

# Lipid A foszforilációs- és acilációs izomereinek elválasztása és jellemzése NACE-ESI-MS/MS módszerrel

## Separation and characterization of the phosphorylation and acylation isomers of lipid A by NACE-ESI-MS/MS

NOVECZKY Péter<sup>1,2</sup>, dr. SÁNDOR Viktor<sup>2,3</sup>, dr. DÖRNYEI Ágnes<sup>1,2</sup>, dr. KILÁR Anikó<sup>2,3</sup>, BERKICS Balázs Viktor<sup>1,2</sup>, dr. KOCSIS Béla<sup>4</sup>, Prof. dr. KILÁR Ferenc<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Analitikai és Környezeti Kémia Tanszék, Természettudományi Kar, Pécsi Tudomány-egyetem, Magyarország, 7624 Pécs, Ifjúság útja 6. honlap: <http://kemia.ttk.pte.hu/analitika>

<sup>2</sup>Környezeti Analitikai és Geoanalitikai Kutatócsoport, Szentágotthai János Kutatóközpont, Pécsi Tudományegyetem, Magyarország, 7624 Pécs, Ifjúság útja 20.  
honlap: <https://szkk.pte.hu/>

<sup>3</sup>Bioanalitikai Intézet, Általános Orvostudományi Kar, Pécsi Tudományegyetem, Magyarország, 7624 Pécs, Szigeti út 12. tel.: +36 72/536-470,  
honlap: <https://aok.pte.hu/hu/egyseg/160>

<sup>4</sup>Orvosi Mikrobiológiai és Immunitástani Intézet, Klinikai Központ, Pécsi Tudományegyetem, Magyarország, 7624 Pécs, Szigeti út 12. tel.: +36 72/536-252  
honlap: <https://aok.pte.hu/hu/egyseg/220>  
email: [peter.noveczky@aok.pte.hu](mailto:peter.noveczky@aok.pte.hu)

### ABSTRACT

Lipid A is the anchor of endotoxins on the surface of Gram-negative bacteria. In the human body, it is a prominent stimulator of the immune system, but it may also cause dangerous medical conditions, such as endotoxic shock and sepsis. To reveal the specific structural parts and molecular heterogeneity of lipid A isolates, such as the site of phosphorylation and type of fatty acyl chains, a pressure-assisted non-aqueous capillary electrophoresis – tandem mass spectrometry method was developed. Baseline separation of both phosphorylation and acylation isomers was achieved. Identification was carried out from the tandem mass spectra recorded in the positive ionization mode. B-type ions are formed by diagnostic neutral losses. B<sub>2</sub> type ions are confirming the site of phosphorylation, while B<sub>1</sub> type ions and other fragments are enabling the characterization of acylation isomers. This novel method should be regarded as an orthogonal technique to formerly developed LC-MS/MS methods in the screening of bacterial samples or lipid A based therapeutics.

**Keywords:** non-aqueous capillary electrophoresis, mass spectrometry, lipid A structure

### KIVONAT

Az endotoxinok a lipid A részükkel ágyazódnak be a Gram-negatív baktériumok sejtmembránjába. Az emberi szervezetben a lipid A hatékonyan stimulálja az immunrendszert, de akár súlyos egészségi állapotokat is előidézhethet, mint az endotoxikus sokk, vagy a szepszis. A szerkezetének részleteinek megismerésére és a lipid A izolátum alkotóinak változatosságát – úgymint a foszforilációs helyek és a kapcsolódó zsírsavláncok típusát – feltárandó kifejlesztettünk egy nyomással segített nemvizes kapilláris elektroforézis–tandem tömegspektrometriás módszert. A foszforilációs- és az acilációs izomereknél is sikeres alapvonal elválasztást értünk el. A szerkezeti információt a pozitív ion módban felvett tandem tömegspektrumok szolgáltatták. Diagnosztikus semleges vesztesékekkel B-típusú ionok keletkeznek. A B<sub>2</sub>-típusú ionok azonosítják a foszforilációs pozíciót, míg a B<sub>1</sub> ionok az acilációs izomerek jellemzését teszik lehetővé. Jelen módszer a korábban kifejlesztett LC-MS/MS módszerek kiegészítője lehet a bakteriális eredetű minták vizsgálatában és a lipid A klinikai alkalmazásakor.

**Kulcsszavak:** nemvizes kapilláris elektroforézis, tömegspektrometria, lipid A szerkezet