

# 自制纳升液相一体柱在蛋白组学中的应用

万建<sup>1</sup>, 刘珂<sup>1</sup>, 阮君<sup>1</sup>, 张迪<sup>1</sup>, 李兵<sup>1</sup>

(华中师范大学生命科学学院, 湖北武汉 430079)

**摘要:** 通过技术攻关开发一套自制纳升液相一体柱填充制备流程, 可根据实验需求灵活选择内径、填料种类、填料粒径、填充长度等参数, 通过一体柱直连溶液端加电的模式完成点喷雾离子化, 避免了金属喷针的使用, 极大降低使用成本的同时提高离子化效率。广泛应用于基于液相色谱质谱联用系统的蛋白组学研究中, 包括样品全蛋白组学鉴定, 非变性质谱对蛋白互作的鉴定等领域。在精密科研仪器加速国产化, 避免“卡脖子”的背景下, 与仪器配套的耗材与应用场景的研发有利于推动全产业链的国产化, 加速我国科研仪器的自主独立。

**关键词:** 纳升液相一体柱; 大型仪器; 蛋白组学

**文章分类号:** G64 Q7

**文献标识码:** A

## The application of self-made nano liquid column in proteomics

Wan Jian<sup>1</sup>, Liu Ke<sup>1</sup>, Zhou Quan<sup>1</sup>, Ruan Jun<sup>1</sup>, Zhang di<sup>1</sup>, Li Bing<sup>1</sup>

(College of life Science, Central China Normal University, Wuhan 430079, China)

**Abstract:** A set of self-made filling preparation process for nano liquid phase monolithic column was developed through technical research. Parameters such as inner diameter, packing type, packing particle size and filling length can be flexibly selected according to the experimental requirements. Point spray ionization can be completed through the mode of direct connection to the solution end of the monolithic column, avoiding the use of metal spray needle, greatly reducing the use cost and improving the ionization efficiency. It is widely used in proteomic studies based on liquid chromatography mass spectrometry system, including the identification of total proteomic samples and the identification of protein interactions by nonvariable property spectrometry. Under the background of accelerating the localization of precision scientific research instruments and avoiding the "cutthroat competition", the research and development of consumables and application scenarios supporting the instruments is conducive to promoting the localization of the whole industrial system and accelerating the independence of China's scientific research instruments.

**Key words:** Nano liquid phase integrated column; Large instruments; proteomics

## 1 引言

生理条件下,功能蛋白质为动态实体状态,几乎所有的生命活动调控都有蛋白质与蛋白质相互作用(PPIs)蛋白质与配体相互作用(PLIs)的参与[1]。阐明蛋白质同其他分子之间的相互作用机理有助于我们更好的理解生命活动的机理。随着实验技术的不断发展,液相色谱质谱联用仪在生物大分子的定性定量分析以及蛋白与蛋白互作鉴定方面的通量与精度不断提升,在蛋白组学、代谢组学中发挥着越来越重要的作用[2]。

液相色谱质谱联用仪为大型仪器,一般为进口设备价格昂贵,而与之配套的耗材大部分依赖进口,货期较长且定价较高,对于科学研究过程中对实验前处理体系探索带来较高的实验成本,且很难对核心耗材依据实验需求进行个性化定制。基于此需求,结合现有文献资料,对液相色谱质谱联用系统中的核心耗材纳升液相色谱柱进行自制,且可根据实际实验需求,对色谱柱的柱长、内径、填料类型、填料粒径进行个性化定制。同时通过一些列技术及条件优化,极大降低纳升液相色谱柱的制备成本。目前已广泛用于基于液相色谱质谱联用技术的蛋白组学研究中。

## 2 纳升一体柱填充技术

目前蛋白组常用的离子源模式为电喷雾(ESI)离子化模式[3]。而使用内径小于1 $\mu\text{m}$ 的喷针针尖(也称纳米尺度离子喷针),通过减少ESI过程中缓冲液对蛋白质离子的吸附程度,可有效降低共价盐离子信号。利用激光拉针仪对硅酸盐毛细管柱进行柱尖控制,优化程序控制流程,创新采用四段化程序加温拉制流程,使拉制的柱尖稳定在5-10 $\mu\text{m}$ 。同时根据不同的实验需求,设计75 $\mu\text{m}$ 、100 $\mu\text{m}$ 、150 $\mu\text{m}$ 内径不同控制方式。结合混悬填充法,开发了一套梯度分压填充方法,该方法获批专利一项(专利号:ZL 2022 2 0942068)[4],申请专利一项(申请号:201911124668.6)。由于采用一体柱的控制方式,取消了传统商用柱连接过程中金属喷针的使用,进一步降低实验成本。同时对于柱尖的控制以及填充可以根据实际实验需求完成定制,扩展使用范围与使用类型。一体柱在液相色谱质谱联用系统中的连接方式见图1。