

AP/MALDI 质谱成像 Q&A 第 2 期

链接: [AP/MALDI 质谱成像 Q&A 第 1 期](#)

1、上十几万分子量的蛋白如膜受体，质谱成像用 AP/MALDI 是否可以做？

对蛋白质大分子，AP/MALDI 与真空 MALDI 在切片预处理与离子化机理上是一致的。真空 MALDI 一般连接的是 TOF 或 TOF-TOF，质量范围可覆盖到十几万 Da。

AP/MALDI 后端若连接 QTOF 等高分辨质谱，单独以 TOF 功能采集，质量范围同样可以达到 TOF 分析器的质量扫描上限（如上万）。若连接的是 Orbitrap 等高分辨质谱，质量范围或受 Orbi 的扫描范围局限（可选用 EMR 或 UHMR 型号，上万）。若连接的是 QQQ 串联四极杆质谱，质量范围一般在数千。

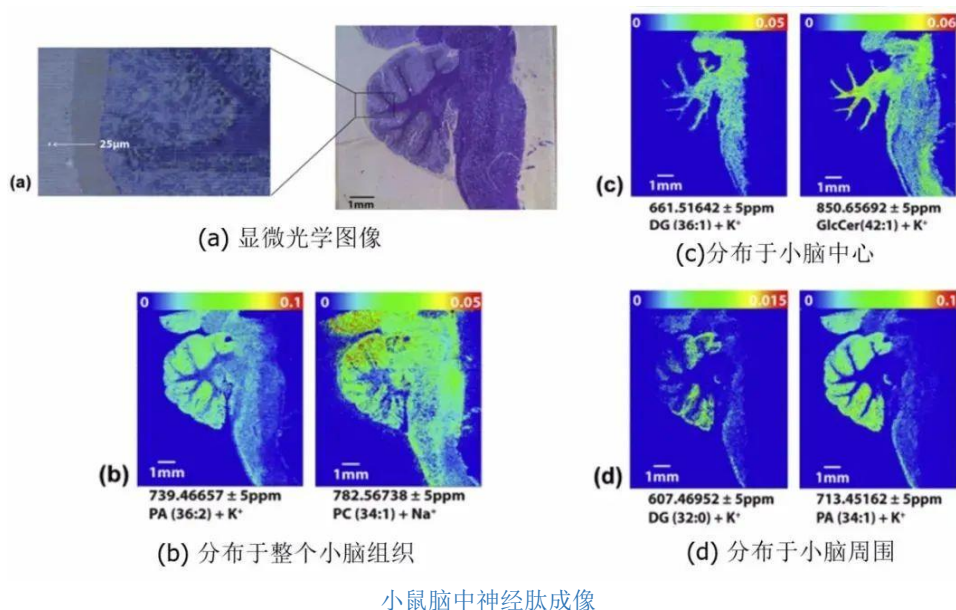
对大蛋白分子，可首先喷涂蛋白酶，将蛋白质降解成肽段，再通过 AP/MALDI 分析肽段，即，以 Bottom-Up 的方式，适应后端质谱仪的质量范围特征。即，AP/MALDI 成像功能不受限。

2、MSI 质谱成像定量准确性如何？可以用内标定量吗？

准确性好，可以定量。

质谱成像可通过同位素内标的归一化准确反映目标化合物在切片表面的定量信息。可先配制高低不同浓度的标准品溶液，并在空白对照切片（control section）上手动点涂，待标品液斑干燥后，将同位素内标加入基质，一起喷涂（手动、或以喷涂仪自动）在切片上；扫描后将标品液斑区域（ROI）内的信号强度经同位素内标归一化，建立标准曲线；然后扫描样品切片（sample section），得到扫描区域（ROI）经内标归一化后的信号强度，最后按标准曲线计算出对应的浓度。（相关方法文献可留言索取。）

对于后端质谱类型（或 QTOF、或 Orbi、或 QQQ），定量的线性范围略有不同，但都比真空 MALDI-TOF 等成像的线性范围宽。定量质谱如 QQQ 更具有高灵敏度、高重现性和浓度线性范围宽的优势。



3、AP/MALDI 的 CCD 镜头和激光光斑的位置是可调的，是否表示这些位置需要经常调节？

不需要，镜头和光斑的位置调好后无需再调。

4、为什么 CCD 的图像在靶板上很清晰，但换成导电玻片就变模糊了？

图像清晰度发生变化，说明导电玻片的厚度不是工厂建议的标准值（1.1 毫米），镜头的焦点落在了玻片的前方（过薄）或后方（过厚），使图像变模糊。换用 1.1 毫米的导电玻片即可恢复正常。

5、正离子模式优化的参数可以套用在负离子模式上吗？

正负离子模式需要分别优化，包括制样、基质和激光各方面的调整。这类似电喷雾 ESI 离子化的优化，电喷雾也需要正负分别优化电离参数。

6、AP/MALDI 的信号响应与仪器的参数设置有什么关联，如激光能量、移动速度、激光频率、毛细管温度、靶板电压、自动增益控制（AGC）、离子注入时间等？

激光能量过高会导致背景信号也增大，建议的能量范围是 10-30%；加快移动速度能提高信号响应；去簇（de-cluster）需要 350°C 以上的毛细管温度，建议维持在 400°C 左右；激光频率建议设为 5 kHz；靶板与进样口之间的电压与距离应符合 1 kV/mm 的关系，一般为 2-4 kV、间隔 2 mm；AGC 应关闭，离子注入时间应大于 100 ms。

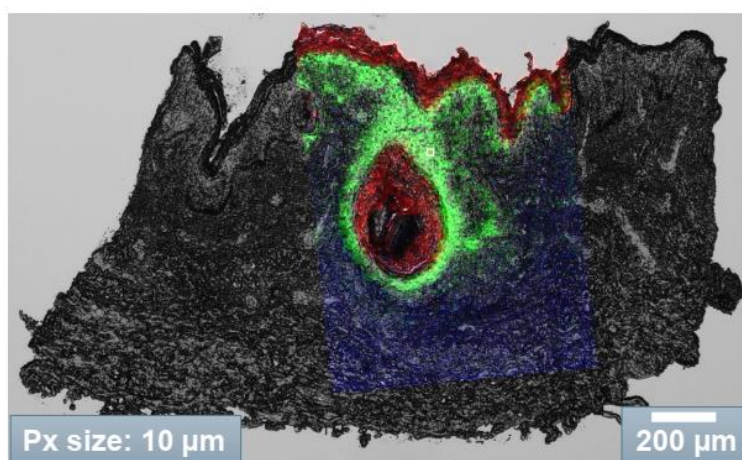
7、AP/MALDI 激光器的寿命如何？

固态激光器在设计上有数十亿个脉冲的寿命。

8、在用 AP/MALDI 进行生物组织成像时，样品需进行哪些必要的处理？

AP/MALDI 与真空 MALDI 在组织切片的预处理上是一致的。

一般流程是先做冷冻切片（不要使用石蜡或 OCT 包埋，可使用水或 PBS 缓冲液包埋），切好后（切片厚度建议 10 微米左右）转移至导电玻片，再经真空干燥除水（一般 5 至 45 分钟，视样品而定）。然后将切片先后在 70%和 96%的色谱纯乙醇中浸泡 15 至 30 秒，以去除表面的脂质和盐；如果检测对象是脂质和药物等小分子，切勿做清洗。清洗过的切片需再次经真空干燥，最后由喷涂仪将基质均匀喷涂在切片上。



神经酰胺在皮肤角质层和毛囊渗透性成像

9、AP/MALDI 如何选择基质？

AP/MALDI 的基质选择范围（比真空 MALDI）更宽，甚至可用挥发性基质。文献很多。

若要参考真空 MALDI，一般而言，对脂质常用 DHB，对多肽常用 CHCA，对蛋白常用 SA 或 DHAP。

10、对分子量在 100-300 之间的药物小分子，除 CHCA 外，有什么基质推荐？

传统基质（CHCA 和 DHB 等）一般是作质子供体的酸性化合物，离子化以质子转移（proton transfer）为主，对常见的极性化合物效果较好。如果目标分子是非极性或弱极性化合物，这类传统基质的离子化效率不高，可使用以电子转移（electron transfer）为主的基质，如 DCTB、9,10-DPA 等。

如果以分析负离子为主，可使用有机碱类的基质，如 9-AA、DMAN 等。

500 以下的药物小分子，除 CHCA，还可使用 DHB、sDHB（2,5-DHB 与 5-甲氧基水杨酸的

混合物)、9-AA 等。

11、基质喷涂的均匀程度是否影响检测？AP/MALDI 成像需要的基质层厚度是多少？

要实现高分辨率的成像，基质喷涂的颗粒也要求更均匀；基质喷涂的厚度在实验中应视情况而定，基质应均匀覆盖样品表面，其最大厚度取决于该目标化合物在基质溶剂中的溶解度。



SunCollect 基质喷涂仪，以最高精度和超低流量，自动输送和喷涂基质溶液，用于 MALDI 或 AP/MALDI 点靶、质谱成像（MSI）前的基质喷涂、LESA 成像技术的表面衍生剂喷洒、及与纳升液相联用实现馏分收集或点靶（LC-Spotting）。该装备是获取高品质的质谱成像（MSI）结果，显示脂质、肽、蛋白质、药物及其代谢物、生物标志物等在人体、动物或植物组织等样品中的空间分布，和生物标志物发现与表征、药物开发、及创建三维成像的重要关键工具。保障基质结晶细小且覆盖均匀，避免发生不期出现的分析物冲洗流失。

与其谈论厚度，其实更应该考虑基质结晶颗粒度。**300 纳米**以下的基质结晶颗粒，有助于样品分子的均匀分布和保障成像灵敏度和几微米的空间分辨率。此话题另文展开讨论。

12、使用 AP/MALDI，一般需要调节优化哪些参数？

只需调节激光能量、频率和扫描速度；扫描速度会影响成像分辨率。成像分辨率的另一个关键要素，是需要使用高效能的基质喷涂仪。

13、AP/MALDI 兼容的质谱品牌有哪些？

AP/MALDI 在主流商业质谱上都可以安装，品牌包括 Thermo、SCIEX、Agilent 和 Bruker 等。

14、质谱的工作站能识别 AP/MALDI 源吗？

可以，一般被识别为 Nano 源或 MALDI 源。

15、质谱成像数据用什么软件处理？

成像软件有开源的（免费开放），如 DataCube、MSiReader、BioMap 等，也有付费的。详情请联系后台技术。

16、AP/MALDI 和 Sub AP/MALDI 的优势分别在哪里？

第一，AP/MALDI 结构紧凑，切换方便，使用弹性极佳，可在用户现有质谱的基础上大幅度拓宽应用范围。

第二，相比于真空 MALDI，大气压 AP/MALDI 无论是连接高分辨质谱，还是串接四级杆质谱，都能充分利用这些质谱在分辨率/灵敏度上的优势而得到高质量的数据。

Sub AP/MALDI 工作在亚大气压，离子传输效率更高，更有利于蛋白等大分子的检测。灵敏度针对大分子通常高出 20-100 倍，对小分子的优势有限。该型号目前只能偶联有限的几款质谱型号。

编辑 | ASPEC 技术团队

如有需求，敬请联系！

电话：010-6439 9978

邮箱：info@aspecttechnologies.com