

Лекция 6  
**МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ**

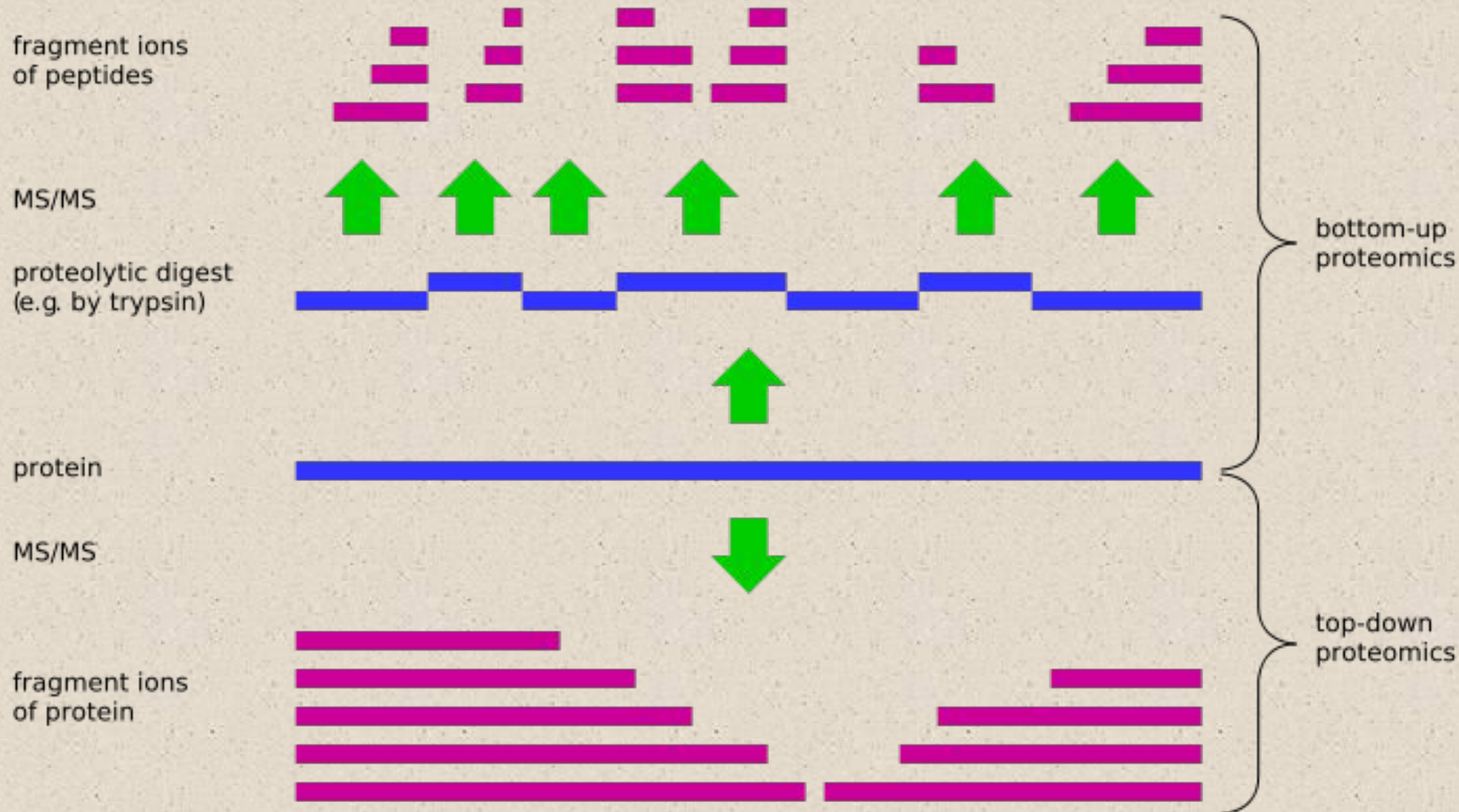
**В ПРОТЕОМНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ**

**Часть 1: Масс-спектрометрия**

# Основные протеомные подходы

Протеомика «сверху-вниз» или «top-down»,

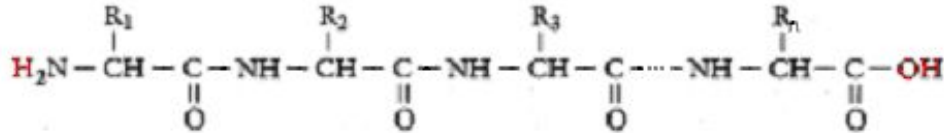
протеомика «снизу-вверх» или «bottom-up», «shot-gun» протеомика



# Белки и пептиды

ADLKQLMDNEVLMAFTSYATIILAKMMFLSSATAFQRLTNKVFANPEDCAGFGKGENAKKFLRT  
 DEKVERVRRRAHLNDLENIVPFLGIGLLYSLSGPDSTALIHFRIFVGARIYHTIAYLTPLPQPNRGL  
 AFFVGYGVTLSMAYRLLRSRLYL

(Глутатион-трансфераза человека)



пептидная  
связь

аминокислотный  
остаток

$$[Mn]^+ = \sum \text{a.o.} + 18 (\text{H}, \text{OH}) + 1 (\text{H}^+)$$

МОНОИЗОТОПН.

C12	12.00000	98.9%
C13	13.00335	1.1%
H	1.00783	100%
O16	15.99491	99.8%
O18	17.99916	0.2%
N14	14.00307	99.6%
N15	15.00011	0.4%
S32	31.97207	95%
S33	32.97146	0.8%
S34	33.96786	4.2%
Na	22.98980	100%
K39	38.96371	93.3%
K41	40.96183	6.7%

## Моноизотопные массы аминокислотных остатков

Alanine	Ala	A	C3H5N1O1	71.0788
Cysteine (SH)	Cys	C	C3H5N1O1S1	103.1448
Asp. acid	Asp	D	C4H5N1O3	115.0886
Glu. acid	Glu	E	C5H7N1O3	129.1155
Phenylala.	Phe	F	C9H9N1O1	147.1766
Glycine	Gly	G	C2H3N1O1	57.0519
Histidine	His	H	C6H7N3O1	137.1411
Isoleu.	Ile	I	C6H11N1O1	113.1594
Lysine	Lys	K	C6H12N2O1	128.1741
Leucine	Leu	L	C6H11N1O1	113.1594
Methionine	Met	M	C5H9N1O1S1	131.1986
Asparagine	Asn	N	C4H6N2O2	114.1038
Proline	Pro	P	C5H7N1O1	97.1167
Glutamine	Gln	Q	C5H8N2O2	128.1307
Arginine	Arg	R	C6H12N4O1	156.1875
Serine	Ser	S	C3H5N1O2	87.0782
Threonine	Thr	T	C4H7N1O2	101.1051
Valine	Val	V	C5H9N1O1	99.1326
Tryptopha.	Trp	W	C11H10N2O1	186.2132
Tyrosine	Tyr	Y	C9H9N1O2	163.1760

# Пептидный фингерпринт

**SAPASTTQPIGSTTTSTTTKTAGATPATASGLFTIPDGDFFFSTARAIVASNAVATNEDLSKIEAIWKD  
MKVPTDTMAQAAWDLVRHCADVGSSAQTEMIDTGPYSNGISRARLAAAIKEVCTLRQFCMKYA  
PVVWNWMLTNNSPPANWQAQGFKPEHKFAAFDFFNGVTNPAAIMPK EGLIRPPSEAEMNAAQT  
AAFVKITKARAQSNDFASLDAAVTRGRITGTTTAEAVVTLPPP**

(Белок оболочки X-вируса картофеля)

Num	From-To	MH+	HPLC	pI	Sequence
1	1- 19	1836.92	14,27	9,85	SAPASTTQPIGSTTTSTTTK
1	1- 19	1878.93	14,27	9,85	SAPASTTQPIGSTTTSTTTK
2	20- 44	2472.20	24,79	3,92	TAGATPA. .PDGDFFFSTAR
3	45- 60	1602.83	12,87	4,11	AIVASNAVATNEDLSK
4	61- 66	759.44	19,33	6,99	IEAIWK
5	67- 69	393.18	4,27	6,99	DMK
6	70- 84	1673.83	19,51	3,92	VPTDTMAQAAWDLVR
7	85-109	2595.13	22,48	4,34	HCADVGSS. .GPYSNGISR
8	110-111	246.16	1,78	11,20	AR
9	112-117	586.39	12,82	10,10	LAAAIK
10	118-123	719.36	14,84	6,29	EVCTLR
11	124-128	655.28	17,08	8,68	QFCMK
12	129-157	3410.65	28,07	9,42	YAPVVWNWM. .QGFKPEHK
13	158-176	2058.02	24,21	6,97	FAAFDFFNGVTNPAAIMPK
14	177-198	2330.18	20,92	4,60	EGLIRPPS. .AAQTAAFVK
15	199-201	361.25	6,80	10,15	ITK
16	202-203	246.16	1,78	11,20	AR
17	204-218	1565.76	14,77	3,92	AQSNDFASLDAAVTR
18	219-220	232.14	2,11	11,15	GR
19	221-236	1567.86	17,90	3,15	ITGTTTAEAVVTLPPP

← Трипсин ( /R,K)  
Стафилококковая протеаза V8 ( /E)  
↓

Num	From-To	MH+	HPLC	pI	Sequence
1	1- 56	5430.68	29,08	4,35	SAPASTTQPI...IVASNAVATNE
1	1- 56	5472.69	29,08	4,35	SAPASTTQPI...IVASNAVATNE
2	57- 62	704.38	12,90	4,11	DLSKIE
3	63- 96	3730.75	28,42	4,58	AIWKDMKVPT. .ADV GSSAQTE
4	97-118	2334.22	22,73	9,58	MIDTGPYSNGISRARLAAAIKE
5	119-155	4353.07	35,01	9,02	VCTLRQFCMKY...NWQAQGFKPE
6	156-177	2452.21	24,30	7,58	HKFAAFDFFNGVTNPAAIMPK E
7	178-185	868.49	16,16	7,04	GLIRPPSE
8	186-187	219.10	1,83	3,25	AE
9	188-228	4255.19	24,38	10,52	MNAAQTAAFV...RGRITGTTTAE
10	229-236	793.48	14,07	6,96	AVVTLPPP

# История масс-спектрометрии

**1912 год** — Томсон создает первый масс-спектрограф и получает масс-спектры молекул кислорода, азота, угарного газа, углекислого газа и фосгена.

1948 год — Камероном и Эггером создан первый масс-спектрометр с время-пролётным масс-анализатором.

1953 год — Пауль патентует квадрупольный масс-анализатор и ионную ловушку.

1956 год — МакЛаферти и Голке создают первый газовый хромато-масс-спектрометр.

1966 год — Мансон и Филд создают ионный источник с химической ионизацией.

1972 год — Каратаев и Мамырин изобретают время-пролётный масс-анализатор с фокусировкой, значительно улучшающий разрешение анализатора.

**1974 год** — Первый жидкостный хромато-масс-спектрометр создан Арпино, Болдуином и МакЛаферти

1981 год — Барбер, Бордоли, Седжвик и Тайлор создают ионизатор с бомбардировкой быстрыми атомами (FAB).

1982 год — Первый масс-спектр целого белка (инсулин) с помощью бомбардировки быстрыми атомами (FAB).

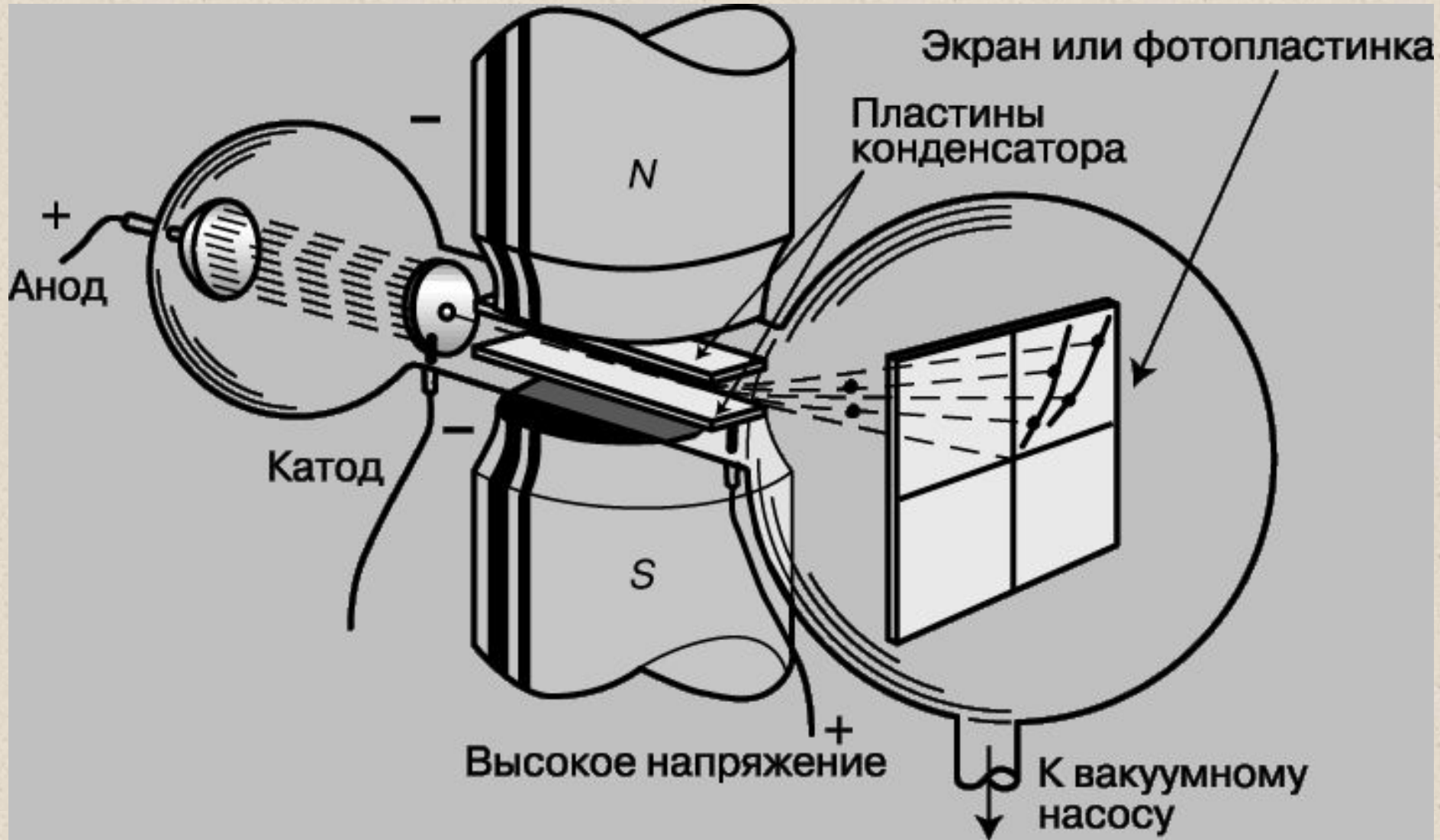
1983 год — Бланки и Бестал изобретают термоспрей.

**1984 год** — Галль, а затем Фенн публикуют работы по методу электроспрей.

**1987 год** — Карас, Бахман, Бар и Хилленкамп изобретают ионизацию лазерной десорбцией при содействии матрицы (MALDI).

1999 год — Александр Макаров изобретает электростатическую ионную ловушку.

# Масс-спектрометр Томсона



# ICP масс-спектрометр (ICP-MS) Серия 7700х



# Электроспрей-TOF (ESI-TOF) масс-спектрометр Серия 6500





# Квадрупольный масс-спектрометр (QMS) 10 000 u/sec | серия 6100



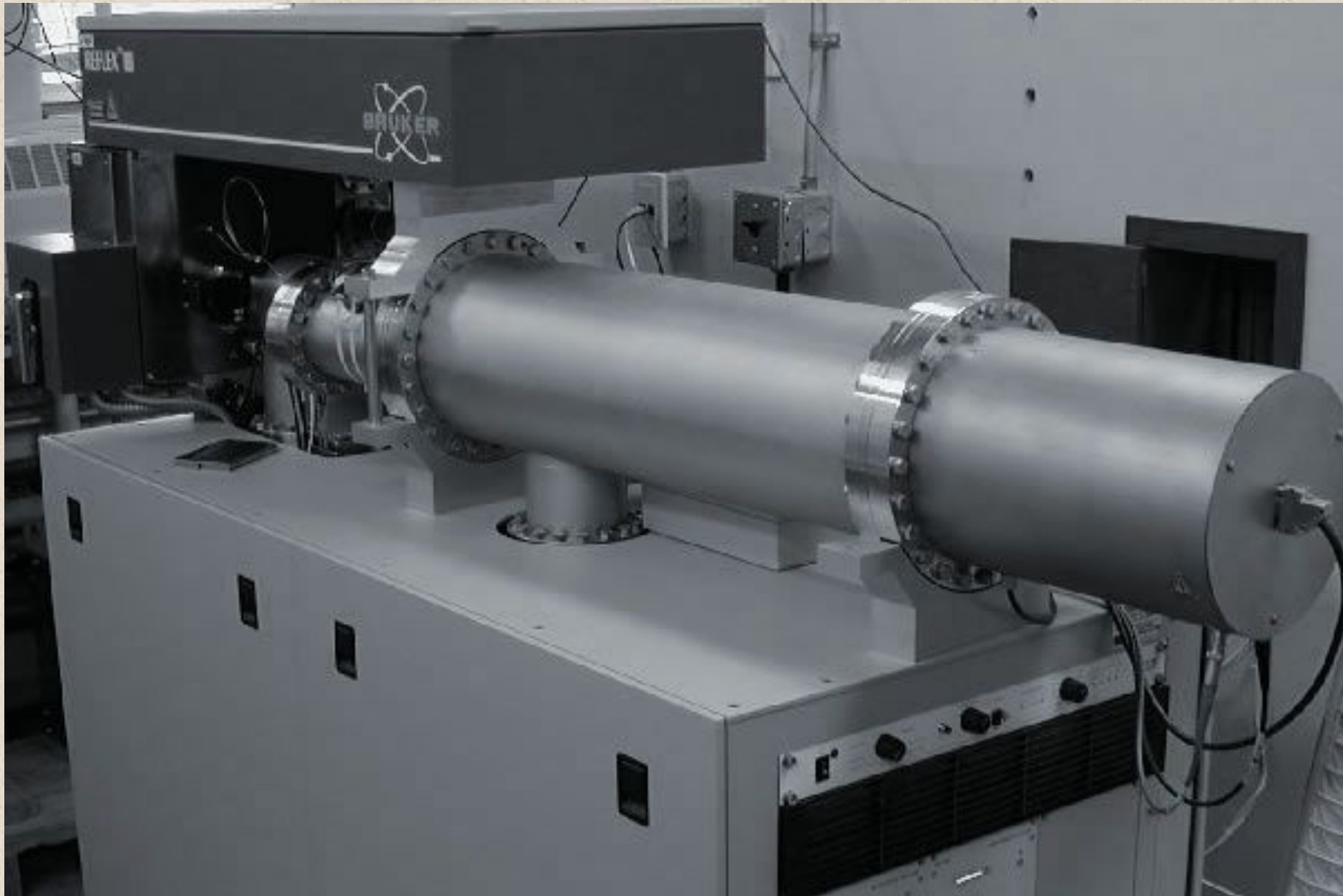
# Тройной квадруполь (QMS) Серия 7000



# Ионная ловушка (ITMS) Серия 6300



# MALDI-TOF: Bruker Reflex III



# Прибор для капиллярного электрофореза с масс-спектрометрическим детектором (CE/MS)



# МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ БЕЛКОВ И ПЕПТИДОВ

Общий вопрос - что измеряется?

$m/z$

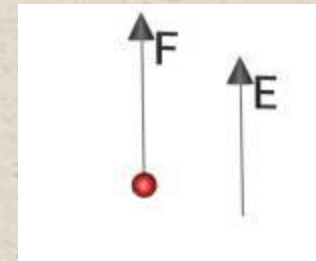


Масс- спектрометрия –  
расчет молекулярной массы ионов  
по их поведению в электрических и/или магнитных полях

Примеры:

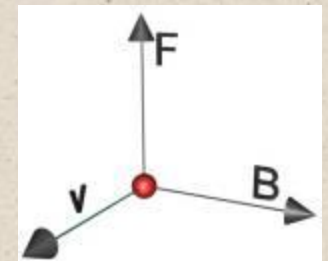
Сила, действующая на ион массы  $m$  и заряда  $z$   
в однородном электрическом поле:

$$F_q = zeE \quad a = (z/m)eE$$



Сила, действующая на ион массы  $m$ , заряда  $z$ , скорости  $v$   
в однородном магнитном поле:

$$F_L = ze[v \times B] \quad a = (z/m)e[v \times B]$$

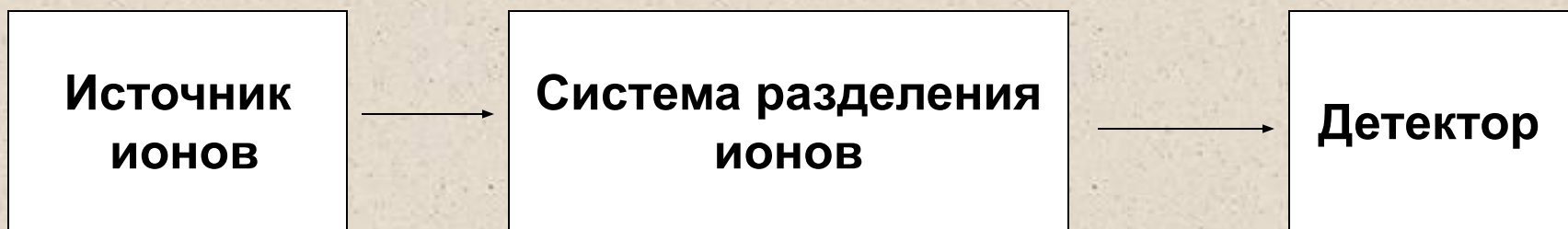


# Типы ионов

Положительные: - захват протона либо другого катиона (Na, K);  
- потеря электрона (катион-радикал).

Отрицательные: - утрата протона;  
- захват электрона.

## Общая схема масс-спектрометра

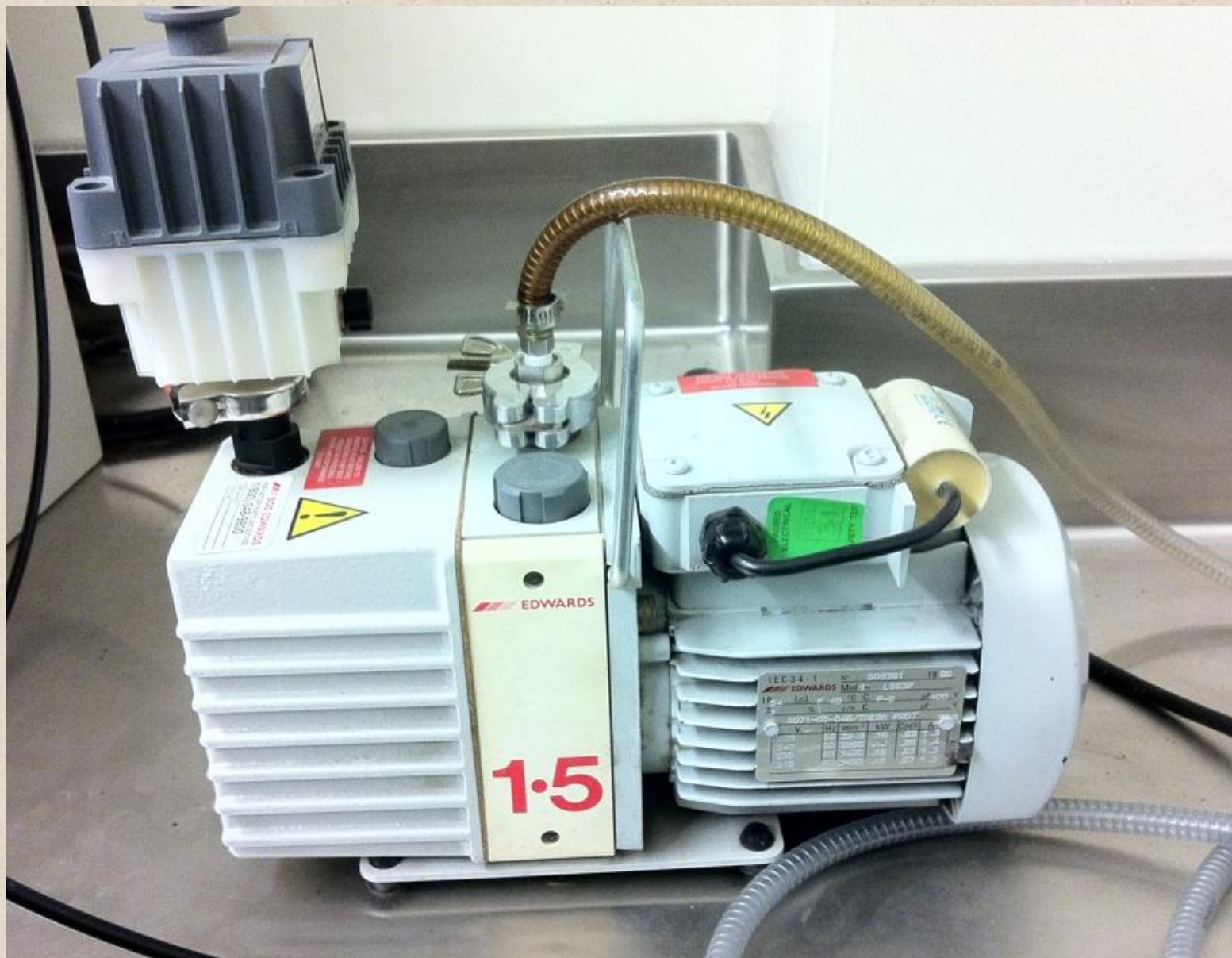


**MALDI**  
**ESI**

**Времяпролетные (TOF)**  
**Квадрупольные (Q)**  
**Ионные ловушки (IT)**  
**Ионно-циклотронного резонанса (ICR-FT)**

**Микроканальные пластины (MCP)**  
**Диноды**  
**Магнит (ICR-FT)**

# ! Масс-спектрометр – вакуумный прибор





# Способы ионизации

## **□ Газовая фаза**

- электронная ионизация (EI)
- химическая ионизация (CI)
- электронный захват (EC)
- ионизация в электрическом поле (FI)

## **□ Жидкая фаза**

- термоспрей
- ионизация при атмосферном давлении (AP)
- электроспрей (APESI)
- химическая ионизация при атмосферном давлении (APCI)
- фотоионизация при атмосферном давлении (APPI)

## **□ Твёрдая фаза**

- прямая лазерная десорбция - масс-спектрометрия (LDMS)
- матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация (MALDI)
- масс-спектрометрия вторичных ионов (SIMS)
- бомбардировка быстрыми атомами (FAB)
- десорбция в электрическом поле (FD)
- плазменная десорбция (PD)

# Источники ионизации

**ESI**

**MALDI**



**APCI**



# Масс-анализаторы

## □ *Непрерывные масс-анализаторы*

- Магнитный и электростатический секторный масс-анализатор (англ. Sector instrument)
- Квадрупольный масс-анализатор (англ. Quadrupole mass analyzer)

## □ *Импульсные масс-анализаторы*

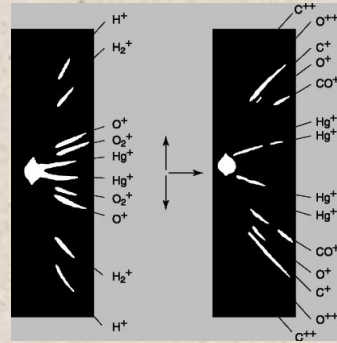
- Времяпролётный масс-анализатор (англ. Time-of-flight mass spectrometry)
- Ионная ловушка (англ. Ion trap)
- Квадрупольная линейная ловушка (англ. Quadrupole ion trap)
- Масс-анализатор ионно-циклотронного резонанса с Фурье-преобразованием (англ. Fourier transform ion cyclotron resonance)
- Орбитрэп (англ. Orbitrap)

## □ *Тандемные масс-анализаторы*

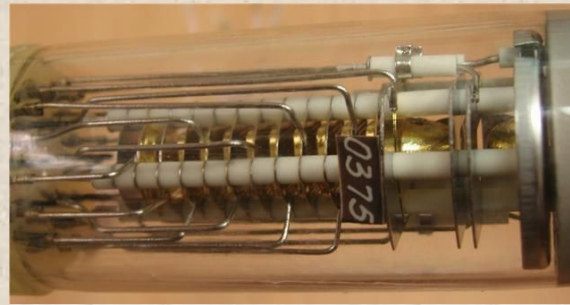
- Квадруполь-квадрупольный (3Q)
- Квадруполь-времяпролётный (Q-TOF)
- другие

# Детекторы

☐ *фотопластина*



☐ *диодные вторично-электронные умножители*

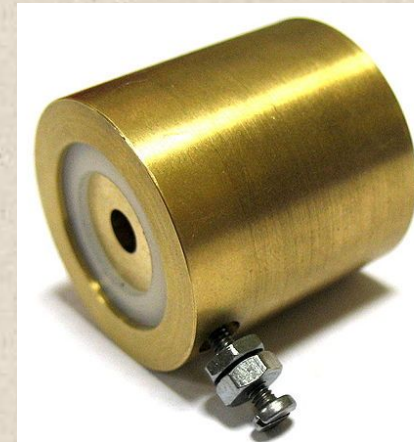


☐ *фотоумножители*

☐ *микроканальные пластины*



☐ *коллекторы Фарадея*



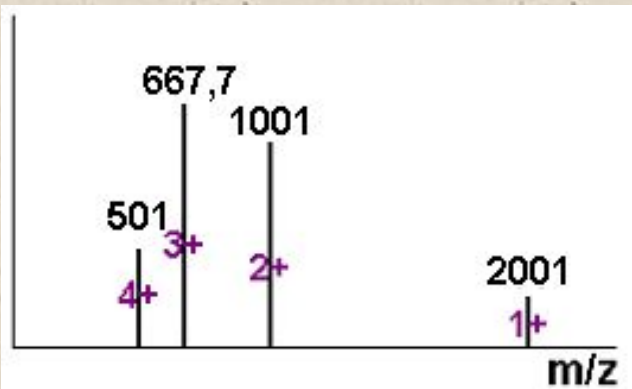
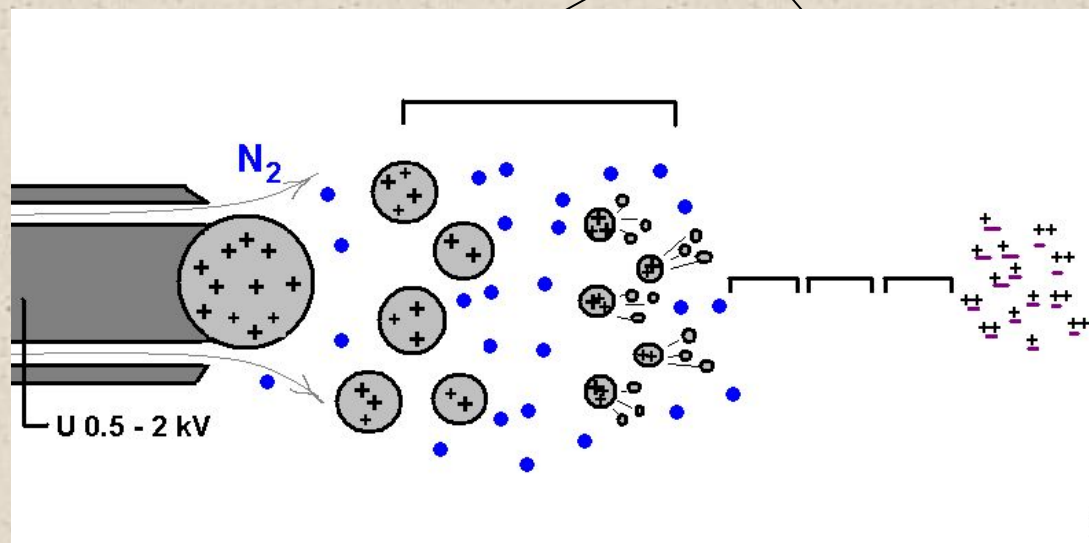
# ИСТОЧНИКИ ИОНОВ

## ESI – электрораспыление и ионизация

Анализируемое вещество подается в растворе через капилляр с поданным на него напряжением.

Растворители:  
вода, ацетонитрил, метанол

несколько последовательных  
«упариваний-взрывов» микрокапель

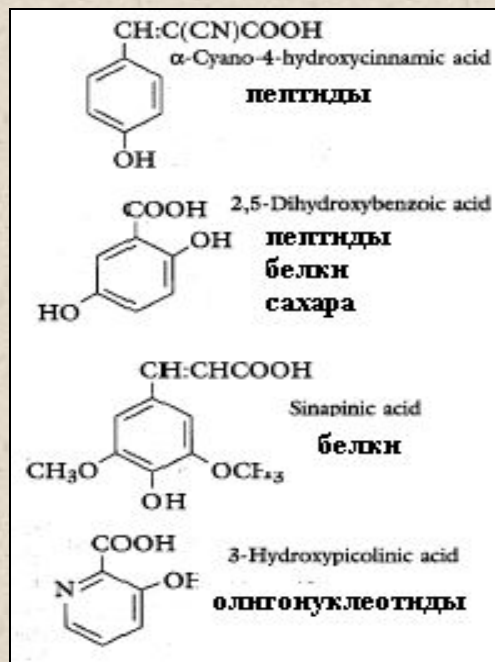


В результате получают многозарядные газофазные ионы, захватившие на себя разное количество протонов, вплоть до максимально возможного.

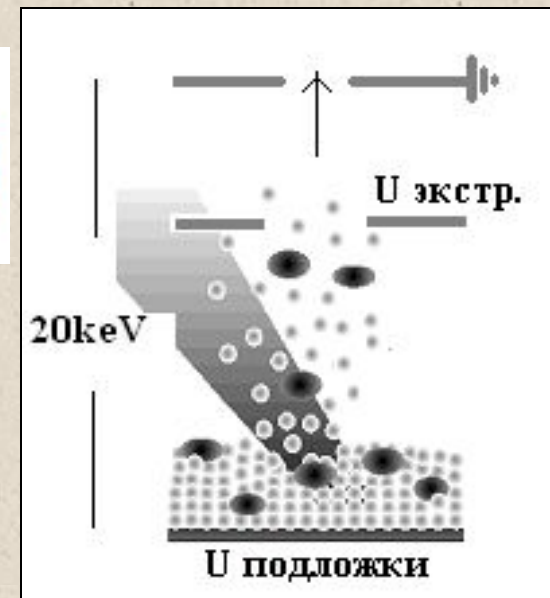
# MALDI - matrix assisted laser desorption / ionization

лазерная десорбция и ионизация в присутствии  
вспомогательного вещества - матрицы

Матрицы для УФ лазера (336нм)



Анализируемое вещество  
(раствор  $10^{-4}$  -  $10^{-8}$  М, <1 мкл)  
смешивается с матрицей  
(раствор  $10^{-1}$  -  $10^{-2}$  М, <1 мкл),  
высушивается на подложке,  
образуя кристаллоиды

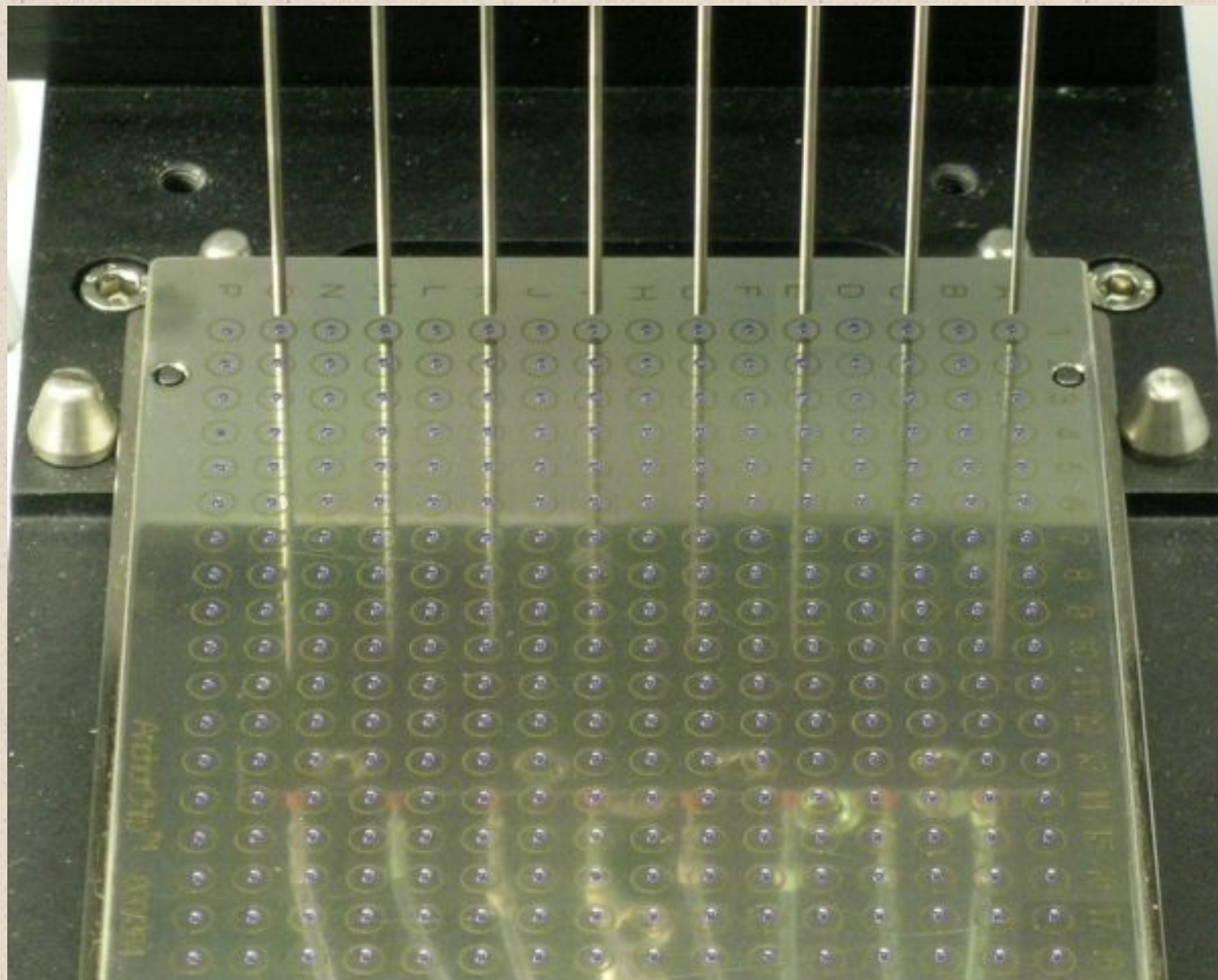


## МАТРИЦА:

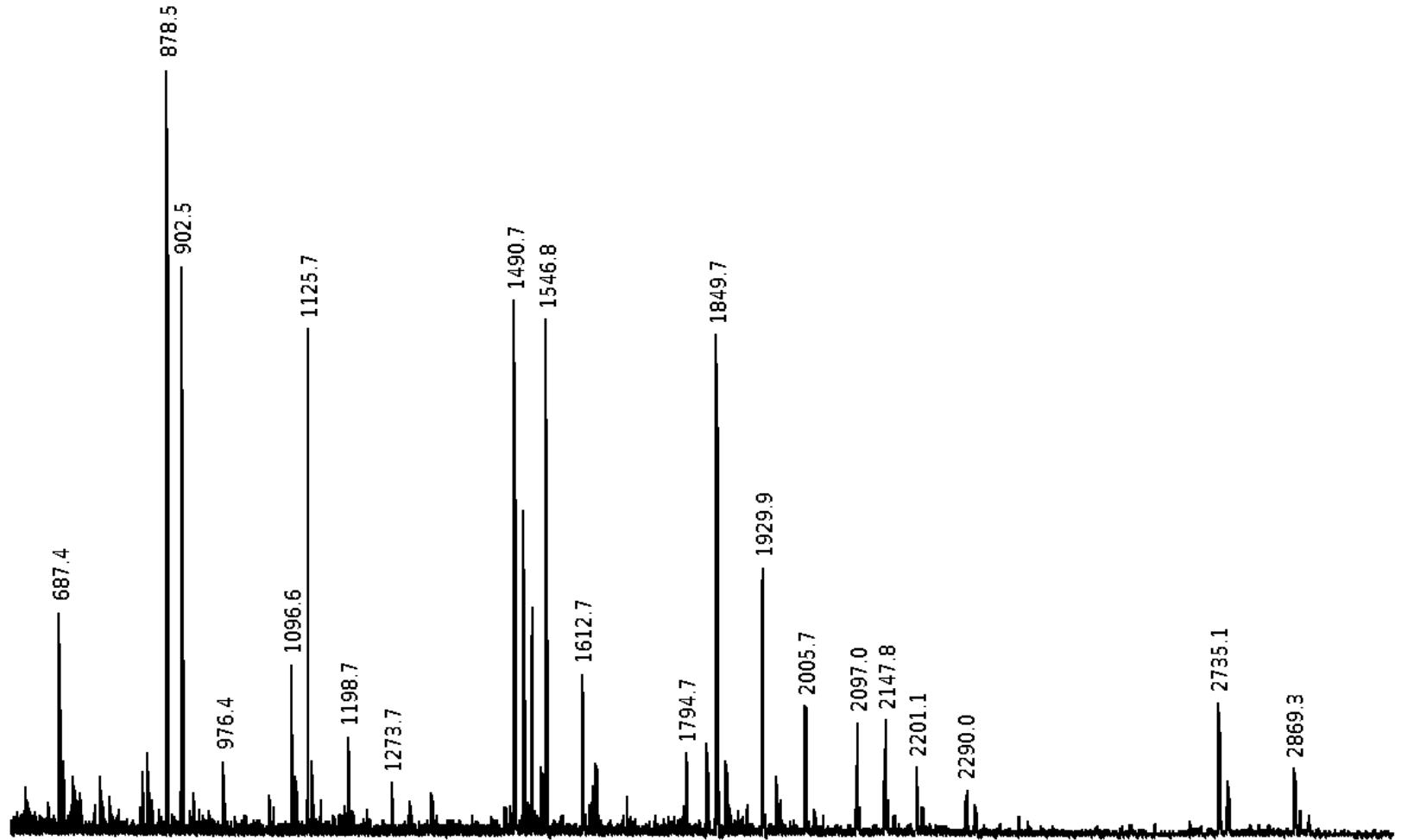
- \* Поглощает энергию лазерного излучения, “вскипая”, увлекает в газовую фазу молекулы анализируемого вещества
- \* Способствует ионизации

Лазер: 2нс, 50-300 мкДж/имп , 50мкм

# Пластина для MALDI



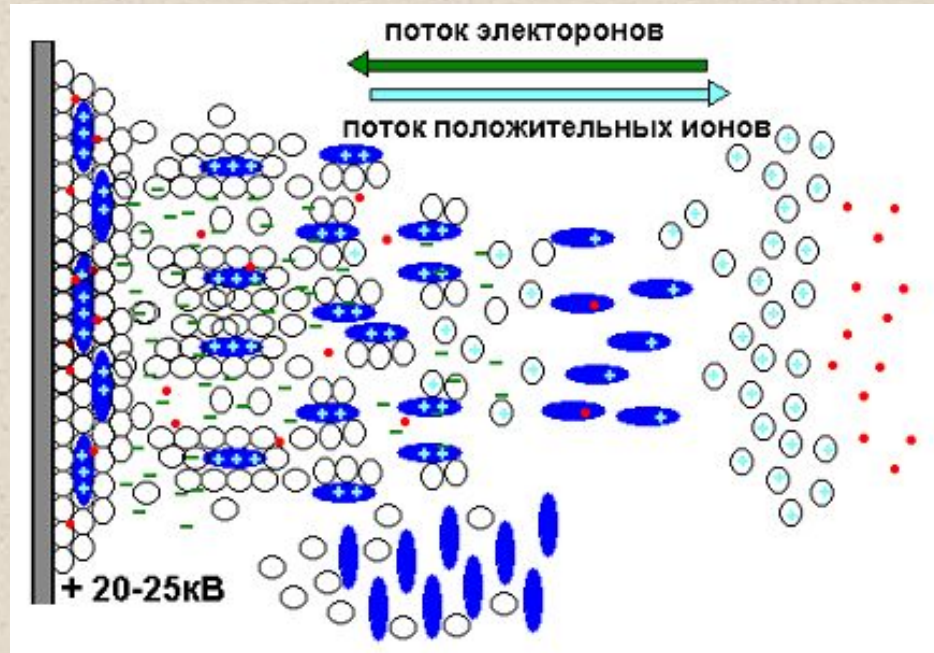
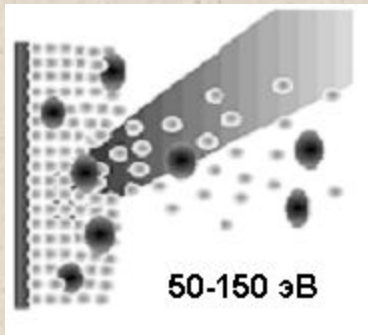
# Пример MALDI масс-спектра: триптический гидролизат фрагмента белка М1 вируса гриппа



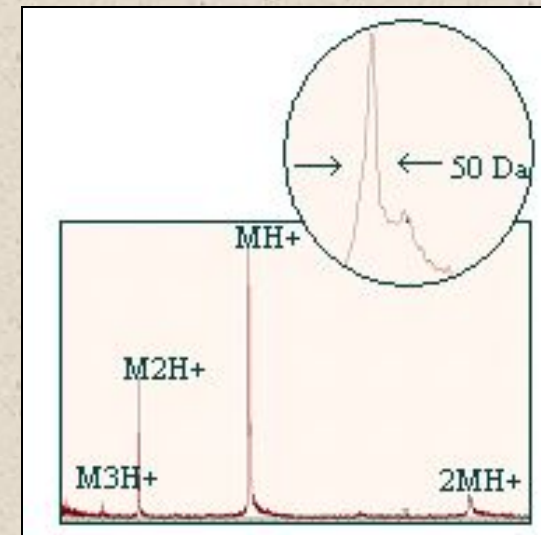
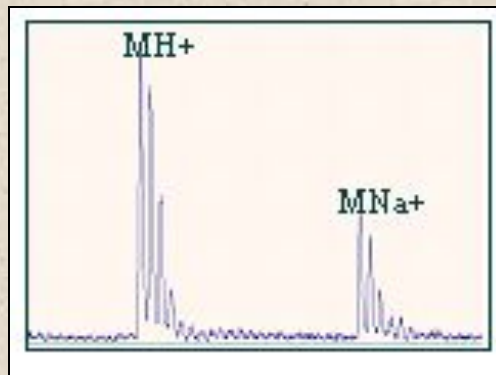
MLLTQVQTYVLSIIPSGPLKAEIAQRLEDVFAGKNTDLEVLMEWLKTRPILSPLTKGILGFVFTLTPSERGLQ  
RRRFVQNALNGNDPNNMDKAVKLYRKLKREITFHGAKEISLSYSAGALASCMGLIYNRMGAVTTEVAFGL  
VCATCEQIADSQHRSHRQMVTTTNPLIRHENRMVLASTTAKAMEQMAGSSEQAAEAMEVASQARQMVQAM  
RTIGTHPSSAGLKNLLENLQAYQKRMGVQMQRFK



# MALDI : типы положительных ионов и вид спектра



Точный механизм MALDI ионизации неизвестен, однако в результате образуются, как правило, однозарядные ионы, захватившие протон либо иной катион.



# Естественное изотопное распределение в белках и пептидах

$^1\text{H}$	99.98%	$^{13}\text{C}$ 1.11%
$^{12}\text{C}$	98.89%	
$^{14}\text{N}$	99.64%	
$^{16}\text{O}$	99.76%	
$^{32}\text{S}$	95.06%	$^{34}\text{S}$ 4.18%

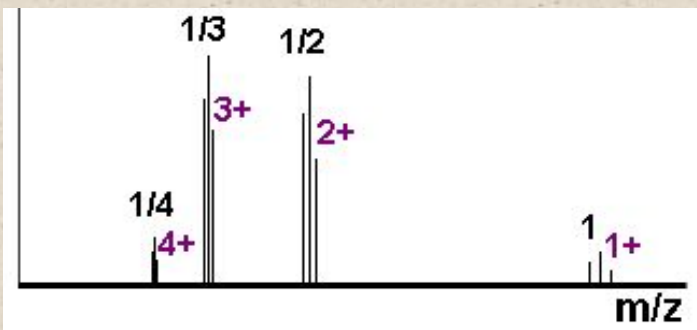
Пептид массой 2000 Д содержит ~ 100 атомов углерода в нем с вероятностью ~ 30% не встретится  $^{13}\text{C}$ , с вероятностью ~ 37% встретится один  $^{13}\text{C}$ , с вероятностью ~ 20% встретится два  $^{13}\text{C}$ .

**ВВ:** в масс-спектре детектируется  $10^3 - 10^6$  молекул аналита. Этого достаточно для наблюдения изотопного распределения. Моноизотопная масса – масса пептида, не содержащего ни одного  $^{13}\text{C}$

вид MALDI масс-спектра



вид ESI масс-спектра



$$m/z \text{ } i\text{-го изотопного пика} = \left[ M_{\text{моно}} + i + \frac{\text{H} + \text{Na}}{\text{K}} \right]^+$$

## **Замечания о ESI и MALDI:**

- \* Оба метода ионизации требуют высокой химической чистоты анализируемого вещества.**
- \* Диапазон концентрации аналита при ESI и MALDI  $10^{-3}$  –  $10^{-7}$  М.**
- \* Поскольку разные вещества (например, пептиды) обладают разной способностью к ионизации (захвату протона либо другого катиона), то невозможно делать выводы о количественном соотношении компонентов сложной смеси на основании высот пиков в спектре.**

**ESI является более “мягким” способом ионизации, чем MALDI.**

**При ESI образуется непрерывный поток ионов, при MALDI - сильно ограниченный во времени (до 10нс) пакет ионов.**

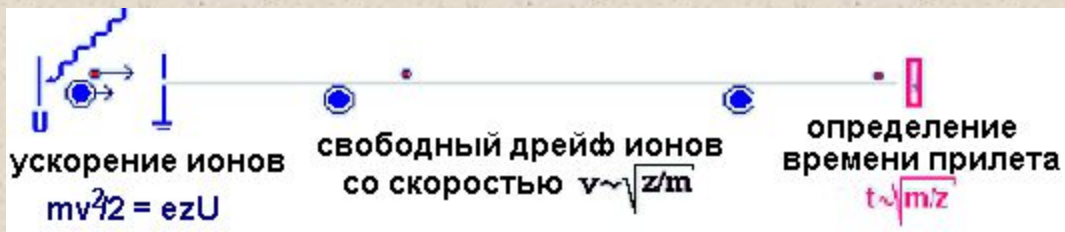
**При ESI анализу подлежит более 10 фемтомолей вещества, при MALDI - более 1 фемтомоля вещества.**

**При ESI образуются ионы  $m/z$  0-5000, возможно измерение белков до ~50 000 Да.**

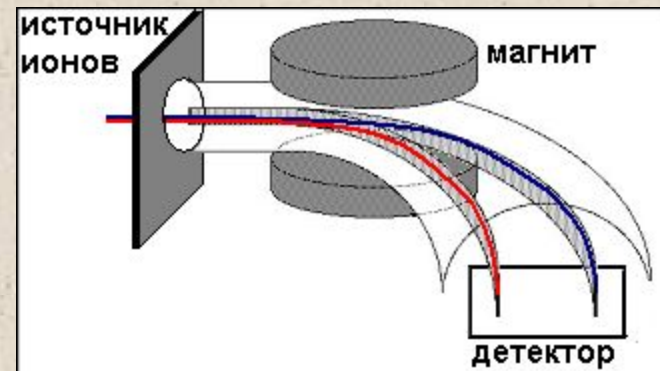
**При MALDI возможно измерение белков до ~200 000 Да, диапазон измеряемых масс ограничен снизу до ~500 Да из-за присутствия с спектрах пиков матрицы.**

# СИСТЕМЫ РАЗДЕЛЕНИЯ ИОНОВ

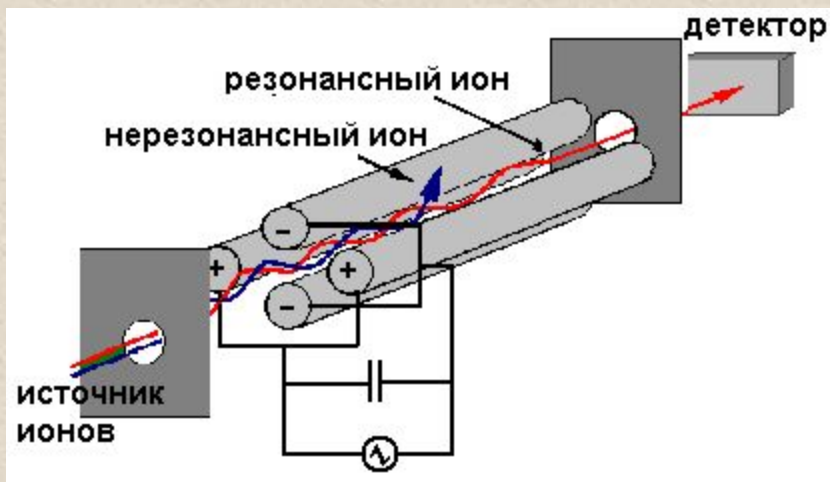
## Времяпролетный масс-анализатор



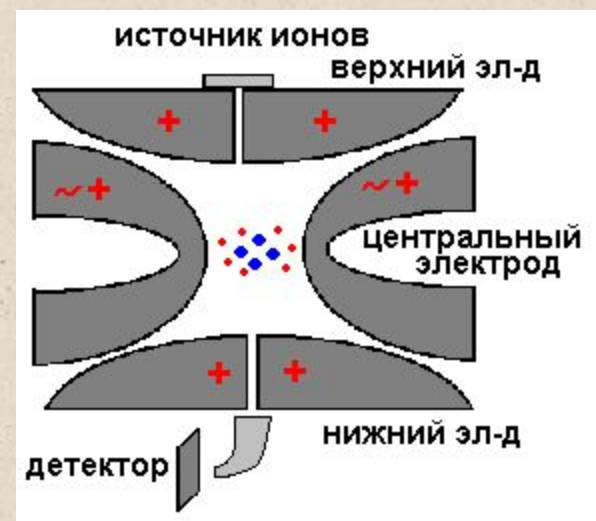
## Магнитный анализатор



## Квадрупольный анализатор

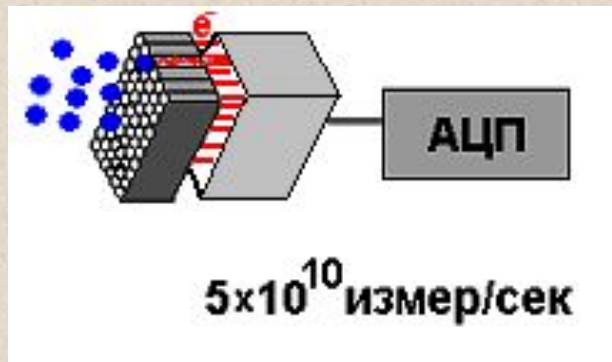


## Ионная ловушка



# MALDI-времяпролетный масс-спектрометр с MCP детектором

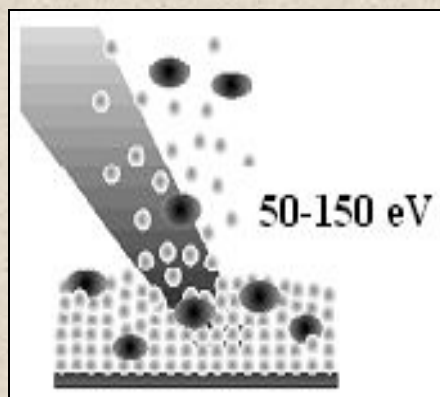
## Микроканальные пластины



Энергия ускорения 20 кэВ и длина пути 1 м

масса	t пролета	$\Delta t$ пролета 1Да	Кол-во измер.
1 Да	$5 \times 10^{-7}$ сек	$5000 \times 10^{-10}$ сек	1000
100 Да	$50 \times 10^{-7}$ сек	$250 \times 10^{-10}$ сек	50
1000 Да	$150 \times 10^{-7}$ сек	$75 \times 10^{-10}$ сек	15
10000 Да	$500 \times 10^{-7}$ сек	$25 \times 10^{-10}$ сек	5

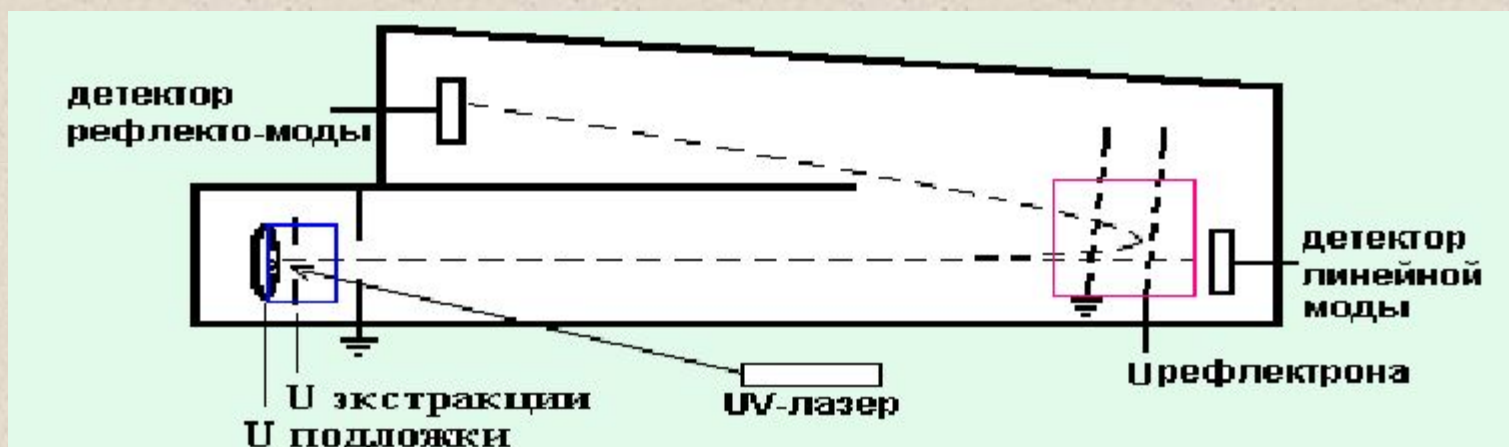
При MALDI существует разброс по энергиям, приводящий к уширению пиков.



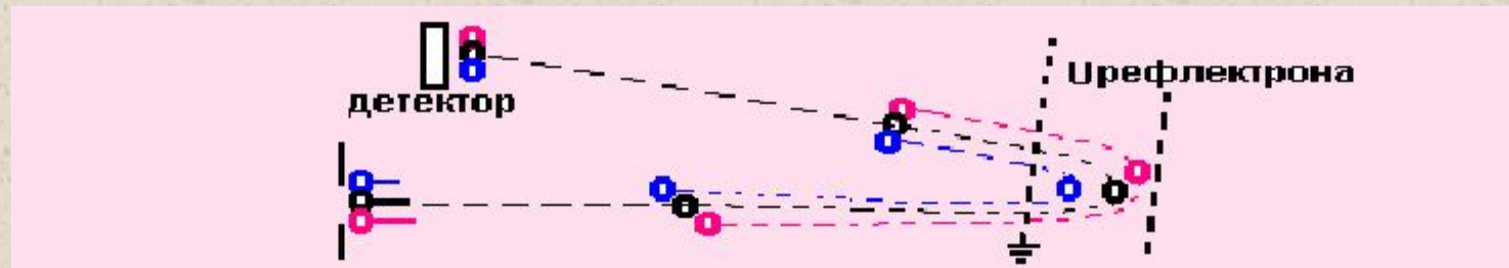
При энергии ускорения 20 кэВ разброс в 100эВ составляет 0.5%.

Так пик пептида м.в. 1000Д имел бы ширину на половине высоте около 2 Да !

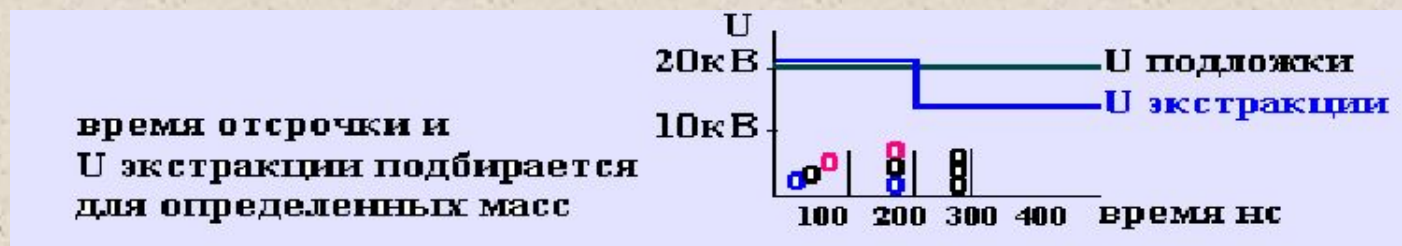
# Уменьшение стартового разброса ионов – повышение разрешения MALDI-TOF-MS



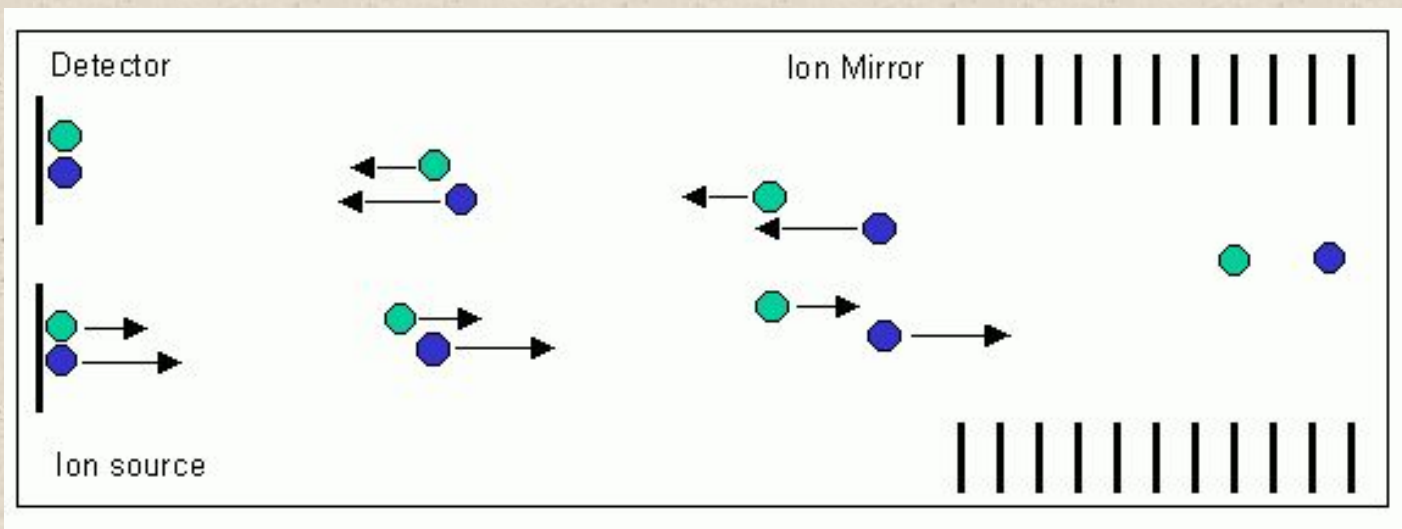
## Использование отражающего напряжения (рефлектрона Мамырина)



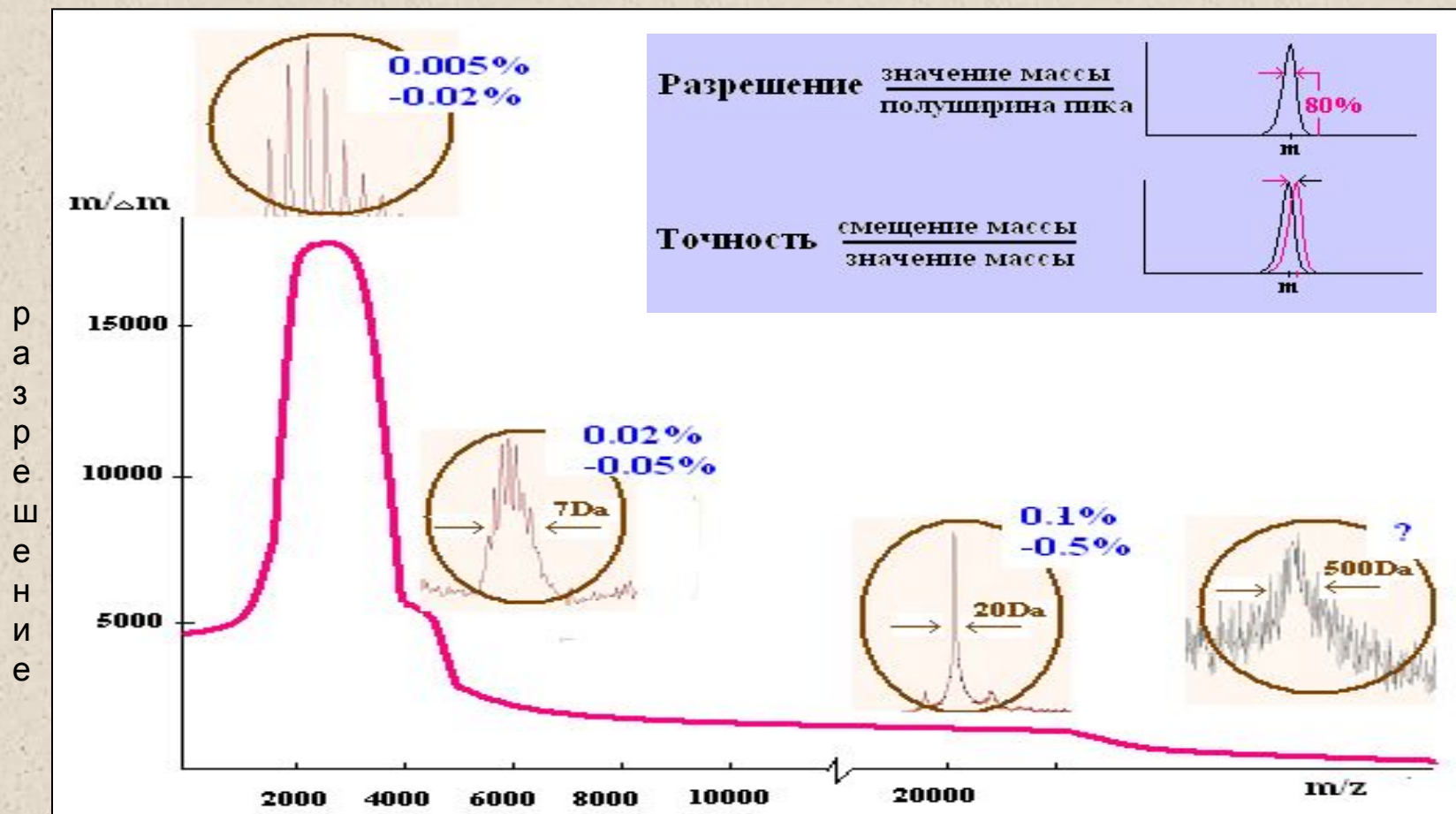
## Использование «отсрочки экстракции»



# Рефлектрон



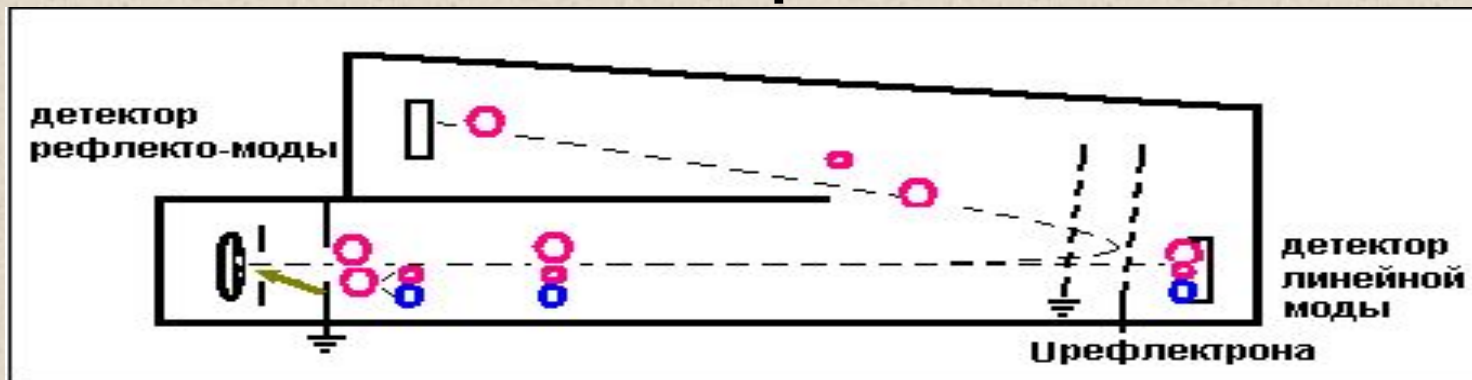
# Разрешение и точность MALDI-TOF-MS



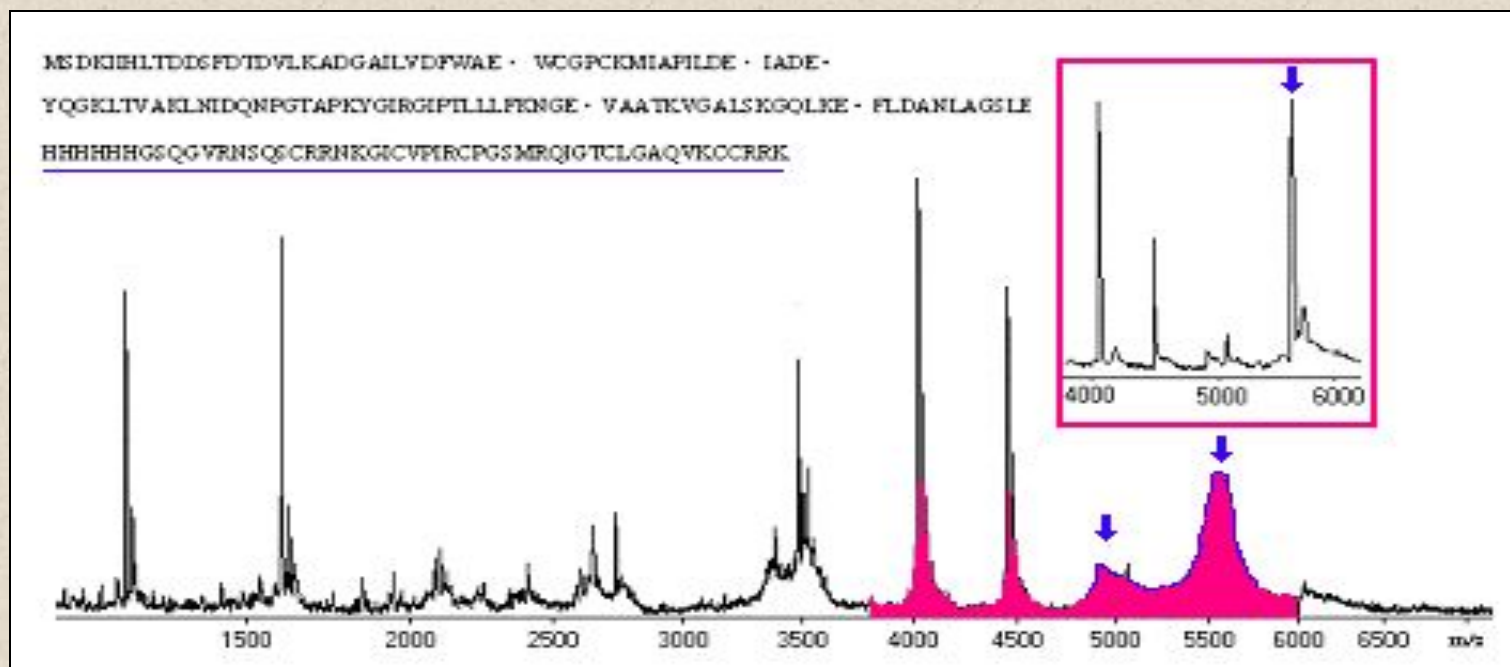
Разрешение до 30 000,  
точность до 0.002% (=20ppm).



# Распад ионов в процессе MALDI



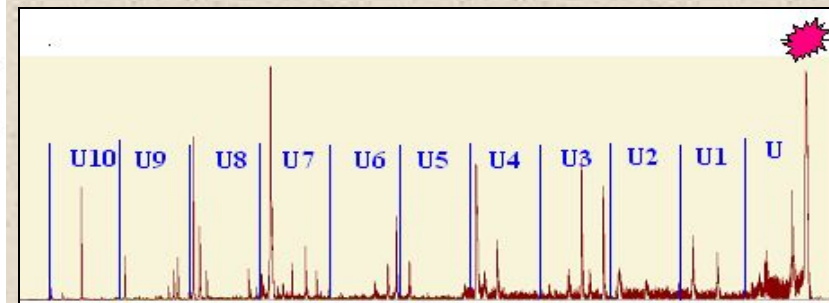
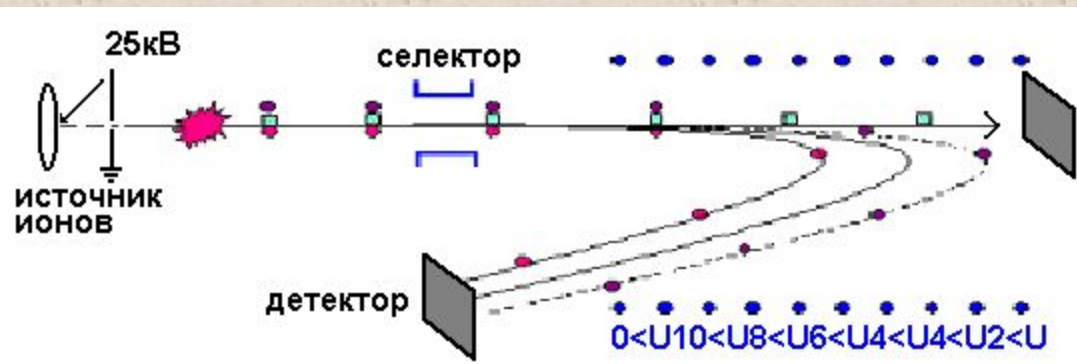
Когда ион, захвативший избыток энергии в процессе MALDI, распадается в области свободного дрейфа, фрагменты имеют ту же скорость, что и их родительский ион, а энергию - меньшую ( $\sim m$ )



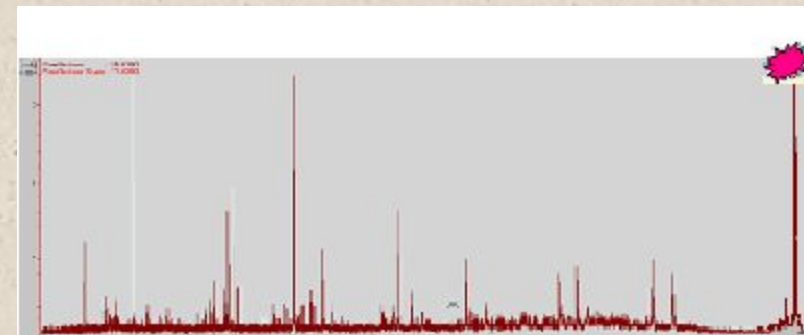
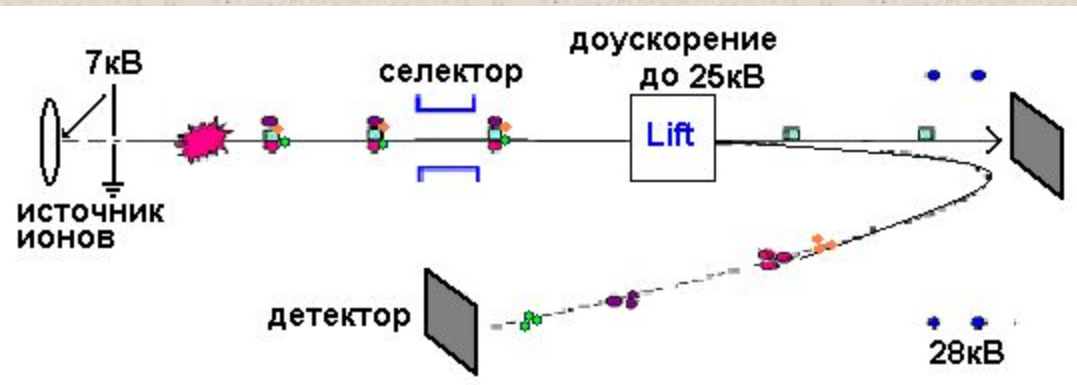
# PSD (post source decay) и TOF-TOF

детекция распада ионов во время свободного дрейфа

для адекватного отражения дочерних ионов:  $U1_{ref}/U0_{ref} = m1/m0$



набор масс-спектров с разным U рефлектрона компьютерно “сшиваются” в один спектр PSD



получается один спектр фрагментации TOF-TOF

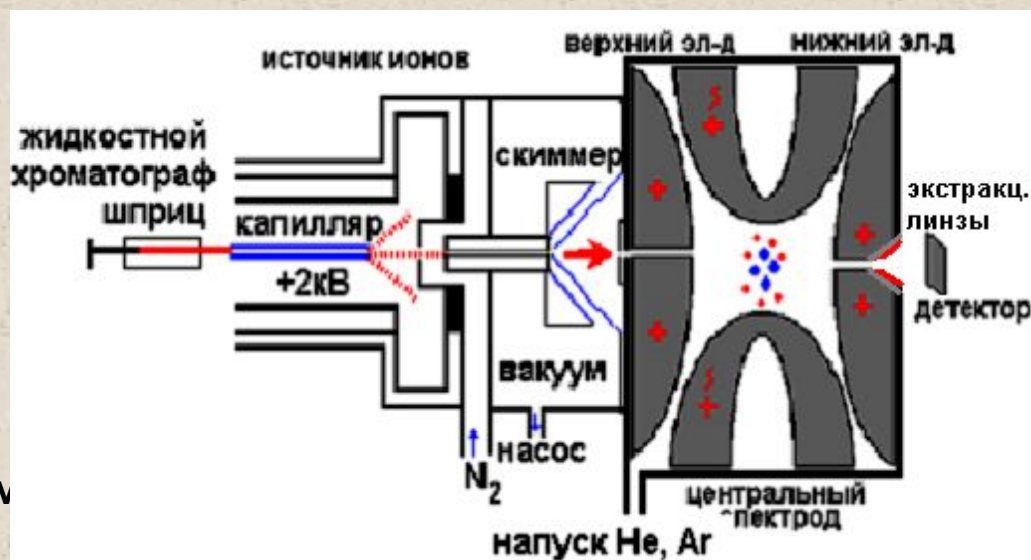
точность измерения масс фрагментов 0.02-0.1%

# ESI – ионная ловушка с MCP детектором

На верхний и нижний электроды подано постоянное положительное напряжение.

На короткое время отталкивающее напряжение с верхнего электрода снимается, позволяя пакету ионов влететь в ловушку.

На центральном электроде - быстропеременное напряжение, которое заставляет ионы всех  $m/z$  двигаться со своими частотами по своим орбитам.



Затем, на экстрагирующие линзы подается осцилирующее напряжение, последовательно вытягивающее ионы согласно их  $m/z$ .

Ионные ловушки позволяют, варьируя напряжения, оставлять в ловушке определенные ионы и получать спектры их фрагментов.

При этом возможен ряд последовательных фрагментаций иона.

Характеристиками ловушки являются:

ёмкость (верхнее значение разделяемых  $m/z$ ) до 4000,  
разрешение до 0.2 Да по диапазону,  
точность до 0.01% (=100ppm) для родительских ионов и фрагментов.

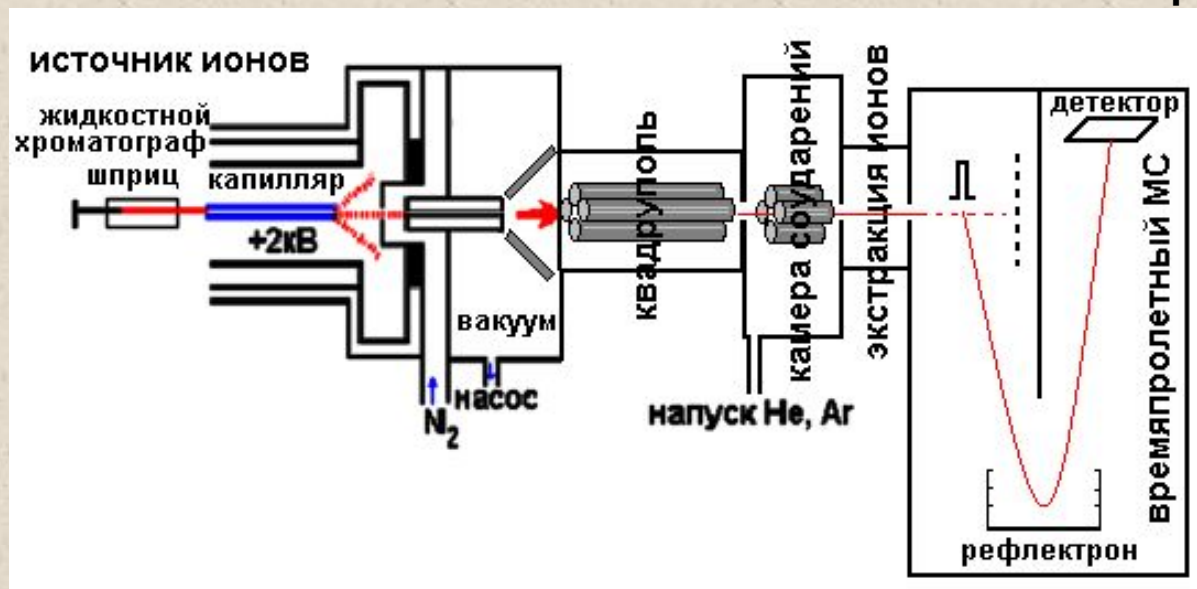
Ионная ловушка хорошо сочетается с жидкостным хроматографом.

## «Гибридные» приборы:

# ESI – квадруполь – ортогональный времяпролетный MS

На электроды квадруполя подается переменное напряжение, позволяющее пролетать только резонансным ионам.

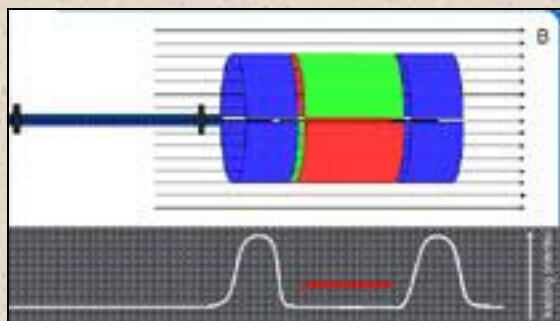
Напуск инертного газа приводит к столкновительной фрагментации ионов.



Сочетает хорошее разрешение времяпролетного масс-спектрометра с возможностью хорошего выделения (включением квадруполя) определенных ионов для получения спектров фрагментации.

точность 0.01-0.03% для родительских ионов и фрагментов

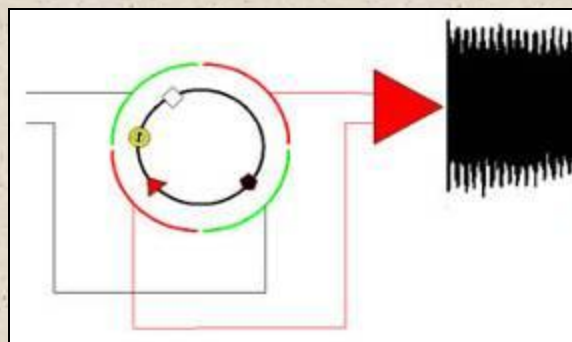
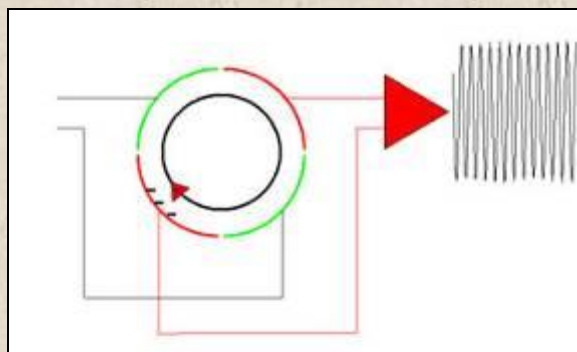
# ESI - масс-спектрометры ионно-циклотронног резонанса с последующим Фурье- преобразованием (ICR-FT)



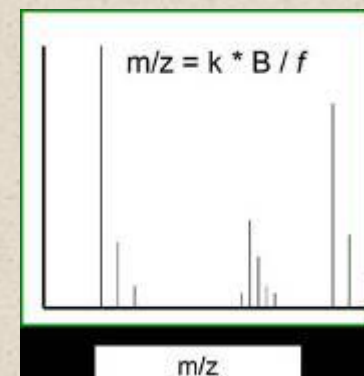
Ионы «запираются» в мощный (7-14 тесла) секторный сверхпроводящий магнит, где вращаются под действием силы Лоренца с частотой, зависящей от  $m/z$ .

Два сектора магнита используются для снятия токов, наведенных пролетающими мимо них ионами.

Сложный сигнал от ионов разных  $m/z$  подлежит разложению по частотам (Фурье-преобразованию).



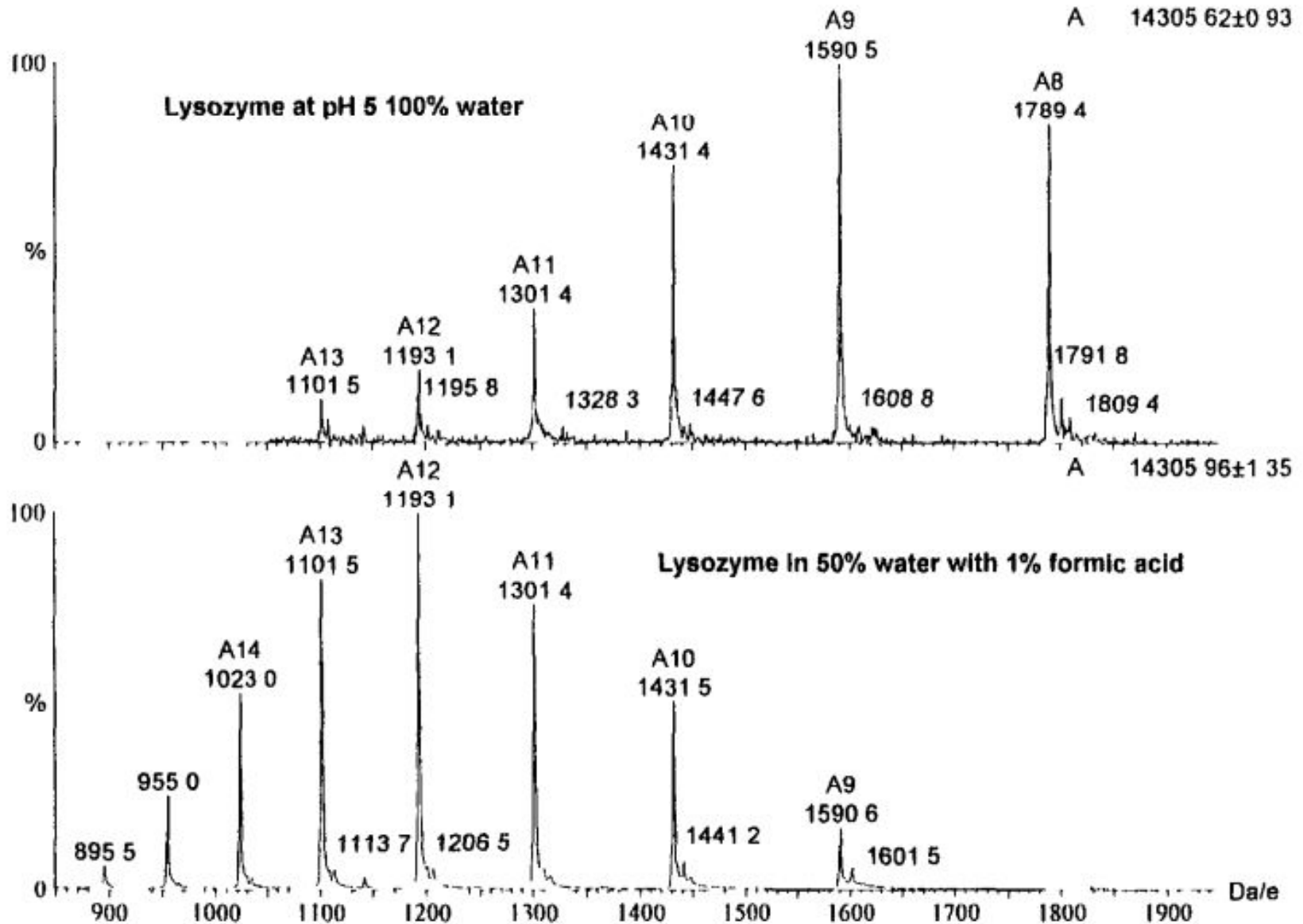
**Характеристики ICR-FT :**  
разрешение до 10 000 000,  
точность до 0.0001%  
(=1ppm).



# Сравнение характеристик приборов

	<b>MALDI-TOF-MS</b>	<b>ESI-IonTrap-MS</b>	<b>ESI-FICR-MS</b>
точность спектров родительских ионов	<b>+++</b>	<b>++</b>	<b>+++++</b>
точность спектров фрагментов	<b>+</b>	<b>+++</b>	<b>+++++</b>
тип спектров фрагментации	<b>LID, CID</b>	<b>CID</b>	<b>CID, ECD</b>
степень фрагментации	<b>не регулируется</b>	<b>регулируется</b>	<b>регулируется</b>
информативность спектров фрагментации	<b>++</b>	<b>++++</b>	<b>+++++</b>
измерения масс белков < 30кДа	<b>++</b>	<b>+++</b>	<b>+++++</b>
измерения масс белков > 30кДа	<b>++</b>	<b>+</b>	<b>+</b>
спектры многокомпонентных смесей пептидов	<b>+++++</b>	<b>+++</b>	<b>+++</b>
спектры многокомпонентных смесей белков	<b>+++</b>	<b>+</b>	<b>+</b>
требования к пробоподготовке	<b>высокие</b>	<b>очень высокие</b>	<b>очень высокие</b>
сложность работы оператора	<b>средняя</b>	<b>высокая</b>	<b>очень высокая</b>
скорость пробоподготовки + получения спектров	<b>высокая</b>	<b>низкая</b>	<b>низкая</b>
интерпретация спектров многокомпонентной смеси	<b>легкая</b>	<b>сложная</b>	<b>сложная</b>
интерпретация спектров фрагментации	<b>сложная</b>	<b>сложная</b>	<b>сложная</b>
стоимость оборудования	<b>высокая</b>	<b>средняя</b>	<b>очень высокая</b>
стоимость эксперимента	<b>низкая</b>	<b>высокая</b>	<b>очень высокая</b>

# Интерпретация ESI-масс-спектров (что можно узнать из ESI-масс-спектра?)

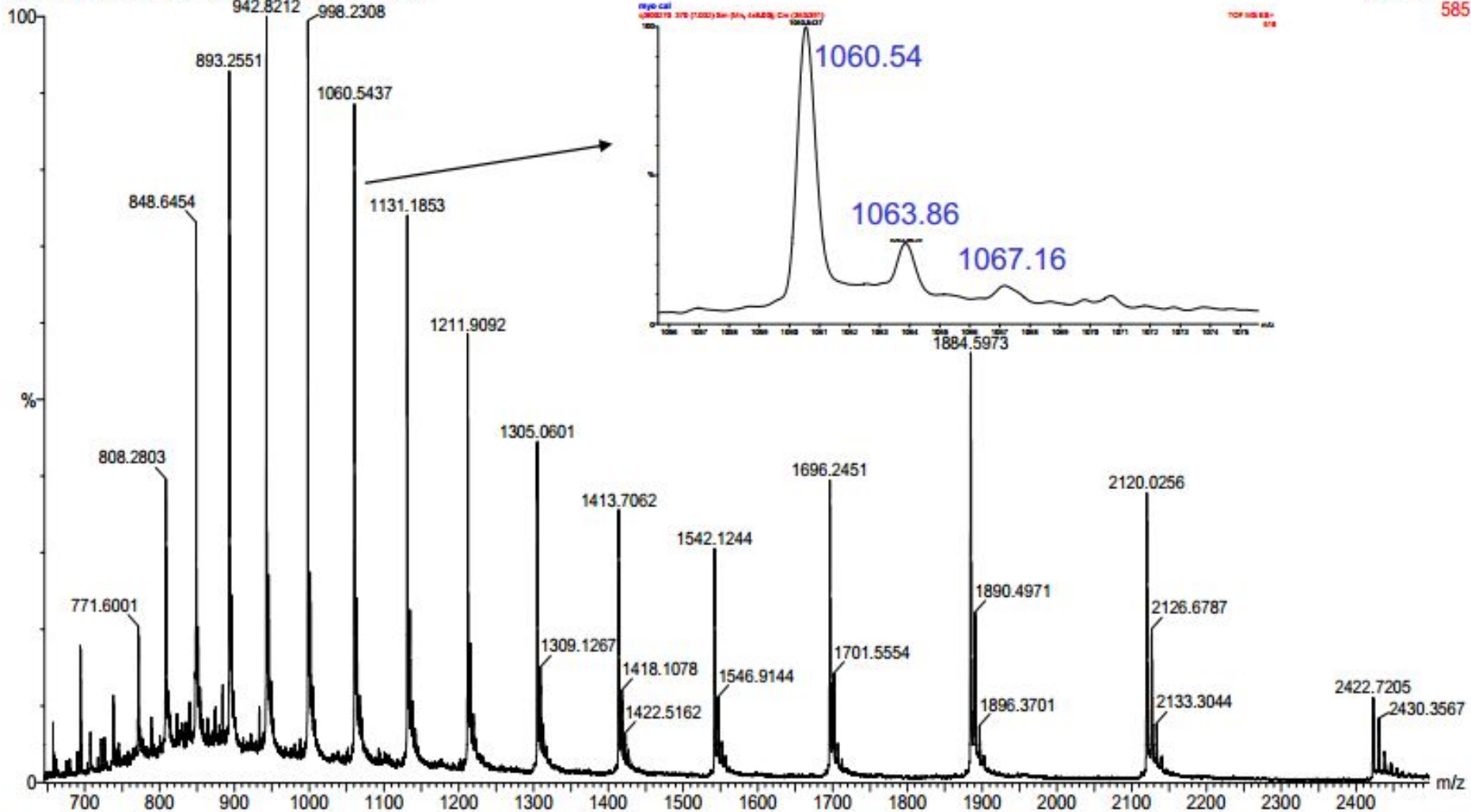


# Масс-спектр миоглобина

myo cal

q3t00270 370 (7.032) Sm (Mn, 4x8.00); Cm (363:391)

TOF MS ES+  
585





# ESI-масс-спектры

- Определение молекулярной массы белка
- Исследование вторичной структуры (распределение зарядов и водородный обмен)

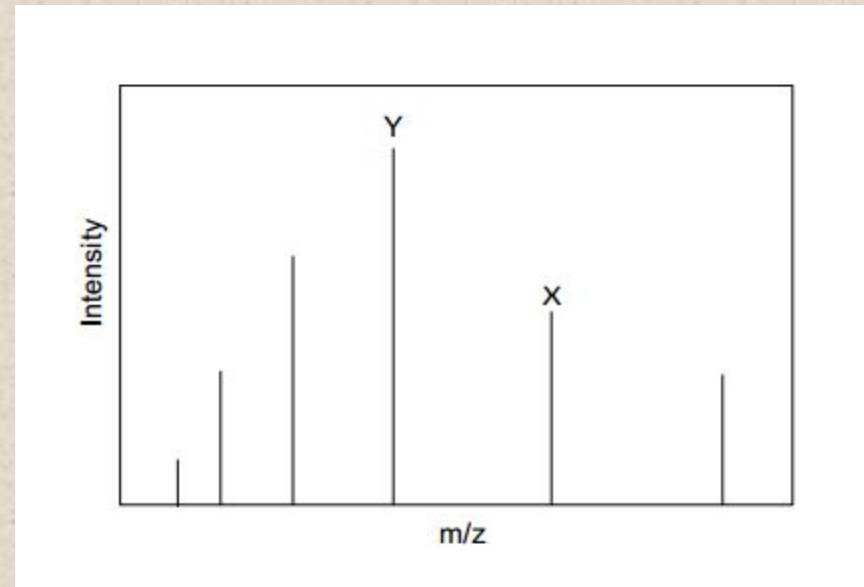
## □ Как определить молекулярную массу белка из ESI масс-спектров

- Определить заряды используя  $m/z$  рядом стоящих ионов

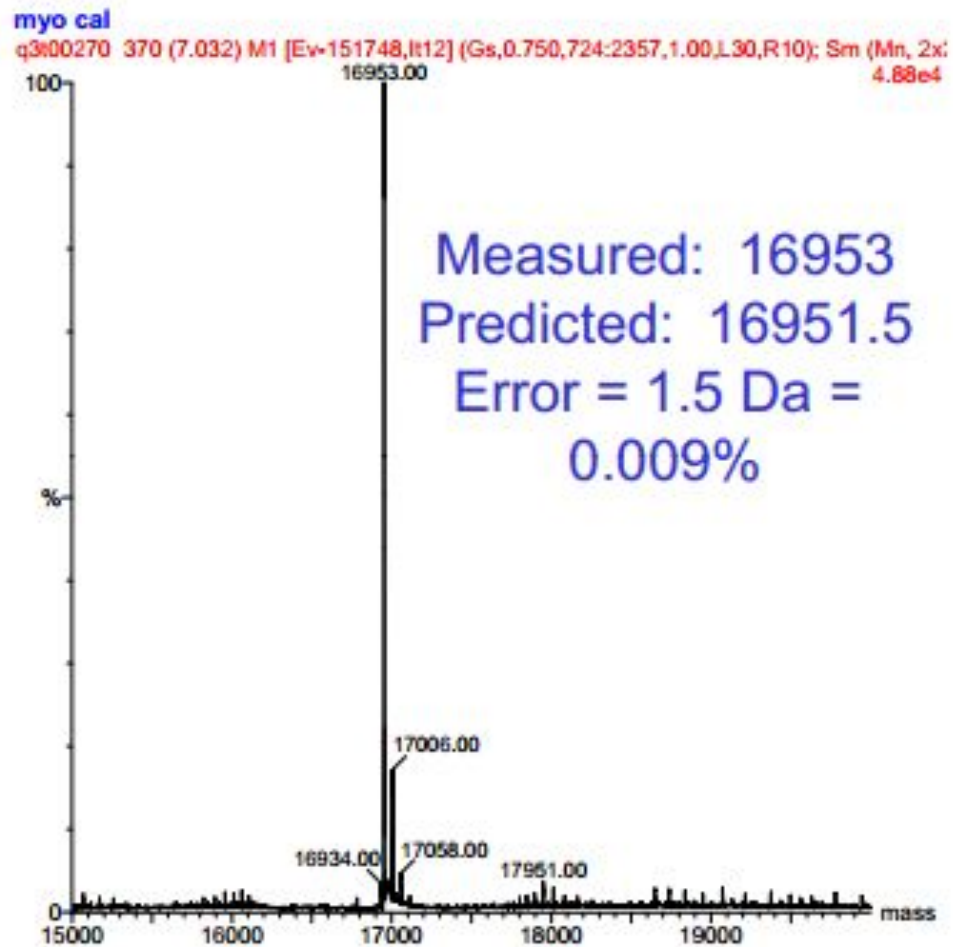
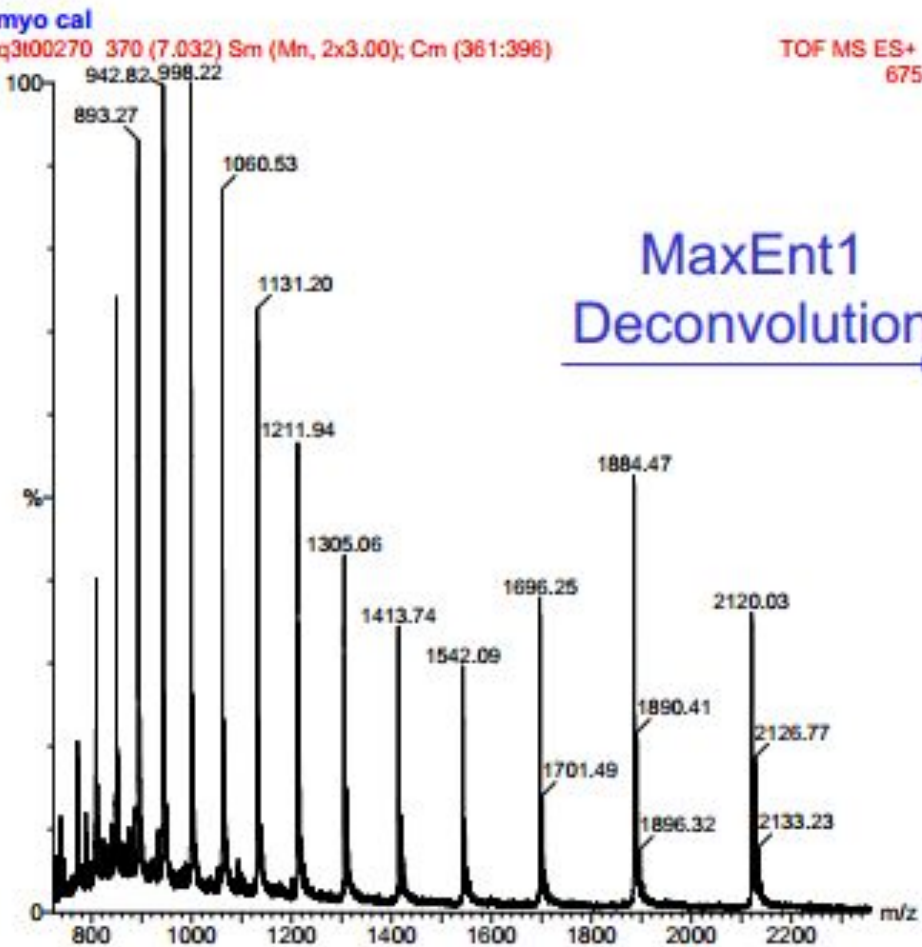
$$z_x = (Y-1)/(X-Y)$$

- Определить массу белка

$$M = X * z_x - z_x = Y * z_y - z_y$$



# Автоматическая деконволюция ESI-спектров



## Историческая справка:

Современный масс-спектрометр основан на работе, сделанной сэром Дж. Томсоном в Кэвендишевской лаборатории Кембриджского университета. Исследования Томсона, приведшие к открытию электрона в 1897 году, также привели к созданию первого масс-спектрометра, построенного им для изучения влияния электрического и магнитного полей на ионы, генерируемые в остаточном газе на катоде рентгеновской трубки. В 1906 году Томсон получил Нобелевскую премию по физике за "Выдающиеся заслуги в теоретическом и экспериментальном изучении электропроводимости газов".

К концу Первой мировой войны работы Френсиса Астона и Артура Демпстера привели к значительному улучшению точности и воспроизводимости измерений на масс-спектрометрах. Позднее Альфред Нир воплотил эти достижения вместе со значительным продвижением в вакуумной технике и электронике в конструкцию масс-спектрометра, значительно сократив его размеры. Еще раньше, в 1946 году, Уильям Стивенс предложил концепцию времяпролетных анализаторов.

В середине 1950-ых годов Вольфганг Пол разработал квадрупольный масс-анализатор. Другой разработкой Пола было создание квадрупольной ионной ловушки, специально предназначенной для захвата и измерения масс ионов. За свои инновационные работы Вольфганг Пол получил в 1989 году Нобелевскую премию по физике. В 1950-е годы впервые были соединены газовый хроматограф и масс-спектрометр (Голке, Маклаферти и Рихаге).

Затем появились новые методы ионизации - бомбардировка быстрыми атомами (Барбер), химическая ионизация (Тальрозе, Филд, Мансон), полевая десорбция/ионизация (Беки), MALDI (Танака, Карас, Хилленкампф), ESI (Доул, Фенн), ионизация в индуктивно-связанной плазме (Фассел). Были разработаны масс-спектрометры ионно-циклотронного резонанса (Хиппл) и, затем, с Фурье-преобразованием сигнала (Комиссаров, Маршалл), тройные квадрупольные тандемные масс-спектрометры (Йоуст, Энке).