

# 应用 MALDI-8030 负离子模式对 mRNA 酶法加帽反应产物进行定性分析

MALDI-036

**摘要：** 本文使用岛津双极性台式基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 MALDI-8030 对酶法加帽反应后 mRNA 加帽产物进行质谱分析，4 个 mRNA 样品均成功检出目标离子峰，并根据分子量推断出 mRNA 的加帽类型，与理论相符。分析过程具有前处理流程简单、分析成本低、结果准确可靠的特点。

**关键词：** 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 MALDI-TOF mRNA 加帽

## 技术特点：

- ❖ 使用性价比较高的台式 MALDI-TOF，无需复杂前处理，轻松实现寡核苷酸类样品的检测。
- ❖ 检测在负离子模式下进行，减少了盐加合物产生，谱图更简单且易于解析。

随着 COVID-19 在全球肆虐，mRNA 疫苗和疗法成为生物医药研发领域中的“新星”。mRNA 疫苗可将编码抗原的 mRNA 通过递送系统引入体内合成蛋白从而触发免疫应答。mRNA 疗法也逐渐用于多种疾病的治疗。然而，mRNA 需要递送至病患的靶向器官并有效生成蛋白质，才能发挥功能。

为保证 mRNA 的递送和蛋白质的有效生成，通常在构建体的 5' 端进行加上帽子结构。帽子结构，指在真核生物中转录后修饰形成的成熟 mRNA 在 5' 端的一个特殊结构。根据甲基化程度不同可形成 3 种类型的帽子：CAP 0 型、CAP 1 型和 CAP 2 型。

mRNA 工艺生产中通常采用酶法加帽和共转录加帽 2 种方式进行加帽。帽子结构可以防止 mRNA 的降解并促进 mRNA 的翻译。检测 mRNA 加帽率是 mRNA 生产工艺质量分析的关键指标。

MALDI-8030 是岛津 MALDI 家族最新型号台式机，极性双全，正负离子模式快速切换，领先的负离子模式分辨率，在核酸分析方面具有明显优势。本文应用 MALDI-8030 的负离子模式对酶法加帽 mRNA 产物进行了加帽类型定性分析，成功检出目标离子峰并推断出 mRNA 产物的加帽类型。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

双极性台式基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪 MALDI-8030。



图 1 岛津 MALDI-8030 质谱仪

## 1.2 试剂与样品

基质：3- 羟基 -2- 吡啶甲酸（3-HPA）。

样品：酶法加帽反应后的 mRNA 样品信息如表 1。

表 1 样品信息表

样品名称	理论加帽类型
样品 1	UNCAP
样品 2	CAP 0
样品 3	CAP 1
样品 4	CAP 0 和 CAP 1

## 1.3 分析条件

调谐模式：线性负离子模式

扫描范围：m/z 6000-10000

激光器：355 nm 固态激光器

激光能量：80-100

## ■ 样品前处理

将酶法加帽反应后的 mRNA 作为待分析的样品溶液。取 1  $\mu\text{L}$  样品溶液点样到靶板，自然晾干后，再取 1  $\mu\text{L}$  3-HPA（3-羟基-2-吡啶甲酸）基质溶液（浓度为 40 mg/mL）覆盖在样品上，自然晾干后将靶板送入仪器分析。

## ■ 结果与讨论

4 个 mRNA 样品包含的加帽类型有 3 种（UNCAP 型、CAP 0 型和 CAP 1 型），不同加帽类型对应的理论分子量不同，具体分子量信息如表 2。因此可根据质谱实测分子量的差异对不同的加帽类型进行区分。

表 2 不同加帽类型的理论分子量信息

加帽类型	理论分子量	[M-H] <sup>-</sup> 理论值
UNCAP	7883.71	7882.70
CAP 0	8165.98	8164.97
CAP 1	8179.98	8178.97

使用 MALDI-8030 对 4 个 mRNA 样品进行检测，样品的质谱分析结果汇总如表 3。质谱图见图 2- 图 5。样品 1 检测到目标离子峰 m/z 7882.25，对应表 2 中 UNCAP 型的 [M-H]<sup>-</sup> 离子峰。样品 2 检测到目标离子峰 m/z 8164.89，对应表 2 中 CAP 0 型的 [M-H]<sup>-</sup> 离子峰。样品 3 检测到目标离子峰 m/z 8178.35，对应表 2 中 CAP 1 型的 [M-H]<sup>-</sup> 离子峰。样品 4 检测到 2 个目标离子峰 m/z 8164.86 和 m/z 8178.64，分别对应表 2 中 CAP 0 型和 CAP 1 型的 [M-H]<sup>-</sup> 离子峰。4 个样品加帽类型分析结果均与理论值（表 1）相符。

此外，样品 3 和样品 4 除目标峰外，还分别检测到 m/z 7807.55、m/z 7807.99 离子峰，可能为 mRNA 酶法加帽反应过程中产生的中间产物。

表 3 mRNA 样品质谱分析结果

样品名称	目标峰实测值	加帽形式推断结果
样品 1	7882.25	UNCAP
样品 2	8164.89	CAP 0
样品 3	8178.35	CAP 1
样品 4	8164.86 和 8178.64	CAP 0 和 CAP 1

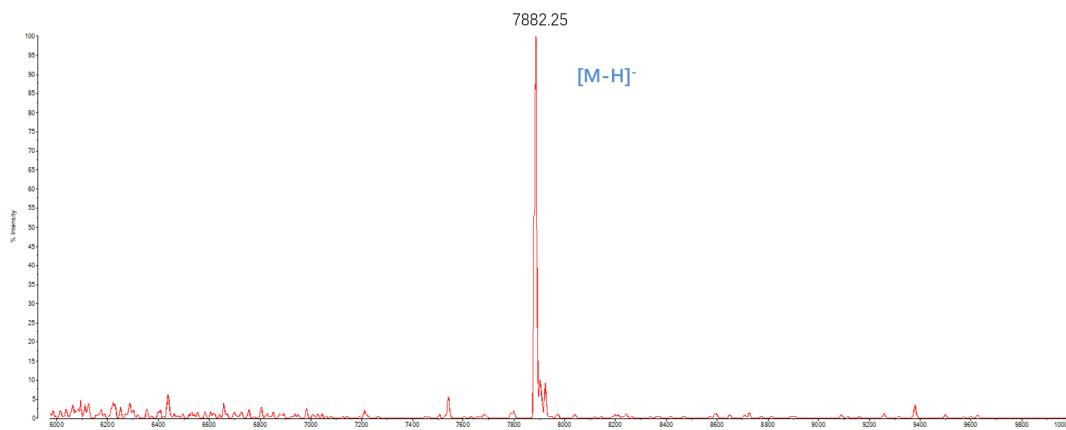


图 2 mRNA 样品 1 质谱图

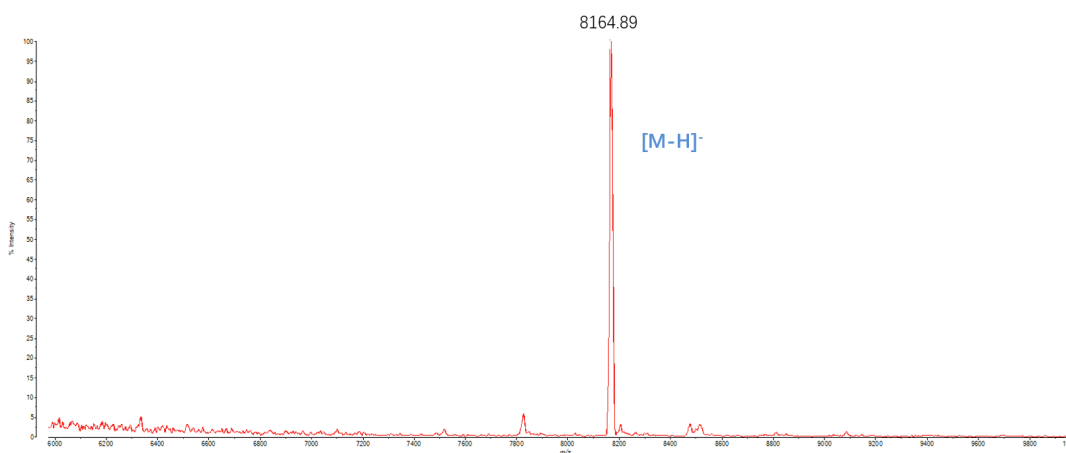


图 3 mRNA 样品 2 质谱图

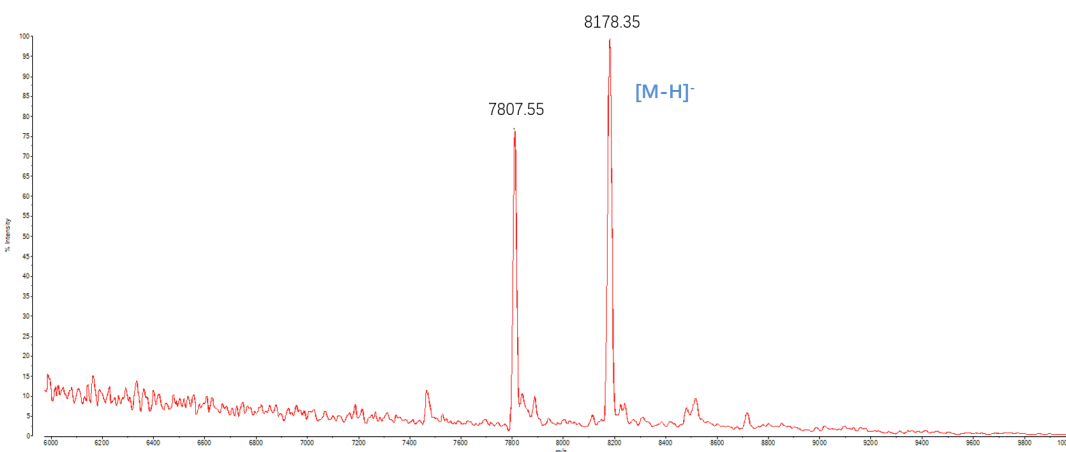


图 4 mRNA 样品 3 质谱图

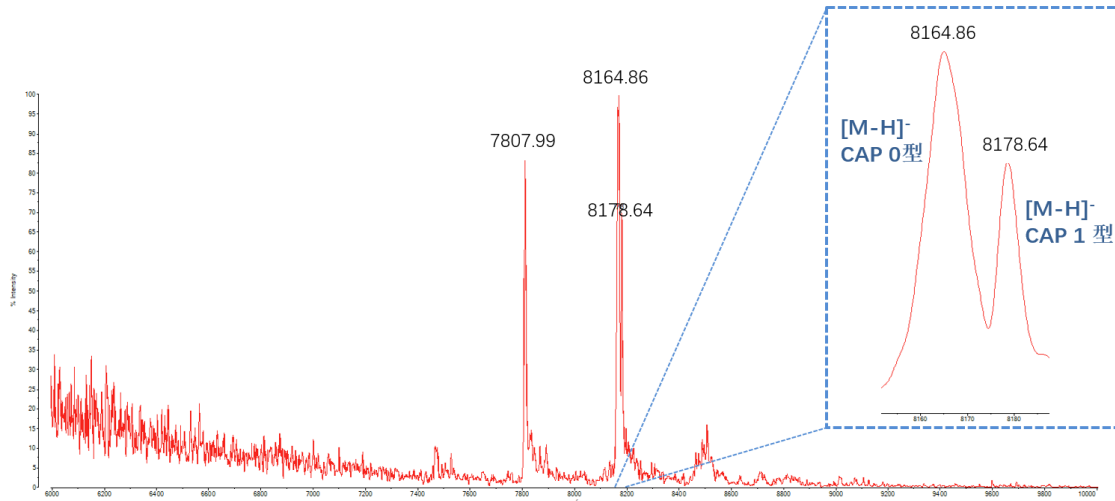


图5 mRNA 样品 4 质谱图

## ■ 结论

本文使用双极性台式基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 MALDI-8030 对酶法加帽反应后 mRNA 加帽产物进行定性分析,可直接检测到目标离子峰并根据分子量推断出 mRNA 加帽类型。本方法简便快捷、结果准确可靠,为 mRNA 生产制造过程中的加帽分析提供一种新的思路,为 mRNA 疫苗和 mRNA 药物的生产质量控制提供方法参考。

岛津应用云

