

# 应用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱分析寡糖

## MALDI-001

**摘要：**糖类物质极性高、难挥发、热不稳定，其中寡糖和多糖还具有相对分子质量分布发散的性质，其质谱表征比较困难。基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 (MALDI-TOF-MS) 灵敏、快速，对杂质的包容性强、分析的质量范围大，能够对糖类尤其是非衍生化糖进行直接分析。本文应用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱以 DHB(2,5-二羟基苯甲酸) 为基质，对未衍生化的寡糖进行了分析，直接给出了寡糖样品分子量的分布、重复单元结构和离子峰的结构信息。

**关键词：**基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 MALDI-TOF-MS 寡糖

寡糖是生物界中分布极广、含量较多的一类生物大分子。它的生物功能除作为能量的主要来源外，近年来又被人们广泛的研究与认识。目前，用于寡糖分析的常用方法有高效液相色谱和毛细管电泳。由于寡糖不具有紫外吸收和荧光性，所以采用这两种方法时常需要对寡糖进行衍生，使寡糖的分析变得复杂、耗时，而且，这两种方法也不能直接给出有关寡糖的结构和分子量的信息。

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 (MALDI-TOF-MS) 作为一种“软”电离技术，在准确、快速和灵敏地测定寡糖分子量和糖类化合物结构的研究及应用中具有巨大的潜力。本文以 DHB(2,5-二羟基苯甲酸) 为基质，采用重结晶方法制备样品，测定出了寡糖样品的分子量的分布、重复单元结构和离子峰的结构信息。

### 实验部分

#### 1.1 仪器

AXIMA Resonance

#### 1.2 质谱条件

调谐模式：反射正离子模式

扫描范围：m/z 100-2000

激光能量：120

打点数量：74

#### 1.3 试剂和样品

DHB(2,5-二羟基苯甲酸)，甲醇，乙醇，寡糖样品为含有 11 个糖苷键的葡聚糖

#### 1.4 实验方法

将样品以 1:1 的纯水和甲醇配制成浓度为 2 mg/mL 的溶液，与 6 mg/mL 的 DHB 基质等体积混合，将 1  $\mu$ L 混合溶液点在 MALDI 靶板上。在为 MALDI 制备样品时，本文使用了重结晶方法，重结晶法是在干燥已结晶的样品上滴 0.4  $\mu$ L 的乙醇，再在室温下干燥。然后将靶板放入 AXIMA Resonance 中进行检测。

## 结果讨论

使用 MALDI 时，样品制备方法对质谱分析结果有着重要的影响。液滴干燥法是普遍采用的样品制备方法。当以 DHB 作为基体时，在液滴的边缘形成大的针状的晶体，而在液滴中央晶体很少。本文采用重结晶的方法后，与液滴干燥法相比，形成的晶体颗粒细小而且分布较均匀。

检测质谱图如图 1 所示。本文的寡糖为葡聚糖，聚合度相差 1 的葡聚糖质谱峰都可被清楚地分辨。图 2 是图 1 的局部放大图。由图中可以看出， $m/z$  值显示两峰之间的质量差为 162 ( $m/z$  1661.5 和 1823.5)，符合一个葡萄糖残基单元的质量。在各主峰旁都有一个与其分子量相差 16 Da 的次峰 ( $m/z$  1661.5 和 1177.5、 $m/z$  1823.5 和 1839.5)，这正好是 Na 和 K 的原子量差。这是因为糖并不象蛋白质那样容易质子化，所以它极易与样品或基体中的  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  形成加合物，在质谱图中形成一对分子量相差 16 Da 的峰。糖的这一性质成为判定其分子量的重要依据。此外，在  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  系列主峰的左边还有一组与其质量相差 18 的系列离子峰 ( $m/z$  1661. 和 1643.5、 $m/z$  1823.5 和 1805.5)，这组峰是环状葡聚糖的质谱峰，对此，相关文献也有报道。

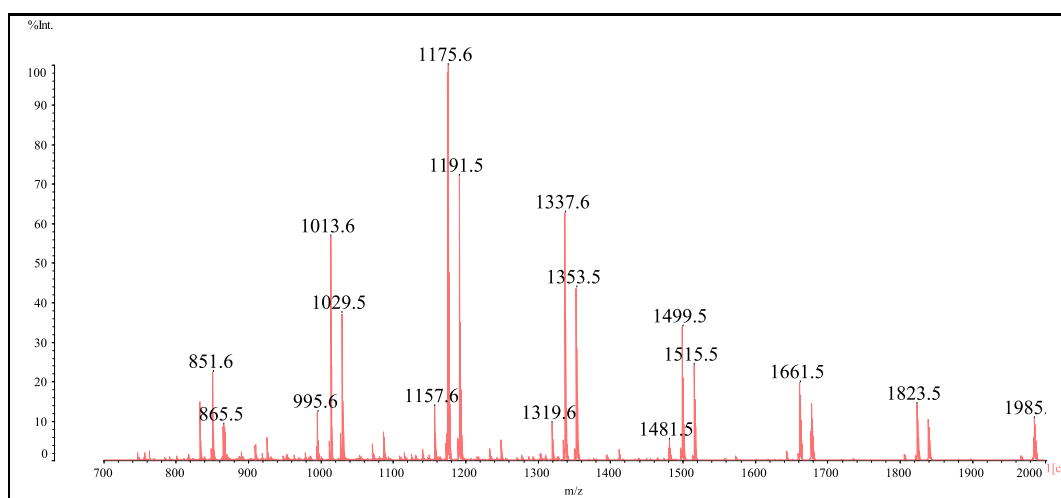


图1 寡糖样品质谱图

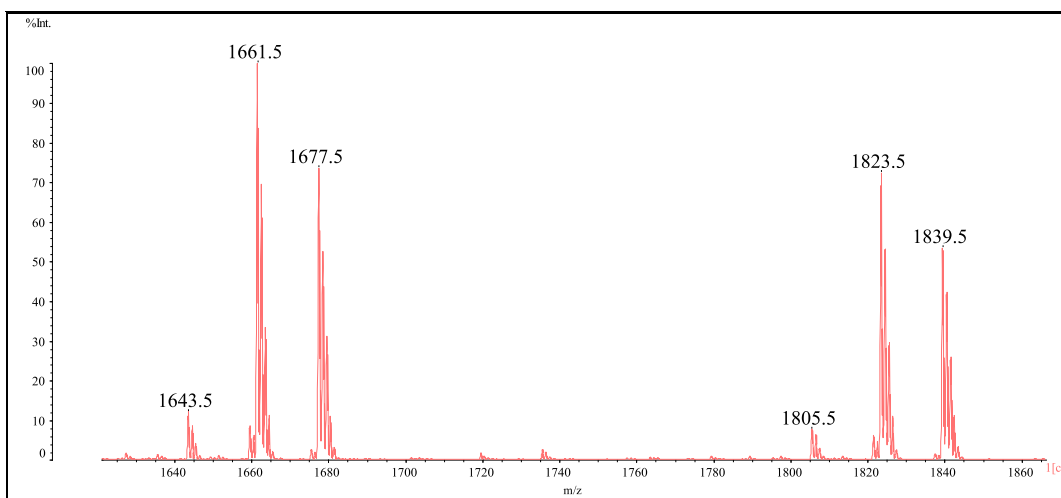


图2 图1的局部放大图

## ■ 结论

本文使用 MALDI-TOF 测定寡糖，直接得到了寡糖样品分子量的分布、重复单元结构和离子峰的结构信息。与常用的糖类分析方法相比，具有简单、快速的特点。