임상검사기기학 및 기초통계

중원대학교 임상병리학과

홍석현



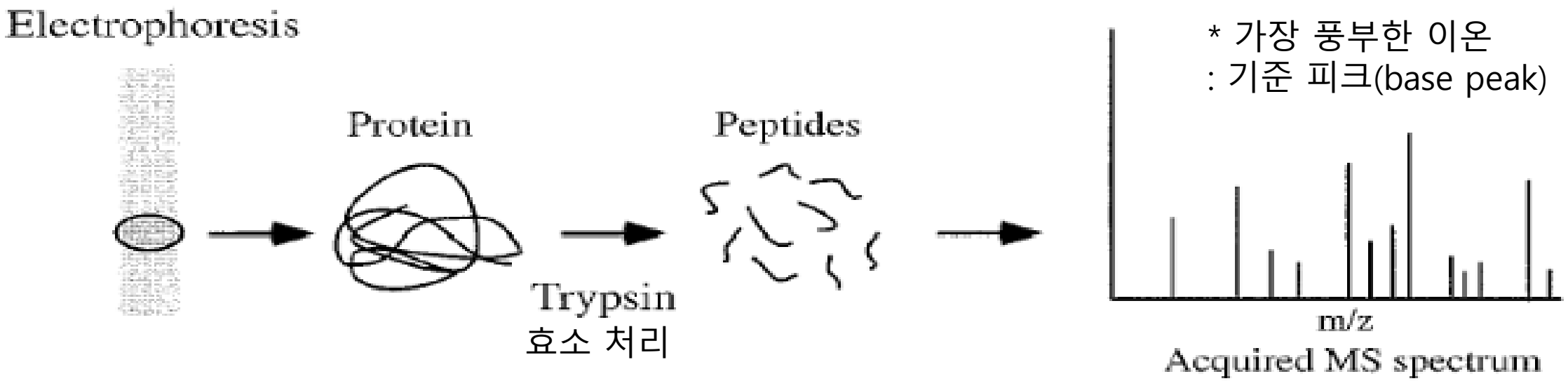
HPLC-MS 장비

8장 : 질량분석기 (Chromatography)

• 질량분석법(Mass spectrometry; MS)

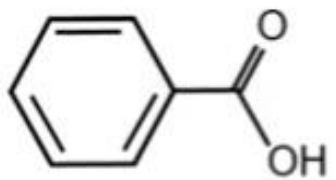
➢ 질량분석법(MS)

- 원리: 물질의 질량과 구조를 측정·분석하는 분석기법
- 시료(분자)의 이온화 → 질량-전하(m/z)비율에 따라 분리 → 물질 검출 및 농도 측정
- 원자나 분자 하나하나를 이온화하여 측정 → 매우 감도가 높은 분석법
- **Base peak(기준피크)**: MS에서 나타나는 가장 세기(높이)가 강한 peak를 의미
  → 분석물질이 이온화 되는 과정에서 **가장 많이 생성된** 또는 **가장 안정된 이온을** 나타냄

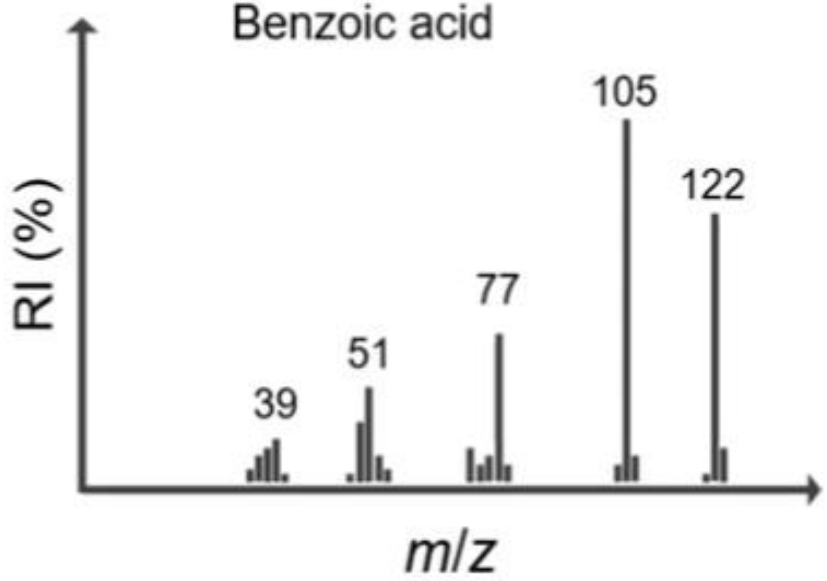


Mass Spectroscopy

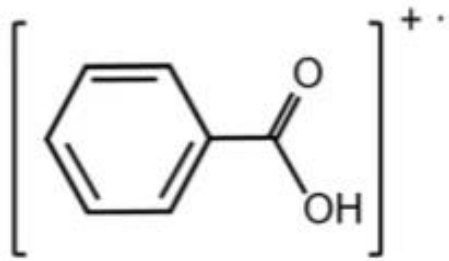
- Structure and Fragmentation



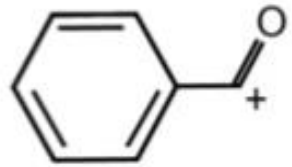
Benzoic acid



<이온화>



m/z = 122



m/z = 105



m/z =77

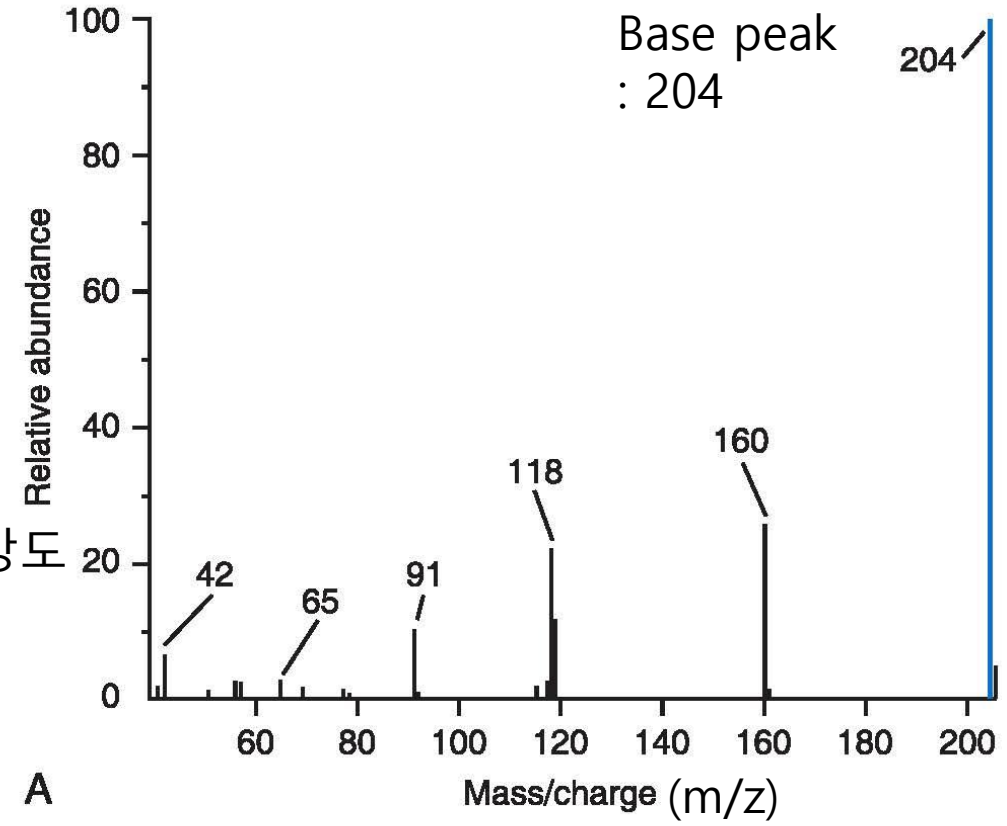


m/z =51

• 질량분석법(Mass spectrometry, MS)

➢ 질량분석법(MS)

: 이온강도



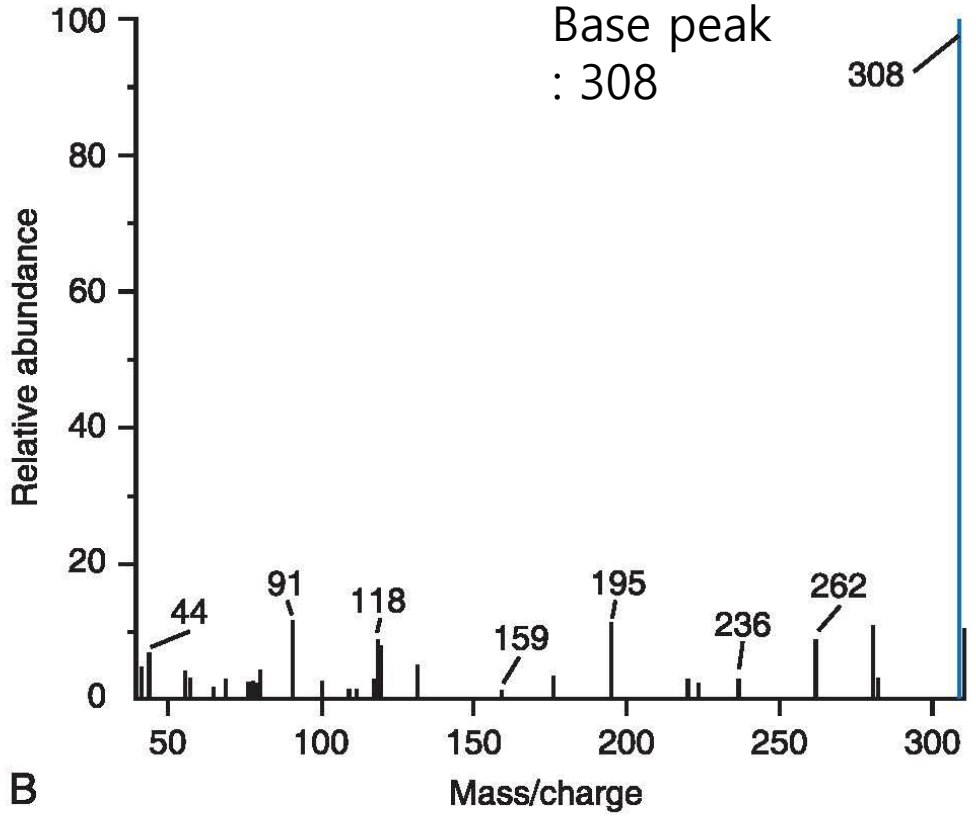
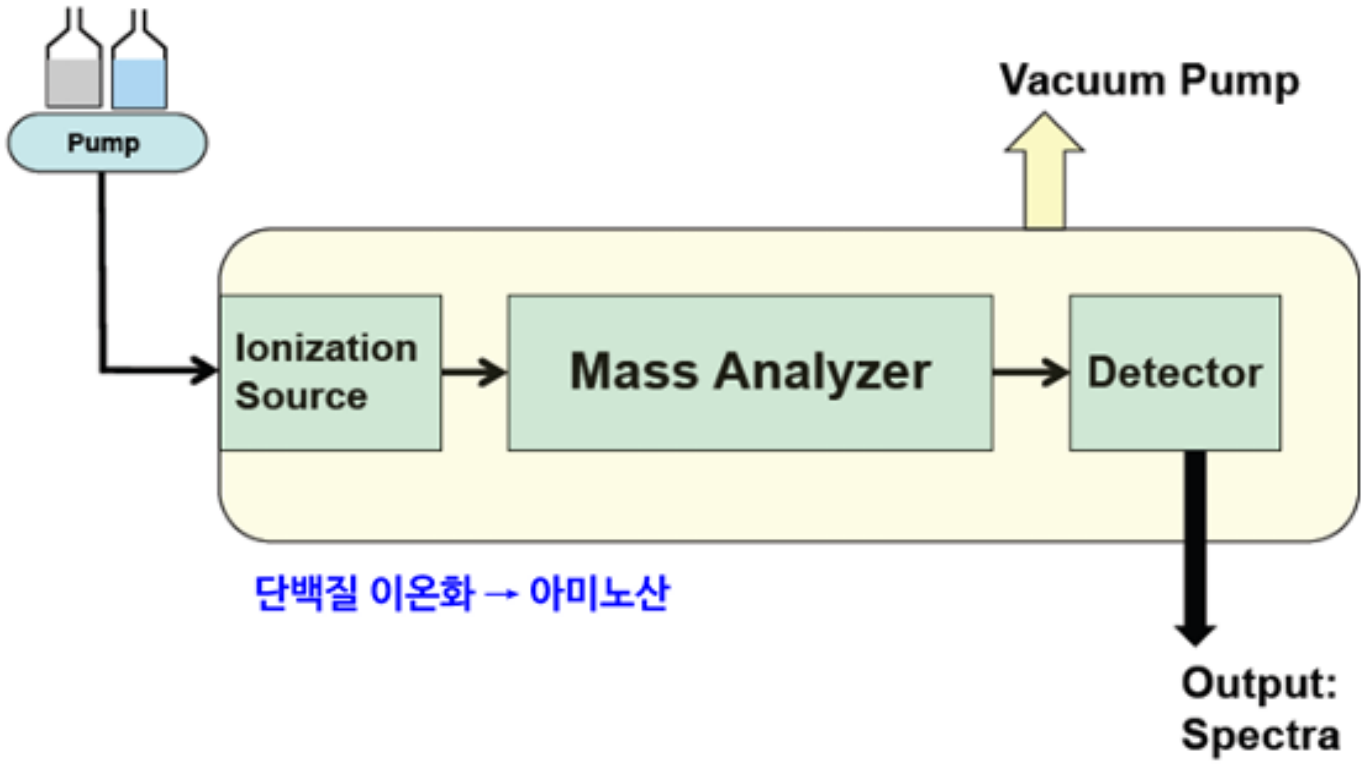


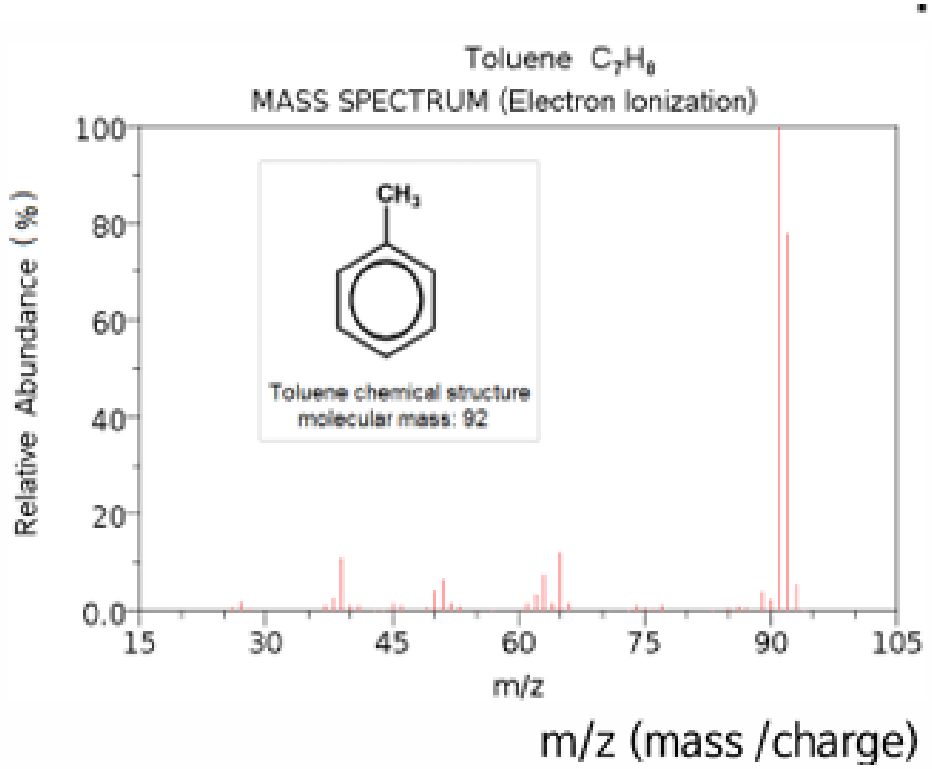
그림 10.1 (A) 펜타플루오프로피닐(pentafluoropropionyl) 및 (B) d-메트로파민(methamphetamine)의 카베톡시헥사플루오르오부티릴(carbenthoxyhexafluorobutyryl) 유도체의 질량 스펙트럼

• 질량분석기(Mass spectrometry, MS) - 구성

➢ 질량분석기(MS)의 구성

[시료 도입부]-[**이온화부**]-[질량분석부]-[검출부]-[데이터처리부]





• 질량분석법(Mass spectrometry, MS): 이온화 방법

➢ 질량분석법(MS)의 이온화 방법

그림 6-1 주요 이온화법의 원리

이온화법	약어	이온화 원리	
전자 이온화법(electron ionization)	EI	열전자의 충돌에 의한다.	2순위
화학 이온화법(chemical ionization)	CI	이온화한 반응 가스와의 전자 교환 반응에 의한다.	
대기압 광 이온화법(atmospheric pressure photoionization)	APPI	빛 에너지에 의한다.	
대기압 화학 이온화법(atmospheric pressure chemical ionization)	APCI	코로나 방전(corona discharge)에 의한다.	3순위
일렉트로스프레이 이온화법(electrospray ionization)	ESI	일렉트로스프레이와 함께 이온 증발에 의한다.	1순위
매트릭스-지원 레이저 이탈이온화법	MALDI	매트릭스를 개입시킨 레이저 조사에 의한다.	4순위

• 질량분석법(Mass spectrometry, MS): 이온화 방법-ESI

1) ESI(Electrospray Ionization, 전자 분무 이온화)

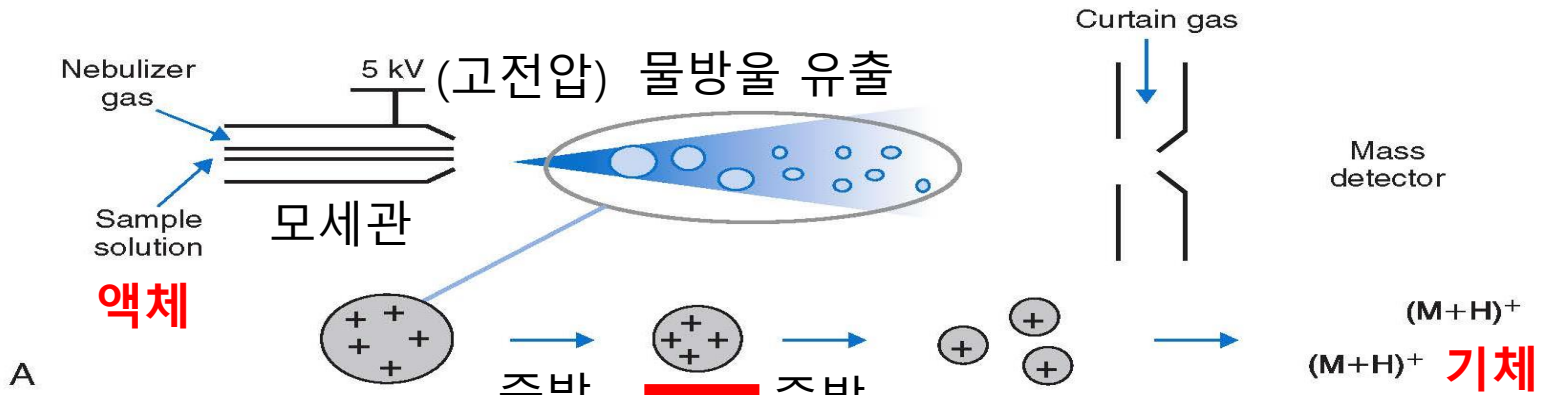
- 대기압에서 이온화
- 연성 이온화(Soft ionization): 큰 분자(단백질)가 깨지지 않고 이온화
- 다중 전하(multiple charging): 하나의 큰 분자가 여러 개의 전하를 띰

→Myoglobin 분자량: 약17,000Da,

만약 ESI 과정에서 전하(+1→z:1)만 얻는다면 질량분석기 내부 통과 불가능 → m/z = 17,000

But, 여러 개의 전하를 동시에 띤다면 전하(+10,+20,+30) 질량분석기 내부 통과 가능 → m/z: 1700, 850, 567

m: 질량
z: 전하량

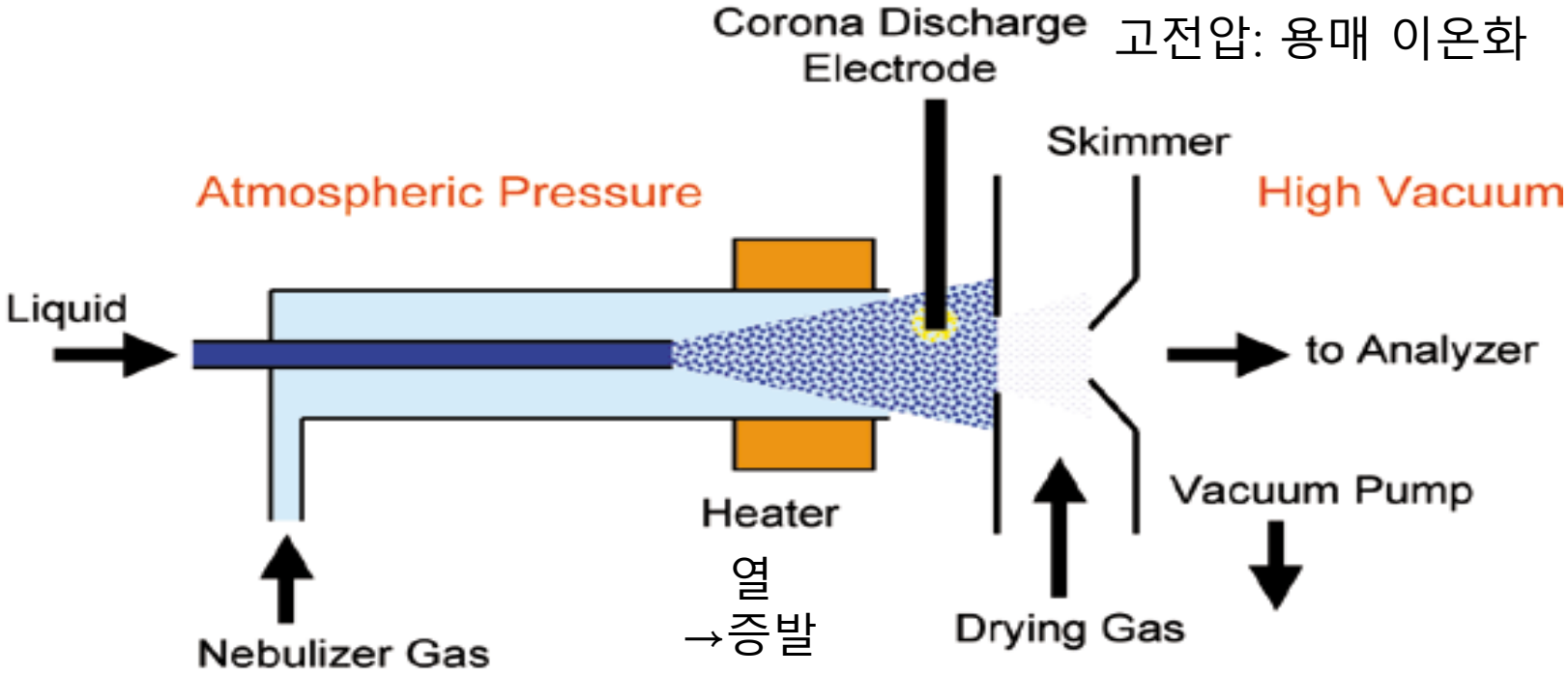


부피 감소(전하밀도 증가)
→ 전하 반발력 > 표면장력(물방울)
→ 더 작은 물방울 형성
→ 반복 → **기체**상 이온 형성 → MS내부로 주입

• 질량분석법(Mass spectrometry, MS): 이온화 방법-APCI

2) APCI(Atomspheric pressure chemical ionization, 대기압 화학적 이온화)

- 열을 사용하여 중성분자의 기체화
- 고전압(Corona discharge): **용매를 먼저 이온화(**ESI: 시료를 이온화)
- 기체상 이온이 되어 MS 내부로 투입
- LC-MS 상태로 이용



고전압

$$H_2O + e^- \longrightarrow H_2O^{+\cdot} + 2e^-$$

용매 양이온(이온화)

$$H_2O^{+\cdot} + H_2O \longrightarrow H_3O^+ + \cdot OH$$

$$M + H_3O^+ \longrightarrow [M+H]^+ + H_2O$$

시료 ← MS내부로 투입

시료에게 양성자 전달

- 질량분석법(Mass spectrometry, MS): 이온화 방법-APCI

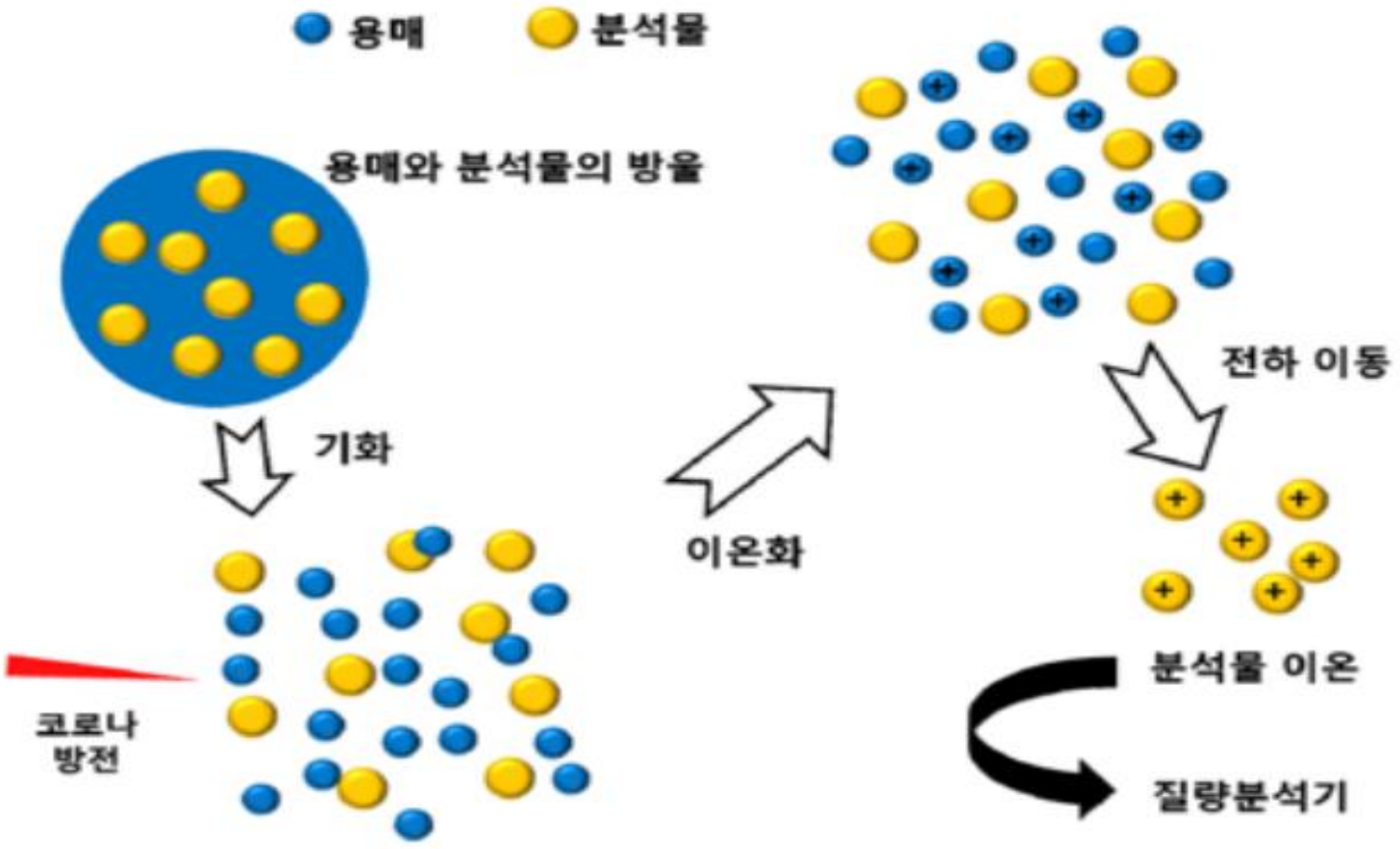
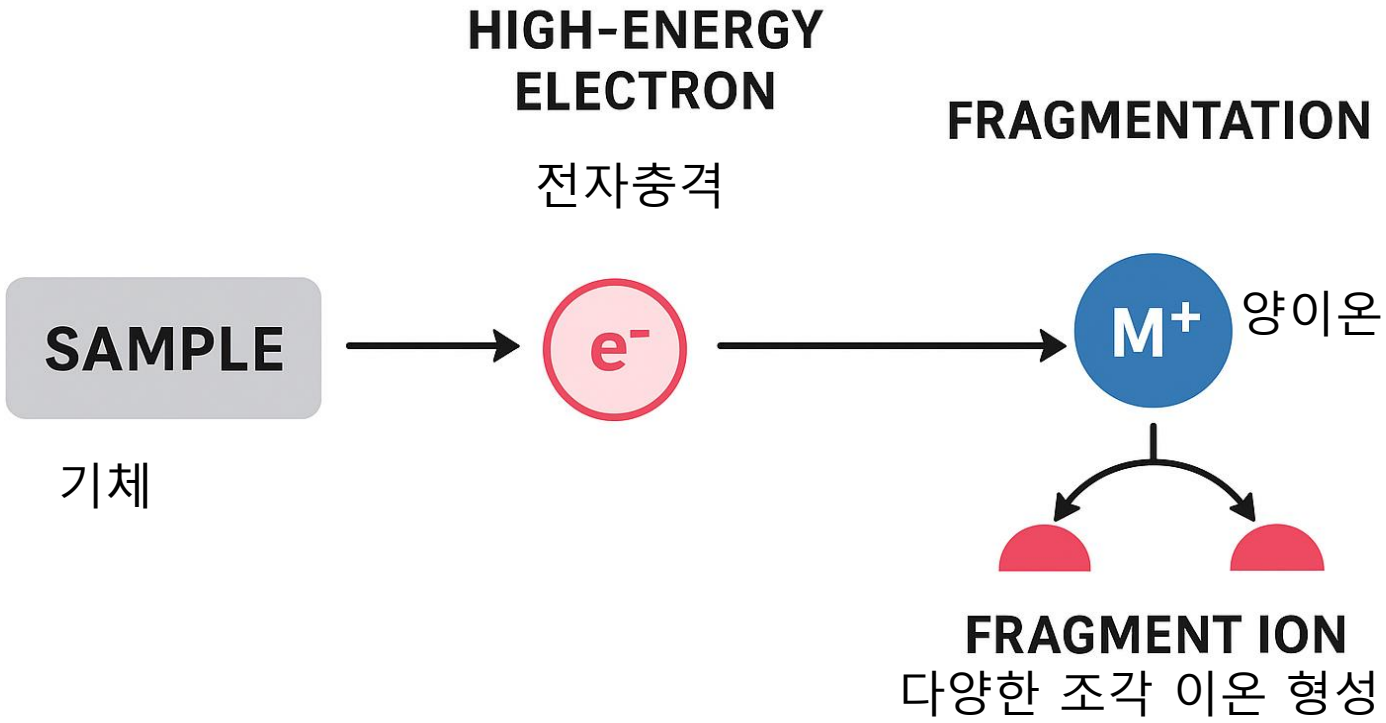


그림. APCI 도식화

• 질량분석법(Mass spectrometry, MS): 이온화 방법-EI

3) EI(Electron Ionization, 전자 이온화)

- 시료: 기체 → GC-MS 상태로 사용
- **높은 에너지를 가진 전자**를 시료 분자에 충돌시켜 이온을 생성하는 방법
- 전자 충격(Electron impact): 진공상태에서 전자와 시료를 충돌 → $M + e^- \rightarrow \boxed{M^+} + 2e^-$
  양이온
- 분자 단편화(Fragmentation): 다양한 조각 이온으로 분해

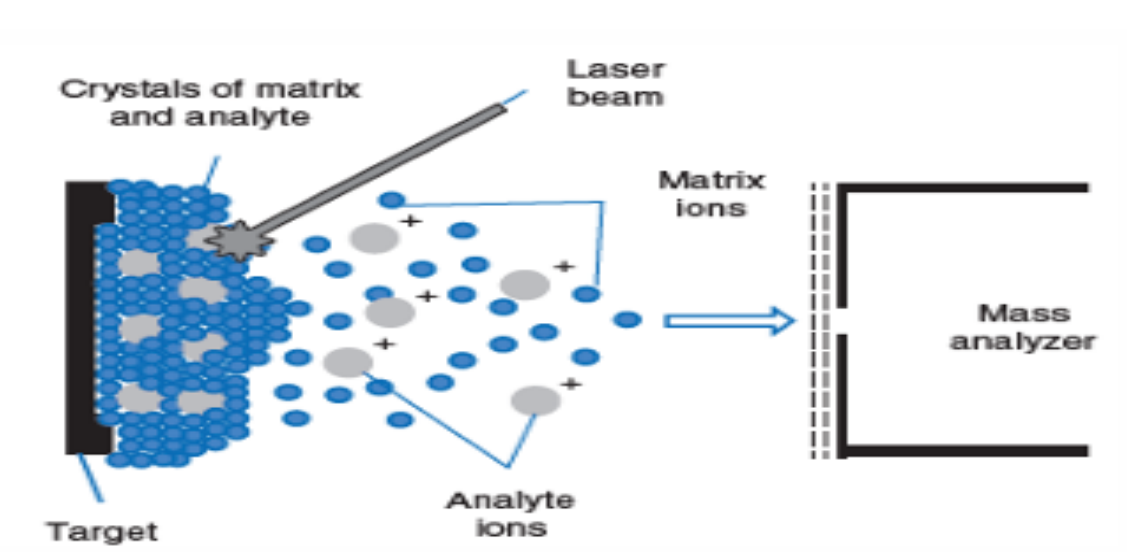


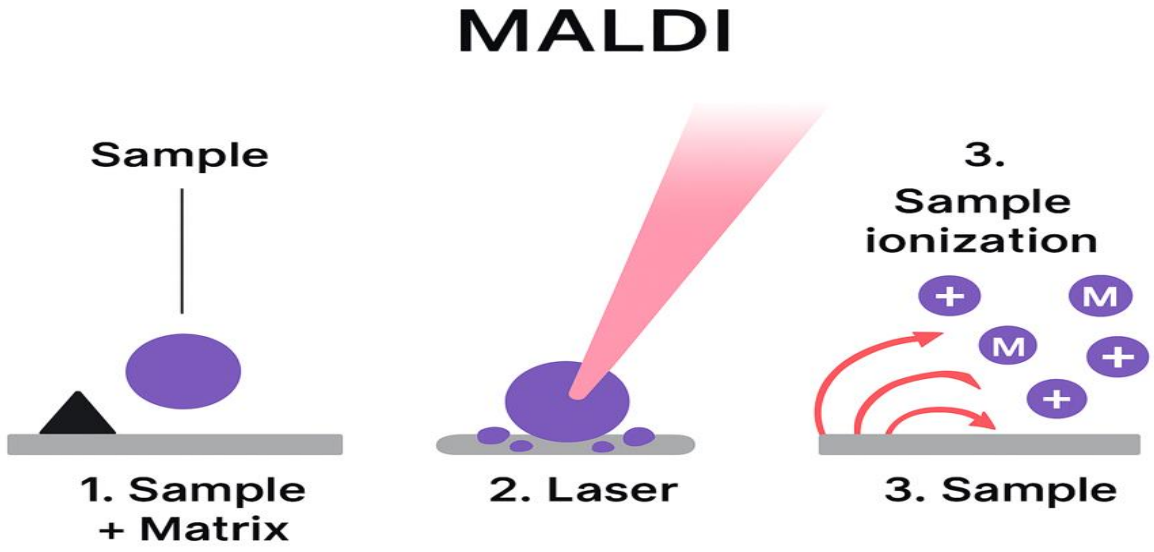
• 질량분석법(Mass spectrometry, MS): 이온화 방법-MALDI

4) MALDI(Matrix-assisted laser desorption ionization)

*Matrix: 레이저에 잘 흡수되는 유기화합물

→ 시료와 매트릭스를 균일하게 혼합 → 시료와 매트릭스가 섞여 고정됨 → UV 레이저를 사용 →
→ 레이저 에너지를 매트릭스가 흡수 → 가열과 승화(고체→기체) 발생 → 매트릭스가 시료를 증발시키면서 이온화



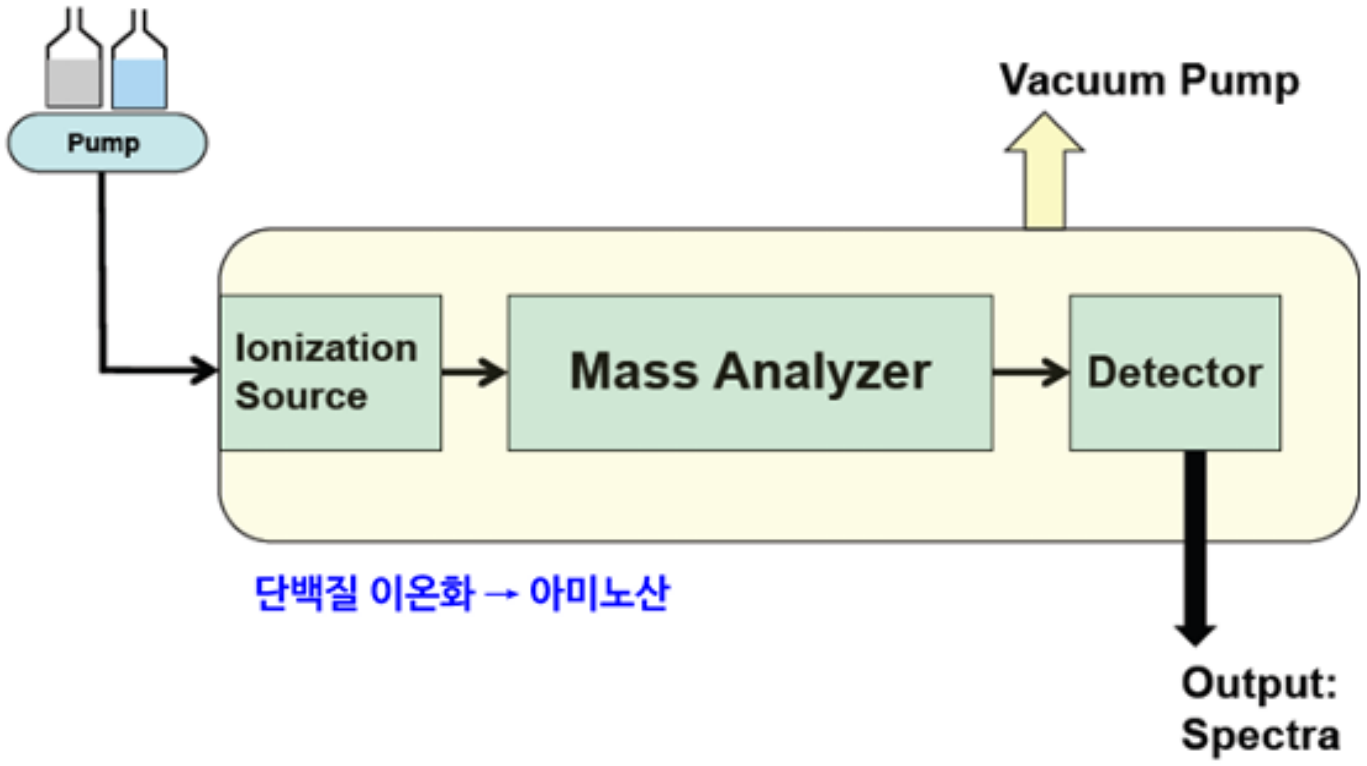


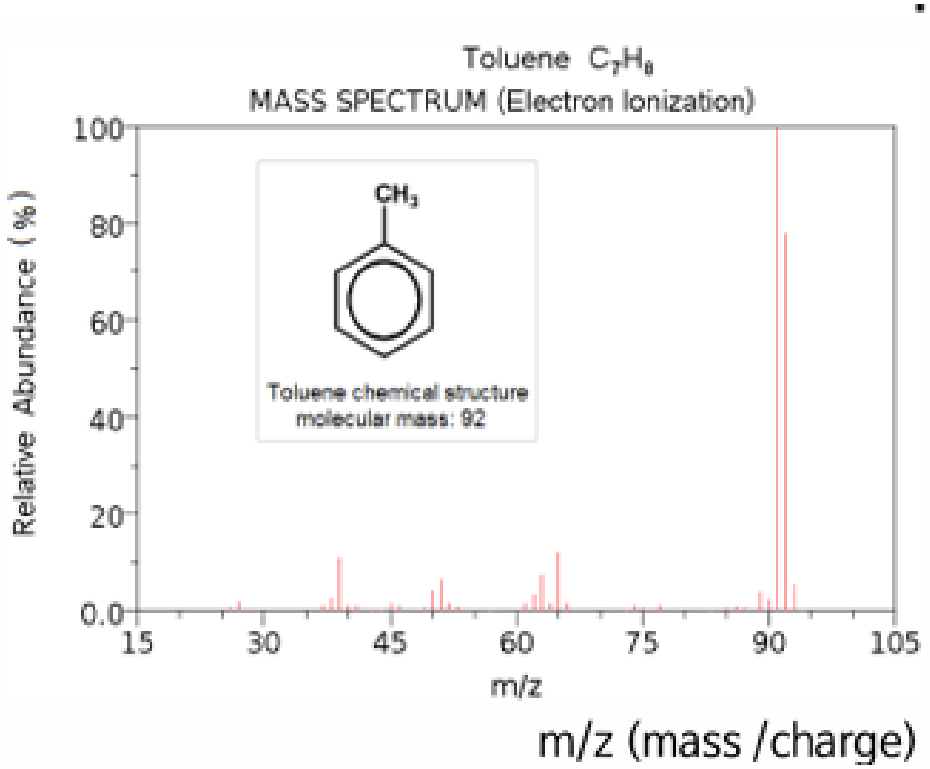
- 응용사례: 단백질 지문분석, 미생물 검사, 바이오마커 탐지(질병 진단연구)

• 질량분석기(Mass spectrometry, MS) - 구성

➢ 질량분석기(MS)의 구성

- [시료 도입부]-[이온화부]- **[질량분석부]** -[검출부]-[데이터처리부]





• 질량분석법(Mass spectrometry, MS) - 질량분석부

➢ 질량분석부

- 이온화부에서 생성된 이온을 질량대전하비(m/z)에 따라 분리하는 장치
- "분자량이 얼마인 이온인지" 또는 "어떤 화합물 조각인지" 판별

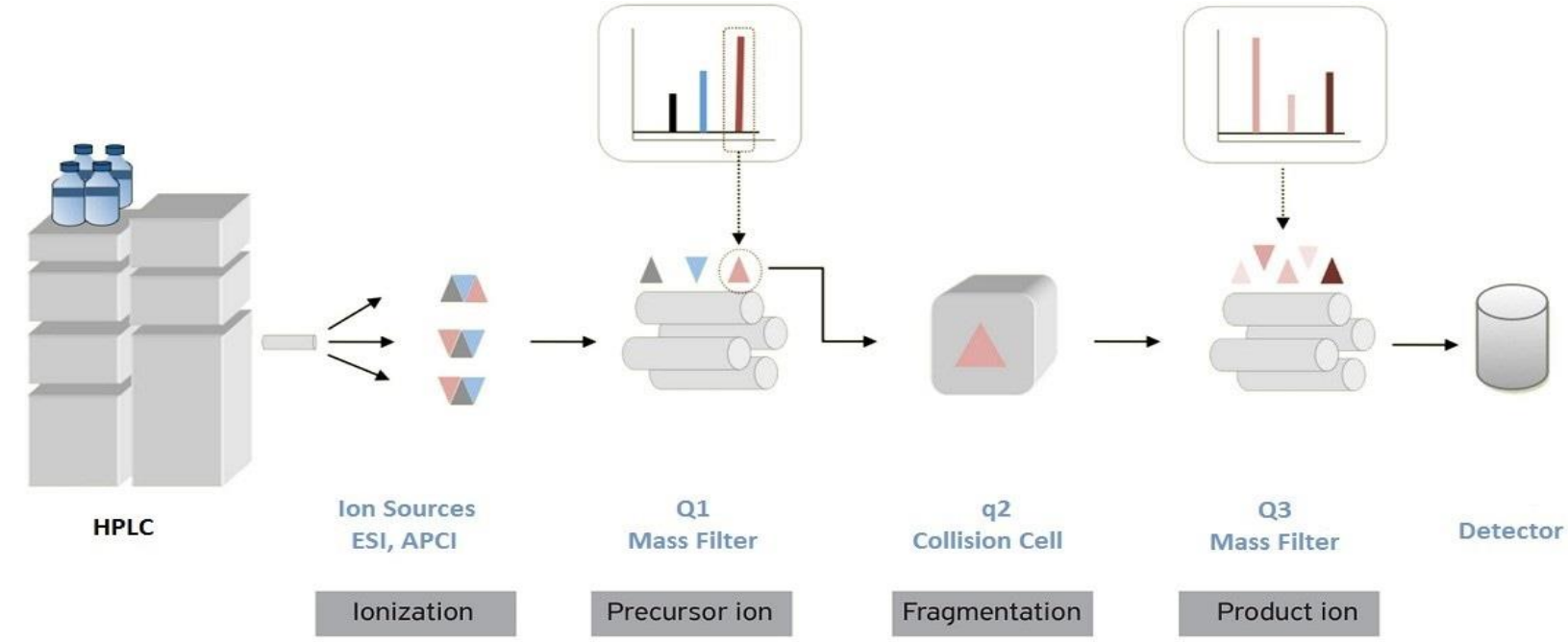
표 7-2 주요 질량 분석부의 원리

질량 분석부	약어	원리
사중전극형 (quadrupole)	QP(Q)	직류와 고주파 교류를 중합시킨 전압을 4본의 봉상전극에 걸어 형성된 사중 전극전기장에 의한 분리
이중집속형(자장형) (double-focusing)	DF(EB, E:전장, B:자장)	자기장의 로렌츠(Lorentz) 힘에 의한 이동방향의 집속과 전기장에 의한 에너지 집속의 조합에 의한 분리
이온트랩형 (ion trap)	IT	4중전극형의 원리 응용. 교류 전압을 걸어 안정 진동의 이온화를 일단 포획한 후, 전압을 변화시켜 불안정한 진동의 이온을 배출하는 것에 의한 분리
비행시간형 (time of flight)	TOF	가압전압으로 끌어낸 펄스상 이온빔의 비행시간에 의한 분리
이온 사이클로트론 공명형 (ion cyclotron resonance)	ICR	강한 자기장 중에서 회전하는 이온의 사이클로트론 주파수에 의한 분리

• 질량분석법(Mass spectrometry, MS) – 탠덤질량분석법(MS/MS)

➢ 탠덤(Tandem) 질량분석법 – MS/MS: 두 번 이상 질량분석을 연속해서 수행하는 기법

- 한 번의 질량분석: 분자량(m/z)만 확인 → But 화합물의 정확한 정보: 구조적 정보 필요
- 1번 MS: 한 개의 m/z 이온만 선택 → 충돌에 의한 조각화 → 2번 MS에서 조각 이온 분석
- 선택적인 검출 기법을 사용하여 발생되는 간섭의 대부분을 제거 가능.
- 약물 분석, 신생아 대사 질환의 선별 검사, 호르몬 검사, 비타민 D 대사물, 바이오 마커 검사



• 질량분석법(Mass spectrometry, MS) – MALDI-TOF-MS

➢ MALDI-TOF(Time of flight)-MS

- MALDI 법에 의한 이온화 + TOF법에 의한 질량 분리를 조합시킨 방법
- TOF(비행시간) 원리: 질량이 작고(m/z작음) 가벼운 이온일 수록 빨리 검출

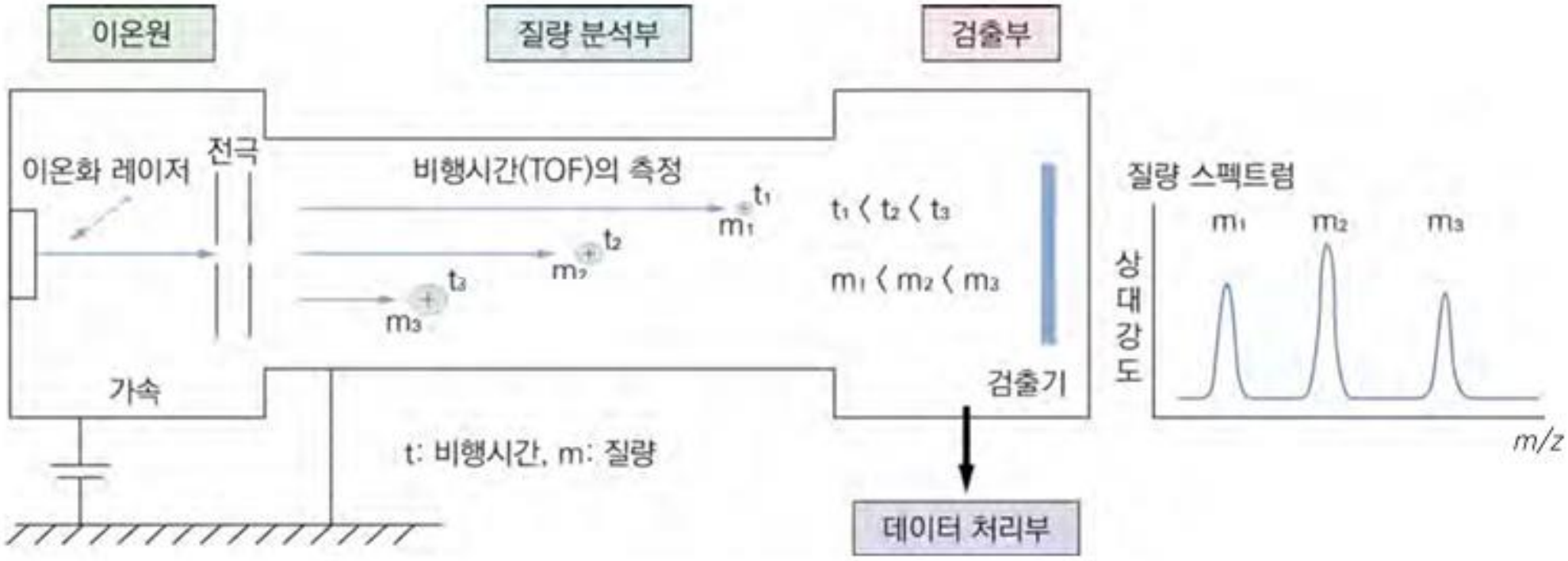
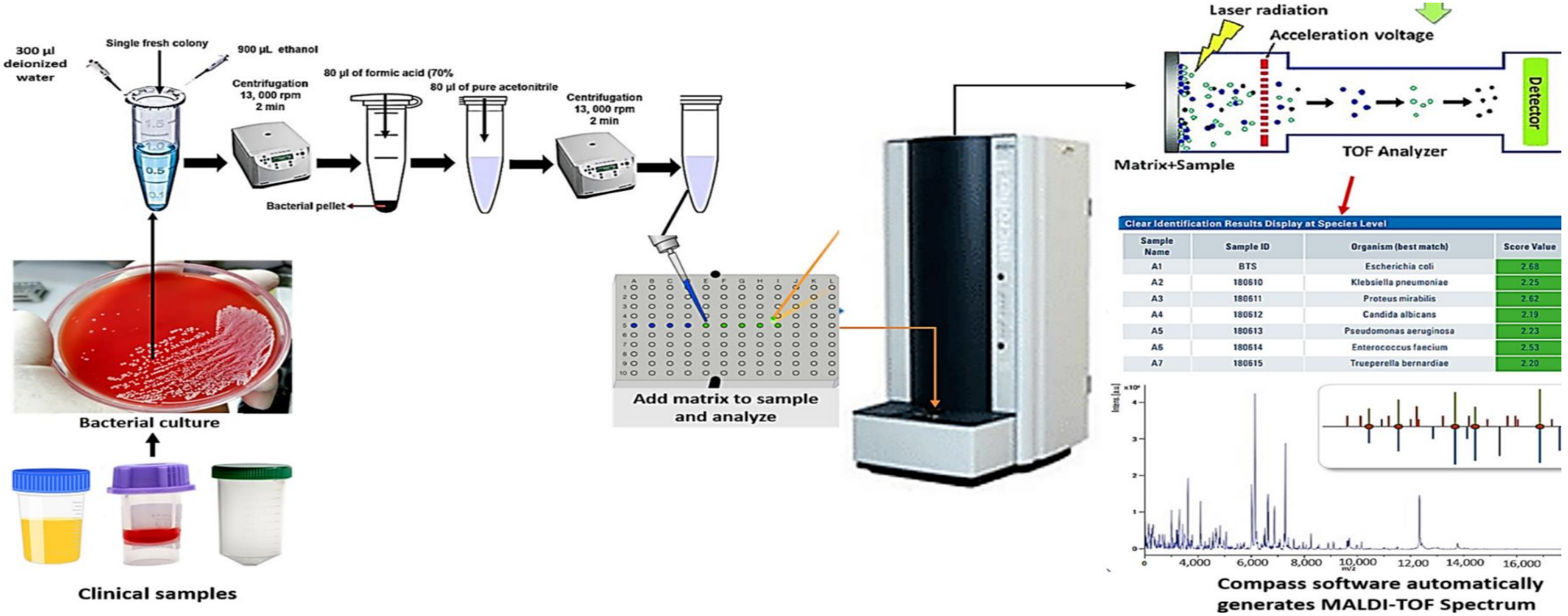


그림 7-3 MALDI-TOF-MS의 개요

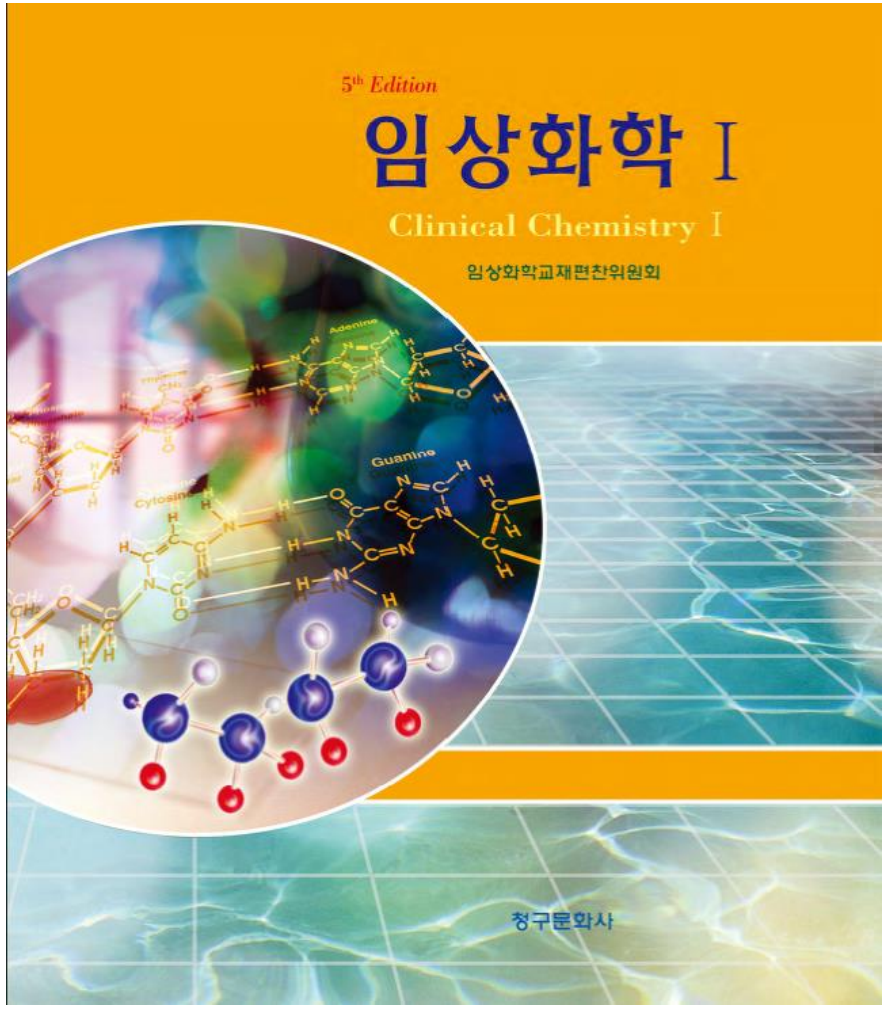
• 질량분석법(Mass spectrometry, MS) – MALDI-TOF-MS

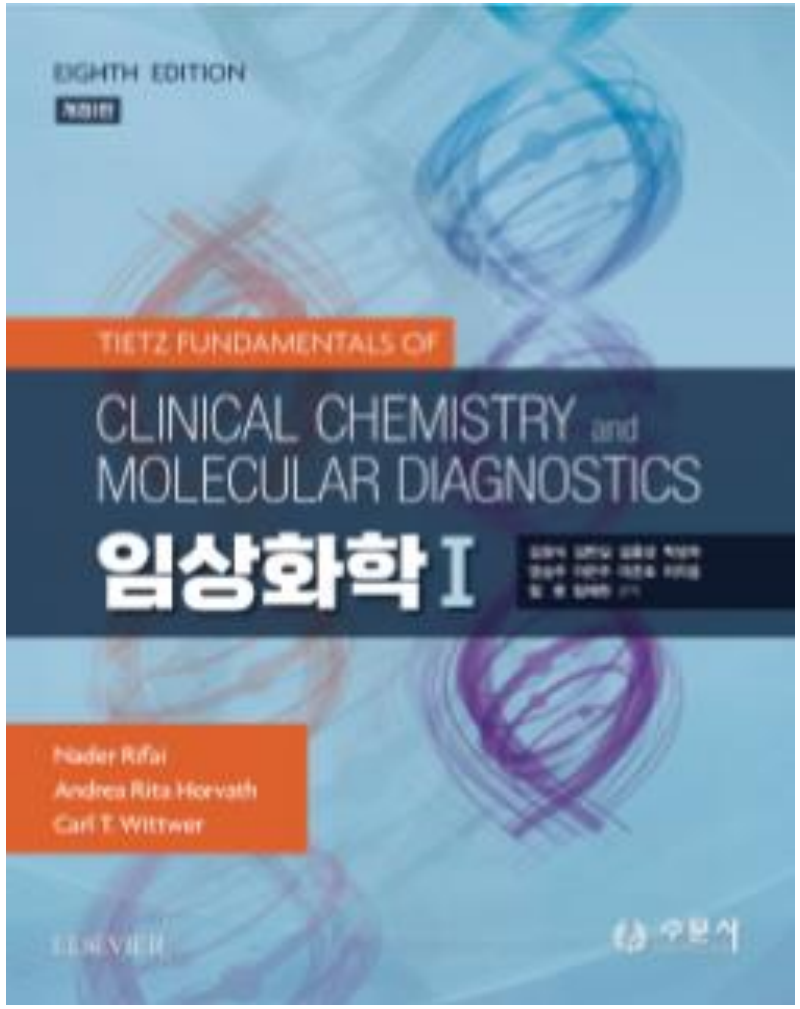
➢ MALDI-TOF(Time of flight)-MS

- 병원 미생물이 생성하는 단백질을 분석하여 병원미생물 동정 검사에 이용



- 출처


5th Edition
임상화학 I
Clinical Chemistry I
임상화학교재편찬위원회
청구문화사


EIGHTH EDITION
TIETZ FUNDAMENTALS OF
CLINICAL CHEMISTRY and
MOLECULAR DIAGNOSTICS
임상화학 I
Nader Rifai
Andrea Rita Horvath
Carl T. Wittwer