

二〇〇二年的 諾貝爾 化學獎

質譜儀分析 技術的突破 開展生化科技 新領域

美國學者芬恩在產生離子的方式上開發出電灑游離法，
日本工程技師田中耕一則開發出基質輔助雷射脫附游離法，
此二種技術使得質譜儀可以對巨大的生化分子進行分析。

■ 吳慧芬
呂麗琪

為學術領域開啓一扇大門的重大發明

由於在質譜方面的重要發明與貢獻，美國學者約翰·芬恩（John B. Fenn）及日本研發工程師田中耕一（Koichi Tanaka）共同獲得二〇〇二年的諾貝爾化學獎。他們主要的貢獻是在質譜儀分析技術上的開發，使得質譜儀可以用來鑑定巨大的生化分子結構，將生物化學的研究成果用於疾病的治療。由於他們的重大技術發明，導致一門新的科學誕生，那就是「蛋白質體學」。

對生命現象的了解，需從蛋白質著手

生物體的遺傳基因儲存於DNA中，不同的基因經轉譯可製造各種不同的蛋白質，生物即靠著蛋白質以執行其各部的功能，維持生命跡象。每一種蛋白質都具有一種功能，並可隨著環境而改變，例如：血紅素可將氧氣輸送到人體內的各個細胞。而專門探究各種功能不同的蛋白質背後基因間差異的研究領域，即是蛋白質體學，也就是研究不同的蛋白質如何相互地，或與其他的物質在細胞中共同運作。蛋白質的結合會影響其結構，而在蛋白質結構上的一點點變化，會對其功能有決定性的影響。

世界上所有的生物體，包括細菌、植物及動物，皆含有相同型態的大分子，而這些大分子與我們所謂的生命現象是息息相關的。在細胞中所發生的各種生命現象是由DNA來控制的，而各種蛋白質則是控制細胞功能的「主要角色」。針對蛋白質如何在細胞中與其他物質產生作用的研究，有可能成為日後根據人體基因組合，來製造下一代超級新藥的重要研究基礎。

過去數年來，蛋白質體學研究領域的發展突飛猛進，使得科學家可以準確地知道一個生化樣品中含有的蛋白質種類，也能夠描繪出蛋白質分子在溶液中三度空間的影像，更可以了解蛋白質在細胞中的作用機制。芬恩及田中的發明對蛋白質等生物大分子提供了更精確的分析方法，對蛋白質結構了解越詳細，越能使科學家明瞭生命的過程。

質譜儀的功用

質譜儀本身具有偵測化合物分子量的基本功能，更可以有效地定性及定量分析物質的種類。質譜儀的運用

開始於一九一二年，湯木森（Joseph J. Thompson）對小分子的分析。此外，一九三四年諾貝爾獎得主哈諾德·尤瑞（Harold Urey）發現氘，以及一九九六年的諾貝爾獎「富勒烯」（fullerenes又稱碳六十、球烯）的發現，皆借助於質譜儀的分析。質譜儀的發明，讓我們可以快速鑑定出一個樣品中化合物的分子量，並且可以進一步知道其分子結構，隨著新式質譜儀的開發，更提供了一個針對生化大分子研究的有效工具。

質譜儀的結構共分為五大部分，包括樣品導入系統、離子源、質量分析器、偵測器、及數據處理系統。今年的諾貝爾化學獎得主芬恩和田中耕一的主要貢獻，就在游離源的研發與突破。游離源的功能是使原本是中性的分子變成帶電荷的離子，而質譜儀是利用偵測物質的質量與電荷比值大小來分析離子。傳統上使分子游離的方法有電子游離法（EI）、化學游離法（CI）、熱灑法（TS）、場游離法（FI）、場脫附法（FD）、快速原子撞擊法（FAB）、電漿脫附法（PD）等。

如虎添翼的發明

這些傳統的游離法並不能有效地游離巨大的生化分子，也就是說對於生化分子，一直無法對其做進一步的分析與了解其結構，直到電灑法與基質輔助雷射脫附法的出現。芬恩和田中耕一就是在電灑法與基質輔助雷射脫附法的游離方法上有很大的貢獻，所以二人榮獲二〇〇二年的諾貝爾獎。

電灑游離質譜法

芬恩於一九一七年在美國紐約市出生，一九四〇年畢業於耶魯大學，一九九四年任維吉尼亞聯邦大學教授。電灑游離質譜法於一九八四年首度由芬恩提出，一九八八年芬恩又發表了兩篇被視為突破性的論文。在第一篇論文中，他研究含有未知質量的聚乙二醇質譜，發現可以處理具有高電荷的大分子，第二篇論文顯示這方法亦可運用在蛋白質的分析上。蛋白質離子的產生是由於受到電場的影響，將試樣噴灑出去時，會形成許多帶電荷的水滴，當水滴中的水蒸發後就剩下帶電荷的蛋白質分子。

當分子具有很高的電荷時，由於具有適當的質量／電荷的比值，因此就可用質譜儀進行分析。分子可能攜

帶許多不同的電荷，因為接上了許多不同數目的質子，因此會得到一系列的離子訊號。雖然這個現象使得電灑圖譜變得非常複雜，但也產生了更多的圖譜峰資訊，使得鑑定的工作變得較容易。

當時的電灑游離法主要目的是提供一種能和液相層析結合的界面，這方法在蛋白質分析及液相層析／質譜領域都非常重要。由於許多高極性的分子，尤其是蛋白質分子，在加熱時會造成性質的改變而無法被偵測，利用電灑游離質譜法則可以克服這個困難。

電灑游離質譜法被提出後，在生化分子分析方面的應用，立刻蓬勃發展起來。由於此種游離方式是現今多種游離方式中最溫和的一種，它有能力使離子在經由溶液相到氣相的過程中依然維持離子的完整性，並且對於偵測巨大生化分子，能利用多重價電荷的方式來偵測，因而能擴大一般質譜儀所能偵測的範圍，這是其他的游離方式所無法做到的。現今的電灑游離質譜法常被用來和其他的分析儀器，例如高效能液相層析儀（HPLC）、毛細管電泳儀（CE）等合併使用，藉由此種的組合方式，電灑游離法已成為一種非常普遍且可做為分析多種巨大生化分子的方法。

電灑法是液體流經一出口端加裝高電壓的毛細管後噴出，由於液體受電場影響，以致被分散成許多細小帶電的液滴。於毛細管出口端所加的正的高電壓，會在該處產生一電場，溶液流經此區時，溶液中的正負離子會因電場的存在而產生電泳現象。溶液中帶正電的離子會遠離毛細管，而帶負電的離子則向毛細管移動，形成電荷分離。因此，當溶液由毛細管流出時，表面會累積較多的正電荷，這種表面正電荷的堆積，會造成液面不穩定，並且因為電場的作用，使得帶正電荷的液面往低電場方向拉長，形成圓錐狀，稱為泰勒錐。

帶電荷液滴形成氣相離子過程的理論，目前有兩種說法：一為竇爾（M. Dole）於一九六八年提出的電荷殘留理論，另一為禕瑞苯（J. V. Iribane）與湯姆森（B. A. Thomson）於一九七六年提出的離子揮發理論。這兩種理論都是結合溶劑揮發和庫倫斥力兩種現象的結果，但多數的研究者認為電荷殘留理論的解釋較合理，因為當溶劑揮發後，電荷仍會留在液滴上，因此最後可形成帶多價電荷的離子。

一九九三年，芬恩把離子揮發理論加以改良，用來解釋大分子會帶多價電荷的現象，其原因在於一開始液滴中帶有多個電荷，而且這些電荷也同時被帶有異性電荷的離子包圍；由於大分子在液滴中的布朗運動而移到液滴表面，此時大分子便會取代數個液滴的表面電荷，再藉由熱能的驅動使大分子的一部分帶電區域自液滴表面突出，一旦突破能障後，大分子便與液滴脫離而形成帶多價電荷的離子。

基質輔助雷射脫附質譜法

基質輔助雷射脫附法的發展歷史，起源於一九六〇年代，有人利用高能量的雷射光束照射在固體表面上，可從表面脫附出完整的離子，再用質譜儀加以分析。一九七八年波薩瑪斯（M. A. Posthumus）等人利用雷射脫附質譜法成功地分析核苷酸、胺基酸、胜肽、醣類等生化小分子。由於雷射的能量很高，將高能的雷射光束直接打在化合物上，會產生許多的離子碎片，圖譜辨別比較困難。

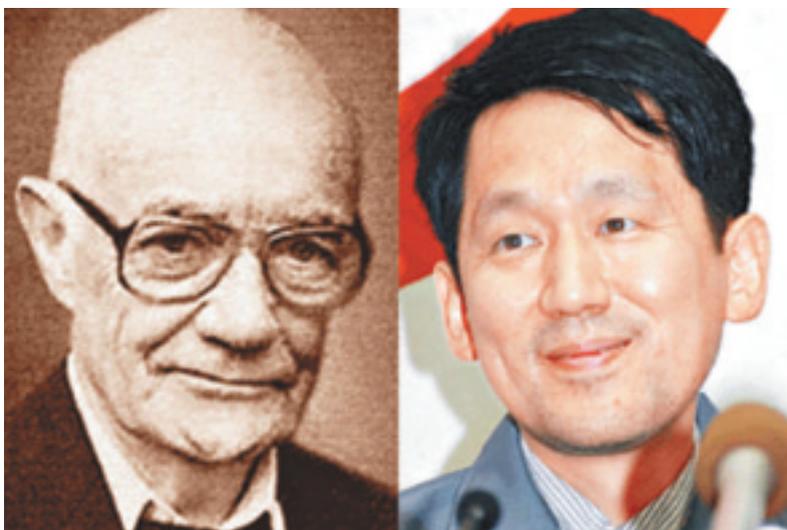
在一九八七年的一項學術會議中，田中耕一展示完整的蛋白質分子可藉由雷射脫附（laser desorption）的技術而游離。他是成功使用雷射技術於生化大分子上的第一人，其原理是現今多種雷射脫附技術的基礎，例如基質輔助雷射脫附游離（MALDI）、表面輔助雷射脫附游離（SALDI）、以及矽膠表面直接游離（DIOS）等方法。次年，田中耕一利用顆粒大小約300埃（1埃= 10^{-10} 米）的鈷金屬粉末與甘油混合的兩相系統做為分析蛋白質的基質，再加入樣品溶液充分混合，利用波長337奈米（1奈米= 10^{-9} 米）的氮雷射進行脫附游離，可得分子量達34KDa（KDa是質譜上表示分子量的單位1,000道爾頓（Kilo Dalton）的縮寫）的分子。

讓人跌破眼鏡的結果

因為田中耕一雷射脫附游離技術的發明，一九八八年，凱洛斯（Michael Karas）和海倫坎普（Franz Hillenkamp）也發表了利用基質輔助雷射脫附游離質譜儀分析生化分子的研究，將所能偵測的分子質量範圍擴展至100KDa。

田中耕一於一九五九年在日本富山市出生，是日本

東北大學的電氣工程學士，畢業後到島津製作所任職，現為該公司技術部主任。這次的世界級大獎，由日人田中耕一獲得，使許多人跌破眼鏡，因為事前眾人均看好海倫坎普。由於海倫坎普將田中耕一的技术加以改良，用來測量蛋白質質



諾貝爾化學獎得主：約翰·芬恩（左）和田中耕一（右）。

量，並且再三引用了他的論文，瑞典諾貝爾獎評審單位認為該方法的原始構想出於田中，便決定頒獎給他，使得海倫坎普成爲遺珠之憾。質譜界的人都知道，基質輔助雷射脫附法的發展和應用皆以海倫坎普所研發的技術爲主流，他的技術是使用無害的小分子有機酸做爲基質，樣品的製備過程既簡單又迅速，在質譜界海倫坎普堪稱爲基質輔助雷射脫附游離的大師。

價廉且用途廣泛的分析法

電灑法質譜及基質輔助雷射脫附法質譜，這二項新的質譜技術不僅在新藥研發上掀起革命，還可應用於癌症的早期診斷、運動禁藥監測、環境污染分析，未來更有可能協助醫藥界找到致癌藥物。隨著人類基因序列的解碼，想了解某些基因的改變對人體的影響，以及與蛋白質之間的相互作用，都將有賴於質譜技術。

如今基質輔助雷射脫附游離法與電灑游離法已成爲分析胜肽，蛋白質與碳水化合物標準方法的，它可以迅速分析出一個完整的細胞或蛋白質成分。在製藥的發展上，對早期的藥物研發程序已產生了革命性的改變，利用電灑法質譜儀搭配分離的技術，每天可以分析好幾百個新藥化合物。科學家最近也發現可利用上述方法來研究瘡疾的擴散。

在過去一年中，各種不同的癌症早期診斷方法，如雨後春筍般不斷地推陳出新。只要能取得癌細胞所附著的表面，然後以基質輔助雷射脫附游離法分析，化學家

便能迅速發現癌細胞。此外電灑法質譜儀技術在小分子的分析上也有很大的助益，某些製備食物的方法會產生有害人體健康的物質，如可以致癌的丙烯醯胺等，因此可以在不同的生產階段藉由質譜儀的迅速分析，然後經由溫度以及材料的

控制，避免有害物質的產生。

在過去這幾年內，生命科學領域中基因體學、蛋白質體學及代謝體學的興起，皆與這兩種技術有關。如今，科學家已經可以對一個生命體中的整個基因做完整的描述，也能夠對一個活細胞中某一階段參與運作的整組蛋白質有所了解。這些成果，端賴不斷創新研發的量測技術，其中尤以質譜儀在生物高分子上的運用貢獻最大。

生物技術的開發，有賴於對基因與蛋白質的進一步了解

質譜儀在生物高分子上的運用，已成爲了解生命演化過程中不可或缺的重要工具。近年來，蛋白質體學已成爲二十一世紀最熱門的研究主題，隨著愈來愈多的基因排序被解碼，研究人員現正探究基因密碼和不同蛋白質間的關係，進而了解致病的原因。由於最近質譜技術在生化科技方面的軟體（蛋白質序列的軟體）不斷地有突破性的發展，更有利於質譜學家及生化學家進行蛋白質體學的研究。

目前國內在質譜學門領域從事蛋白質體學研究的學者爲數尙少，處於萌芽階段，爲了迎頭趕上先進國家在蛋白質體學方面的研究，電灑法與雷射脫附法等技術在生化領域的應用，是我國當前首要發展的方向。 □

吳慧芬 呂麗琪
淡江大學化學系