

## CZE-MS 方法实现对血红蛋白亚型的快速在线分析

### 目的

采用电渗流驱动鞘流液的 EMASS-II 型 CE-MS 联用离子源, 利用 CZE-MS 方法对血红蛋白亚型进行快速的在线分析。

### 背景

对异常血红蛋白的检测和鉴定是临床研究中的一个重要方向, 因为携带某种类型的血液疾病的个体 (如地中海贫血) 可能会发展为严重的贫血, 如果治疗不当, 就会导致死亡。目前的检测分析是基于等电聚焦或电泳的方法, 在这些方法中, CE-MS 作为一种准确和灵敏的检测方法, 可以快速发现患者血液中不同的血红蛋白的变异。

毛细管区带电泳 (CZE) 是基于分子大小与电荷比进行分离的, 通过电渗流驱动鞘流液的 EMASS-II 型离子源, 实现 CZE 与高分辨质谱在线联用。CZE-MS 可以对生物活性分子进行高效分离和准确表征, 作为重要的蛋白质组学分析工具, 适合于对具有翻译后修饰 (PTMs) 或发生降解的蛋白质的分析, 包括脱酰胺化、糖基化和磷酸化。CZE-MS 也是一种有效的血红蛋白分析方法, 可用于异常的血红蛋白蛋白质形态的常规检测。本实验采用 CZE-MS 方法, 通过质谱的多种碎裂方式, 进行自上而下的蛋白质组学分析以获得最佳的氨基酸序列覆盖, 实现对血红蛋白亚型的快速在线鉴定。

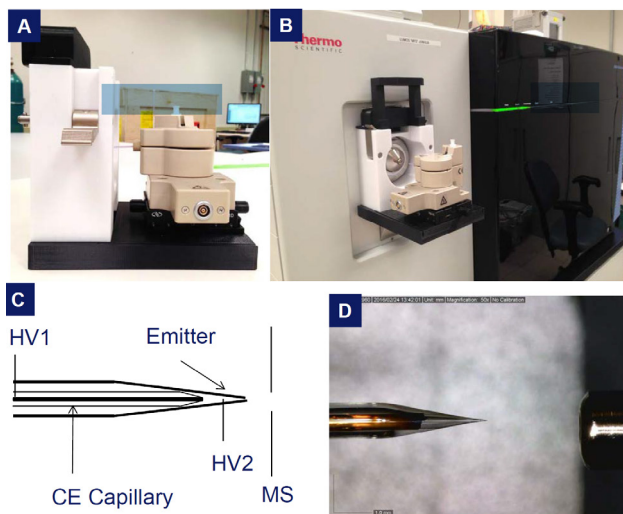


图1. 采用电渗流驱动鞘流液的 EMASS-II 型 CE-MS 联用离子源。A 和 B 图 为 EMASS-II 型离子源安装在质谱上的实景照片; C 图 为电渗流驱动鞘流液的离子源接口示意图; D 图 为毛细管蚀刻端与喷针及质谱接口的相对位置的照片。

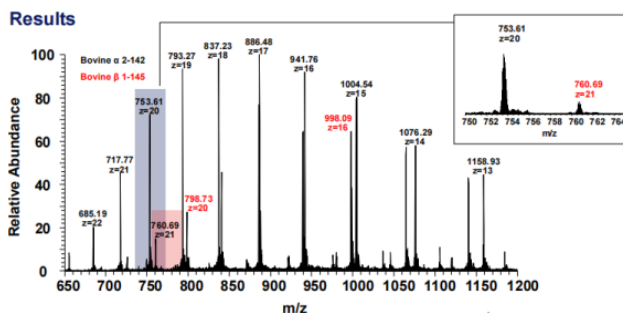


图2. 牛血红蛋白  $\alpha$  亚基和  $\beta$  亚基 ( $m/z$  753.61 和 760.69) 的质谱图。

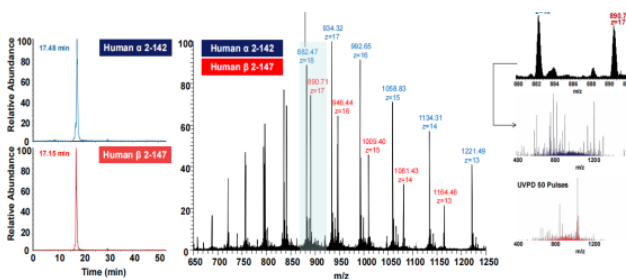


图3. CZE-MS/MS 使用中性涂层毛细管对人血红蛋白的分析结果。左图为  $\alpha$  亚基和  $\beta$  亚基提取离子电泳图; 中图为质谱图; 右图为  $\alpha$  亚基和  $\beta$  亚基经 UVPD 碎裂的二级图谱。

## 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)。100cm CC1 型分离毛细管 (CMP Scientific, P/N: E-SC-CC1-360/150-50-100-B1)。100cm PS2 型分离毛细管 (CMP Scientific, P/N: E-SC-PS2-360/150-50-100-B1); SL 为甲酸和甲醇。

### 实验方法:

样品在 13.5psi 压力下注入 3 秒后, 施加分离电压大小为 30kV, 依据选用的不同涂层分离毛细管选择正负电压。

### 质谱参数:

质谱分辨率: 120,000。使用 ETD、EThcD、HCD 或 UVPD 片段实现 MS/MS 采集, 其他质谱仪采集参数设置为质谱仪的默认值或参考文献具体设置。

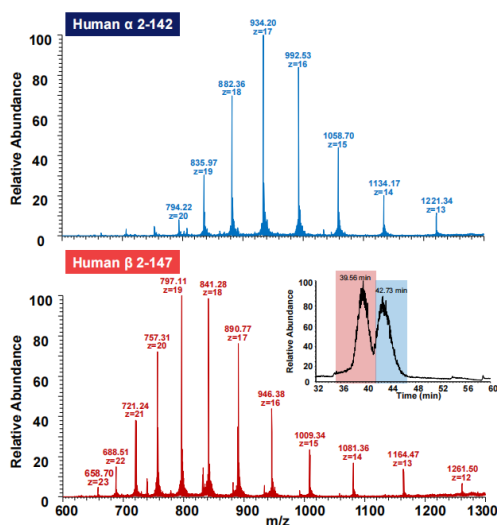


图4. CZE-MS/MS 使用阳离子涂层毛细管对人血红蛋白的分析结果。由下图可以看出  $\alpha$  亚基和  $\beta$  亚基能够得到很好的分离。

## 结果

采用直接进样的方式, 对牛血红蛋白样品进行分析, 不经过 CE 分离, 结果如 图2。在质谱图中可以同时观察到牛血红蛋白  $\alpha$  亚基和  $\beta$  亚基的带多电荷的峰。图3 为采用中性涂层毛细管通过 CZE-MS 对牛血红蛋白进行分析的结果, 从提取离子电泳图可以观察到  $\alpha$  亚基和  $\beta$  亚基迁移时间非常接近。另外, 本方法使用还包括 UVPD、ETD 或 ETDciD 等多种碎裂方式, 对牛血红蛋白亚基的序列覆盖率进行了比较。图4 为使用中性涂层毛细管对人血红蛋白进行分析的结果。通过比较可知, 在CZE-MS对血红蛋白亚基的分析中, 阳离子涂层分离毛细管的分离效果更好, 两个亚基可以被很好地分开, 分离窗口时间大于1分钟。

## 总结

在本方法中, 使用 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, 成功地将 CZE 与 MS 联用, 实现了对血红蛋白亚基的快速在线分析。利用 CZE-MS 方法的高效分离能力和高分辨率的质量测定, 结合多样的碎裂模式, 本方法可以对不同血红蛋白的蛋白质形态进行快速鉴定, 可用于异常血红蛋白的快速检测。



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