

行波离子迁移质谱技术在蛋白质结构研究中的应用

贾 伟, 赵 焱, 钱小红

(蛋白质组学国家重点实验室, 北京蛋白质组研究中心, 军事医学科学院放射与辐射医学研究所, 北京 102206)

摘要: 离子迁移 (ion mobility) 是一种在分子离子化后, 非溶液环境下的分离技术。与依靠离子质量与电荷比进行分离的质谱技术不同, 离子迁移是根据离子形状与电荷比实现分离的。因此, 离子迁移技术可以实现对质量相同而形状不同的离子分离, 其与质谱技术联用可为研究者提供更加丰富的结构信息。最新发展的行波离子迁移技术大大提高了灵敏度和分离速度, 适用于研究天然浓度条件下的蛋白质, 其在蛋白质单体折叠与去折叠以及蛋白复合体亚基组装的研究中已崭露头角。

关键词: 离子迁移; 行波离子迁移谱; 蛋白折叠; 蛋白四级结构

中图分类号: O 657. 63 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-2997(2010)02-0065-07

The Application of Travelling Wave Ion Mobility-Mass Spectrometry in Protein Structure Research

JIA Wei, ZHAO Yan, QIAN Xiao-hong

(State Key Laboratory of Proteomics, Beijing Proteome Research Center, Beijing Institute of Radiation Medicine, Beijing 102206, China)

Abstract: Different from mass spectrometry, whose separation is depended on the mass to charge, the ion mobility spectrometry (IMS) separate gaseous ions based on their size and shape. Thus the combination of IMS and MS can provide more information of protein structure. The travelling wave ion mobility spectrometry (TWIMS) is a new member of IMS family with good sensitivity and quick analysis rate. TWIMS-MS is suitable for analyzing the large molecular structure at biological concentration and within biological timescales, and its applications of protein complex structure and protein folding progress research have been paid great attention.

Key words: ion mobility; travelling wave ion mobility spectrometry; protein folding; quaternary structure of protein

收稿日期: 2009-10-19; 修回日期: 2010-02-09

基金项目: 国家自然科学基金(20735005、20635010、20875101、30900258), 国家重点基础研究计划 973 项目(2007CB914100)资助

作者简介: 贾 伟(1981~), 男(汉族), 山西人, 助理研究员, 从事蛋白质组学研究。E-mail: pro-jw@163.com

通信作者: 钱小红(1955~), 女(汉族), 江苏人, 研究员, 从事蛋白质组学研究。E-mail: qianxh1@yahoo.com.cn

1 行波离子迁移质谱的特点及结构

蛋白质分子通过离子迁移技术进行分离的过程为:离子化的蛋白质(如通过电喷雾离子化)被注入具有一定压强的惰性气体和弱电场的离子导向器中,在被电场驱使移动的过程中与惰性气体不断地发生碰撞,体积较大的离子发生碰撞的机会多,因此在离子导向器腔中迁移所需的时间较长,最终实现不同种类离子的分离,并记录相应的漂移时间。此外,结构相同但带有较高电荷的离子,因具有更高的电势能,移动速度将更快。目前主要有 4 种离子迁移技术与质谱联合使用:漂移时间离子迁移谱(drift-time ion mobility spectrometry, DTIMS)、吸入离子迁移谱(aspiration ion mobility spectrometry, AIMS)、差异离子迁移谱(differential-mobility spectrometry, DMS)或场不对称波形离子迁移谱(field-asymmetric waveform ion mobility spectrometry, FAIMS)和行波离子迁移谱(traveling wave ion mobility spectrometry, TWIMS)^[1]。其中,最新出现的行波离子迁移技术的分辨率尽管较低,但其灵敏度好,分离速度快,与质谱结合可用于天然浓度下的蛋白结构分析。离子迁移质谱技术与 X 射线晶体衍射(X-ray crystallography)及核磁共振技术(nuclear magnetic resonance spectroscopy)相比,不需要蛋白结晶或氘代标记,并且可以对单体蛋白的折叠、去折叠过程,以及同一蛋白复合体的不同功能形式的结构及其组装过程进行分析^[2-5]。该技术正逐渐成为蛋白质结构研究中的一种重要手段。

如前所述,离子迁移分离是通过离子与背景气体分子不断地碰撞实现的,但在与气体分子碰撞的过程中,离子动能被冷却,使其移动速度变慢,导致传输时间增长,工作循环(duty cycle)频率降低,从而影响样品的分析灵敏度,不利于与高效液相色谱联用分析复杂样品。而行波离子迁移采用的叠环离子导向器(stacked ring ion guide, SRIGs),是由圆心在同一条直线上的多个相同的环状电极等间距堆叠排列组成^[6-7]。工作时,对导向器施加两种电压:在各电极依次传递的瞬间直流电压以及相邻电极上的反相射频电压(radio-frequency, RF)。其中前者产生移动的电场波,推动离子沿导向器轴向前进,保证离子可以快速移动,使传输时间缩短,而获得较好的灵敏度,此外还有助于提高分辨率和减小交叉

干扰(cross-talk)^[6]。目前唯一商品化的行波迁移质谱 SYNAPT 中的导向器含有 122 个环状电极(孔径 2.5 mm,厚度 0.5 mm,间距 1.5 mm,腔长 185 mm,导向器两末端电极孔径 2 mm),每相隔 6 对电极的电极对(即第 1、8、15……对电极,第 2、9、16……对电极,以此类推)同步地施加相同的直流脉冲电压。工作时,直流脉冲电压依次加至紧邻的下一个电极上而形成移动的电场,每 7 个电极就会有一个电压波沿离子导向器轴向运动。电场波的移动速度为 2 倍电极间距除以脉冲直流电压保持时间(如 2 倍电极间距为 3 mm,脉冲保持时间为 10 μs ,则波速为 300 $\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$,单个波通过导向器的时间为 530 μs ,每 70 μs 有一个波移动至导向器出口)。产生的行波电场如海浪一样连续不断地由引导器入口向出口移动,而离子像“冲浪”一样被推动。可以通过“SIMION 模拟”理解离子的运动过程:行电场波推动的离子向前运动,蛋白离子不断地与导向器中的惰性气体分子发生碰撞而使移动减慢,速度逐渐变慢的蛋白离子无法与推动其前进电场波保持同速而被迫“抬升”至电场波顶部并随之“滚入”后面的电场波谷中,如此周期循环向前移动。移动性差的离子翻滚次数多,因此需要较长的时间完成传输,不同离子得以分离^[6,8]。离子迁移速度主要与电压波的速度,高度以及背景气压相关。前两者是实验时优化分离效果的主要调节参数。

在 SYNAPT 构造中,起分离作用的行波叠环离子导向器(travelling wave SRIGs)前后还各有一个与之结构相似,但长度较短的离子导向器,分别是行波离子导向收集器(trap TWIG)和行波离子导向转移器(transfer TWIG)。前者的作用为聚集离子并将聚集的离子束注入分离离子导向器中;后者将经过分离的离子分 200 批依次传递给正交加速飞行时间质谱(orthogonal acceleration TOF, oa-TOF)。转移相邻批次离子的间隔时间被称为推动周期(push period 记为 t_p 或 t_{pp})。推动周期的时间长度是由质谱的采集范围决定,采集质荷比范围越大,时间则越长,一般为微秒级(如采集 m/z 500~3 000 需要 90 μs)。一束经过离子迁移分离并被记录的时间为 $200 \times t_p$ (一般为 15~30 ms,上例中 $200 \times 90 \mu\text{s} = 18 \text{ms}$)。为增强信号,可在一定时间内(如 1 s 内)将各离子束中相同批次扫描的质谱信号对应叠加。收集器将离子注入的周期

与完成一束离子的采集时间同步 ($200 \times t_p$)^[7]。此外,收集器和转移器加上直流碰撞电压还可以使离子发生碰撞诱导解离 (collision-induced dissociation, CID) 产生结构相关的断裂。

散射现象对离子的聚焦和传输有着非常重要的影响。为提高离子传输效率,行波离子迁移技术在相邻环状电极上还将施加反相射频电压,这可在导向器圆柱型内腔中形成与其同轴的管状辐射限制等势壁垒 (radially confining effective potential well)。管状辐射限制等势壁垒的“管壁”为均匀的环形褶皱,“管壁”纵截面形似正弦曲线^[6],这种技术的应用可以显著减少扩散作用造成的离子损失而达到聚焦作用,这是其突出的优点。

2 离子迁移技术的数据形式

离子迁移谱直接获得的数据是离子的漂移时间 (drift time, t_D),其长短反映了离子的碰撞截面 (collision cross-section, CCS, 用 Ω 表示) 大小。碰撞截面更完整的被称为旋转平均碰撞截面 (rotationally averaged collision cross sections)^[5],它是离子形状的综合反映。如前所述,碰撞截面小的离子迁移速度快,漂移时间短。离子迁移谱的分离能力采用分辨率 (R) 衡量,它被定义为特定离子漂移时间分布的中心点时间

除以峰半高处的漂移时间宽度 (分别以漂移时间和离子信号强度作为横纵坐标)。分辨率越高,说明分离能力越强。将离子迁移与质谱联用后可以得到三维信息,包括离子质荷比、漂移时间和信号强度。离子迁移-质谱图 (IMMS spectrum) 是以质荷比 (m/z) 和漂移时间 (ms) 作为直角坐标系的两坐标轴,并以颜色深浅表示信号强度,示于图 1^[9]。

在离子迁移-质谱图中,同类离子 (如多肽离子、寡糖离子) 沿同一趋势线 (trend line) 分布^[1],如带有相同电荷数的离子所形成的趋势线。在质荷比作为漂移时间的函数坐标系中,同类分子的高电荷离子趋势线斜率大于低电荷离子,这对区分大量单电荷的化学背景噪音非常有益。另外,离子所属的趋势线类别信息也可辅助确认质谱鉴定结果。除各趋势线的位置关系提供的信息外,同一趋势线区域内的不同信号位置同样蕴含着丰富的信息,如在上述坐标中,分布在趋势线中心偏上方的离子较其同类离子的平均折叠状态更为紧密^[9]。此外,同一趋势线在不同条件下的形状变化也非常值得关注,如下面将提到的在溶液 pH 变化至某值,蛋白趋势线分布突然变宽,提示蛋白变性解折叠过程的突变条件^[4]。

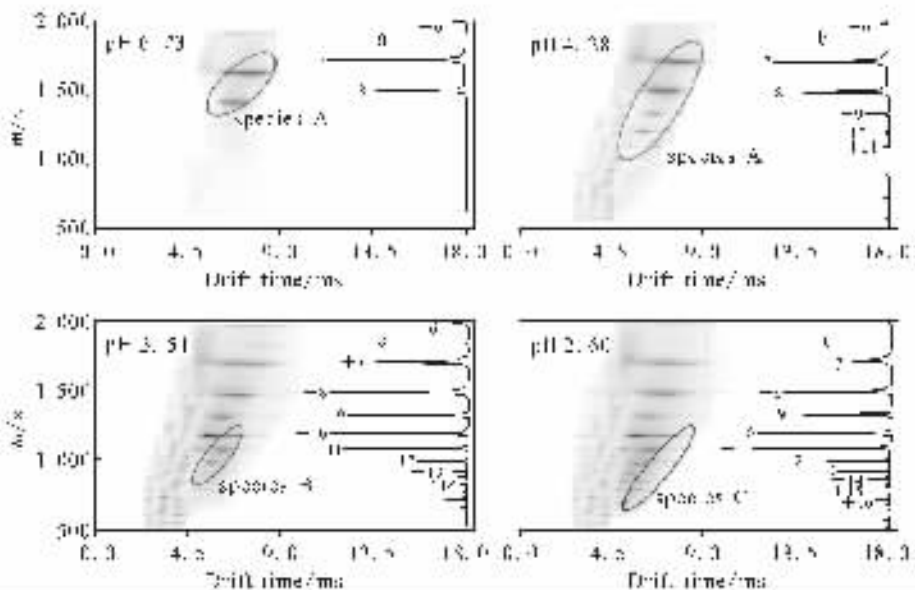


图 1 野生型 β_2m 蛋白在不同 pH 条件下的离子迁移-质谱图

Fig. 1 IMS-MS driftscope plots for wild-type β_2m at different pH (picture from J Am Soc Mass Spectrom, 2007, 18:2 180-2 190. Copyright with permission from Elsevier)

3 离子迁移质谱的应用

3.1 单体蛋白折叠结构分析

离子迁移质谱技术的研究对象是气相中的离子化蛋白质,而生命活动中的蛋白质多是在液体环境中的分子,那么离子迁移质谱是否可以天然状态的蛋白质结构研究提供信息呢?结果是肯定的。已知通过电喷雾离子化(electrospray ionization,ESI)可使蛋白质携带多个电荷,这是由质子附着于蛋白质表面的碱性氨基酸残基产生的,并与蛋白质在液相中的结构相关。有假说认为,低电荷状态的蛋白质离子具有或接近天然状态的蛋白质构象。因为天然状态的蛋白质折叠紧密,较解折叠结构,表面只有少数暴露的碱性氨基酸残基,因而通过质子离子化的程度低。反之,部分去折叠的蛋白质因为具有较大的溶液接触表面积,而在液相至气相的转换中接受更多的质子。许多研究表明,通过控制电喷雾条件可以维持蛋白质的构象,而且此构象在离子化后的短时间内也可以保持。离子迁移质谱采用的离子化方法及其毫秒级分析速度可以满足这些要求,因此可以将气相中的离子化蛋白质作为其在溶液环境中的“镜像结构”采用离子迁移质谱进行研究^[10-14]。

Ashcroft 等^[4]对从中性至酸性溶液环境中发生的 β_2 -微球蛋白去折叠过程进行研究,这是使用ESI-TWIMS-MS研究单体蛋白去折叠的一个范例。在溶液酸性逐渐增强的过程中(pH 6.23,4.28,3.54,2.60), β_2 -微球蛋白在离子迁移-质谱图中的趋势线由一条增多为三条(分别标记为漂移时间最短的A类、稍长的B类和最长的C类离子),漂移时间长的趋势线所属的离子电荷数高,酸性越强携带高电荷的离子越多,示于图1。在溶液pH 6.23时, β_2 -微球蛋白紧密折叠,蛋白主要为+7和+8以及少量的+6电荷离子。在离子迁移-质谱图的同一趋势线上,记为A类,在溶液调至pH 4.28时,离子带电数目扩展为+6至+11,其中+7和+8电荷离子仍占多数,而在新出现的+10和+11电荷离子明显为两类,其中漂移时间较短的一类与+7、+8电荷离子在一条趋势线上。较长漂移时间离子的出现表示有不同折叠状态类型离子出现(记为B类)。在pH降至3.54时,B类离子更为明显,而且出现+12、+13、+14电荷离子,并且有漂移时间更长的离子信号隐隐出现。在溶液

pH 2.60时,漂移时间更长的C类离子趋势线清晰可见,并且出现更高带电状态的+15、+16电荷离子。A类离子的带电数也增至+12。漂移时间的延长和带电状态的提高表示蛋白从紧密折叠向去折叠状态转变。通过分析三类离子在一定pH下的迁移峰面积比,可以判断蛋白在不同溶液环境中不同折叠状态所占的比例。分析结果显示,代表天然状态的A类离子在pH 2.5时,仍占全部离子的45%,这与低pH环境下蛋白质很少以天然状态存在的理论相矛盾。进一步观察A类中+8和+7电荷离子的迁移峰随pH降低而变宽,并在pH 4左右处急剧变宽,提示虽然在pH 6时离子构象均匀,但在低pH环境,代表同一类A趋势线区域离子已有部分发生解折叠。Ashcroft等指出,在pH 2.5环境下,如果将较高电荷的A类离子作为第4种解折叠状态,而+7和+8电荷离子看作天然状态,那么此酸性条件下仍保持天然结构的蛋白占总数的15%,这与相关研究一致。进一步对 β_2 -微球蛋白17A突变体和17A/P32G双突变体研究,发现在中性条件下,17A突变体的离子迁移-质谱图与野生型相似,提示其未发生解折叠;而在中性条件下的7A/P32G双突变体的离子迁移-质谱图与野生型在pH 4.28时相似,表示其在天然环境中就已经有部分蛋白发生变性。

3.2 蛋白复合体结构分析

应用行波离子迁移质谱对蛋白复合体的高级结构研究是其另一重要的应用。除样品准备外,实验主要经过3个步骤:1)优化待研究蛋白复合体的离子迁移分离条件(主要对形波高度和速度进行优化,以获得高分辨率数据);2)利用已知碰撞截面的标准物蛋白,建立在已优化条件下的漂移时间与碰撞截面间的函数关系;3)获得研究目标蛋白的漂移时间,利用已构建函数计算其碰撞截面,并根据后者对蛋白复合体结构建模^[9]。

标准物蛋白的碰撞截面可以通过两种方法获得:1)对于三维结构已知的标准蛋白可由MOBCAL软件计算碰撞截面^[15-16]。有3种计算方法:(1)投影近似法(projection approximation,PA),这种方法一般会低估大分子的截面积,它是通过对一个分子在各方向的投影均一化,因此没有考虑分子与背景气体的相互作用;(2)轨道法(trajjectory method),这种方法考虑

了各种相互作用,但是计算强度很大;(3)精确硬球散射模型(exact hard-sphere scattering model, EHSS),它使用轨迹计算,虽然忽略了长范围相互作用,但其结果与轨道法十分相近^[5]。2)采用经典的离子迁移方法测量标准蛋白漂移时间后,直接计算其碰撞截面^[9,17]。计算方法为:

$$\Omega = \frac{(18\pi)^{1/2}}{16} \frac{ze}{(k_b T)^{1/2}} \left[\frac{1}{m_1} + \frac{1}{m_N} \right]^{1/2} \frac{t_p E}{L} \frac{760}{P} \frac{T}{273.2 N}$$

其中, z 是离子带电数, e 是一个电子的电量, k_b 为玻尔兹曼常数, T 为温度, m_1 为离子质量, m_N 为中性气体质量, E 为电场强度, L 为漂移管长度, P 为压力, N 为中性气体数密度^[18-19]。此外,已有公开数据源提供可作为标准蛋白的碰撞截面参数,可以直接使用,如 Clemmer Cross Section Database^[20]。

通过标准品建立相关函数这条“弯路”是由于行波迁移中所采用的电场并不是均衡的静电场,无法利用以上公式直接计算碰撞截面,只能采用标准品的碰撞截面与漂移时间数据建立函数关系,从而计算蛋白样品的碰撞截面。通过观察大量已知数据,发现离子的碰撞截面与 tDX 成比例。其中 tD 是漂移时间, X 是经验常数。 X 值与行波电场的高度,速度等许多因素相关^[3,21-24]。Scrivens^[25-26]教授实验室已将校正过程采用 Excel 软件编程,公布于国际互联网,使校正过程易于操作。

在获得研究目标蛋白复合体的碰撞截面后,可通过结构建模推测相应的四级结构。Robinson 等^[3]采用行波离子迁移质谱研究 Trap 蛋白(trap RNA binding attenuation protein)复合体的四级结构是一个具有代表性的工作。Trap 蛋白相对分子质量约 8 000 u,可形成环状 11 聚体,以色氨酸作为辅基,并与 RNA 结合。该研究应用分子动力学方法对复合体进行结构建模,其过程为:采用与亚基直径近似的球代替 Trap 蛋白并以位能面(potential energy surface)驱动蛋白复合体从环形变化至塌陷形结构的模拟,再计算一系列相应的理论碰撞截面。研究中,通过实验碰撞截面数据与理论值对比,发现在缺水环境的气相离子条件下,此蛋白复合体的 +19 电荷离子仍有相当部分保持天然的环状结构。研

究还发现,虽然在辅基结合及脱辅基的两种状态下,复合体的 +19 电荷离子漂移时间无本质差别,但脱辅基形式在电荷状态较高的 +20 电荷离子漂移时间表现出双峰分裂状态(辅基结合形式仍为单峰),这表明色氨酸辅基的结合有助于稳定复合体结构。此外,该实验还发现一个没有预想到的结果:实验中,虽然每个亚基的平均电荷所产生的静电斥力远不足以使蛋白结构变化,但 Trap 蛋白复合体的结构却表现为与荷电数相关,示于图 2。通过改变仪器接口处大气压下的加速电压使蛋白复合体具有不同内能。实验发现 +22 电荷离子在低能状态下(加速电压 50 V、125 V),漂移时间短,表明结构为紧密塌陷状态。内能提高后(加速电压 175 V),漂移时间变长,表明碰撞截面大,体积扩张;与之相反, +19 电荷离子在低内能下碰撞截面最大,为环状天然结构,而提高加速电压使复合体内能升高后,碰撞截面变小,说明结构发生塌陷。以上表明,带电不同引起的复合体蛋白结构变化是由于内能变化引起的。复合体携带高电荷时,与惰性气体的碰撞能量积蓄为蛋白复合体内能而导致结构改变。

4 总 结

行波离子迁移质谱技术不但可以“去除”样品处理过程中繁杂的化学试剂产生的噪音信号,而且其灵敏度高和扫描速度快的优点对于分析低浓度的生物样品以及迅速变化的蛋白质结构都独具优势。该技术与碰撞诱导解离和电子转移解离(electron transfer dissociation, ETD)等碎裂技术结合使用,可以提供更多丰富的结构信息。如 Chen 等^[27]在对糖肽的研究中,首先在离子引导收集器中采用低能量优先将糖肽的糖链部分碎裂,经过离子迁移分离后,再在转移器中将分离出的肽段离子(只与一个糖残基相连)碎裂。这样通过一次实验就同时获得糖链及肽段的高质量碎片信息。虽然目前的行波离子迁移质谱还处在第一代阶段,分辨率有待提高(如采用串联离子迁移技术^[28-29]),但其在蛋白质结构解析,大分子相互作用以及蛋白质组学等方面具有广阔的应用前景,必将被越来越多的研究者青睐。

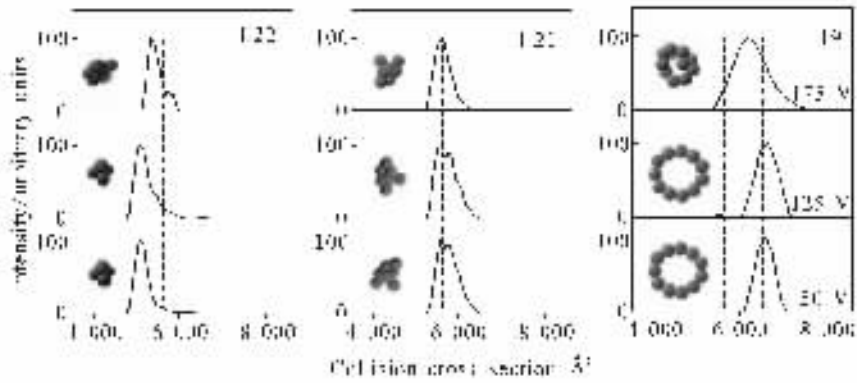


图 2 不同活化能下脱辅基 Trap 蛋白的碰撞截面变化

Fig. 2 Collision cross-section diversification of apo Trap at different activation energy (picture from Science, 2005, 310:1 658-1 661. Reprinted with permission from AAAS)

参考文献:

- [1] KANU A B, DWIVEDI P, TAM M, et al. Ion mobility-mass spectrometry [J]. J Mass Spectrom, 2008, 43: 1-22.
- [2] SCARFF C A, THALASSINOS K, HILTON G R, et al. Travelling wave ion mobility mass spectrometry studies of protein structure: biological significance and comparison with X-ray crystallography and nuclear magnetic resonance spectroscopy measurements [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2008, 22: 3 297-3 304.
- [3] RUOTOLO B T, GILES K, CAMPUZANO I, et al. Evidence for macromolecular protein rings in the absence of bulk water [J]. Science, 2005, 310 (5 754): 1 658-1 661.
- [4] SMITH D P, GILES K, BATEMAN R H, et al. Monitoring copopulated conformational states during protein folding events using electrospray ionization-ion mobility spectrometry-mass spectrometry [J]. J Am Soc Mass Spectrom, 2007, 18 (12): 2 180-2 190.
- [5] SCARFF C A, PATEL V J, THALASSINOS K, et al. Probing hemoglobin structure by means of traveling-wave ion mobility mass spectrometry [J]. J Am Soc Mass Spectrom, 2009, 20: 625-631.
- [6] GILES K, PRINGLE S D, WORTHINGTON K R, et al. Applications of a travelling wave-based radio frequency only stacked ring ion guide [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2004, 18: 2 401-2 414.
- [7] PRINGLE S D, GILES K, WILDGOOSE J L, et al. An investigation of the mobility separation of some peptide and protein ions using a new hybrid quadrupole/travelling wave IMS/oa-ToF instrument [J]. Int J Mass Spectrom, 2007, 261: 1-12.
- [8] SHVARTSBURG A A, SMITH R D. Fundamentals of traveling wave ion mobility spectrometry [J]. Anal Chem, 2008, 80: 9 689-9 699.
- [9] RUOTOLO B T, BENESCH J L, SANDERCOCK A M, et al. Ion mobility-mass spectrometry analysis of large protein complexes [J]. Nat Protoc, 2008, 3: 1 139-1 152.
- [10] JARROLD M F. Peptides and proteins in the vapor phase [J]. Annu Rev Phys Chem, 2000, 51: 179-207.
- [11] WYTTEBACH T, BOWERS M T. Gas-phase conformations: the ion mobility/ion chromatography [J]. Method, 2003, 225: 207-232.
- [12] BOHRER B C, MERENBLOOM S I, KOENIGER S L, et al. Biomolecule analysis by ion mobility spectrometry [J]. Annu Rev Anal Chem, 2008, 1: 293-327.
- [13] RUOTOLO B T, ROBINSON C V. Aspects of native proteins are retained in vacuum [J]. Curr Opin Chem Biol, 2006, 10: 402-408.
- [14] CLEMMER D E, VALENTINE S J. Bioanalytical chemistry Protein oligomers frozen in time [J]. Nat Chem, 2009, 1: 257-258.
- [15] MESLEH M F, HUNTER J M, SHVARTSBURG A A, et al. Structural information from ion mobility measurements: effects of the long-range potential [J]. J Phys Chem, 1996, 100: 16 082-16 086.
- [16] SHVARTSBURG A A, JARROLD M F. An exact hard-spheres scattering model for the mobili-

- ties of polyatomic ions [J]. Chem Phys Lett, 1996, 261: 86-91.
- [17] VERBECK G, RUOTOLO B, SAWYER H, et al. A fundamental introduction to ion mobility mass spectrometry applied to the analysis of biomolecules [J]. J Biomol Tech, 2002, 13: 56-61.
- [18] MASON E A, MCDANIEL E W. Transport properties of ions in gases [M]. Wiley: New York, 1988: 137-216.
- [19] PLASENCIA M D, ISAILOVIC D, MERENBLOOM S I, et al. Resolving and assigning N-linked glycan structural isomers from ovalbumin by IMS-MS [J]. J Am Soc Mass Spectrom, 2008, 19: 1 706-1 715.
- [20] CLEMMER GROUP. Introduction to ion mobility methods [CP/OL]. <http://www.indiana.edu/~clemmer/Research/cross%20section%20database/cs%20database.htm>.
- [21] WILDGOOSE J L, GILES K, PRINGLE S D, et al. A comparison of travelling wave and drift tube ion mobility separations [C]. In Proceedings of the 54th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Seattle, WA, 2006.
- [22] WILLIAMS J P, SCRIVENS J H. Coupling desorption electrospray ionisation and neutral desorption/extractive electrospray ionisation with a travelling-wave based ion mobility mass spectrometer for the analysis of drugs [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2008, 22: 187-196.
- [23] SCRIVENS J H, THALASSINOS K, HILTON G, et al. Use of a travelling wave-based ion mobility Approach to resolve proteins of varying conformation [C]. In Proceedings of the 55th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Indianapolis, IN, 2006.
- [24] SMITH D P, KNAPMAN T W, CAMPUZANO I, et al. Deciphering drift time measurements from travelling wave ion mobility spectrometry - mass spectrometry studies [J]. Eur J Mass Spectrom, 2009, 15: 113-130.
- [25] THALASSINOS K, GRABENAUER M, SLADE S E, et al. Characterization of phosphorylated peptides using traveling wave-based and drift cell ion mobility mass spectrometry [J]. Anal Chem, 2009, 81: 248-254.
- [26] SCRIVENS GROUP. Biological sciences [CP/OL]. <http://www2.warwick.ac.uk/fac/sci/bio/research/jscrivens/>.
- [27] OLIVOVA P, CHEN W, CHAKRABORTY A B, et al. Determination of N-glycosylation sites and site heterogeneity in a monoclonal antibody by electrospray quadrupole ion-mobility time-of-flight mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2008, 22: 29-40.
- [28] MERENBLOOM S I, KOENIGER S L, BOHRER B C, et al. Improving the efficiency of IMS-IMS by a combing technique [J]. Anal Chem, 2008, 80: 1 918-1 927.
- [29] KURULUGAMA R T, VALENTINE S J, SOWELL R A, et al. Development of a high-throughput IMS-IMS-MS approach for analyzing mixtures of biomolecules [J]. J Proteomics, 2008, 71: 318-331.

更 正

《质谱学报》2010 年第 31 卷第 1 期《碰撞/反应池 ICP-MS 性能及应用进展》一文,将第二作者“胡静宇”改为“胡净宇”,特此更正。