

JMS-S3000 Application Data

JMS-S3000“SpiralTOF” TOF-TOF オプションを用いた ペプチドの解析例 2

Renin Substrate tetradecapeptide (*porcine*)の $[M+H]^+$ (m/z 1758.93)のプロダクトイオンスペクトルをJMS-S3000 SpiralTOFのTOF-TOFモードで測定した。Renin Substrate tetradecapeptideは、配列中にロイシン及びイソロイシンを持つが、ロイシンとイソロイシンは構造異性体であるため、aイオンやyイオンなどのペプチドの主鎖が開裂したイオン間の質量差からは識別できない。しかし、高エネルギーCIDでは主鎖が開裂した上で側鎖が脱離したイオン(dイオン)も観測されるため、識別することが可能となる。そこで、本実験では、JMS-S3000 “SpiralTOF” TOF-TOFオプションを用いて、高エネルギーCIDで特徴的に見られる、アミノ酸側鎖の構造を反映したフラグメントイオンによるロイシン・イソロイシンの判別が可能か確認した。併せて、ペプチド内に含まれるアミノ酸の種類を同定できるインモニウムイオンを明確に観測できるか確認した。

測定して得られたプロダクトイオンスペクトルをFig.1に示す。主鎖が開裂したaイオンが主に観測されており、Fig.1で帰属しているように配列を反映したスペクトルが得られている。イソロイシン及びロイシンの構造情報が得られる m/z 600 及び 1200 前後の領域を拡大すると(Fig.2), イソロイシンではa5 イオンから-14 及び-28 の位置に側鎖が脱離したdイオンが観測されており、ロイシンではa10 イオンから-42 の位置にdイオンが観測されている。これは、イソロイシンとロイシンでは側鎖の構造が異なるためであり、Fig.2で示しているようにdイオンに違いが生じる。次に m/z 150 以下の範囲を拡大すると(Fig.4), Fig.3のような構造を持つインモニウムイオンが観測されている。このイオンは、Fig.3で示しているように各アミノ酸の残基(R)に CH_3N が付いた構造となっており、このイオンから測定したペプチドに含まれているアミノ酸の種類を同定することができる。

以上のように、TOF-TOF オプションでは構造異性体であるロイシン・イソロイシンの判別が可能であり、ペプチドの一次構造解析(特に、De Novo Sequencing)において、極めて有効なツールといえる。

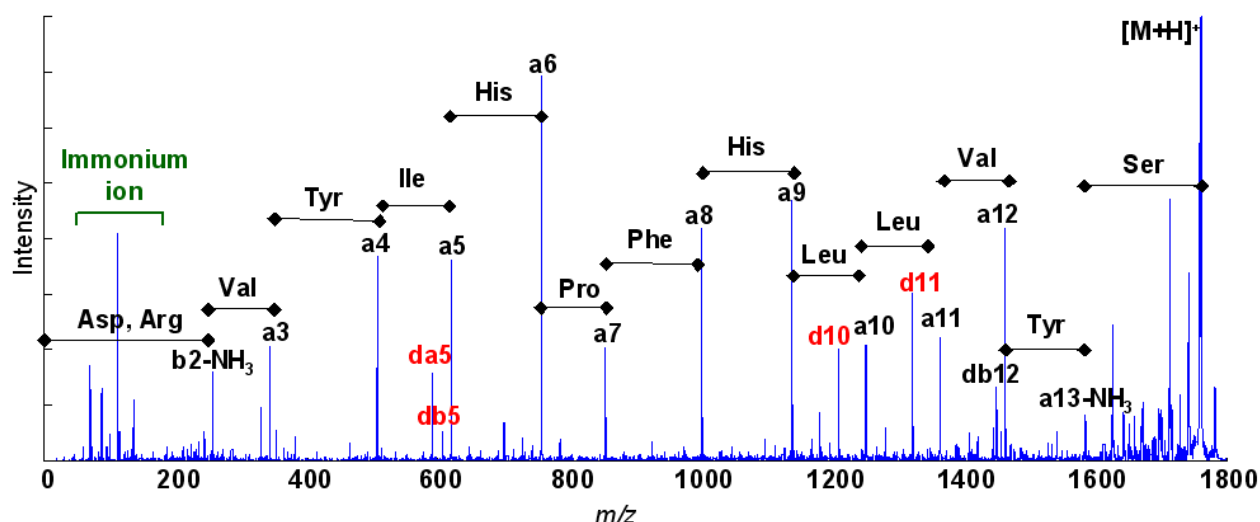


Fig.1 Product ion spectrum of renin substrate tetradecapeptide.

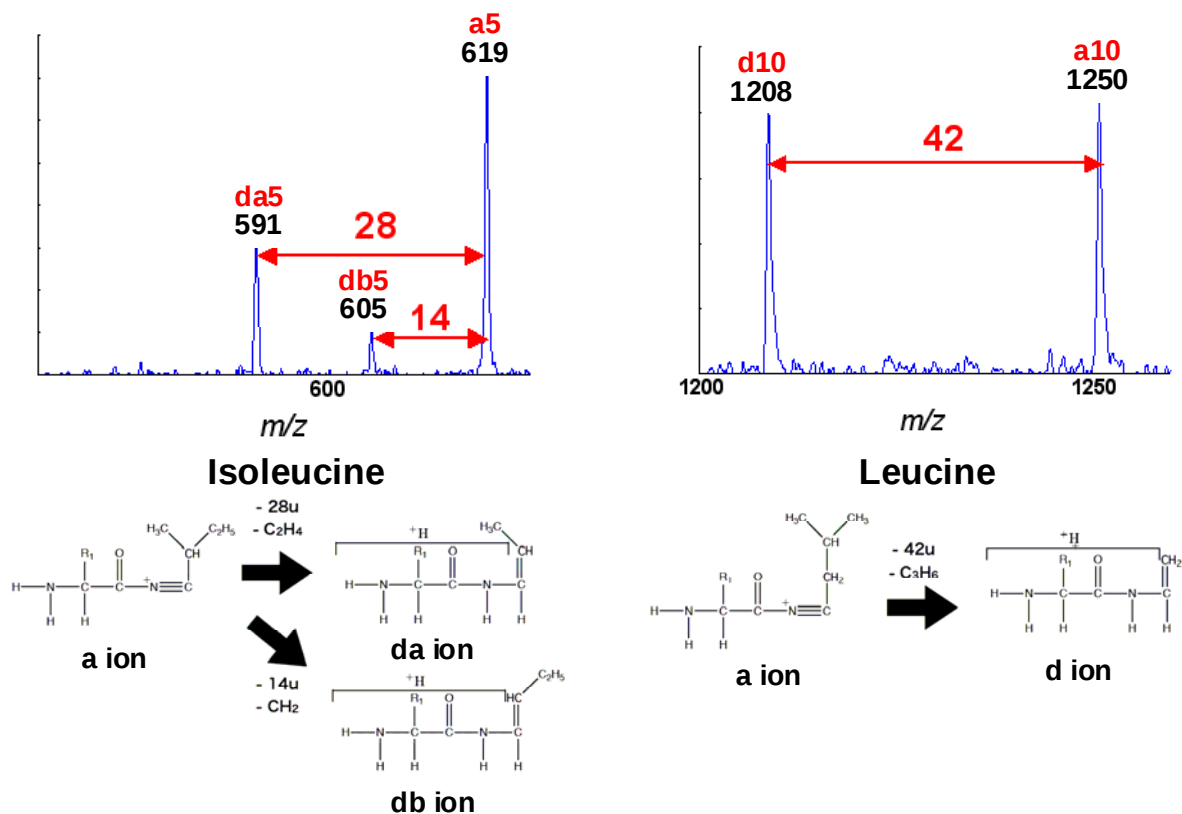


Fig.2 Product ion spectrum of renin substrate tetradcapeptide and Pathway for d ion (Left: Isoleucine, Right: Leucine).

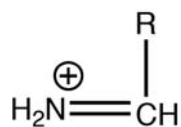


Fig.3 Structure of immonium ion (R: amino-acid residue)

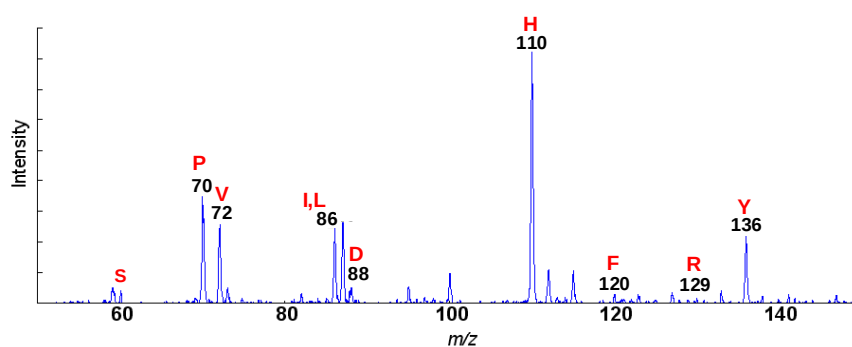


Fig.4 Product ion spectrum of renin substrate tetradcapeptide enlarged between m/z 50 and 150.