

CE-MS 对多肽样品的检测分析及方法学验证

目的

采用 PS1 中性涂层毛细管和电渗流驱动鞘液 EMASS-II 型 CE-MS 联用离子源, 通过 CE-MS 联用技术对多肽样品进行可靠地定量分析, 并对灵敏度、线性和重现性等方面的方法学指标进行考察。

背景

毛细管电泳技术其具有操作简单、样品和缓冲液用量少、分离快速高效、分离模式众多等优点, 是分析实验室中常用的分离手段。蛋白质和多肽的分析是毛细管电泳技术最早的应用之一。毛细管电泳在多肽分析中的应用, 已从小的合成肽和普通的蛋白酶解产物的分离分析发展到大的重组肽的分析。在蛋白质组学分析中, 酶解得到的大量的多肽在极性和疏水性上都非常接近, 对基于键合相作用力的反相色谱而言, 很难做到完全分离。而毛细管电泳技术以高压电场为驱动力, 以毛细管为分离通道, 可以根据多肽之间在淌度和分配行为上的微小的差异而实现高分辨的电泳分离。通过采用电渗流驱动鞘液 EMASS-II 型 CE-MS 联用离子源, 可以将高分离效率的毛细管电泳与具有优越定性能力的高分辨质谱结合, 形成的 CE-MS 联用技术可用于对生物样本中微量多肽的定性和定量分析。

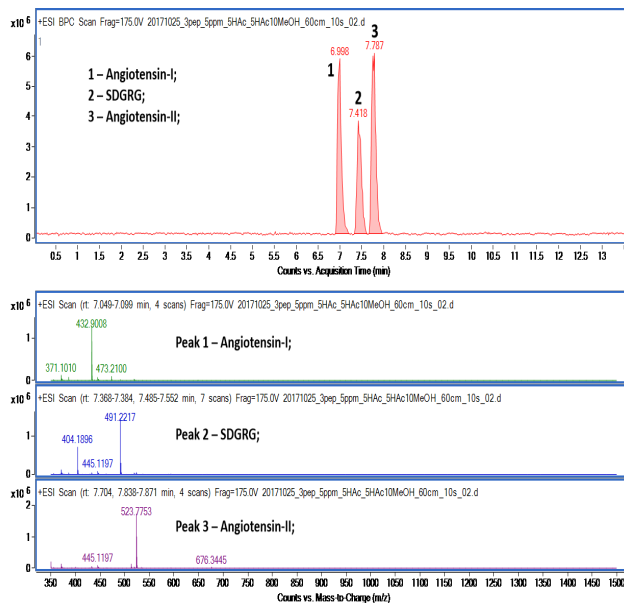


图1. 三种多肽 (Angiotensin-I, Angiotensin-II, SDGRG) 在 CE-MS 上的分离情况, 上图为基峰电泳图, 下图为各个峰对应的质谱图。

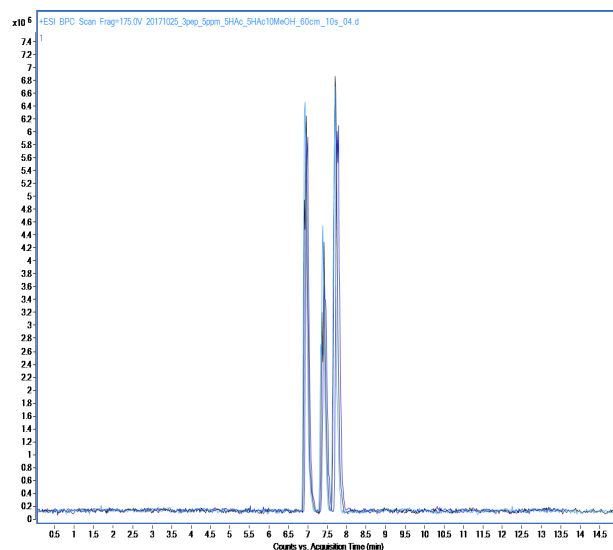


图2. 三种多肽 (Angiotensin-I, Angiotensin-II, SDGRG) 重复进样三针的基峰电泳图的叠加图。

解决方案

仪器试剂:

ECE-001 型毛细管电泳仪 (CMP Scientific, P/N: ECE-001)。EMASS-II 型 CE-MS 联用离子源 (CMP Scientific, P/N: EM3001-A)。60cm PS1 中性涂层分离毛细管 (CMP Scientific, P/N: E-SC-PS1-360/150-50-60-B1)。喷嘴开口20 μm。BGE 5% 乙酸。SL 5% 乙酸和 10% 甲醇。

实验方法:

样品进样 100mbar 10 秒。CE分离电压 30kV。喷嘴至锥孔 5mm (不使用锥孔挡板)。喷嘴从毛细管伸出长度 0.8mm。扫描范围 350-1,500m/z。Fragmentor 电压 175V。干燥气 350° C, 2 L/min。Quad AMU 300。碰撞能量 0 V。VCap: 0 V (质谱进样毛细管电流为0.2 μA)。ESI 1.8 kV。

样本制备:

Angiotensin-I, -II 和 SDGRG 肽混合物 (各5ppm) 溶解在 50 mM 乙酸铵和 2% 乙酸溶液中。

结果

图1 为三种多肽在CE-MS上的分离情况。图2-图5 分别为方法的重现性、线性和灵敏度的结果。

总结

本实验建立三种多肽的 CE-MS 定量方法,可以在 10 分钟内快速实现三种多肽的电泳分离。同时,对灵敏度、重现性和线性等方法学指标进行了考察,结果表明本方法完全满足多肽日常定性和定量分析需要。

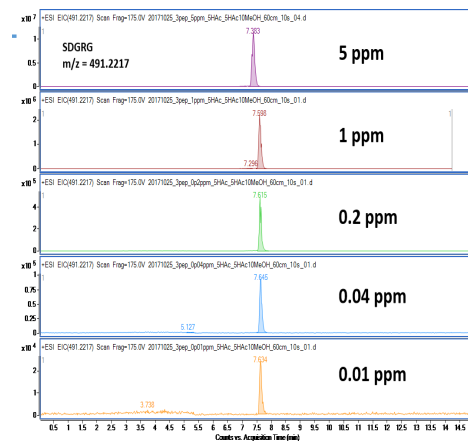


图3. 不同浓度的SDGRG在CE-MS上的提取离子电泳图。

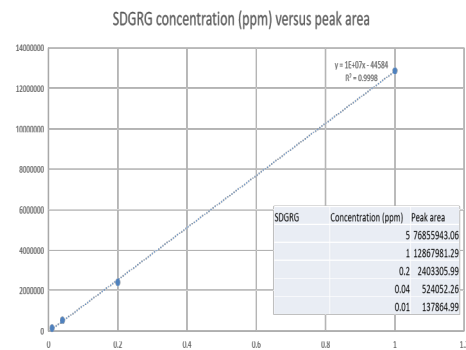


图4. SDGRG在0.01-5 ppm浓度范围内的线性。

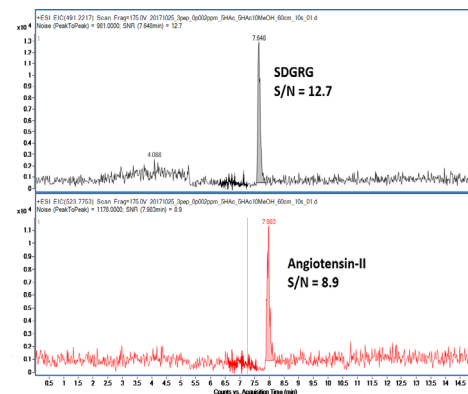


图5. 0.002ppm 浓度水平的SDGRG和 Angiotensin-II 在 CE-MS 的信噪比结果。