Vol.42 No.5 401~409

年度回顾

DOI: 10.3724/SP.J.1123.2024.02007

2023 年毛细管电泳技术年度回顾

邵宇辰¹, 温亚伦¹, 赵新颖^{2*}, 屈 锋^{1*} (1. 北京理工大学生命学院, 北京 100081; 2. 北京电子科技职业学院, 北京 100176)

摘要: 为方便读者快速了解毛细管电泳(capillary electrophoresis, CE) 技术在 2023 年的发展,根据国际通用学术水平评价指标之一的影响因子(IF)选择期刊,结合与 CE 技术紧密相关的实验类工作回顾了 2023 年的重要研究和应用进展。在 ISI Web of Science 数据库中通过主题检索所获得的 2023 年 CE 技术相关的 669 篇研究论文中,重点介绍了 IF 大于 10.0 的 Nature Communications, Nucleic Acids Research, Engineering, Journal of Medical Virology 和 Carbohydrate Polymers 发表的 5 篇实验类论文; IF 为 5.0~10.0 的代表性期刊 Analytical Chemistry, Analytica Chimica Acta, Talanta 和 Food Chemistry 的 31 篇实验类论文; 对 IF 小于 5.0 但 CE 技术报道较为集中的 Journal of Chromatography A 和 Electrophoresis 以及国内重要中文核心期刊(北京大学)中的代表性实验研究进行了概述。2023 年,IF \geq 10.0 期刊报道的最新科研进展都是使用已报道的 CE 方法,为 CE 技术的推广应用提供了新的突破口。此外,CE 与质谱的新应用研究依旧是热点;CE 在 3D 打印和水下工作系统等硬件方面的报道增加,在固体颗粒、细胞囊泡、细胞、病毒和细菌等非溶液样品分析中有较大突破,在药物和成分分析方面依旧保持优势。中文期刊方面、CE 应用论文数量多于往年、尤其是在印刷领域的新应用十分抢眼。

关键词:毛细管电泳;2023;年度回顾

中图分类号: O658 文献标识码: A

Annual review of capillary electrophoresis technology in 2023

SHAO Yuchen¹, WEN Yalun¹, ZHAO Xinying^{2*}, QU Feng^{1*}
(1. School of Life Science, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081, China;
2. Beijing Polytechnic, Beijing 100176, China)

Abstract: This paper serves as an annual review of capillary electrophoresis (CE) technology for 2023. The journals were selected based on their impact factor (IF), a universally recognized academic performance metric, combined with experimental work closely related to CE technology, to facilitate the rapid acquisition of significant research and application advancements in CE technology in 2023. A thematic search of the ISI Web of Science database yielded 669 research papers on CE technology published in 2023. This review highlights five experimental papers published in journals with IFs greater than 10.0, including Nature Communications, Nucleic Acids Research, Engineering, Journal of Medical Virology, and Carbohydrate Polymers, and 31 experimental papers from representative journals with IFs between 5.0 and 10.0, such as Analytical Chemistry, Analytica Chimica Acta, Talanta, and Food Chemistry. It also provides an overview of experimental research in journals with focused reporting on CE technology but with IFs less than 5.0, such as Journal of Chromatography A and Electrophoresis, as well as significant experimental research from key domestic Chinese core journals (Peking University). In 2023, all the latest scientific advancements reported in journals with an IF greater than

收稿日期:2024-02-09

^{*} 通讯联系人.Tel:(010)68918015, E-mail:qufengqu@bit.edu.cn(屈锋);Tel:(010)88726055, E-mail:361562040@qq.com(赵新颖). 基金项目:国家自然科学基金(22274009,21874010);北京市自然科学基金(7222310);北京电子科技职业学院校内项目(2022Z004-SKY).

10.0 utilized previously reported CE methods, offering new breakthroughs for the promotion and application of CE technology. Additionally, new applications of CE in conjunction with mass spectrometry remained a hot topic. An increase in reports on the hardware aspects of CE, such as 3D printing and underwater systems, and significant breakthroughs in the analysis of non-solution samples, such as solid particles, cell vesicles, cells, viruses, and bacteria, was noted. CE is advantageous for the analysis of drugs and their components. In Chinese journals, the number of papers on CE applications exceeded that in previous years, with particular focus on the field of printing for new applications.

Key words: capillary electrophoresis (CE); 2023; annual review

以"capillary electrophoresis-mass spectrometry"或"capillary isoelectric focusing"或"micellar electrokinetic chromatography"或"capillary electrophoresis"为关键词在 ISI Web of Science 数据 库中进行主题检索(排除"capillary electrochromatography" "microchip" "microfluidic" "capillary monolithic column"),检索到时间范围为 2023 年 1 月 1 日至 12 月 31 日内的期刊论文共计 669 篇。11 种影响因子(IF)≥10.0的期刊共计发表毛细管电 泳(capillary electrophoresis, CE)相关的综述类论 文28篇,实验类论文8篇;其中,Nature Communications (IF 16.6), Nucleic Acids Research (IF 14.9), Engineering(IF 12.8), Journal of Medical Virology (IF 12.7) 和 Carbohydrate Polymers (IF 11.2)分别发表了 CE 紧密相关的实验研究论文各 1 篇。10.0>IF≥5.0的84种期刊发表了CE相关论文 145 篇, Analytical Chemistry (IF 7.4) 发表 14 篇, Analytica Chimica Acta(IF 6.2) 发表 12 篇, Talanta(IF 6.1)发表 8 篇:影响力较大的食品分析期刊 Food Chemistry(IF 8.8)发表 2 篇。IF<5.0 的 217 种期刊发表了 CE 相关论文 488 篇,与 CE 关联密切 的 Journal of Chromatography A(IF 4.1) 和 Electrophoresis(IF 2.9)分别发表 24 篇和 38 篇。以"毛 细管电泳"为关键词,在中国知网数据库检索到23种 中文核心期刊(北京大学)发表了相关论文 28 篇。

本文根据国际通用学术水平评价指标之一——影响因子选择期刊,结合与 CE 技术紧密相关实验 类工作进行介绍,便于读者快速了解 CE 技术在当 年的重要研究和应用进展。

1 IF≥10.0期刊

2023 年全年, IF ≥ 10.0 期刊发表了 5 篇和 CE 技术紧密相关的实验类论文, 内容均属于已报道 CE 方法的新应用, 分别来自 2011 年 *Plant physiology*(IF 7.1)、2019 年 *SLAS Technology*(IF 2.7)、2020 年 *Journal of Chromatography A*(IF 4.1) 和 2021 年 *Analytical Chemistry*(IF 7.4) 以及 2015 年出版的 *Methods in Molecular Biology*。这些方法在当年的 CE 技术年度回顾中有相关介绍^[1,2]。

1.1 CE-质谱(MS)

Marie 等[3] 在 Nature Communications 上发 表了基于高灵敏度毛细管区带电泳(CZE)-MS深度 分析生物样品中 N-聚糖(N-glycans)的结果。在前 期工作的基础上[4],优化了 CZE-MS 的检测灵敏度 和分离性能参数,开发了无标记 N-聚糖分析的 CZE-MS 法。与传统 CZE-MS 方法相比,该方法使 用样品量小于 25 ng 的模型蛋白和 nL 水平的血浆, 信号强度增加了45倍,对纯化的人血清免疫球蛋白 G、牛血清胎蛋白、牛胰腺核糖核酸酶 B、血源细胞 外囊泡(extracellular vesicle, EV)分离物和总血浆 进行定性和定量分析,分别检测到250、400、150、 310 和 520 个以上的 N-聚糖。与使用其他生物学方 法测定的数量及其他复杂性相似的生物样本的检测 结果相比,该方法测定的 N-聚糖数量增加了大约 15 倍.同时还可以分析高度唾液酸化和未处理唾液酸 的 N-聚糖结构和异构体。

Cajic 等^[5]在 Engineering 上发表了可去除染料(removable dyes)结合多种方法深度分析 N-聚

引用本文: 邵宇辰, 温亚伦, 赵新颖, 屈锋. 2023 年毛细管电泳技术年度回顾. 色谱, 2024, 42(5): 401-409.

SHAO Yuchen, WEN Yalun, ZHAO Xinying, QU Feng. Annual review of capillary electrophoresis technology in 2023. Chinese Journal of Chromatography, 2024, 42(5):401–409.

糖缺失环节的研究结果,他们直接使用 Hennig 等^[6]建立的八通道阵列 CE,并创新性地使用 9-氟 氯甲酸甲酯染料作为可移动荧光标记,使多路毛细管凝胶电泳-激光诱导荧光检测法(xCGE-LIF)和基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱法(MALDI-TOF-MS)得以结合使用,从而实现更全面的 N-糖基结构分析。并通过对鸡卵清蛋白、马血清和牛转铁蛋白中复合 N-聚糖的详细结构分析,证明该方法"可视化"了迄今为止难以识别的人类免疫球蛋白A上的硫酸盐聚糖等 N-聚糖,甚至包括 N-聚糖结构的微小变化。

Katahira 等^[7]在 Nucleic Acids Research 上揭示了 SARS-CoV-2 中的 Nsp14 通过靶向定位核帽复合物抑制 mRNA 加工和核输出的过程,其中靶向CE-MS 直接使用了 Oikawa 等^[8]建立的用于组合单细胞代谢组学的 CE-TOF-MS 法,以 1 mol/L 甲酸背景电解质进行阳离子分析,以 20 mmol/L 甲酸;以 20 mmol/L 甲酸;以 10.0)为背景电解质进行阴离子分析, 20 mmol/L 甲酸(pH 10.0)为背景电解质进行阴离子分析)和樟脑磺酸(用于阴离子分析)的氯仿-甲醇(2:5, v/v)溶液作为内标校正质谱峰面积。用上述方法检测 Nsp14表达细胞产生的 7-甲基三磷酸鸟苷,通过与已知结果对照估算表达 4.3×10⁶ 个 Nsp14 的细胞产生的m7GTP为(954±117) pmol,转化成细胞浓度约为119 μmol/L。

1.2 CE

Jiang 等^[9]在 Journal of Medical Virology 上 揭示了北京地区 COVID-19 非药物干预下儿童患者 呼吸道合胞病毒感染流行模式的变化,直接使用了 Li 等[10]建立的基于 CE 的多重 PCR 法,利用八通 道 xCGE-LIF 检测荧光标记的 PCR 产物,将其分离 成14种长度的片段,通过和已知序列比对确认感染 源类型,对所有样本的检测结果做系统进化分析,得 到模式变化情况。Peluso 等[11] 在 Carbohydrate *Polymers* 发表了 γ-环糊精(γ-cyclodextrin, γ-CD) 和三甲基-β-CD 形成达卡他韦复合物的分子建模研 究结果,直接使用了 Krait 等[12]建立的 CE 方法,在 未涂层石英毛细管中,检测波长为 305 nm,以 50 mmol/L的磷酸钠为背景电解质,并优化 CE 的分 离温度和缓冲液 pH,通过达卡他韦 (daclatasvir, DCV) 主要成分及其 R, R, R, R 构型对映体(RRRR-DCV) 电泳峰之间的平台变化, 考察复合物形成情 况,结合等温滴定量热法测量数据构建数据模型。

2 IF<10.0 的重要期刊

2.1 CE-MS 分析技术

2.1.1 蛋白质

Xu 等[13] 将高场不对称波形离子迁移谱与 CE-MS 结合,表征不同大小和电荷的蛋白质形式,尤其 是针对质量范围 20~45 kDa 的较大蛋白质的形态 数量鉴定.比单独使用 CZE-MS/MS 增加了 6 倍。 Schlecht 等[14]使用二维 CZE-MS 结合内酶切法,分 离了完整的单克隆抗体(mAbs)电荷变体,在转移 约 640 pg 的微小电荷变异体后, 重链和轻链(HC+ LC)组合序列覆盖率达到91.5%,具有很高的灵敏 度。Wu等[15]将全柱成像毛细管等电聚焦(imaged capillary isoelectric focusing, icIEF)与MS耦合, 分析 mAbs 蛋白质电荷变体的样本量仅为强阳离子 交换法-MS 的 1/10 即可达到相同的响应值, 残留效 应更低,鉴定准确度和分辨率更高。Vergara-Barberán 等[16]利用在线适配体亲和固相萃取-CE-MS 对牛奶中容易导致过敏的 β -乳球蛋白进行纯 化、预浓缩、分离、定性和定量, 检出限(LOD) 为 0.05 mg/L,比 CE-MS 灵敏 200 倍,有望用于已有 适配体的过敏原分析。Tomašovský等[17]建立了 CZE 和电喷雾离子源质谱(ESI-MS)联用检测注射 液中胰岛素样生长因子-1(IGF-1)的方法,LOD为 0.25 mg/L,可以用于 IGF-1 的检测。该方法展示 了 CE 在药物质量控制中的潜力,与现行生物法相 比,具有分离效率高、分析速度快、样品消耗量小的 优势。

Wang 等^[18]利用 CZE-MS/MS 对小鼠脑中富集整合膜蛋白(IMPs)进行"自上而下"蛋白质组学分析,有效地鉴定和定量复杂蛋白质的混合物,证明了CZE-MS/MS 在 IMPs 的蛋白质组学研究中有重要应用。Choi 等^[19]基于 CE-ESI 和捕获离子迁移谱飞行时间质谱(trapped ion mobility spectrometry time-of-flight mass spectrometry, TimsTOF PRO)联用开发的微分析蛋白质组学技术,可以量化主要生物钟主导区域视交叉上核在光感受器依赖性视觉功能出现前后的发育变化。该技术是 TimsTOF PRO 在基于 CE-ESI 的微蛋白质组学中的首次系统应用,能够在单个细胞水平上观察并分析蛋白质表达的动态变化,揭示了生物钟发育中关键蛋白质的作用。

Sarkozy 等^[20]通过引入同轴鞘流反应器接口连

接毛细管凝胶电泳仪和电喷雾离子化质谱仪,在没有显著离子抑制的情况下利用对质谱不友好的缓冲成分保持电喷雾过程的稳定,显著提高了 CE-ESI-MS 耦合的多功能性及分析肽和蛋白质的稳定性。

2.1.2 脂质

Ly 等^[21]利用多段注射 (multisegment injection, MSI)-非水 CE (NACE)-MS 定量测定了血液样本中的脂肪酸,该方法还可以在负离子模式下分辨其他类别的阴离子脂质,如磷脂酸和磷脂酰肌醇,并且能够利用 ESI-MS 中的时间信号模式识别进行严格的分子特征选择和脂质鉴定,从而实现非靶向筛查;同时通过引入新型磷脂甲基化策略,拓展了正离子模式下,通过 MSI-NACE-MS 进行分析的脂质组覆盖范围。

2.1.3 代谢产物

Mever 等[22]利用 CE-MS 表征斑马鱼幼鱼提取 物中的有机离子代谢产物,在12只斑马鱼幼鱼的混 合物中分析出超过70种内源性代谢物,能在1只斑 马鱼幼鱼提取物中分析出 29 种内源性代谢物,可以 用于研究应激时分泌的皮质醇的作用。Chen 等[23] 使用低流量 CE-MS 分析人类高密度脂蛋白(HDL) 中的氧化 1-棕榈酰-2-花生四烯酸-sn-甘油磷酰胆碱 的10种长链和12种短链产物,在质量浓度2.5~ 100 mg/L 范围内,相关系数(R2)为 0.991 8, LOD 为 1.52 mg/L, 定量限(LOQ) 为 4.6 mg/L, 用于健 康人和尿毒症患者 HDL 分析的分辨率高于 HPLC-MS 技术。Ren 等[24] 分别用无鞘液 CE-MS 与 LC-MS 定量分析苦竹竹笋(Pleioblastus amarus (Keng))的糖、氨基酸等 201 种初级和次级代谢产 物,结果表明无鞘液 CE-ESI-MS 在异构体鉴定、样 品用量、极性和非极性代谢物检测等方面更有优势。

2.1.4 其他

Błońska 等^[25]利用 CE 分离并收集尿液中的人葡萄球菌(*S. Staphylococcus hominis*)和大肠杆菌(*Escherichia coli*),分别使用 MALDI-MS 和 TOF-MS 鉴定,为识别生物样品中的细菌和病毒等病原体提供了基础。Zajda 等^[26]使用 CE-电感耦合等离子体-MS/MS 法,研究了模拟生理条件下 Pt-DNA加合物的形成过程,有效地消除了光谱干扰,可以在生理条件下简单快速地检查 DNA 铂化。

2.2 CE 硬件优化

2.2.1 硬件技术

3D 打印硬件 Wang 等[27] 制造了能同时进行

电容耦合非接触式电导检测(capacitively coupled contactless conductivity detection, C^4D)、紫外吸收(ultraviolet absorbance, UV)检测和 LIF 检测的三合一新型检测器,与 CE 联用检测荧光素时 LOD达到 $1.3~\mu$ mol/L(C^4D)、 $2.0~\mu$ mol/L(UV)和 $1~\mu$ nmol/L(LIF),校准范围为 $0.01~500~\mu$ mol/L。Liu等[28]制造了集成 C^4D 和毛细管冷却装置的高速CE 设备,能有效降低焦耳热,改善样品堆积和峰分辨率,在 25~s 内完成阴离子和阳离子的检测,为危险或有毒物质的快速检测提供了潜在的解决方案。Itterheimová等[29]制造了全自动开源 CE 取样器,能同时处理 $14~\tau$ 不同样品,可以作为实验自制 CE 仪器的模块化组件使用。

水下工作系统 Drevinskas 等^[30] 采用 3D 打印的聚碳酸酯管进行密封,开发了具备从样本采集到数据存储的完整功能且可以适应水下环境压力和温度条件的全自动 CE-C⁴D 系统,对水环境中的氨基酸、Ca²⁺和 Mg²⁺的 LOD 均达到了 5.2 μmol/L。Drevinskas 等^[31]开发了封闭式流通电极储液器自动 CE 系统,将毛细管进样端和电极做成封闭式储液池,液体可以持续流动,最大限度地减少试剂体积,减轻电解效果,该自动 CE 系统可以在 25 kV 下稳定运行 60 min,且因 CE 常用背景电解质的性能与重力矢量方向无关,此系统解决了常用 CE 开放式储液器无法用于太空及水下作业的问题。

其他硬件 Atia 等^[32]开发了具有集成样品拭 子提取功能的全自动便携毛细管电泳仪,无需手动 预处理样品,能够在 1 min 内测定制药设备不锈钢 表面的利多卡因,回收率为 81.3%, LOD 为 0.13 μg/拭子。Ferreira Santos 等^[33]提出了基于转子定子阀的 CE 流体动力进样方法,使进样和流体处理发生在毛细管的高电压侧,使 CE 仪器与毛细管 接地侧的检测系统兼容,有望用于与电化学检测器 和电喷雾电离质谱的耦合。

2.2.2 毛细管内修饰

酶微反应器 Siebert 等 $[^{34}]$ 基于酶在磁性纳米粒子 MnFe $_2$ O $_4$ 上的锚定作用,以壳聚糖和戊二醛为交联剂,通过钕磁铁的排列方式将酶固定在毛细管中作为新型的酶微反应器,测定乙酰胆碱酯酶(AChE)的米氏常数(K_m)为 1. 12 mmol/L,可以高效、低成本筛选和评估 AChE 抑制剂。Li 等 $[^{35}]$ 基于金属有机框架沸石咪唑酯骨架-8(zeolitic imidazolate framework-8)固定化酶微反应器开发了筛选

天然产物中脂肪酶抑制剂的在线毛细管电泳法,测得脂肪酶的 K_m 为 2.75 mmol/L,低于离线测定的动力学常数,表明固定化酶与底物具有较高的亲和性,可以用于筛选具有潜在脂肪酶抑制活性的化合物。

涂层 Atia 等[36]利用化学气相沉积法将毛细 管内硅烷修饰为 3-缩水甘油醚氧丙基三甲氧基硅 烷(GPTMS),在 pH 3~9 范围内的电渗流降低明 显。Dhellemmes等[37]利用连续多重离子聚合物层 制备涂层毛细管并应用于碳酸酐酶等5种模型蛋白 混合物的检测,极大地提高了分离效率和可重复性。 Roca 等[38]研究了聚烯丙基胺盐酸盐等物质作为毛 细管涂层的最后一层时对肌红蛋白等 4 种模型蛋白 质混合物分离的影响,测定了蛋白质的保留因子。 Wang 等^[39]以磺胺嘧啶(sulfadiazine, SDZ) 为模板 分子,制备了分子印迹聚合物(molecularly imprinted polymer, MIP) 包覆的毛细管,并引入聚(2-甲 基-2-噁唑啉) (poly (2-methyl-2-oxazoline), PMOXA)减少非特异性吸附,利用表面分子印迹技术 制备了 SDZ-MIP-PMOXA 涂层毛细管,在线富集测 定了牛奶和鸡卵清中的微量 SDZ,在质量浓度 5.0~ 100.0 μg/L 范围内线性良好,LOD 为 1.5 μg/L。

2.3 CE 分析技术

2.3.1 细胞外囊泡和细胞分析

Gao 等[40]将二维离线耦合非对称流场流分离 (asymmetrical flow field-flow fractionation, AF4)、大体积样品堆积(large-volume sample stacking, LVSS)和CE相结合,改善了AF4从高丰度基 质中分离 EV 的效果,成功地从人血清中纯化和收 集了 EV,并进行了下游蛋白质分析。Steć等[41] 使 用 CE-LIF 分析监测了柠檬汁中分离出的 EV 的均 一性和异质性。与二喹啉甲酸法和纳米颗粒跟踪分 析法对比结果表明, CE 可以作为监测 EV 分离过 程、评估分离的 EV 质量和纯度的全面工具。Obeid 等[42]基于 CE 开发了用于考察 EV 大小特性的泰勒 色散分析(taylor dispersion analysis)方法,能够在 约 7 nL 样品体积下测量牛奶源 EV 的绝对尺寸,无 需校准,重复性 RSD<10%,可以对含量在 2×1014 EV/L 以上的 EV 进行定量测定。Gordon 等[43] 建 立了毛细管等速电泳(capillary isotachophoresis, CITP)分选并定量混合细胞样品中不同种类细胞数 量的方法,利用溶解在样品中的离子间隔物在电泳 时产生特定细胞迁移率的有效细胞峰,确定混合细

胞样品中各组分的浓度;分析了含有变形链球菌(S. mutans)等3种细菌的混合样品,与血细胞计数法相比,准确度为1%~11%,RSD为1%~14%,为微生物污染测试和无菌测试等领域的细胞定量提供了新方法。

2.3.2 病毒和细菌分析

Ramírez 等^[44]利用 icIEF 免疫法表征腺相关病毒蛋白质电荷异质性,对 20 mg/L 的 HEK293T 全细胞裂解物分析的灵敏度提高了 90 倍以上,LOQ为 1.5×10¹¹ ~2.1×10¹¹ VP/L,解决了细胞培养物上清液和细胞裂解物复杂样品中衣壳蛋白检测灵敏度不足的问题,无需纯化。Zhang等^[45]建立了核酸链置换分离细菌的 CE 方法,将探针和适配体组成的DNA 复合物与金黄色葡萄球菌等 3 种菌体混合,适配体可以与细菌特异性结合并释放探针,通过对探针的分离间接地用 CE 对细菌进行检测,在 2.5 min内即可完成,LOD 为 4.20×10⁹~1.75×10¹⁰ 菌落形成单位/L。

2.3.3 药物分析

核酸 Bchara 等^[46]利用 CE-UV 结合多元曲线分析-迭代最小二乘法快速分析 i 基序(intercalated motif, i-motif)折叠平衡随 pH 和温度的变化,为 i-motif 和其他复杂 DNA 结构的折叠提供了新见解。Xu 等^[47]初步建立了 SARS-CoV-2 和短串联重复序列(short tandem repeat)的 CE 共检测体系,在保证法医学 DNA 分析效率的前提下同时检测到 SARS-CoV-2,用于提示 SARS-CoV-2 感染个体特征,缩小法医学案件调查范围,探索了 CE 检测 RNA病毒的可能性。Hutanu 等^[48]用荧光标记的肽核酸作为亲和探针建立了 CE 无凝胶杂交分析法,用于寡核苷酸、mRNA 疫苗或重组腺相关病毒等不同复杂程度核酸治疗药物的定性和定量分析,使用多探针时 LOD 可达到 pmol 级。

抗体 Tardif 等^[49]利用 icIEF 结合主成分分析和最小二乘-判别分析法,实现了 pI 7~9、质量浓度 0.5~1.5 g/L 的 4 种治疗性 mAbs 的准确识别并将其归属到相应 mAbs 簇,可以排除"未知"mAbs并创建新簇。Auer等^[50]使用葡聚糖右旋糖酐-硼酸盐溶液为筛分基质的十二烷基硫酸钠-毛细管凝胶电泳法,评估了稀释和超稀释基质中 20~225 kDa的蛋白梯度(protein sizing ladder)和达雷木单抗(daratumumab)的完整和亚基形式(包括 ngHC 片段)的分离效果,并使用 Ferguson 图和爬行图阐明

谱

了分离机制。Puerta 等[51] 开发了分析免疫球蛋白 A(IgA)单体(mIgA)和分泌型 IgA(sIgA)的 CGE 方法,展示了使用商业 CGE 试剂盒对两类 IgA 分析 的可行性,并开发了用于 IgA 分析的新型凝胶缓冲 液。Kumar等[52]以mAb作为模型样品,在单次CE 运行中利用 CE 的死时间分析了 3 份 mAb 样品,与 传统的单次 CE-UV 相比,总分析时间减少了 77%, 生产率提高了300%, 且不影响分辨率及相对峰面 积,重现性良好,有望进一步减少 CE 分析时间。 Andrasi 等[53]建立了 CZE 分析化学参数相似、但脱 酰胺化过程不同的3种胰岛素的方法,能够分离出 仅相差 0.984 Da、不同程度脱酰胺化形式的胰岛 素,其至相同程度去酰胺形式(质量相同但形状略 有不同)的胰岛素异构体,证明了 CZE 在分离重组 人胰岛素及其脱酰胺化异构体方面的适用性。

手性 Xu 等[54]以疏水低共熔溶剂(HDES)甲 基三辛基氯化铵-辛酸(N8881Cl:OctA)作为背景缓 冲液中的新型伪固定相(pseudo-stationary phase),与CD联用显著提高噻苯乙咪唑等4种模 型药物的对映体分离度。Nan 等[55]提出了可调重 力介导的毛细管电泳法,以水溶性负离子磺酸丙基 醚-β-环糊精聚合物作为手性选择剂,分离了普萘洛 尔等5种手性药物,分离效率都有明显提升。Sung 等[56]通过超声增强和表面活性剂辅助的分散液-液 微萃取、CE 场放大进样结合 C⁴D 检测,实现了 5 对 吩噻嗪类药物及其对映体的快速分离和浓缩。该方 法在 1~150 nmol/L 范围内, R² 大于 0.99, LOD 为 $0.24 \sim 0.28$ nmol/L_o García-Cansino 等^[57] 以 CD 和手性离子液体混合物作为手性选择剂,利用电动 色谱法(electrokinetic chromatography, EKC)分 离了依鲁替尼的2种对映体,并评估了对小型甲壳 动物卵的毒性。Ioannou等[58]验证了双羧甲基-β-CD/DES 系统,可以显著提高苯丙胺衍生物的手性 分离效果。Alawadi 等[59] 发现了羧甲基化麦芽糖 糊精比麦芽环糊精对曲马多等碱性药物的对映体具 有更高的分辨率。Otin 等[60]以二甲基-β-环糊精结 合在线极性切换的大体积样品堆积预富集法,分析 运动员禁用的莫瑞林等 4 种常见生长激素释放激 素,LOD 为 75~200 mg/L。

2.3.4 成分分析

血液样品 Dvořák 等[61]提出了基于 CE 的自 动化分析干血斑(DBS)的方法,利用CE压力系统 实现目标物的萃取,样本通量为6个DBS/h,检测 非甾体抗炎药和氨基酸的精密度 RSD 分别小于 5.1% 和 12.3%。Ryšavá 等[62]使用聚乙烯吡咯烷酮 和羧甲基纤维素/氧化 6-羧甲基纤维素复合材料制 作了吸附剂用于采集 DBS 样品,可在 CE 进样瓶中 直接处理 DBS 并进行检测。结合中空纤维液相微 萃取-CE 对模型酸性药物华法林等 5 种物质进行定 量分析, 重复性 RSD 优于 8.1%, 回收率为 70%~ 99%

尿液样品 Moravčík 等[63] 建立了 CE 全自动 高通量分析干尿斑(dried urine spot, DUS)中尿酸 的方法,24 h 内完成了240个DUS样本的全自动尿 酸测定,在33.3~1200 µmol/L 范围内线性关系的 R^2 大于 0.998, 峰面积和迁移时间的 RSD 小于 3.2%。Dvořák 等^[64] 提出了 CE-C⁴D 和 CE-UV 测 定 DUS 中肌酐、尿酸等内源性分析物和去甲替林 (nortriptyline) 等 8 种碱性和酸性药物外源性分析 物的方法,与尿液样品相比洗脱效率为88%~100%, 精密度 RSD 小于 5.5%。de Oliveira Moreira 等[65] 以咪唑为内标物,使用在出口端进样并进行分离的 CZE-UV 法测定了 100 份尿样的肌酐含量,该方法 的 LOD 为(28.5±17.8) mg/L,准确度为82.4%;与 传统的 Jaffe 反应相比,提高了重复性和准确性,不 破坏样品且可以重复使用,同时适用于血清,有望成 为肌酐检测的替代方案。Opekar等[66]研制了用于 电膜萃取的微型探针,与 CE 在线联用测定人尿中 的肌酐和碱性氨基酸,灵敏度较未萃取前分别高 4.9倍和2.6倍,可用于全天候测量,实用性强。

植物样品 Xia 等[67] 通过在毛细管内的动态衍 生,建立了集成衍生分离黄酮类化合物的 CE-LIF 法,定量分析苜蓿植物中的黄酮类化合物以及颗粒 化的苜蓿,LOD 为 0.92~35.46 nmol/L,回收率为 80.55%~94.25%。Jin 等[68] 开发了新型的在线两 步压力进样辅助堆积预富集方法,同时检测大米和 干姜中的 2,4,5-涕丙酸和 2,4-二氯苯氧乙酸 (2,4-D),线性关系的 R^2 在 0.998 6~0.999 6 范围内,灵 敏度增强因子为 85~97。Zhang 等[69] 基于分析质 量设计(analytical quality by design, AQbD) 优化 了 CE-光电二极管阵列检测器对秦艽药材 (Gentianae Macrophyllae Radix, RGM) 中 4 种环烯醚萜 类化合物(iridoid compounds)的分离条件,LOD为 2.32~9.58 mg/L,为 AQbD 在天然产物分析中的应 用提供了参考。Zhang 等[70] 采用近红外光谱结合 偏最小二乘回归(partial least squares regression,

PLSR)算法构建以落干酸等 3 种物质为 RGM 质量指标的质量校正模型,转换后的 CE 指纹图谱与真实的指纹图谱基本吻合,6 个主峰均能准确预测,可用于 RGM 的质量控制。

动物样品 Kvasnička 等^[71]通过分析样品酸性 水解后产生的葡糖胺,开发了在线耦合 CITP-CZE-电导检测分析昆虫甲壳素的方法。将 28 个昆虫样品的壳聚糖含量结果与文献数据对比,证明该法实验结果与文献数据相当, LOD 为 0.06 μmol/L, LOQ 为 0.2 μmol/L。Tie 等^[72]利用 CE-LIF 表征了游离多柔比星(doxorubicin, DOX)和多柔比星脂质体(liposomal doxorubicin, L-DOX)在大鼠体内的药代动力过程。结果显示随着总 DOX 浓度逐渐降低,L-DOX 浓度处于稳定水平,24 h 内质量浓度为 26.8~36.4 mg/L。

环境样品 Liu 等^[73]利用 UV-发光二极管诱导光反应在毛细管内直接将硝酸盐转化为亚硝酸盐,利用 CE-C⁴D 测定了亚硝酸盐浓度, LOD 为 13 μmol/L,可用于湖泊水样中总氮的测定。Yang 等^[74]建立了磁性多孔碳固相萃取结合 CE 测定双酚 A 等 4 种双酚类物质的方法, LOD 为 0. 71~1. 65 mg/L, 为环境样品中双酚类化合物的测定提供了新方法。

食物样品 Ashmore 等 $[^{75}]$ 开发和验证了 CE-UV 快速测定葡萄酒和苹果酒中游离 SO₂ 的方法,与自动滴定法、曝气氧化法和离散分析器法的结果相比,CE-UV 可以准确测量各种葡萄酒和苹果酒样品中的游离 SO₂,LOD 分别为 0.5 mg/L 和 0.8 mg/L。

2.3.5 其他

Kitagishi 等^[76]基于太赫兹时域光谱分析方法 (terahertz time-domain spectroscopy, THz-TDS), 利用砷化镓(GaAs)半导体基片作为"局部"太赫兹 发射器将 THz-TDS 与 CE 相结合,开发了在线检测低相对分子质量羧酸的局部太赫兹发射光谱方法 (CE-THz-TDS),可以系统地分析氢键等分子间/分子内弱相互作用力。Knežević等^[77]利用亲和毛细管电泳(affinity capillary electrophoresis, ACE)研究四价钒和五价钒与丁二酸在不同 pH 和不同浓度下的相互作用,ACE 分别用于四价钒和五价钒的同时平衡,与传统方法相比得到了类似的稳定常数和精度。该方法减少了测定时间,在处理危险材料或少量配体时有重要作用。Hajduk 等^[78]分别用内标

法和经典法 CE 测定吡啶、咪唑和肟类化合物的亲电常数(pK_a),内标法测定 pK_a 为 3.0~10.5 的酸和 4.0~12.0 的碱更为快速,经典 CE 适用于其他 pK_a 范围的酸和碱,可以作为额外收集或预测 pK_a 的工具。Jing 等[79]基于毛细管反向电极极性堆叠模式建立了二维离线耦合非对称场流分离结合 CE (AF4×CE)分析纳米颗粒以及亚微米胶体分散体系的方法,用于分离 50、100、200、300 和 400 nm 的聚苯乙烯颗粒组成的亚微米颗粒混合物,解决了紫外吸收随颗粒直径增加导致的 CE-UV 检测灵敏度低的问题,克服了大颗粒紫外吸收低的困难,灵敏度增强 10~60 倍。

3 中文期刊

《色谱》 张含智等^[80] 基于 CE-ESI-MS 和NACE 分离模式,实现了舒尼替尼等 5 种酪氨酸激酶抑制剂的基线分离,获得稳定的质谱信号,绝对检出限达到 amol 级,灵敏度高于水相分离条件下的CE-MS。门雪等^[81]以 2,3-萘-二甲醛为标记试剂,建立了测定肝癌细胞(HepG2)中谷胱甘肽含量的CE-LIF 法,在 0.01~20.00 mmol/L 范围内线性关系良好,LOD 为 0.006 μmol/L, LOQ 为 0.020 μmol/L。江若可等^[82]以十二烷基三甲基溴化铵(DTAB)为电渗流反转剂,建立了同时测定消毒洗手液等日化品中三氯生等 3 种化合物的 NACE-UV 检测法,在 1~100 mg/L 质量浓度范围内, R² 均大于 0.99, LOD 为 0.2 mg/L, LOQ 为 1.0 mg/L。

《印染》 刘晓磊等^[83] 开发了定量测定不同结构活性黑 5 (SES-SES-black-5)等活性染料及其水解产物浓度的 CE-UV 方法,通过计算水解速率验证实际印染过程中活性染料中活性基的活性,用于优化印染工艺。晏栖云等^[84] 开发了同时测定纺织物中 6 种荧光增白剂的 CE-C⁴D 检测方法,在 10 min内实现了基线分离,LOD 为 0.33~0.46 μg/L,加标回收率为 95.8%~101.8%,RSD 小于 3.8%。韦笑笑等^[85] 将液相微萃取和 EKC 结合,建立了纺织品中 23 种芳香胺的快速检测方法,目标物能够在 14 min 内实现分离,LOD 为 0.2~1.6 mg/kg,LOQ 为 0.8~5.8 mg/kg,能够满足纺织品中禁用偶氮染料的大批检测需求。

其他 孙雪峰等^[86]建立了高效 CE-二极管阵列检测(DAD)同时测定淡水鱼肉中阿莫西林和氨苄西林残留的方法,在 20 min 内实现基线分离,

色

LOD 分别为 20 µg/kg 和 30 µg/kg, LOQ 分别为 30 μg/kg 和 40 μg/kg。张春莉等^[87]建立了 CZE-DAD 检测金银花中 8 种有机酸的方法,17 min 内实 现了基线分离,加标回收率为92.6%~106.8%, RSD 小于 5.0%。江凤浩等[88]合成了温敏性 N, N-二甲基丙烯酰胺/N-异丙基丙烯酰胺无规共聚物(P (DMA-co-NIPAM)),并与聚 N,N-二甲基丙烯酰胺 共混开发了无胶筛分 CE. 对大片段 DNA 的分辨率 明显提高。

4 结论

纵观全年,英文期刊方面,IF≥10.0期刊报道 的最新科研进展都是对已报道方法进行了新应用, 为 CE 技术的推广应用提供了新的突破口。CE-MS 新应用依旧是研究热点,CE 在药物分析方面依旧 保持优势。此外,CE 在硬件方面的报道大量增加, 如 3D 打印和水下工作系统等: 在分析非溶液样品 如固体颗粒、细胞囊泡、细胞、病毒和细菌等分析上 取得了较大突破。中文期刊方面, CE-MS、CE-LIF 和 CE-UV 的应用均有报道且数量多于往年,尤其在 印刷领域的新应用备受瞩目。

以上内容难免有遗漏和不妥之处,请广大学界 同仁及应用从业人员批评指正。

参考文献:

- [1] Wang X Q, Zhao X Y, Liu P D, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2016, 34(2): 121 王晓倩, 赵新颖, 刘品多, 等. 色谱, 2016, 34(2): 121
- [2] Wei B, Ma Y, Tian W Z, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2021, 39(6): 559 魏波, 马遥, 田文哲, 等. 色谱, 2021, 39(6):559
- [3] Marie A L, Ray S, Ivanov A R. Nat Commun, 2023, 14(1):
- [4] Marie A L, Ray S, Lu S, et al. Anal Chem, 2021, 93(4):
- [5] Cajic S, Hennig R, Grote V, et al. Engineering, 2023, 26:
- [6] Hennig R, Rapp E, Kottler R, et al. Methods Mol Biol, 2015, 1331: 123
- [7] Katahira J, Ohmae T, Yasugi M, et al. Nucleic Acids Res, 2023, 51(14): 7602
- [8] Oikawa A, Matsuda F, Kikuyama M, et al. Plant Physiol, 2011, 157(2): 544
- [9] Jiang M L, Xu Y P, Wu H, et al. J Med Virol, 2023, 95(1): e28411
- [10] Li X, Chen B, Zhang S, et al. SLAS Technol, 2019, 24(1):
- [11] Peluso P, Landy D, Nakhle L, et al. Carbohydr Polym,

- 2023. 313. 120870
- [12] Krait S, Salgado A, Villani C, et al. J Chromatogr A, 2020, 1628: 461448
- [13] Xu T, Wang Q, Wang Q, et al. Anal Chem, 2023, 95(25):
- [14] Schlecht J, Jooss K, Moritz B, et al. Anal Chem, 2023, 95 (8):4059
- [15] Wu G, Yu C, Wang W, et al. Anal Chem, 2023, 95(4):
- [16] Vergara-Barberán M, Simo-Alfonso E F, Herrero-Martinez J M, et al. Talanta, 2023, 259: 124542
- [17] Tomašovský R, Opetova M, Havlikova J, et al. Electrophoresis, 2023, 44(21/22): 1674
- [18] Wang Q, Xu T, Fang F, et al. Anal Chem, 2023, 95(34): 12590
- [19] Choi S B, Vatan T, Alexander T A, et al. Anal Chem, 2023, 95(41): 15208
- [20] Sarkozy D, Guttman A. Anal Chem, 2023, 95(18): 7082
- [21] Ly R, Torres L C, Ly N, et al. Anal Chem, 2023, 95(48): 17513
- Mever M, Mamani-Huanca M, Faught E, et al. Electrophoresis, 2023, 95(1): e28411
- [23] Chen C J, Chang C T, Lin Z R, et al. Electrophoresis, 2024: 45(3/4): 333
- [24] Ren Y, Liu Y, Zhang W, et al. Electrophoresis, 2024: 45 (3/4):266
- [25] Błońska D., Klodzinska E., Buszewski B. Electrophoresis, 2023, 44(15/16): 1165
- [26] Zajda J, Borowiecki P, Matczuk M. Talanta, 2023, 264: 124749
- [27] Wang Y, Zeng Z, Yang L, et al. Anal Chem, 2023, 95(4):
- [28] Liu X, Liang W, Zeng H, et al. Anal Chim Acta, 2023, 1264: 341235
- Itterheimová P, Kuban P. Anal Chim Acta, 2023, 1279: [29] 341832
- [30] Drevinskas T, Mora M F, Ferreira Santos M S, et al. Anal Chem, 2023, 95(27): 10249
- [31] Drevinskas T, Noell A C, Kehl F, et al. Electrophoresis, 2023, 44(13/14): 1047
- [32] Atia M A, Amuno R M, Kalsoom U, et al. J Chromatogr A, 2023, 1688: 463666
- [33] Ferreira Santos M S, Zamuruyev K, Mora M F, et al. Electrophoresis, 2023, 44(9/10): 784
- [34] Siebert D A, Caon N B, Alberton M D, et al. Anal Chim Acta, 2023, 1275: 341566
- Li W, Cui X, Chen Z. J Chromatogr A, 2023, 1706; 464257
- [36] Atia M A, Smejkal P, Gupta V, et al. Anal Chim Acta, 2023, 1280: 341847
- [37] Dhellemmes L, Leclercq L, Hochsmann A, et al. J Chromatogr A, 2023, 1695: 463912
- [38] Roca S, Leclercq L, Gonzalez P, et al. J Chromatogr A, 2023, 1692: 463837
- Wang Y, Li M, Zhu L, et al. J Chromatogr A, 2023, 1696: [39]
- [40] Gao Z, Li Z, Hutchins Z, et al. Anal Chem, 2023, 95(42): 15778

- [41] Steć A, Chodkowska M, Kasprzyk-Pochopien J, et al. Food Chem, 2023, 424; 136333
- [42] Obeid S, Chamieh J, Mai T D, et al. J Chromatogr A, 2023, 1705: 464189
- [43] Gordon O, Gibbons J, Lamp J, et al. Electrophoresis, DOI: 10.1002/elps.202300159
- [44] Ramírez F, Wu J, Haitjema C, et al. Electrophoresis, 2023, 44(15/16): 1258
- [45] Zhang S, Wang Q, Ning J, et al. Electrophoresis, DOI: 10.1002/elps.202300159
- [46] Bchara L, Eritja R, Gargallo R, et al. Anal Chem, 2023, 95 (41): 15189
- [47] Xu R, Chang Z, Wen D, et al. Electrophoresis, 2023, 44 (19/20): 1579
- [48] Hutanu A, Signori C, Moritz B, et al. Anal Chem, 2023, 95 (11): 4914
- [49] Tardif C, Jaccoulet E, Bellec J F, et al. Talanta, 2023, 260, 124633
- [50] Auer F, Guttman A. Electrophoresis, 2023, 44 (19/20):
- [51] Puerta A, Garcia-Lopez D, Tejedor-Matellanes P, et al. J Chromatogr A, 2023, 1688; 463689
- [52] Kumar R, Sarin D, Rathore A S. Electrophoresis, 2023, 44 (9/10): 767
- [53] Andrasi M, Vishwakarma G, Szabo R, et al. J Chromatogr A, 2023, 1706; 464286
- [54] Xu Y, Li A, Xue S, et al. Talanta, 2023, 260: 124556
- [55] Nan Y, Zheng P, Cheng M, et al. Anal Chim Acta, 2023, 1279; 341781
- [56] Sung Y Y, Chou Y M, Hsieh M M. J Chromatogr A, 2023, 1705; 464212
- [57] García-Cansino L, Boltes K, Marina M L, et al. Talanta, 2023, 265; 124783
- [58] Ioannou K A, Ioannou G D, Christou A, et al. J Chromatogr A, 2023, 1705; 464152
- [59] Alawadi M, Fakhari A R, Bayatloo M R, et al. J Chromatogr A, 2023, 1708; 464335
- [60] Otin J, Tran N T, Benoit A, et al. Electrophoresis, 2023, 44(9/10): 807
- [61] Dvořák M, Moravcik O, Kuban P. Anal Chem, 2023, 95 (31): 11823
- [62] Ryšavá L, Dorazilova J, Dvorak M, et al. Anal Chim Acta, 2023, 1241; 340793
- [63] Moravčík O, Dvořák M, Kuban P. Anal Chim Acta, 2023, 1267: 341390
- [64] Dvořák M, Marsala R, Kuban P. Anal Chim Acta, 2023, 1254; 341071
- [65] de Oliveira Moreira O B, Queiroz de Souza J C, Beraldo Candido J M, et al. Talanta, 2023, 258; 124465
- [66] Opekar F, Tuma P. Talanta, 2023, 254: 124149
- [67] Xia J, Zhou J, Liu Y, et al. J Chromatogr A, 2023, 1704; 464116

- [68] Jin H F, Shi Y, Jiao Y H, et al. J Chromatogr A, 2023, 1706: 464258
- [69] Zhang Z, Zhang X, Li S, et al. Electrophoresis, 2023, 44 (9/10): 793
- [70] Zhang Z, Hao N, Wang L, et al. Electrophoresis, 2023, 44 (13/14): 1068
- [71] Kvasnička F, Kourimska L, Bleha R, et al. J Chromatogr A, 2023, 1695: 463952
- [72] Tie C, Jiang X, Zhu C, et al. Electrophoresis, 2023, 44 (17/18): 1361
- [73] Liu D, Xiong Y, Zeng H, et al. Anal Chim Acta, 2023, 1278: 341743
- [74] Yang X, Zhang M, Yang J, et al. J Chromatogr A, 2023, 1701: 464052
- [75] Ashmore P L, Valdez F, Harbertson J F, et al. J Chromatogr A, 2023, 1695: 463936
- [76] Kitagishi K, Kawai T, Tonouchi M, et al. J Chromatogr A, 2023, 1710: 464384
- [77] Knežević L, Zanda E, Bura-Nakic E, et al. J Chromatogr A, 2023, 1695; 463941
- [78] Hajduk A, Ulrich N. Electrophoresis, 2023, 44 (17/18): 1353
- [79] Jing M, Gao W, Hutchins P. Anal Chem, 2023, 95(7): 3840
- [80] Zhang H Z, Li F, Kang J W, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2023, 41(2): 160 张含智, 李凤, 康经武, 等. 色谱, 2023, 41(2): 160
- [81] Men X, Wu C X, Chen M L. Chinese Journal of Chromatography, 2023, 41(1): 87 门雪, 吴成新, 陈明丽. 色谱, 2023, 41(1): 87
- [82] Jiang R K, Ding X J. Chinese Journal of Chromatography, 2023, 41(2): 168 江若可, 丁晓静. 色谱, 2023, 41(2): 168
- [83] Liu X L, Zhong Y, Yang Q P, et al. Dyeing and Finishing, 2023, 49(10): 47 刘晓磊, 钟毅, 杨启鹏, 等. 印染, 2023, 49(10): 47
- [84] Yan X Y, Zhang W M. Dyeing and Finishing, 2023, 49(3): 68 晏栖云,张为民. 印染, 2023, 49(3): 68
- [85] Wei X X, Bai L, Shao R Z. Dyeing and Finishing, 2023, 49 (2): 64 韦笑笑,白璐,邵润泽. 印染, 2023, 49(2): 64
- [86] Sun X F, Wang F. Meat Research, 2023, 37(6): 29 孙雪峰, 王方雨. 肉类研究, 2023, 37(6): 29
- [87] Zhang C L, Li S Q, Cao Q E, et al. Journal of Yunnan University (Natural Sciences Edition), 2023, 45(4): 928 张春莉,黎升倩,曹秋娥,等. 云南大学学报(自然科学版), 2023, 45(4): 928
- [88] Jiang F H, Hong H, Jiang B W, et al. Chinese Journal of Applied Chemistry, 2023, 40(9): 1312 江风浩, 洪瀚, 姜伯玮, 等. 应用化学, 2023, 40(9): 1312