

基于电感耦合等离子体质谱的生物分析

王秋泉

(厦门大学化学系, 谱学分析与仪器教育部重点实验室, 福建 厦门 361005)



王秋泉: 教授, 博士生导师。1998年于日本群馬大学获得工学博士学位。担任 Anal. Sci. 副主编(2010—2011)、Anal. Bioanal. Chem. 国际顾问委员会委员、《科学通报》编委、《环境化学》编委、《分析化学》编委、《分析科学学报》编委; 中国仪器仪表学会原子光谱分析专业委员会副主任委员兼秘书长、中国稀土学会理化检验委员会委员兼秘书。研究兴趣为原子光谱/质谱分析和色谱与分离科学。主要应用色谱/电泳-光谱/质谱联用技术开展复杂环境和生物体系中关键元素和分子的分析方法学、持久性有毒污染物质的生物富集、分离和检测研究, 关注相关的“迁移转化”、“生物可利用性/毒性”、“污染环境的生物修复机制”; 发展化学选择性和生物专一性元素标记策略, 开展金属组学和定量蛋白质组学研究。

生命过程的正常运行离不开神秘但精致的生物机制调控, 她就像一架庞大且精准的机器控制着生命的孕育、生长和死亡。这极为精致的生物机制吸引了无数科学家去尝试揭开她的神秘面纱。所幸的是, 伴随着科学家从生物学、物理学和化学等不同角度的不懈探索, 她的芳容已可见一斑。在分子和细胞水平上, 科学家们以生物遗传(基因组学等)和蛋白质功能(蛋白质组学和金属组学等等)为研究目标的系统研究离不开各种工具的研制和集成各种工具的方法学研究, 这些科学工具和匠心独运的方法学在探索生命机制的研究过程中发挥了不可或缺的重要作用。以构建集成科学工具的分析平台并发展与平台相应的方法学为基础的生物分析为理解生物机制的执行过程提供了准确的情报信息。

生物体系的复杂性和动态变化的特点对生物分析提出了严峻的挑战, 同时也促使科学家发展基于不同检测原理的谱学分析技术并应用于生物分析中, 这极大地推进了探索生命过程和理解生物机制的进程。色谱-质谱联用技术是目前生物分析中应用广泛的典范之一。以蛋白质分析为例, 受益于各种方法学的发展, 色谱-质谱联用技术提供了蛋白质的组成、结构和含量信息, 在发现和鉴定新的功能蛋白质分子等方面发挥着不可替代的作用。电感耦合等离子体质谱(inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS)是质谱大家庭中的一员。基于 ICP 的强电离能力(硬离子源), 它以元素/同位素分析见长, 是目前最为准确的元素/同位素分析工具; 当与色谱/电泳等分离技术相结合时, 它又是元素形态分析的高效工具。更为重要的是, 近年来它被逐渐地拓展到生物分子和细胞定量分析领域。组成蛋白质的氨基酸及其后修饰基团特殊的化学组成结构(见图 1)和蛋白酶与其受体间的特异性相互作用(见图 2)为发展相应的元素/同位素化学选择性和生物特异性标记策略提供了可能性。蛋白质分子中这些 ICP-MS 可检测元素和可元素/同位素标记的基团数目以及蛋白酶分子与其受体间相互作用的特定化学计量关系是蛋白质 ICP-MS 定量的基础(见图 2), 与同位素稀释技术相结合, ICP-MS 可以实现蛋白质的绝对定量分析^[1]。由于肿瘤细胞表面会过表达某些蛋白质分子, 针对这些蛋白质分子设计合成元素标记的靶向多肽可以实现肿瘤细胞的 ICP-MS 计数^[2](见图 3); 利用 DNA 分子间的碱基互配原理设计元素标记的报告 DNA 并结合滚环扩增(rolling circle amplification, RCA)信号放大技术, ICP-MS 又可实现目标 DNA 和病毒的超高灵敏定量分析^[3,4](见图 4)。

基金项目: 国家自然科学基金项目(21035006, 21275120); 国家基础研究计划“973”项目(2014CB932004)。

收稿日期: 2013-11-15

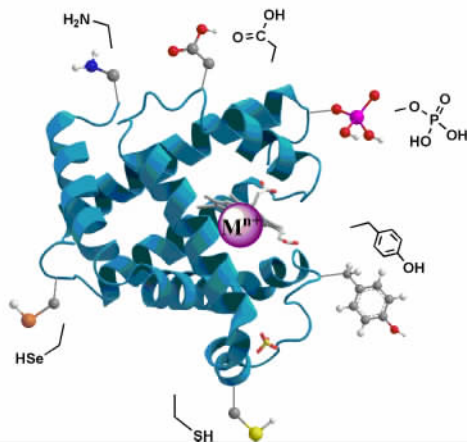


图 1 蛋白质分子中 ICP-MS 可检测的元素和可元素标记的化学基团^[1]

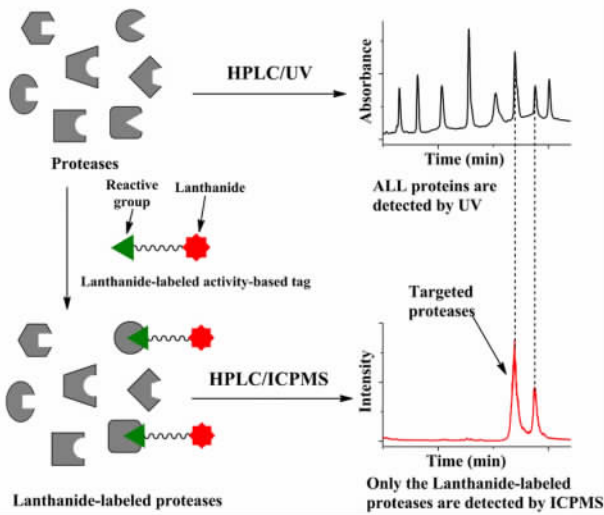


图 2 蛋白酶分子与其受体间的特异性相互作用和基于元素/同位素标记策略的 ICP-MS 定量分析^[1]

化学选择性和生物特异性元素标记策略的发展使原本擅长于元素分析的 ICP-MS 也能胜任蛋白

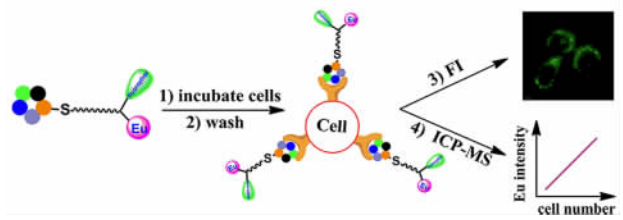


图 3 肿瘤细胞的 ICP-MS 计数^[2]

质、DNA、病毒和肿瘤细胞的高灵敏定量分析(LOD 达到 pmol~fmol 甚至 zmol 水平)。由于 ICP 是一个非常硬的离子源,元素标记的生物分子和细胞在其离子化过程中转变成所标记元素的离子,且离子化效率几乎不受生物分子组成和形态或细胞种类的影响。这一特点使 ICP-MS 在生物分子(蛋白质)或细胞定量分析时仅仅使用所标记元素/同位素的简单化合物进行校准即可,而不必像软电离源生物质谱(基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(ESI/MALDI-MS))定量蛋白质时必须使用合成/定制的目标蛋白质的特征同位素多肽作为内标^[5],从而极大地简化了蛋白质定量的步骤、降低了分析成本。必须指出的是,也正是 ICP-MS 的这一特性使生物分子的结构信息在 ICP 离子化过程中全部丢失。这对已知蛋白质的 ICP-MS 定量没有问题,但是对未知蛋白质的定量却存在着不确定性;当仅用一种元素对众多蛋白质进行标记时,必须对目标蛋白质进行色谱/电泳分离^[6,7]。幸运的是,生物特异性元素标记策略可以很好地解决这一问题;不仅如此,使用多元素/同位素对不同生物分子或不同种类细胞进行标记时,ICP-MS 还可实现多种生物分子的同时定量分析^[8,9]。

我们已经知道,ESI/MALDI-MS 在生物分子结

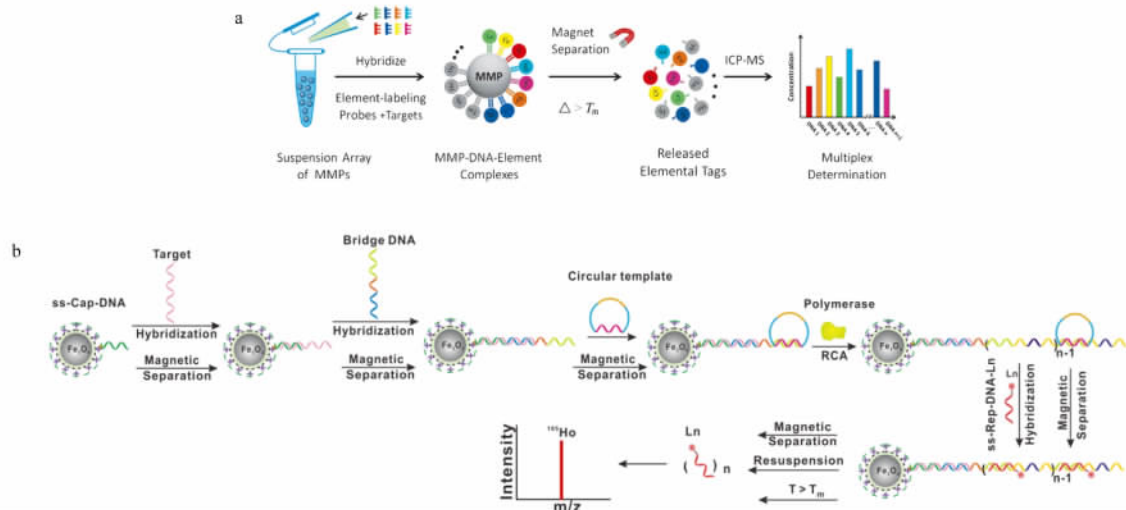


图 4 基于 ICP-MS 和脱氧核糖核酸(DNA)碱基互配规则与滚环扩增(RCA)的 DNA 和病毒定量分析^[3,4]

构鉴定方面的优势是 ICP-MS 无法匹敌的;另一方面,针对生物分子的定量分析,ICP-MS 因化学选择性和生物特异性元素标记策略的发展而极具优势。它们的联合使用必将为生物分析(特别是定量蛋白质组学和金属组学研究)提供解决问题的新途径,这时我们需要一个化学集成器(chemical hub)针对目标生物分子或细胞正交集成运用 ESI/MALDI-MS 和 ICP-MS 而不是简单地物理平行使用,使得 ICP-MS 知道定量的是何种生物分子或细胞^[10],这对未知生物分子或细胞的发现和绝对定量十分重要。

致谢:感谢梁勇和刘创基同学在完成本文过程中收集资料和有益的讨论。

参考文献:

- [1] Yan X W, Yang L M, Wang Q Q. *Anal Bioanal Chem*, 2013, 405: 5663
- [2] Zhang Z B, Luo Q, Yan X W, et al. *Anal Chem*, 2012, 84: 8946
- [3] Han G J, Zhang S C, Xing Z, et al. *Angew Chem Int Ed*, 2013, 52: 1466
- [4] Luo Y C, Yan X W, Huang Y S, et al. *Anal Chem*, 2013, 85: 9428
- [5] Hebert A S, Merrill A E, Bailey D J, et al. *Nat Methods*, 2013, 10: 332
- [6] Yan X W, Xu M, Yang L M, et al. *Anal Chem*, 2010, 82: 1261
- [7] Xu M, Yan X W, Xie Q Q, et al. *Anal Chem*, 2010, 82: 1616
- [8] Yan X W, Yang L M, Wang Q Q. *Angew Chem Int Ed*, 2011, 50: 5130
- [9] Yan X W, Luo Y C, Zhang Z B, et al. *Angew Chem Int Ed*, 2012, 51: 3358
- [10] Yan X W, Li Z X, Liang Y, et al. *Chem Commun*, in submission