

## CE-MS 方法对组胺素-5 及其降解产物的在线分析

### 目的

采用基于电渗流驱动同轴鞘流液的MASS-II 型 CE-MS 联用离子源, 建立CE-MS方法对组胺素-5及其降解产物实现在线分析。

### 背景

组胺素-5 (Hst-5) 是一种具有抗细菌和抗真菌活性的人唾液肽, 具有很强的抗念珠菌活性, 参与对白色念珠菌感染的防御。白色念珠菌是一种导致人类念珠菌病的病原体, 能产生分泌型天冬氨酸蛋白酶 Saps, 对组胺素-5 (Hst-5) 进行降解。对 Hst-5 及其降解产物的表征和定量分析, 对于理解 Hst-5 的降解途径至关重要。尽管已有采用 HPLC-UV、LC-MS 等方法对 Hst-5 及降解产物进行分析的报道, 但 these 方法均面临不小挑战。这是因为 Hst-5 及降解产物碱性很强, 跟色谱柱填料之间存在较强的相互作用, 会导致色谱峰展宽, 分离度差和样品残留严重等问题。

毛细管电泳与 HPLC 的分离机制有着本质的不同。HPLC 的分析主要通过分析物与色谱填料的相互作用而实现的, 而毛细管电泳 (CE) 是基于分子在电场下迁移率的差异进行分离的方法。毛细管电泳具有 HPLC 无法替代的分离优势。采用电渗流驱动鞘流液 EMASS-II 型离子源, 可以使 CE-MS 联用技术获得前所未有的灵敏度和稳定性。离子源技术所带来的 CE-MS 技术的突破, 使 CE-MS 成为生物分子分析的极具吸引力的分析平台。

本实验通过 CE-MS 技术对 Hst5 及其 Sap9 降解产物进行定性和定量分析。实验结果具有很高的稳定性和重现性, 未观察到样品残留。

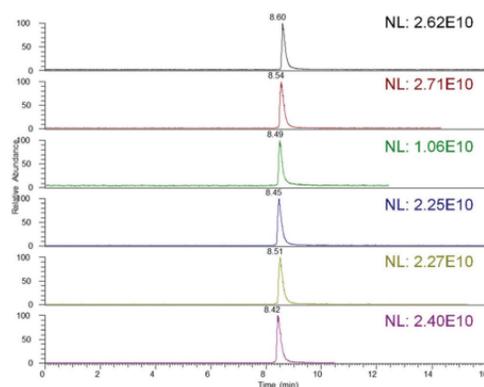


图1. 连续进样 6 针 Hst-5 的总离子电泳图。

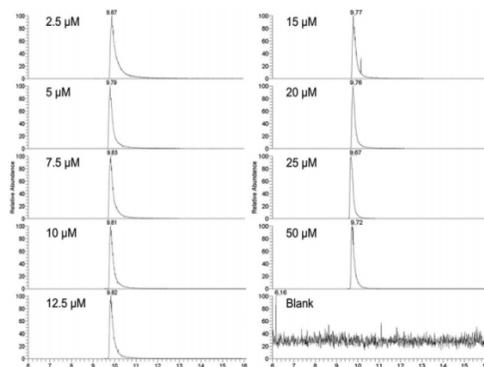


图2. 不同浓度下 Hst-5 的提取离子电泳图。

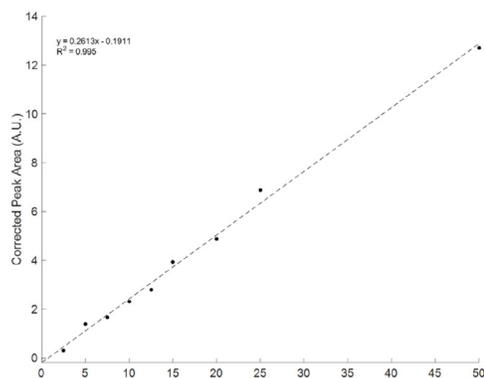


图3. Hst-5 峰面积和浓度间的线性关系, 相关系数大于 0.99。

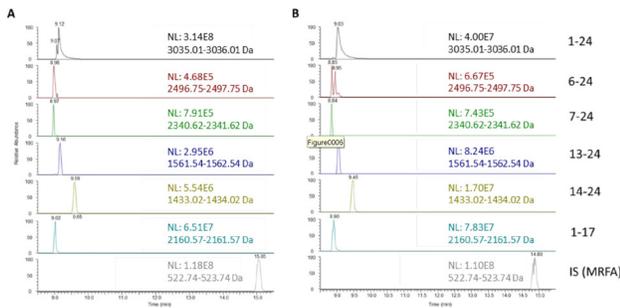


图4. 与 Sap930 孵育 30 分钟和 90 分钟后 Hst-5 主要降解产物的提取离子电泳图。

## 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-TF)。75cm PS1 型中性涂层毛细管 (CMP Scientific, P/N:E-SC-PS1-360/150-50-75-B1)。BGE为 20%乙酸。SL 为 15% 乙酸和 15% 乙腈。

### 实验方法:

样品在 2psi 压力下注入 7 秒 (20 nL) 后, 施加分离电压 30kV; ESI电压: 2.0kV。喷针尖端到质谱的距离: 3mm。样品保持在 10℃, 缓冲液保持在 20℃。

### 质谱参数:

采集范围: 250-1,400 m/z。Capillary voltage: 0V。质谱分辨率: 120,00。NCE: 35。其他质谱参数采用质谱仪的默认值。

## 结果

本实验选择中性涂层的分离毛细管, 减少毛细管壁对样品的吸附。图1 显示为连续 6 针进样 50 μM 的 Hst-5, CE-MS 分析得到的结果 (图1)。结果显示 Hst-5 的迁移时间、峰高和峰

面积重现性良好。值得注意的是, 第 3 峰高明显降低, 可能是样品瓶中存在微小气泡所致。与 LC-MS 相比, CE-MS 中的样品进样体积通常要低 100 倍, 因此微小气泡的存在可显著减少样品的实际进样量。通过对不同浓度的 Hst-5 的测试来考察 CE-MS 的定量能力, 样品浓度从 2.5 μM 到 50 μM 得到提取离子电泳图结果如图2。峰面积随浓度呈线性增加, R<sup>2</sup> 值为 0.995, 线性结果见图3。图2 中最后一个电泳图是所有分析完成后的空白CE-MS电泳图, 未观察到样品残留。图4 显示的是 Hst-5 与 Sap9 一起孵育 30 分钟、90 分钟后, 主要降解产物经 CE-MS 分析得到的提取离子电泳图。分子在 CE 中的迁移时间是由荷质比决定的, 因此, CE 得到的迁移时间可以作为质谱信息的佐证来辅助未知降解产物的鉴定。

## 总结

本实验采用 ECE-001 型毛细管电泳仪和基于电渗流泵驱动同轴鞘流液的 EMASS-II 型 CE-MS 联用离子源, 建立 CE-MS 方法对 Hst-5 及其降解产物实现在线的分离和鉴定。本方法具有良好的稳定性和重现性, 与 LC-MS 方法相比, 分离度更高, 所需样品量更少, 系统的样品残留更低。



扫一扫, 关注永道致远微信

[www.evergauge.cn](http://www.evergauge.cn)

[www.cmpscientific.com](http://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