

知識天地

生物粒子的體重機和它的應用

陳仲瑄（基因體研究中心研究員兼代主任）

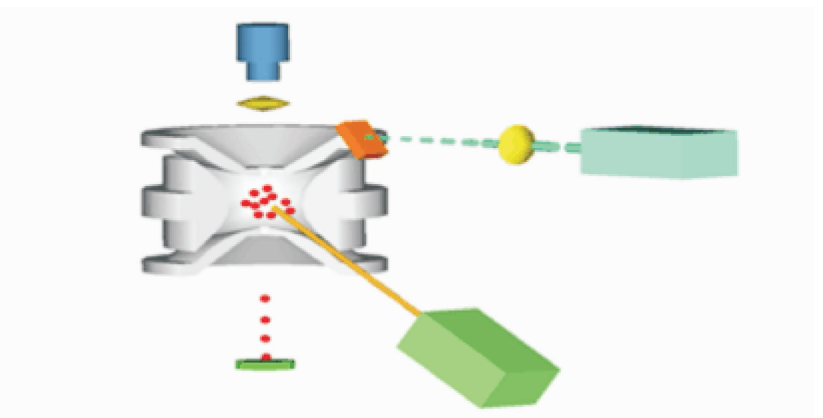
體檢的時候測量體重幾乎是必須的，在許許多多的生物醫學和生物化學的研究，對這些生物分子或粒子的測量常常是必需的。因為質量的測量常常是鑑定分子最直接和可靠的方法。質譜儀常常被認為是件精密又昂貴的儀器，然而它的功能卻只有一種：測量原子、分子或粒子的質量，跟測量我們體重的體重機的功能非常接近。事實上，質譜儀遠比不上我們經常使用的體重機，因為質譜儀不能直接測量一個粒子的質量只能測量質量和電荷的比例 (M/Z)。在以往，大部分質譜儀用來測量小分子，通常一個小分子只帶一個電荷 ($Z=1$)，所以質量也就可以輕易的算出來。

一個質譜儀對一個分子質量的偵測通常需要三個必要的步驟，這些步驟包括(1)游離過程 (ionization)，(2)質荷比 (M/Z) 的區分，(3)帶電荷粒子的測量 (ion detector)。因為需測量質荷比，所以必須使所要測量的粒子帶有電荷，這個使粒子帶有電荷的過程稱為游離的過程，在以往，大部分指的是分子丟失了電子而帶有正電荷，最常用的方法是使用電子撞擊來使小分子丟失了一個電子，除此之外，也常用光游離 (photoionization) 的方法來產生離子。然而對於使用電子對生物分子撞擊或光游離的步驟常會使得大的生物分子破裂成小的分子，因此不能使用。所以使生物分子帶有電荷常經由給予生物分子一個質子 (protonation) 或使生物分子失去了一個質子 (de-protonation) 而產生生物離子。一旦離子產生，就得將帶有不同質荷比的粒子分開，一種最直接的方法就是仰靠不同質荷比的粒子在電場中所跑動的速度不一樣來做區分，大的跑得慢，小的跑的快，這一種質譜儀稱為時間飛逝質譜儀 (Time-of-Flight Mass Spectrometry)。另外，也可以利用磁場對不同質荷比的粒子所產生飛行角度的曲折將不同的離子分開，這種質譜儀稱為 (Magnetic selector mass spectrometer)。此外，還有四極棒 (quadrupole) 或離子阱 (ion-trap) 等設計，也都可以用來區分不同質荷比的離子。最後在測量上通常是仰靠帶電荷的粒子加速打在金屬板上將電子打出後加以放大所得的電子訊號。

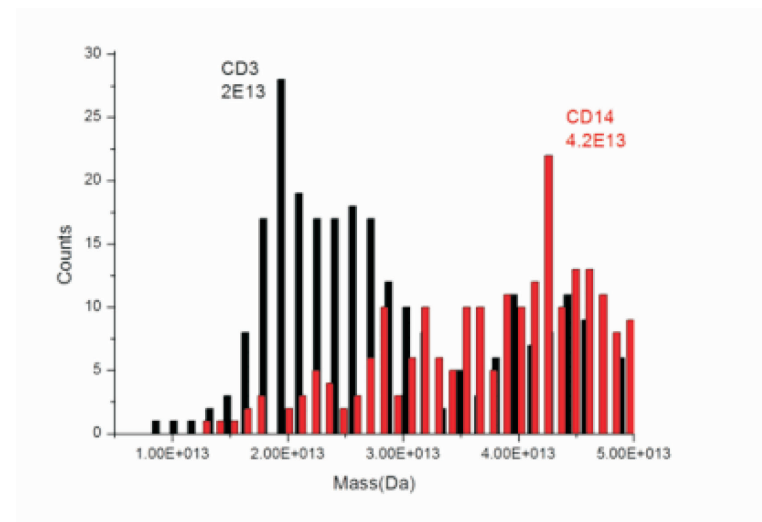
除了上面所述三個必要過程之外，質譜儀通常只能測定氣體分子的質量，對於蒸氣壓極低的生物分子，氣化的過程是絕對必要的，雖然許多有機物的氣化程序可以仰賴樣品的加熱，但對於大的生物分子，加熱往往是不可行的。在過去近 20 年中，許多科學家竭盡心力發展不同的方法將生物分子拋入氣態中而且使其帶有電荷，這其中最廣被人們應用的包括基質輔助雷射脫出游離法 (matrix-assisted laser desorption/ionization, MALDI) 和電噴霧游離法 (electrospray ionization, ESI)。2002 年諾貝爾化學獎就給了兩位發展生物分子氣化和游離方法的傑出科學家 Koichi Tanaka 和 John B. Fenn。除了他們兩位以外，Franz Hillenkamp 也被公認為對 MALDI 的發展有著不可磨滅的貢獻。用 MALDI 來得到生物分子游離的基本過程是將大的生物分子和許多小的有機分子混合在水中，然後將水去除，使樣品在金屬板上形成結晶，接著用雷射光照射樣品上。雷射光的波長是在有機物的強吸收範圍，然而生物分子對此波長的雷射光波沒有強吸收，這些有機分子氣化揮發的同時也將大的生物分子帶入氣態中，這種方式並不會使大的生物分子受到破壞。在氣化的過程中，少數的生物分子從小的有機分子中得到質子而帶正電荷，有時生物分子也會丟失質子而帶負電荷。因此，質譜儀就可以用來測量這些生物離子。ESI 的過程是將大的生物分子溶解在特定酸度的水溶液中，然後從一有高電壓的針孔中噴出小水珠，生物分子常常就會帶有電荷，水珠中的水分子在真空中會快速脫離，最後只剩下帶有電荷的生物分子。如此，質譜儀也可以用來測量這些帶電荷的生物分子。到目前為止，這兩種方法被廣泛的應用在許多的生物化學和生物醫學的研究，然而仔細的游離過程還並不完全清楚。通常 MALDI 所得到的生物分子離子通常只帶 1 個或 2 個電荷，因此，質量容易計算，也比較適合於量含有多種生物分子的樣品，不過質量解析度較差。ESI 所得到的生物分子離子常常帶有許多電荷，而且電荷數量的分佈較為寬廣，換句話說，每一種生物分子可能產生 10 種不同的譜線 (因為質譜事實上只量 M/Z ，雖然 M 相同如果

有 10 種不同 Z 值就會有 10 條譜線)，因為如此，ESI 很適合於已經純化過且只含有 1 種生物分子的樣品，它的質量解析度高，而且實驗結果的再現性也比較好。如果樣品中有數十種不同的生物分子，質譜會變成相當複雜而幾乎無法分析。所以 MALDI 和 ESI 起了相輔相成的功用，用 ESI 去做複雜樣品的分析時，前頭常常需要先做純化的工作，液態層式分析儀 (liquid chromatography) 是最常被使用來將不同的生物分子做區分，接下來再用 ESI 來做質量的分析。由於 MALDI 和 ESI 的發展，過去 10 年來，蛋白體的研究進展非常地快速。將血液或細胞中所有蛋白質抽出以後，經過二維電泳 (2D gel electrophoresis) 將主要的蛋白質分開，而後將分開的蛋白質從電泳膠中取出，利用可以將蛋白質切斷的酵素 (如 trypsin) 來將大的蛋白質切成小的胜肽 (peptide)，經過液態層式分析質譜儀 (liquid chromatography mass spectrometry) 就可以計出數百甚至上千種以上的蛋白。假如用這種方法分析數百個有特定病症的蛋白體然後再和數百個正常人的樣品做比對，這中間的差異就有可能用來找出不同疾病的生物標的化合物 (biomarker)。然而，跑二維電泳和液態層式分析儀，耗時費日 (二維電泳需時以天計，LC 也需要 1 小時以上)，目前本院基因體中心希望能發展新的方法去除或簡化電泳和 LC 的分離過程，加速 biomarker 的發現。

到目前為止質譜儀能測量質荷比 (M/Z) 多在小於一百萬之下，因為一個擁有很大的 M/Z 的粒子，不容易用目前電子放大的測量器來測量 (包括 microchannel plate, electromultiplier 和 channeltron)。本院基因體中心和原子與分子科學研究所通力合作發展了一個可以同時測量質荷比和電荷數的質譜儀 (見圖一)，這個質譜儀有幾個和目前其他生物分子質譜儀沒有的特點，第一是，它不用 MALDI 或 ESI，而是用雷射光所產生的聲波將生物分子或粒子震到真空中。另外，它用頻率掃描的離子阱質譜儀使得質荷比可高到數百億還可以測量。換句話說，整個細胞的質量都可以測量得到。第三個的特點是，直接量測粒子的電荷數目。數千個癌細胞的質量可以在 1 小時內將每一個癌細胞的質量測出，因此可以很快速地得到癌細胞質量的分佈圖，實驗結果見圖二。目前的靈敏度的侷限在於電子的雜訊，如果電子雜訊能進一步減少，一個從原子到細胞都可以測量的新質譜儀將從此誕生。相信這種新的生物粒子體重機對生物化學和生物醫學的研究將會產生相當程度的衝擊。



圖一 電荷和質荷比一起測量的聲波震出離子阱質譜儀



圖二 兩種不同癌細胞的質量分佈圖