

and dopamine neurons [J]. J Pharmacol Exp Ther 2005; 313 (1): 1342145.

[6] KOOB G F, LE MOAL M. Drug addiction: dysregulation of reward and allostasis [J]. Neuropsychopharmacology 2001, 24 (2): 972129

[7] KELLEY A E, BERRIDGE K C. The neuroscience of natural rewards: relevance to addictive drugs [J]. J Neurosci 2002; 22 (9): 330623311.

[8] SANDRINI M, VITALE G. The potentiation of analgesic activity of paracetamol by morphine involves the serotonergic system in rat brain [J]. Inflamm Res 1999; 48 (3): 1332140.

[9] YAN Q, REITHMEYER S, YAN S. Enhanced accumbal dopamine release following 5HT_{2A} receptor stimulation in rats pretreated with intermittent cocaine [J]. Brain Res 2000; 863 (122): 2542258

[10] ALLAN A M, GALINDO R, CHYNOWETH J, et al. Conditioned place preference for cocaine is attenuated in mice overexpressing the 5HT₃ receptor [J]. Psychopharmacology (Berl), 2001; 158 (1): 18227

[11] FRANTZ K J, HANSSON K J, STOUFFER D G, et al. 5HT₆ receptor antagonism potentiates the behavioral and neurochemical effects of amphetamine but not cocaine [J]. Neuropharmacology 2002; 42 (2): 1702180

[12] GEORGES F, ASTON-JONES G. Prolonged activation of mesolimbic dopaminergic neurons by morphine withdrawal following clonidine: participation of midazolam and norepinephrine receptors [J]. Neuropsychopharmacology 2003; 28 (6): 114021149

[13] VENTURA R, ALCARO A, PUGLISI-ALLEGRA S. Prefrontal cortical norepinephrine release is critical for morphine-induced reward reinstatement and dopamine release in the nucleus accumbens [J]. Cereb Cortex 2005; 15 (12): 187721886.

[14] FUENTEALBA JA, FORRAY M J, GYSLING K. Chronic morphine treatment and withdrawal increase extracellular levels of norepinephrine in the rat bed nucleus of the stria terminalis [J]. J Neurochem 2000; 75 (2): 7412748.

[15] SOFUGLU M, NELSON D, BABBA D A, et al. Intravenous cocaine increases plasma epinephrine and norepinephrine in humans [J]. Pharmacol Biochem Behav 2001; 68 (3): 4552459

[16] ROTHMEIER I, ZANGEN A, ALELIM, et al. Effect of experimenter-delivered and self-administered cocaine on extracellular beta2endorphin levels in the nucleus accumbens [J]. J Neurochem 2003; 84 (5): 9302938

[17] CAVUN S, GOKTALAY G, MILLINGTON W R. Glycylglylutamine, an endogenous beta2endorphin-derived peptide, inhibits morphine-induced conditioned place preference, tolerance, dependence, and withdrawal [J]. J Pharmacol Exp Ther 2005; 315 (2): 9492958.

[18] TSAO L I, HAYASHI T, SU T P. Blockade of dopamine transporter and tyrosine hydroxylase activity loss by [D2A₁(2), D2Leu(5)] enkephalin in methamphetamine-treated CD1 mice [J]. Eur J Pharmacol 2000; 404 (122): 89293.

[19] ZHANG Y, BUTELMAN E R, SCHLUSSMAN S D, et al. Effect of the endogenous kappa opioid agonist dynorphin A (1217) on cocaine-evoked increases in striatal dopamine levels and cocaine-induced place preference in C57BL/6J mice [J]. Psychopharmacology (Berl), 2004; 172 (4): 4222429

[20] SCHLUSSMAN S D, ZHANG Y, YUFEROV V, et al. Acute 'binge' cocaine administration elevates dynorphin mRNA in the caudate putamen of C57BL/6J but not 129/J mice [J]. Brain Res 2003; 974 (122): 2492253

[21] WAN X, HUANG M, HE Y, et al. Involvement of dynorphin A in the inhibition of morphine physical dependence by N2nitro-L2arginine in rats [J]. Chin Med J (中华医学杂志), 2003; 116 (7): 105521058.

收稿日期: 2007201226

现代生物质谱技术在生物大分子分析研究中的应用

王晓娜, 许丽娜, 彭金咏*, 刘克辛 (大连医科大学, 辽宁 大连 116027)

摘要: 随着当今生物质谱技术的蓬勃发展, 生物质谱已经成为分析、鉴定蛋白质、多肽、细胞因子等生物大分子的重要手段。笔者对基质辅助激光解吸离子化质谱 (MALDI-MS), 电喷雾离子化质谱 (ESI-MS), 飞行时间质谱 (TOF-MS) 和离子阱质谱 (Ion trap-MS) 等生物质谱的功能和应用以及现代生物质谱与液相 (LC)、毛细管电泳 (CE) 和二维液相色谱 (2D-LC) 等联用技术的最新应用与进展作了简要的综述。

关键词: 生物质谱; 生物大分子; MALDI-MS; ESI-MS; TOF-MS

中图分类号: R917.103 文献标识码: A 文章编号: 100727693 (2008) 0220105205

基金项目: 大连市科技局优秀青年人才基金资助 (No. 2006J23H024)
作者简介: 王晓娜, 女, 硕士 * 通讯作者: 彭金咏, 男, 博士, 教授 Tel: (0411) 86110411 E-mail: jinyongpeng2005@163.com

WANG Xiaohua, XU Lihua, PENG Jinyong*, LIU Kexin (Dalian Medical University, Dalian 116027, China)

ABSTRACT: With the development of biological mass spectrometry, it has become a key technique for analysis and identification of biomacromolecules including proteins, peptides, cell factor and so on. This review mainly focused on the major functions and applications of MALDI-MS, ESI-MS, TOF-MS and Ion trap-MS, and recent improvements and successful applications of LC-CE and 2D-LC combined with biological mass spectrometry.

KEY WORDS: Biological mass spectrometry, Biomacromolecules, MALDI-MS, ESI-MS, TOF-MS

自从 1906 年, Thomson 发明了质谱, 在随后的几十年里, 质谱被相继应用于生物大分子的研究, 如今生物质谱技术已经成为研究、分析和鉴定生物大分子的前沿方法^[1]。它主要对蛋白质、多肽、细胞因子等生物大分子进行定性定量分析。传统研究生物大分子的方法主要有液相色谱 (LC)、毛细管电泳 (CE) 及其他色谱光谱技术等, 但随着生物质谱广泛应用了 / 软电离质谱新技术, 使生物大分子在电离过程中保留了分子的完整性, 从而使质谱真正成为蛋白质鉴定的核心技术, 有利地推动了蛋白质组学的研究^[2]。笔者就现代几种主要生物质谱与相关色谱光谱联用技术作一简要的综述。

1 生物质谱的离子化方式及联用技术

质谱中常见的 / 软电离主要有基体辅助激光解吸离子化质谱 (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Mass Spectrometry, MALDI)、电喷雾离子化质谱 (Electrospray Ionization Mass Spectrometry, ESI-MS)、快原子轰击质谱 (Fast Atom Bombardment Mass Spectrometry, FAB-MS) 等。其中, MALDI 和 ESI 两种 / 软电离技术突破性解决了极性大和热不稳定类蛋白质和相关生物大分子的测定问题, 具有高灵敏度、高准确度等优点。

1.1 电喷雾离子化质谱 (ESI-MS)

1984 年, 美国耶鲁大学化工系教授 Yamashita 等^[3]成功地将电喷雾技术引入质谱离子, 并且成功地运用电喷雾电离质谱对生物大分子进行分析, 使电喷雾离子化质谱法得到了充分发展。ESI-MS 是众多 / 软电离方式中最 / 软的一种, 它是将消化后的多肽混合物用电喷雾法离子化后进入串联质谱 (tandem mass spectrometry), 从获得的数据中解析多肽序列信息, 再通过数据库检索来确定相应的蛋白质。ESI 的特点是可以生成高度带电的离子而不发生碎裂, 这样可将质荷比 (m/z) 降低到各种不同类型的质量分析仪都能检测到的范围, 离子的真实分子量可根据 m/z 及电荷数计算得到。ESI 对复杂蛋白质的分析可达到 attomol 而且测定分子量的上限为 150 kDa, 具有较高的分辨率, 测量精度可达 0.005%, 对多电荷离子的测定, 分子量可达 200 000。

1.1.1 ESI-MS 与液相色谱 (LC) 联用技术 Whitehouse 等^[4]首先将 ESI-MS 与 LC 相连接运用于对生物大分子的分析研究。LC-ESI-MS/MS 质谱仪主要由三部分构成, 即高效液相色谱电喷雾离子串联质谱仪器控制和数据分析系统。

该技术首先是将蛋白质进行水解, 得到各种片段, 再用 LC 分离到纯肽或简单的混合肽, 用 ESI-MS 测定其各组分的序列, 从不同的片段找到重叠部分, 即得到整个蛋白质。该技术能检测到多肽或蛋白质的部分氨基酸序列, 以及蛋白质或多肽分子中二硫键的定位, 但对于亲水性强的小肽则可能遗漏, 并且对绝大多数蛋白的降解片段进行一次 LC-ESI-MS/MS 分析往往不能得到其部分序列。

1.1.2 ESI-MS 与二维液相色谱 (2D-LC) 联用技术 Emi 等^[5]在 20 世纪 70 年代首先提出二维液相 (2D-LC), 二维液相是指液相状态下的等电聚焦 (第一维) 和无孔硅胶反相高效液相 (HPLC) 分离 (第二维)。从第二维洗脱的蛋白质连接 ESI-MS 直接检测。该方法的核心柱切换技术通常是通过阀 / 进样环接口来实现, 利用该接口可以实现样品的纯化、痕量组分的富集、制备以及组分的分割等多种功能。同时, 该方法可以提供溶液状态下的纯蛋白, 用 ESI-MS 分析而获得高精度的完整蛋白质的分子量, 所获得的蛋白质组图谱优于传统双向凝胶电泳图谱, 并可通过图谱来研究蛋白质表达量的变化及具体结构上的变化。

1.1.3 ESI-MS 与毛细管电泳 (CE) 联用技术 CE 分离多肽和蛋白质时, 广泛应用的是毛细管区带电泳 (CZE)、毛细管等电聚焦 (CIEF)、筛板 SDS 毛细管电泳和毛细管电色谱 (CEC)。CE 具有灵敏度高、稳定性好、快速、分离自动化、成本消耗低等优点, 被认为是二维凝胶电泳 (2DE) 理想的替代方法。CE 是一种以电渗流为驱动, 以毛细管为分离通道, 依据样品中各组分之间淌度和分配行为上的差异而实现的分离的液相分离技术。ESI 可测定 75 000 分子量以内的化合物, 其准确度可达百万分之五, 这远比其他方法精确得多。但是 ESI-MS 与 CE 联用也有一些缺点, 如需要进行流量补充, 以满足 ESI 对流速的需要。目前已报道 CE-ESI-MS 对大多数分析物, 尤其是肽段, 其灵敏度通常在飞摩尔级到阿摩尔级之间^[6]。王英武等^[7]利用电喷雾离子化质谱串联四极杆飞行时间质谱法 (ESI-Q-TOF) 质谱测定出寡肽母离子与子离子的精确分子量, 质量准确度小于 20×10^{-6} , 能直接区分赖氨酸与谷氨酰氨残基 ($\Delta m = 0.036$ Da), 为蛋白质的鉴定提供更准确的氨基酸序列信息。

1.2 基体辅助激光解吸离子化质谱 (MALDI-MS)

1988 年 Tanaka 等^[8]利用紫外激光以烟酸为基质在 TOF 质谱仪上测量蛋白质的质量, 而提出 MALDI-MS 并广泛应

用于生物大分子的研究。对于 MALDI-MS最重要的就是对基质的选择有一定的要求,首先,基质在适当的溶剂中与待测物要形成混晶(如 70% 甲醛);其次,基质在吸收激光的能量后可均匀地传递给待测物;最后,基质使得待测物离子化,同时要求 MALDI-MS的激光波长为 337 nm 和 1016 nm。MALDI-MS测定的分子量可高达 980 000,对基质成分或样品中的盐份有较大的耐受性,样品与基质的体积摩尔比一般为 1B(100~ 50 000)。目前,大多数 MALDI-MS一次上样均可达 100~ 10 000个组分,因而实现了蛋白质组中大量蛋白的高通量分析。MALDI-MS分析多肽和蛋白质时,常采用 Tanaka法^[8]和 Hillenkamp法^[9]准备样品。Tanaka法灵敏度为 10^{-9} mol数量级,而 Hillenkamp法灵敏度可达 10^{-12} mol数量级,信号强、信号比高,因此被广泛使用。MALDI-MS与其他质谱相比,具有对样品要求低,能耐高浓度盐、缓冲剂和其他非挥发性成分等显著优点。

2.1.1 MALDI-MS与 LC技术 LC-MALDI-MS/MS联用技术是近些年才广泛应用于多肽等生物大分子的分析及研究,目前 MALDI与反相色谱的联用技术还很少应用,且关于此方面的文献也相对较少。在 LC-ESI-MS/MS实验中,对质谱峰的选择软件是按照峰强度逐渐降低的顺序对峰进行分析;而在 LC-MALDI-MS/MS实验中,对峰的选择则是按照相反的顺序进行的,该顺序是从满足阈值标准的最小峰度信号到最大峰度信号而进行。另外,LC-MALDI-MS/MS只是对鉴定基本方向中可能存在的成分提供一些统计分析数据。虽然 LC-ESI-MS/MS和 LC-MALDI-MS/MS有许多不同之处,但两者合用在分析前不需要对样品进行分离,并且在增加样品量时还可以利用 ESI浓度灵敏度的特性,更加有效的用于定向 MALDI-MS/MS的分析。BODNAR等^[10]利用 LC-ESI-MS/MS和 LC-MALDI-MS/MS联用技术获得了复杂蛋白质混合物中蛋白质组的相似度,并对其进步做出了评价。他们利用四极杆飞行时间质谱获得 LC-ESI-MS/MS和 LC-MALDI-MS/MS的数据来对蛋白质组进行分析,该实验证明了通过 LC-ESI-MS/MS和 LC-MALDI-MS/MS的联用可提高蛋白质组的相似度。

2 生物质谱中常见的质量分析器及相关技术

质谱仪器通常由样品导入、离子源、质量分析器和检测器等部分组成。质谱中除上述的几种主要离子源外,质量分析器也是重要的组成部分,其能够将气态离子进行分离分辨,是进行检测必要的部分,主要有飞行时间 (TOF)、离子阱 (Ion trap)、四级杆 (Quadrupole) 等质量分析器。

2.1 飞行时间质谱 (TOF-MS)

20世纪 70年代以前就有人提出飞行时间质谱技术,因其具有结构简单、测定范围宽等特点,因此被广泛使用。TOF分析器有直线型和反射型两种。TOF-MS技术在蛋白质及其多肽的研究中具有可鉴定蛋白质功能、研究蛋白质与蛋白质之间的相互作用、比较蛋白质组的表达差异、研究蛋白磷酸化和糖基化等功能。

2.1.1 ESI-TOF-MS技术 ESI-MS和 TOF-MS相连,仪器设

计要做到使引入质量分析器的离子保持以稳定方式传输,而垂直引入这一设计正好满足了需要,该设计比通常脉冲方式的 TOF-MS具有更高的分辨率和灵敏度。ESI-TOF-MS不仅可以在离子传输区域进行碰撞诱导解离,还可以在源后衰变时提供分子的结构信息。因此,TOF-MS与 ESI-MS联用技术在生物大分子研究中具有广阔的前景。

2.1.2 MALDI-TOF-MS技术 MALDI-TOF-MS广泛应用于生物大分子的分析和研究中,其测定的质量准确度在 0.1%左右,而且分析率可达到 1/20 000。TOF-MS具有可同时记录整个质谱内所有的离子、提供与选择性离子监测近似相等的灵敏度等特点,而 MALDI-TOF-MS适宜测量数在 500 以上的分子,尤其是在几千以内的质量数较好,该技术具有操作简单、灵敏度高、质量分辨率好、测定质量范围宽等优点,非常适合生物大分子和高聚物的分子量测定且适合一维或二维电泳分离后的蛋白质样品及它们酶解后产生的生物多肽混合的分析,得到酶解肽段的分子量,获得肽质量指纹图 (peptide mass fingerprint, PMF),然后通过检索数据库来鉴定蛋白质。但是, MALDI-TOF也有不足,它要使用延迟提取技术,但延迟提取技术在实际使用过程中存在操作复杂等问题。PerkinElmer公司联合全球专业的质谱公司 SCIEX公司于 2003年推出了新一代使用离子源与质量分离器正交设计,并结合冷却碰撞聚焦技术的 MALDI-TOF质谱仪,大大简化了其复杂的操作和仪器优化步骤。目前, MALDI-MS与二级飞行时间 (TOF-TOF-MS) 技术是一种最新的生物质谱技术,它与单级的 MALDI-TOF相比,具有精度高、信息量更广等特点,该技术已成为蛋白质组研究中最重要工具。

2.1.3 SELDI-TOF-MS技术 SELDI技术是一种对复杂的多种生物分子混合样品进行质谱分析之前,进行样品处理的方法,它可快速寻找差异表达的蛋白质。SELDI技术所应用的蛋白质芯片根据芯片表面物质的不同可分为化学型和生物型两种。SELDI-TOF-MS是蛋白质先和芯片表面物质结合再加上基质,因此获得的图谱较单一,受到基质等物质的影响较小并且重复性好,分析的样品可以是未经纯化的标本,其可以检测疏水蛋白,且对低丰度的蛋白质的检出率也比较高,具有灵敏度高、结果无需染色、省时、高通量以及自动化等优点,克服了 2DDE 的局限性。虽然 SELDI-TOF-MS与 MALDI-TOF-MS相比, SELDI-TOF-MS具有较多的优点^[11],但是 SELDI-TOF-MS也有一些缺点,如:它仅能给出蛋白质的相对分子质量,不能给出 C端, N端的序列,也无法知道蛋白质的构型;使用不同的样品处理方法,不同的规程,不同的仪器,所得出的结果有差异;对大分子蛋白质灵敏度不高,拖尾严重等。

2.2 离子阱质谱 (Ion trap-MS)

串联质谱技术已经广泛的用于分析混合物和分子结构鉴定,其过程的完成至少需要经过三个质量分离器串联而成,所以在大型质谱仪上应用串联质谱技术成本会较高,而且操作比较复杂,从而限制了该技术的应用,但随着 Ion trap-MS的出现,解决了这一难题。利用其可实现时间串联的特

点,即串联质谱的每个阶段在不同时间段进行,使用一个离子阱质量分离装置就可以完成串联质谱的分析,甚至可进行多级质谱分析。这样不仅使串联质谱分析的成本降低,还使该分析的操作变得十分容易。

3 其他生物质谱串联技

目前,利用表面等离子共振2生物分子相互作用分析 (surface plasmon resonance - biomolecular intersection analysis SPR2BR)与 MALDI2TOF2MS结合,形成了生物传感芯片质谱 (biosensor chip mass spectrometry BCMS),该技术具有以下优点: 1 高通量,可同时对多种分析物进行测定; 2 随时进行检测,样品无需标记,快速、方便; 3 高灵敏度和精确度,检测可达飞摩甚至阿摩水平,精确度可达 0.01%等。此外, / 纳喷2液

表 1 现代生物质谱的应用

Tab 1 Application of Recent Biological Mass Spectrometry

编号	方 法	目 的
1	2D2LC/MALDI2TOF MS	Proteomic analysis of rat plasma ^[12]
2	LC2ESI2MS2MS	Site2specific N2glycosylation analysis of human plasma cerulop2lasm in Quality control of intact proteins ^[1324]
3	LC2MALDI2MS2MS	Protein identification, Analysis of protein complexes ^[1526]
4	SELD2TOF MS	Identification of differentially expressed proteins Altered expression of serum protein, Search for tumour markers ^[1729]
5	LC/MALDI2 triple2 Q MS	Targeted comparative proteomics ^[20]
6	Ion trap2FT ICR2MS	Analysis of phosphopeptides Analysis of phosphopeptides ^[21222]
7	MALDI2FTICR2MS	Imaging of Peptides in the Rat Brain Identification of N2glycosylation sites of the murine neural cells ^[23224]
8	MALDI2TOF2TOF MS	Analysis of Amino Acid Analysis of Protein Standards ^[25226]
9	2D2GE/ MALD2TOF MS	Identified of Protein fragment domains ^[27]
10	HPLC2ESI2TOF MS	Toward high sequence coverage of proteins in human breast cancer cells ^[28]

5 展望

生物质谱具有灵敏度高、准确性好、易于大规模和高通量操作等优点,现已广泛应用于蛋白质组学的研究中。随着蛋白质组学和基因组学研究的不断深入,生物质谱将会在生物大分子的相关领域扮演者举足轻重的角色,并将成为人们揭示和了解生命奥秘和研究相关疾病的有效途径。

REFERENCES

[1] DOMON B, AEBERSOLD R. Mass spectrometry and protein analysis [J]. Science, 2006; 312 (5771) : 212.

[2] AEBERSOLD R, MANN M. Mass spectrometrybased proteomics [J]. Nature, 2003; 422 (6928) : 1982207.

[3] YAMASHITA M, FENN J B. Electrospray ion source: another variation on the free jet theme [J]. J Phys Chem, 1984; 88: 44512 4459.

[4] WHITEHOUSE C M, DREYER R N, YAMASHITA M, et al. Electrospray interface for liquid chromatographs and mass spectrometers [J]. Anal Chem, 1985; 57: 6752679.

[5] ERNIE F, FREIR W. Two2dimensional column liquid chromatographic technique for resolution of complex mixtures [J]. Chromatogr, 1978; 149: 5612569.

[6] SIUTZ H. Advances in the analysis of proteins and peptides by capillary electrophoresis with matrix assisted laser desorption /ionization and electrospray mass spectrometry detection [J]. Electro

相色谱2质谱2质谱0 (nanospray2LC2n2ms) 新技术,对复杂体系蛋白质的联机分离与鉴定达到了很高的灵敏度 ($10^{-5} \sim 10^{-18} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 和鉴定速度 (2002300种蛋白质 /d),这些新技术将会成为分析蛋白质结构与功能的重要方法。

4 应用

随着生物质谱技术的不断发展,人们将其广泛地应用于多个领域,尤其是对生物大分子的研究。 Sundqvist G 等利用 LC2ESI2MS2MS样品消耗少、循环周期短的特点对蛋白质进行了全面的分析。另外, Zhong H Y 等人利用 LC2MALDI2MS测定了 119种蛋白质,其中包含 41种膜蛋白的 1到 12个跨膜区。此外,还有许多质谱技术对生物大分子的研究和发现发挥着重要的作用,表 1简单地列举了几种生物质谱的应用。

phoresis, 2005; 26 (728) : 1254290.

[7] WANG Y W, WANG L. Studies on Primary Structures of Oligopeptides by Electrospray Ionization Quadrupole Time2of2flight Mass Spectrometry [J]. Chin J Anal Chem (分析化学), 2003; 31 (6) : 709.

[8] TANAKA K, WAKIH, IDO Y, et al. Protein and polymer analysis up to m/z 100 000 by laser ionisation time2of2flight mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 1988; 2 (8) : 1512 153.

[9] KARASM, HILLENKAMP F. Laser desorption ionisation of proteins with molecular masses exceeding 10.000 daltons [J]. Anal Chem, 1988; 60: 229922301.

[10] BODNAR W M, BLACKBURN R K, KRITSE J M, et al. Exploiting the complementary nature of LC2MALDI2MS2MS and LC/ESI2MS2MS for increased proteome coverage [J]. J Am Soc Mass Spectrom, 2003; 14 (9) : 9712979.

[11] WILLIAM CHEN SHING CH O. Research progress in SELDI2TOF MS and its clinical applications [J]. Chin J Biotechnol (生物工程学报), 2006; 22 (16) : 8712877.

[12] LINKE T, ROSS A C, HARRISON E H. Proteomic analysis of rat plasma by two2dimensional liquid chromatography and matrix2assisted laser desorption ionization time2of2flight mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2006; 1123 (2) : 1602169.

[13] HARAZONO A, KAWASAKI N, ITOH S, et al. Site2specific N2glycosylation analysis of human plasma ceruloplasmin using liquid

chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Anal Biochem*, 2006, 348(2): 2592268.

[14] SUNDQVIST G, STENVALL M, BERGLUND H, et al A general robust method for the quality control of intact proteins using LC ESI/MS [J]. *J Chromatogr B*, 2007, 852 (122): 1882194

[15] ZHONG H, MARCUS S L, LIL M Microwave-assisted acid hydrolysis of proteins combined with liquid chromatography MALDI MS/MS for protein identification [J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2005, 16(4): 4712481

[16] ZHEN Y, RICHARDSON B, RICHARDSON et al Development of an LC-MALDI method for the analysis of protein complexes [J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2004, 15 (6) : 8032822

[17] JUNG Y M, CHUNG H Y, HAN B D, et al Application of SELDI ETOF mass spectrometry for the identification of differentially expressed proteins by formaldehyde exposure [J]. *Toxicol Lett* 2006, 164(1): S299.

[18] CHOW C, YIP T T, CHUNG W S, et al Altered expression of serum protein in ginsenoside Retreated diabetic rats detected by SELDI ETOF MS [J]. *J Ethnopharmacol* 2006, 108(2): 2722 279

[19] ENGWEGEN J Y, GAST M C, SCHELLENS J H, et al Clinical proteomics searching for better tumour markers with SELDI ETOF mass spectrometry [J]. *Trends Pharmacol Sci* 2006, 27(5): 251

[20] MELANSON J E, CHISHOLM K A, PINTO D M. Targeted comparative proteomics by liquid chromatography/matrix-assisted laser desorption/ionization triple quadrupole mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2006, 20 (5) : 904

[21] STINGL C, HUNG C, AMMERER G, et al Application of different fragmentation techniques for the analysis of phosphopeptides using a hybrid linear ion trap ETOF mass spectrometer [J]. *Biochim Biophys Acta (BBA) 2 Proteins Proteomics* 2006, 1764 (12) : 1842

[22] PETERMAN S M, MUIHOLLAND J J A Novel Approach for Identification and Characterization of Glycoproteins Using a Hybrid Linear Ion Trap ETOF Mass Spectrometer [J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2006, 17(2) : 168

[23] TABAN I M, ALTELAAR A F, VAN DER BURGT Y E, et al Imaging of Peptides in the Rat Brain Using MALDI ETOF Mass Spectrometry [J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2007, 18 (1) : 1452151

[24] ALBACH C, DAMOC E, DENZINGER T, et al Identification of N2-glycosylation sites of the murine neural cell adhesion molecule NCAM by MALDI ETOF and MALDI ETOF mass spectrometry [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2004, 378(4) : 112921135

[25] NATALIA V G, TODD W, MICHAILA A MALDI ETOF ETOF Tandem Mass Spectrometry as a New Tool for Amino Acid Analysis [J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2007, 18(2): 2792284

[26] FALKNER J A, KACHMAN M, VENE D M, et al Validated MALDI ETOF ETOF Mass Spectra for Protein Standards [J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2007, 18 (5): 8502855.

[27] PERSON M D, SHEN J, TRANER A, et al Protein fragment domains identified using 2D gel electrophoresis MALDI ETOF [J]. *J Biomol Tech*, 2006, 17(2): 1452156.

[28] YOO C, PAL M, MILLER F R, et al Toward high sequence coverage of proteins in human breast cancer cells using online monolith-based HPLC ETOF MS compared to CE MS [J]. *Electrophoresis* 2006, 27(11) : 212622138

收稿日期: 2007203227

环氧合酶 22和 5脂氧化酶双重抑制剂的研究进展

江波, 徐进宜*, 吴晓明, 华维一 (中国药科大学药化教研室, 南京 210009)

摘要: 传统的非甾体抗炎药和选择性环氧合酶 22(COX22)抑制剂在治疗炎症过程中引发胃肠道及肾脏不良反应, 制约了其临床应用。COX22和 5脂氧化酶(5LOX)双重抑制剂同时抑制前列腺素(PGs)和炎症介质白三烯类(LTs)的生物合成, 比单一的抑制剂抗炎效果好、安全性高, 是一类有发展前景的新型非甾体抗炎药。笔者简要介绍 COX22/5LOX 双重抑制剂的研究进展, 并讨论其作用机制及构效关系。

关键词: 非甾体抗炎药; 环氧合酶 22; 5脂氧化酶; 双重抑制剂

中图分类号: R916 63 文献标识码: A 文章编号: 100727693(2008)0220109206

Advances in the Research on the Cyclooxygenase22 and 5Lipoxygenase Dual Inhibitors

JIANG Bq, XU Jin2yi*, Wu Xiaoming, HuaWeiyi (Department of Medicinal Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

作者简介: 江波, 女, 博士生 * 通讯作者: 徐进宜, 女, 教授 Tel (025) 83271445 E-mail: jinyixu@china.com