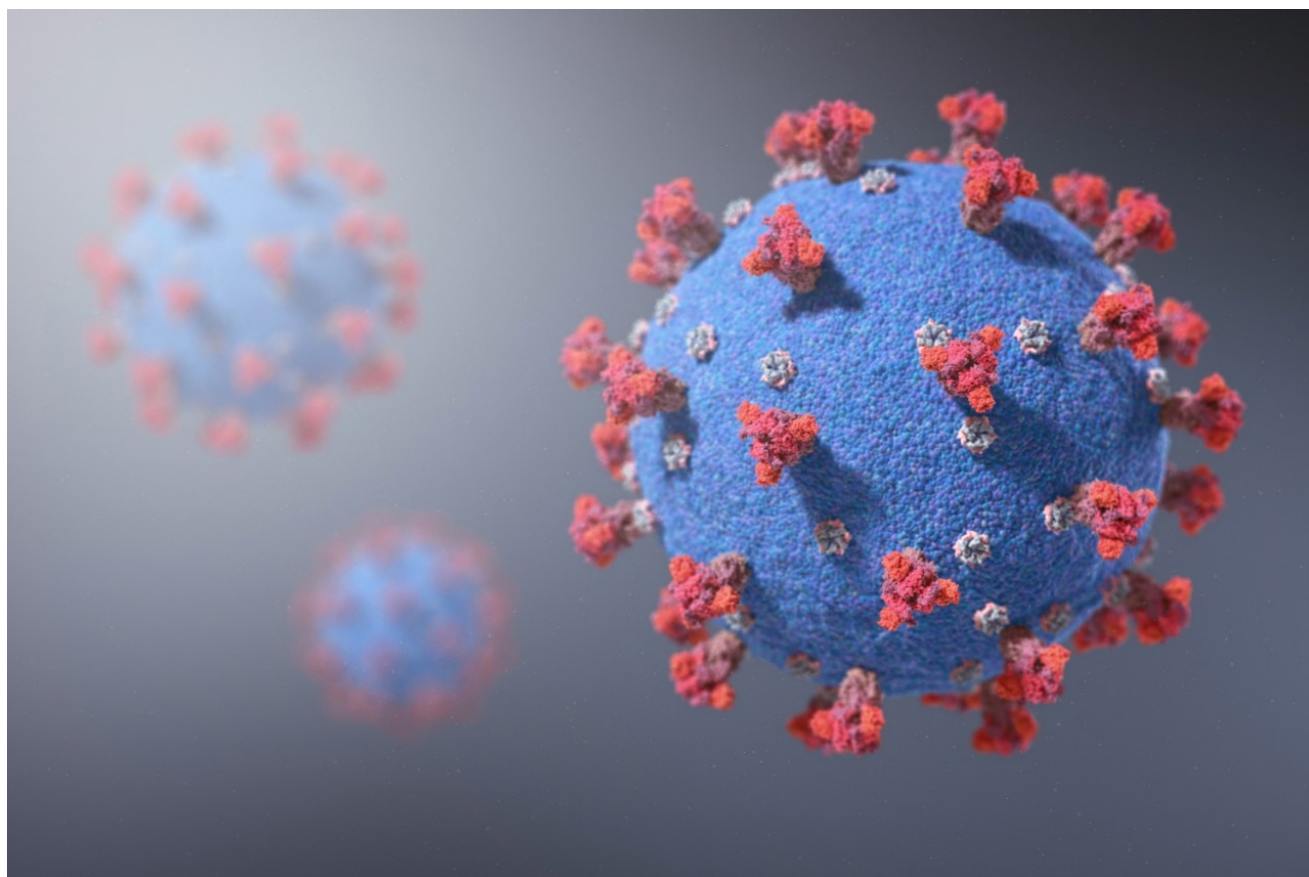


剖析新型冠状病毒病(COVID-19)：使用 SARS-CoV-2 LC-MS试剂盒(RUO)明确鉴定 SARS-CoV-2德尔塔变体

Dominic Foley, Robert Wardle, Scott J. Geromanos, Ming Gao, Lisa J. Calton

Waters Corporation



仅供研究使用，不适用于诊断。



需要帮助？

如需详细了解沃特世如何为您抗击新型冠状病毒肺炎(COVID-19)提供助力，请联系

- [新型冠状病毒肺炎\(COVID-19\)疫情创新响应团队](#)

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

摘要

截至2021年7月，SARS-CoV-2德尔塔(B.1.617.2)变体正迅速成为全球病毒的主要形式。SARS-CoV-2 LC-MS试剂盒(RUO)专门开发用于检测与野生型SARS-CoV-2 NCAP蛋白质关联的特征肽。使用GISAID数据库追踪进行中的突变，我们已经确定德尔塔变体产生的胰蛋白酶解肽仍然可以使用SARS-CoV-2 LC-MS试剂盒(RUO) SISCAPA抗体捕获和定量。此外，还可以通过色谱分离和多重反应监测(MRM)选择性鉴定德尔塔变体并与其他重要变体中发现的野生型肽区分。

优势

- SARS-CoV-2 LC-MS试剂盒(RUO)可以鉴定SARS-CoV-2德尔塔变体
- SARS-CoV-2 LC-MS试剂盒(RUO)可以从其他重要变体中区分SARS-CoV-2德尔塔变体

简介

在新型冠状病毒病(COVID-19)大流行疫情迅速变化的形势下，人们对适应并应对SARS-CoV-2病毒变化的要求高涨。截至2021年7月，SARS-CoV-2德尔塔(B.1.617.2)变体正迅速成为全球病毒的主要形式。现下许多分析技术利用SARS-CoV-2的mRNA和翻译后的氨基酸序列作为靶标来鉴定病毒的存在。德尔塔变体包含的突变可能影响这些靶点，从而影响这些平台鉴定SARS-CoV-2的适用性。

我们推出SARS-CoV-2 LC-MS试剂盒(RUO)的目的是在临床研究中帮助科研人员直接分析三种SARS-CoV-2核衣壳(NCAP)肽：AYNVTQAFGR (AYN)、ADETQALPQR (ADE)和NPANNAIVLQLPQGTTLPK (NPA)。研究证明，使用稳定同位素标准品和抗多肽抗体捕集法(SISCAPA)以及ACQUITY UPLC I-Class和Xevo TQ-XS质谱仪可以检测病毒运输液中3 amol/μL的各种肽¹。

已使用GISAID数据库监测了该变体对试剂盒中这些目标肽的影响²。提取以前重要变体（阿尔法、贝塔和伽马）的数据进一步检查，未发现影响目标肽序列的突变。但在检查德尔塔变体突变时，发现ADE肽受到影响，导致肽段(A_YETQALPQK)邻近N端的氨基酸取代(D377Y)和C端(R385K)不太普遍的取代。

本应用简报证明，德尔塔变体突变毒株仍能使用SARS-CoV-2 LC-MS试剂盒(RUO) SISCAPA Ab捕获，还能通过色谱分离和多重反应监测(MRM)选择性鉴定该毒株并与其他重要变体中发现的野生型肽区分。

结果与讨论

使用SARS-CoV-2 LC-MS试剂盒(RUO)按使用说明书(IFU)执行本应用纪要中详述的研究。

试剂盒工作流程描述了三种肽的变性、酶解、富集方法以及UPLC-MS/MS分析，这三种肽为：AYNVTQAFGR (AYN)、NPANNAAIVLQLPQGTTLPK (NPA)和ADETQALPQR (ADE)，由SARS-CoV-2 NCAP蛋白衍生而来。

合成肽AYETQALPQR、ADETQALPQK和AYETQALPQK (Lifetein, NJ, USA)，然后加入ADETQALPQR (ADE)、AYNVTQAFGR (AYN)和NPANNAAIVLQLPQGTTLPK (NPA)的溶液中。将肽加入病毒运输液中，使用SARS-CoV-2 LC-MS试剂盒(RUO)重复提取，并通过单次实验进行分析。

利用Skyline (MacCoss Lab Software, WA, USA)鉴定变体肽的潜在MRM通道，并使用ACQUITY UPLC I-Class和Xevo TQ-XS质谱仪进行分析。

肽变体可通过使用特定的MRM通道来鉴定，在不同肽之间观察到较小的保留时间偏差（图1A）。无需大幅更改方法即可鉴定这些新的肽靶标。

使用SISCAPA只需运行单次实验即可由ADE野生型单克隆抗体捕集所有变体肽。然而，值得注意的是，双突变(D377Y/R385K)导致该方法的分析灵敏度相对于其他肽显著降低（图1B），但是对于所有加标肽，五次重复测定的检测结果仍然可重现($\leq 8.9\%$ RSD)。D377Y/R385K变体肽在浓度高于10 amol/ μ L时仍可得到鉴定（图2）。

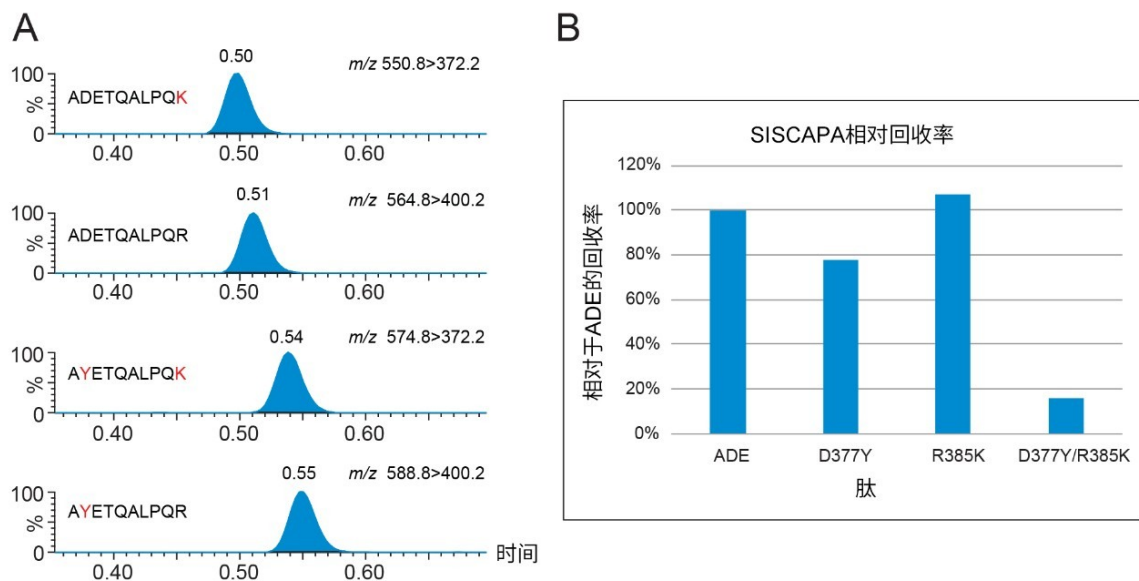


图1A.VTM中浓度为400 amol/ μ L的ADETQALPQR和变体肽 (AYETQALPQR、ADETQALPQK和AYETQALPQK) 的色谱分离。

图1B.ADETQALPQR、AYETQALPQR (D377Y)、ADETQALPQK (R385K)和AYETQALPQK (D377Y/R385K)的SISCAPA相对回收率 (对于每种肽, n=5) 。

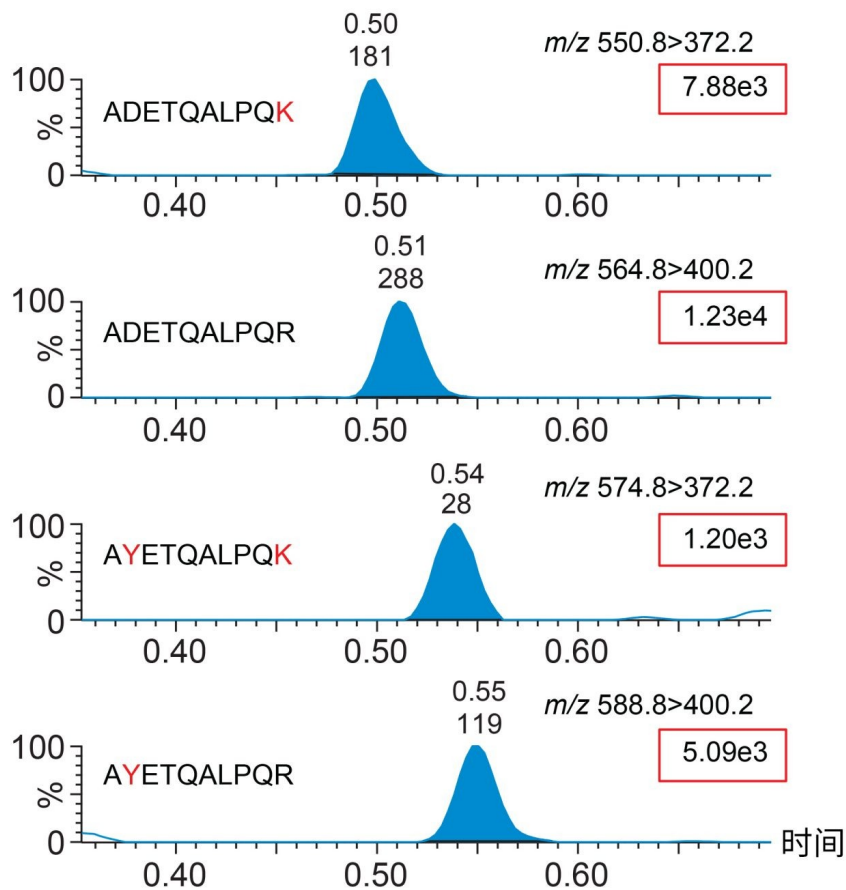


图2.用SISCAPA捕集后，VTM中浓度为10 amol/ μ L的ADE肽和变体的分析灵敏度比较

结论

沃特世SARS-CoV-2 LC-MS试剂盒(RUO)有助于成功捕集并鉴定与SARS-CoV-2德尔塔(B.1.617.2)变体关联的肽变体。

分析2020年3月至2021年7月的GISAID数据库时，D377Y取代是最普遍的突变(55%)，估计R385K和D377Y/R385K双取代的发生率低于0.045%。只需运行单次实验即可通过色谱分离和同步监测MRM通道来区分德尔塔变体肽以及与其他重要变体（阿尔法、贝塔和伽马）关联的肽。因此，SARS-CoV-2 LC-MS试剂盒(RUO)经确定适用于临床研究活动中主要SARS-CoV-2德尔塔变体NCAP肽的LC-MS/MS分析。

参考资料

1. Foley D, Wardle R, Ferries S, Pattison R, Warren J, Calton L. Advancing Research with the SARS-CoV-2 LC-MS Kit (RUO). Waters Application Note [720007266 <https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2021/advancing-research-with-the-sars-cov-2-lc-ms-kit-ruo.html>](https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2021/advancing-research-with-the-sars-cov-2-lc-ms-kit-ruo.html), May 2021.
2. GISAID数据库. <https://www.gisaid.org/hcov19-variants/> <<https://www.gisaid.org/hcov19-variants/>>.

特色产品

- [ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统 <https://www.waters.com/134613317>](https://www.waters.com/134613317)
- [Xevo TQ-XS三重四极杆质谱仪 <https://www.waters.com/134889751>](https://www.waters.com/134889751)
- [MassLynx MS软件 <https://www.waters.com/513662>](https://www.waters.com/513662)
- [TargetLynx <https://www.waters.com/513791>](https://www.waters.com/513791)
- [SARS-CoV-2 LC-MS试剂盒\(RUO\) <https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135083368>](https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135083368)

720007353ZH, 2021年8月



© 2021 Waters Corporation. All Rights Reserved.