

CZE-MS/MS 对GAG混合物进行在线分析

目的

首次将毛细管电泳仪 (CE) 与串联质谱联用构建分析平台, 解析糖胺聚糖 (GAG) 寡聚物的组成成分和修饰情况。

背景

糖胺聚糖 (GAGs) 是自然界中存在的具有高度阴离子性的重要生物分子。毛细管区带电泳 (CZE) 与质谱 (MS) 联用组成的平台型工具, 通过运用负电子转移解离 (NETD), 可以有效分析GAG混合物。CZE非常适合分离带有负电的天然存在的GAGs。NETD是一种基于电子转移的离子碎裂模式, 可以形成信息丰富的带有硫酸半酯的碎片离子。

在本实验中, 首次在CZE-MS 上采用NETD模式, 对GAG寡聚物进行结构解析。NETD具有快速的离子活化速度, 可以很好适配CZE迁移产生的窄峰。该联用平台首先使用GAG四糖标准品混合物进行了优化。随后, 以低分子量肝素—依诺肝素为待检物, CZE在30分钟内可以完成分离, 并能在线进行NETD MS/MS表征。最终, 使用CZE-NETD-MS/MS在依诺肝素中鉴定出37种独特的成分, 并解析出9种结构。

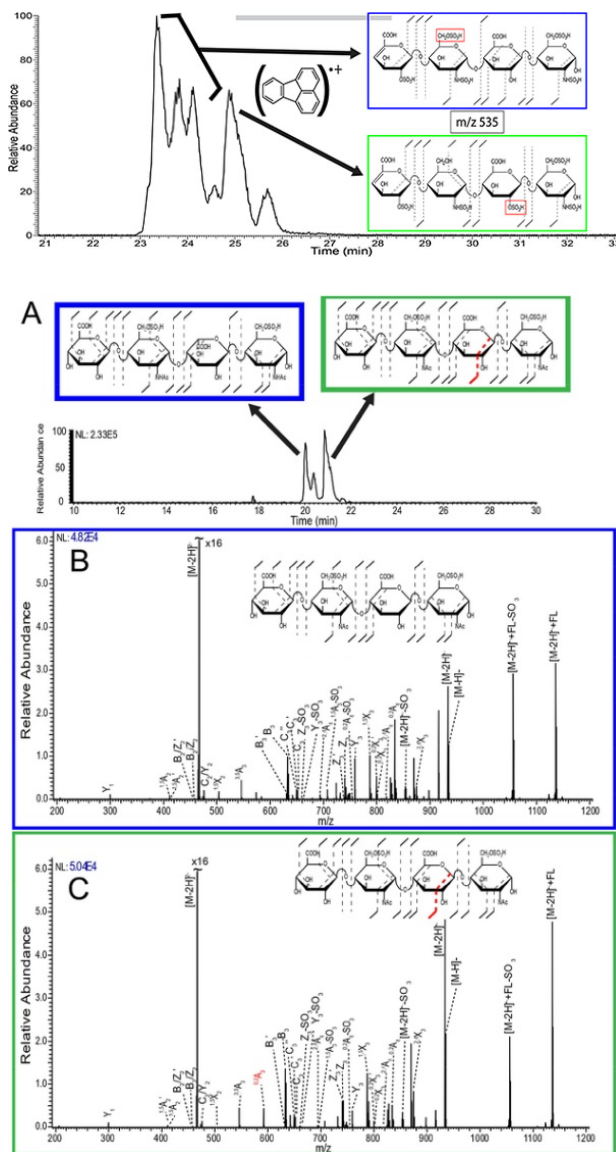


图1. CZE-NETD-MS/MS 分析 GAG 四糖标准品。(A) CZE-MS 对两种人工合成的硫酸肝素 (HS) 差向异构体混合物的分离和鉴定, 左为 GlcA-GlcNAc6S-IdoA-GlcNAc6S (GI), 右为 GlcA-GlcNAc6S-GlcA-GlcNAc6S (GG)。(B) CZE-MS 电泳图中 20min 处峰对应的 NETD 质谱解析结果 (对应分子GI)。(C) CZE-MS 电泳图中 20 分钟处峰对应的 NETD 质谱解析结果 (对应分子GG)。

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)。背景电解质溶液 (BGE) 和鞘流液 (SL) 由 25mM 醋酸铵和 70% 甲醇组成。

实验方法:

喷针外径 1.0mm, 内径 0.75mm, 末端开口 30 μm 。毛细管末端与喷针尖端距离为 0.3-0.5mm。离子源电压为 -1.9kV, CE 分离电压为 -30kV。

质谱参数:

电离模式: 负离子。扫描范围: 50 - 2,000。全扫分辨率: 120,000。MS/MS 分辨率: 60,000。对双电荷的四糖和三电荷的六糖离子活化时间: Emission current: 75 μA 。Electron energy: -70 V。

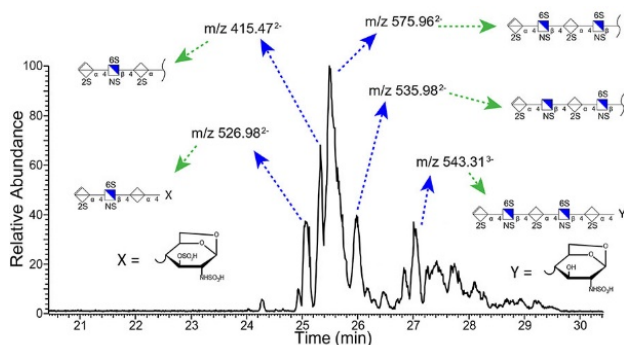


图2. CZE-NETD-MS/MS 分析得到的低分子量肝素-依诺肝素电泳图。通过 NETD 方法对 5 个响应最强的 m/z 进行解析。

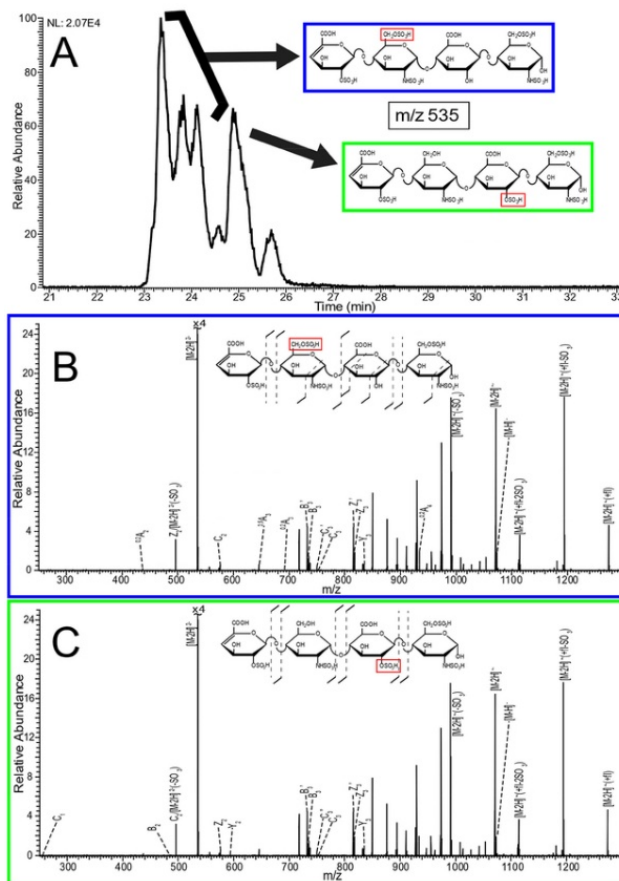


图3. CZE-NETD-MS/MS对依诺肝素的分析, m/z535.98的提取离子电泳图和主要峰对应质谱图结果。(A) m/z 535.98的提取离子电泳图, 找到四个信号强度较高峰。(B) 前三个峰的NETD谱图的解析。(C) 第四个峰的NETD谱图的解析。

总结

通过电渗流泵驱动同轴鞘流液EMASS-II 型CE-MS联用离子源, 将毛细管电泳技术和高分辨质谱联用, 建立CZE-NETD-MS/MS方法, 实现对GAGs的在线分析。实验结果表明, 本方法对GAGs的组成分析准确, 修饰鉴定可靠, 适用于对GAGs的深度表征分析。

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