

使用SELECT SERIES™ Cyclic™ IMS分离神经节苷脂异构体

Giorgis Isaac, Hernando Olivos, Robert S. Plumb

Waters Corporation

仅供研究使用，不适用于诊断。

摘要

了解脂质在生物过程中的作用和功能对于开发新型健康和疾病状态生物标志物至关重要。由于神经节苷脂的寡糖链和神经酰胺部分的结构变化，使其具有复杂的化学性质，因此分子表征成为一项艰巨的任务。化学组成和分子构象的细微差异导致神经节苷脂的理化性质和生物学功能存在巨大差异。SELECT SERIES Cyclic IMS仪器特有的多圈功能可提高离子淌度分辨率。本文展示了GD1a (d18:1/18:0)和GD1b (d18:1/18:0)神经节苷脂异构体的完全分离，这些异构体需要的离子淌度分辨率达到 $145 \Omega/\Delta\Omega$ （五圈），只有采用SELECT SERIES Cyclic IMS的多圈功能才能实现。

优势

- SELECT SERIES Cyclic IMS能够完全分离过去无法区分的脂质异构体
- 提高离子淌度分辨率，尽可能增加峰容量并解决所有分析挑战
- 分析时间缩短至毫秒级，可提高通量

简介

神经节苷脂是由神经酰胺通过糖苷键与含有己糖、N-乙酰神经氨酸（NANA，酸性糖，也称为唾液酸）和N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)单元的寡糖链连接而成的鞘糖脂。它们的结构多样性源于糖残基的组成和序列差异（图1）。神经节苷脂最初是从大脑的神经节细胞中分离出来的，迄今为止已经发现了许多神经节苷脂，它们的区别主要在于糖残基的位置和数量。为完整描述这些脂质并了解它们的生物学作用和功能，需要对它们的同分异构现象进行表征。通过各种聚糖头部基团、长链碱基和实验测定的脂肪酰基，结合液相色谱法和串联质谱法，我们实现了神经节苷脂的分析¹。

虽然使用液相色谱法可以分离神经节苷脂异构体，但这种方法通常需要大量方法开发工作且分析时间较长。与液相色谱法不同，离子淌度法根据分析物的形状和电荷进行分离。分析物之间的分子相似性越高，分离挑战就越大。Waters SELECT SERIES Cyclic IMS在Tof-MS分析器前端采用高分辨率离子淌度(IM)分离，为分析物分离提供了一种正交机制^{2,3}。GD1a (d18:1/18:0)和GD1b (d18:1/18:0)的化学构型存在细微差别（基于图1所示的NANA序列），这导致它们的理化性质和生物学功能具有巨大差异。由于GD1a、GD1b和其他神经节苷脂异构体的结构相似性高，因此使用传统的脂质分析方法难以分离和鉴定。本文证明，使用多圈SELECT SERIES Cyclic离子淌度质谱仪可以提高IM分辨率，使GD1a和GD1b异构体（见图1）实现完全分离。

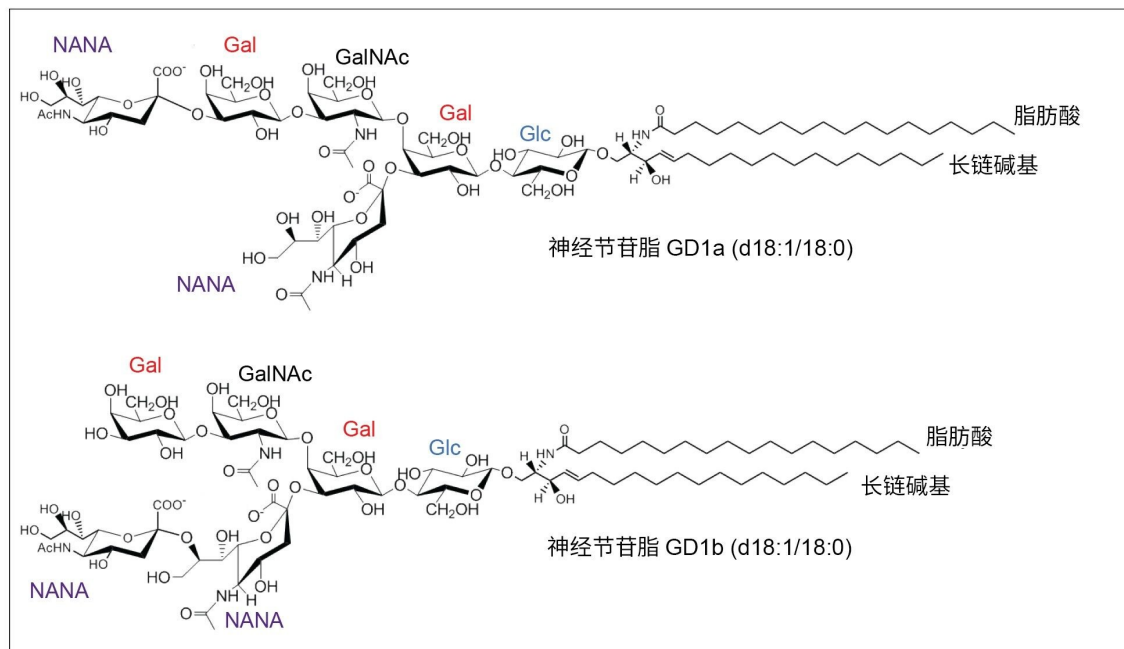


图1.神经节苷脂GD1a (d18:1/18:0)和GD1b (d18:1/18:0)的结构。它由神经酰胺通过糖苷键与含有葡萄糖(Glc)、半乳糖(Gal)、N-乙酰神经氨酸(NANA)和N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)单元的寡糖链连接而成。

实验

样品描述

猪脑的GD1a (d18:1/18:0) (部件号: 860055) 和GD1b (d18:1/18:0) (部件号: 860056) 神经节苷脂标准品从Avanti Polar Lipids获得, 形式为二铵盐粉末。用氯仿/甲醇(1/2)单独制备浓度为1 mg/mL的储备液。然后将这些标准品稀释为单独的纯标准品或用氯仿/甲醇(1/2)稀释为浓度1 ng/mL的1:1混合物, 以5 $\mu\text{L}/\text{min}$ 的流速注入SELECT SERIES Cyclic IMS的ESI源中。

方法条件

质谱条件

在捕集和转移碰撞能量较低的四极杆中, 选择 m/z 917.4875 $[\text{M}-2\text{H}]^{-2}$ 处的双电荷去质子化离子。将分离的离子转

移到环形离子淌度池中进行多圈通过。仪器上的“分离”设置根据所需圈数调整。

质谱系统： SELECT SERIES Cyclic IMS

电离模式： ESI-

采集范围： 50-2000 m/z

毛细管电压： 2 kV

锥孔电压： 30 V

捕集碰撞能量： 6 V

转移碰撞能量： 4 V

锥孔电压： 30 V

TW静态高度： 30 V

TW速度： 375 m/s

注样流速： 5 $\mu\text{L}/\text{min}$

数据管理

质谱软件： MassLynx™ 4.2

结果与讨论

将标准神经节苷脂混合物以5 $\mu\text{L}/\text{min}$ 的流速注入SELECT SERIES Cyclic IMS系统，在负离子ESI模式下监测。混合物在环形离子淌度池中进行1圈、2圈、3圈、4圈或5圈，如图2所示。图2A所示数据表明，在IMS池中进行一圈时（淌度分辨率为65 $\Omega/\Delta\Omega$ ），神经节苷脂异构体未分离，检测到的到达时间分布(ATD)集中在18.10 ms。仔细检查峰顶点显示存在非高斯分布曲线，表明存在两种物质。当在IMS池中的行进圈数增加至两圈（IMS分辨率约为90 $\Omega/\Delta\Omega$ ）时，峰宽显著增加，峰前端出现清晰的肩峰，到达时间为23.63 ms，而主峰的到达时间为24.14 ms。当在IMS池中的行进圈数增加至三圈（IMS分辨率约为110 $\Omega/\Delta\Omega$ ）时，可以明显看出存在两种物质，以80%的峰谷得到分离。增加到四圈（IMS分辨率约为130 $\Omega/\Delta\Omega$ ）时，可以看到两个清晰的峰几乎达到基线分离；增加到五圈（IMS分辨率约为145 $\Omega/\Delta\Omega$ ）时，GD1b (d18:1/18:0)与GD1a (d18:1/18:0)实现基线分离，ATD分别集中在41.22 ms和42.58 ms。SELECT SERIES Cyclic IMS系统的多圈可扩展特性提供了更高的IMS分辨率来应对特定挑战。

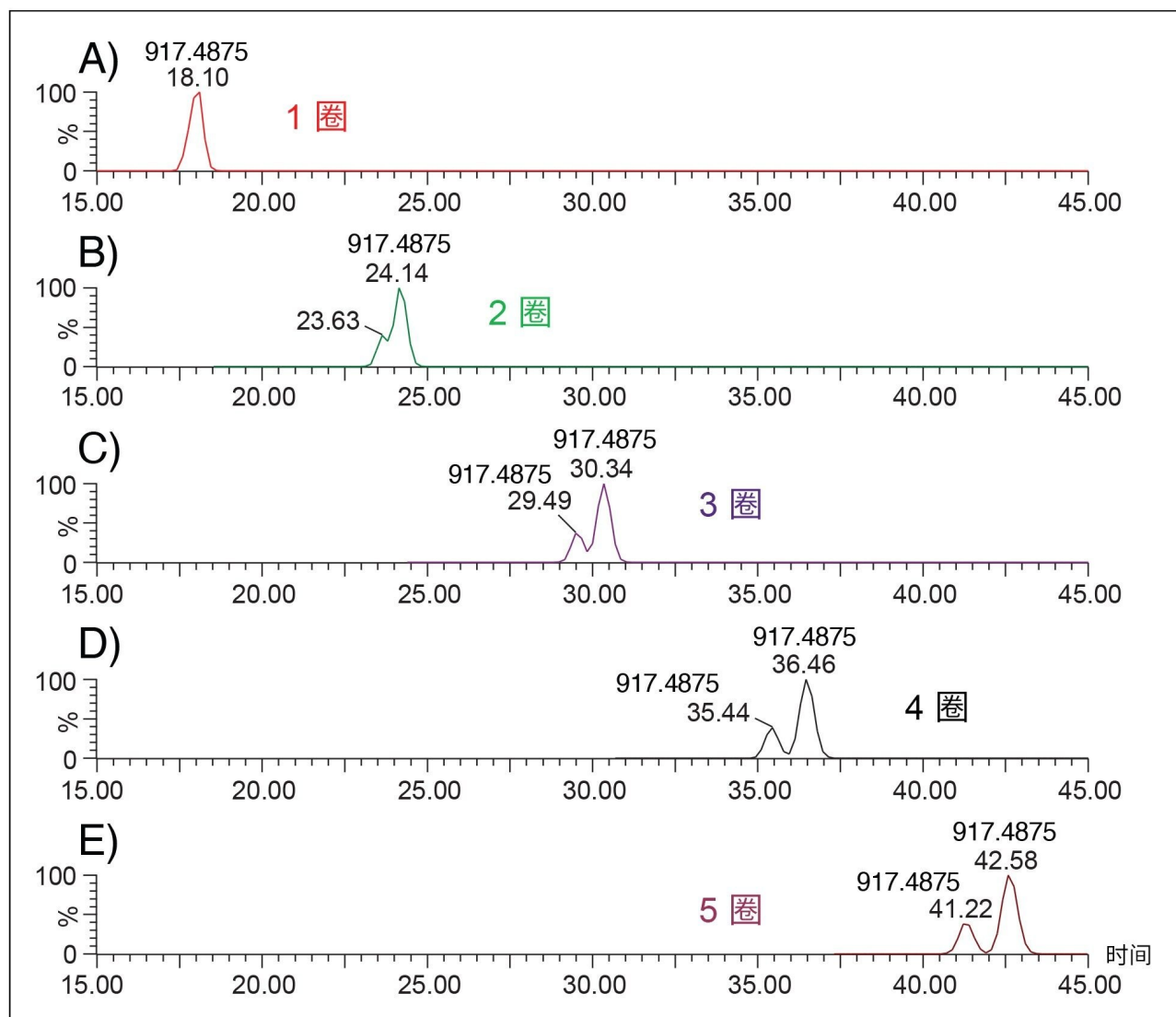


图2.使用离子淌度装置以(A) 1圈、(B) 2圈、(C) 3圈、(D) 4圈和(E) 5圈分离 m/z 917.488 $[M-2H]^{-2}$ 的GD1a (d18:1/18:0)和GD1b (d18:1/18:0)混合物所获得的达到时间分布

为确定GD1a (d18:1/18:0)和GD1b (d18:1/18:0)物质的到达顺序，将单个神经节苷脂及其等摩尔混合物分别引入SELECT SERIES Cyclic IMS系统，并在负离子ESI模式下在离子淌度池中进行五圈。所得数据见图3，神经节苷脂GD1a (d18:1/18:0)的ATD集中在42.67 ms (图3A)，而GD1b (d18:1/18:0)的ATD集中在41.39 ms (图3B)。这些单标的数据反映出神经节苷脂异构体混合物在IMS分辨率为 $145 \Omega/\Delta\Omega$ (5圈)时实现了基线分离。

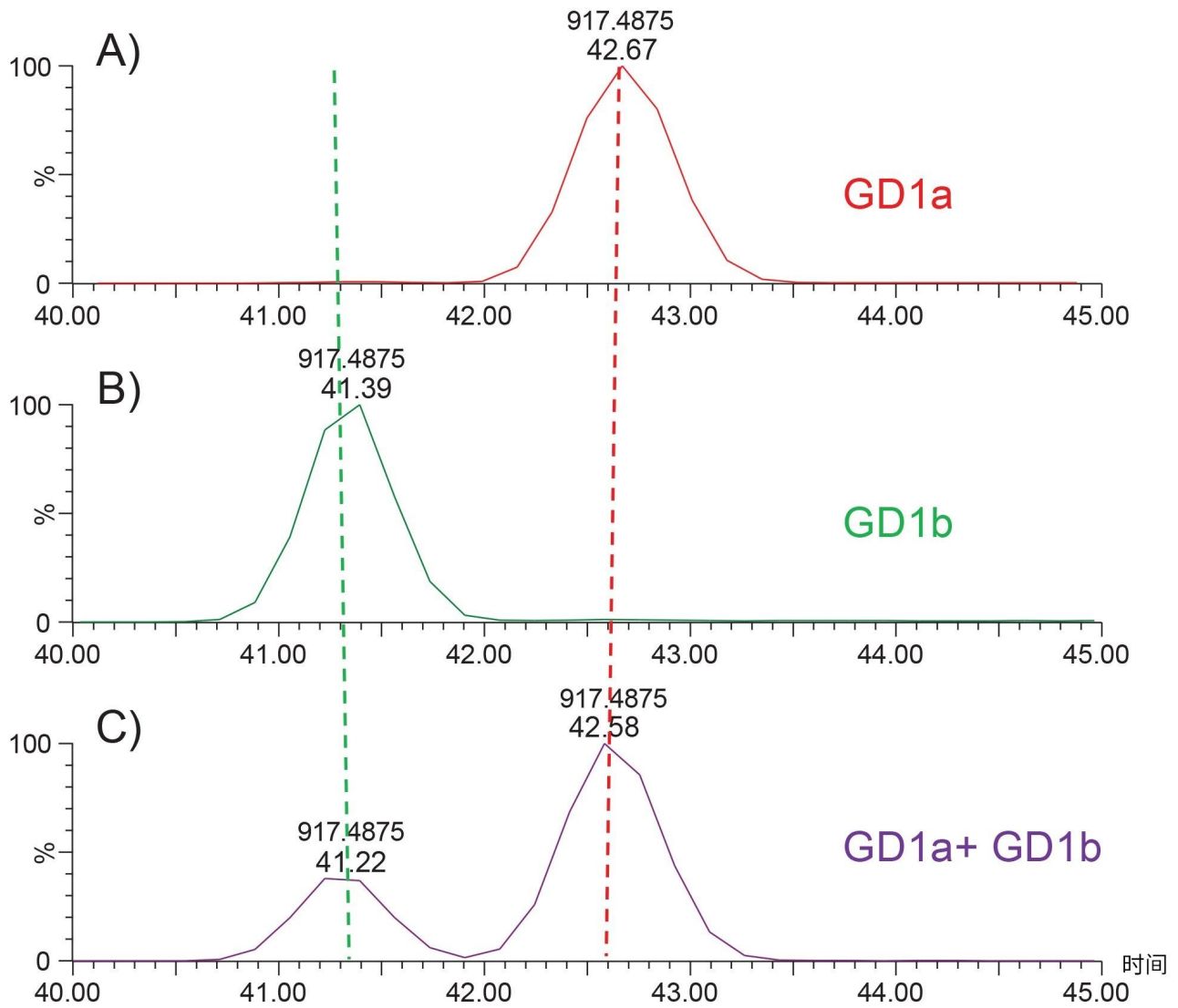


图3.使用离子淌度装置以五圈分别分离 m/z 917.488 $[M-2H]^{-2}$ 的(A) GD1a ($d18:1/18:0$)、(B) GD1b ($d18:1/18:0$)或(C)两种神经节苷脂异构体的等摩尔混合物所获得的达到时间分布

结论

正确鉴定脂质对于了解其生物学作用和意义至关重要。该仪器特有的多圈Cyclic IM功能可以提高离子淌度分辨率以应对特定挑战。使用SELECT SERIES Cyclic IMS的cIMS装置，通过行进5圈成功分离了两种神经节苷脂异构体

GD1a (d18:1/18:0)和GD1b (d18:1/18:0)，离子淌度分辨率为145 $\Omega/\Delta\Omega$ 。虽然要在IMS池行进五圈才能完全分离这两种脂质异构体，但这两种物质在行进三圈后已经清晰可见，并且在IMS池中行进四圈后已经得到80%的分离。这些数据说明了SELECT SERIES Cyclic IMS在脂质组学研究中检测和鉴定脂质异构体的能力。

参考资料

1. Li Z, Zhang Q. Ganglioside Isomer Analysis Using Ion Polarity Switching Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Anal Bioanal Chem.* 2021; 413: 3269–3279.
2. Giles K, Ujma J, Wildgoose J, Pringle S, Richardson K, Langridge D, Green M. A Cyclic Ion Mobility-Mass Spectrometry System. *Anal Chem.* 2019; 91: 8564–8573.
3. Ujma J, Ropartz D, Giles K, Richardson K, Langridge D, Wildgoose J, Green G, Pringle S. Cyclic Ion Mobility Mass Spectrometry Distinguishes Anomers and Open-Ring Forms of Pentasaccharides. *J Am Soc Mass Spectrom.* 2019; 30: 1028–1037.

特色产品

SELECT SERIES Cyclic IMS <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135021297>>

MassLynx MS软件 <<https://www.waters.com/513662>>

720007592ZH, 2022年4月

© 2022 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [网站地图](#) [招聘](#) [Cookie](#) [Cookie](#) [设置](#)

沪 ICP 备06003546号-2

京公网安备 31011502007476号