

結論

質譜儀在雙硫鍵分析的應用上已然成為一個有用的工具。在選擇分析雙硫鍵的方法時，應考慮蛋白質的複雜性、蛋白質的大小、以及蛋白質中所含有Cysteine數目與位置，來選擇使用不同的分析方法與儀器。以含有多對雙硫鍵的單株抗體來說，ETD，或是Dimethyl labeling結合RADAR軟體，以及MALDI/ISD這些方法，都可以成功地鑑定出雙硫鍵連接位置。對於兩個以上相鄰或靠近的Cysteines，可以搭配部分還原反應，或是結合多種酵素水解的方法，以區辨連接的位置。對於未知雙硫鍵的蛋白質，或要分析雙硫鍵錯接時，可以利用具有篩選功能的化學標記法，以軟體過濾分析產生的上萬張圖譜，找到含有雙硫鍵鍵結胜肽的數據加以鑑定。一般來說，從該蛋白質的序列與Cysteine的數量及位置可以評估採用適合的方法，減少數據的複雜性。質譜儀結合不同樣品製備的方法，除了對蛋白質功能研究有助益之外，更可以廣泛用在於蛋白質藥品特性檢測與品質評估。

參考文獻：

1. Tsai, P.-L.; Chen, S.-F.; Huang, S.-Y. Mass spectrometry-based strategies for protein disulfide bond identification. *Rev. Anal. Chem.* **2013**; 32(4): 257–268
2. Choi, S.; Jeong, J.; Na, S.; Lee, H. S.; Kim, H. Y.; Lee, K. J.; Paek, E. New algorithm for the identification of intact disulfide linkages based on fragmentation characteristics in tandem mass spectra. *J. Proteome Res.* **2010**, 9, 626–635.
3. Janecki, D. J.; Nemeth, J. F. Application of MALDI TOF/TOF mass spectrometry and collision-induced dissociation for the identification of disulfide-bonded peptides. *J. Mass Spectrom.* **2011**, 46, 677–688.
4. Schnaible, V.; Wefing, S.; Resemann, A.; Suckau, D.; Bucker, A.; Wolf-Kummeth, S.; Hoffmann, D. Screening for disulfide bonds in proteins by MALDI in-source decay and LIFT-TOF/TOF-MS. *Anal. Chem.* **2002b**, 74, 4980–4988.
5. Zubarev, R. A.; Kruger, N. A.; Fridriksson, E. K.; Lewis, M. A.; Horn, D. M.; Carpenter, B. K.; McLafferty, F. W. Electron capture dissociation of gaseous multiply-charged proteins is favored at disulfide bonds and other sites of high hydrogen atom affinity. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 2857–2862.
6. Cole, S. R.; Ma, X. X.; Zhang, X. R.; Xia, Y. Electron transfer dissociation (ETD) of peptides containing intrachain disulfide bonds. *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.* **2012**, 23, 310–320.
7. Huang, S. Y.; Wen, C. H.; Li, D. T.; Hsu, J. L.; Chen, C.; Shi, F. K.; Lin, Y. Y. Assignment of disulfide-linked peptides using automatic a(1) ion recognition. *Anal. Chem.* **2008**, 80, 9135–9140.
8. Huang, S.-Y.; Hsieh, Y.-T.; Chen, C.-H.; Chen, C.-C.; Sung, W.-C.; Chou, M.-Y.; Chen, S.-F. Automatic disulfide bond assignment using a(1) ion screening by mass spectrometry for structural characterization of protein pharmaceuticals. *Anal. Chem.* **2012**, 84, 4900–4906.