

聚 焦

色谱研究的最新重要进展

邹汉法

(中国科学院大连化学物理研究所, 辽宁 大连 116023)

细内径毛细管柱自由溶液用于分离宽范围 DNA 片段

凝胶电泳是分离 DNA 最高效的方法, 但将凝胶注入微纳分离通道或细内径毛细管柱内存在很大的技术难度。为了克服这一技术难题, 美国 University of Oklahoma 的 Shaorong Liu 和 University of Texas at Arlington 的 P. K. Dasgupta 等在无胶、无管壁改性和无外加电场的情况下, 应用流体动力学原理在细内径毛细管柱上实现了宽范围(75 bp ~ 106 kb) DNA 片段的高效分离。他们还对分离后所采集的 DNA 片段的馏分进行了聚合酶链反应(PCR) 扩增实验, 发现采集的 DNA 片段保持了良好的扩增活性。(来源: *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, 132: 41-41)

LC-MS/MS 技术分离鉴定饮用水中的 2,6-二氯-4-苯并醌

用化学试剂对饮用水进行杀毒处理是水处理中广泛采用的技术和方法, 对于饮用水中致病菌的灭杀和防止流行病的发生具有重要作用。饮用水杀毒处理过程中的化学试剂有可能与水中的其他有机试剂发生反应, 产生对人体具有毒副作用的副产物。加拿大 University of Alberta 的 Feng Qin 和 Xingfang Li 等发展了固相萃取样品预处理和 LC-MS/MS 的多级反应监测(MRM) 的分离分析集成技术, 对水中卤代醌的检测灵敏度达到 3 ~ 8.7 ng/L。他们采用所发展的方法在饮用水中检测到由于化学试剂杀毒处理产生的副产物 2,6-二氯-4-苯并醌, 这是国际上第一次在饮用水中检测到 2,6-二氯-4-苯并醌的报道。(来源: *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2010, 49: 790-792)

反相-反相二维液相色谱高效分离分析磷酸化肽的新方法

磷酸化肽的高效分离分析对磷酸化蛋白质组学研究具有重要的意义。多维色谱是实现磷酸化肽高效分离分析的最有效的途径。中国科学院大连化学物理研究所的叶明亮和邹汉法等发展了高正交性反相-反相二维液相色谱分离磷酸化肽的新方法。他们通过对分离流动相的优化, 首先将富集的磷酸化肽混合物在高 pH 流动相下进行 90 min 的梯度分离, 并在每 1 min 采集一个馏分, 再将每间隔 45 min 的馏分混合(如 1 min 与 46 min 馏分混合, 2 min 与 47 min 馏分混合……), 总计产生 45 个馏分。第一维分离的常规方法是每 2 min 采集一个馏分(0-2 min 馏分, 2-4 min 馏分……), 90 min 的梯度分离可采集 45 个馏分。在低 pH 流动相下采用毛细管反相液相色谱-质谱联用技术对第一维采集的馏分进行分离鉴定, 发现第一维分离中将每间隔 45 min 的馏分进行混合的方式可以有效提高二维分离的正交性; 与常规的每 2 min 采集一个馏分的方式相比较, 磷酸化肽的鉴定能力提高了 30% 以上。他们将发展的方法应用于肝脏磷酸化蛋白质组的规模化分析, 在将假阳性率控制在 1% 以下(即 FDR < 1%) 的条件下初步鉴定了 8 000 个以上的磷酸化位点。(来源: *Anal. Chem.*, 2010, 82: 53-56)

纳流通道分离阿升(Attoliter) 级样品的飞升(Femtoliter) 级液相色谱

至今尚无良好的方法与手段对珍贵的极微量生物样品进行分离分析。日本 University of Tokyo 的 Takehiko Kitamori 等报道了飞升级液相色谱(fLC) 的研究成果。他们在玻璃微芯片上制

备了宽度和深度为几百纳米的纳流通道。该系统的尺寸只有常规液相色谱系统的 $1/10^{11}$ 左右, 流动相的流量为亚 $\mu\text{L}/\text{min}$, 进样量为几百阿升。fLC 无需分离固定相, 可以分离电荷不同的化合物。fLC 可以克服常规液相色谱分离固定相非均一性和涡流扩散的缺点。液相色谱尺寸的缩小不仅具有进样量小的优点, 而且可有效提高分离效率。fLC 可以应用于极微量样品(如单细胞样品)的高效分离分析。(来源: *Anal. Chem.*, 2010, 82: 543 - 547)

全二维气相色谱-飞行时间质谱应用于化学武器前体痕量杂质的特征指纹分析

化学攻击作为潜在的恐怖活动正日益引起关注。美国 University of Washington 的 Carlos G. Fraga 等探讨了将样品分析和化学计量学相结合的方法用于化学攻击犯罪案件中法医鉴定的可行性。他们以一种有可能作为化学武器攻击的有毒试剂——甲基磷酸二甲酯(DMMP)作为模型化合物, 以 29 种痕量杂质为检测对象, 应用全二维气相色谱-飞行时间质谱($\text{GC} \times \text{GC}-\text{TOF}$)对 6 批 DMMP 样品中的痕量杂质进行了指纹分析。进一步使用平行因子法(PARAFAC)对重叠峰进行数学分辨处理获得清晰的谱图, 并通过与谱图库中标准谱图的比对成功地鉴定了检测到的化合物。通过对每一对样品的数据进行统计分析, 结果表明其中 5 批 DMMP 样品中的痕量杂质化合物的含量有些很相近, 有些存在一定的差异。而有 2 批 DMMP 样品中的痕量杂质则具有完全相同的指纹谱图。运用非负矩阵因子分析发现, DMMP 样品由于得分值不同可以分为 5 类, 其中有 2 个来自同一供应商的同一批样品不能实现区分, 这是由于它们的痕量杂质含量相同造成的, 而其他 4 个样品由于来自于不同批次或不同供应商而得到了很好的区分。这一结果表明可以通过痕量杂质的指纹分析有效追踪 DMMP 产品的来源。此外, 他们还发现不同公司的某些 DMMP 样品存在特异性的痕量杂质分布。因此所发展的方法有可能成为化学攻击犯罪案件中法医鉴定可采用的有效手段。(来源: *Anal. Chem.*, 2010, 82: 689 - 698)