

CZE-MS/MS 用于自下而上蛋白质组学的分析

目的

采用电渗流泵驱动的同轴鞘流液 EMASS-II 型 CE-MS 联用离子源, 通过优化质谱参数, 提高毛细管区带电泳串联质谱 (CZE-MS/MS) 在自下而上的蛋白质组学分析时的鉴定水平。

背景

毛细管区带电泳串联质谱 (CZE-MS/MS) 具有灵敏度高、分离速度快、耗样量小等优点, 因与反相液相色谱 (RPLC) 的分离具有互补性, 在蛋白质组学分析中受到越来越多的关注。最近的一些研究方向主要集中在 CZE 的样品制备、预浓缩等方面。为了提高单次 RPLC-MS/MS 在自下而上蛋白质组学分析的鉴定率, 很多研究都对质谱参数进行了深入的优化。但目前使用 CZE-MS/MS 进行自下而上蛋白质组分析时, 尚未有考察质谱参数对鉴定率影响的研究。在本实验中, 我们考察了质谱参数对单次 CZE-MS/MS 在自下而上蛋白质组学分析中多肽和蛋白质鉴定率的影响, 并与 RPLC-MS/MS 在各自的优化条件下进行了比较。结果表明, 在各自的最优条件下, CZE-MS/MS 在蛋白质组学分析时的灵敏度优于 LC-MS/MS。

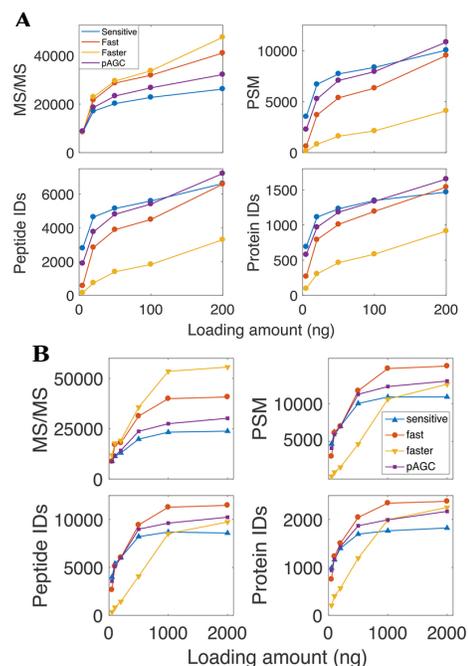


图1. A为 CZE-MS/MS 分析非洲爪蟾胚胎胰酶解产物在不同进样量下的分析结果的比较; B 为 UP-LC-MS/MS 在不同进样量下的分析结果的比较。实验条件: 50 μ m 内径 \times 350 μ m 外径 \times 99cm 长的中性涂层毛细管 (CMP Scientific, P/N: E-SC-PS2-360/150-50-99-B1); 分离缓冲液 1M 乙酸; 分离电压 21.6kV; 电喷电压 1.6kV。其余条件如表1所示。

方法	MS2 分辨率	MS2 注入时间 (ms)	Top N
Faster	15,000	15	20
Fast	30,000	45	12
Sensitive	60,000	110	7
pAGC	15,000	110	10

表1. 质谱采集方法的参数设置

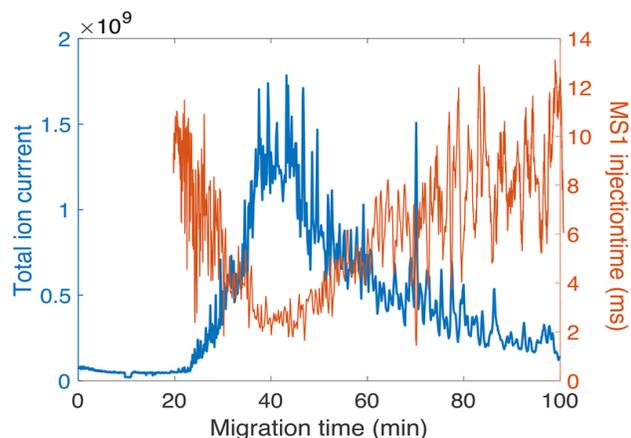


图2. 用 CZE-MS/MS 分析非洲爪蟾胚胎胰酶酶解物的总离子电泳图 (蓝色, 左) 和MS1注入时间图 (橙色, 右)。实验条件: 60,000 分辨率; 50 μ m 内径 \times 350 μ m 外径 \times 99cm 长的LPA涂层毛细管; 分离缓冲液 1 M 乙酸; 分离电压 21.6kV; 电喷雾电压 1.6kV。

解决方案

仪器试剂:

CMP Scientific ECE-001 型毛细管电泳仪。EMASS-II 型 CE-MS 联用离子源 (CMP Scientific, P/N: EM3001-T)。BGE 为 1M 醋酸, SL 为 0.5% 甲酸和 10% 甲醇。

质谱参数:

S-Lens 60。毛细管温度 300 $^{\circ}$ C。质谱分辨率 60,000。全扫描 AGC 目标值 3E6。采集范围 350-1,800 m/z。碎片扫描 AGC 目标值 1E6。

结果

实验比较了四种不同的 MS2 参数对 CZE-MS/MS 和 UPLC-MS/MS 在分析非洲爪蟾胚胎胰酶酶解物时的影响。从整体趋势上看, 样品量在 200ng 时, CZE-MS/MS 采用 pAGC 方法可以得到最多的肽段鉴定数 (7,218 个肽)。同时在跟 UPLC-MS/MS 比较中不难发现, 200ng 样品在 CZE-MS/MS 的鉴定结果与 1 μ g 样品在 UPLC-MS/MS 的鉴定结果接近, 这表明 CZE-MS/MS 的灵敏度具有显著优势。

总结

采用电渗流泵驱动的同轴鞘流液 EMASS-II 型 CE-MS 联用离子源, 通过 CZE-MS/MS 对非洲爪蟾胚胎蛋白质组进行自下而上的研究。实验考察了重要的 MS2 参数对多肽和蛋白鉴定的影响, 并跟传统的 UPLC-MS/MS 方法进行比较, 可以发现在最优的质谱参数下, CZE-MS/MS 具有卓越的自下而上蛋白质组学分析能力。



扫一扫, 关注永道致远微信

www.evergauge.cn

www.cmpscientific.com

永道致远科学技术有限公司

上海市浦东新区康新公路3399弄26号楼218室