



# 基于SCIEX QTOF与Triple Quad液质联用系统的蛇毒特征肽段精准鉴定

## Precise Identification of Snake Venom Signature Peptides and Forensic Species Traceability Based on SCIEX QTOF and Triple Quad LC-MS/MS Systems

林葭<sup>1</sup>, 陈玉锬<sup>2</sup>, 程龙<sup>2</sup>, 杨总<sup>2</sup>, 刘冰洁<sup>2</sup>

Lin Jia<sup>1</sup>, Chen Yukun<sup>2</sup>, Cheng Long<sup>2</sup>, Yang Zong<sup>2</sup>, Liu Bingjie<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 福建省公安厅; <sup>2</sup> SCIEX中国应用支持中心

**Key words:** LC-MS/MS, Snake Venom, Proteomics

### 引言

毒蛇咬伤是全球范围内严重的公共卫生与公共安全问题,在我国南方地区尤为突出。公安法医工作中,疑似蛇毒中毒案件的定性及物种鉴定是证据链构建的关键环节。蛇毒为含有多种毒素蛋白与多肽的复杂混合物,成分因蛇种、地域及季节而异,传统基于牙痕、临床症状及免疫学的方法存在特异性差、易交叉干扰、无法区分近缘蛇种、无法适配微量降解检材等缺陷,难以满足司法精准定性与物种溯源的取证要求。

本文依托SCIEX质谱平台高灵敏定性检测能力,精准获取蛇毒蛋白特征肽段碎片离子信息,实现复杂法医基质中蛇毒毒素的精准定性与物种溯源,可有效支撑蛇毒类刑事案件的物证鉴定与司法举证,适配公安法医标准化、精准化的检验需求。该方案也可作为临床救治提供可靠依据:不同蛇种需要不同的抗蛇毒血清,特征肽段可作为“分子指纹”可用于快速识别致伤蛇种,进而选择正确的抗蛇毒血清。

### 蛇毒定性检测的难点和挑战:

- 涉案生物检材类型多样,如血样、组织等生物样本基质干扰严重,同时蛇毒蛋白易降解、毒素丰度动态范围宽,常出现假阴性问题;

- 传统免疫学方法特异性差、交叉干扰严重,无法有效区分近缘蛇种,常出现假阳性结果。

### 本文实验方案技术特点和优势:

- SCIEX液质系统Turbo V™ 离子源,耐基质效应及抗污染能力强,方案经实际样品验证,结果可靠;
- 无需特异性抗体,即可从复杂基质中直接鉴定蛇毒种类及其物种归属;
- 单样检测时间仅需12min,具高灵敏度、高通量和高特异性等优势,尤其适用于法医学中检材量少、背景复杂、中毒物种未知的场景。



图1. SCIEX TOF和Triple Quad系统

实验方法

1. 样品前处理

吸取蛇毒蛋白溶液4 μL置于1.5 mL离心管，依次加入7 M盐酸胍溶液92 μL，1M DTT溶液2 μL，涡旋混匀，55℃孵育1 h；

加入1M IAA溶液2 μL，涡旋混匀，室温孵育0.5h；

吸取上述溶液至10 kd超滤管，12000g离心15 min，用50 mM碳酸氢铵溶液清洗2次，按1:50加入胰酶，用50 mM碳酸氢铵溶液补足至100 μL，37℃孵育过夜；

15000 rpm离心15 min，取酶解后滤液，待LC-MS/MS分析。

2. 蛇毒蛋白质组学研究

色谱条件

色谱柱：bioZen Peptide XC-C18 [2.1 × 150 mm, 1.7 μm, 300Å]

流动相：A：水[含0.1%甲酸]，B：乙腈[含0.1%甲酸]

柱温：50 °C

洗脱程序：梯度洗脱见表1。

表1. 洗脱程序

| Time [min] | Flow [mL/min] | B.Conc [%] |
|------------|---------------|------------|
| 0.00       | 0.3000        | 2.0        |
| 0.50       | 0.3000        | 2.0        |
| 70.00      | 0.3000        | 35.0       |
| 80.00      | 0.3000        | 55.0       |
| 85.00      | 0.3000        | 85.0       |
| 90.00      | 0.3000        | 85.0       |
| 90.1       | 0.3000        | 2.0        |
| 94         | 0.3000        | 2.0        |

质谱方法

QTOF飞行时间质谱仪[ESI源]

雾化气GS1： 55 psi                      辅助加热气GS2： 55 psi

气帘气CUR： 35 psi                      碰撞气： 9

源温度TEM： 550 °C                      离子源电压IS： 5500 V

去簇电压DP： 80 V                      采集模式： IDA

一级扫描范围:350-2000 Da

二级扫描范围100-1500 Da，Dynamic CE for MS/MS

数据处理

IDA原始数据采用ProteinPilot软件进行检索鉴定，数据库下载自Uniprot；筛选特征肽段通过Skyline软件

进行DP、CE参数优化。

3. 蛇毒特征肽段检测方法

色谱条件

色谱柱：bioZen Peptide XC-C18 [2.1 × 150 mm, 1.7 μm, 300Å]

流动相：A：水[含0.1%甲酸]，B：乙腈[含0.1%甲酸]

柱温：40 °C

洗脱程序：梯度洗脱见表2

表2. 洗脱程序

| Time [min] | Flow [mL/min] | B.Conc [%] |
|------------|---------------|------------|
| 0.00       | 0.3000        | 10.0       |
| 1.00       | 0.3000        | 10.0       |
| 8.00       | 0.3000        | 85.0       |
| 10.00      | 0.3000        | 85.0       |
| 10.10      | 0.3000        | 10.0       |
| 12.00      | 0.3000        | 10.0       |

质谱条件：

Triple Quad三重四级杆质谱系统[ESI源]

雾化气GS1:55 psi                      辅助加热气GS2:55 psi

气帘气CUR： 35 psi                      碰撞气CAD： 9

源温度TEM： 550 °C                      离子源电压IS： 5500 V

实验结果

蛇毒蛋白质组分析

本实验基于SCIEX QTOF系统对蝮蛇、五步蛇、银环蛇、眼镜王蛇和眼镜蛇这5种蛇毒蛋白进行IDA蛋白质组学定量分析，采集的IDA数据采用ProteinPilot软件进行搜库检索。如图2所示，眼镜

蛇、蝮蛇、五步蛇、眼镜王蛇和银环蛇分别共鉴定到766、1378、1876、1342和734条肽段，对应36、41、39、79和27种蛋白。

特征肽段筛选与验证

筛选长度适宜、特异性强、丰度水平高、稳定性强的肽段作为特征肽段，采用Skyline软件优化特征肽段DP、CE值，并进行交叉验证，5个蛇种特征肽段质谱参数见表3，XIC图交叉验证见图3-7。

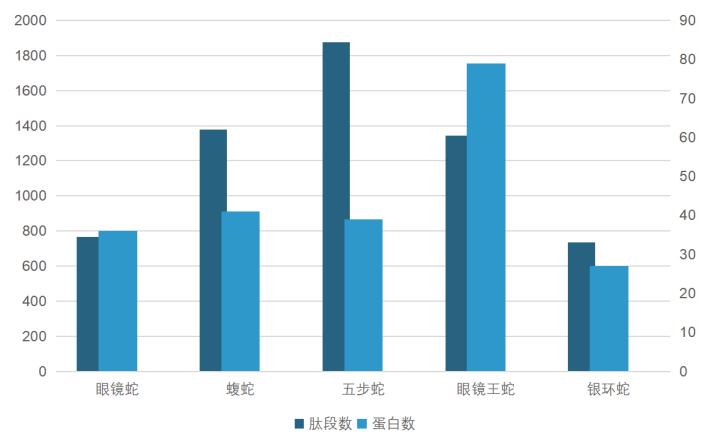


图2. 5种蛇毒蛋白质组学鉴定结果

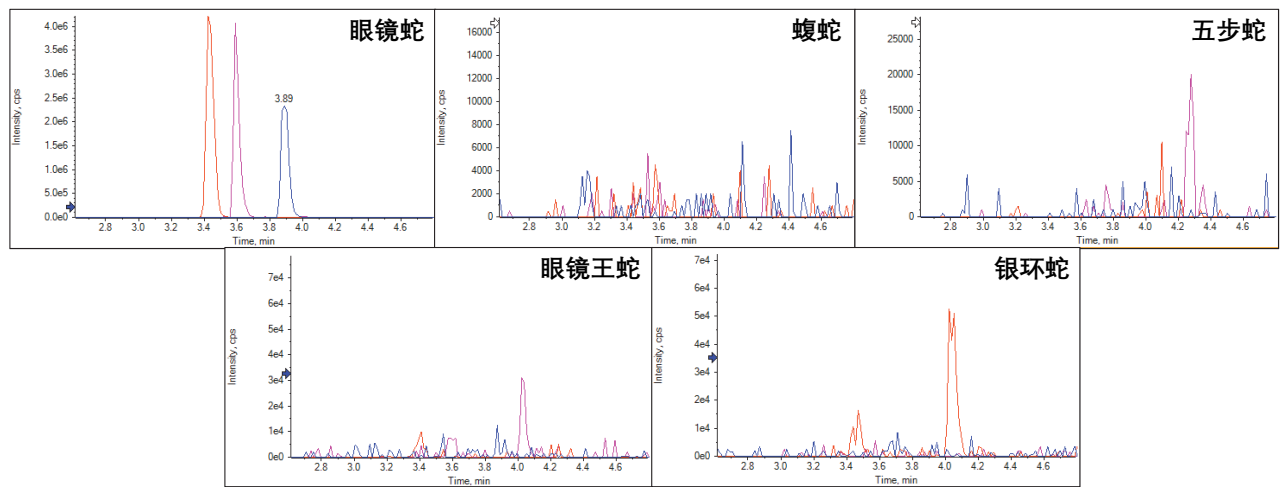


图3. 眼镜蛇蛇毒特征肽段XIC图

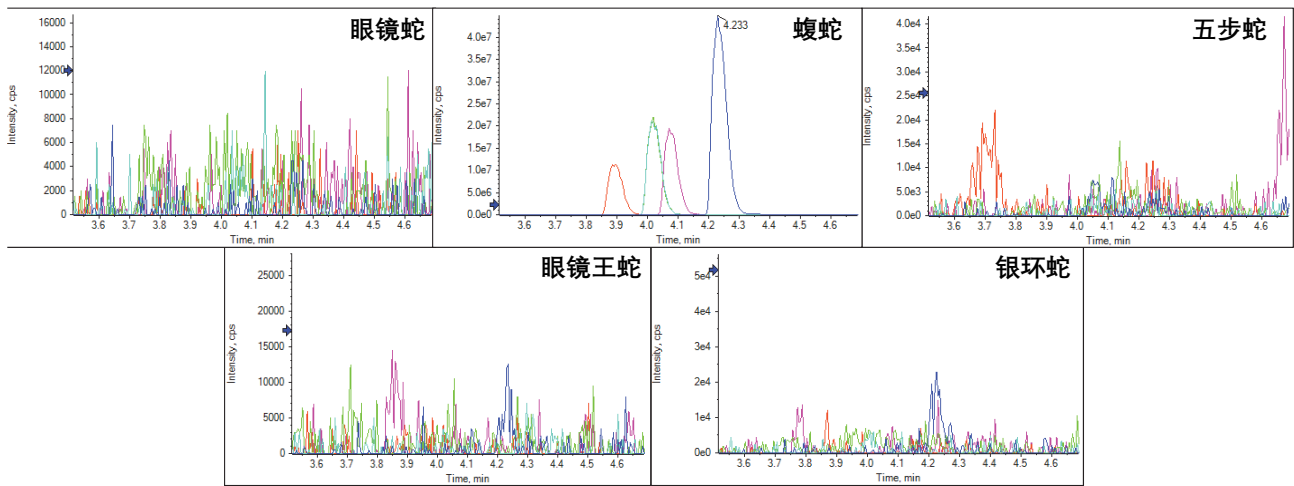


图4. 蝮蛇蛇毒特征肽段XIC图

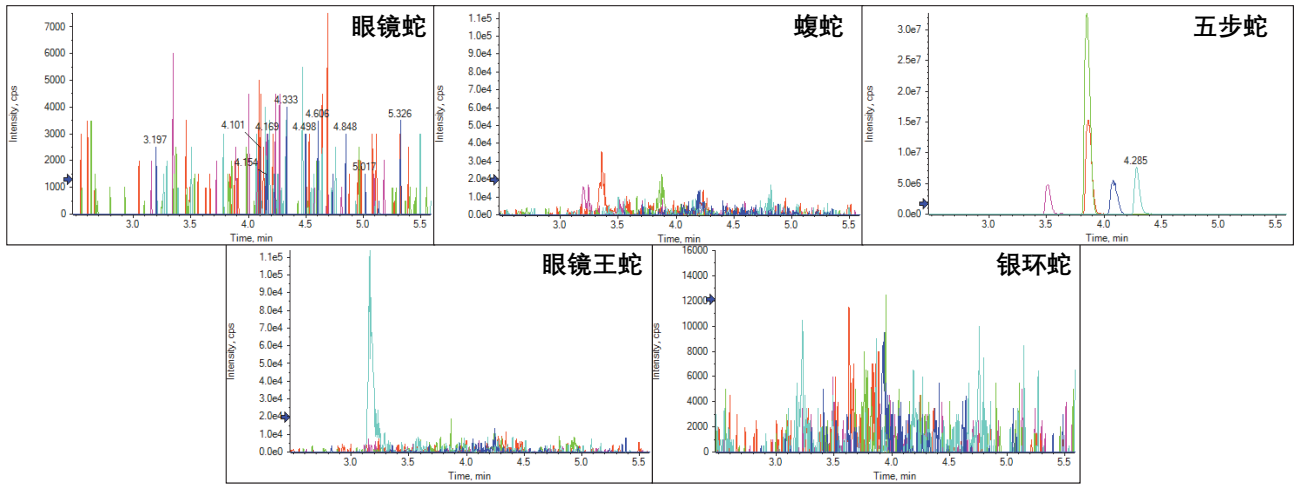


图5. 五步蛇蛇毒特征肽段XIC图

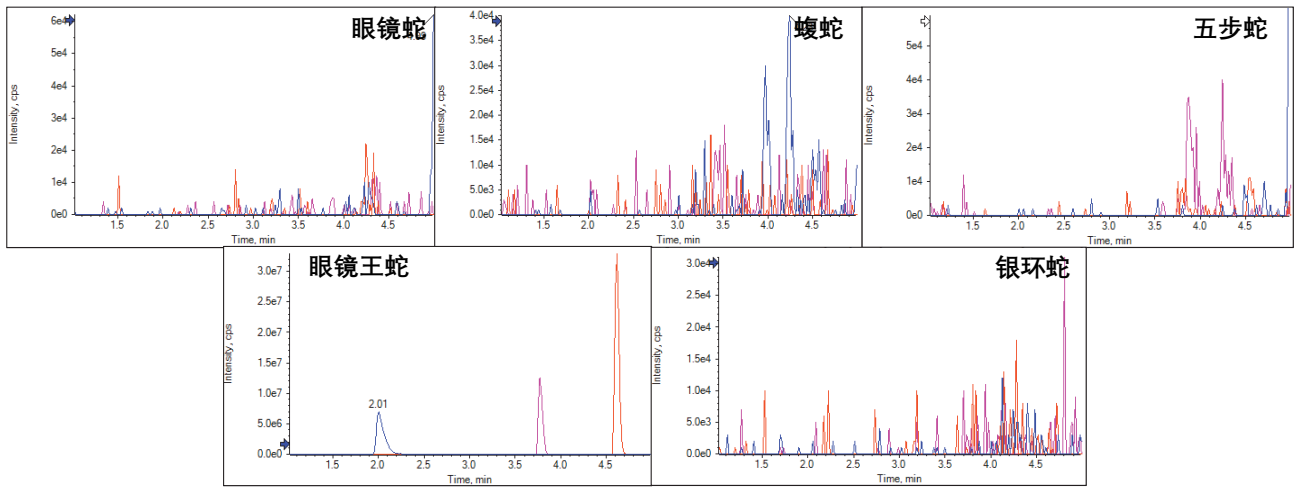


图6. 眼镜王蛇蛇毒特征肽段XIC图

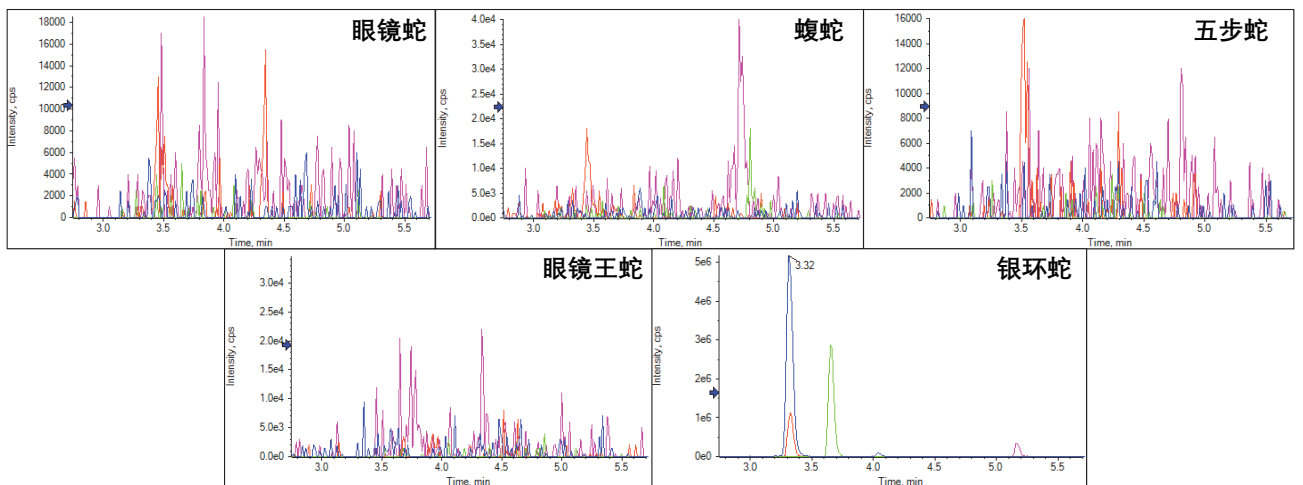


图7. 银环蛇蛇毒特征肽段XIC图

## 小结

本研究依托SCIEX液质联用平台，建立了一套精准、快速、无抗体依赖的蛇毒鉴定与蛇种溯源LC-MS/MS检测方法。该方法凭借优异的抗基质干扰能力，有效克服了传统检测特异性不足、易出现假阳性与假阴性、难以区分近缘蛇种等缺陷。通过对蝮蛇、五步蛇、银环蛇、眼镜王蛇和眼镜蛇蛇毒开展蛋白质组学分析，筛选得到各蛇种特异性特征肽段并完成质谱参数优化，构建了标准化的蛇毒定性检测体系。方法单样检测仅需12 min，灵敏度与通量高，可适配法医复杂、微量、降解检材的检测场景，可为蛇毒中毒案件的物证鉴定与司法溯源提供可靠技术支撑，为临床救治提供可靠依据。

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅 <https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2026 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. MKT-39674-A



### SCIEX中国

#### 北京分公司

北京市昌平区生命科学园科学园路  
18号院A座一层  
电话：010-5808-1388  
传真：010-5808-1390

全国咨询电话：800-820-3488, 400-821-3897

#### 上海公司及中国区应用支持中心

上海市长宁区福泉北路518号  
1座502室  
电话：021-2419-7201  
传真：021-2419-7333

官网：[sciex.com.cn](https://sciex.com.cn)

#### 广州办公室

广州国际生物岛星岛环北路1号  
B2栋501、502单元  
电话：020-8842-4017

官方微信：[SCIEX-China](#)