

# 大型生物质谱仪 MALDITOF-MS 的维护与管理

吴韩志<sup>1</sup> 陈晋安<sup>1</sup> 黄慧英<sup>1</sup> 黄河清<sup>1,2</sup> 张勇<sup>2,3</sup>

(1 厦门大学生命科学院 厦门 361005)

(2 厦门大学分析测试中心 厦门 361005)

(3 厦门大学环科中心 厦门 361005)

**摘要** 大型生物质谱基体辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪 (MALDITOF-MS) 是现阶段对大分子量生物样品分析的一个重要仪器。它具有速度快和精确度高等特点。广泛用于多肽、蛋白质、碳水化合物、合成多聚物、寡核苷酸以及天然产物等的研究。本文主要介绍 BRUKER 公司生产的 REFLEX III 型 MALDITOF 质谱仪特点, 总结在实验工作过程中的经验与体会。

**关键词** 生物质谱 MALDITOF-MS 维护 管理

## 概述

生物质谱仪的发展与应用依赖于两个离子化技术的发明, 即基质辅助激光解析电离 (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization, 简称 MALDI) 和电喷雾电离 (Electrospray Ionization, 简称 ESI) 的发明。对于 MALDITOF 质谱仪而言, 飞行时间质谱 (TOF) 作为质量分离器的一种类型, 在上世纪 70 年代以前就提出, 具有结构简单, 测定质量范围宽等特点。目前有两种类型的飞行时间质量分离器, 即直线型和反射型, 后者是 Manlyrin 等人在 1973 年为改善飞行时间质谱对小分子的质量分辨率而提出的。1987 年, Hillenkamp 和 Karas 发明新型的离子化技术-基质辅助激光解吸电离 (MALDI), 该技术与其他离子化技术相比, 具有离子化均匀, 离子碎片只带单一电荷等特点。将 MALDI 离子化技术和 TOF 质谱技术结合生产的 MALDITOF 质谱技术具有操作简单, 灵敏度高, 质量度分辨率高, 测定质量范围宽等特点, 非常适合生物分子和高聚物的分子量测定。随着生命科学的发展, 使用现代分子化学技术对生物分子准确性的要求不断扩大, 1993 年 Henzel Stults, Watanabe, Roepstorff 等人利用 MALDITOF 技术革新发明多肽质量指纹图谱技术革新以提供人们对蛋白质分子进行定性研究<sup>1</sup>。厦门大学生命科学院于 2001 年购置 BRUKER 公司 REFLEX III 型 MALDITOF 质谱仪, 主要用于蛋白质组学、蛋白质结构及序列分析、生物大分子活性物质鉴定和 DNA 序列分析等方面。在化学化工、材料科学、海洋环境科学领域, 以及校外的兄弟院校, 相关部门和企业都有使用。该仪器使用机时数达到 2690 小时/年, 年

均样品数为 6000 个, 学院以质谱技术为依托, 举办过二次国内蛋白质组技术培训班, 反响强烈。目前利用该仪器已在国内外不同刊物上发表多篇学术论文, 还承担有两项校内科技创新的科学仪器研制与开发项目工作, 是许多重大课题进展中不可或缺的重要部分。作者长期从事 REFLEX 型 MALDITOF-MS 管理与维护工作, 本文是作者工作过程中的经验总结与体会。

## 1 仪器的结构特点与主要性能

布鲁克公司生产的 REFLEX 型 MALDITOF-MS 仪器主要由离子源、激光器、检测器、数据采集系统、高真空系统以及供电系统等构成 (见图 1)。

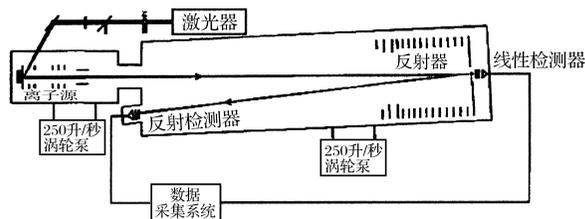


图 1 仪器结构图

安装条件与检测参数主要是: 无强烈震荡源及电磁感应装置; 室温控制在: 18~24℃; 相对湿度: 20%~80%; 供电电压: 380V (三相五线); 频率: 50Hz; 灵敏度: 50fmol; 分辨率: 线性: 400Q 反射: 15000; 质量范围: 大于 240000 Da。

## 2 试样制备方法及前期的准备工作

用微量移液器取试样和基体各 1 μL 混合均匀后, 滴加到 384 点靶的不锈钢样品靶上 (每个靶点

内一滴, 每滴约 0.5~1  $\mu\text{L}$ ); 若采用外标法, 可同法滴加标样与基体的混合液于样品靶上的其他靶位上; 若采内标法, 可将标样和试样各 1  $\mu\text{L}$ 、基体 2  $\mu\text{L}$  一起混合后点样。将点好试样的样品靶置于室温下待样品点溶剂挥发, 样品与基质形成共结晶。

标准样品与基质的保存: 基质保存在 4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱内即可, 标准样品置于 -20  $^{\circ}\text{C}$  下保存, 蛋白标样由于较易降解, 所以可以用小离心管加以分装, 每次取用分装后的即可, 这样做不会因为反复冻融而影响标定工作, 核酸标样更易降解, 所以取用时更要注意; 多肽标样不易降解, 可以省略前面所述的步骤, 配制完成以后可以长期正常取用。

### 3 各主要部件的特点及维护

#### 3.1 进靶组件

进靶组件是保证样品靶进入离子源区正确位置的一系列部件。在日常的操作中进退样品靶是必做的一项工作, 虽然仪器可以自动完成这一系列动作, 但有一些问题一旦出现就会影响到整个实验。

操作过程中, 更换样品靶的时候点击完 probe in (或 probe out) 之后不要对仪器进行其他任何操作。进出样品靶的时候一定要按照进靶程序来进行, 操作不当极有可能造成损害。尤其是当出现靶子进到一半提示出错时更应注意, 一定不要强行进靶, 因为这样可能将进出靶的机械臂折断, 也有可能将关闭舱门的部件损坏。这时最适当的作法是在观察孔中看清样品靶的位置, 同时采取手动的方式调整靶位, 必要时打开舱门取出样品靶后, 再进行调整。

#### 3.2 离子源

要定期清洗离子源, 至少半年做一次清洗工作, 用高纯度的甲醇溶液进行清洗。这样做可以保证信号的强度以及实验结果的准确程度。高压脉冲电子装置 PE 盒是 MALDI-TOF 质谱仪提高分辨率的关键部件, 价格也十分昂贵, PIE 即脉冲延时提取技术, 其作用是通过合理调节脉冲延迟引出的时间和离子引出电极与样品表面之间的电压波形, 有效地补偿试样离子初始化能量的分散, 以提高分辨率、测量精度和灵敏度<sup>2</sup>。在实际操作中, 首先应选择合适的实验方法, 做完实验将高压关闭。平时应注意不要有粉尘等的污染。这样可以有效地提高 PE 盒的使用寿命。

#### 3.3 激光器

本仪器采用 337nm  $\text{N}_2$  激光器, 激光发射频率为 50Hz, 进行样品检测时, 最好将激光器的相对强度

落在适宜的区域之内, 比如, 多肽样品激光强度要求低, 其相对衰减百分比就可以调高一些, 蛋白样品需要较大的激光强度, 这时就可以将衰减值调低一些。每台仪器的状况有其个体的差异, 需要实验者自行把握, 这样不仅对检测样品来说很有帮助, 对仪器本身也是一种保护。如果仪器长期不用, 激光器也必须定期地工作, 否则会出现激光器无法正常运作的情况。日常管理上, 每次测试完成后应如实做好实验纪录, 对仪器的状况有一个实时的把握。

#### 3.4 检测器、数据采集系统

检测器一般不用太多的维护工作。数据采集系统可以由经过培训合格的人员来操作。操作过程中, 特别是移动靶位的时候一定要在监视器上看到靶子响应后再做下一步的操作。切勿用鼠标连续点击来移动靶位, 这样很容易造成死机。一旦出现死机现象, 即靶子不受控的情况下, 首先选择重启软件, 其次是重启工作站, 再次是将仪器状态初始化, 同时重启工作站, 一般情况下可以解决问题。如果发生错位情况, 即样品当前位置与软件显示的位置不一致的时候, 可以在手动操作的界面下做一下软件的初始化。

#### 3.5 高真空系统

真空对于仪器来说至关重要, 如果达不到高真空度, 仪器将无法正常工作。本仪器采用两级抽气结构, 前级为旋叶式机械泵, 后级为分子涡轮泵。分子涡轮泵价格昂贵, 结构更为复杂, 因此更需要注意保养与维护。真空泵的滤网与泵油要定期观察与更换。值得注意的是, 保证室温控制在 18~24 $^{\circ}\text{C}$  左右, 可以防止质谱仪内部各组件表面冷凝水的生成, 造成仪器的内部线路的短路。另外控制室温对涡轮分子泵也十分重要, 温度过高会造成泵油的外溢。

#### 3.6 供电系统

虽然仪器的一些部件对突然断电有一定的自我保护功能, 但就整体而言, 断电对仪器的影响是相当大的。因此, 选用优质的不间断电源是仪器正常使用和稳定运作的保障。条件允许的话可以将电池与仪器分隔放置, 同时配备必要的监控系统, 随时应对突发事件。

### 4 结束语

MALDI-TOF 质谱仪作为生物大分子研究中的关键仪器设备, 正在发挥着越来越重要的作用。它不仅成为蛋白质组学研究的重要支撑技术之一, 而

(上转第 50 页)

- 5 Pete Moore Ion channels and stem cells [J]. NATURE, 2005, 438: 699~ 702
- 6 Michael Fejtli, Uwe Czubayko, Alexander Hümmer, et al Automating True Manual Patch Clamping [J]. Genetic Engineering News 2005, 25(14):
- 7 Lepple-Wienhues A, Ferlinz K, Seeger A, Schafer A. Flip the tip: an automated, high quality, cost-effective patch clamp screen [J]. Receptors and Channels 2003, 9(1): 13 ~ 17
- 8 John Conley Patchers vs Screeners divergent opinion on high throughput electrophysiology [J]. Drug Discovery World 2003, 47~ 57
- 9 John Conley automated patch clamping setting a new standard for early hERG [J]. Drug Discovery World 2005, 6: 62 ~ 79

## Advancement in ion channel research-automation patch clamp technology

Cao Xiaoyu<sup>1</sup> Zheng Wanyun<sup>2</sup> Lu Yanbin<sup>3</sup> Huang Chao<sup>1</sup>

(1. Dakewe Biotech Co., Ltd. Guangdong 518054)

(2. Laboratory of Molecular and Cellular Neuroscience, School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 36100)

(3. Nanjing Shankang medicine development company, Nanjing 210013)

**Abstract** Automation Patch clamping is widely recognized as the definitive Gold Standard method for studying ion channels since it is of the features of direct test, high information content and high sensitivity. Automation patch-clamping technologies is also the latest achievements of science and technology for its milestone breakthrough in high throughput, highly automated operation, excellent quality of Gigaseal, and micro-volume compound solution application. So, this novel technology is perfectly compatible with the process of pharmaceutical screening, toxicological assay and Virtual Screening. This article reviews the brief history of these emerging technologies and discusses the technical details.

**Key words** Automation patch clamp High throughput pharmaceutical screening hERG assay Virtual screening

(上接第 46 页)

- 2 刘琰, 李辉, 顾亮等. I<sup>2</sup>C 接口时钟芯片 DS1307 在坦克半主动悬挂电控单元中的应用, 国外电子元器件, 2002, 5: 9 ~ 12
- 3 胡建波. LCM 12864ZK 图形液晶显示模块并行实用技术, 信息技术与信息化, 2006, 1: 67~ 69
- 4 沁恒电子有限公司. 基于 CH375 设计的 U 盘读写模块的使用说明, 南京沁恒电子有限公司, 2004
- 5 张齐, 杜群贵. 单片机应用系统设计技术——基于 C 语言编程, 北京: 电子工业出版社, 2004
- 6 谢荣, 毕监勃. 无纸记录仪技术的现状及发展趋势, 四川: 自动化与仪器仪表, 2001

## Design and realization of a new kind of paperless recorder

Zhao Junying Zhao Quaming Su Yanning Li Li

(Hebei University of Technology Tianjin 300130)

**Abstract** A new kind of mini-paperless recorder was introduced to be used in the industrial anneal. Taking AT89C52 as the microprocessor, it can record the time when the temperature reached, the material was put in and the alert happened. The records can be deleted, stored in memory, booked up and displayed on the LCD screen.

**Key words** Paperless recorder I<sup>2</sup>C Bus LCD USB interface

(下接第 60 页)

且在多个领域发挥着越来越多的作用。目前, 隶属生命科学学院的 MALDI-TOF 质谱仪, 作为厦门大学测试中心的主力仪器设备之一, 在全校大型仪器设备共享平台上发挥着十分重要的作用。一支训练有素、颇具使用和管理经验的技术队伍, 为其正常、高效运转提供了保障。2004 年, 在厦门大学测试中心计量认证现场评审过程中, 该仪器呈现出优良的检测性能, 送检盲样的检测指标全部合格, 得到专家组的高度评价。当然, 当 MALDI-TOF 质谱仪等大型仪

器设备逐步成为许多交叉学科发展不可或缺的重要仪器时, 许多新的有关大型仪器设备维护、保养、使用等问题还需要不断的探索、创新。

### 参考文献

- 1 祝立群. MALDI-TOF 分析多肽指纹图谱的进展与应用, 生命科学仪器, 2004, 6(3): 10~ 13
- 2 赵晓光, 薛燕, 刘炳玉. MALDI-TOF 质谱仪关键技术及进展, 现代仪器, 2003, 4: 17~ 20