

# MALDI-TOF 快速鉴定病毒蛋白类疫苗亚基组成

MALDI-008

**摘要：**本文应用岛津基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪（MALDI-TOF）检测疫苗蛋白组分，检测各亚基的分子量信息、分布与比例。结果显示标准品具有完整亚基组成，疫苗样品也具有较好的亚基完整性。该结果与疫苗样品的活性结果匹配。本例表明此方法无需样品前处理、快速简便、可靠性强，可为疫苗亚基组成分析提供有力参考。

**关键词：**基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱（MALDI-TOF）疫苗 亚基

接种疫苗可以预防许多流行疾病的发生，是保护婴幼儿、年老体弱者免于病痛的重要手段。蛋白类疫苗是品种最多，接种率最高的疫苗品种，据 2016 年统计数据显示，病毒和蛋白类疫苗占全球疫苗销量 48.9%。亚基是病毒和蛋白类疫苗的微小结构单元，这些亚基按照一定的比例与构象结合形成完整的蛋白，蛋白与核酸结合形成病毒，成为具有免疫活性的疫苗成分（图 1）。

因此，疫苗蛋白质各亚基的组分完整性与含量是衡量疫苗免疫能力的重要指标。基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱（MALDI-TOF）是一种软电离方式，适合蛋白质等大分子的离子化，且具有分析质量范围宽、数据精确、通量高、速度快的优势，可以填补 LCMS/MS 的空白，对疫苗内生物活性大分子成分进行精确地定性分析。

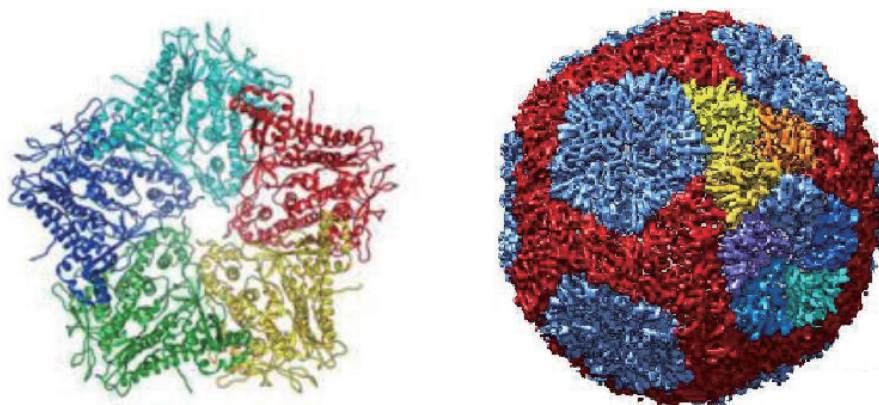


图1 亚基、蛋白与病毒以某病毒为例，不同颜色代表的各亚基以一定比例与构象结合形成蛋白质（左）；蛋白质排列并结合核酸最终形成完整病毒（右）。图片来自网络。

## 实验部分

### 1.1 仪器

台式基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 MALDI-8020, AXIMA-Performance

### 1.2 分析条件

调谐模式：线性正离子模式

激光能量：130

扫描范围：m/z 5000-30000

### 1.3 试剂和样品

基质：芥子酸（SA）

样品：疫苗标准品与样品

### 1.4 样品前处理

取 0.5  $\mu\text{L}$  样品与 0.5  $\mu\text{L}$  SA 基质（浓度为 20 mg/mL），按照“三明治”法点靶（点靶顺序为：基质 - 样品 - 基质），自然干燥后将靶板放入质谱进行分析。

## ■ 结果与讨论

### 2.1 疫苗标准品测试

疫苗质谱检测结果如图 2-4 所示，显示检测到了标准品中所有亚基，其中 A 与 B 亚基的信号峰强度接近 2:1，C 与 D 亚基的信号峰强度接近 1:1。检测到的分子量精确，与理论相符，质谱图信噪比良好。

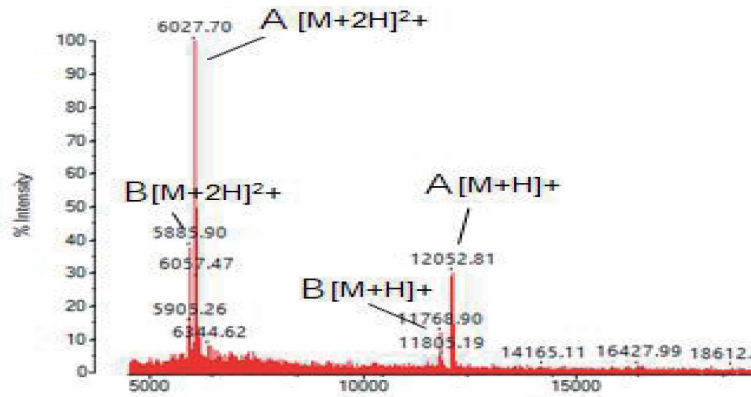


图2 MALDI-TOF检测标准品A, B亚基的一级质谱图

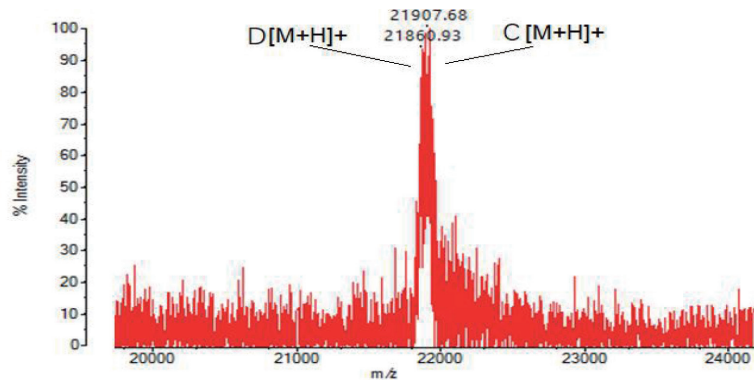


图3 MALDI-TOF检测标准品C, D亚基的一级质谱图

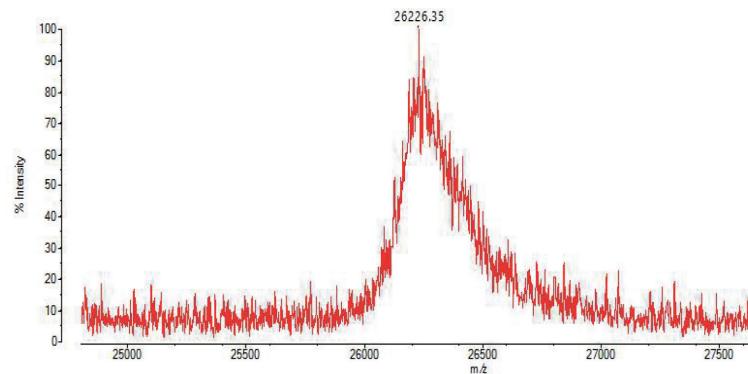


图4 MALDI-TOF检测标准品E亚基的一级质谱图

### 2.2 疫苗样品测试

将优化所得的 MALDI-TOF 方法用于疫苗样品亚基的测定（典型谱图如图 5-7），结果显示疫苗样品具有较好的亚基完整性。各亚基全部检测到，其中 A 与 B 亚基的信号峰强度接近 2:1，C 与 D 亚基的信号峰强度接近 1:1。该结果与疫苗样品的活性结果匹配。

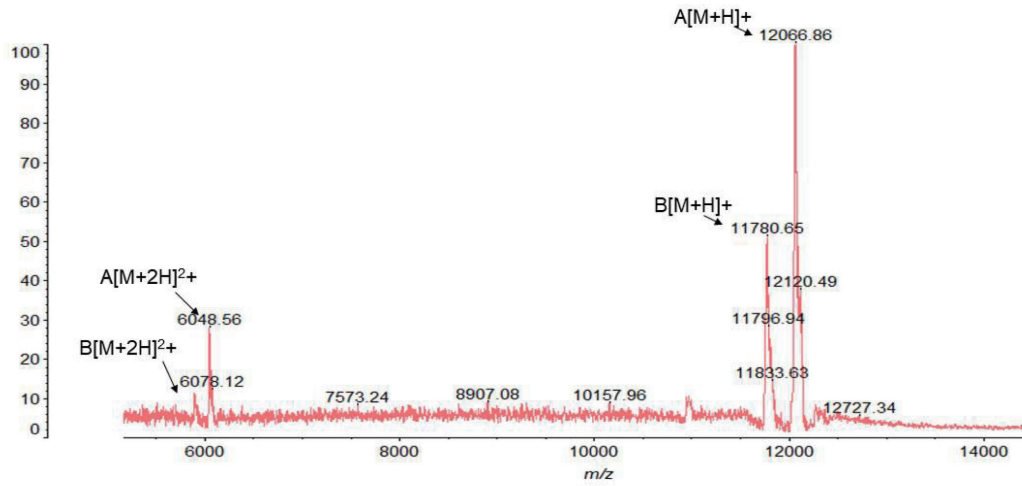


图5 MALDI-TOF检测样品A, B亚基的一级质谱图

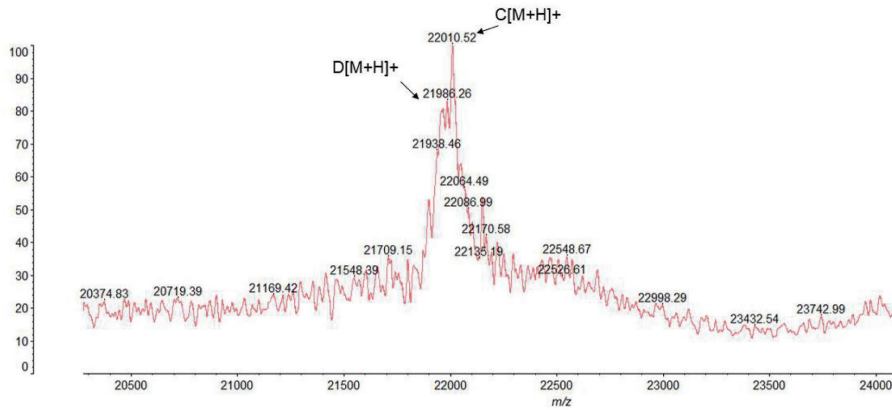


图6 MALDI-TOF检测样品C, D亚基的一级质谱图

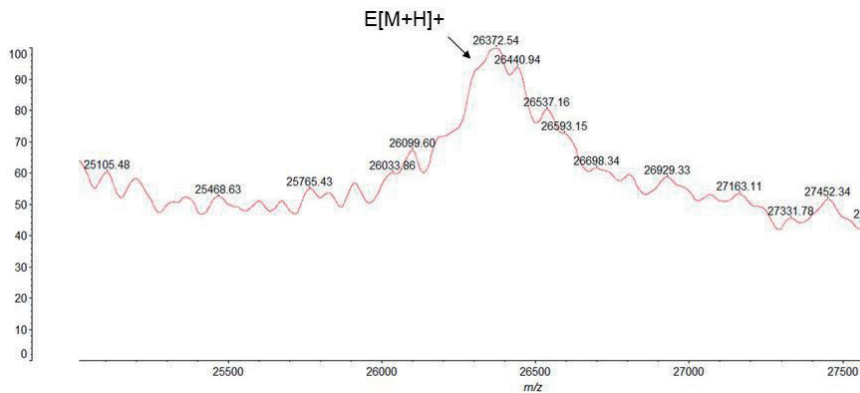


图7 MALDI-TOF检测样品E亚基的一级质谱图

检测结果表明，利用 MALDI-TOF 检测到了该疫苗的所有亚基，得到了样品单电荷离子、二电荷离子的分子量信息，结果与理论一致。

## ■ 结论

本文应用岛津基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱检测疫苗各亚基存在分布与比例，直接得到了样品单电荷离子、二电荷离子的分子量信息，结果与理论一致。基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱，分析速度快、仪器维护方便、性能卓越，是蛋白类疫苗亚基分析的有力工具。