



(12) **DEMANDE DE BREVET EUROPEEN**

(43) Date de publication:
06.02.2013 Bulletin 2013/06

(51) Int Cl.:
H01J 49/42 (2006.01)

(21) Numéro de dépôt: **11306019.8**

(22) Date de dépôt: **05.08.2011**

(84) Etats contractants désignés:
AL AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO PL PT RO RS SE SI SK SM TR
Etats d'extension désignés:
BA ME

(71) Demandeurs:
• **INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE (INRA)**
75007 Paris (FR)
• **SYNCHROTRON SOLEIL**
91190 St Aubin (FR)

(72) Inventeurs:
• **Giuliani, Alexandre**
75014 PARIS (FR)
• **Refregiers, Matthieu**
75019 PARIS (FR)
• **Milosavljevic, Aleksandar**
11080 Zemun - BELGRADE (RS)
• **Nahon, Laurent**
75013 PARIS (FR)

(74) Mandataire: **Chauvin, Vincent et al**
Cabinet Harle et Phelip
14/16 rue Ballu
75009 Paris (FR)

(54) **Spectromètre de masse tandem et procédé de spectrométrie de masse tandem**

(57) La présente invention concerne un spectromètre de masse tandem, comprenant une source d'ionisation (1) apte à produire des ions ; un analyseur de masse comprenant un piège à ions (2) disposé de manière à recevoir des ions provenant de la source d'ions et des moyens de détection aptes à détecter des ions sortant du piège à ions en fonction de leur rapport masse m sur charge z (m/z) ; des moyens d'activation des ions aptes à fragmenter au moins une partie des ions piégés dans

le piège à ions et des moyens de couplage disposés entre le piège à ions et lesdits moyens d'activation des ions. Selon l'invention, les moyens d'activation des ions comprennent une lampe à décharge lumineuse (4) apte à générer un faisceau lumineux dirigé vers le piège à ions (2), ledit faisceau lumineux étant un rayonnement électromagnétique dans le domaine de longueurs d'onde de l'ultraviolet du vide à des énergies de photons comprises entre 8 eV et 41 eV de manière à fragmenter au moins une partie diopiégés dans le piège à ions (2)

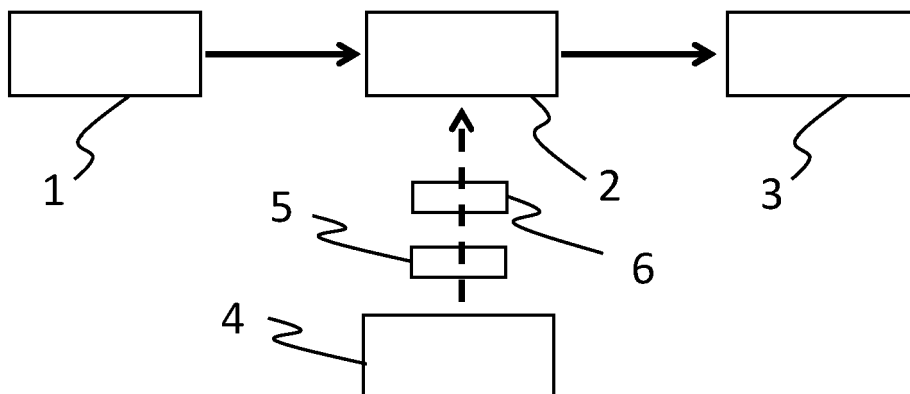


Figure 1

Description

[0001] La présente invention concerne un dispositif et un procédé de spectrométrie de masse tandem.

[0002] La spectrométrie de masse (MS) est une technique d'analyse permettant de détecter des ions provenant d'un échantillon et d'analyser ces ions en fonction de leur rapport (m/z), où m représente la masse d'un ion et z sa charge électrique. La spectrométrie de masse est utilisée dans nombreuses applications pour analyser, identifier et caractériser la structure chimique de molécules ionisées.

[0003] Un spectromètre de masse comprend généralement une source d'ionisation pour former les ions à partir d'un échantillon à analyser, un analyseur qui sépare les ions en fonction de leur rapport m/z et un détecteur. Un spectre de masse est obtenu par l'enregistrement de l'abondance des ions en fonction de leur rapport masse sur charge (m/z). Cependant, la spectrométrie de masse simple ne permet pas toujours de différencier des ions ayant des rapports m/z identiques, notamment dans le cas de molécules complexes.

[0004] La spectrométrie de masse tandem est une méthode d'analyse d'ions qui consiste à sélectionner un ion par une première étape de spectrométrie de masse, à le fragmenter puis à effectuer une ou plusieurs autres étape(s) de spectrométrie de masse sur les fragments d'ions ainsi générés, dans laquelle les étapes d'analyse en masse peuvent être séparées spatialement ou temporellement. La spectrométrie de masse tandem peut être réalisée en isolant un ion dans un piège à ions puis en lui fournissant une quantité d'énergie interne suffisante pour qu'il fragmente : cette étape est appelée l'activation. La détection des produits de cette fragmentation peut fournir des informations sur la structure de l'ion parent. La spectrométrie de masse tandem est à la base des applications de la spectrométrie de masse en analyse structurale et notamment du séquençage des protéines et des autres biopolymères (comme les sucres ou les acides nucléiques).

[0005] Il existe différentes méthodes d'activation pour fragmenter des ions. Chaque méthode d'activation met en jeu des moyens d'activation différents qui peuvent conduire à des produits d'activation différents.

[0006] La méthode d'activation d'ions la plus couramment utilisée est appelée CID pour « Collision Induced Dissociation ». L'activation par CID consiste à activer les ions par collision inélastique entre les ions et les espèces cibles neutres, comme les atomes ou molécules d'un gaz rare (hélium, azote, argon...). Elle consiste à convertir une partie de l'énergie cinétique de l'ion en énergie interne. Cette méthode fait partie de la classe des méthodes vibrationnelles d'activation, qui s'apparentent à un chauffage lent de l'ion. Malgré sa popularité, l'activation par CID présente des inconvénients. Tout d'abord, sous l'effet des collisions entre ions et molécules de gaz, les trajectoires des ions peuvent être modifiées. L'étape de CID peut ainsi conduire à une perte d'ions et à une baisse

de résolution au niveau du détecteur. Sous l'effet de la CID, il se produit dans le piège à ions une compétition entre l'activation et l'éjection des ions. D'autre part, l'activation par CID produit une excitation non sélective des ions : tous les ions présents dans le piège à ions peuvent être excités par collision avec le gaz. Enfin, l'efficacité de cette méthode diminue avec l'augmentation du rapport masse sur charge des ions. Les mécanismes mis en jeu par la CID sont statistiques et peuvent conduire à la rupture des liaisons les plus fragiles. La CID ne permet donc pas d'analyser certains ions de rapport m/z élevé, ni d'obtenir des informations de séquence pour certaines molécules ayant des liaisons fragiles.

[0007] On connaît aussi une autre méthode d'activation par laser. Le document EP1829082 décrit l'utilisation en spectrométrie de masse tandem d'un laser émettant dans le domaine visible et ultraviolet proche. Les ions peuvent absorber l'énergie des photons du faisceau laser. En principe, une activation sélective peut être générée en fonction de la longueur d'onde d'émission du laser. Toutefois, les longueurs d'ondes lasers disponibles sont limitées au visible et à l'ultraviolet proche et ont une énergie de photons limitée à environ 6.2 eV (ou 200 nm).

[0008] Un des buts de l'invention est de fournir un dispositif et un procédé d'analyse par spectrométrie de masse à la fois sélectif et permettant une résolution et une efficacité de détection élevées, y compris pour des ions de rapport m/z élevé.

[0009] Un autre but de l'invention est de fournir un dispositif et un procédé d'analyse par spectrométrie de masse tandem permettant d'obtenir des produits de fragmentation différents et/ou complémentaires des techniques antérieures.

[0010] Encore un autre but de l'invention est de fournir un dispositif et un procédé d'analyse par spectrométrie de masse tandem permettant d'obtenir des produits de fragmentation analogues à ceux obtenus par les techniques antérieures, mais pour un coût de fonctionnement réduit.

[0011] La présente invention a pour but de remédier aux inconvénients des techniques antérieures et concerne plus particulièrement un spectromètre de masse tandem, comprenant une source d'ionisation apte à produire des ions ; un analyseur de masse comprenant un piège à ions disposé de manière à recevoir des ions provenant de la source d'ions et des moyens de détection aptes à détecter des ions sortant du piège à ions en fonction de leur rapport masse m sur charge z (m/z) ; des moyens d'activation des ions aptes à activer au moins une partie des ions piégés dans le piège à ions et des moyens de couplage disposés entre le piège à ions et lesdits moyens d'activation des ions.

[0012] Selon l'invention, les moyens d'activation des ions comprennent une lampe à décharge lumineuse apte à générer un faisceau lumineux dirigé vers le piège à ions, ledit faisceau lumineux étant un rayonnement électromagnétique dans le domaine de l'ultraviolet du vide (VUV) à des énergies de photons comprises entre

8 eV et 41 eV de manière à fragmenter, photoioniser ou conduire au photodétachement d'électrons au moins une partie des ions piégés dans le piège à ions.

[0013] Selon différents aspects particuliers de l'invention :

- le dispositif comprend en outre des moyens de commande de l'allumage de lampe à décharge luminescente de manière à contrôler le début et la durée d'activation par rayonnement VUV ;
- lesdits moyens de couplage comprennent un obturateur de faisceau de manière à contrôler le début et la durée d'activation par rayonnement VUV ;
- lesdits moyens de couplage comprennent une fenêtre optique transparente au rayonnement VUV ;
- lesdits moyens de couplage comprennent un système optique à miroir et/ou à lentille disposé de façon à optimiser l'interaction du faisceau de rayonnement VUV avec un paquet d'ions stocké dans le piège à ions ;
- lesdits moyens de couplage comprennent des moyens de liaison mécanique sous vide et des moyens de pompage différentiel aptes à pomper la lampe à décharge luminescente de manière à permettre le fonctionnement simultané de la lampe à décharge luminescente et du spectromètre de masse ;
- la source d'ionisation comprend une source électrospray, une source d'impact électronique, source d'ionisation chimique, une source de photoionisation, une source à désorption induite par laser assistée par matrice (MALDI), une source MALDI à pression atmosphérique, une source d'ionisation chimique à pression atmosphérique ou une source de photoionisation à pression atmosphérique ;
- la lampe à décharge luminescente est une lampe à décharge dans un gaz d'hélium, de néon, d'argon, de krypton ou d'un mélange d'une pluralité de ces gaz ;
- le piège à ions comprend un piège à ions radiofréquence, un piège à ions radiofréquence 3D ou un piège à ions linéaire quadripolaire ;
- les moyens de détection comprennent un détecteur d'ions ou un autre analyseur de masse muni d'un détecteur d'ions, ou un analyseur de masse à temps de vol.

[0014] La présente invention concerne aussi un procédé de spectrométrie de masse tandem, comprenant les étapes suivantes :

o génération d'ions au moyen d'une source d'ions ;

o piégeage d'au moins une partie des ions provenant de la source d'ions ;

o sélection et activation des ions piégés de manière à activer au moins une partie des ions piégés dans

le piège à ions ;

o analyse et détection des ions en sortie du piège à ions en fonction de leur rapport masse m sur charge z (m/z) ;

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

[0015] Selon le procédé de l'invention, l'étape de sélection et activation des ions comprend une étape de photoactivation des ions piégés par un faisceau lumineux provenant d'une lampe à décharge luminescente, ledit faisceau lumineux étant un rayonnement électromagnétique dans le domaine de longueurs d'onde de l'ultraviolet du vide à des énergies de photons comprises entre 8 eV et 41 eV de manière à fragmenter, photoioniser ou conduire au photodétachement d'électrons au moins une partie des ions piégés dans le piège à ions.

[0016] Selon différents aspects particuliers du procédé de l'invention :

- la longueur d'onde du faisceau lumineux émis par la lampe à décharge luminescente est ajustée de manière à obtenir différents produits de fragmentation des ions ;
- l'activation des ions est appliquée pendant une durée prédéterminée ;
- le procédé comprend une ou plusieurs étapes de sélection et d'activation avant l'analyse et la détection des ions.

[0017] L'invention trouvera une application particulièrement avantageuse dans la spectrométrie de masse tandem.

[0018] La présente invention concerne également les caractéristiques qui ressortiront au cours de la description qui va suivre et qui devront être considérées isolément ou selon toutes leurs combinaisons techniquement possibles.

[0019] Cette description donnée à titre d'exemple non limitatif fera mieux comprendre comment l'invention peut être réalisée en référence aux dessins annexés sur lesquels :

- la figure 1 représente schématiquement un dispositif de spectrométrie de masse tandem selon l'invention ;
- la figure 2 représente schématiquement un dispositif de spectrométrie de masse tandem selon un premier mode de réalisation de l'invention ;
- la figure 3 représente schématiquement un dispositif de spectrométrie de masse tandem selon un second mode de réalisation de l'invention.

[0020] Nous proposons un nouveau dispositif pour l'analyse par spectrométrie de masse, mettant en oeuvre d'une part un spectromètre de masse du type piège à ions et un faisceau ultraviolet produit par une lampe à décharge assurant la photoactivation (par fragmentation, photoionisation, et/ou photodétachement) des molécul-

les ionisées accumulées dans le spectromètre de masse.

[0021] Nous proposons un couplage entre une lampe à décharge et un piège à ion. Une ouverture est aménagée dans le spectromètre de masse de façon à permettre l'irradiation des ions dans le piège. Cette ouverture nécessite de régler les questions en relation avec la préservation d'un niveau de vide compatible avec le fonctionnement du piège à ion et/ou du spectromètre de masse. Dans le cas où la lampe n'est pas scellée et n'a pas de fenêtre, un pompage différentiel doit être mis en place entre la lampe et le piège à ion ou le spectromètre de masse de façon à s'accommoder de la différence de pression entre ces deux éléments. Dans les cas où le rayonnement émis par la lampe peut être transmis à travers un système de fenêtre étanche au vide, comme par exemple une fenêtre en silice fondue, en MgF_2 , en CaF_2 , LiF_2 etc., une fenêtre adéquate et étanche au vide peut être placée sur l'ouverture pratiquée dans le spectromètre de masse ou dans le piège à ion, de façon à maintenir le niveau de vide requis dans le spectromètre de masse ou le piège à ion. L'espace entre la lampe et la fenêtre donnant accès aux ions est rendu transparent au rayonnement délivré par la lampe. Cela peut se faire par une mise sous vide de cet espace ou bien par son remplissage par un gaz transparent au rayonnement car l'ultraviolet du vide (VUV) est totalement absorbé par les gaz de l'atmosphère. La lampe peut aussi être montée directement à la place de la fenêtre d'accès au spectromètre. De manière optionnelle, un ou plusieurs composants optiques (comme par exemple un ou plusieurs miroirs ou encore une ou plusieurs lentilles) peuvent être installés entre la lampe et le piège à ion de façon à améliorer l'irradiation des ions. De préférence, le dispositif comprend un système permettant de contrôler le déclenchement et la durée de l'irradiation. Ce système de contrôle de l'irradiation peut être un obturateur électromécanique de faisceau par exemple ou tout autre système pour obturer physiquement le rayonnement. Ce système de contrôle de l'irradiation peut aussi être un moyen de commande de l'allumage de la lampe par intermittence.

[0022] Nous proposons une nouvelle méthode d'activation basée sur l'excitation d'ions au moyen d'un rayonnement dans l'ultraviolet du vide émis par une lampe à décharge lumineuse.

[0023] La figure 1 représente un schéma de principe de l'invention. La figure 1 n'est pas à l'échelle et sert à illustrer la description de l'invention. Le système de l'invention comprend une source d'ions 1, un piège à ions 2, un système de détection 3, une lampe à décharge VUV (vacuum ultraviolet) 4, un système d'obturation du faisceau 5 et des moyens de couplage optiques, mécanique et de technique du vide 6. Les flèches en trait plein représentent schématiquement le flux des ions et la flèche en trait pointillé le faisceau lumineux VUV.

[0024] La source d'ions 1 génère des ions par interaction physique et/ou chimique avec un échantillon à analyser. Selon les cas, l'échantillon à analyser peut se présenter sous forme solide, liquide ou gazeuse. La source

d'ions 1 peut être de différents types : source à impact d'électrons (EI), source d'ionisation chimique (CI), source à photoionisation (PI), source à désorption induite par laser assistée par matrice (MALDI), source MALDI à pression atmosphérique (AP-MALDI), source d'ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI), source de photoionisation à pression atmosphérique (APPI) ou électrospray (ESI). La source d'ions génère donc des ions que l'on cherche à analyser au moyen de l'analyseur de masse.

[0025] Les ions produits par la source d'ions sont transmis dans un piège à ions 2. Un piège à ions est un type particulier d'appareil qui permet de stocker des ions dans l'espace sous la forme d'un nuage d'ions. Un piège à ions comprend généralement une entrée pour l'injection des ions, une région où le piégeage s'effectue et une sortie pour l'éjection des ions vers un détecteur ou un analyseur de masse en tandem muni de son système de détection.

[0026] Le piège à ions 2 peut être de type radiofréquence tel qu'un piège 3D, piège linéaire quadripolaire ou encore d'un autre type. Dans l'exemple, le piège à ions 2 permet d'analyser les ions produits par la source d'ions selon leur rapport masse sur charge (m/z), dans un fonctionnement de type spectrométrie de masse (MS). Le piège à ions 2 permet de sélectionner et d'isoler une gamme de rapport m/z en vue d'une expérience de spectrométrie de masse tandem. Les ions piégés sont ensuite activés par interaction avec un faisceau de rayonnement VUV provenant d'une lampe à décharge 4.

[0027] La lampe à décharge 4 émet un rayonnement électromagnétique du type VUV (pour Vacuum Ultra Violet ou encore ultraviolet du vide) c'est à dire dans un domaine de longueurs d'onde s'étendant d'environ 30 nm à moins de 180 nm. Cette lampe peut être du type UVS40A2 de chez Henner Scientific, type VUV500 de chez Scienta ou type PID (PXS084, PXR 084 etc) de chez Heraeus Noblelight. Rappelons brièvement le fonctionnement d'une lampe à décharge : une décharge électrique ou une décharge micro-onde excite un gaz qui émet un rayonnement de fluorescence. Le gaz, qui peut être de l'hélium, du néon, de l'argon, du krypton ou tout autre gaz, émet un rayonnement électromagnétique dans le VUV, et plus précisément dans un domaine d'énergie compris entre 8 et 41 eV, c'est-à-dire pour des longueurs d'onde comprises entre environ 30 nm et 155 nm.

[0028] L'étape d'activation est assurée par l'éclairement des ions dans le piège à ions au moyen du faisceau lumineux de la lampe VUV. La lampe peut être scellée et fermée par une fenêtre transparente au rayonnement. La lampe peut aussi délivrer un rayonnement trop énergétique et qui est absorbé par les matériaux des fenêtres classiques étanches au vide. Dans ce cas, il convient d'éviter de placer une fenêtre absorbante sur le chemin optique entre la lampe et le piège à ions, tout en assurant des conditions de fonctionnement sous vide différentes pour le piège à ions et respectivement pour la lampe.

Une solution consiste à appliquer un pompage différentiel de la lampe pour maintenir des conditions de pression compatibles avec le déclenchement et le maintien de la décharge lumineuse nécessaire à la production de rayonnement VUV et des conditions de pression compatibles avec le fonctionnement du spectromètre de masse ou du piège à ion. Si la longueur d'onde du rayonnement de la lampe le permet, une fenêtre optique étanche au vide est montée sur le spectromètre de masse ou le piège à ion. L'espace intermédiaire entre la lampe et la fenêtre donnant accès aux ions est rendu transparent au rayonnement VUV délivré par la lampe. Cela peut se faire par une mise sous vide de cet espace intermédiaire ou bien par son remplissage par un gaz transparent au rayonnement car l'ultra-violet du vide (VUV) est totalement absorbé par les gaz de l'atmosphère. La lampe peut aussi être montée directement à la place de la fenêtre d'accès au spectromètre. D'éventuels éléments d'optiques (comme par exemple un ou plusieurs miroirs ou encore une ou plusieurs lentilles) peuvent être installés entre la lampe et le piège à ions de façon à améliorer l'irradiation des ions si nécessaire.

[0029] Les ions piégés dans le piège à ions reçoivent un rayonnement VUV qui les active par photo-activation.

[0030] Les étapes de sélection, isolation et d'activation des ions sont pratiquées dans le piège à ion et peuvent être répétées si le piège le permet dans un niveau n de spectrométrie de masse tandem MS^n . Ainsi, suite à une première étape de spectrométrie de masse tandem, une gamme de rapport m/z peut être sélectionnée à nouveau et donner lieu à une nouvelle procédure d'activation - fragmentation. Cette procédure peut être répétée n fois avant la détection des ions.

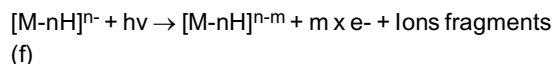
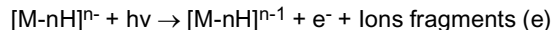
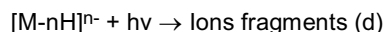
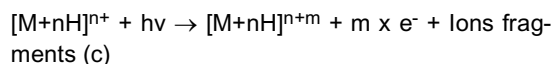
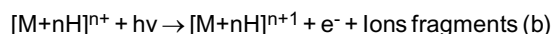
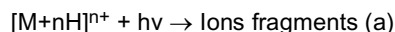
[0031] Le détecteur 3 est un détecteur classique de spectromètre de masse et permet la détection des ions sortant du piège à ions 2. À la place du détecteur 3, un autre type d'analyseur avec son système de détection peut être installé, comme par exemple un analyseur à temps de vol muni de son propre système de détection des ions.

[0032] La figure 2 représente schématiquement un dispositif de spectrométrie de masse MS-MS selon un mode de réalisation de la présente invention. Dans cet exemple, les ions sont formés par une source electrospray 1 et transférés par un capillaire 1a dans un système d'optique ionique 1 b. Le système d'optique ionique 1 b conduit les ions dans le piège à ions 2, qui est dans cet exemple de type quadripolaire linéaire. La lampe VUV 4 est une lampe à décharge dans un gaz. Une décharge micro-onde ou bien électrique dans un gaz provoque l'émission d'une radiation VUV. La longueur d'onde de cette émission dépend de la nature du gaz. On peut par exemple utiliser de l'hélium, du néon, de l'argon ou du krypton, ou tout autre gaz. Le rayonnement VUV est absorbé par les ions et peut conduire à de la photodissociation, du photo-détachement et/ou de la photo-ionisation. Dans une expérience de spectrométrie de masse tandem, des ions d'intérêt sont sélectionnés et puis sou-

mis à l'irradiation durant un temps qui peut être contrôlé par un obturateur de faisceau 5. Le rayonnement VUV pénètre dans le piège à ion par le biais d'une ouverture. Cette ouverture peut être scellée par une fenêtre optique transparente au rayonnement. Cette ouverture peut être en contact direct avec la lampe par le biais d'un système de pompage différentiel 6 qui maintient un vide adéquat au fonctionnement de la lampe et du spectromètre de masse et du piège à ion. Lorsque l'irradiation est terminée, le contenu du piège à ion est analysé par le système de détection 3.

[0033] La figure 3 représente schématiquement un exemple de dispositif selon un second mode de réalisation de la présente invention, dans lequel une autre géométrie du montage de la lampe VUV est utilisée. La géométrie du montage de la lampe n'est pas restrictive. Elle doit permettre l'irradiation des ions.

[0034] Différents types de réactions peuvent être induites par absorption de lumière VUV, dont voici quelques exemples :



[0035] Dans le cas d'un ion positif, l'absorption de lumière VUV peut conduire à de la photodissociation (voie a) produisant des ions fragments informatifs sur la séquence d'un ion de polypeptide par exemple ou d'un autre biopolymère ou molécule ionisée. Si l'énergie des photons est suffisante, il est possible de photoioniser les ions pour produire des photo-ions dont la charge peut être augmentée une fois (voie b) ou m fois (voie c). Des ions fragments peuvent être formés.

[0036] Dans le cas d'un ion négatif, l'absorption de lumière VUV peut conduire à la photodissociation des ions, pour former des ions fragments, informatifs sur la séquence d'un ion de polypeptide ou d'un autre biopolymère ou molécule ionisée (voie d). Si l'énergie des photons est suffisante, des électrons peuvent photodétachés (voies e et f) et mener à des ions fragments.

[0037] La photoactivation par rayonnement d'une lampe VUV peut conduire à des fragmentations similaires à celles obtenus par des techniques antérieures. Toutefois, la photoactivation par rayonnement d'une lampe VUV peut aussi permettre de produire des fragmentations qui ne sont pas accessibles par activation laser.

[0038] Les lampes à décharge présentent des proprié-

tés très différentes des lasers en termes de puissance, de domaine de longueur d'onde et d'accordabilité en longueur d'onde. En effet, une lampe à décharge VUV permet de générer un faisceau de photons plus énergétiques qu'un faisceau laser et donc d'accéder à l'ultraviolet lointain et l'ultraviolet du vide (VUV).

[0039] Le couplage d'un spectromètre de masse et d'une lampe VUV n'a jamais été rapporté. Par rapport aux méthodes utilisant des lasers UV, les lampes à décharge VUV sont peu chères. Les lampes à décharge sont faciles d'utilisation. Ces lampes ne présentent pas de risques spécifiques comme les lasers. Néanmoins, le principe de ces lampes est d'utiliser le rayonnement de fluorescence émis par un gaz après qu'il ait été excité (par une décharge électrique, décharge micro-onde). Il peut donc être nécessaire d'alimenter la lampe avec une source de gaz, par exemple une bouteille de gaz, si la lampe n'est pas scellée. Les lampes à décharge sont versatiles : la longueur d'onde de la radiation émise est accordable en fonction de la nature du gaz. On peut donc choisir une longueur d'onde mieux adaptée au processus que l'on souhaite favoriser.

[0040] La méthode d'activation de l'invention présente différents avantages par comparaison aux techniques antérieures. Comparée à la CID, il n'y a pas de compétition entre excitation et éjection, car les trajectoires des ions ne sont pas perturbées par l'interaction avec la lumière VUV.

[0041] Le procédé de l'invention est basé sur l'activation d'ion consécutive à l'interaction avec un faisceau de photon VUV, laquelle peut être très sélective selon la longueur d'onde de la lumière incidente. La section efficace de photoabsorption augmente avec la taille des espèces ioniques (leur nombre d'électrons) et donc avec la masse moléculaire de l'espèce irradiée.

[0042] Le dispositif et le procédé de l'invention permettent ainsi une analyse par spectrométrie de masse à la fois sélective et ayant une forte efficacité, y compris pour des ions de haute masse moléculaire.

[0043] Avantagusement, les fragmentations générées par la méthode de l'invention peuvent être différents et complémentaires par rapport aux autres méthodes de fragmentation et par rapport à la CID notamment. Ainsi, les fragmentations générées par CID sont principalement de type *b*- et *y*- pour les polypeptides alors que la photodissociation produit des ions de type variés, notamment la formation ions *a*- et *x*- a été rapportée.

Revendications

1. Spectromètre de masse tandem, comprenant :

- une source d'ionisation (1) apte à produire des ions ;
- un analyseur de masse comprenant un piège à ions (2) disposé de manière à recevoir des ions provenant de la source d'ions (1) et des

moyens de détection aptes à détecter des ions sortant du piège à ions en fonction de leur rapport masse *m* sur charge *z* (*m/z*) ;

- des moyens d'activation des ions aptes à activer au moins une partie des ions piégés dans le piège à ions (2) et
- des moyens de couplage (5, 6) disposés entre le piège à ions (2) et lesdits moyens d'activation des ions (4) ;

caractérisé en ce que :

les moyens d'activation des ions comprennent une lampe à décharge luminescente (4) apte à générer un faisceau lumineux dirigé vers le piège à ions (2), ledit faisceau lumineux étant un rayonnement électromagnétique dans le domaine de l'ultraviolet du vide (VUV) à des énergies de photons comprises entre 8 eV et 41 eV de manière à fragmenter, photoioniser ou conduire au photodétachement d'électrons au moins une partie des ions piégés dans le piège à ions (2).

2. Spectromètre de masse selon la revendication 1 comprenant en outre des moyens de commande de l'allumage de lampe à décharge luminescente (4) de manière à contrôler le début et la durée d'activation par rayonnement VUV.
3. Spectromètre de masse selon la revendication 1 ou la revendication 2 dans lequel lesdits moyens de couplage comprennent un obturateur (5) de faisceau de manière à contrôler le début et la durée d'activation par rayonnement VUV.
4. Spectromètre de masse selon l'une des revendications 1 à 3 dans lequel lesdits moyens de couplage comprennent une fenêtre optique transparente au rayonnement VUV.
5. Spectromètre de masse selon l'une des revendications 1 à 4 dans lequel lesdits moyens de couplage comprennent un système optique (5) à miroir et/ou à lentille disposé de façon à optimiser l'interaction du faisceau de rayonnement VUV avec un paquet d'ions stocké dans le piège à ions (2).
6. Spectromètre de masse selon l'une des revendications 1 à 5 dans lequel lesdits moyens de couplage comprennent des moyens de liaison mécanique sous vide et des moyens de pompage différentiel (6) aptes à pomper la lampe à décharge luminescente (4) de manière à permettre le fonctionnement simultané de lampe à décharge luminescente (4) et du spectromètre de masse.
7. Spectromètre de masse selon l'une des revendications 1 à 6 dans lequel la source d'ionisation (1) com-

prend une source electrospray, une source d'impact électronique, source d'ionisation chimique, une source à photoionisation, une source à désorption induite par laser assistée par matrice (MALDI), une source MALDI à pression atmosphérique, une source d'ionisation chimique à pression atmosphérique ou une source de photoionisation à pression atmosphérique.

8. Spectromètre de masse selon l'une des revendications 1 à 7 dans lequel la lampe à décharge lumineuse (4) est une lampe à décharge dans un gaz d'hélium, de néon, d'argon, de krypton ou d'un mélange d'une pluralité de ces gaz. 10

9. Spectromètre de masse selon l'une des revendications 1 à 8 dans lequel le piège à ions (2) comprend un piège à ions radiofréquence, un piège à ions radiofréquence 3D ou un piège à ions linéaire quadrupolaire. 15 20

10. Spectromètre de masse selon l'une des revendications 1 à 9 dans lequel les moyens de détection comprennent un détecteur d'ions (3) ou un autre analyseur de masse muni d'un détecteur d'ions (3). 25

11. Procédé de spectrométrie de masse tandem, comprenant les étapes suivantes :

- génération d'ions au moyen d'une source d'ions ; 30
- piégeage d'au moins une partie des ions provenant de la source d'ions (1) ;
- sélection et activation des ions piégés de manière à activer au moins une partie des ions piégés dans le piège à ions (2) ; 35
- analyse et détection des ions en sortie du piège à ions en fonction de leur rapport masse m sur charge z (m/z) ; 40

caractérisé en ce que l'étape de sélection et activation des ions comprend une étape de photoactivation des ions piégés par un faisceau lumineux provenant d'une lampe à décharge lumineuse (4), ledit faisceau lumineux étant un rayonnement électromagnétique dans le domaine de longueurs d'onde de l'ultraviolet du vide à des énergies de photons comprises entre 8 eV et 41 eV de manière à fragmenter, photoioniser ou conduire au photodétachement d'électrons au moins une partie des ions piégés dans le piège à ions (2). 45 50

12. Procédé de spectrométrie de masse tandem selon la revendication 11 dans lequel la longueur d'onde du faisceau lumineux émis par la lampe à décharge lumineuse (4) est ajustée de manière à obtenir différents produits de fragmentation des ions. 55

13. Procédé de spectrométrie de masse tandem selon la revendication 11 ou 12 dans lequel l'activation des ions est appliquée pendant une durée prédéterminée.

14. Procédé de spectrométrie de masse tandem selon l'une des revendications 11 à 13 comprenant en outre une ou plusieurs étapes de sélection et d'activation avant l'analyse et la détection des ions.

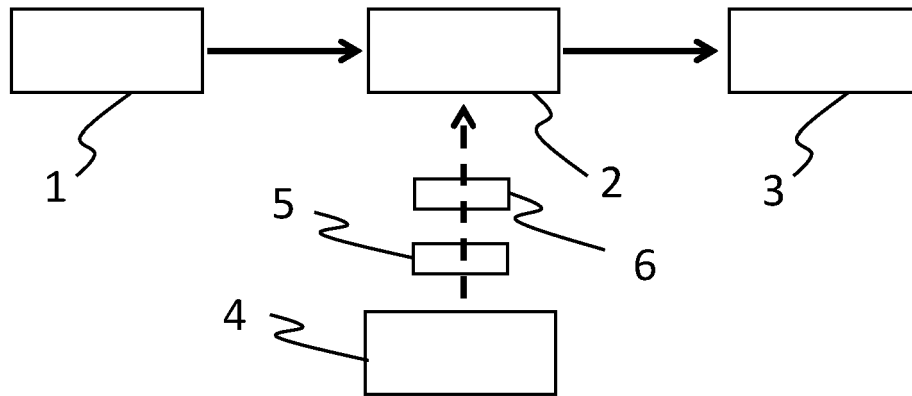


Figure 1

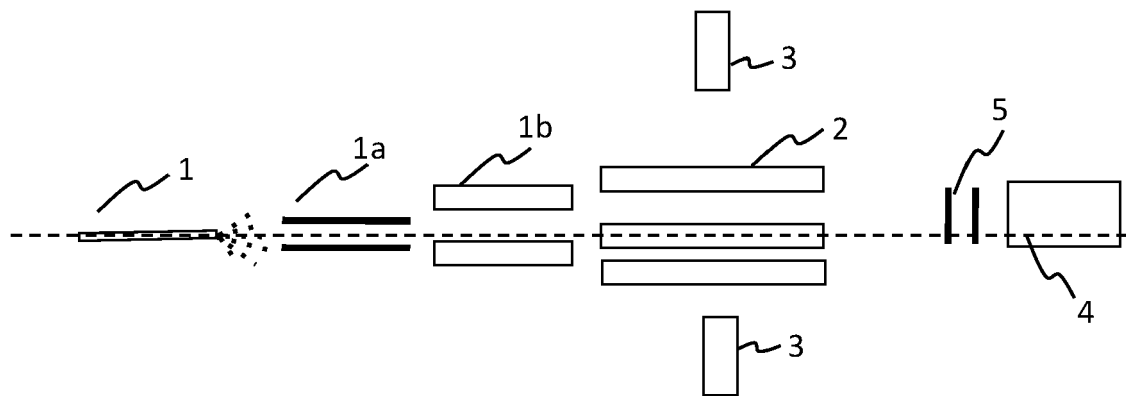


Figure 2

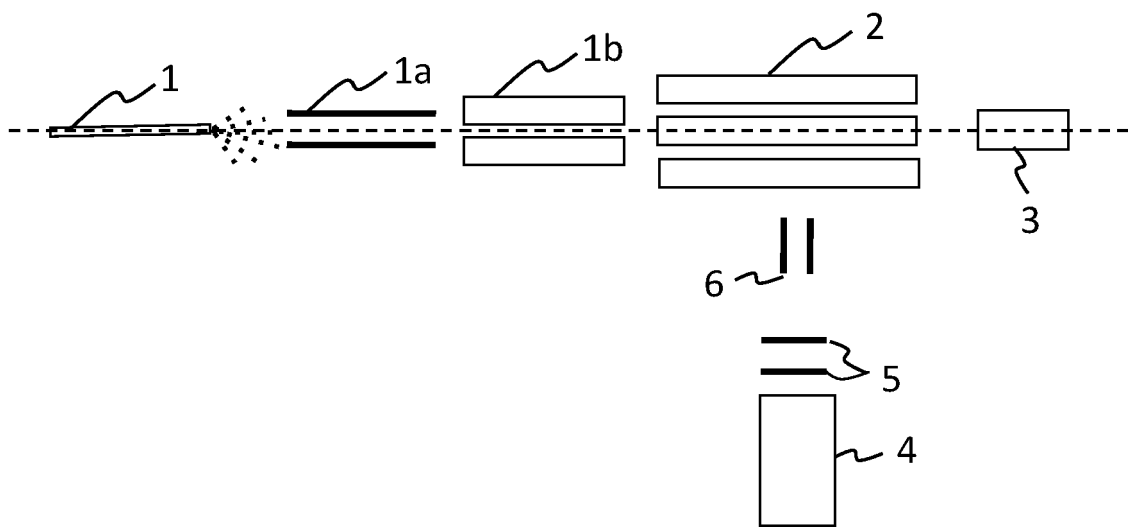


Figure 3



RAPPORT DE RECHERCHE EUROPEENNE

Numéro de la demande

EP 11 30 6019

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (IPC)
X	US 2005/009172 A1 (YAMAKOSHI HIDEO [JP] ET AL) 13 janvier 2005 (2005-01-13) * abrégé; figure 1 * * alinéas [0064] - [0070] * -----	1,8-11	INV. H01J49/42
Y,D	FR 2 879 744 A1 (UNIV CLAUDE BERNARD LYON [FR]; CENTRE NAT RECH SCIENT [FR]) 23 juin 2006 (2006-06-23) * le document en entier * -----	1-14	
Y	US 2007/085040 A1 (REILLY JAMES P [US] ET AL) 19 avril 2007 (2007-04-19) * abrégé; figure 5 * * alinéas [0022] - [0027] * -----	1-14	
A	ZUCKER S M ET AL: "An ion mobility/ion trap/photodissociation instrument for characterization of ion structure", JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY FOR MASS SPECTROMETRY, ELSEVIER SCIENCE INC, US, [Online] vol. 22, no. 9, 9 juillet 2011 (2011-07-09), pages 1477-1485, XP008149942, ISSN: 1044-0305, DOI: DOI:10.1007/S13361-011-0179-8 Extrait de l'Internet: URL:http://www.sciencedirect.com/science/journal/10440305> [extrait le 2011-07-09] * abrégé * * page 1479; figure 1 * -----	1	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (IPC) H01J
A	US 2010/200742 A1 (SCHULTZ J ALBERT [US] ET AL) 12 août 2010 (2010-08-12) * le document en entier * ----- -/--	1	
Le présent rapport a été établi pour toutes les revendications			
Lieu de la recherche La Haye		Date d'achèvement de la recherche 23 mars 2012	Examineur Loiseleur, Pierre
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	

EPO FORM 1503 03.02 (P04C02)



RAPPORT DE RECHERCHE EUROPEENNE

Numéro de la demande

EP 11 30 6019

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (IPC)
A	US 2011/180699 A1 (COOLEY JAMES EDWARD [US] ET AL) 28 juillet 2011 (2011-07-28) * le document en entier * -----	1	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (IPC)
Le présent rapport a été établi pour toutes les revendications			
Lieu de la recherche La Haye		Date d'achèvement de la recherche 23 mars 2012	Examineur Loiseleur, Pierre
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	

EPO FORM 1503 03.82 (P04C02)

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE EUROPEENNE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET EUROPEEN NO.**

EP 11 30 6019

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche européenne visé ci-dessus.

Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

23-03-2012

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 2005009172 A1	13-01-2005	JP 3676298 B2 JP 2003203601 A TW 1222096 B US 2005009172 A1	27-07-2005 18-07-2003 11-10-2004 13-01-2005
FR 2879744 A1	23-06-2006	EP 1829082 A1 FR 2879744 A1 US 2009242753 A1 WO 2006064132 A1	05-09-2007 23-06-2006 01-10-2009 22-06-2006
US 2007085040 A1	19-04-2007	AUCUN	
US 2010200742 A1	12-08-2010	EP 2389681 A1 US 2010200742 A1 WO 2010085720 A1	30-11-2011 12-08-2010 29-07-2010
US 2011180699 A1	28-07-2011	AUCUN	

EPO FORM P0460

Pour tout renseignement concernant cette annexe : voir Journal Officiel de l'Office européen des brevets, No.12/82

RÉFÉRENCES CITÉES DANS LA DESCRIPTION

Cette liste de références citées par le demandeur vise uniquement à aider le lecteur et ne fait pas partie du document de brevet européen. Même si le plus grand soin a été accordé à sa conception, des erreurs ou des omissions ne peuvent être exclues et l'OEB décline toute responsabilité à cet égard.

Documents brevets cités dans la description

- EP 1829082 A [0007]