

解决方案| EbioReader™ 3700M 飞行时间质谱系统鉴定菌种

基质辅助激光解析电离飞行时间质谱 (Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS) 作为新兴的微生物快速鉴定方法, 是目前国内外微生物快速鉴定的研究热点, 广泛应用于生命科学领域等多学科。

国家标准委于 2017 年发布了《基质辅助激光解析电离飞行时间质谱鉴别微生物方法通则》(GB/T 33682-2017), MALDI-TOF MS 已经成为微生物菌种鉴定的标准方法。东西分析 EbioReader™ 3700M 飞行时间质谱系统在微生物菌种鉴别方面做了许多工作, 用户反应良好。本文对用户提供的样品在 EbioReader™ 3700M 飞行时间质谱系统平台上进行了分析, 并对样品做出菌种鉴别分类, 获得满意的效果。

主要设备与试剂

Ebio Reader™ 3700M 飞行时间质谱系统, 高速离心机;

CHCA: MALDI-MS 的基质材料;

乙腈、三氟乙酸、甲酸、乙醇、纯水

分析条件

项目	参数
加速电压	20KV
脉冲电压	5KV
聚焦电压	10KV
检测电压	2.6KV
延迟时间	500ns
延迟宽度	200ns
激光频率	20Hz
激光击打次数	200
激光能量	9.0%
质量范围	2000Da-15000Da

样品处理

样品信息

固体培养基培养的活菌，1#、2#、3#、4#、5#、6#、7#和8#共8个样品。

其中1#菌种在培养基上没有菌落，无法进行检测（报告结尾处有照片），其余7个样品均进行了质谱检测。

菌种蛋白提取

在 Eppendorf 管中加入 300 μ l 纯净水, 挑取适量(5~10mg)菌体, 混匀, 再加入 900 μ l 无水乙醇, 混匀后以 12000r/min 离心 2min, 弃去上清液, 待管中残留液体彻底干燥后, 加入 50 μ l 70% 甲酸, 混匀, 再加入 50 μ l 乙腈, 混匀, 同样以 12000r/min 离心 2min, 吸取上清液, 与等体积的基质溶液 (CHCA) 混合, 然后涂布于 96 孔样品板上, 自然晾干后进样。用校准品对仪器进行质量轴校正, 随后利用 Ebio Reader™ 3700M 质谱仪进行样品检测。

实验结果

本次实验分析了 7 个样品, 详细实验结果如下。

样品测定结果

序列	靶点	质谱文件	结果 (拉丁文)	结果 (中文)	得分	日期
1	E4	3#	<i>Pasteurella multocida</i>	多杀巴斯德菌	2.3131	2021/3/10
2	E6	4#	<i>Streptococcus suis</i>	猪链球菌	2.0426	2021/3/10
3	F2	5#	<i>Salmonella</i> sp (enterica st Hadar)	肠道沙门氏菌	2.1143	2021/3/10
4	F4	6#	<i>Escherichia coli</i>	大肠埃希菌	2.3279	2021/3/10
5	D10	7#	<i>Clostridium perfringens</i>	产气荚膜梭菌	2.0965	2021/3/10
6	F8	8#	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	胸膜肺炎放线杆菌	1.9185	2021/3/10
7	G4	2#	<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	猪红斑丹毒丝菌	1.9574	2021/3/10

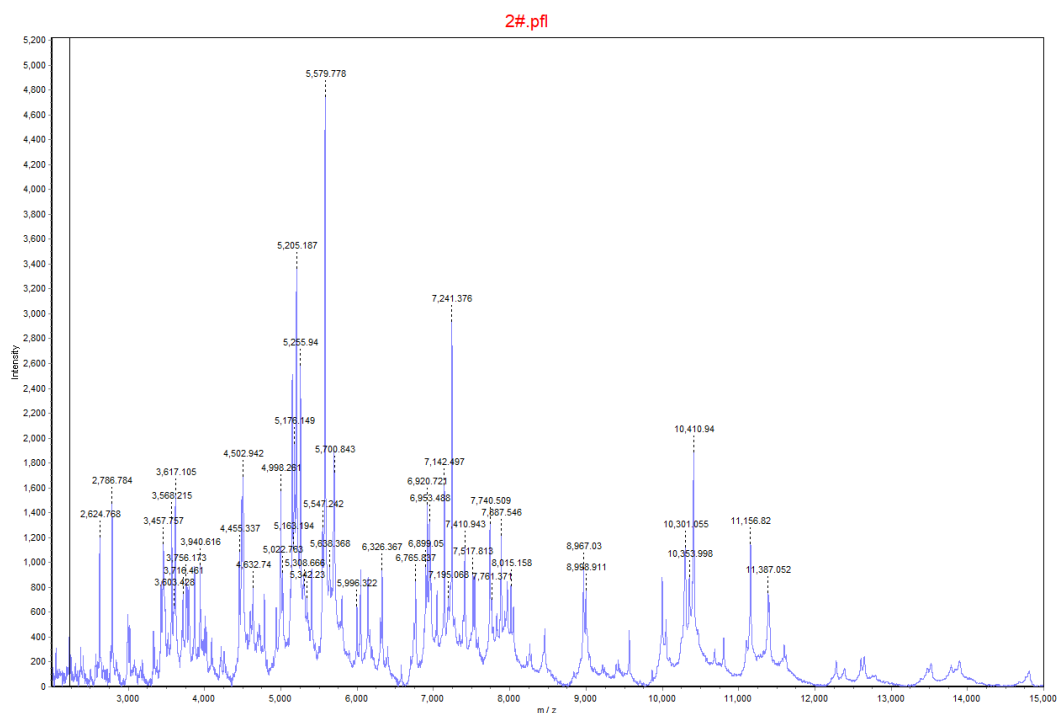


图 1: Ebio Reader™ 3700M 分析 2#样品的质谱图

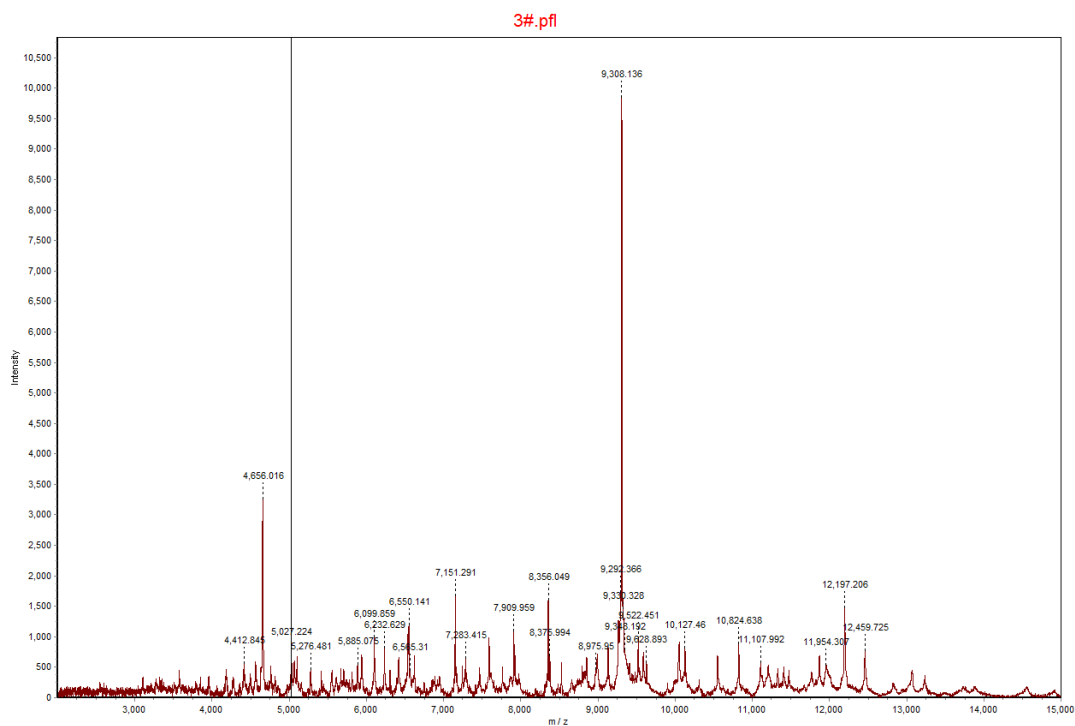


图 2: Ebio Reader™ 3700M 分析 3#样品的质谱图

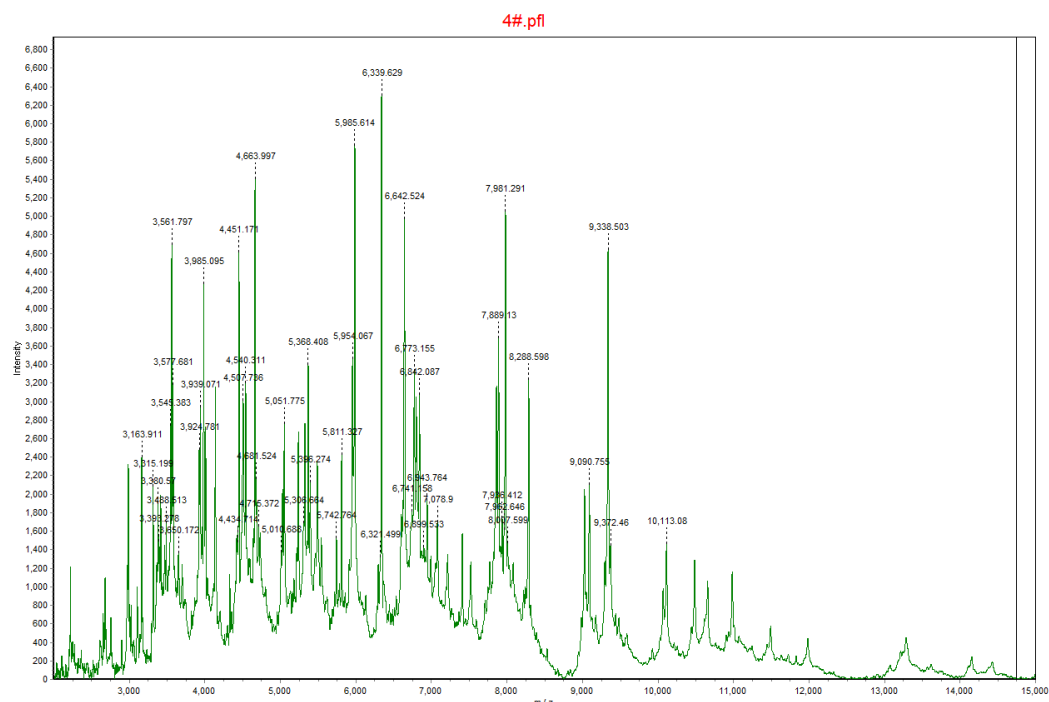


图 3: Ebio Reader™ 3700M 分析 4#的质谱图

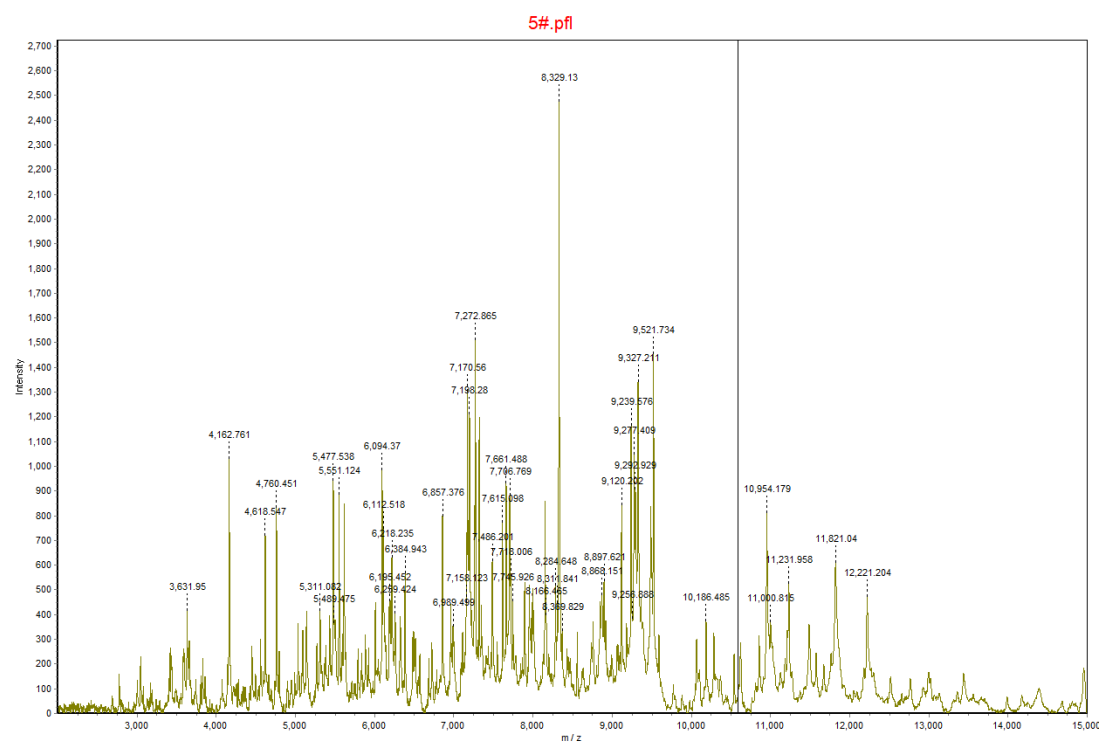


图 4: Ebio Reader™ 3700M 分析 5#样品的质谱图

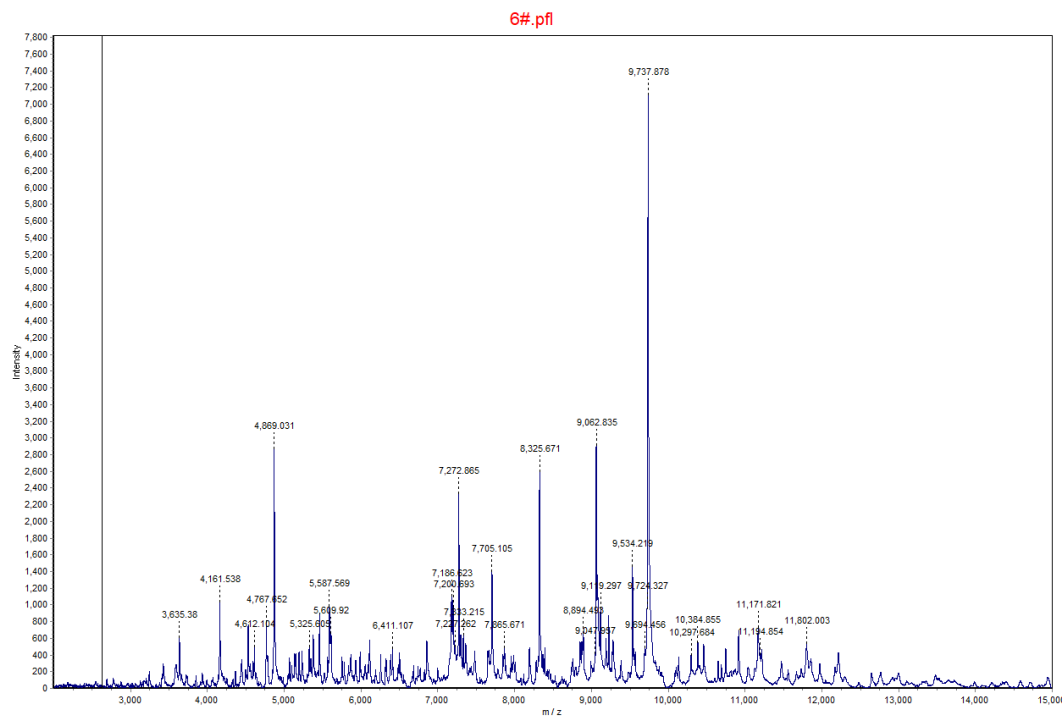


图 5: Ebio Reader™ 3700M 分析 6#样品的质谱图

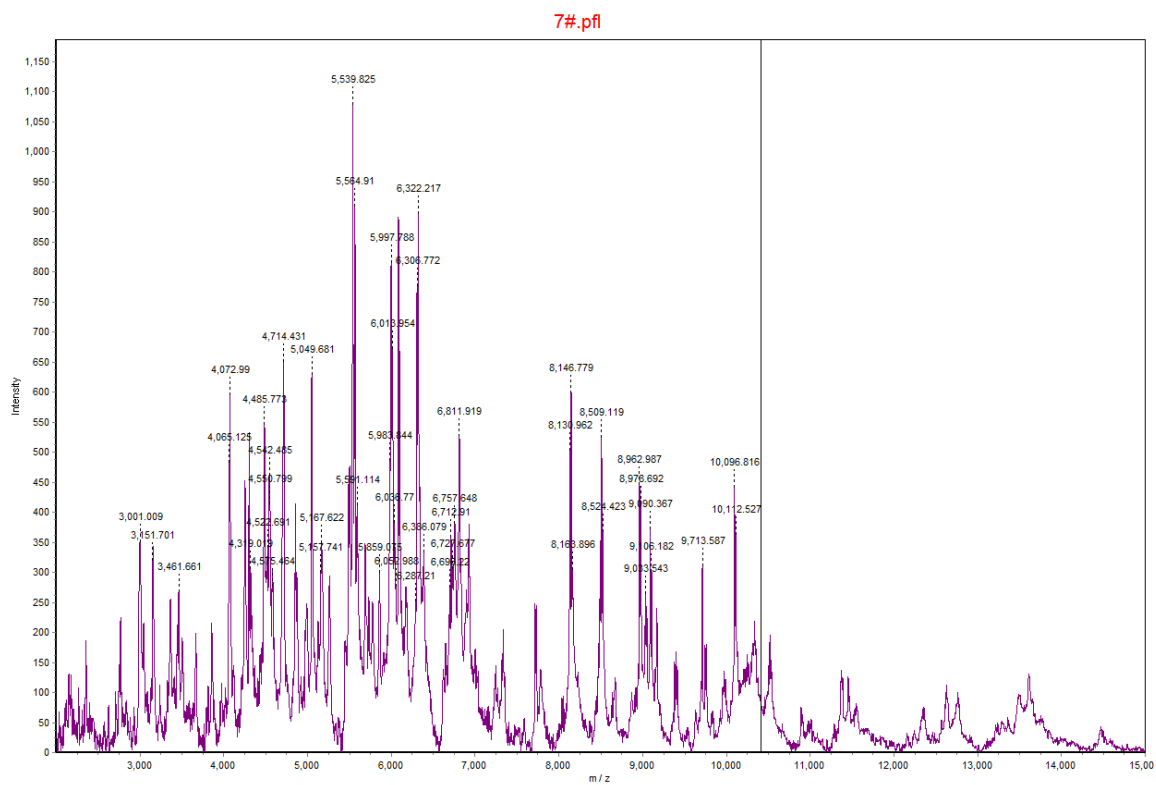


图 6: Ebio Reader™ 3700M 分析 7#样品的质谱图

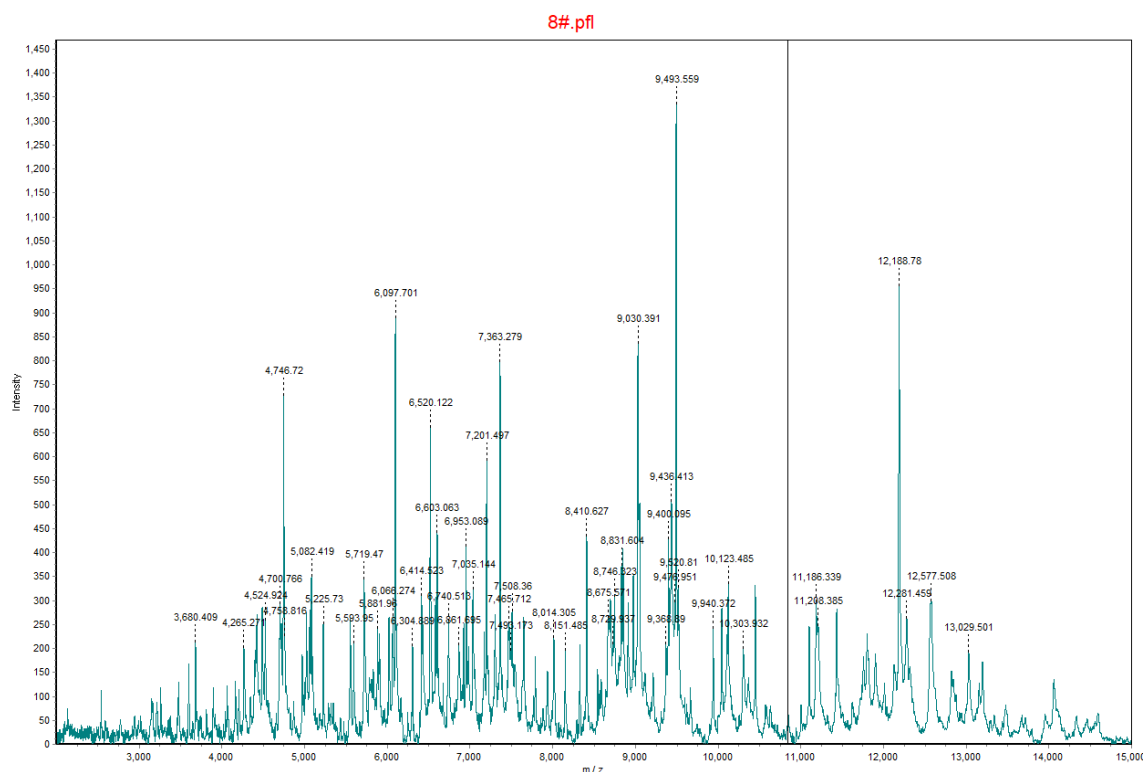


图 7: Ebio Reader™ 3700M 分析 8#样品的质谱图

结论:

根据所得图谱与数据库参考谱图匹配程度, 软件可以计算得到从 0~100 的分值 (对数值 1~3)。根据质谱仪鉴定分值, >1.7 时, 结果高度可信。本实验中检测的 7 种菌的质谱结果均在 1.7 分以上, 其中, 3#和 6#得分>2.3, 表示高属水平鉴定, 可能的种水平鉴定; 2#和 8#得分在 1.7-1.99 之间, 表示可能的菌属与菌种鉴定。

检测报告声明: 测试结果仅对本次测试样品有效。