

SCIEX QTOF系统结合PEAKS® Studio 软件鉴定阿胶中的游离肽段

Identification Free peptide segment in Traditional Chinese Medicine Asini Corii Colla by SCIEX QTOF system with PEAKS® Studio software

雷敏, 龙志敏

Lei Min, Long Zhimin

SCIEX, 中国

Key words: Traditional Chinese Medicine, Asini Corii Colla, Free peptide segment, SCIEX QTOF system, PEAKS® Studio software

引言

阿胶作为传统中药, 主要以马科动物驴的干皮或鲜皮为主要成分经煎煮、浓缩而制成动物胶, 在提高红细胞数量、补气补血、免疫调节和抗氧化等方面发挥着重要作用^[1], 其主要成分是蛋白质, 包括I型胶原蛋白(COL I α 1、COL I α 2)、II型胶原蛋白(COL II α 1)和血清白蛋白(ALB)等大分子量蛋白^[2]。更多研究表明, 采用生物酶解技术分解阿胶中的大分子蛋白质形成的阿胶多肽, 能被机体吸收且有良好的生物相容性。特别是分子量<3000Da的阿胶多肽在免疫调节、补血升白、抗氧化、缓解老年痴呆症等方面具有中药的保健作用^[3-6]。目前大部分研究^[7]以测定酶解蛋白质后的肽段成分为主, 而阿胶在熬制过程中, 可能也会产生大量的游离肽段, 因此本文建立方法以鉴定阿胶中的游离肽段, 为后续阿胶的质量控制和药效物质研究提供可参考的检测方法和结果。

本文实验方法特点

本文展示了使用SCIEX QTOF系统结合PEAKS® Studio软件鉴定中药阿胶中的游离肽段, 可应用于中药中游离肽段成分的研究中, 为研究以中药游离肽段成分等提供检测方法参考。该方案具有以下特点:

1. 本实验采用SCIEX QTOF系统进行数据采集, 该仪器具有扫描速度快(高达133 HZ), 结合IDA(数据依赖性采集)和智能排除前提离子的采集方式, 可在一针进样过程中, 尽可能全面的采集高质量的二级谱图, 以实现更全面、准确的鉴定中药中游离肽段的目的。

2. 该方法鉴定结果, 在EJ及PEJZ两种样本中, 分别鉴定到2330和1950条游离肽段, 其中分别有866条和689条修饰肽段。鉴定数目多, 软件鉴定流程简单、快速。

仪器设备

SCIEX Exion LC™系统 + SCIEX QTOF系统



液相方法

色谱柱: Phenomenex Kinetex XB C18 (2.1×100 mm, 1.7 μ m)

流动相: A相: H₂O (含0.1%甲酸)

B相: 乙腈 (含0.1%甲酸)

流速: 0.2 ml/min

柱温: 40 °C

进样量: 10 μ L

Time(min)	A (%)	B (%)
0.00	98	2
1.00	98	2
43.0	70	30
50.0	50	50
50.5	20	80
55.0	20	80
55.5	98	2
60.0	98	2

离子源：电喷雾离子源ESI源，正离子模式

采集方式：TOF MS（飞行时间质谱一级扫描）-12 MS/MS（飞行时间质谱二级扫描）

飞行时间质谱一级扫描TOF MS: 质荷比范围(Da) 100-2000

飞行时间质谱二级扫描TOF MS/MS: 质荷比范围(Da) 70-3000

自动校正系统(CDS)开启

排除前提离子：每6秒采集一次

动态二级碰撞能量

离子源参数

离子源: Optiflow 离子源

电喷雾电压: 5500 V; 气帘气 CUR: 35 psi

雾化气 GAS1: 45 psi 雾化气 GAS2: 45 psi

源温度 TEM: 500 °C 去簇电压 DP: 100 V

样品溶液:

共两组样本，两组样本分别经脱盐、脱糖后再超滤提取，组名分别为EJ和PEJZ。

实验结果

1. 样品溶液:

两种样本中BPC图（提取基峰图），分别见图1和图2。从图1和图2中，可以看到该提取条件下，从1-35min均检测到不同强度的成分。

2. 鉴定结果

2.1 成分鉴定列表

本实验中，使用PEAKS® Studio 软件（版本号12.5）结合Uniport中Equus asinus L.的蛋白质参考序列，作为搜索的数据库。软件鉴定参数如下：

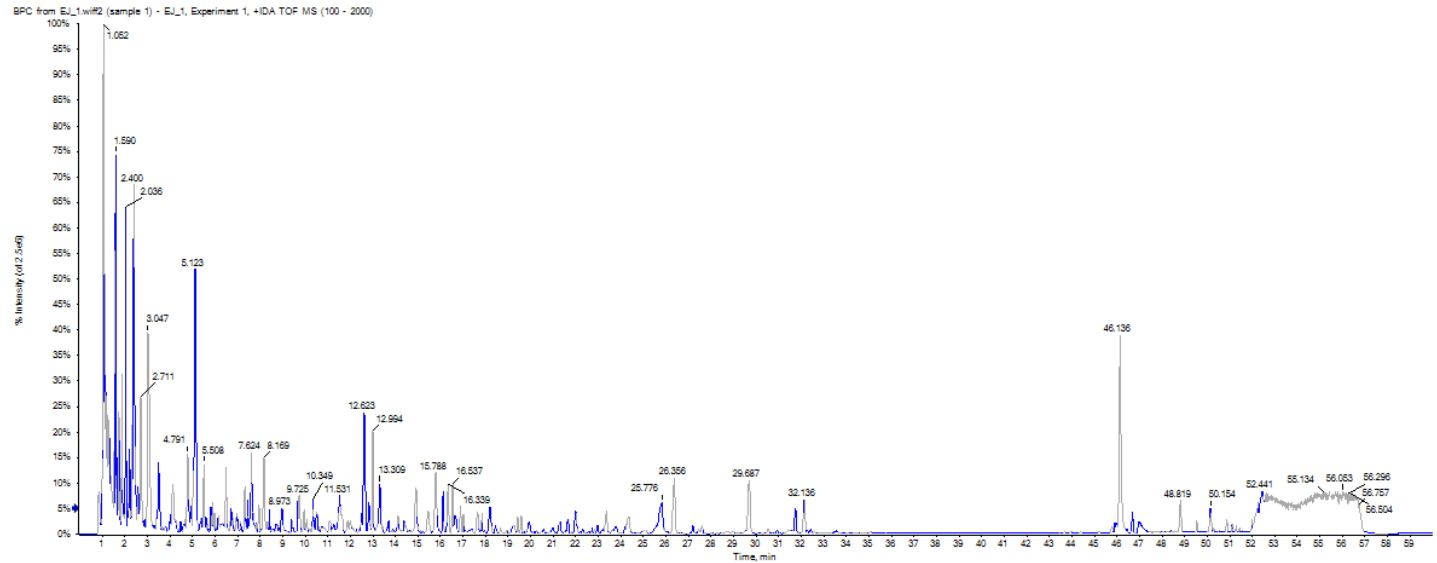


图1. EJ样品 BPC图

false discovery rate (FDR): 1%

	#Scans			#Features	Identified			#Peptides	#Sequences	#Proteins*		
	MS1	MS/MS	#Chimera		#PSMs	#Features	**			Groups	All	Top
Total	42322	507864	79952	1450022	18079	17742	12080	4871	4197	126	335	169
EJ-1	7487	89844	12718	229801	3343	3282	2261	2341	2135	46	141	61
EJ-2	7367	88404	13075	236803	3279	3218	2212	2319	2119	45	142	63
PEJZ-1	7405	88860	13516	238165	2631	2578	1781	1921	1768	53	156	70
PEJZ-2	7305	87662	13443	239824	2758	2701	1861	1979	1809	51	150	69

EJ及PEJZ样本中，分别有866条和689条修饰肽段，因此，两组阿胶样本中看到大量差异修饰肽段，为后续分析不同阿胶质量差异提供信息。

详细鉴定列表(部分)如图3,分别展示鉴定肽段序列,不同样品中的峰面积,二级谱图匹配,肽段理论的二级碎片及实测值等信息:

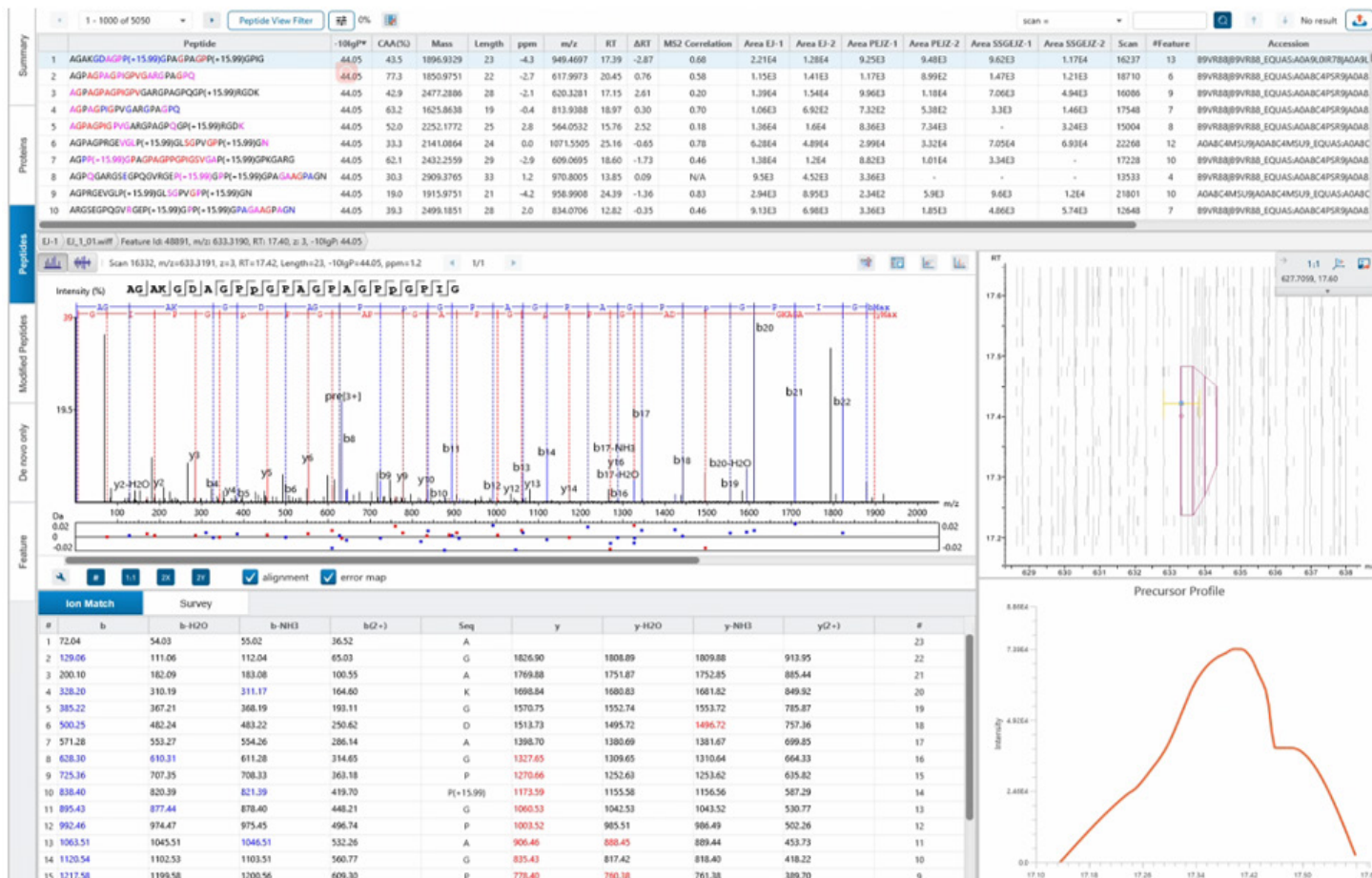


图3. 样品中游离肽段鉴定列表 (部分)

总结

本文展示了使用SCIEX QTOF系统结合PEAKS® Studio 软件鉴定中药阿胶中的游离肽段。该方案体现出SCIEX QTOF系统扫描速度快，二级质量高的特点，并结合IDA结合智能排除前提离子的功能采集方式，一针进样，尽可能全面的采集高质量的二级谱图用于成分鉴定。PEAKS® Studio 软件通过一级质荷比偏差和二级碎片匹配度，在EJ及PEJZ样本中，分别平均鉴定到2330和1950条游离肽段，鉴定数目多，鉴定流程简单快速。该方法为后续开展阿胶质量控制和药效物质研究的研究者提供可参考的检测方法和结果。

参考文献

- [1] 李笃军，杨铎，武勇. 阿胶的药理分析及临床应用[J].中国食品，2022(01):112-114.
- [2] 付英杰，王肖，贾玉民，等. 阿胶不同媒介物HPLC指纹图谱建立[J].中成药，2022,44(08):2731-2735.

- [3] 梁荣，徐乐，樊琛，等.酶解法制备阿胶蛋白肽工艺条件优化及抗氧化活性分析[J].食品工业科技，2024,45(10):217-224.
- [4] 曹丛丛，管玲娟，屠飘涵，等. 具有潜在补血活性的阿胶肽铁螯合物的结构表征[J].食品与发酵业，2021,47(24):28-34.
- [5] 樊雨梅，汝文文，史传超，等. 阿胶低聚肽的成分分析及其抗氧化活性[J].食品工业科技，2020,41(18):314-318,323.
- [6] 熊雅茹，傅红，杨方. 阿胶多肽的高分辨质谱鉴定及活性研究[J].天然产物研究与开发，2020,32:1348-1356.
- [7] 王莹雪，樊雨梅，廖峰，等. 阿胶活性肽的结构鉴定及活性筛选[J].食品科学，2022,43(10):207-213.
- [8] 陈瑛琪，任世利，刘广志，等. 阿胶多肽的组成及功能研究进展[J].山东农业大学学报（自然科学版），2024,55(2):288-294.

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。

© 2025 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. MKT-35640-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

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](#)