

蛋白质组学中的 MALDI 基质研究进展

许亚伟^{1,2}, 陆豪杰^{1,2,*}, 杨芃原^{1,2}

(1. 复旦大学化学系, 上海 200433; 2. 复旦大学生物医学研究院, 上海 200032)

Recent Development of MALDI Matrix Applied in Proteomics

XU Ya-wei^{1,2}, LU Hao-jie^{1,2,*}, YANG Peng-yuan^{1,2}

(1. Department of Chemistry, Fudan University, Shanghai 200433, China;

2. Institutes of Biomedical Sciences, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Abstract: Matrix assisted laser desorption ionization (MALDI) technology is one of the best mass spectrometry ionization technologies for macro molecules which was developed almost two decades ago. From organic compounds to inorganic materials, there are a lot of matrices that have been developed for MALDI. In this article, we conclude the recent development of MALDI matrix applied in proteomics and their pros and cons.

Key words: MALDI; Mass spectrometry; Matrix; Protein; Peptide

中图分类号: O657.63 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997(2006)增刊-167-02

激光解析离子化质谱(LDI)曾经是一种重要的分析非挥发性有机物的方法。LDI 要求样品分子对激发光有强的吸收,对弱吸收的样品分子则需要增强激光能量才能使其离子化,这就导致了大分子质量的样品分子容易发生碎裂,限制了 LDI 应用在分子质量大于 2.98 ku、热不稳定的样品分子的分析。1988 年, Karas 和 Hillenkamp 提出了基质辅助激光解吸电离(Matrix assisted laser desorption ionization, MALDI)技术,解决了高质量数生物分子的离子化问题。如今 MALDI 技术作为一种出色的软电离技术,在生物大分子的质谱检测领域有着其它技术无可比拟的优势。限于篇幅,本文将着重介绍用于蛋

白质和多肽的 MALDI 基质的研究进展。

1 MALDI 基质的分类

MALDI 基质根据其化学属性分为有机基质和无机基质。早期应用的 MALDI 基质就是单一的有机小分子化合物。这种单一基质体系会形成很多基质的簇合峰,增加了质谱图的复杂性,也阻碍了其在小分子领域的应用。为了降低基质簇合峰的影响,发展了添加其它化合物的混合基质体系。使用以上这些基质体系都需要待溶剂挥发后,基质与样品分子形成混晶再送入离子源。由于溶剂挥发的速度不同以及各部位样品和基质比例不均一等因素导致了同一样品点

基金项目:上海市重大基础研究(04DZ14005)和国家自然科学基金(20405003)资助项目。

作者简介:许亚伟(1982~),男(汉族),山西人,硕士研究生,从事物质谱新方法研究。E-mail: 0222032@fudan.edu.cn

* 通讯作者:陆豪杰(1974~),男,江苏人,副教授,从事物质谱新方法研究。E-mail: luhaojie@fudan.edu.cn

的不同部位的样品信号的不重复性。为了增加样品信号的可重复性,发展了液态基质。由于样品可以很好地溶解在液态基质中,并且样品在液态基质中可以很好地扩散,使得液滴内各处的样品浓度很容易保持一致,这样就可提高实验重复性。然而这样的液态基质真空稳定性还不够高,并且不能吸收紫外区的激光,便无法在现代质谱仪上应用。随后发展的离子液基质具有非常好的真空稳定性,实验的可重复性进一步提高。而且可以吸收紫外区的激光,更适用于现代质谱仪。有机基质分子在离子化过程中不可避免地气化、离子化。会在质谱图上形成基质簇合峰等信号。新发展的无机基质由于本身不会气化、进入分析器,因此不会产生簇合峰等干扰信号。无机基质最初采用钴纳米颗粒,随后,碳纳米管及其经化学修饰后、以及整体多孔无机材料也分别用作 MALDI 基质得到了很好的效果。

1.1 有机基质

最初使用的有机基质是烟碱酸,随后大批有机化合物被用作 MALDI 基质,如 2,5-二羟基苯甲酸(DHB)、 α -氰基-4-羟基肉桂酸(CHCA)和芥子酸(SA)基质等用作 MALDI 基质取得了很好的效果。但是单一有机基质体系也存在明显的缺点。由于基质分子会随着样品分子解吸、电离,就会在低分子质量的部分($<1\ 200\ u$)引入较多的噪音,导致这一部分的信噪比降低,严重干扰了对低分子质量的有机物、肽段的测定。

1.1.1 复合有机基质体系 采用铵盐缓冲液作为基质添加剂,可以显著降低基质簇合峰的影响。选用合适的化学物质作为基质添加剂,与现有基质组成复合基质体系,还可以增强 MALDI 对磷酸化肽段的检测能力。用添加了柠檬酸氢二胺的 2,4,6-三羟基苯乙酮或添加了磷酸的 DHB 作为基质,可以显著降低非磷酸化肽段的信号对磷酸化肽段的信号的压制,使得本来较弱的磷酸化肽段的信号得以明显加强,磷酸化蛋白就能得到很好地检测。

1.1.2 液态有机基质 传统的液态基质有乳酸、三乙醇胺、甘油等。这几种液态基质能够在质谱检测时保持液态,使样品分子均匀分散在液滴中,在一定程度上改善了实验的可重复性。但是,这些液态基质高真空下不够稳定,基质的气化不仅降低了实验的可重复性,大量的基质分子还会污染离子源。此外,这几种液态基质对紫外

区激光吸收很弱,不能用于紫外区激光 MALDI。2004 年发展的离子液基质,很好地解决了这两个问题。离子液基质具有易于溶解有机样品,室温下蒸汽压低的特点,同时也保留了 DHB、CHCA 和 SA 等物质适用于做 MALDI 基质的优良特性。但与原来结晶成固体的基质相比,溶解在液态基质中必然导致样品浓度的下降,灵敏度便会有一定程度的降低。与碱性基团反应后所生成的离子液的适用范围也会发生一定的变化。

1.2 无机基质

最早采用的无机 MALDI 基质是钴纳米颗粒。这种材料具备一定吸收光子能量的能力,可以将光子的能量吸收、传递给样品分子。但由于无机材料无法很好地黏附在靶板上,在真空条件下,表面吸附了样品分子的无机颗粒很容易脱离靶板,导致信号强度随着时间的推移快速下降,同时也容易污染离子源。随后,将无机基质换成石墨微粒的同时加入了甘油。甘油的加入可以使无机微粒更好地黏附于靶板之上,从而减慢了信号衰减的速度,多极串联质谱的结果也相应获得很大提高。

1.2.1 碳纳米管无机基质 根据碳纳米管具有紫外吸收的特点,在 MALDI 普遍采用的紫外区激光照射下,碳纳米管可以吸收光子能量,传递给样品分子,使其电离。碳纳米管在低质量端的噪音非常低,这样就可以获得更好的分辨率和更低的检测限。但碳纳米管在水中无法形成均一溶液,容易团聚导致沉降,同时干后的靶点各处不够均匀,实验的可重复性差。使用氧化后的碳纳米管,实验重复性得到相应改善,但引入的钠、钾离子会与样品分子结合,使得样品分子形成多个准分子离子峰,相应降低了检测灵敏度。

1.2.2 整块多孔材料无机基质 除了类似上面的用无机物小颗粒做的基质,还有一类直接采用整块无机物材料作基质的方法。完全用多孔硅作基质的 MALDI 已成功用于对小分子有机物及生物大分子的检测和鉴定。然而多孔硅的吸附能力不够强,于是又产生了将多孔硅表面作修饰,再用作基质的方法。用电化学腐蚀的方法制作多孔硅,孔径、深度和孔的密度都难以控制,有较宽分布范围。于是,又产生了利用纳米二氧化硅微球作掩模,刻蚀有规则的纳米孔的技术,可以获得一系列不同性能的多孔硅基质。