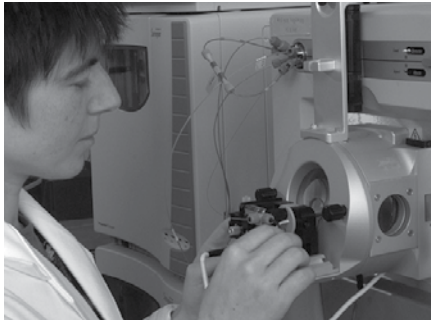


TANDEM MASS, (MS/MS)

ساختار و کاربردهای گونه گون آن در کلینیک - بخش ۲

تجزیه گر جرمی زمان پرواز
TOF (Time of Flight)

اصول ساختاری عملکرد آنالیزورهای جرمی TOF اعمال پتانسیل شتابدهی (V) به یون با بار الکتریکی Z است که موجب شتاب گرفتن (Acceleration) یونها به اندازه می شود. بنابراین با توجه به این اصل که یونها با جرم (m) متفاوت مسافت های ثابتی را در زمان های متفاوتی طی می کنند می توان با محاسبه زمانی که هر یون مشخص از منبع یونیزاسیون (Ion Source) تا آشکار ساز در مسیر پرواز (Flight Path) طی می کند (که خود نسبت زمانی مشخصی برای هر یون است) نسبت هر یون را اندازه گیری نمود. آنالیزورهای جرمی زمان پرواز (TOF) در مقایسه با سایر آنالیزورهای جرمی دامنه جرمی (Mass Range) و قدرت تفکیک (Resolution) بالاتری داشته ولی از حساسیت (Sensitivity) کمتری برخوردار است. نکته قابل توجه در آنالیزور جرمی زمان پرواز (TOF) طول کانال پرواز یون هاست که نسبت مستقیم با قدرت تفکیک (R) این نوع آنالیزور داراست. به عبارت دیگر طول بیشتر مسیر پرواز یونها موجب افزایش قدرت تفکیک آن می شود. میانگین طول کانال این نوع جرم سنج ها از یک متر تا چندین متر بسته به نوع Application متغیر بوده ولی با توجه به محدودیت فضاهای آزمایشگاهی به جهت کاهش ابعاد فیزیکی (Foot Print) این دستگاه ها در انتهای لوله (کانال پرواز) یک آینه یونی (Ion Reflector) نصب می کنند که موجب انعکاس یون های نمونه شده

تجزیه گرهای جرمی تله یونی (Ion Trap)

نحوه عملکرد مکانیسم این آنالیزورها همانند تجزیه گرهای (Quadrupole) است با این تفاوت که میله های Quadrupole به جای مقطع هذلولی شکل به دور محور عمودی مرکزی خود پیچ خورده و تشکیل حلقه بسته ای (Ring) را می دهند. هر تله جرمی Ion Trap از یک الکتروود حلقوی و یک جفت الکتروود فنجانکی شکل End-Cup تشکیل شده است میدان الکتریکی داخل Trap به نحوی است که یون های نمونه ضمن ورود به آن فضا گیر افتاده و با تغییر در ولتاژ جریان DC و RF در جفت الکتروود های حلقوی (End-Cup) فقط یون های نمونه با نسبت m/z مشخص اجازه عبور از حلقه را دارند، در عین حال با اعمال ولتاژ RF کمی به الکتروودهای حلقوی End-cup موجب تشدید حرکت نوسانی (Resonance) یون ها شده و در نهایت با یکی شدن فرکانس یون های نمونه و End-cup یون های نمونه ضمن افزایش انرژی جنبشیشان ناپایدار شده و از امتداد محور الکتروود حلقوی خارج می شوند. با توجه به این اصل که شدت نوسان در یون تابعی از نسبت آن است بنابراین یون های با نسبت های مختلف با فرکانس (شدت نوسان) مختلف در زمان های متفاوتی به ترتیب از حلقه خارج شده و به سمت آشکار ساز (Detector) هدایت شده و در نهایت بر اساس فرکانس جریان متناوب اعمال شده و جریان DC در هنگام خروج از تله جرمی نسبت هر عنصر مشخص و تعیین می شود.

تجزیه گرهای Ion-Trap نسبت به سایر تجزیه گرهای جرمی دارای حساسیت (SENSITIVITY) بیشتری بوده ولی دامنه جرمی (Mass Range) و قدرت تفکیک (Resolution) کمتری را پوشش می دهند.



و در نهایت موجب کاهش طول مسیر پرواز و کوچک شدن ابعاد فیزیکی (اشغال فضای کمتر) جرم سنج TOF می شود.

تجزیه گره های Orbi Trap

این نوع از آنالایزرهای جرمی یکی از پیشرفته ترین و در عین حال حساس ترین انواع تجزیه گره های جرمی موجود در بازار است. اساس کار این جرم سنج ها در واقع به دام انداختن یون های مشخص با فرکانس یکسان در طول محور یک میدان الکتریکی است. مقادیر یون ها توسط فرکانس آنها در یک روش غیر مخرب بنام FOURIER TRANSFORMATION در محفظه (orbitrap) اندازه گیری شده و تبدیل به فوریه می گردند تا در نهایت طیف جرمی تشکیل شود.

این نوع جرم سنج ها در مقایسه به تمامی انواع دیگر آنالایزرهای جرمی دارای قدرت تفکیک بسیار بالا و حساسیتی در حدود فمتو لیتر (Sensitivity ~ Femtoliter) برخوردار اند.

تجزیه گره های جرمی تمرکز دوگانه (Doubled Focusing Mass Analyzer)

اساس کار تجزیه گره های جرمی تمرکز دوگانه جداسازی یون های با نسبت های متفاوت و فیلتر کردن آنها (به کمک خارج کردن و جلوگیری از ادامه مسیر آن ها) و از طرف دیگر متمرکز کردن یون های نمونه با نسبت مشخص و یکسان و هدایت آنها به سمت آشکار ساز است. اما همان طور که در ابتدای مقاله اشاره شد اتمهای متمرکز شده با نسبت یکسان لزوماً با سرعت (V) در یک میدان مغناطیسی حرکت نمی کنند به عبارت دیگر اتم های با یکسان پس از تشدید انرژی جنبشی آنها با سرعت های (V) متفاوتی ادامه مسیر می دهند و برای حل این مشکل در ابتدای مسیر و قبل از ورود به میدان مغناطیسی جدا کننده، یون های با نسبت یکسان از یک میدان الکتریکی با اختلاف پتانسیل (V) مشخصی عبور نموده که موجب یکسان شدن سرعت همه ذرات یونها می گردد که در نهایت موجب افزایش قابل توجه دقت Resolution این نوع تجزیه گره های جرمی تا حدود ۱۰ برابر بیشتر نسبت به سایر انواع جرم سنج ها می شود.

آشکار ساز (Detector)

تا اینجا در خصوص مکانیسم (Ion Source) جهت یونیزه کردن (Ionization) یونهای نمونه و مرحله بعدی آن یعنی آنالیز و تفکیک یونها توسط جرم سنج (Mass analyzer) و

از آنها صحبت شد. در این مرحله یون های با نسبت های یکسان که توسط آنالایزرهای جرمی تفکیک و جداسازی شده اند و به شکل پرتوهایی به دتکتور می رسند توسط آن مورد اندازه گیری و شمارش قرار می گیرند. در محور افقی (X) قدر مطلق یونها و در محور عمودی (Y) تراکم یا فراوانی نسبی یونها مشخص می گردد. ۲ نوع دتکتور Electron multiplier، Micro channel از انواع عمده و پر مصرف آشکار ساز در جرم سنج ها بشمار می روند. جهت تشدید پرتوهای یون ها از تشدید کننده های یونی (electron multiplier) و (Dinode convertor) استفاده می شود. مکانیسم کلی کارکرد آنها به این شکل است که یون های همسان تفکیک شده توسط آنالایزر جرمی پس از برخورد با سرعت (V) به صفحه فلزی مخصوص موجب انعکاس یک پرتو الکترونی قابل اندازه گیری می شود که البته این پرتوها نیز به نوبه خود توسط تشدید کننده های Photo Multiplier Amplifier تشدید شده و موجب تشکیل سیگنال های قابل اندازه گیری در Detector می شود.

طیف سنج جرمی متوالی و کاربردهای متنوع آن در آزمایشگاه های کلینیکال

جهت شناسایی دقیق ساختار کلی و توالی (آرایش) پپتیدها از طیف سنج های ۲ گانه (متوالی) یا همان استفاده می گردد. این نوع طیف سنج های جرمی معمولاً از دو آنالیزور جرمی (MS) که پشت سرهم نصب شده تشکیل شده است. البته باید به این نکته اشاره کرد که این دو جرم سنج توسط یک محفظه برخورد میانی یا collision cell از هم جدا شده اند.