

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 3 (リン酸化ペプチド)

リン酸化は、タンパク質の翻訳後修飾の一種であり、幅広い生物種において細胞内シグナル伝達等で行われている。そのため、タンパク質のどの部位 (アミノ酸) がリン酸化しているかは非常に重要な情報であると言える。そこで、今回は代表としてリン酸化タンパク質である β -casein (Bovine) のトリプシン消化して生成されたモノリン酸化ペプチド (FQ pS EEQQQTEDELQDK) を JMS-S3000 “SpiralTOF” の TOF-TOF オプションで測定した。

試料を 10 pmol/uL (0.1% TFA)の濃度で調製し、液体マトリックスと 1:1 で混合した後、プレートに滴下した。液体マトリックスは、CHCA を 30 mg/mL (100% MeOH) の濃度で調整し、その溶液 150 uL に対して 3-Aminoquinoline を 35 mg 溶解させ作成した。

測定して得られたマススペクトルをFig.1 に示す。 m/z 2061.807 に試料の $[M+H]^+$ が観測されている。このモノアイソトピックイオン (計算値 2061.828) をプリカーサーイオンとして選択して得られたプロダクトイオンスペクトルをFig.2 に示す。C末端に塩基性アミノ酸であるリジンが存在しているため、ペプチドの主鎖が開裂して生成されたyイオンがシリーズで観測されている。また、そのyイオンから側鎖が脱離した形となるwイオンも観測されている。低エネルギーCIDでは、主鎖の開裂の前にリン酸基が脱離してしまうためにリン酸化位置の同定は困難である^[1]とされているのに対して、高エネルギーCIDではFig.2 のようにyやwイオンがリン酸基が付加した状態で観測されるため^[2]、リン酸化位置を同定することが可能となる。Fig.2 において、y13 イオンとy14 イオンの m/z の差が、リン酸化したセリンに相当する 167 となっており、セリンがリン酸化していることがわかる。

以上のように、TOF-TOF オプションではリン酸化ペプチドの修飾位置の同定が可能であり、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。

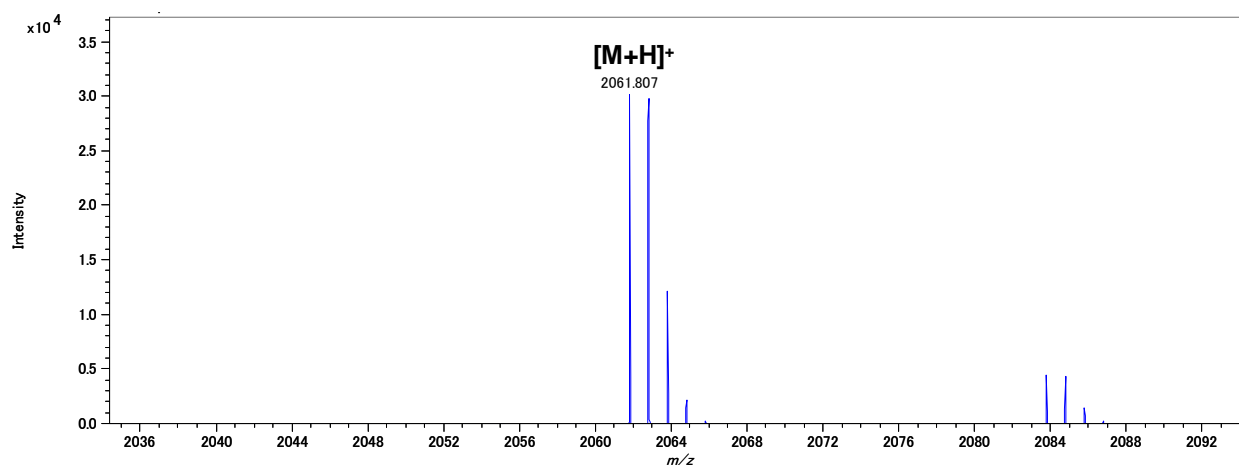


Fig.1 Mass spectrum of Monophosphopeptide.

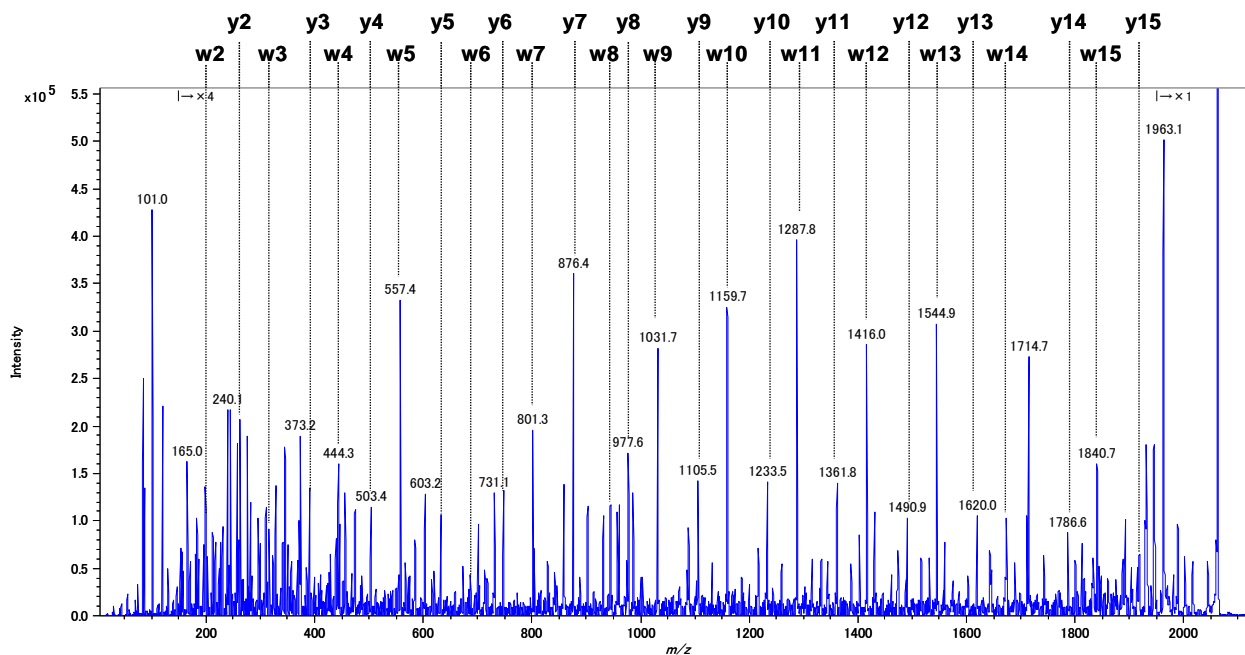


Fig.2 Product ion spectrum of Monophosphopeptide.

- [1] A. Stensballe, O.N. Jensen, J.V. Olsen, K.F. Haselmann, R.A. Zubarev, Rapid Communications in Mass Spectrometry 14 (2000) 1793.
- [2] S. Shimma, H. Nagao, A.E. Giannakopoulos, S. Hayakawa, K. Awazu, M. Toyoda, Journal of Mass Spectrometry 43 (2008) 535.