

重离子解吸质谱计及其应用

王 震 遐

(中国科学院上海原子核研究所)

〔摘要〕 本文介绍了重离子解吸质谱计的基本原理和结构,它是用 ^{252}Cf 或加速器产生的快速重离子轰击样品使分子解吸成离子,然后用飞行时间分析法获得质谱。这种仪器特别适用于生物大分子的研究,文中给出了一些应用实例。

一、引 言

在研究生物大分子过程中,质谱分析是一种重要的手段,它可以根据质谱的碎片图象来推断和鉴别分子结构。目前,用快速重离子解吸方法制成离子源,结合飞行时间分析方法,组成了一种新型质谱计——重离子解吸质谱计,(HIDMS)。尽管这种新型质谱计的研制开始不久,但它在研究生物大分子方面的应用已引起人们的广泛兴趣。本文的目的是介绍这种新型质谱计的原理和结构以及目前在生物大分子研究方面的应用。

二、重离子解吸质谱计的发展

用一般质谱计研究生物大分子受到离子源解吸方式的很大限制,因为很多生物大分子,诸如激素、酶、肽和核酸等一般在液态和固态时分子之间存在着很强的相互作用,因而蒸气压很低。这实际上意味着可产生的准分子离子太少,达不到一般质谱计灵敏度的要求。当然增加蒸气压的简单办法是对样品加热,但由此将引起热不稳定的分子分解,故一般的加热方法不能使用。解决这个问题的途径有二:提高质谱计的灵敏度或者在增加分子挥发性的同时使其分解率降到极小。从后一种途径进行研究的主要目标是改进或找到新的分子解吸方法,这些方法有物理的也有化学的。例如,由于固体分子的极键会产生强烈的相互作用,这种作用减小了它的挥发性。可以用化学方法使成为具有较高蒸气压的非极性取代基的衍生物。另一种化学方法是采用离子分子反应,在离子源中形成准分子离子。物理方法中比较理想的是电场解吸,最先由Beckey等人将这种原理用于不挥发的生物分子研究^{〔1〕},后来Simans等人又用这种方法使蔗糖和脯氨酸分子从液体表面解吸,从而发展成为目前实际应用的“电场

1983年9月8日收

解吸质谱仪”。

1974年Macfarlane等发现,从Cf-252裂变源放出的裂变碎块能够使固体表面的生物大分子电离和解吸,并于1976年第一次按此原理制成质谱计— ^{252}Cf -DMS,对生物大分子进行了研究^[2]。虽然解吸机制至今尚不清楚,但制成的质谱计却显示出很大的潜力。

三、重离子解吸质谱计的基本原理和结构

重离子解吸质谱计是用重离子轰击使样品分子解吸成离子,再用飞行时间法进行质量测定。

加热使生物大分子挥发的办法之所以不可取,主要是会引起分子热分解。其原因是能量沉积到非稳定的振动态时导致分子的键分离,这种方式引起的分子分解率和能量沉积的时间及周期有关。由此可见,只要能使沉积能量的时间变得很短,也就是说在极短的时间内使分子的温度上升到很高的程度,以致在这样短的时间内分子还来不及把能量吸收到振动态,那末分子在不分解的情况下挥发仍然是可能的。

用重离子轰击样品,实验证明它可以使生物大分子解吸,其作用机理目前仍在研究之中。有一种所谓“热钉(Spike)模型”是大家感兴趣的,这种模型认为,不知什么原因入射离子的能量会在约 10^{-12} 秒这样短的时间之内集中到一个热点之上,即在一个大小约为 100\AA 的“热钉”范围内。由于能量的突然集中,可使“热钉”区域内的分子温度升高到 10^4 度(K)以上,此时分子还来不及分解就被挥发了,这种加热方式正是生物大分子解吸所要求的。另一种设想认为“热钉”范围内发生了化学反应,从而可使生物大分子挥发^[3]。总之,重离子解吸质谱计所使用的是一种已被实践证明有效的新型离子源。目前,不仅裂变碎块可以使生物大分子解吸,即使是用加速器产生的重离子,甚至是轻粒子,都有这种作用。因此现在正在研究的这种类型的质谱计有两种,一种是前述的 ^{252}Cf -DMS,另一种是利用加速离子的质谱计,(HIDMS)。

HIDMS这种仪器所使用的飞行时间分析法的原理很简单,质量不同的准分子离子同时被解吸,由加速电场使其加速获得相同能量,由于离子所带电荷相等,质量不同的离子从加速栅飞越相同长度的漂移区所需的飞行时间将不相同,因此测量飞行时间就可以换算出准分子离子的质量。

图1(a)是利用裂变源Cf-252制成的 ^{252}Cf -DMS原理图。Cf-252是自发裂变元素,半衰期为2.6年。有3%的衰变是瞬发裂变,其余是放射 α 粒子的衰变。每次裂变成两个碎片核,它们的质量和能量都不相等。典型的一种衰变方式是生成 $^{142}\text{Ba}^{+18}$ 和 $^{106}\text{Te}^{+22}$ 两个核,能量分别为79和104兆电子伏。同时这种裂变还有一个重要的特点,那就是两个碎块的飞出方向几乎成 180° 。因此,按照图1的安排,当其中一个碎块打到样品上将分子解吸时,另一碎块恰好被起始探测器 D_1 探测,其输出信号作为计时器(TV变换器)起始时间信号,而离子经过漂移距离 d 之后被探测器 D_2 收集所产生的信号作为停止计时器的信号,计时器所记录的时间即为该离子的飞行时间,把飞行时间和有关参数输入计算机可以给出时间谱和质谱数据。

图1(b)是用加速器引出重离子的质谱仪,除了用重离子代替裂变碎块,并使入射重离子穿过样品被 D_1 探测产生起始时间信号之外,其余都与 ^{252}Cf -DMS相同。

目前国外已有少数物理实验室研究了这种质谱计,初步的应用已显示出它具有灵敏度高

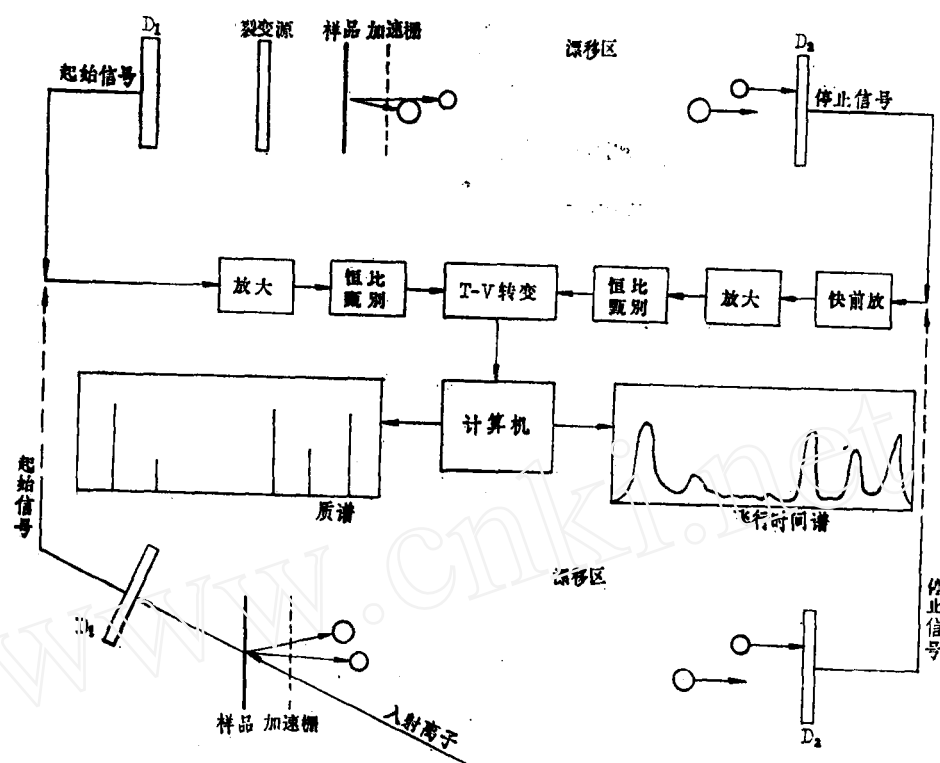


图 1. 重离子解吸质谱仪原理图

(样品少到微微克)、设备简单以及可用于不挥发和热不稳定生物大分子的研究等等难得的优点。可分析离子的质荷比已达 $m/z = 13000$ 。

四、在生物大分子研究方面的应用

尽管质谱仪在复杂的生物大分子结构研究中只解决部份问题，但是，它可以提供解释分子结构的重要信息。

重离子解吸质谱仪的典型应用实例之一是对新分子的鉴别，包括天然毒素、抗生素以及那些包含在人类新陈代谢中与病变有关的不健全分子等等。这些分子虽然一般分子量并不大(质量数低于4000)，但几乎都是高极性的。

一般质谱法分析抗生素具有很大困难，这一方面是由于其结构复杂，同时也因为它们常包含多极群，要在高温下才能气化。即使在电场解吸质谱计中，想达到像“热钉”那样高的温度也要很长时间，因而在蒸发之前已经分解了。利用重离子解吸附质谱计分析抗生素，例如用 ^{252}Cf -DMS和HIDMS分别对AVOPARCIN(一种抗生素)所作的研究^[4]，结果都很成功，而用别的质谱仪未能获结果。图2给出用 ^{252}Cf -DMS测量的AVOPARCIN- β 的正离子质谱， $(M + \text{Na})^+$ 清晰可见，其质量为 $1965.8 \pm 1u$ 。AVOPARCIN的分子结构如图3所示，其分子量为1943。

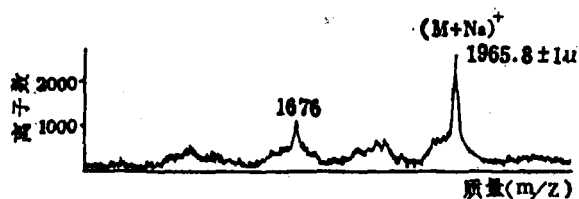


图 2 AVOPARCIN- β 的 ^{252}Cf -DS正离子谱

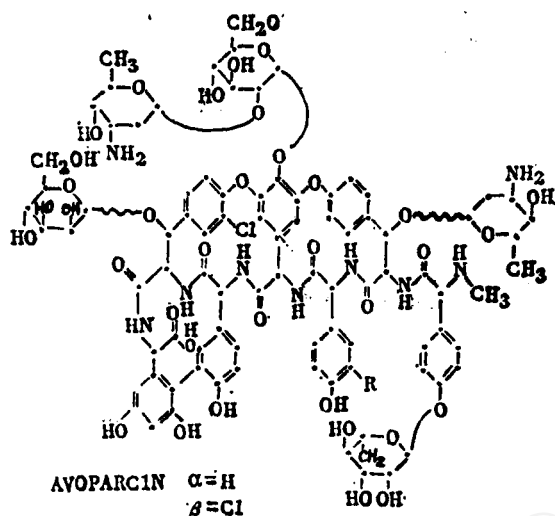
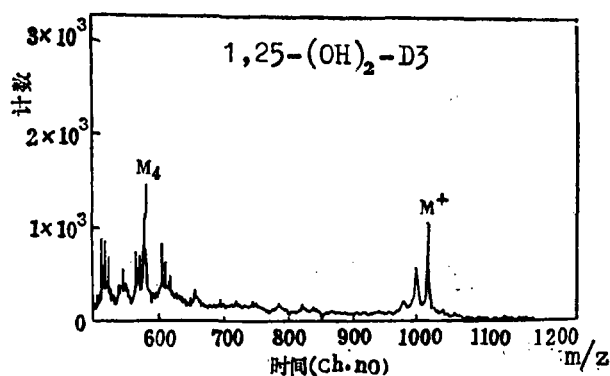
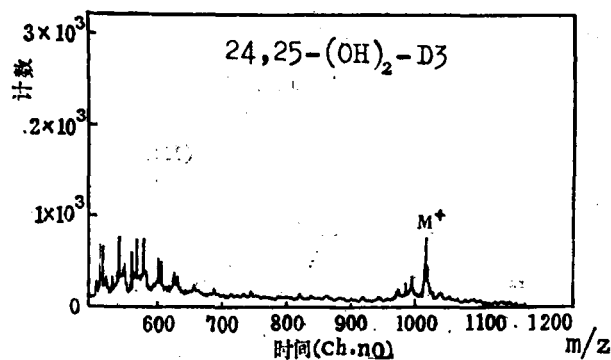


图 3. AVOPARCIN化学结构

(OH)₂-D3^[5]的测量结果,图4(a,b)给出了这两种代谢物的碎片质谱,它们可能的化学结构见图5。

图 4 (a) 1,25-(OH)₂-D3的HIDMS图 4 (b) 24,25-(OH)₂-D3的HIDMS

对维生素D代谢物的研究也是令人感兴趣的。维生素D在人类和其它脊椎动物钙新陈代谢的调节中起关键作用,虽然已进行了广泛的研究,但是很多新的代谢物不断出现,同时很复杂的机理也待研究。目前在临床上最使人感兴趣的是维生素D₃、25-OH-D₃和1,25-(OH)₂-D₃。

用一般质谱计已对D₃和25-OH-D₃作过测量,由于1,25-(OH)₂-D₃在生物液中浓度很低,因而无法进行。但是重离子解吸质谱计的灵敏度很高,所以可以解决分子总数很少的测量问题。Fohlman等人已经报导了用HIDMS对1,25-(OH)₂-D₃和24,25-

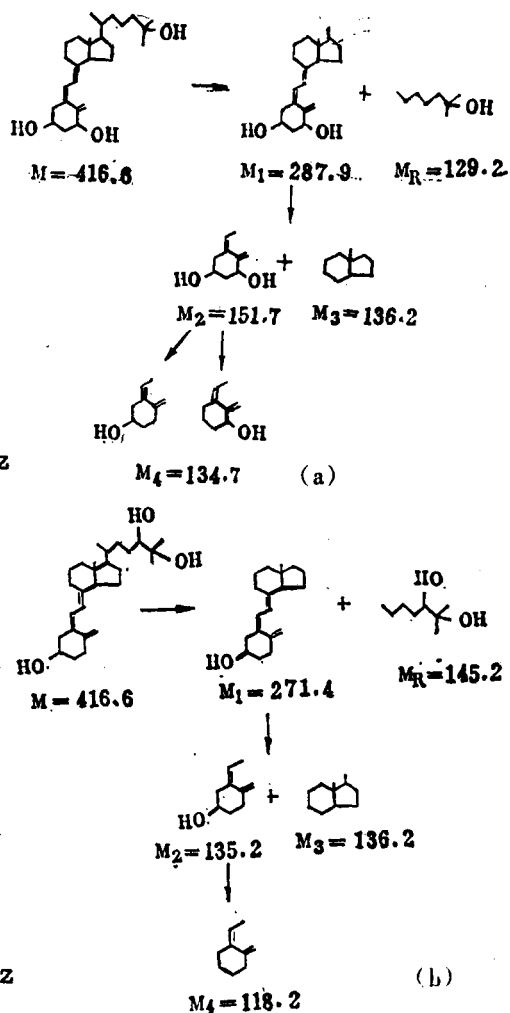


图 5 (a) 1,25-(OH)₂-D₃可能的分子结构
(b) 24,25-(OH)₂-D₃可能的分子结构

对核酸的研究，一直是人们注意的重要课题。图 6 给出了三核苷酸的 ^{252}Cf -DMS 测量质谱，其中可以看到有大量的碎片峰出现。所测出的峰位置都可与图 7 中给出的三核苷酸可能的键断裂所导致的碎片离子产物一一对应。

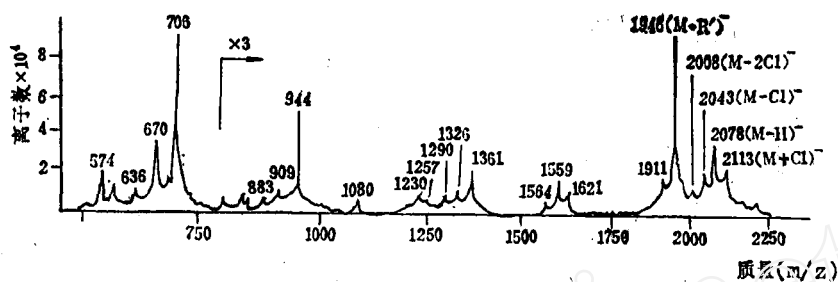


图 6. 三核苷酸的 ^{252}Cf -DMS 负离子质谱

人们已知物理的（如 γ 、X 射线等）或化学的因素导致 DNA 变异是重要的致癌原因。当然，有时 DNA 的特殊变异也可用来医治某些顽疾，例如白癫疯和牛皮癣等。因而对 DNA 的变异方法和变异机制的研究是人们极感兴趣的课题。目前已成功地利用重离子解吸质谱计对在体外进行的苯（并）芘二醇环气和 DNA 的作用结果进行了测定，（见图 8），其中 $M = 592$ 和 614 处的两个峰分别对应于鸟（嘌呤核）苷与 Na 的连接物 $(M + \text{Na})^+$ 和 $(M + 2\text{Na} - \text{H})^+$ 。还可以看到在 $M = 200$ 到 300 之间的碎片峰，它们相当于碳氢化合物的骨架。

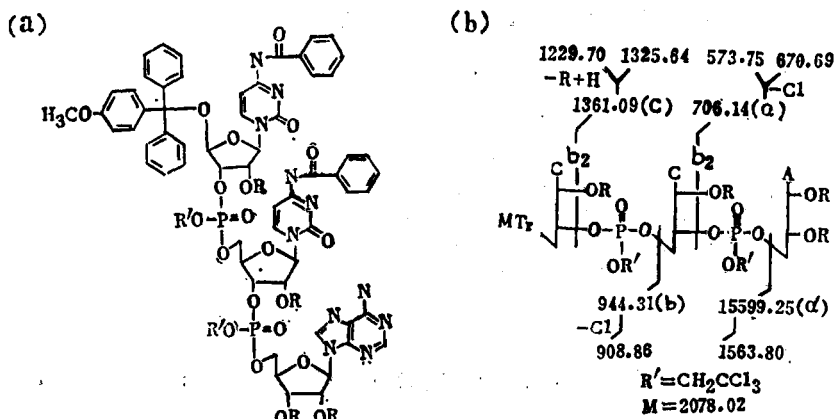


图 7 (a) 三核苷酸的化学结构；
(b) 由磷酸键断裂产生的碎片质谱

$(M + \text{Na})^+ = 592$ 准分子离子的出现准确地鉴别出包含在这个反应中的主要产物是鸟苷，经过进一步研究其化学结构也在图 8 中给出。能够如此方便地观察到核酸的准分子离子是很重要的，因为它可以对在反应中包含的核酸的性质和变化过程迅速提供鉴别和信息。目前有人正对苯（并）蒽环氧化物与 DNA 的复杂反应进行研究，预计可能取得更好的结果。

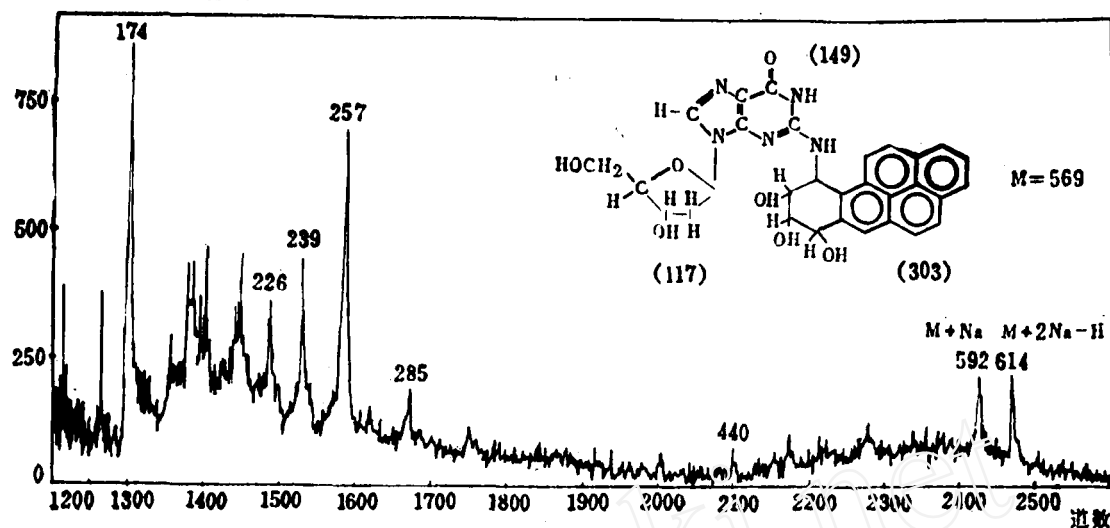


图8 苯(并)芘环氧化物与DNA反应的质谱, 并给出鸟苷的分子结构。

五、结 束 语

重离子解吸质谱计虽然是刚发展起来的新方法, 但实践已经证明它在生物大分子研究方面是一种很有用的工具。其结构简单, 造价较低, 更为实用创造了有利条件, 因此国外目前已有这种研究性的仪器问世, 预计不久会有更迅速的发展。另外, 重离子解吸机理的研究也是很有意义的课题, 目前正引起人们的注意。鉴于以上情况, 开展重离子解吸质谱计的研制和解吸机理的基础研究都是很必要的。

在本文撰写过程中得到吴逸平和汪勇先同志的帮助, 特此致谢。

参 考 文 献

- [1] H.D.Beckey, et al., Int. J.Mass spectrom, Ion phys.3, 9 (1970)
- [2] R.D.Macfarlane, et al., Science, 191, 920 (1976)
- [3] R.D.Macfarlane, Nucl. Instr. Meth., 198, 75 (1982)
- [4] C.J.Mcneal, 同上, 198, 139 (1982)
- [5] J.Fohlman, et al., 同上, 198, 169 (1982)

A Heavy Ion Desorption Mass Spectrometer

Wang Chenxia

(Shanghai Institute of Nuclear Research, Academia Sinica)

Received 8, Sept. 1983

Abstract

This paper gives a brief description about the principle and structure of heavy ion desorption mass spectrometer (HIDMS) developed in recent times. Ionization is realized in the source by bombarding the sample with fast heavy ions resulting from ^{252}Cf or accelerator to desorbing the molecule, then the mass spectra are obtained from a time of flight mass spectrometer. HIDMS is a powerful tool for studying the biomolecule. Some applied examples in the field are also reviewed.