

Curved Field ReflectronのPSDによるβAsp残基の識別(1)

- Differentiating βAsp Residue by PSD in a Curved Field Reflectron (1) -

蛋白質中のアスパラギン酸は、紫外線照射や加齢などにより五員環形成を経て異性化(イソアスパラギン酸; isoAspもしくはβAsp)することが知られています^[1]。この異性化はアスパラギン酸側鎖のC=O基と隣接残基のNH基間での結合が形成されることを意味するため、蛋白質の主鎖に不安定化をもたらし、ひいては立体構造の変化や蛋白質間の凝集を促すと考えられています。実際、白内障患者の水晶体中にはイソアスパラギン酸を含むαクリスタリンが存在することが報告されています。イソアスパラギン酸の検出・定量はおもにプロテインシーケンサーとHPLCで行われています

が、異性体同士の分離が困難であること、存在量が少ないことなどから、一般に解析は困難とされています。MALDI-TOFMSは微量の測定対象を解析するのに有効な方法ですが、異性体の残基質量は同一であるため、単なる分子量測定ではイソアスパラギン酸の検出解析は不可能です。ここでは、弊社独自の技術であるCurved Field Reflectronを搭載したTOFのポストソース分解(PSD)を利用することにより、βAspに特異的なフラグメントイオンを検出して通常のAspと識別した結果を報告します^[5]。

Y. Yamazaki

*本報告は、京都大学原子炉実験所・藤井先生との共同研究成果の一部です。

Fig.1にAsp異性体の構造を示します。βAspでは、言わばβAspの主鎖と側鎖が入れ替わった構造になっているのが特徴です。MALDI-TOFMSのPSD測定は以下Fig. 2のような条件で行ないました。試料として、αクリスタリンの部分アミノ酸配列のAsp一箇所を異性化した合成ペプチドを用いました(Fig. 2)。この部分配列に含まれるAspは加齢などにより異性化することが既に知られています。

次頁に合成ペプチドT6 peptideのPSDスペクトルを示します。異なる異性化Aspを含む両者のスペクトルは極めて類似していますが、Asp残基の前後のフラグメントイオンであるy7とy8の強度が極端に異なるのが分かります。加えてβAspを含むペプチドからは特徴的なy8-46が、強度が弱いながらも検出されました。PSD測定はプリカーサーを選択してレーザーパワーを通常のMSより高くするという、極めて容易な設定で実行できます。このように、従来の方で困難であったβAspの識別がPSDで容易に実行できることが示されました。

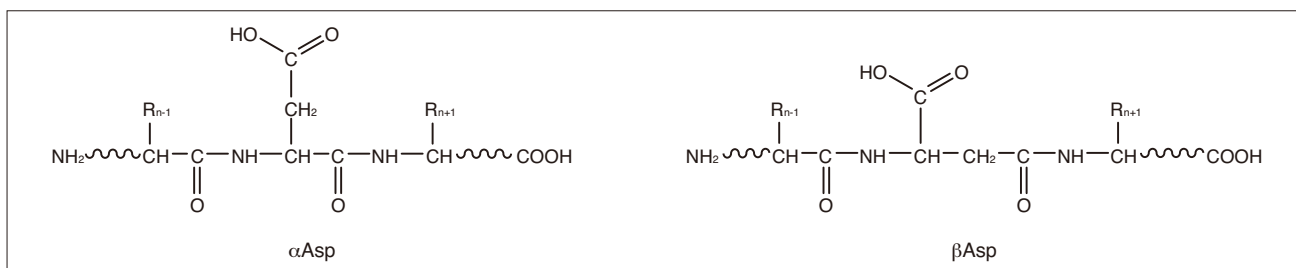


Fig. 1 αおよびβAspの構造
Chemical Structures of α- and βAsp Residue

【試料】T6 peptide
(ヒトαクリスタリンの部分配列)
濃度: 1 mg/ml
配列: TVLDSGISEVR (1175.6)

4番目のAsp残基を下記の異性体で置換
Lα:TVL (αD) SGISEVR
Lβ:TVL (βD) SGISEVR

【測定】

• 使用装置 AXIMA-Performance™
• 装置条件 Reflectron/positive
• マトリックス α-CHCA 5 mg/ml 50%アセトニトリル (0.1%TFA)
• 質量較正 以下、外部標準を用いた質量較正を行った。
Angiotensin II : m/z 1046.54
ACTH18-39 : m/z 2465.20

Fig. 2 合成ペプチドと実験条件
Synthetic Peptides and Experimental Conditions

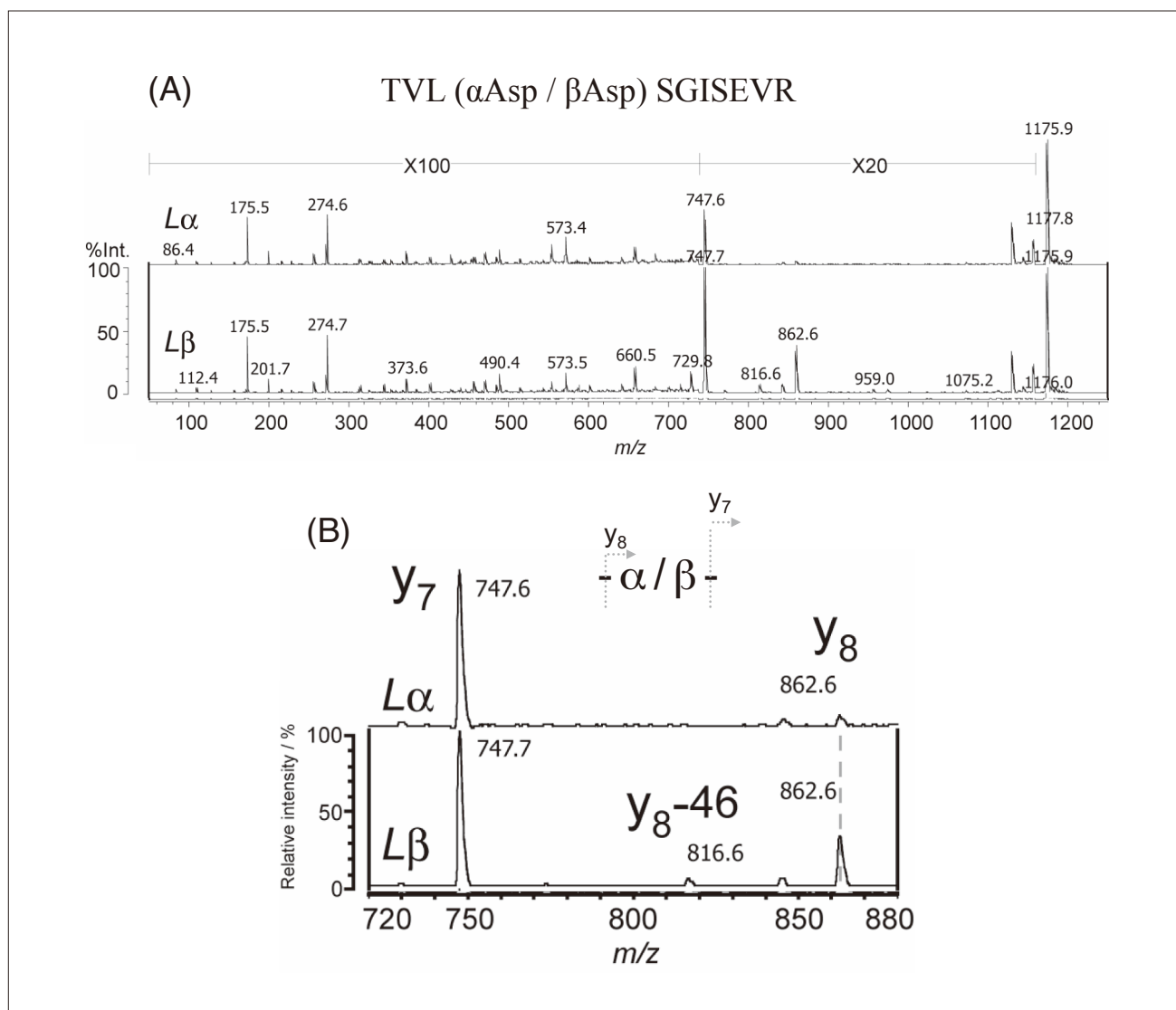


Fig. 3 合成したT6 peptideのPSD (A), および拡大図 (B)
PSD Spectra of T6 Peptides; (A), and Blew-up Figure; (B)

参考文献 :

- [1] Biochem Biophys Res Commun., 294, 1047-1051 (2002) [2] Rapid Commun. Mass Spectrom., 14, 2092-2102 (2000)
[3] J Am. Soc. Mass Spectrom., 18, 48-56 (2007) [4] Anal. Chem., 79, 2714-2724 (2007)
[5] Anal. Chem., 82, 6384-6394 (2010)

初版発行：2011年4月

島津製作所 分析計測事業部
応用技術部

島津コールセンター

☎0120-131691
TEL: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。

3100-04101-570-IK
2011.4