

# LCMS-2050 在多肽分子量定性分析检测中的应用

LCMS-029

**摘要：** 本文使用高效液相色谱四极杆质谱联用仪 LCMS-2050 对泛素（Ubiquitin）多肽进行分子量测定。采用 DUIS（ESI+APCI）正离子模式对待测样品进行质谱扫描，以 LabSolutions 软件对质谱扫描图进行解卷积多电荷分析，各质谱扫描图中均能观测到对应多肽的不同电荷数离子信号。结果显示，8 种多电荷离子通过解卷积分析确认了分子量为 8564.81，与理论值的偏差为 -0.03Da，质量准确度高，体现了 LCMS-2050 质量范围宽的特点，适合多肽、寡核苷酸等大分子物质的分子量检测（多电荷分析）。

**关键词：** 单四极杆质谱 多肽 分子量

多肽是由三个或三个以上氨基酸分子组成，分子量通常低于 10000 Da。泛素（Ubiquitin）是一种由 76 个氨基酸合成的多肽，可以通过酶促反应相互连接，进而介导靶蛋白降解。蛋白质泛素化参与许多细胞过程，例如蛋白酶体降解、胞吞、DNA 修复、细胞周期调控及基因表达等。在泛素化过程中，泛素连接酶（E3 酶）对底物的识别是决定泛素化修饰特异性的关键。因此，理解各种 E3 酶的底物特异性和催化机制成为泛素领域的热点问题。

为了探究泛素化反应机制，通常利用蛋白质化学合成技术先获取大量泛素化中间体模拟物，再对大量合成模拟物进行分子量监控和预判，单四极杆

质谱由于质量范围受限以及质量数准确度较低，在大分子物质分子量测定上具有一定局限性。LCMS-2050 作为小型化高端分析仪器，宽质量范围（ $m/z$  最大可设到 2000）是测定大分子化合物分子量的有力工具，例如寡核苷酸、多肽、蛋白质、聚合物等。LabSolutions 软件的解卷积多电荷分析功能还可进行高精度中高分子量化合物检测，是大分子化合物和高通量实验室的理想检测器。

本文采用 LCMS-2050 对泛素多肽进行分子量测定，并结合岛津 LabSolutions 软件多电荷分析功能对质谱扫描数据进行解卷积，质量准确度高，体现了 LCMS-2050 的宽质量范围的特点。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

系统控制器：SCL-40

脱气机：DGU-405

输液泵：LC-40D XR（含 LPGE）

自动进样器：SIL-40C XR

柱温箱：CTO-40C

检测器：SPD-40

质谱仪：LCMS-2050 单四极杆质谱仪

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.114



## LCMS-2050

SIMPLY EFFORTLESS

兼顾小型化和高性能

灵敏度 (S/N) * Reserpine 1 pg	100: 1 (RMS)
质量范围	$m/z$ 2-2000
离子化单元	加热型 ESI/APCI (DUIS™)
正负离子切换时间	10 msec
扫描速度	15,000 u/s

图 1 高效液相色谱质谱联用仪 LCMS-2050

## 1.2 分析条件

### 液相色谱条件

色谱柱：Shim-pack GIST C18 Column (2.1 mm I.D. × 100 mm L., 2.0 μm,

P/N: 227-30001-04, 岛津 (上海) 实验器材有限公司)

流动相：A 相 -0.1% 甲酸 / 水, B 相 -0.1% 甲酸 / 甲醇 进样体积：10 μL

流速：0.3 mL/min

柱温：35°C

洗脱方式：梯度洗脱, B 相初始浓度为 10%, 时间程序见表 1

表 1 时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
10.00	Pumps	Pump B Conc.	100
13.00	Pumps	Pump B Conc.	100
14.00	Pumps	Pump B Conc.	10
20.00	Controller	Stop	

### 质谱条件：

离子源：DUIS (ESI+APCI)

脱溶剂温度：450°C

雾化气：2.0 L/min

接口电压：+3 kV

干燥气：5.0 L/min

扫描模式：SCAN (+)

加热气：7.0 L/min

扫描范围：500~2000

DL 温度：250°C

## 1.3 样品前处理方法

将泛素标准品溶液用去离子水稀释至 0.1 mg/mL, 待测。

## ■ 结果与讨论

### 2.1 泛素的色谱图

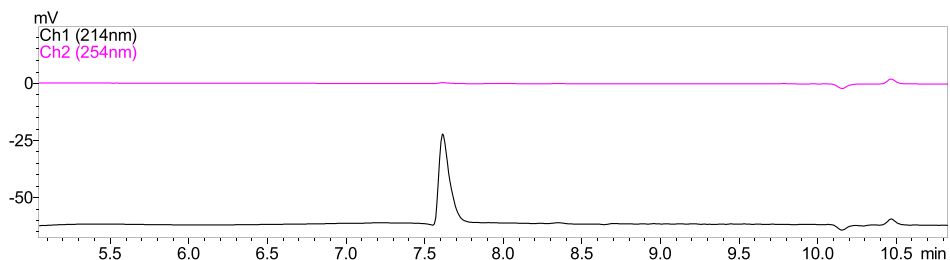


图 2 泛素 UV 色谱图

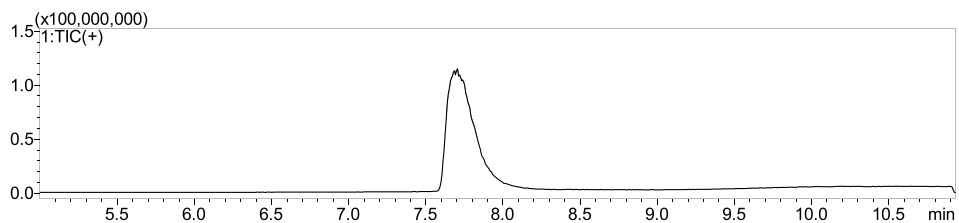


图 3 泛素 TIC 色谱图

## 2.2 多电荷分析结果

通过泛素的 TIC 色谱图 (图 3) 获得 MS 数据, 质谱图结果显示, 该样品在  $m/z$  500~2000 范围内存在 8 种多电荷离子信号 (图 4)。通过岛津 LabSolutions™ 的解卷积功能进行多电荷分析得到待测物的分子量, 解卷积操作步骤见图 5。

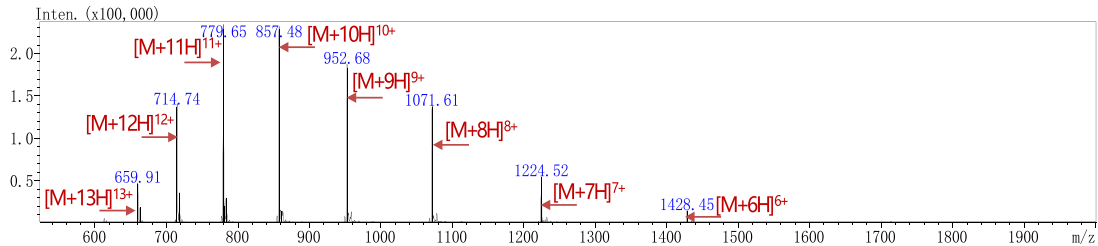


图 4 泛素的质谱图 ( $m/z$  500~2000)

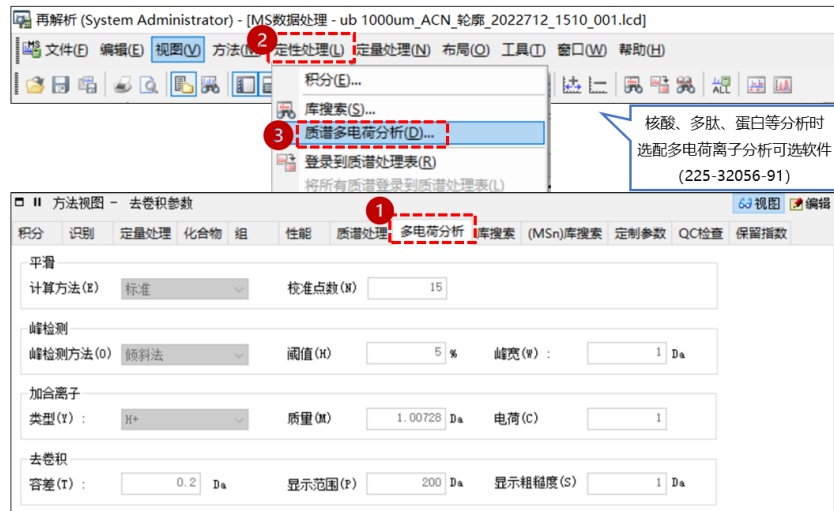


图 5 岛津 LabSolutions™ 的解卷积功能设置

泛素的扫描质谱图经解卷积多电荷分析, 结果如图 6 所示, 该多肽的 8 个带不同电荷数离子峰均被准确识别且解析得到相应电荷数和质量数, 确认该多肽的分子量为 8564.81, 各多电荷峰的质量数标准偏差为 0.389, 质量数精准。

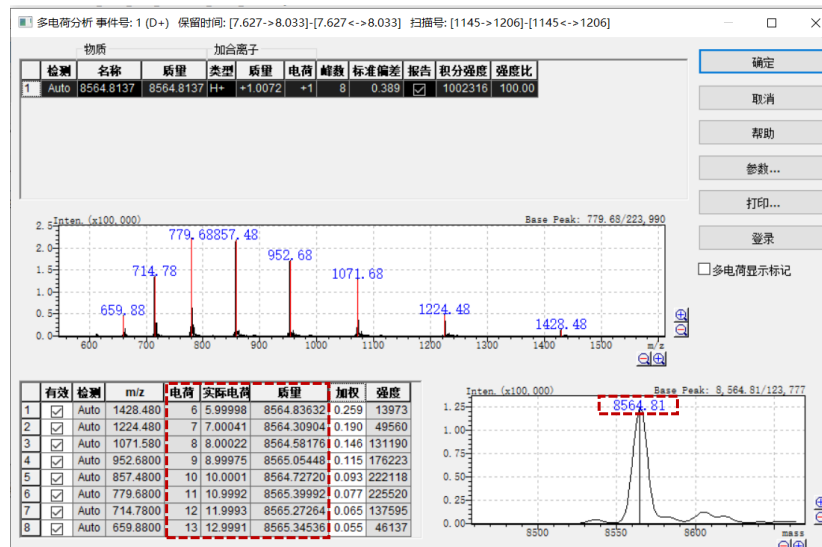


图 6 泛素的解卷积图谱

### 2.3 质量准确度结果

LCMS-2050 检测到了泛素 8 种电荷数的离子信号， $m/z$  范围最大可到 2000。以 LabSolutions 软件对泛素的质谱图进行解卷积多电荷分析，各质谱图中均能观测到对应多肽的不同电荷数离子信号。并且，解卷积后的实测分子量与理论分子量的偏差为  $-0.03\text{Da}$ ，质量准确度高。

表 2 质量准确度测试结果

中文名	英文名	理论分子量	实测分子量	偏差 (Da)
泛素	Ubiquitin	8564.84	8564.81	-0.03

### ■ 结论

LCMS-2050 的宽质量范围是测定大分子化合物分子量的有力工具，例如寡核苷酸、多肽、蛋白质、聚合物等。本文以定性分析泛素多肽的分子量测定为例，检测到  $m/z$  500 到 2000 一系列的从 6 价到 13 价的 8 种不同电荷数的离子信号。使用 LabSolutions LCMS 的解卷积功能，泛素的分子量计算为 8564.81，与理论值的误差为  $-0.03\text{Da}$ ，宽质量范围有利于此类型分析，因为包含了更多的解卷积峰使得分子量计算结果更可靠，是分析宽质量范围的大分子物质的理想手段。

岛津应用云

