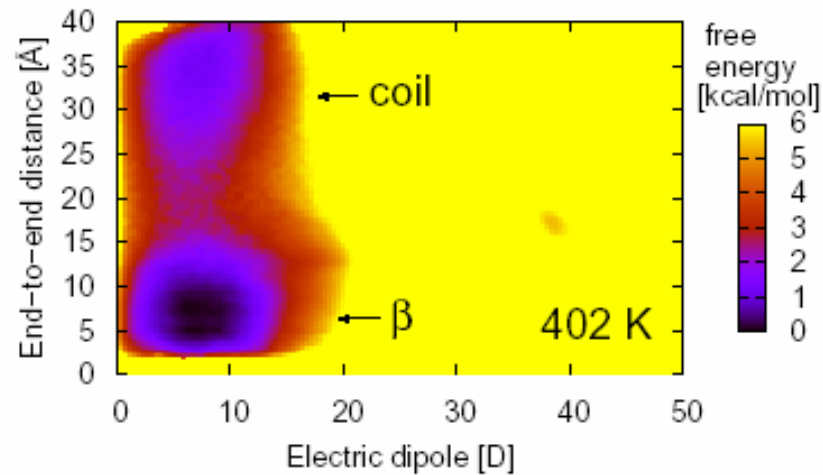
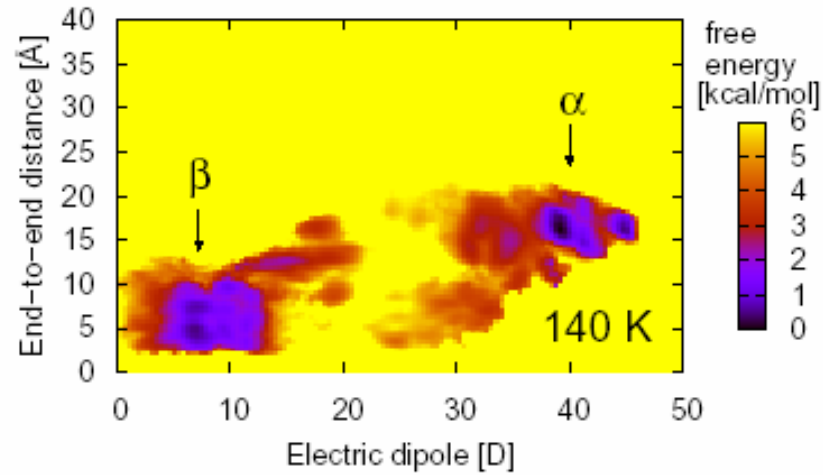


Pelote aléatoire



Feuillet β

Dipôle électrique, thermodynamique et transitions de structures



Free energy maps as a function of the electric dipole and end-to-end distance for the peptide Ala₁₂

« le cahier des charges »

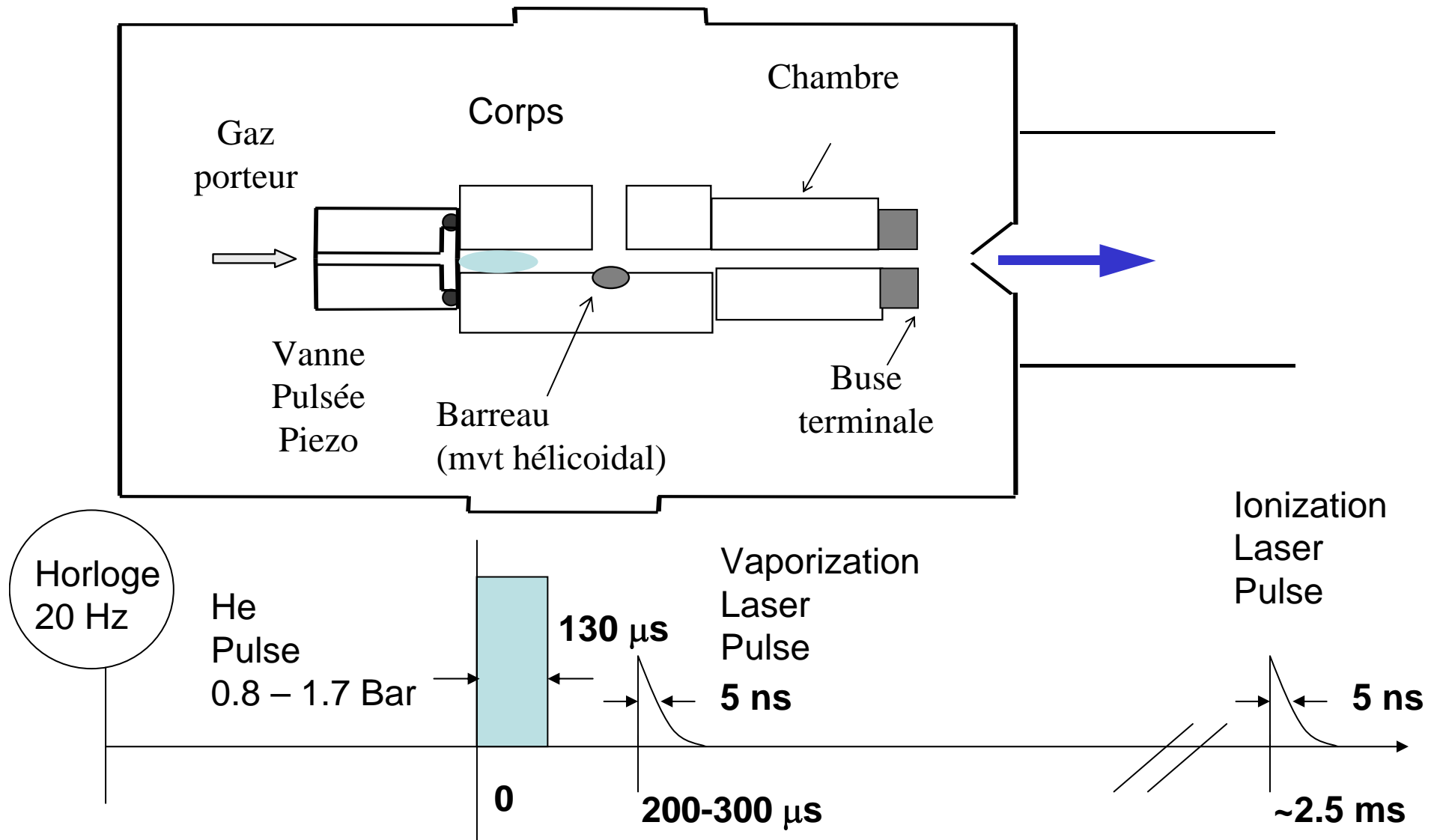
- PRODUCTION DE JETS DE MOLÉCULES NEUTRES
(de toute nature...) → Polypeptides (2-20 amino-acides)
- JET THERMALISÉ ET CONTRÔLÉ EN TEMPÉRATURE
→ $77\text{ K} < T < 600\text{ K}$
- BONNE SENSIBILITÉ
(vers des applications analytiques) → sub mg...



Source à Désorption Laser

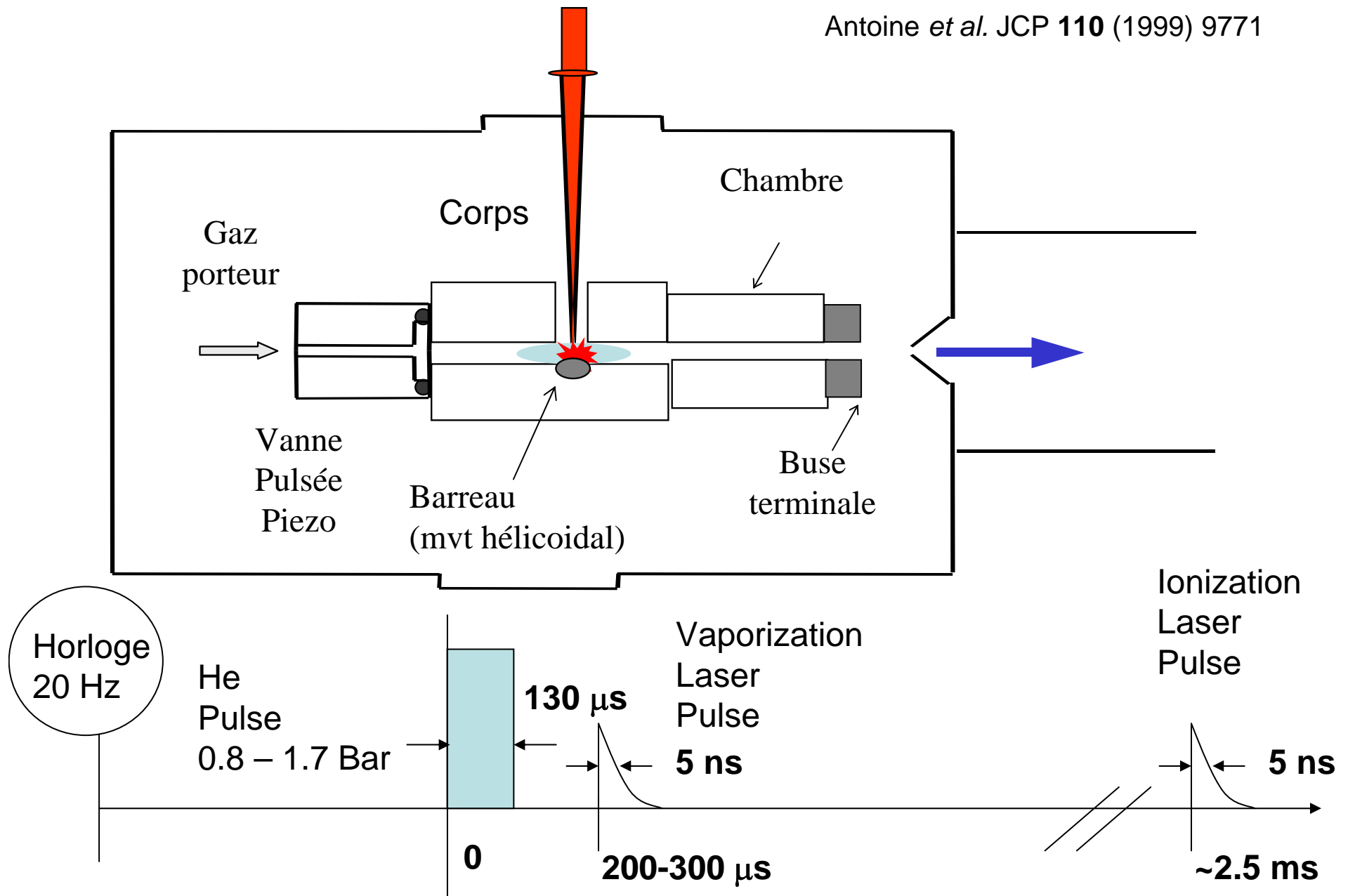
Source à désorption laser : Impulsions laser et gaz porteur

Antoine *et al.* JCP **110** (1999) 9771



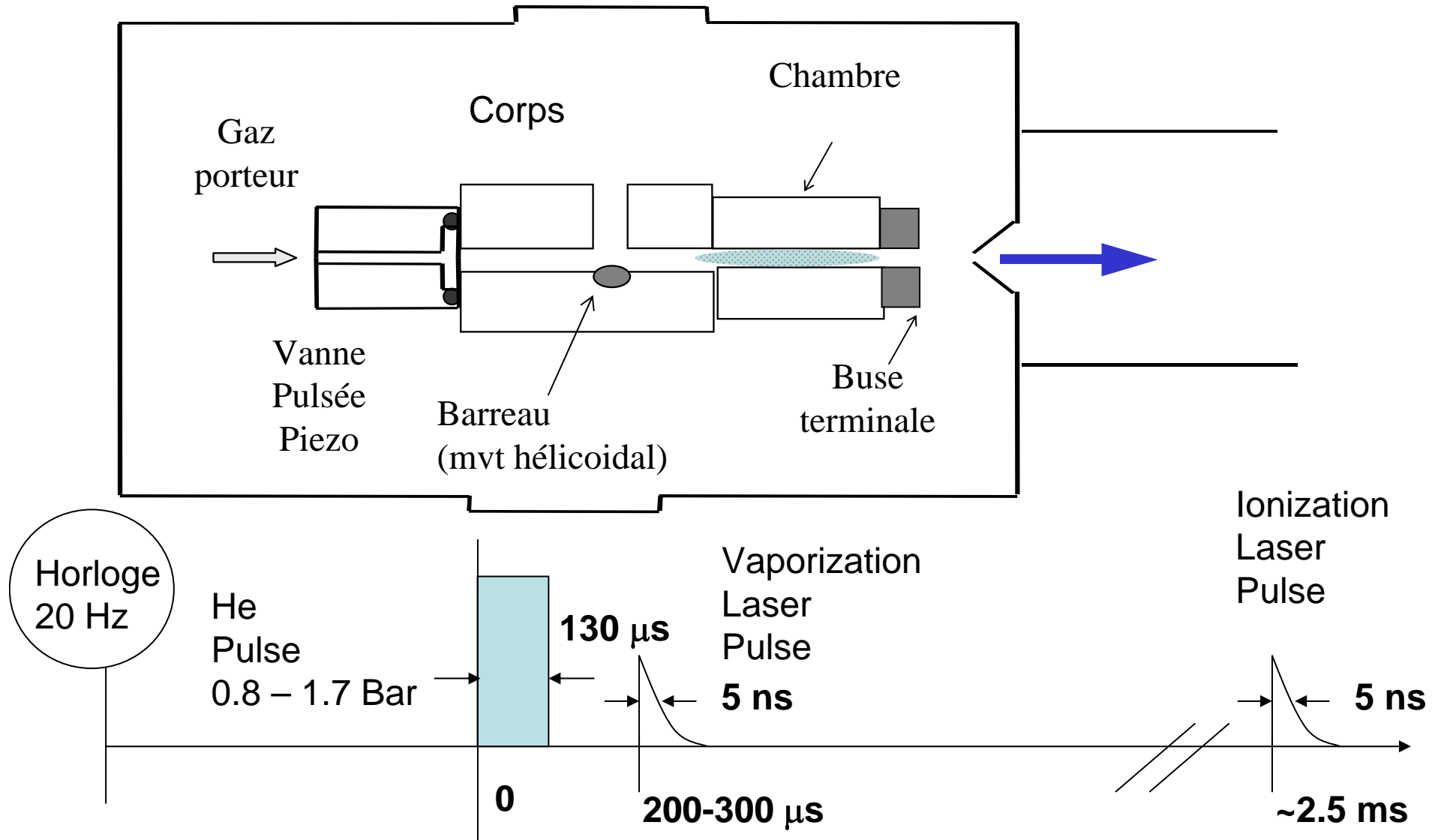
Source à désorption laser : Impulsions laser et gaz porteur

Antoine *et al.* JCP **110** (1999) 9771

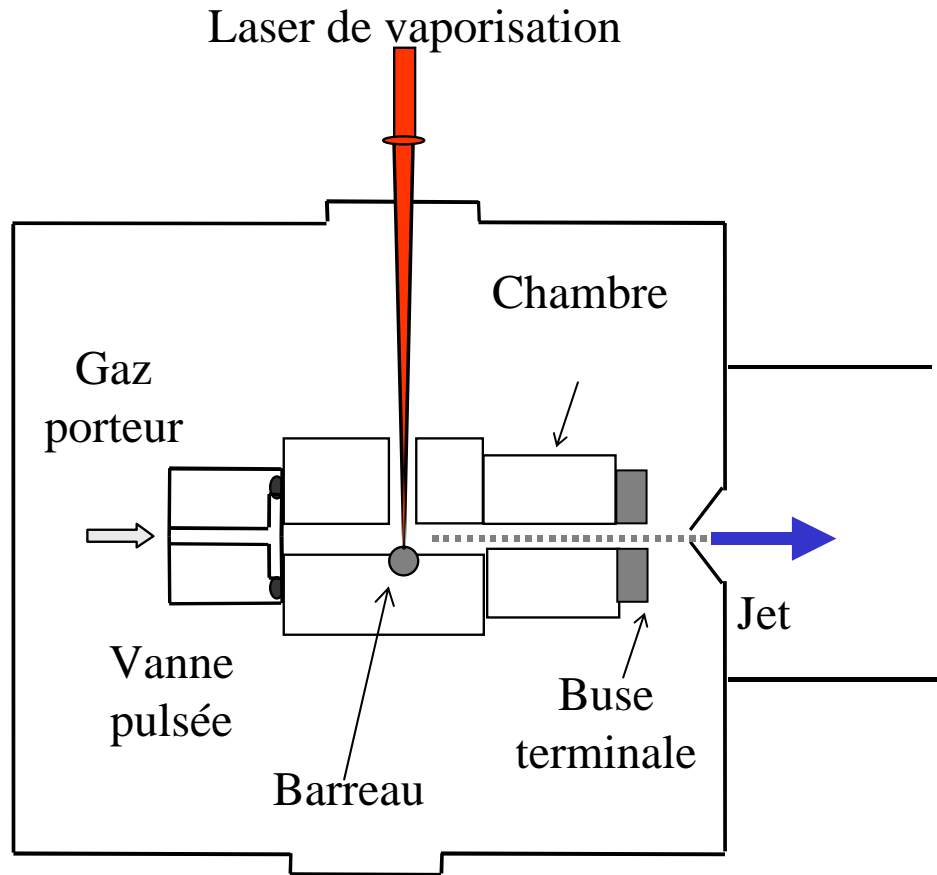


Source à désorption laser : Impulsions laser et gaz porteur

Antoine *et al.* JCP **110** (1999) 9771



Source à désorption laser : thermalisation

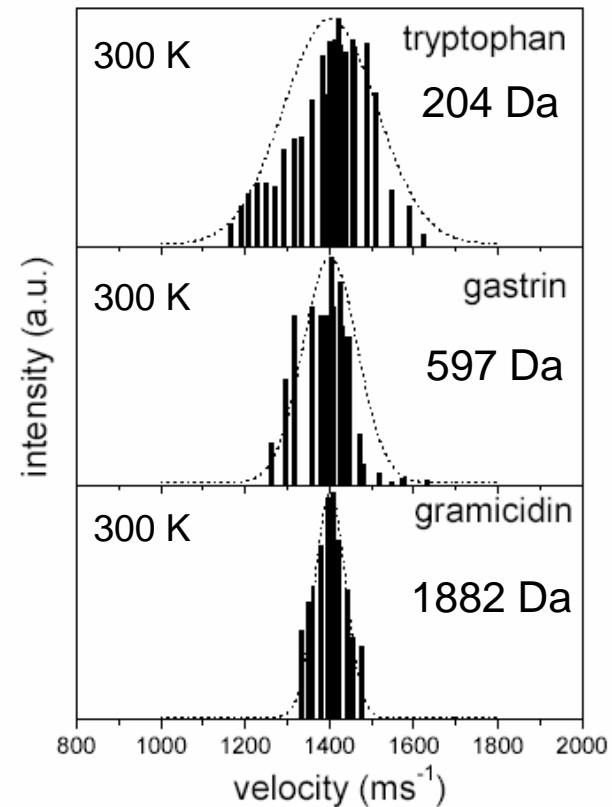


Source pressure ~ few Torr
 \Rightarrow ~20 000 collisions in the chamber
 (decapeptide) $T_{rot} \sim T_{vib} \sim T_{nozzle}$

CHAMBRE DE THERMALISATION

50 mm long and 3 mm int. diam.

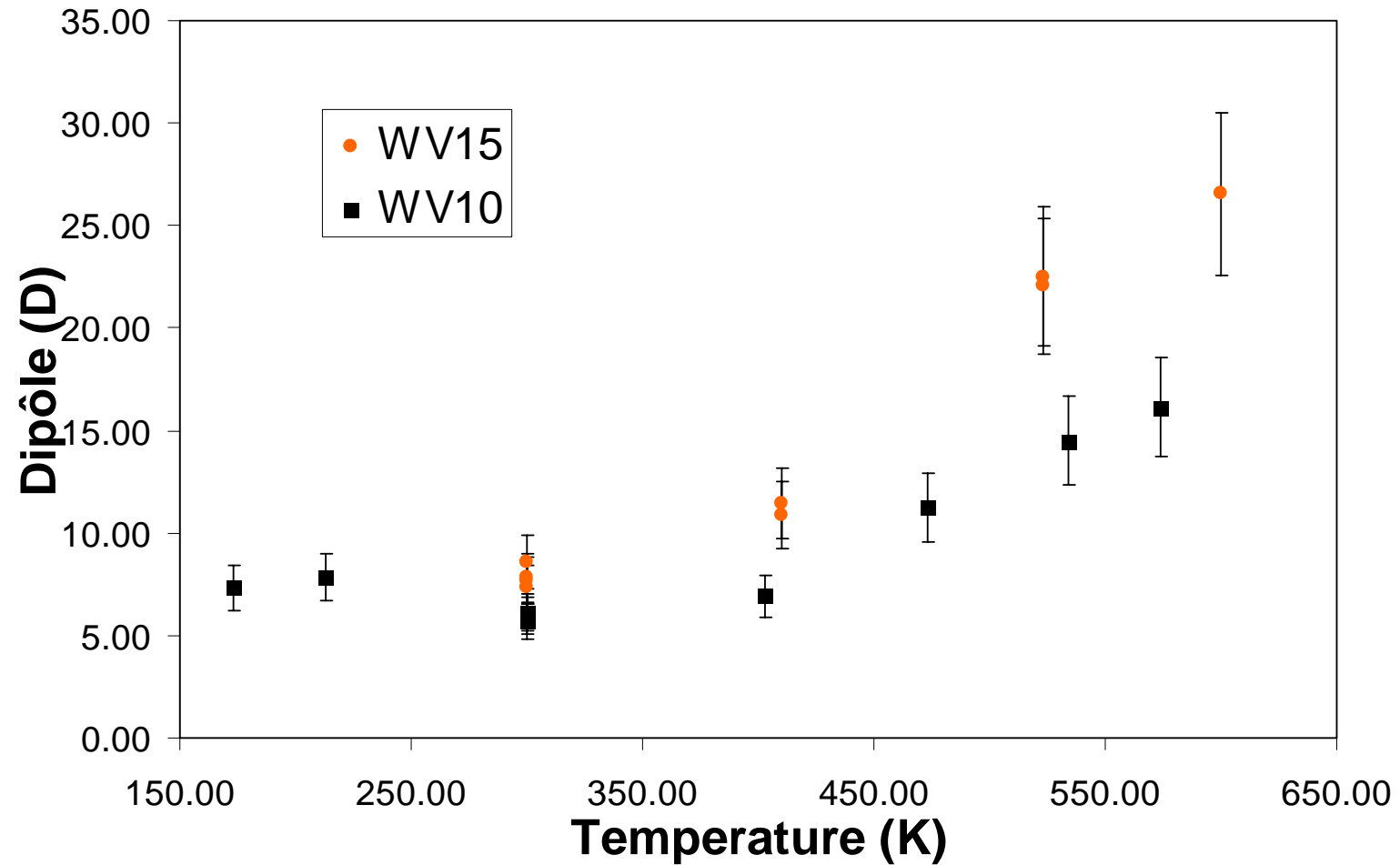
$$77 \text{ K} < T_{nozzle} < 600 \text{ K}$$



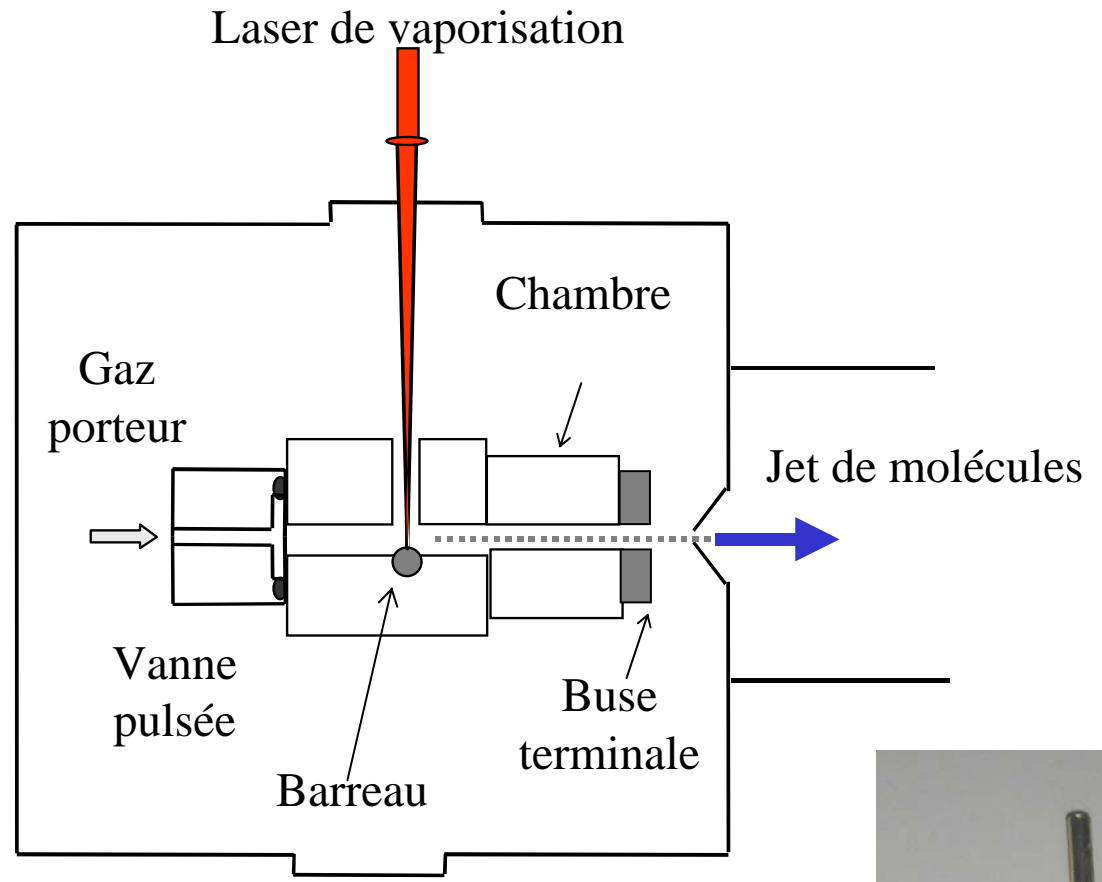
Maxwell Distribution

$$f(\mathbf{v}) \propto \exp\left(-\frac{M(\mathbf{v} - \bar{\mathbf{v}}_0)^2}{2k_b T}\right)$$

Dipôle électrique & thermodynamique de polypeptides



Source à désorption laser : préparation des échantillons



Matrices (I) : généralités

- **Agent de dilution !**

barreau ~300 mg

peptides : 100 μg à qqes mg

- **Agent anti-agrégation**

limitation multimères non-covalents

- **Agent de désorption ?**

~~TRANSFERT DE CHARGE~~

Absorption préférentielle du laser par la matrice ?

- **Agent de rigidité et dureté du barreau**

=> cellulose

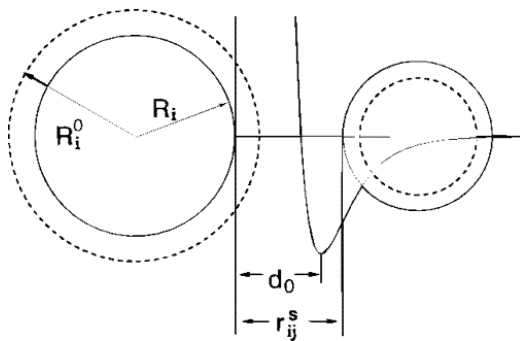
Désorption Laser : Computer Simulations

L.V. Zighilei & B.J. Garrison

Modélisation : Dynamique moléculaire Approche « gros grain »

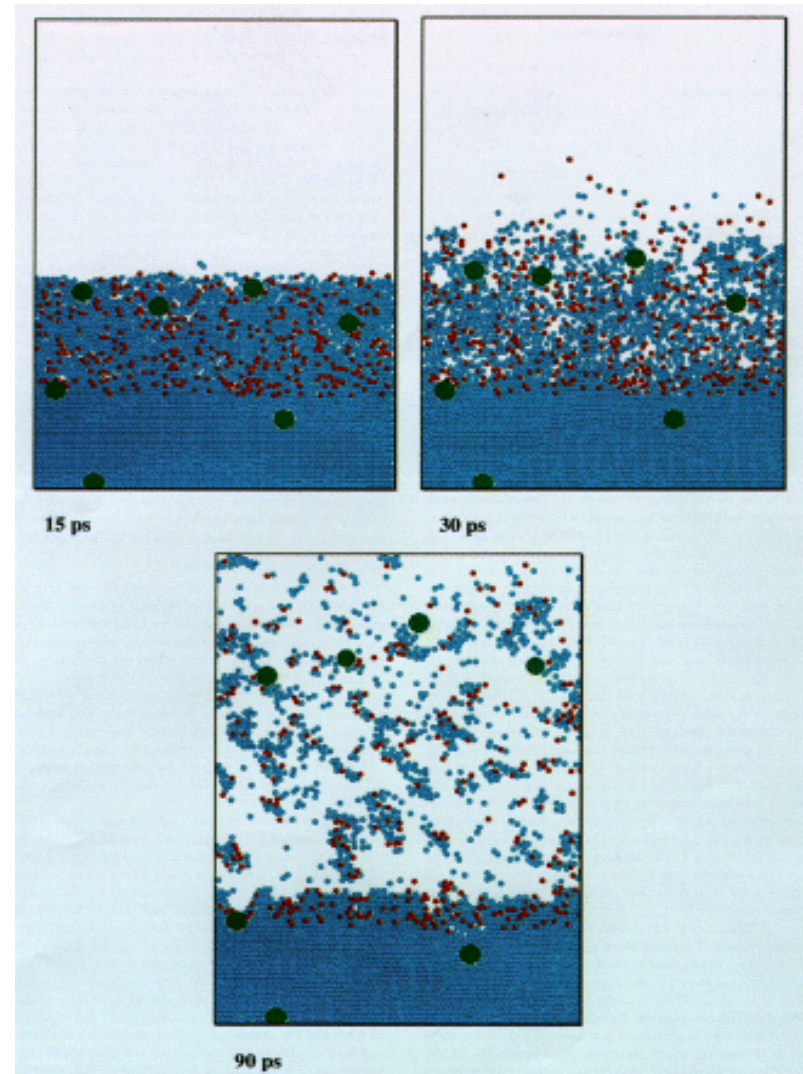
Chaque molécule = grain

- potentiel d'interaction inter-grain
- Mode interne de « respiration » anharmonique (modification de la taille du grain suite à l'excitation laser)



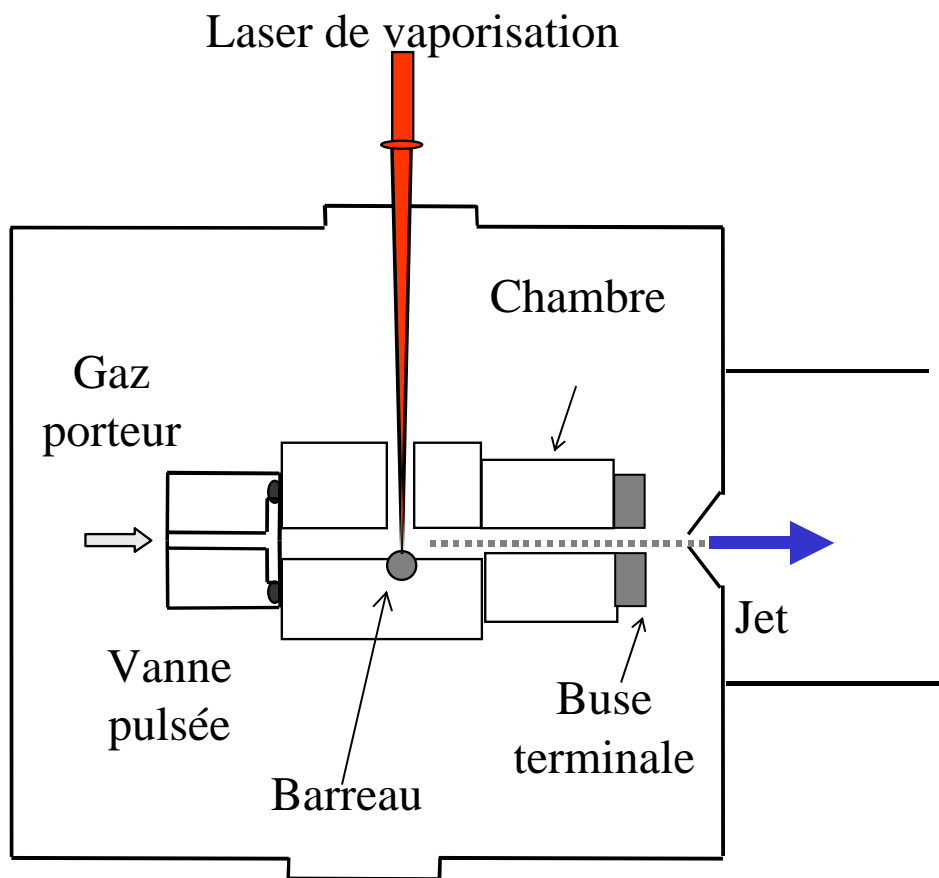
ABLATION vs DESORPTION

JPCB **102** (1998) 2845
Chem. Rev. **103** (2003) 321



Analyte molecules (2000 Da) in nicotinic acid matrix
under UV 337 nm laser irradiation
ABLATION REGIME

Source à désorption laser : conditions laser



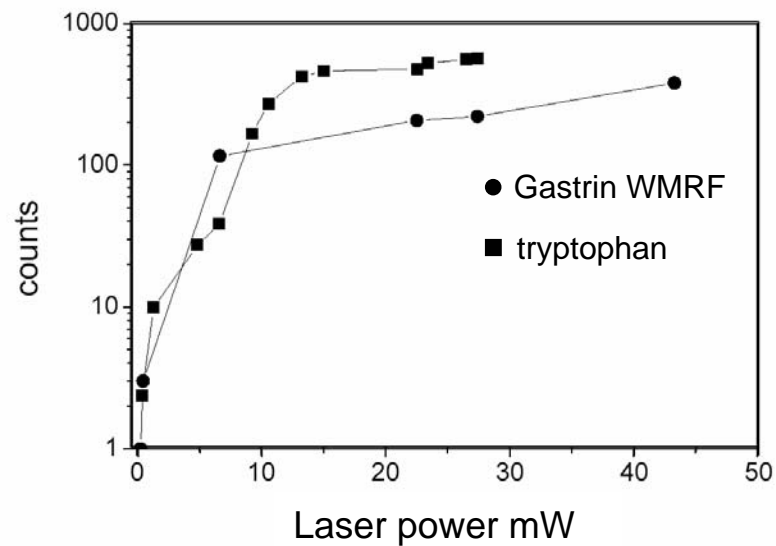
VAPO : $\lambda = 355 \text{ nm}$

OPTIMAL WAVELENGTH

~ 10 - 30 mW

Focalization $\phi \sim 1 \text{ mm}$

(But also 308 nm and 532 nm)

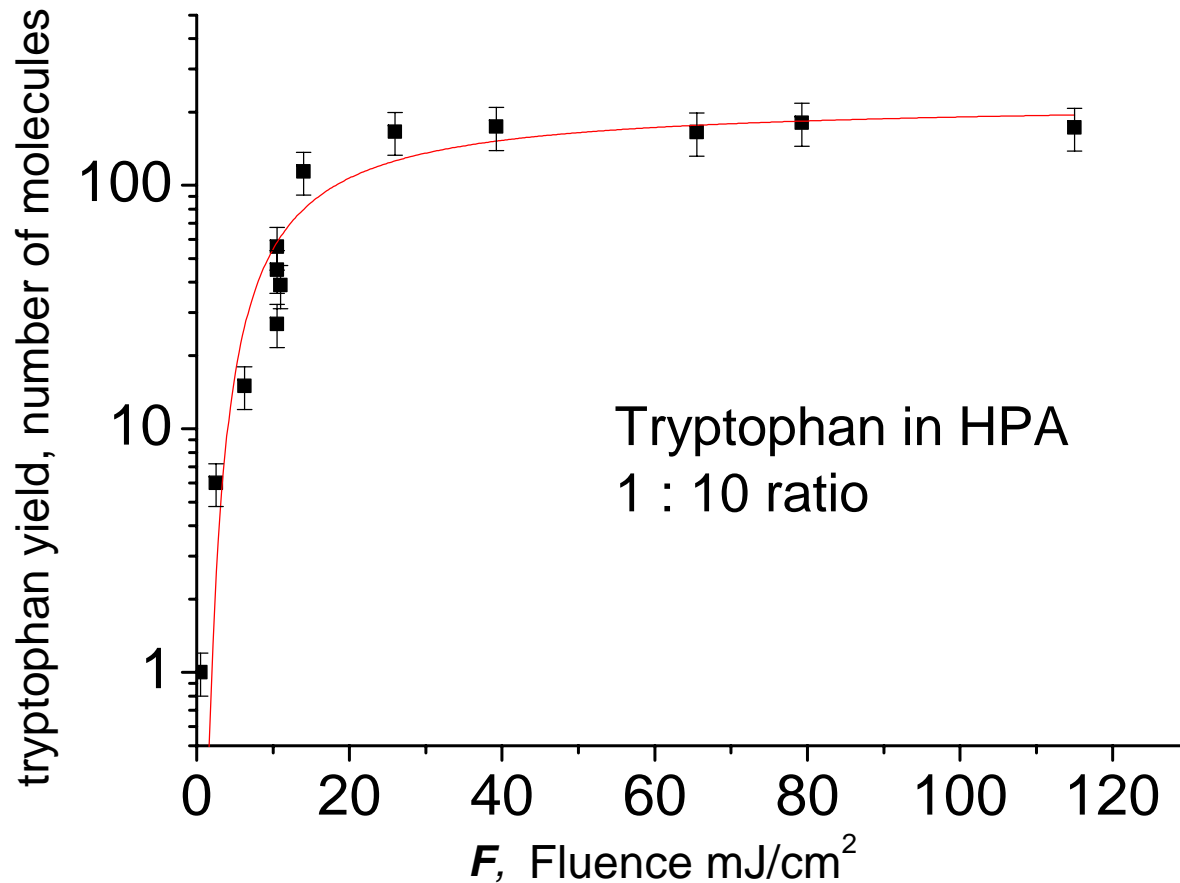


Désorption Laser : Régime de désorption

Dépendance en fluence laser de type Arrhenius

T_0 température initiale ; $E_s = 0.46$ eV énergie de sublimation

$$N = A \exp\left(-\frac{E_s^*}{k_b(T_0 + BF)}\right)$$



HPA : 3-Hydroxy-Pyrolinic Acid

B facteur

**conversion d'énergie déposée
en température**

Nos résultats expérimentaux

$B = 35 \text{ Km}^2\text{J}^{-1}$

Résultats MALDI

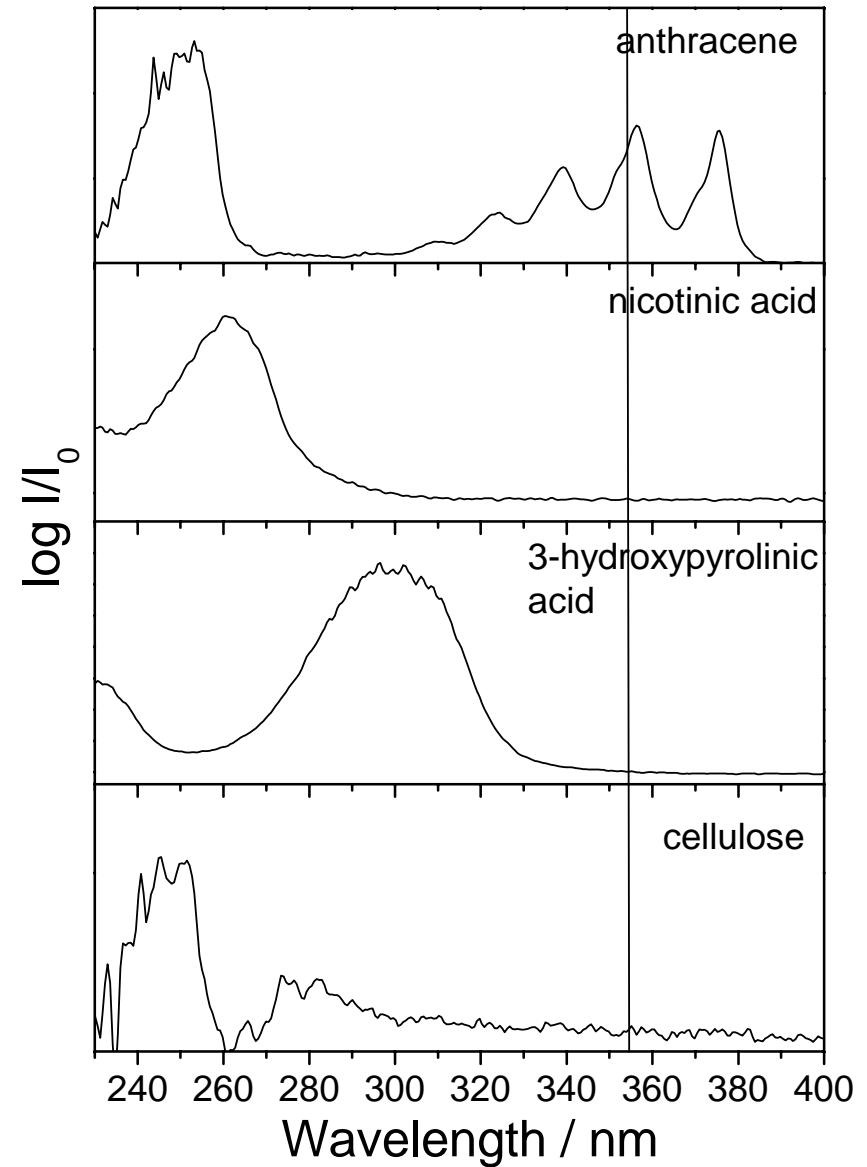
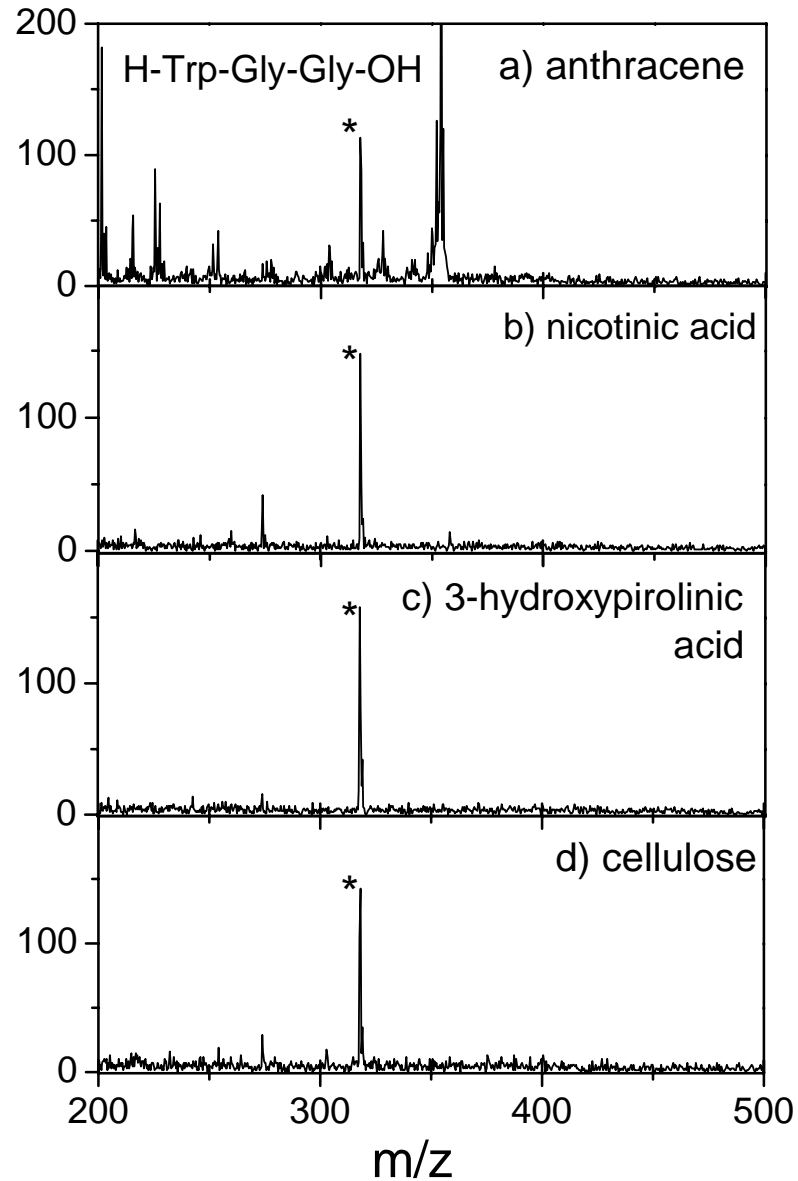
$B = 17.4 \text{ Km}^2\text{J}^{-1}$

(Karas, Hillenkamp et al.
IJMS 141 (1995) 127)

Simulations Zhigilei
(matrice similaire)

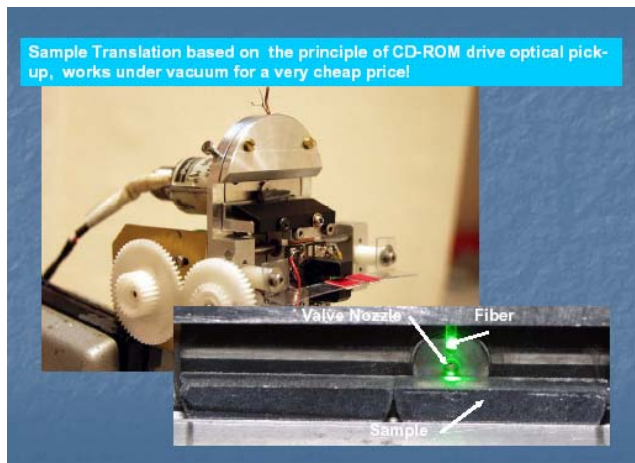
$B = 49 \text{ Km}^2\text{J}^{-1}$

Matrices (II) : propriétés d'absorption



Désorption Laser : Autres Concepts (en France)

Désorption laser interfacée par fibre : François Piuzzi (I. Dimicoli I, M. Mons et al.)
CEA Saclay



Echantillon solide : peptides – graphite
85 % peptide : 15 % graphite (masse:masse)

Conditions de détente supersonique
« Peptides gelés »

Piuzzi *et al.* CPL **320** (2000) 282

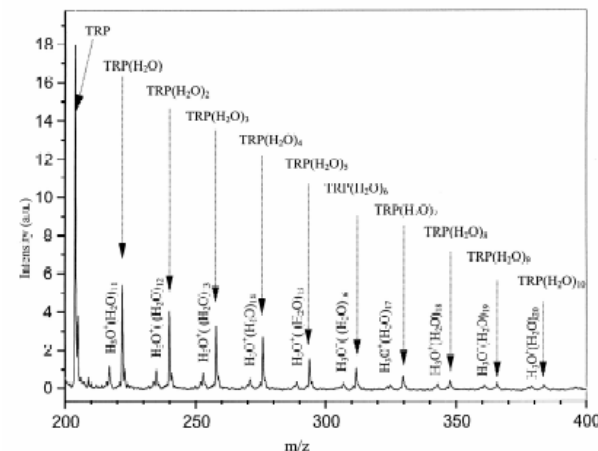
Désorption laser IR sur matrice de glace : Christian FOCSA (J.L. Destombes et al.)
PhLAM, Lille

Laser 3.1 μm

Matrice gelée (90 K)

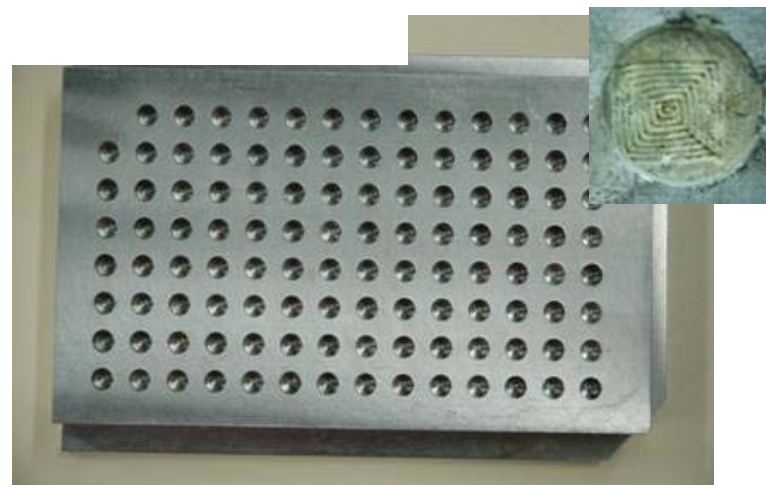
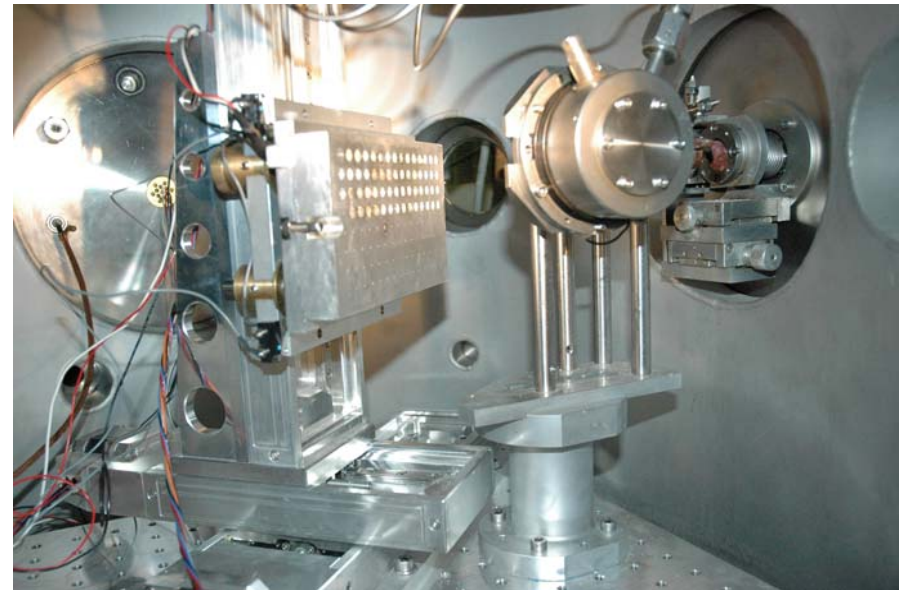
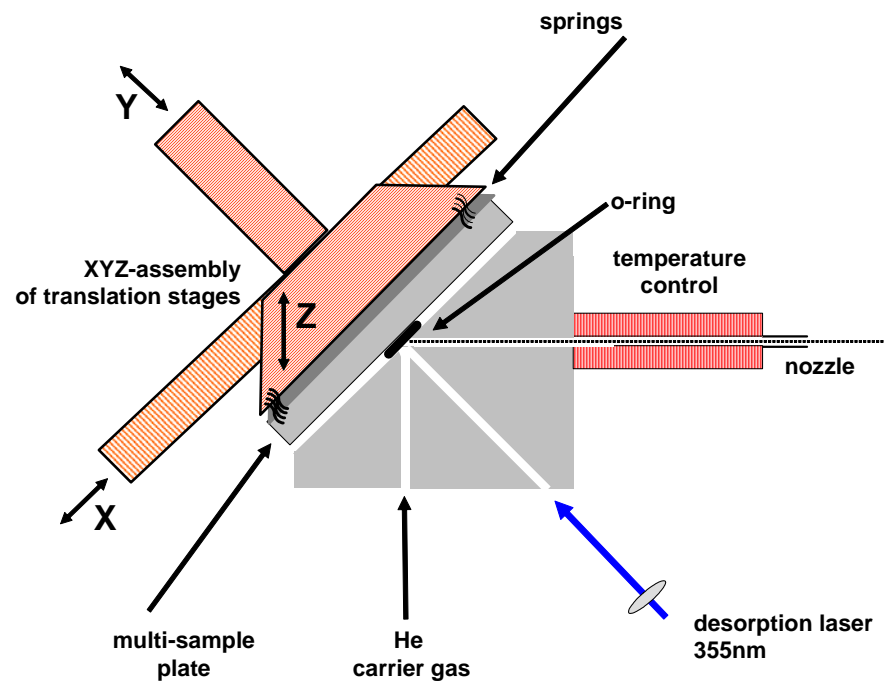
Eau-formaldéhyde mixture

Ziskind *et al.* Appl. Phys. A **79** (2004) 991



Source à désorption laser :

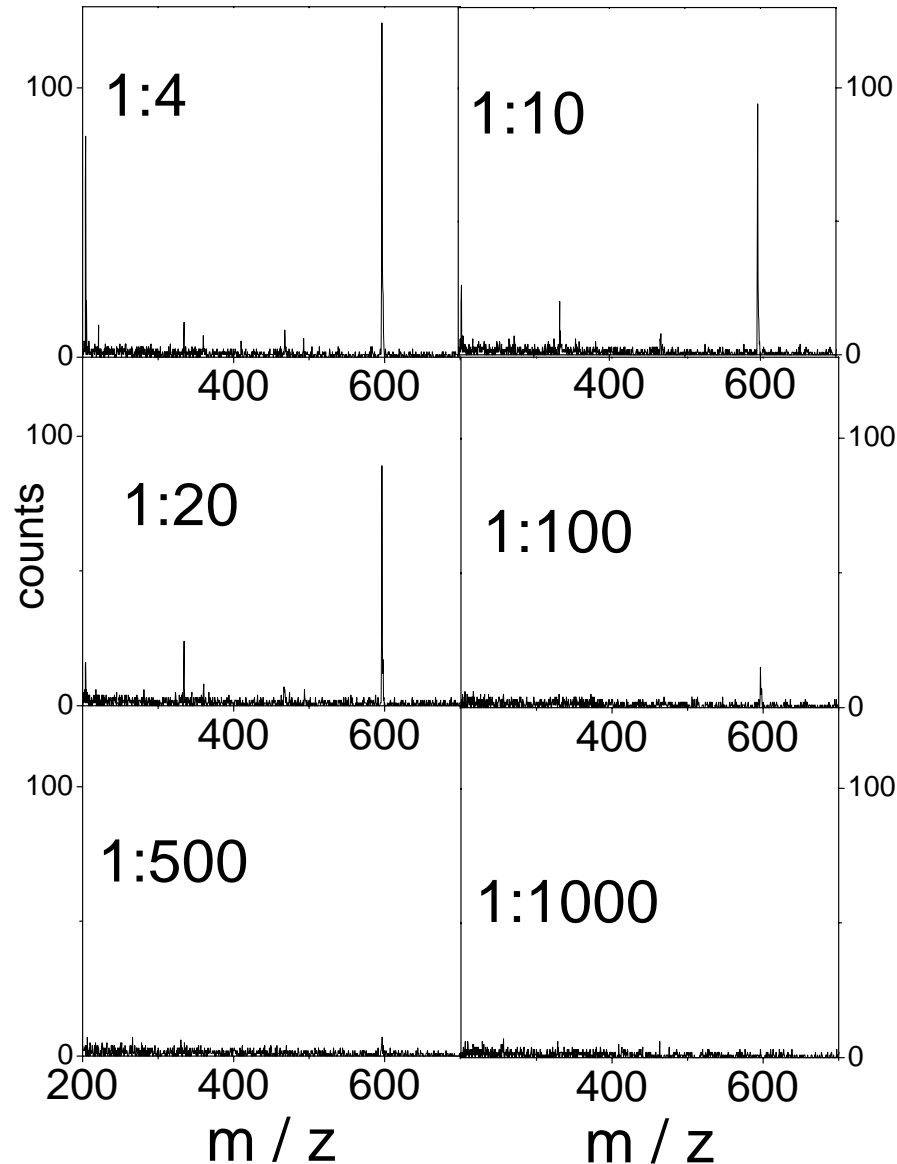
Et la sensibilité ?



Multi-sample Matrix-Assisted Laser Desorption Source for Peptide Molecular Beams

C. Lupulescu, M. Abd El Rahim, R. Antoine, M. Barbaire, M. Broyer, X. Dagany, J. Maurelli, D. Rayane, and Ph. Dugourd
 Review of Scientific Instruments. **77** (2006) 125102.

Matrices (III) : sensibilité



Gastrin tetra-peptide

H-Trp-Met-Asp-Phe-OH
(MW=596.7 Da)

In 3-hydroxyprolinic acid (HPA)

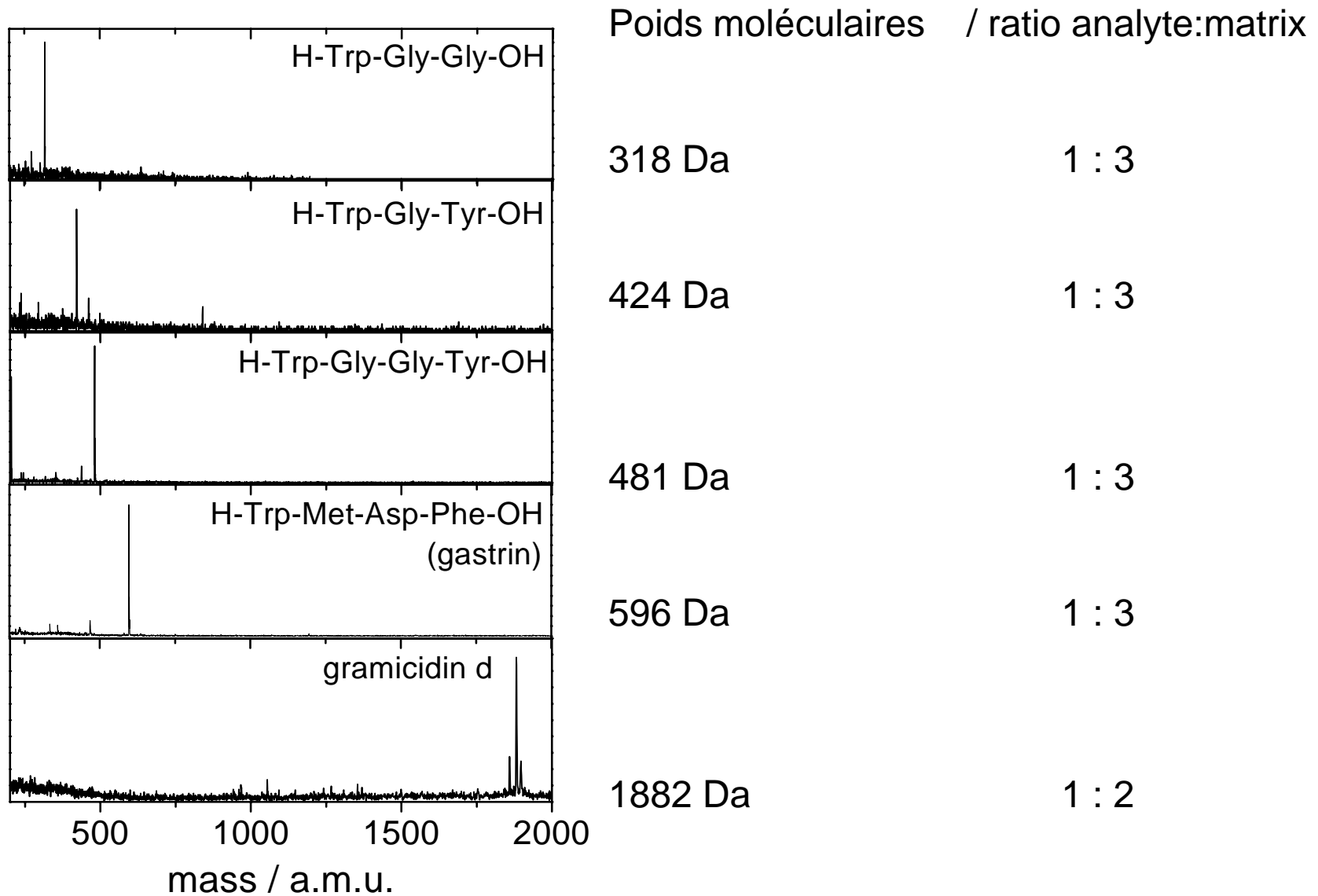
Ratio

1 peptide mass : n matrix mass

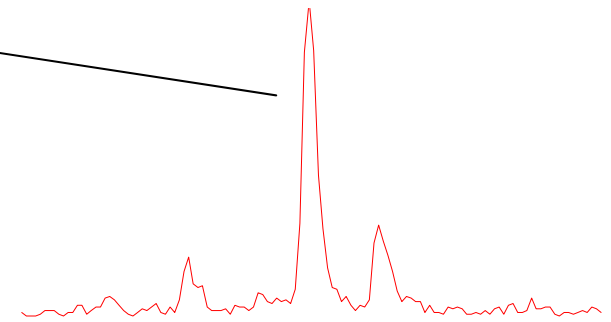
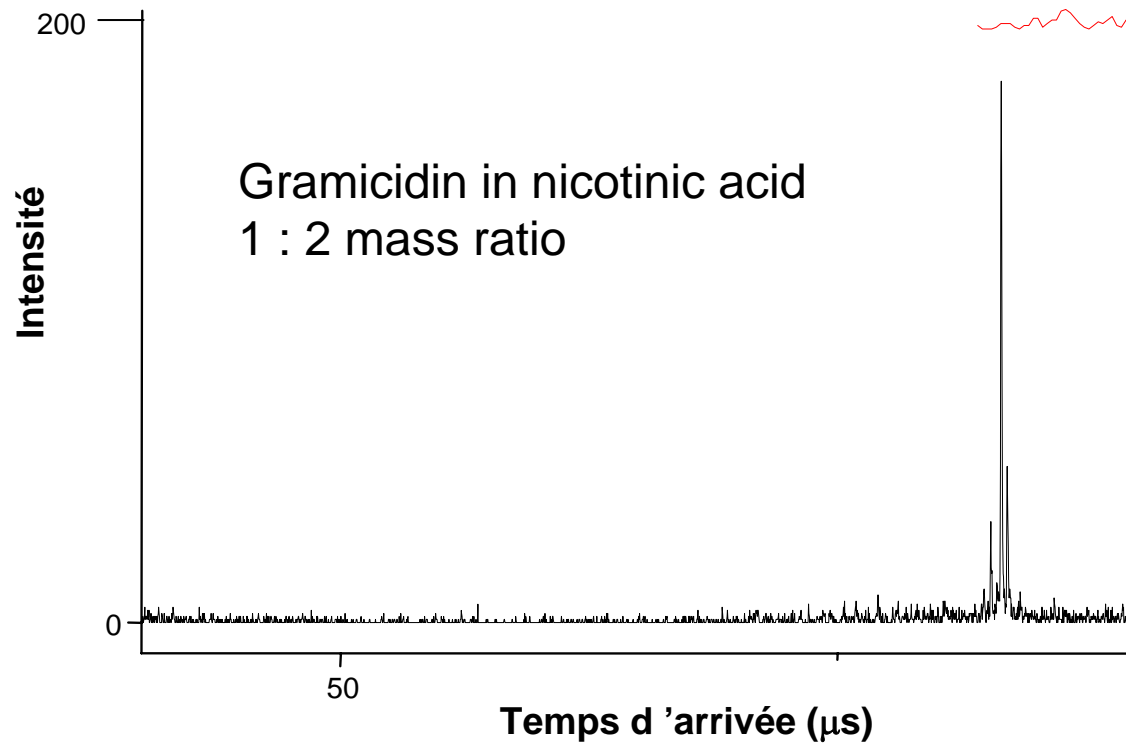
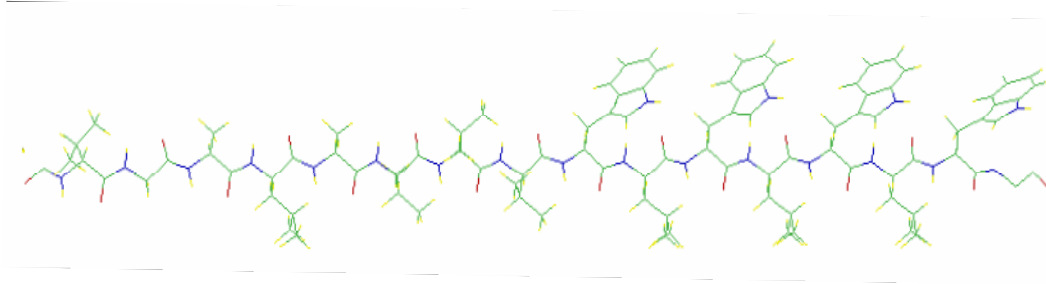
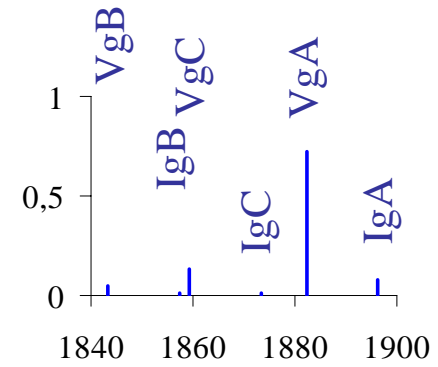
Limite de sensibilité

~ 50 μ g (peptides)

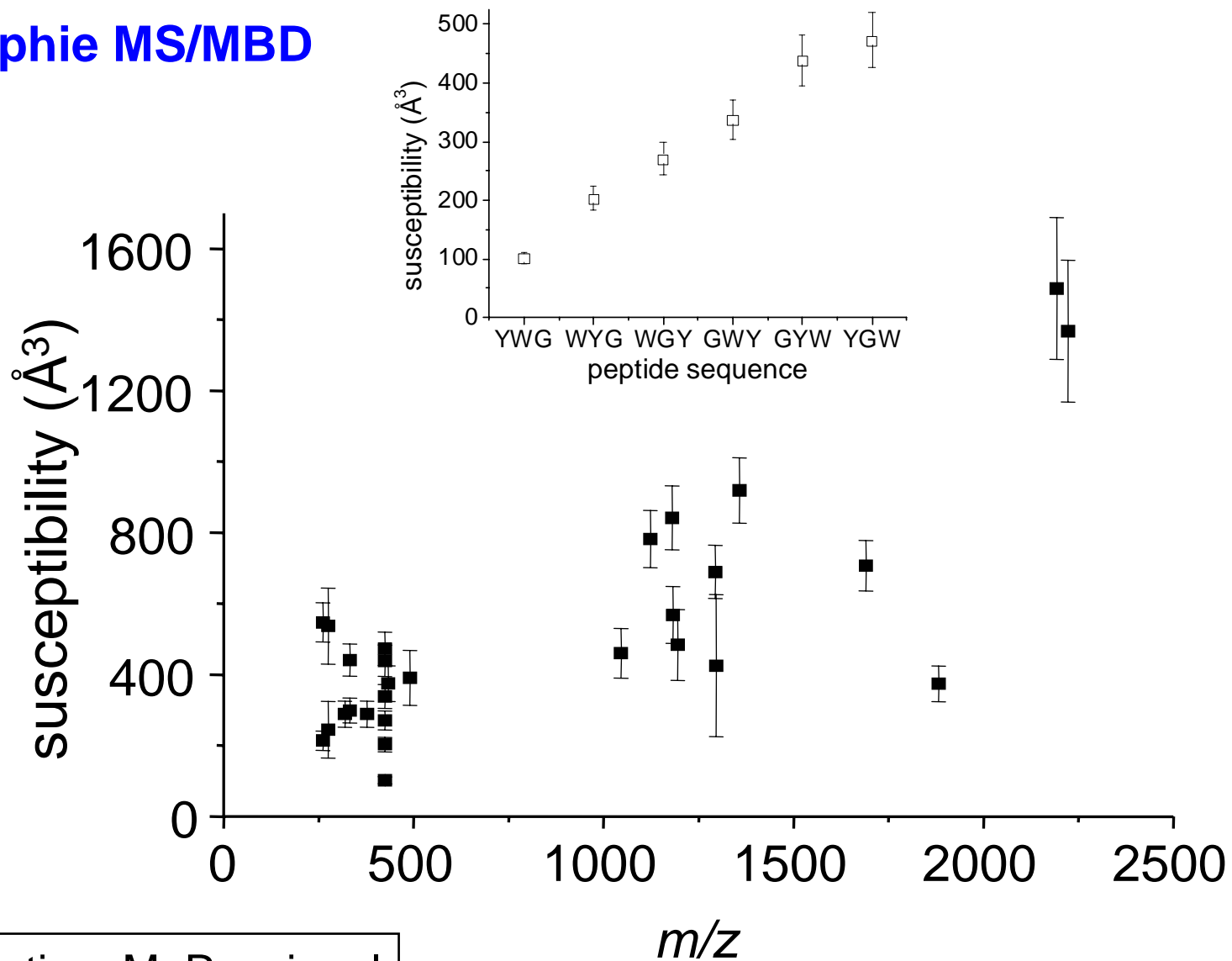
Matrices (IV) : gamme de masse explorée



Gramicidin D : pentadecapeptide



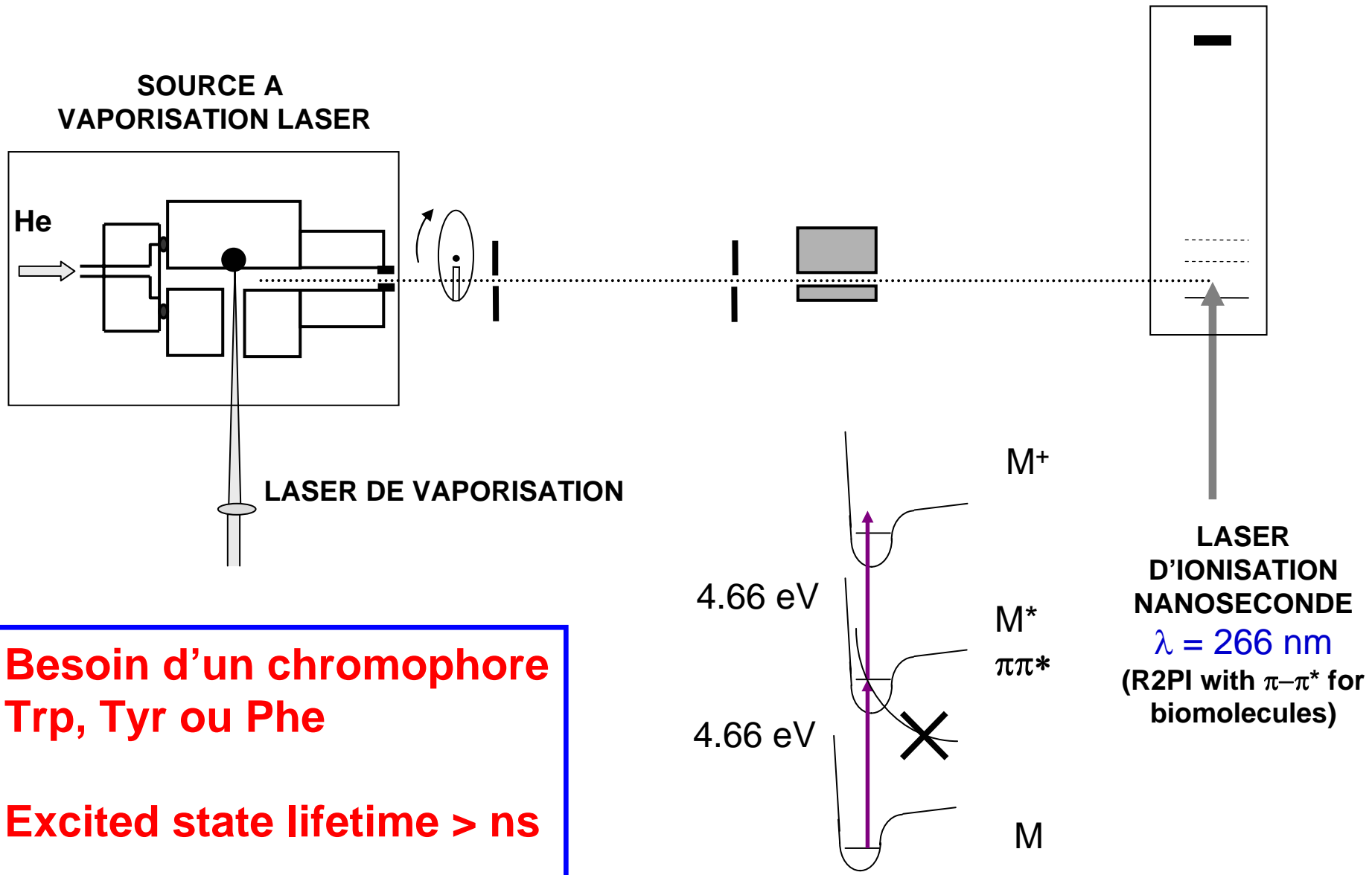
Cartographie MS/MBD



Collaboration: M. Rossignol
INRA Montpellier

Antoine *et al.* Anal. Chem. **75** (2003) 5512

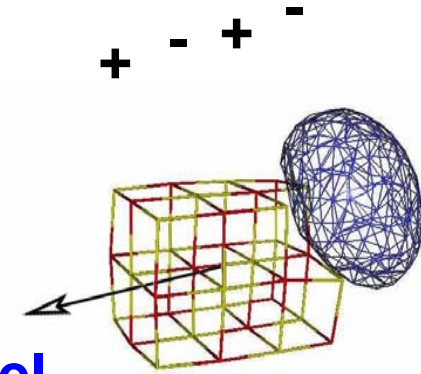
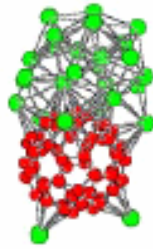
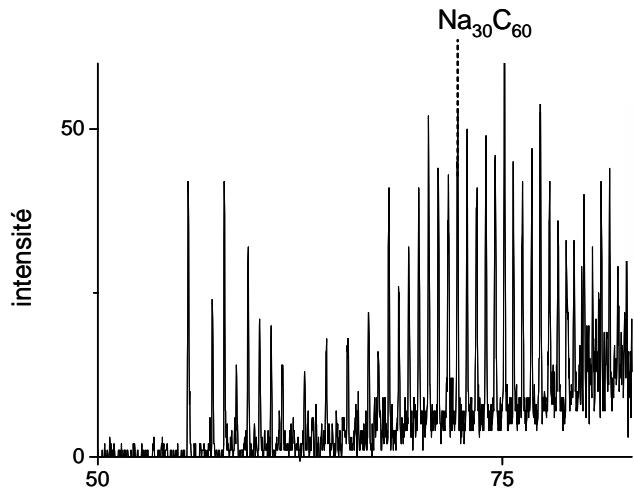
Détection (I) : Ionisation



**Besoin d'un chromophore
Trp, Tyr ou Phe**

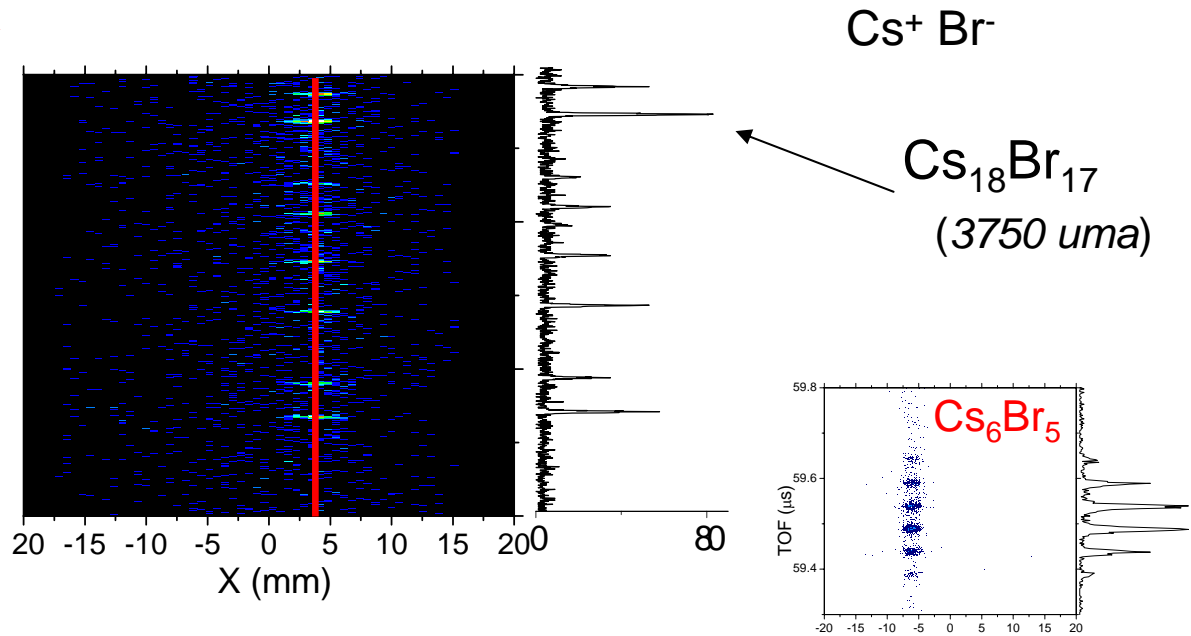
Excited state lifetime > ns

IP < 9.32 eV

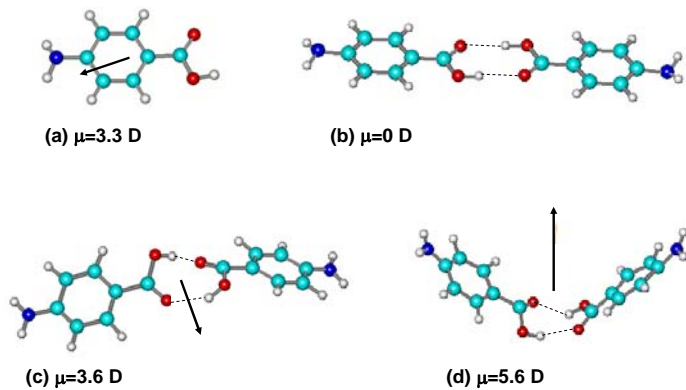


Nanocristaux de sel

Mixtes fullerenes-metal



Complexes non-covalents



**RÉSOLUTION : masse ~ 3000
position < 100 μm**

Dipôle Electrique, Biomolécules et Agrégats : Expérience MBD



R. Antoine



M. Broyer



Ph. Dugourd
Responsable d'équipe



D. Rayane



I. Compagnon
(Thèse 2000-2003
MCF 09/2005)



M. Abd El Rahim
(Thèse 2002-2005)



C. Lupulescu
(Post Doc 2005-)

Soutien technique



L. Arnaud



M. Barbaire



C. Clavier

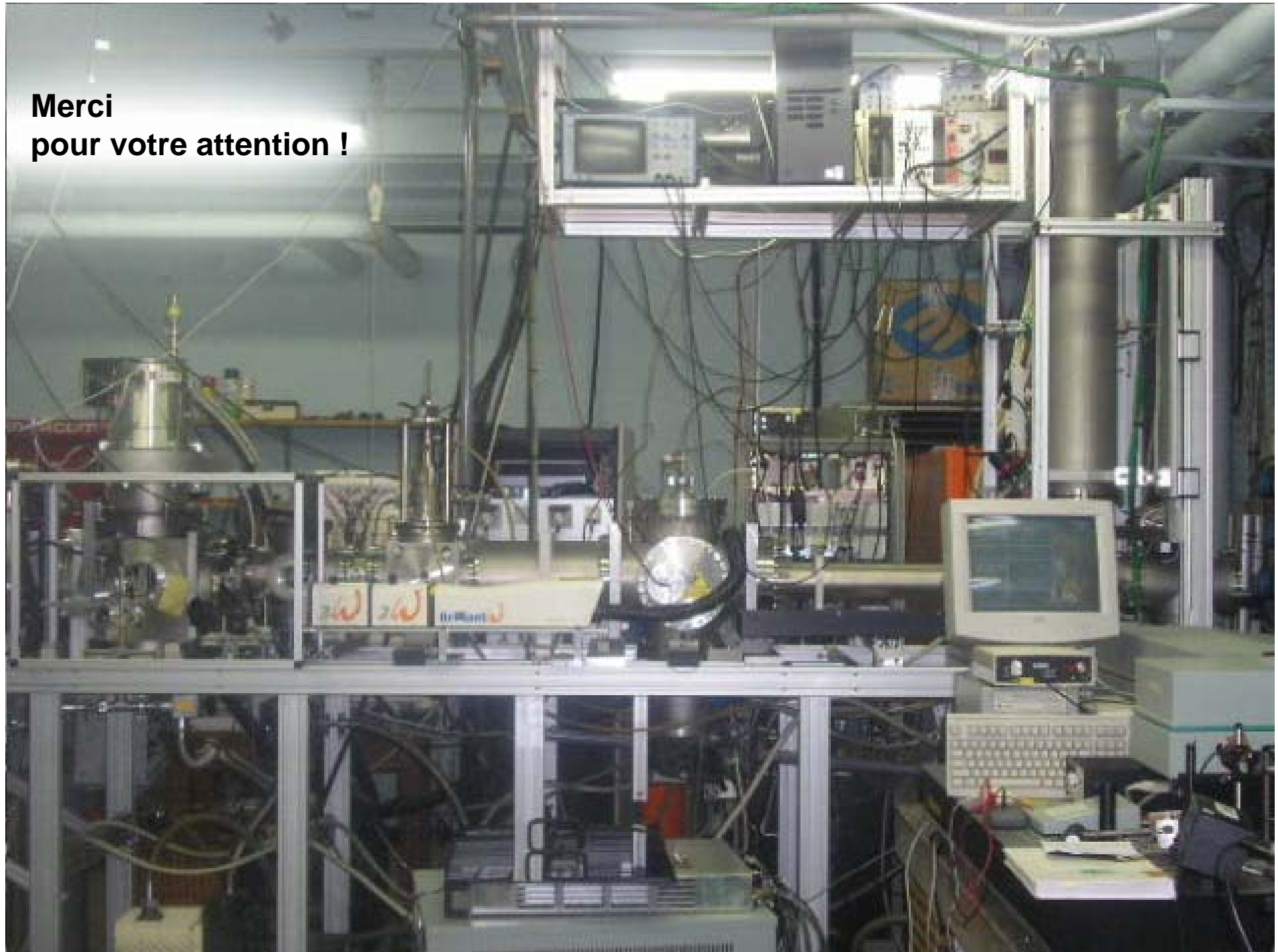


X. Dagany

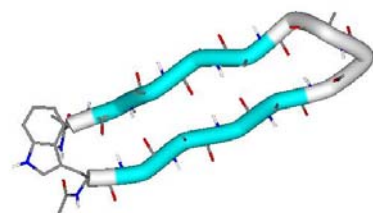
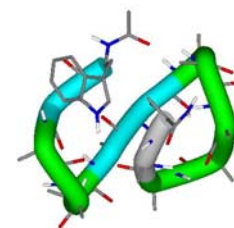
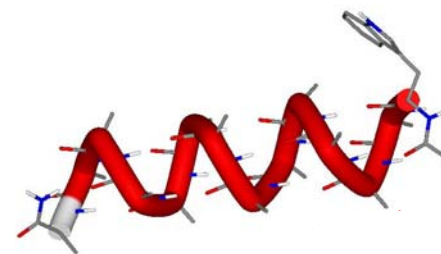
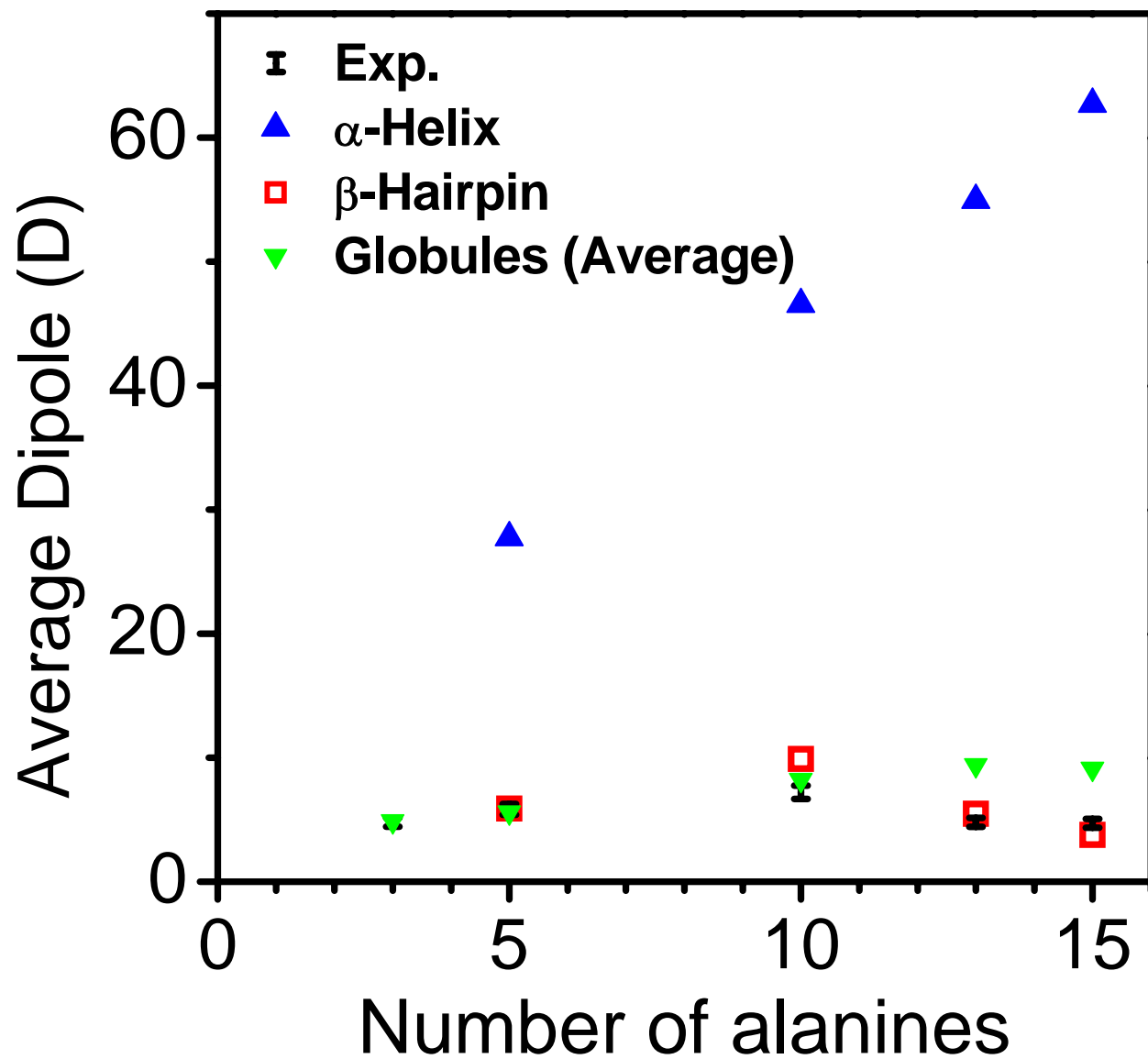


J. Maurelli

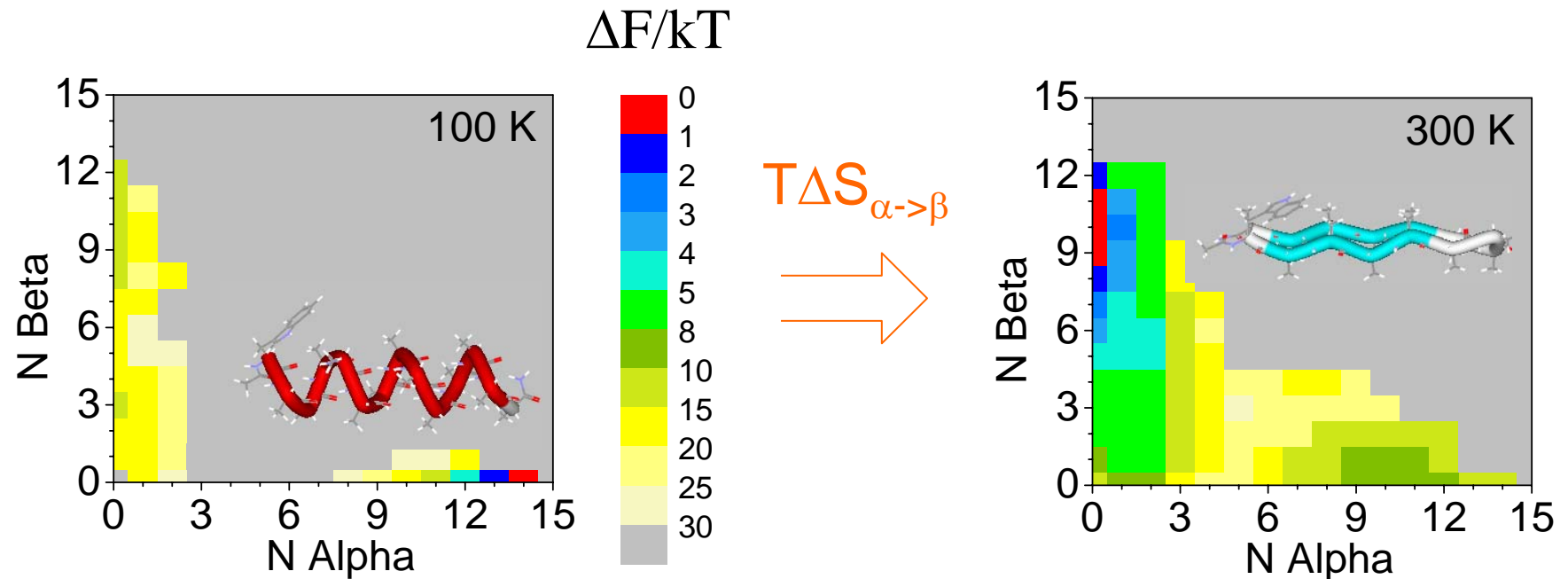
**Merci
pour votre attention !**



Dipôle électrique de polyalanines isolées



Stabilisation entropique des structures secondaires



Quelle énergétique pour Quel système ?

Peptides chargés (protonés)

Charge-Dipôle

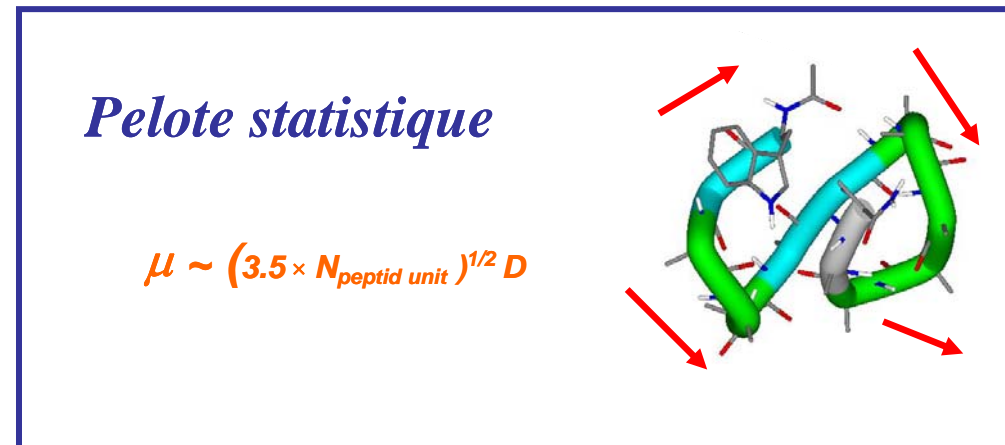
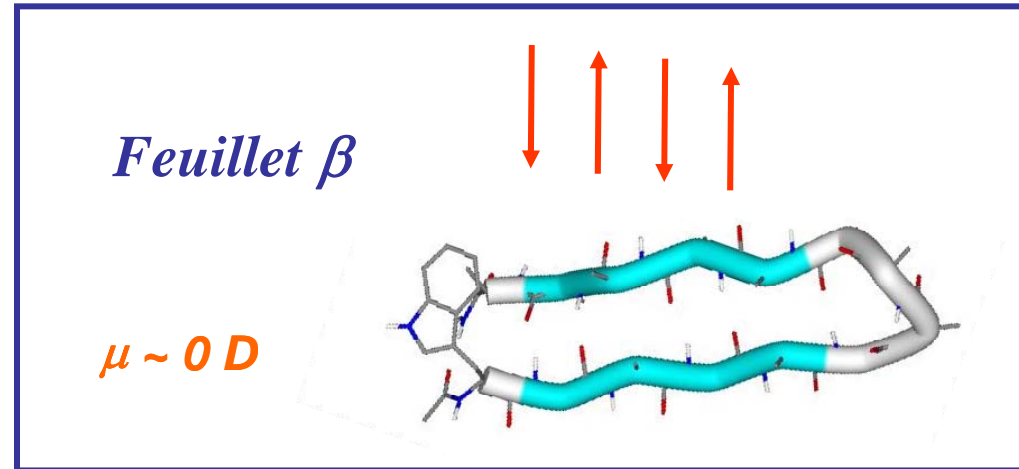
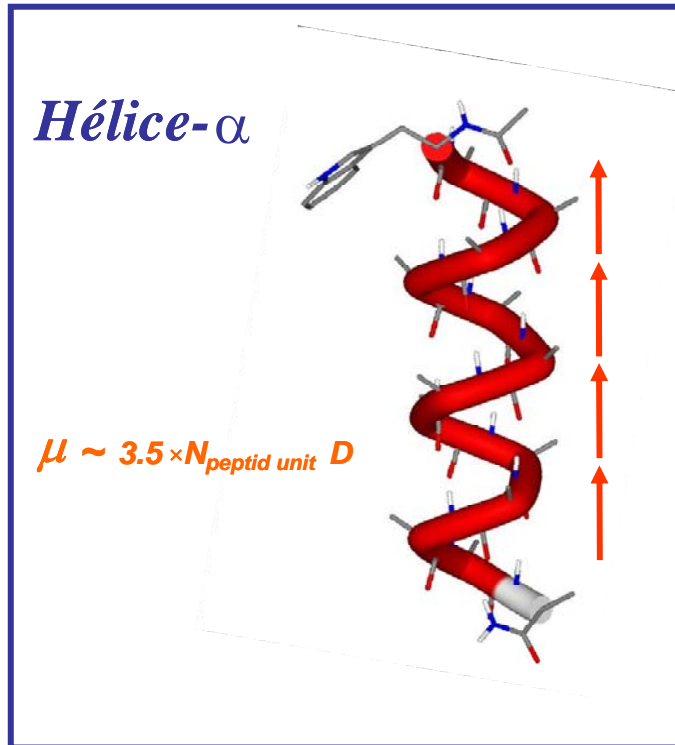
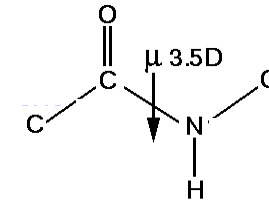
Peptides Neutres

Entropie

Collaboration: M.F. Jarrold
Indiana University

Dugourd *et al.* JACS **127** (2005) 4675
Hudgins *et al.* JACS **120** (1998) 12974

Structures secondaires et dipôle électrique



$\mu_{\text{helice-}\alpha} > \mu_{\text{pelote}} \gg \mu_{\text{feuillet-}\beta \text{ replié}}$