

# 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:**1007-7693(2008)02-0105-05

---

**基金项目:**大连市科技局优秀青年人才基金资助(No. 2006J23JH024)

**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

# Application of Recent Biological Mass Spectrometry in Biomacromolecules Analysis and Research

WANG Xiao-na, XU Li-na, PENG Jin-yong\*, LIU Ke-xin (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 focuseed 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<sup>[1]</sup>。它主要对蛋白质、多肽、细胞因子等生物大分子进行定性及定量分析。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<sup>[2]</sup>。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<sup>[3]</sup>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化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<sup>[4]</sup>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/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** Erni等<sup>[5]</sup>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<sup>[6]</sup>。王英武等<sup>[7]</sup>利用电喷雾离子化质谱-串联四极杆-飞行时间质谱法(ESI-Qq-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 $20 \times 10^{-6}$ , 能直接区分赖氨酸与谷氨酰胺残基( $\Delta m = 0.036$  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<sup>[8]</sup>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,基质得使待测物离子化,同时要求 MALDI-MS 的激光波长为 337 nm 和 10.6  $\mu\text{m}$ 。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 1:(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<sup>[8]</sup>和 Hillenkamp 法<sup>[9]</sup>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,能耐高温浓度盐、缓冲剂和其他非挥发性成分等显著优点。

**1.2.1 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<sup>[10]</sup>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。质谱中除上述绍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 0.01% 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-O-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 2-DE 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<sup>[11]</sup>,但是 SELDI-TOF-MS 也有一些缺点,如①它只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;②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;③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-生物分子相互作用分析(surface plasmon resonance - biomolecular interaction analysis, SPR-BIR)与MALDI-TOF-MS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-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	2D-LC/MALDI-TOF/MS	Proteomic analysis of rat plasma <sup>[12]</sup>
2	LC-ESI-MS/MS	Site-specific N-glycosylation analysis of human plasma ceruloplasmin. Quality control of intact proteins <sup>[13-14]</sup>
3	LC-MALDI-MS/MS	Protein identification, Analysis of protein complexes <sup>[15-16]</sup>
4	SELDI-TOF/MS	Identification of differentially expressed proteins. Altered expression of serum protein, Search for tumour markers <sup>[17-19]</sup>
5	LC/MALDI- triple- Q/MS	Targeted comparative proteomics <sup>[20]</sup>
6	Ion trap-FTICR-MS	Analysis of phosphopeptides, Analysis of phosphopeptides <sup>[21-22]</sup>
7	MALDI-FTICR-MS	Imaging of Peptides in the Rat Brain, Identification of N-glycosylation sites of the murine neural cells <sup>[23-24]</sup>
8	MALDI-TOF-TOF/MS	Analysis of Amino Acid, Analysis of Protein Standards <sup>[25-26]</sup>
9	2D-GE/ MALDI-TOF/MS	Identified of Protein fragment domains <sup>[27]</sup>
10	HPLC-ESI-TOF/MS	Toward high sequence coverage of proteins in human breast cancer cells <sup>[28]</sup>

### 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 spectrometry-based proteomics [J]. Nature, 2003, 422 (6928) : 198-207.  
 [3] YAMASHITA M, FENN J B. Electrospray ion source: another variation on the freejet theme [J]. J Phys Chem, 1984, 88 : 4451-4459.  
 [4] WHITEHOUSE C M, DREYER R N, YAMASHITA M, et al. Electrospray interface for liquid chromatographs and mass spectrometers [J]. Anal Chem, 1985, 57 : 675-679.  
 [5] ERNI F, FREI R W. Two-dimensional column liquid chromatographic technique for resolution of complex mixtures [J]. Chromatogr, 1978, 149 : 561-569.  
 [6] STUTZ 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-质谱-质谱”(nanospray-LC-ms-ms)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(200-300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LC-ESI-MS/MS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LC-MALDI/MS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 (7-8) : 1254-90.  
 [7] WANG Y W, WANG L. Studies on Primary Structures of Oligopeptides by Electrospray Ionization Quadrupole Time-of-flight Mass Spectrometry [J]. Chin J Anal Chem(分析化学), 2003, 31 (6) : 709.  
 [8] TANAKA K, WAKI H, IDO Y, et al. Protein and polymer analysis up to  $m/z$  100,000 by laser ionisation time-of-flight mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 1988, 2(8) : 151-153.  
 [9] KARAS M, HILLENKAMP F. Laser desorption ionisation of proteins with molecular masses exceeding 10,000 daltons [J]. Anal Chem, 1988, 60 : 2299-2301.  
 [10] BODNAR W M, BLACKBURN R K, KRISSE J M, et al. Exploiting the complementary nature of LC/MALDI/MS/MS and LC/ESI/MS/MS for increased proteome coverage [J]. J Am Soc Mass Spectrom, 2003, 14(9) : 971-979.  
 [11] WILLIAM CHI-SHING CHO. Research progress in SELDI-TOF MS and its clinical applications [J]. Chin J Biotechnol(生物工程学报), 2006, 22(16) : 871-877.  
 [12] LINKE T, ROSS A C, HARRISON E H. Proteomic analysis of rat plasma by two-dimensional liquid chromatography and matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2006, 1123(2) : 160-169.  
 [13] HARAZONO A, KAWASAKI N, ITOH S, et al. Site-specific N-glycosylation analysis of human plasma ceruloplasmin using liquid

- chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry [ J ]. *Anal Biochem*, 2006, 348 ( 2 ) : 259-268.
- [ 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 ( 1-2 ) : 188-194.
- [ 15 ] ZHONG H, MARCUS S L, LI L. 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 ) : 471-481.
- [ 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 ) : 803-822.
- [ 17 ] JUNG Y M, CHUNG H Y, HAN B D, *et al*. Application of SELDI-TOF mass spectrometry for the identification of differentially expressed proteins by formaldehyde exposure [ J ]. *Toxicol Lett*, 2006, 164 ( 1 ) : S299.
- [ 18 ] CHO W C, YIP T T, CHUNG W S, *et al*. Altered expression of serum protein in ginsenoside Retreated diabetic rats detected by SELDI-TOF MS [ J ]. *J Ethnopharmacol*, 2006, 108 ( 2 ) : 272-279.
- [ 19 ] ENGWEGEN J Y, GAST M C, SCHELLENS J H, *et al*. Clinical proteomics: searching for better tumour markers with SELDI-TOF 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, IHLING C, AMMERER G, *et al*. Application of different fragmentation techniques for the analysis of phosphopeptides using a hybrid linear ion trap-FTICR mass spectrometer [ J ]. *Biochim Biophys Acta ( BBA) - Proteins Proteomics*, 2006, 1764 ( 12 ) : 1842.
- [ 22 ] PETERMAN S M, MULHOLLAND J J. A Novel Approach for Identification and Characterization of Glycoproteins Using a Hybrid Linear Ion Trap/FT-ICR 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-FTICR Mass Spectrometry [ J ]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2007, 18 ( 1 ) : 145-151.
- [ 24 ] ALBACH C, DAMOC E, DENZINGER T, *et al*. Identification of N-glycosylation sites of the murine neural cell adhesion molecule NCAM by MALDI-TOF and MALDI-FTICR mass spectrometry [ J ]. *Anal Bioanal Chem*, 2004, 378 ( 4 ) : 1129-1135.
- [ 25 ] NATALIA V G, TODD W, MICHAILA A. MALDI-TOF-TOF Tandem Mass Spectrometry as a New Tool for Amino Acid Analysis [ J ]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2007, 18 ( 2 ) : 279-284.
- [ 26 ] FALKNER J A, KACHMAN M, VEINE D M, *et al*. Validated MALDI-TOF/TOF Mass Spectra for Protein Standards [ J ]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2007, 18 ( 5 ) : 850-855.
- [ 27 ] PERSON M D, SHEN J, TRANER A, *et al*. Protein fragment domains identified using 2D gel electrophoresis /MALDI-TOF [ J ]. *J Biomol Tech*, 2006, 17 ( 2 ) : 145-156.
- [ 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-ESI-TOF MS compared to CE MS [ J ]. *Electrophoresis*, 2006, 27 ( 11 ) : 2126-2138.