

使用双极性台式 MALDI-TOF MS MALDI-8030 进行合成肽的质量控制

S. Salivo (KRATOS ANALYTICAL LTD.)

特点描述

- ◆ 可使用平价的台式 MALDI-TOF 通过轻松、简单的负离子测定实现肽的质量管理。
- ◆ 适用于携带不稳定官能团的多肽。
- ◆ 由于采用不会检测出盐加合物的负离子模式，因此可获得简洁且更易于解析的质谱图。

摘要

目前，合成多肽在生物化学、免疫学及医学等领域的应用日益广泛。它们满足了多种用途，例如癌症的诊断和治疗、药物及其输送系统的开发、表位定位、抗体生产及疫苗设计等。

肽的合成是一个逐步反应的过程，它涉及一个氨基酸的羧基与另一个氨基酸的氨基之间的反应，从而形成所谓的肽键。得到的粗肽产品通常含有杂质（例如，合成过程中产生的副产物），因此需要纯化工序。

在合成多肽的生产过程中，质量控制（quality control; QC）在提供高纯度产品方面扮演着重要角色。MALDI-TOF MS 被广泛用于确认最终肽的分子鉴定及其纯度。

本文介绍了用于正负离子模式下合成肽 QC 分析的双极性台式线性质谱仪 MALDI-8030（图 1）。负离子模式的优点在以下方面得到证实。

- 保持携带不稳定官能团的化学物质的完整性
- 通过消除盐加合物的干扰，简化质谱图的解析

测定条件和样品

合成多肽样品由 Bachem（英国）倾情提供。这里包含 2 种不同的多肽。

- 1) 肽 D：包含与 2 个与酪氨酸残基结合的不稳定碘基
- 2) 肽 A：以半纯化和纯化的形式提供

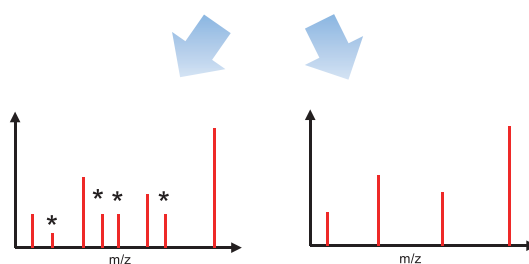
样品在乙腈 / 水 1:1 的条件下制备，根据仪器极性，添加或不添加酸 (0.1% 三氟乙酸 (TFA))。

在 MALDI 分析中，所有样品均使用 5 mg/mL 的 α -氰基-4-羟基肉桂酸 (CHCA) [乙腈 / 水 (1:1)]，根据仪器极性选择添加或不添加 0.1% TFA 一起点靶。

肽 D 的结果

图 2 所示为肽 D 获得的正负离子模式下 MALDI 质谱图。通常在正离子模式下分析时，样品为丢失不稳定的碘基，产生带正电的物质种类（图 2 a）。测定结果仅检测出相当于丢失两个碘基的物质种类（理论值 m/z 2375.068）。

在负离子模式下的质谱图（图 2 b）中，2 种不稳定碘基得以保持，成功地检测出完整的多肽（理论值 m/z 2532.966），除此之外，还检测出与丢失 1 个及全部 2 个碘基相对应的化合物（理论值分别为 m/z 2453.010 及 2373.052）。所有检测出的物质种类都已进行同位素分离（{} 所示单一同位素谱峰的分辨率），且质量精度良好。



正离子模式
受多种盐的影响,
质谱图复杂
(*表示盐加合物)

负离子模式
质谱图简单,
易于解析

图 1 用于合成肽 QC 分析的双极性 MALDI-8030

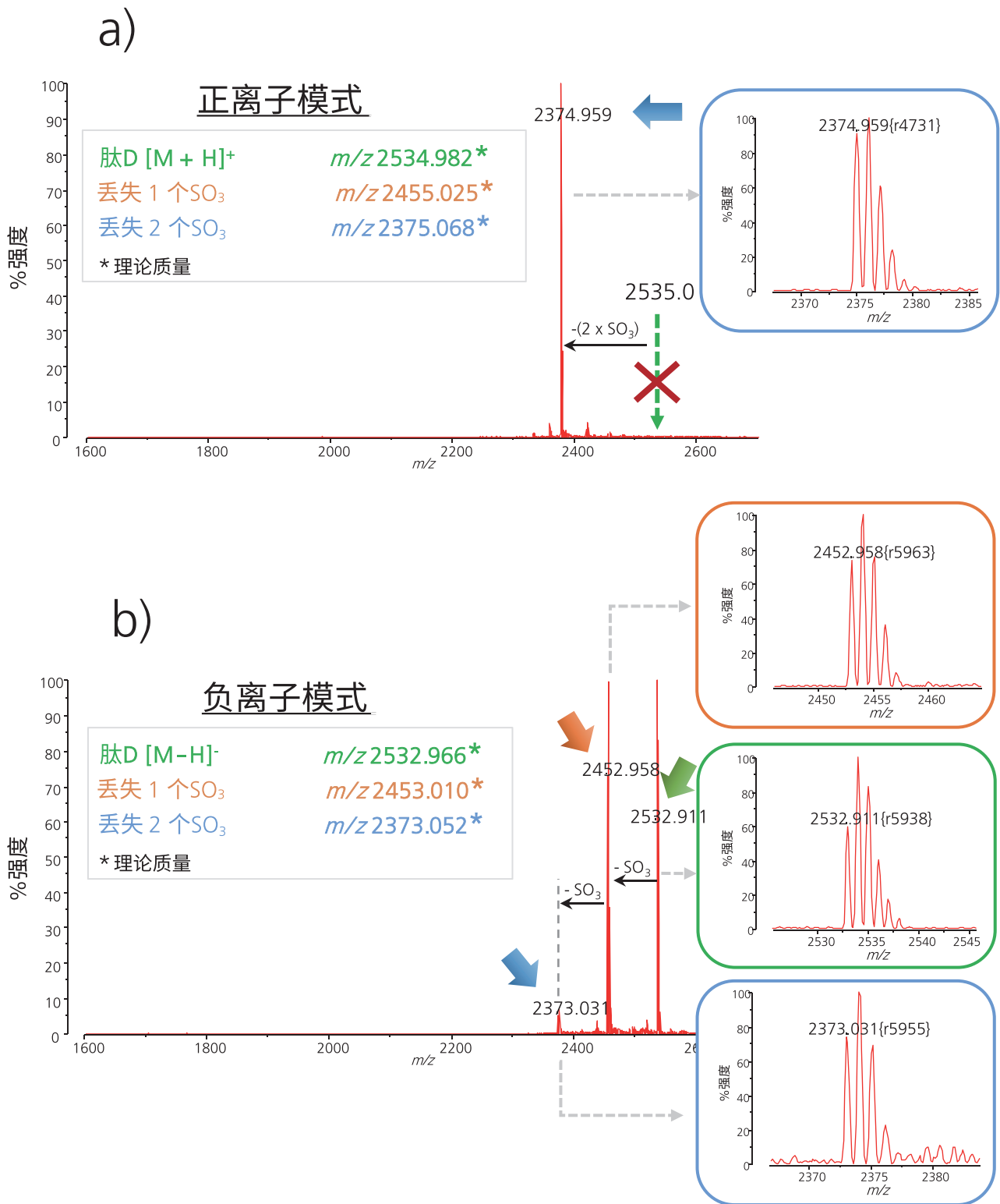


图 2 肽 D 的质谱图

a) 正离子模式：仅检测出对应丢失 2 个磺基的物质种类。
 b) 负离子模式：检测出对应丢失 1 个及 2 个磺基的物质种类，同时成功检测出完整的物质种类。
 精确计算的单一同位素质量如左侧插入图所示。检测出的单一同位素质量分辨率如{ } 内所示。

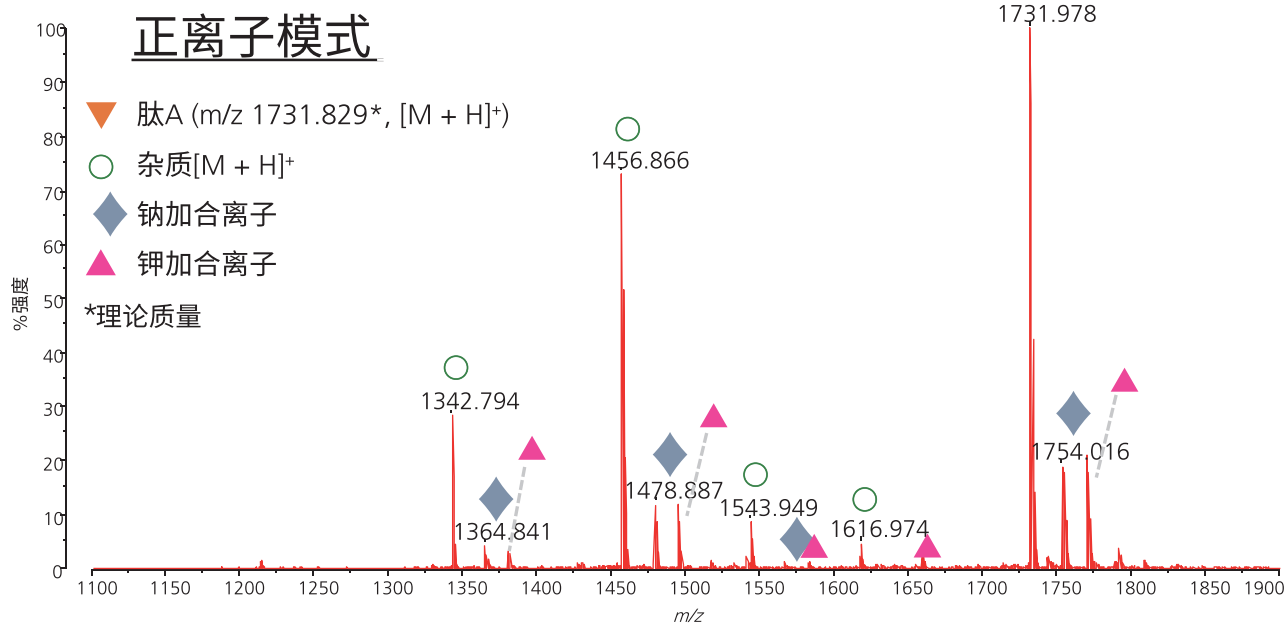
■ 肽 A 的结果

肽 A 在粗产物纯化的一系列阶段后，以半纯化及纯化的形式提供。半纯化型为含有大量杂质的中间体。图 3 a 所示为肽 A（半纯化型）在正离子模式下的 MALDI 质谱图。可以观察到，由于杂质与最终产物均存在盐加合物（钠和钾），质谱图的解析复杂。

相比之下，负离子模式下的 MALDI 质谱图则没有盐加合物，图谱更加干净，解析起来更加容易（图 3 b）。在两种模式下，最终产物肽均以良好的质量精度完成检测。

类似的考虑也适用于肽 A 的纯化型（图 4）。同样，负离子模式下质谱图中目标肽产物的盐加合物显著减少，因此质谱更加干净。

a)



b)

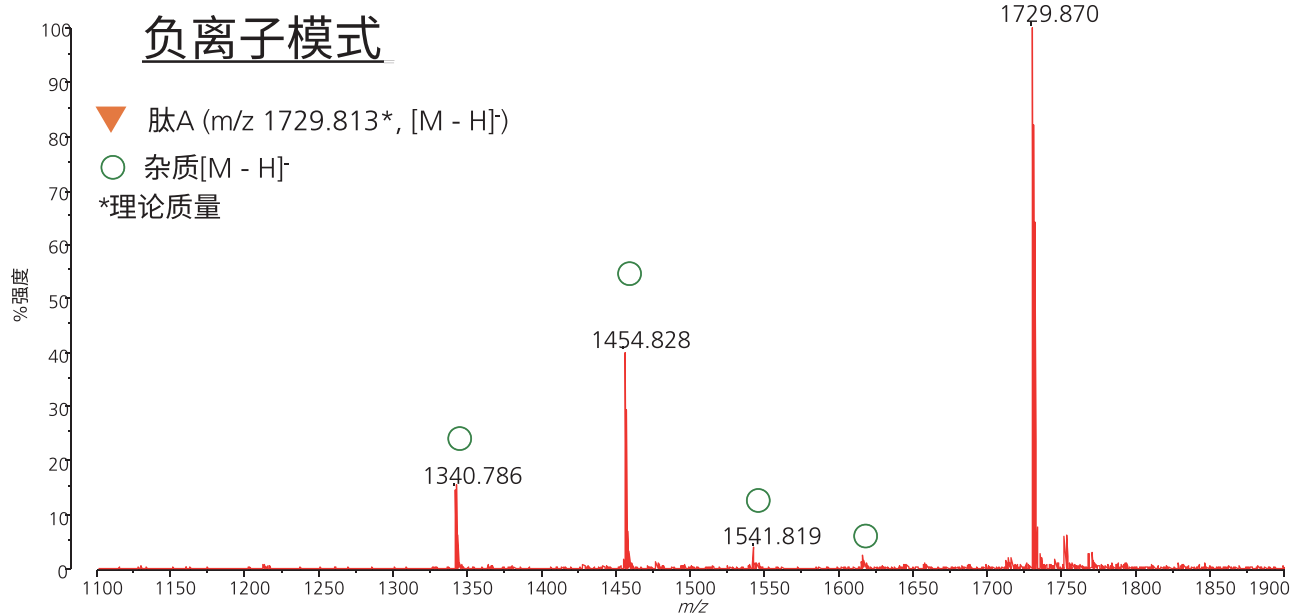


图 3 a) 肽A在正离子模式下的 MALDI 质谱图 (半纯化型) : 由于杂质和最终肽均存在盐加合物信号, 因此质谱图解析复杂。

b) 肽 A 在负离子模式下的 MALDI 质谱图 (半纯化型) : 由于没有盐加合物信号, 因此质谱图解析简单。

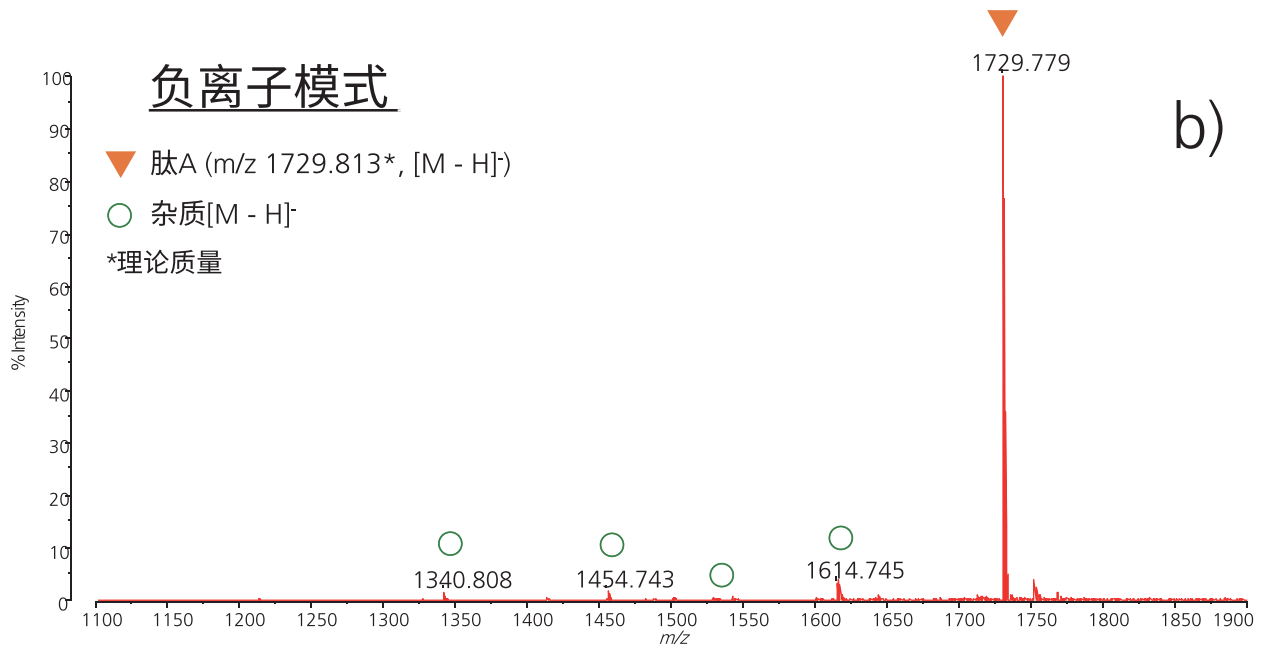
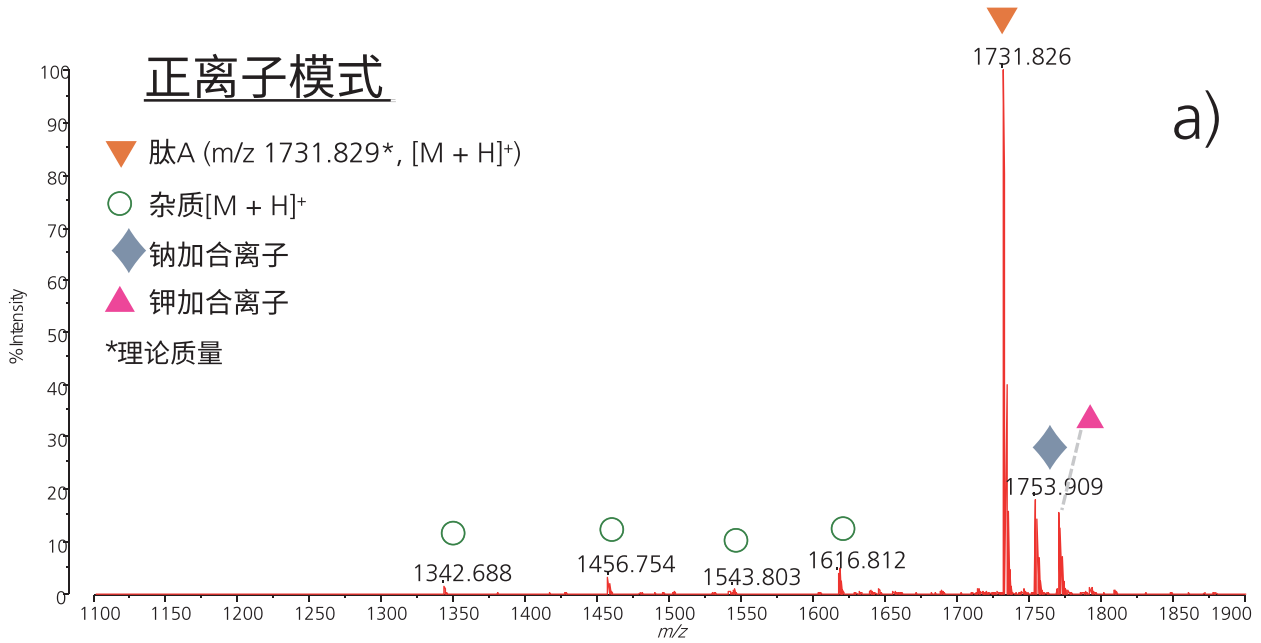


图 4 a) 肽 A 在正离子模式下的 MALDI 质谱图 (纯化型) : 与盐加合物一同检测出目标肽。

b) 肽 A 在负离子模式下的 MALDI 质谱图 (纯化型) : 目标肽中检测出的盐加合物大幅减少, 图谱更加干净。

结论

本应用表明负离子模式在合成肽 QC 分析中的有效性。

虽然在肽分析中, 正离子模式检测更为常见, 但经上述案例可以证明, 出于两种理由, 负离子模式更为有效。

- 1) 防止丢失不稳定官能团, 轻松检测出完整的物质种类。
- 2) 在负离子模式下, 盐加合物的产生显著减少, 因此所得质谱图更加干净, 更易于解析。

岛津应用云



Nexera、Shim-pack 是岛津制作所株式会社在日本及其他国家的商标。



岛津企业管理 (中国) 有限公司
岛津 (香港) 有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话: 800-810-0439
400-650-0439

免责声明:

* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售;
* 本资料中的所有信息仅供参考, 不予任何保证。
如有变动, 恕不另行通知。

第一版发行日: 2022 年 2 月