

In-Source Decayによるタンパク質のシーケンス解析

Protein Sequencing using In-Source Decay

MALDI-TOF型質量分析計では、イオン源内におけるフラグメンテーション (ISD, In-Source Decay) により生じたイオンを検出することができます。タンパク質についてISDが生じた場合には、N末端側のc系列イオン (Fig.1) が主に検出されます。

これまで、2,5-dihydroxybenzoic acid (DHB) がISDを引き起こすマトリクスとして汎用されてきましたが、最近1,5-diaminonaphthalene (DAN) が、より効果的なマトリクスとして報告されました (参考)。DANを使用してISDイオンを検出することにより、簡便にアミノ酸配列情報を取得し、ホモロジー検索により相同性の高いタンパク質を調べることができます。

Fig.2に、DANをマトリクスとして得られたウシ血清アルブミン (BSA) の質量スペクトル (リニアモード)

を示しました。BSAのN末端のアミノ酸配列について、c9 ~ c41 (c34とc39を除く) を帰属することが出来ました。ピークの帰属にはAXIMA付属ソフトのDatabase viewer機能を使用すると便利です (Leu/IleやLys/Glnの区別は不可)。

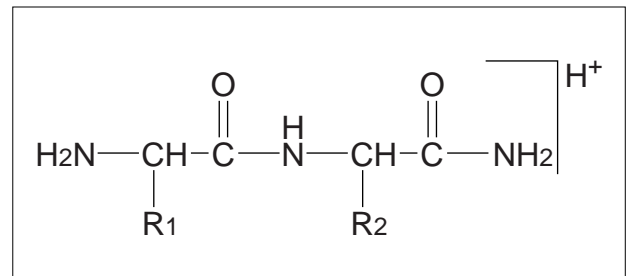


Fig.1 c系列イオンの構造
Structure of c Type Ion

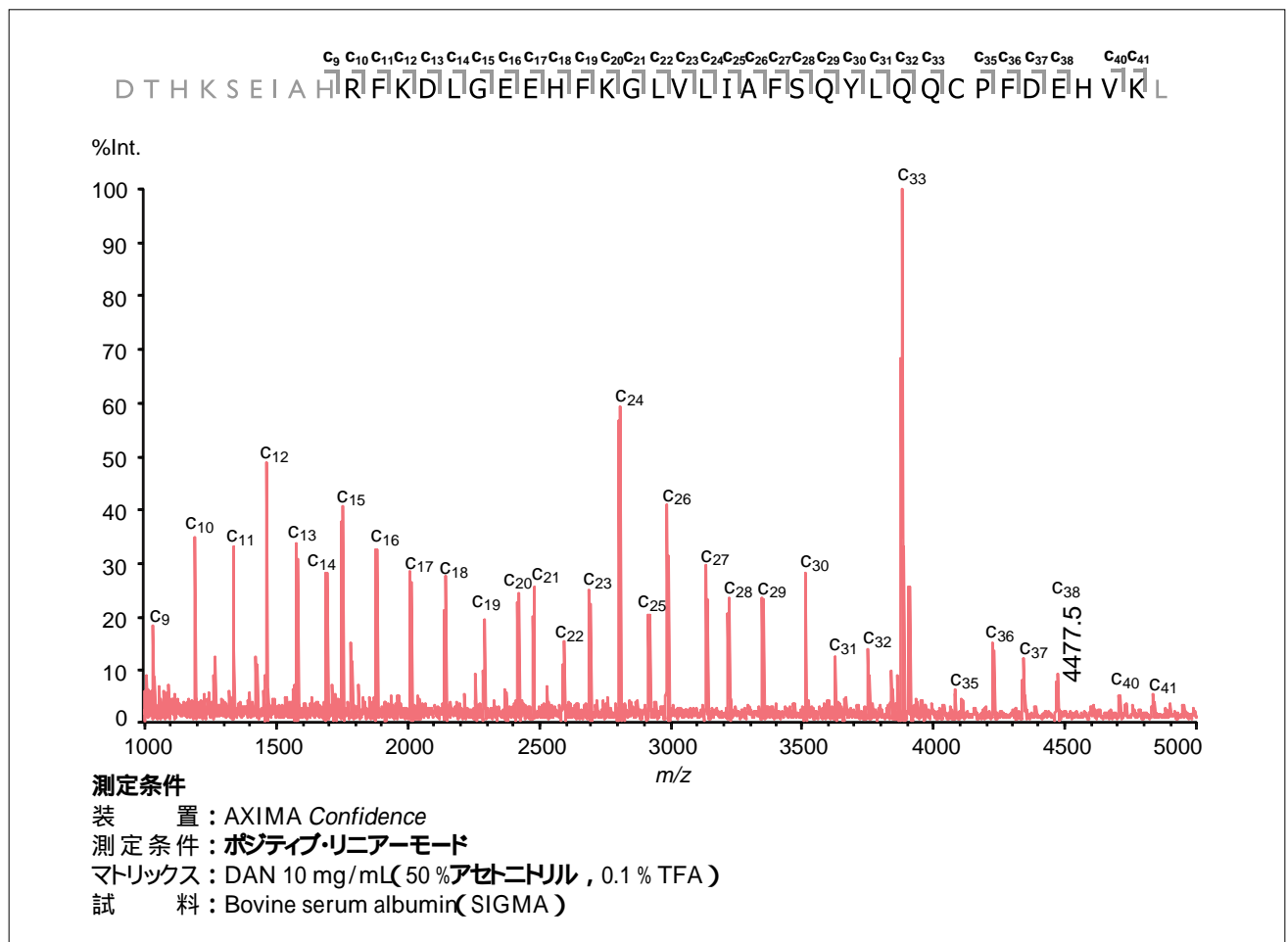


Fig.2 BSAの質量スペクトルとISDイオンの帰属
Mass Spectrum of BSA and Assignment of ISD Ions

Fig.2の質量スペクトルについて、あるcイオンをプリカーサイオンとして得られたMS/MSスペクトルと仮定することにより、酵素消化断片のMS/MSスペクトルと同様にMS/MS ion searchによる検索が可能です。

Fig.2のフラグメントイオン情報について、 C_{38} イオン (m/z 4477.5) を擬似的にプリカーサイオンとし、MS/MS ion search (MASCOT) 検索を行いました (Fig.3)。プリカーサイオン (cイオン) の構造から Variable modification に c 末端アミド化を設定しました。Instrument type には、c 系列のイオンがデータベースに含まれる FTMS-ECD を選択しました。リニアモードで得られる ISD イオンの質量誤差を考慮し、比較的大きな tolerance 設定で検索した結果、Serum albumin precursor (Bovine) が最も相同性の高いタンパク質として挙げられました (スコア248)。 C_{34} を除いたN末端10~37残基のCイオンが主に帰属されました。

M.Yamada

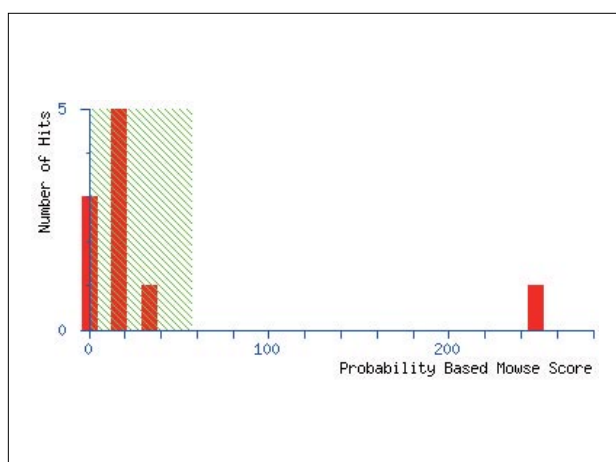


Fig.3 MS/MS Ion Search検索結果
MS/MS Ion Search Result

#	c	Seq.	y	z+1	z+2	#
1	133.1253	D				38
2	234.2292	T	4362.8974	4346.8748	4347.8827	37
3	371.3685	H	4261.7935	4245.7709	4246.7788	36
4	499.5408	K	4124.6542	4108.6316	4109.6395	35
5	586.6181	S	3996.4819	3980.4593	3981.4672	34
6	715.7321	E	3909.4046	3893.3820	3894.3899	33
7	828.8897	I	3780.2906	3764.2680	3765.2759	32
8	899.9676	A	3667.1330	3651.1104	3652.1183	31
9	1037.1069	H	3596.0551	3580.0325	3581.0404	30
10	1193.2926	R	3458.9158	3442.8932	3443.9011	29
11	1340.4665	F	3302.7301	3286.7075	3287.7154	28
12	1468.6388	K	3155.5562	3139.5336	3140.5415	27
13	1583.7262	D	3027.3839	3011.3613	3012.3692	26
14	1696.8838	L	2912.2965	2896.2739	2897.2818	25
15	1753.9351	G	2799.1389	2783.1163	2784.1242	24
16	1883.0491	E	2742.0876	2726.0650	2727.0729	23
17	2012.1631	E	2612.9736	2596.9510	2597.9589	22
18	2149.3024	H	2483.8596	2467.8370	2468.8449	21
19	2296.4763	F	2346.7203	2330.6977	2331.7056	20
20	2424.6486	K	2199.5464	2183.5238	2184.5317	19
21	2481.6999	G	2071.3741	2055.3515	2056.3594	18
22	2594.8575	L	2014.3228	1998.3002	1999.3081	17
23	2693.9886	V	1901.1652	1885.1426	1886.1505	16
24	2807.1462	L	1802.0341	1786.0115	1787.0194	15
25	2920.3038	I	1688.8765	1672.8539	1673.8618	14
26	2991.3817	A	1575.7189	1559.6963	1560.7042	13
27	3138.5556	F	1504.6410	1488.6184	1489.6263	12
28	3225.6329	S	1357.4671	1341.4445	1342.4524	11
29	3353.7621	Q	1270.3898	1254.3672	1255.3751	10
30	3516.9354	Y	1142.2606	1126.2380	1127.2459	9
31	3630.0930	L	979.0873	963.0647	964.0726	8
32	3758.2222	Q	865.9297	849.9071	850.9150	7
33	3886.3514	Q	737.8005	721.7779	722.7858	6
34	3989.4943	C	609.6713	593.6487	594.6566	5
35	4086.6095	P	506.5284	490.5058	491.5137	4
36	4233.7834	F	409.4132	393.3906	394.3985	3
37	4348.8708	D	262.2393	246.2167	247.2246	2
38		E	147.1519	131.1293	132.1372	1

[参考文献]

Demevre, K. et al, Anal. Chem., 79, 8678-85,(2007)
Fukuyama, Y. et al, J. Mass Spectrom., 41, 191-201,(2006)

初版発行：2009年5月

 島津製作所 分析計測事業部
応用技術部

島津分析コールセンター

☎ 0120-131691(携帯電話不可)
● 携帯電話専用番号(075)813-1691

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。改訂版は下記の会員制Web Solutions Navigatorで閲覧できます。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/>
会員制Webの閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。