

默克純水報 H₂O 教室



親愛的純水用戶：

您好。

上一期我們討論「純水對於液相層析質譜儀分析實驗的影響」，本期的內容將針對「純水對於 MALDI-TOF 質譜儀分析實驗的影響」進行探討。MALDI-TOF 質譜儀是研究 peptide 序列及鑑定各種蛋白質的重要方法，此篇文章為說明 MALDI-TOF 分析實驗對超純水品質的要求。

再次感謝您的閱讀，也希望此篇文章對您的實驗有很大的幫助！

默克密理博事業體
純水技術處 敬上



第五期

「純水對於 MALDI-TOF 質譜儀分析實驗的影響」¹

2012. 7. 16

MALDI-TOF 質譜儀的原理概況²

MALDI 在進行樣品的離子化時，是先將分析樣本與小分子量的有機分子 (具有高度吸收雷射能量特性) 基質加以混合，然後再將大約 1 μ l 的樣品—基質混合物點至於平滑的金屬樣品托盤 (sample plate) 表面上，待其乾燥形成固體結晶後，經過進樣系統送入質譜儀之離子源中施以雷射脈衝，基質可將所吸收的能量轉移給樣本分子，並透過高電壓作用使之游離為氣相離子。

基質輔助雷射脫附-飛行時間質譜法 (MALDI-time of flight, TOF)，即為結合基質輔助雷射脫附離子化技術與飛行時間質譜分析的應用。MALDI 採用短的脈衝鐳射 (1 ~ 10 ns) 與高電壓使樣品分子離子化並加速之後進入飛行管後以進行質譜儀分析。將處於固相或粘稠的液相狀態樣品與基質的混和物經由雷射脈衝的撞擊，激發基質分子並將能量與電荷轉移至樣品分子，樣品分子接受能量與電荷之後使得接近表面的分子相斥分離，釋出帶電的氣態離子，然後藉由電場加速後進入飛行管中進行自由飛行 (free flight)，透過其飛行時間的長短可得到其精確的質荷比 (m/z)。

目前常見的 MALDI 是以雷射光脈衝照射在固定於平面電極上的蛋白質與基質的混合物，經由平行電場加速再由質量分析單元中進行分析。如圖 1 所示，以波長 337 nm 的氮氣雷射光脈衝 (此波長不會被蛋白質中的芳香環狀分子所吸收，避免蛋白質碎裂) 擊打固定於基質 (matrix) 上的蛋白質分子，使得蛋白質從基質上游離並帶上微弱的正電荷。此時再經由高能平行電場加速，再進入質譜儀進行分析。這樣的方式能夠分析帶電量低的分子，以及含有許多不同種類分子的混合物。通常 MALDI 都會配上精確度高的 TOF 作為其質量分析單元。

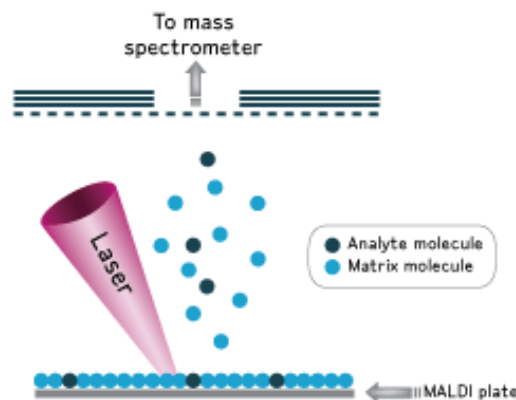
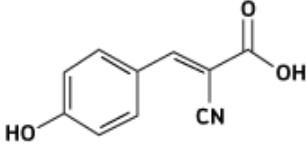
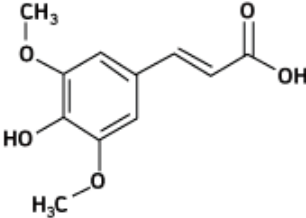
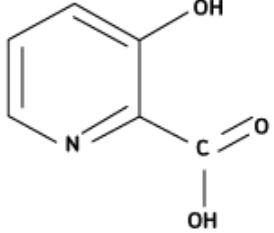
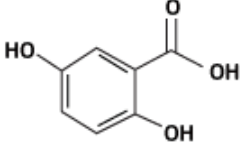


圖 1 MALDI 的離子化程序

目前常見的 MALDI-TOF-MS 所使用的雷射光波長為 337 nm，然而詳細的脫附游離 (Desorption/ionization) 機制到目前為止並不是那麼清楚，只知道經由這種方式可以使固相或液相的待測物變成氣相，接著在高真空的狀態下加速進行分離。MALDI 使用的基質有很多種，最常被使用的基質 (matrix) 有四種，分別適於分析不同類的分析物，如表 1 所列。

Compound Name	Structure	Application
α -Cyano-4-hydrocinnamic acid (CHCA)		Peptides <10 kDa
Sinapinic acid (3,5-dimethoxy-4-hydrocinnamic acid), SA		Proteins > 10 kDa
3-Hydropicolinic acid (3-HPA)		Oligonucleotides > 3.5 kDa
2,5-Dihydrobenzoic acid (DHB)		Neutral carbohydrates

Extracted from Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology 6th Ed. (Eds K. Wilson and J. Walker, New York: Cambridge University Press, 2005)

表 1 常見的 MALDI 基質化合物

超純水品質對於 MALDI-TOF 質譜儀分析實驗的影響

雖然 MALDI 相較於其他的離子化方法，對污染物的耐受性較高，不過，使用高純度的超純水做為基質等所需的溶劑仍然是必要的，如此可以降低本來在分析上就具有高挑戰性的 MALDI-TOF-MS 的困難度。

可能影響 MALDI-TOF 質譜儀分析之污染物質：

- 離子

如鈉鉀等金屬離子，離子污染物質可能會吸附於待分析物質，而使得質譜分析的結果判定更加困難。另外，高濃度的鹽類亦可能與基質或待測物形成結晶，而大幅降低圖譜的品質。

- 有機物質

有些有機物質如清潔劑、長鏈化合物會抑制樣品分子的離子化。清潔劑亦可能阻斷基質與樣品的共

結晶過程 (co-crystallization)。

- 細菌

MALDI-TOF-MS 應用的超純水應為無菌，因為細菌可能是大分子 (如蛋白質、核酸、醣類) 的來源，而這些大分子物質亦會被質譜儀偵測到，進而使結果分析複雜化。細菌亦可能成為離子及有機物質的來源。

實驗結果

圖 2 上方係以 MALDI-TOF-MS 分析以下兩種樣品的圖譜結果：(A) cytochrome C 及 (B) 以 trypsin 酵素分解牛的蛋白質 transferrin。圖 2 下方係以 reflectron mode 獲得的結果。準備基質所使用的超純水來自 Milli-Q 超純水系統。

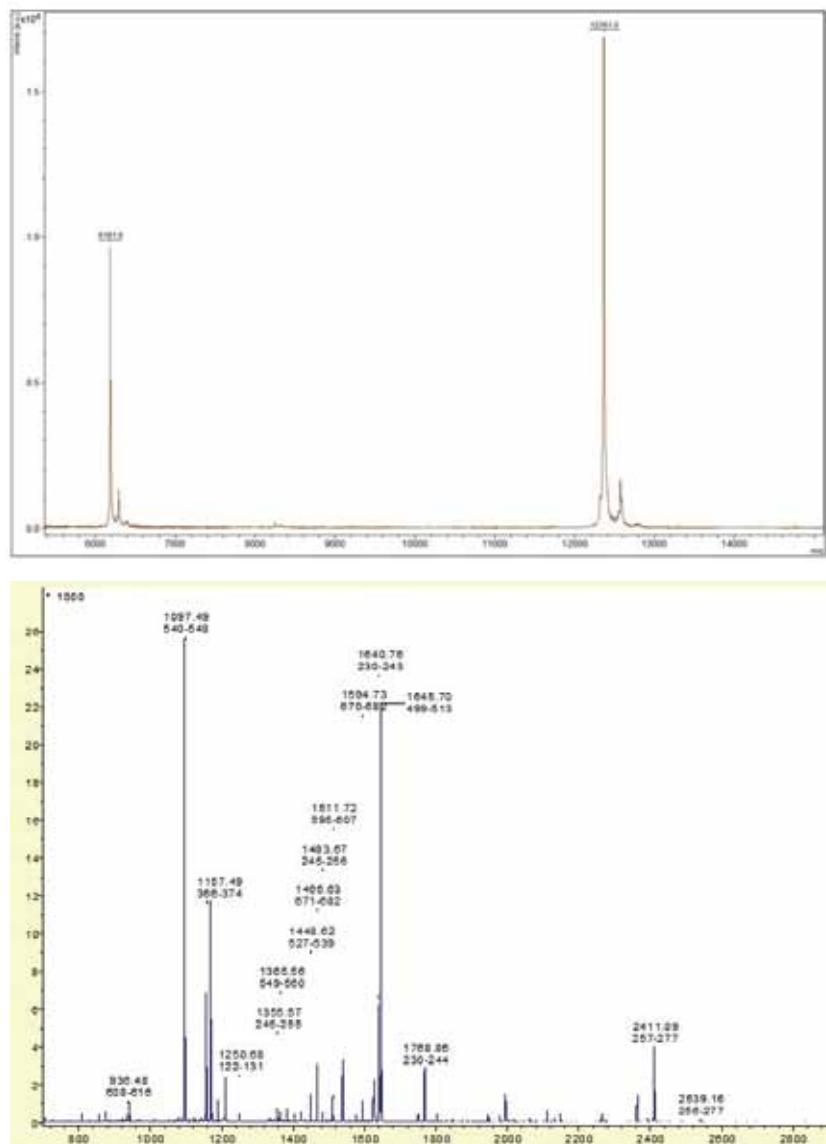


圖 2 以 MALDI-TOF-MS 分析以下兩種樣品的圖譜結果：(A) cytochrome C 及 (B) 以 trypsin 酵素分解牛的蛋白質 transferrin。下方為以 reflectron mode 所獲得的結果。

雖然，MALDI-TOF-MS 相較於電噴灑式離子化 (Electrospray ionization)，有較高的離子污染耐受性，不過使用高品質超純水以獲得清楚，無雜訊的圖譜仍然非常重要。

選擇適當的超純水系統做為 MALDI-TOF 質譜分析用水

如何選擇適當的超純水系統做為 MALDI-TOF-MS 的分析應用? 有幾個因素需要考量：

- 純水系統需做確效與否
- 所建立方法所需用水量 (包括樣品製備階段)
- 實驗室超純水系統的供水來源
- 實驗室日常所需純水及超純水用量
- 實驗室可擺放純水機台的空間
- 線上即時監控系統: 確保純水品質保持在正常規格範圍內
- 實驗室中是否有其他需要用超純水進行分析的實驗
- 實驗室設備及應用將來可能的擴展或升級

1. 資料來源: http://www.millipore.com/lab_water

2. 資料來源: 輔仁大學理工學院生命科學系 教學卓越計畫 / 蛋白質體學介紹及方法
<http://www.bio.fju.edu.tw/excel/content05/html/14.htm>



默克密理博事業體
純水技術處

www.merck-millipore.com

Merck Millipore is a division of 