

# 用 nanoCOLLECT 进行 LC-MALDI 靶点样和微组分收集

S. Pötsch<sup>1</sup> and T. Naven<sup>2</sup>

GE Healthcare,<sup>1</sup>Munich, Germany and<sup>2</sup>Pollards Wood, Chalfont St Giles, UK

nanoCOLLECT 作为 LC-MALDI 工作流程的一部分，主要用于将纳升级 LC 多肽分离的洗脱物点样于 MALDI 靶上。多肽的收集与点样精确、可重复性强，从而有利于通过 MALDI-MS/MS 进行自动鉴定。

## 引言

随着 LC 分离效率的日益提高，诸如应用 Ettan™ MDLC 和 Ettan nanoLC，以及高效 MS/MS 串联质谱的出现，在很多实验室，LC-MS/MS 技术已成为蛋白组研究的常规应用技术，甚至优于 MALDI-ToF 质谱技术，成为蛋白质鉴定的常规手段。此外，随着 MALDI MS/MS 设备的问世，肽质量指纹谱 (peptide mass fingerprinting) 以及高通量、高灵敏度和高分辨率的序列分析技术成为可能，因而，越来越需要将高灵敏度纳升级 LC 技术和 MALDI MS/MS 设备结合起来以用于常规蛋白质分析 (LC-MALDI)。

LC 和 MALDI 的离线 (offline) 耦合与在线 (Online) 电喷雾电离 (ESI) 相比具有明显的优势：

- > 可以将样品固定于 MALDI 靶，有利于较长时间的数据收集和随时对样品重新分析，消除了 LC 尺寸的限制
- > 可以保存样品
- > 将 LC 和 MS 系统分开，使二者的性能都能得到优化
- > 易于分离同量异序多肽 (表观分子量相同的多肽)，这些肽可能有不同的疏水性，因此，可以通过 LC 分离
- > 在蛋白鉴定中，提高序列覆盖度增大可信度

然而，离线 LC-MALDI 需要有效的自动点样系统，能够高度精确定位和可重复地输送由纳升级色谱生成的低纳升体积，nanoCOLLECT 就是为此而设计。

本文描述了应用 nanoCOLLECT 系统在 MALDI 靶上精确、可重复地点样并作为 Ettan 色谱系统流程 (图 1) 的一部分，微量收集来自亚毫米柱的样品。该 LC 工作流程也包括进行多肽分离的 Ettan MDLC 和 Ettan nanoLC。

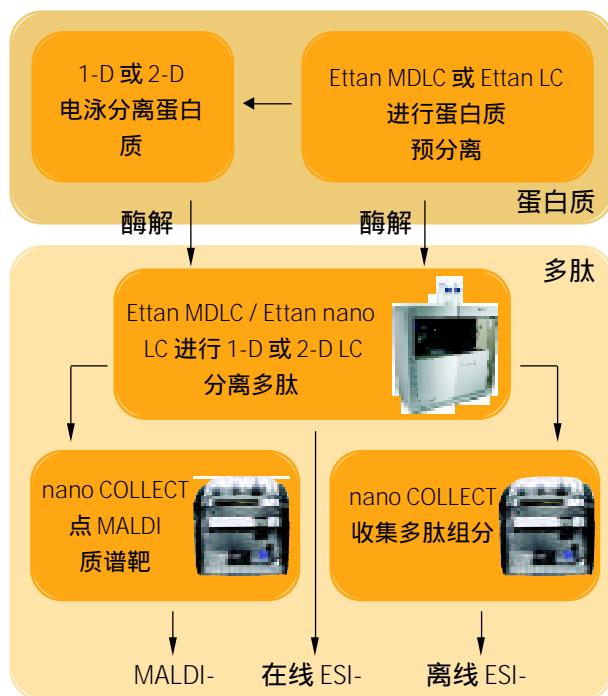


图 1. Ettan 色谱系统工作流程。

## 方法

**LC 系统:** Ettan MDLC  
**流动相:** A: 0.1% TFA, B: 84% 乙腈 / 0.1% TFA  
**梯度:** 48 分钟内从 0 到 56%  
**流速:** 250 nl/min  
**色谱柱:** 离子交换 (IEX): BioBasic™ SCX, 2.1 × 250mm (Thermo Electron), 反向 (RPC) trap 柱: Zorbax™ 300 SB C18, 0.3 × 5 mm (Agilent) RPC 分析柱: Zorbax 300 SB C18, 0.075 × 150 mm (Agilent)  
**样品:** leech Hirudo medicinalis 的唾液腺提取物  
**点样装置:** nanoCOLLECT, 每 15 秒收集一次组分, 持续 45 分钟  
**基质:** CHCA (LaserBio Labs), 3 mg/ml 溶于 70% 乙腈 (250 µl syringe) / 0.1% TFA; syringe 泵 1 µl/min  
**MS 靶:** scoutMTP™ MALDI 靶 (Bruker Daltonics)  
**MS:** Ultraflex™ I TOF/TOF (Bruker Daltonics)  
**蛋白 ID:** Mascot™ software (1) (Matrix Science)

## 结果

用 Ettan MDLC 离线方法, 通过 IEX 分离收集从 leech *Hirudo medicinalis* 获得的多肽提取物 (1-3kDa)。取其中一个组分, 用 Ettan MDLC 高通量方法经一个分析 RPC 柱分离, 然后在 MALDI 靶上点样。图 2 显示多肽的分离效果很好, 在 UltraflexI TOF/TOF MALDI 质谱分析仪上可以很容易的鉴别该多肽 (图 3)。

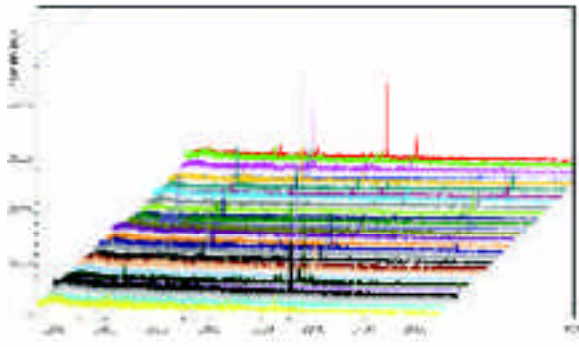


图 2. leech *Hirudo medicinalis* 唾液腺提取物 Ettan MDLC 组分的 MALDI 质谱图。

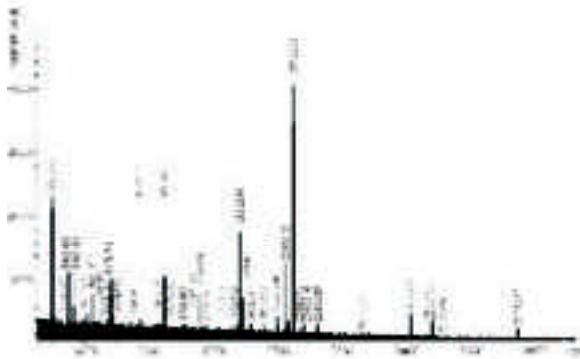


图 3. 图 2 中 28 个 MALDI 质谱分离物的重叠和鉴别。图中显示出位于 1-3 kD 范围多肽的分子质量分布。

## 结论

nanoCOLLECT 是一种用户友好、灵活、生物兼容的设备, 能够进行精确快速的 LC-MALDI 靶点样和微组分收集。MALDI 靶点样功能可以进行高效 MALDI MS 数据采集, 支持多种 MALDI 靶形式。nanoCOLLECT 扩大了蛋白质组学工作流程中的 Ettan 色谱系统的使用范围。

## 致谢

作者非常感谢巴塞罗那大学的 Bronsoms i Fabrellas 博士提供了 *Hirudo medicinalis* 多肽提取物。

## 参考文献

1. Perkins, D. N. et al. Probability-based protein identification by searching sequence databases using mass spectrometry data. *Electrophoresis* 20, 3551-3567 (1999).

## 订购信息

产品	货号
nanoCOLLECT	28-4037-41
Matrix Delivery Pump	28-4037-42
Ettan MDLC	18-1176-44
	11-0008-41
Ettan nanoLC	28-4039-36