

使用 Agilent 6550 Q-TOF 质谱仪 进行完整蛋白质分析

应用简报

作者

Ravindra Gudihal 与 Suresh Babu CV
安捷伦科技公司 (印度)
Bangalore India

Ning Tang
安捷伦科技公司
Santa Clara, CA USA

Madhavi H.N. 和 Uma Maheswari
GangaGen Biotechnologies Pvt. Ltd
Bangalore, India

前言

生物制药行业已将 LC/MS 广泛应用于治疗性蛋白质的分子量确定。这种方法快速、准确，可实现相对定量。准确的质量测量有助于确定预期的翻译后修饰 (PTM) 是否表达为正确的蛋白质序列，其还提供了同一样品中不同蛋白质或 PTM 的相对丰度。高分离度和高灵敏度质谱仪有利于这一分析的进行。本应用简报介绍了一种使用 Agilent 6550 Q-TOF 质谱仪进行的完整蛋白质分析。



Agilent Technologies

实验部分

样品

分别用 0.1% 甲酸 (FA) 的 3% 乙腈 (ACN) 溶液和 96.9% 水溶液将单克隆抗体 (mAb) 稀释到 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。进样量为 1 μL (100 ng)。纯化蛋白质样品 (P128) 购自 GangaGen Biotechnologies Pvt. Ltd, 溶于 0.025% 三氟乙酸 (TFA) 的 3% 乙腈 (ACN) 溶液和 96.9% 水溶液中进行分析。

仪器

液相色谱系统

Agilent 1290 Infinity 液相色谱系统

质谱系统

配有安捷伦喷射流离子源的 Agilent 6550 iFunnel Q-TOF

结果与讨论

蛋白质在电喷雾电离过程中会产生多电荷离子。单克隆抗体等大分子蛋白质具有如图 1 所示的电荷分布包迹。范围中心为电荷 48。图中可以看到多个谱峰，它们表示 mAb 上连接的不同糖型。使用 Agilent MassHunter BioConfirm 软件中的峰建模解卷积算法对质谱图进行解卷积。这种算法将多电荷质谱转换为零电荷质谱。图 2 显示了结果。

LC/MS 参数

参数	Agilent 1290 液相色谱系统
色谱柱	Agilent Poroshell 300SB C8 1.0 \times 75 mm, 5 μm 或 Agilent ZORBAX RRHD 300 Diphenyl, 2.1 \times 100 mm, 1.8 μm (部件号 858750-944)
柱温	80 $^{\circ}\text{C}$ 或 60 $^{\circ}\text{C}$
样品恒温箱	5 $^{\circ}\text{C}$
流动相 A	0.1% 甲酸水溶液或 0.025% TFA 水溶液
流动相 B	0.1% 甲酸的 90% 乙腈水溶液
梯度	0-1 min 内 B 为 3% 1-5 min 内 B 由 3% 升至 90% 5-6 min 内 B 为 90% 6-7 min 内 B 为 3%
停止时间	7 分钟
流速	0.4 mL/min
电离模式	正离子模式, ESI (Profile)
干燥气温度	290 $^{\circ}\text{C}$
干燥气流速	14 L/min
鞘气温度	400 $^{\circ}\text{C}$
鞘气流速	12 L/min
雾化器压力	20 psi
毛细管电压	5000 V
喷嘴电压	2000 V
数据分析	LC/MS 的数据采用 Agilent MassHunter 定性分析软件 B.06 及 Agilent MassHunter BioConfirm 软件 B.06 进行分析

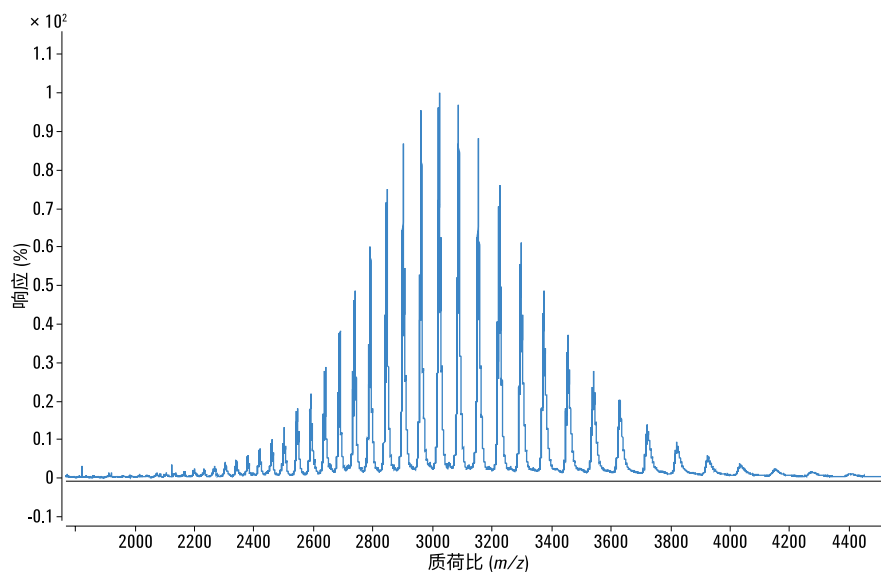


图 1. 完整 mAb 电荷分布包迹的 LC/MS 原始数据

这种 mAb 中观察到五种主要糖型。图 3 和图 4 显示了治疗性蛋白质 P128 (分子量为 26490 Da) 的另一个示例。

结论

- 研究证明, 使用 Agilent 1290 Infinity 液相色谱系统结合 Agilent 6550 iFunnel Q-TOF 可对治疗性蛋白质进行分析
- 在完整蛋白质分析中, Agilent 1290 Infinity 液相色谱系统表现出快速且卓越的分离能力, Agilent 6550 iFunnel Q-TOF 则具有极佳的分辨率和灵敏度
- Agilent MassHunter BioConfirm 软件可实现自动化的数据提取、解卷积和蛋白质确认

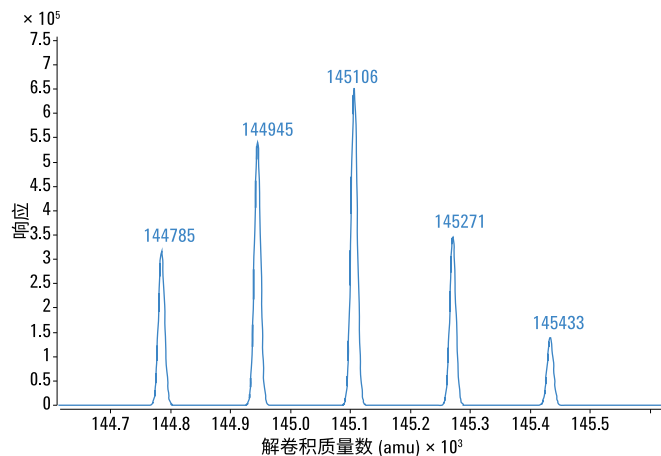


图 2. 完整 mAb 的解卷积质谱图。主峰代表 mAb 上的主要糖型

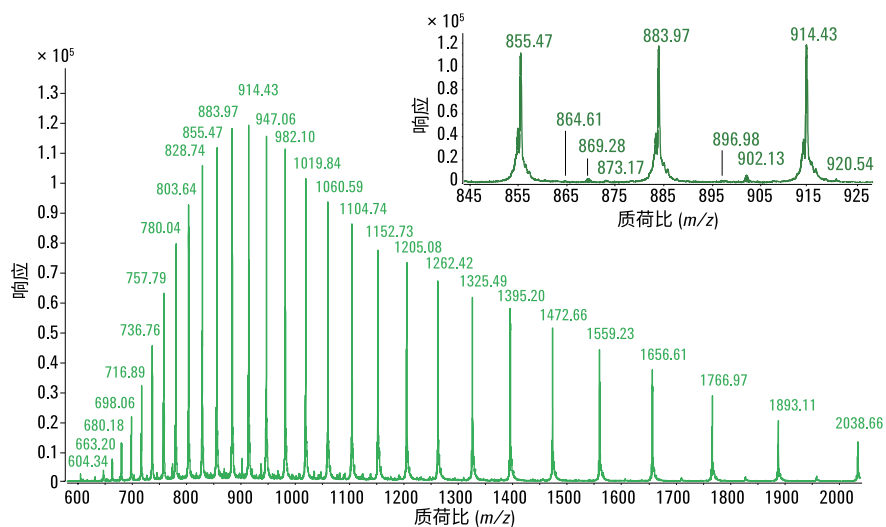


图 3. P128 电荷分布包迹的 LC/MS 原始数据, 插图为 P128 电荷状态的放大图

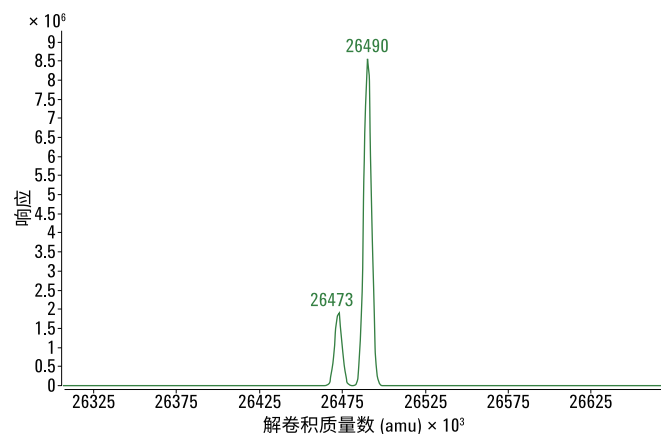


图 4. P128 的解卷积质谱图

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2013

2013年3月29日，中国出版

5991-2116CHCN



Agilent Technologies