

## CZE-MS 用于氨基酸和蛋白质酶解产物的快速分析

### 目的

通过电渗流泵驱动的同轴鞘流液 EMASS-II 型 CE-MS 联用离子源, 实现毛细管区带电泳与质谱技术联用 (CZE-MS), 应用于氨基酸和蛋白质酶解产物的快速分析。

### 背景

毛细管区带电泳 (CZE) 已被用于快速和高效分离小分子、大分子化合物, 但将 CZE 与质谱 (MS) 联用一直具有挑战性。随着新型的电渗流驱动同轴鞘流液 CE-MS 联用离子源的出现, 使 CE-MS 联用系统发展成为检测小分子和大分子的理想工具。本研究将利用电渗流泵驱动的同轴鞘流液 EMASS-II 型 CE-MS 联用离子源, 使用 CE-MS 系统建立了氨基酸和多肽的快速检测方法。

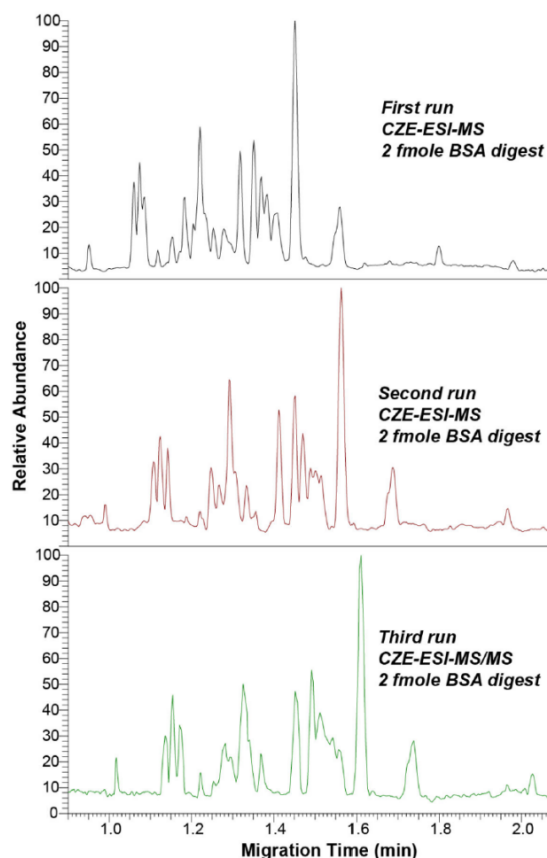


图2. BSA 酶解液重复进样三次的基峰电泳图。

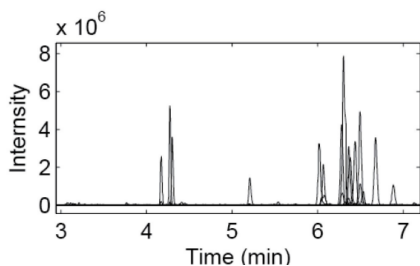


图1. 20 种氨基酸的提取离子电泳图, 出峰顺序: C, K, R, H, G, A, V, S, N, T, L, W, M, I, Q, E, F, Y, P, D。

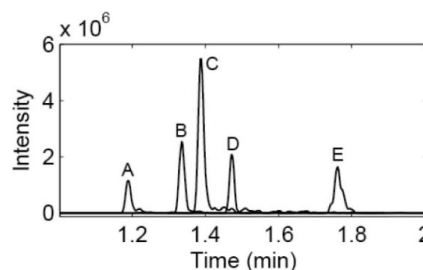


图3. BSA 酶解液中 5 个肽段的提取离子电泳图。

氨基酸	C	K	R	H	G	A	V	S	N	T	L	W	M	I	Q	E	F	Y	P	D
塔板数 / 万	14	30	31	26	26	17	22	24	5	18	17	28	36	15	15	21	24	23	23	20

表1. 图1 中 20 种氨基酸电泳峰的理论塔板数。

## 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 型离子源 (CMP Scientific, P/N: EM3001-T)。裸管 (CMP Scientific, P/N: E-SC-BFS-360/150-50-45-B1, E-SC-BFS-360/150-50-28-B1); 赛默飞 LTQ XL 质谱仪、Q-Exactive 质谱仪。氨基酸和牛血清白蛋白样品制备相关试剂。

### 样本制备:

20 个氨基酸标准品样品由含 30% 乙腈的 0.04% 甲酸溶液稀释至  $\sim 20 \mu\text{M/L}$ 。牛血清白蛋白 (BSA) 酶解液由 0.5 mg/mL BSA 在含尿素的  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  溶液中变性 30 min 后还原和烷基化。稀释后用胰酶酶解, 酸化后脱盐, 真空浓缩冻干。最后用 0.05% 甲酸定容至 1.6 mg/mL,  $-20^\circ\text{C}$  保存。

### 实验方法:

含 20 种氨基酸样品的检测: 使用 EMASS-II 型离子源, 实现 CZE 与赛默飞 LTQ XL 质谱联用。45 cm 毛细管, 分离缓冲液为 0.5% 甲酸, 鞘流液为 0.5% 甲酸, 含 10% 甲醇。样品在含 0.04% 甲酸和 30% 乙腈中溶解。样品进样 10 psi, 2 s。分离电压 16 kV, 电喷雾电压 2 kV。BSA 酶解液快速分析方法: 使用 EMASS-II 型离子源, 实现 CZE 与赛默飞 Q-Exactive 质谱联用。28 cm 毛细管, 分离电压 29.5 kV, 电喷雾电压 1.5 kV。样品进样 8 psi, 2 s。分离缓冲液为 0.5% 甲酸。鞘流液为 0.1% 甲酸和 10% 甲醇。质谱分辨率为 35,000 ( $m/z$  200), AGC 设置为  $1\text{E}6$ 。

## 结果

图1为使用 EMASS-II 型离子源的 CZE-MS 系统分析 20 种氨基酸的提取离子电泳图。表1 为 20 种氨基酸电泳峰的理论塔板数统计结果, 说明氨基酸在 CZE 上可以获得很高的分离度。图2 为 BSA 酶解液重复进样三次的基峰电泳图, 表明该系统具有良好的稳定性和重现性。图3 为 BSA 酶解液中5个肽段的提取离子电泳图, 塔板数在 50,000 到 100,000 之间。平均峰宽为 700ms, 1 min 的峰容量为 40, 说明CZE具有很高的分离效率, 适用于复杂生物样本的快速分析。

## 总结

在本方法中, 使用 EMASS-II 型离子源结合高/低分辨质谱仪, 建立了新型 CZE-MS 联用方法, 对氨基酸和蛋白酶解液两种典型生物样本类型进行快速分析。结果表明氨基酸和肽段均可在 CZE 上取得高分离度, 并且该方法具有灵敏度高、稳定性好、分析效率高等优点, 可适用于各种蛋白质类来源的生物样本的快速分析。



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