



Disponible en ligne sur  
**SciVerse ScienceDirect**  
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France  
**EM|consulte**  
www.em-consulte.com



REVUES GÉNÉRALES ET ANALYSES PROSPECTIVES

# La spectrométrie de masse et ses principales applications en biologie médicale

*The mass spectrometry: Its main applications in medical biology*

J. Ingrand

Acorata, faculté de médecine Cochin, 24, rue du Faubourg-Saint-Jacques, 75014 Paris, France

Reçu le 18 août 2011 ; accepté le 18 septembre 2011

## KEYWORDS

Mass spectrometry;  
Tandem mass spectrometry;  
Gas chromatography;  
Liquid chromatography;  
Proteomics;  
Maldi-TOF methods;  
Clinical applications

## MOTS CLÉS

Spectrométrie de masse ;  
Spectrométrie de masse en tandem ;  
Chromatographie gazeuse ;  
Chromatographie liquide ;  
Protéomique ;  
Maldi-TOF ;  
Applications cliniques

**Summary** Mass spectrometry represents nowadays an extremely useful technique and many laboratories would invest in this powerful but expensive equipment; this paper begins with a survey of methods and applications, to be concluded by a discussion about advantages and inconvenients.

© 2012 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

**Résumé** La chromatographie de masse est devenue, du fait de développements spectaculaires ces dernières années, une technique dont l'utilité pour un laboratoire paraît évidente. L'article débute par un rappel des méthodes de la spectrométrie de masse et un relevé succinct des applications en biologie médicale et dans les sciences connexes pour terminer par une analyse objective des avantages et des inconvénients.

© 2012 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

## Introduction

Les développements de la spectrométrie de masse ont été tels ces dernières années que, malgré le coût des

Adresse e-mail : [ingrand.jacques@wanadoo.fr](mailto:ingrand.jacques@wanadoo.fr)

équipements et de la maintenance, cette technologie est perçue comme devant faire partie des moyens des laboratoires leaders.

Les applications, dont le nombre est en augmentation constante, concernent de nombreux secteurs de la biologie médicale : hormones stéroïdes (cortisol, testostérone...), la vitamine D, les acides et sels biliaires, les médicaments, les stupéfiants et les toxiques (cannabinoïdes, amphétamines, cyanures, etc.), les métabolites des maladies héréditaires et l'identification microbienne.

La spectrométrie de masse est le dernier maillon d'une chaîne analytique qui fait suite à une première étape de séparation des constituants du milieu analysé (tissu ou échantillon biologique); cette séparation utilise le plus souvent l'électrophorèse bidimensionnelle ou la chromatographie en phase gazeuse ou liquide.

Remarque: l'analyse protéomique repose également sur l'emploi de la spectrométrie de masse; elle ne sera pas traitée dans cet article car ses buts sont moins directement associés à des besoins biocliniques de routine; en effet, il s'agit dans cette approche de collecter des données utiles en biologie fondamentale, d'identifier soit des marqueurs spécifiques et sensibles de maladies soit des cibles d'intervention thérapeutique.

L'article débute par un rappel des méthodes de la spectrométrie de masse et un relevé succinct des applications en biologie médicale et dans les sciences connexes pour terminer par une analyse objective des avantages et des inconvénients.

## Aspects méthodologiques

La complexité des méthodes analytiques ne permet pas de réaliser une synthèse sous un développement réduit; des ouvrages de référence sont cités dans les références bibliographiques [1–12].

## Spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse est une méthode d'analyse qui permet la détermination de la masse moléculaire des composés analysés, ainsi que leur identification et leur quantification. Le spectromètre de masse est un instrument qui comprend plusieurs parties disposées en série permettant successivement :

- l'introduction de l'échantillon;
- l'évaporation et l'ionisation des molécules dans un élément appelé « source » (transformation des molécules à l'état naturel en ions à l'état gazeux);
- l'accélération des ions formés;
- la séparation de ces ions dans un élément appelé « analyseur de masse » en fonction de leur rapport  $m/z$  (masse sur charge);
- la détection, c'est-à-dire l'obtention du spectre de masse.

### Les sources utilisées en fonction des composés analysés

*Sous faible pression.* Les sources utilisées sous faible pression sont :

- l'ionisation et fragmentation sous impact électronique : méthode adaptée aux composés de masse moléculaire inférieure à 1000 daltons facilement volatilisables et stables à température élevée;
- l'ionisation chimique positive : méthode plus douce que la précédente, convenant aux analytes du même type;
- l'ionisation-désorption par impulsion laser assistée par une matrice (Maldi = *matrix assisted laser desorption ionisation*) : méthode dite douce, utilisant une plaque métallique recevant un mélange cocrystallisé (molécule matrice + analyte), peu utilisée pour l'analyse des molécules organiques de masse inférieure à 500 daltons. NB : une technique proche dans son principe (Seldi-TOF = *surface enhanced Laser desorption-ionisation* en détection par le temps de vol) est associée à un système de séparation des protéines et peptides par chromatographie sur une surface plane (cette technique aurait une faible reproductibilité).

*À pression atmosphérique.* Les sources utilisées à pression atmosphérique sont :

- l'ionisation par électronébulisation (ESI = *electrospray nebulization*) : méthode convenant pour un analyte introduit après chromatographie en phase liquide ou après électrophorèse capillaire, compatible pour de faibles débits; applications : liquides facilement ionisables;
- l'ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI) : méthode utilisable en aval d'un chromatographe en phase liquide (complémentaire de la méthode ESI).

### Les analyseurs de masse

*Les analyseurs « à temps de vol » (TOF = time of flight).* L'application d'un champ électrique fait que la distance parcourue par un ion jusqu'au détecteur (temps de vol) dépend du rapport  $m/z$  (les ions légers frappent le détecteur avant les ions lourds).

*Les analyseurs utilisant un champ électrique oscillant.* On trouve :

- soit les analyseurs à filtre quadrupolaire : système assurant la sélection des ions ayant un rapport  $m/z$  déterminé qui peuvent parvenir au détecteur sans être déchargés au contact des barres du quadripôle;
- soit les analyseurs à pièges à ions ou à trappe à ions : dans ces systèmes, les champs électriques assurent le confinement dans l'analyseur des ions de différents rapports  $m/z$ ; le spectre est obtenu en expulsant ces ions en fonction du rapport  $m/z$ .

### Spectrométrie de masse en tandem

La spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) combine en général deux analyseurs.

Les ions formés dans la source entrent dans le premier analyseur MS, d'où seuls les ions ayant un rapport  $m/z$  déterminé pourront sortir. Dans une cellule de collision, ces ions sélectionnés sont dissociés en ions fragments qui seront analysés dans le second analyseur MS2.

Les équipements les plus souvent rencontrés dans les laboratoires sont des triples quadripôles.

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/8471386>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/8471386>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)