

# 质谱法分析多肽序列及鉴定混合肽组成

何美玉 贺晓然 许家喜 陈德华 刘念慈  
(北京大学化学与分子工程学院 北京 100871)

Karas 和 Hillenkamp<sup>1</sup> 发明的底物辅助激光解吸离子化 (Matrix-Assisted Laser Desorption / Ionization, MALDI) 方法及 Fenn<sup>2</sup> 发明的电喷雾电离 (Electrospray Ionization, ESI) 方法, 是测定多肽、蛋白质等生物大分子的分子量有效技术。由此发展的电喷雾电离/碰撞诱导解吸 (Electrospray Ionization / Collision Induced Dissociation, ESI / CID) 技术<sup>3,4</sup>; 底物辅助激光解吸电离/源后裂解 (MALDI/Post Source Decay, PSD) 技术<sup>5</sup>; MS/MS (FI-ICR-MS) 技术<sup>6</sup> 及阶梯法<sup>7</sup> 构成了分析多肽序列的强有力手段。

从罂粟花粉中分离得到的, 对人胃癌肿瘤细胞株 BGC-823 和人膀胱癌肿瘤细胞株 EJ 有明显抑制作用的十七肽及具有生物活性的六种多肽, 是我们感兴趣的研究对象, 它们是用固相合成并经 HPLC 分离提纯, 其序列如下:

- |                            |                        |
|----------------------------|------------------------|
| 1. 17 肽: NQQPLQTSGVINMKAAG | 5. 8 肽(1): EEEEMKRK    |
| 2. 10 肽(1): VQAAIDYING     | 6. 10 肽(3): RLRERDEELE |
| 3. 10 肽(2): GNSSRCWVAL     | 7. 8 肽(2): SLDDEAKN    |
| 4. 7 肽: ELDESRR            |                        |

首先, 用 ESI/FT-ICRMS 测定了这七种肽的精确分子量, 测定值与计算值之间的误差除了样品 NO.6 外, 都在 2ppm 以内 (见表 1)

表 1 七种多肽的质子化分子(M+H)<sup>+</sup>

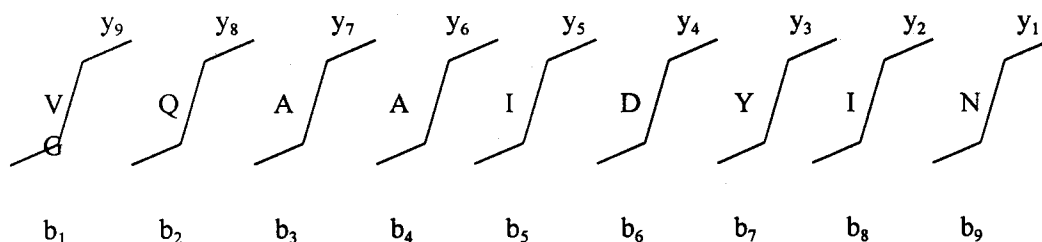
NO.	记号	测定值	计算值	误差(ppm)
1.	17 肽	1756.9013	1756.9016	0.2
2.	10 肽(1)	1063.5420	1063.5424	0.4
3.	10 肽(2)	1092.5254	1092.5260	0.5
4.	7 肽	820.3947	820.3801	1.7
5.	8 肽(1)	1078.5193	1078.5197	0.3
6.	10 肽(3)	1344.6917	1344.6871	3.4
7.	8 肽(2)	891.4037	891.4054	1.9

用 Nozzle-Skimmer ESI/CID 方法, 成功地得到上述五种(NO.1-5)多肽的序列信息。b 系列离子及 y 系列离子按 P.Roepstroff 及 J.Fohlman<sup>8</sup> 建议的方法命名, b 系列离子电荷保留在 N-端, y 系列离子的电荷保留在 C-端, 观察到的应为 y'' (y'' = y+2)。以化合物 NO.2 为例, b 系列离子及 y 系列离子用 scheme 1 表示

观察到的 b 系列离子及 y'' 系列离子的 m/z 依次如下:

b<sub>2</sub>—b<sub>9</sub>(m/z): 228, 299, 370, 483, 598, 761, 874, 988

y''<sub>2</sub>—y''<sub>9</sub>(m/z): 190, 303, 466, 581, 694, 765, 836, 964



样品 NO.4 不是合成的预期产物, 经分析确定为本文所示的序列。

这五个样品的结果表明, 用 ESI/CID 方法分析分子量在 2000 以内的多肽序列是有效的可行的, 测定未知肽也是成功的。

样品 NO.6 及 NO.7 经固相合成后, 只经凝胶过滤粗分, 用 ESI/FT-ICRMS 测试, 结果表明, NO.6 至少是 8 种肽的混合体系, NO.7 是三种肽的混合体系而且能得到各种肽的精确分子量。其测定值与计算值之间误差在 3ppm 以内。这个结果表明, 该方法还可用于鉴定固相合成多肽库的库化合物成份。为肽组合化学研究领域提供重要的信息。

### 参考文献

- 1 F.Hillenkamp, M.Karas, R.C.Beavis and B.T.Chait, *Anal. Chem.* 63, 1193A-1202A (1991)
- 2 J.B.Fenn, M. Mann, C.K.Meng, S.F. Wong and C.M.Whitehouse, *Science* 246, 64 (1989)
- 3 R.D.Smith, J.A.Loo, C.G.Edmonds, C.J.Barinaga and H.R.Udseth, *Anal.Chem.*62,822-899 (1990)
- 4 J.A.Loo,C.G.Edmonds and R.D.Smith, *Anal. Chem.* 65, 425 (1993)
- 5 R.Kanfmann, B. Spengler, F. Lutzenkirchen, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 7, 902-910 (1993)
- 6 P.B.O'connor, J.P.Speir, M.W.Senko, D.P.Little and F.W.McLafferty, *J.Mass Spectrom.* 30, 88-93 (1995)
- 7 B.T.Chait, R.Wang, R.C.Beavis and S.B.H.Kent, *Science*, 262, 89-92 (1993)
- 8 P.Roepstorff, J.Fohlman, *Biomed. Mass Spectrom.* 11, 601 (1983)

## ANALYSIS PEPTIDE SEQUENCE BY MASS SPECTROMETRY METHOD

HE Meiyu\*, HE Xiaoran, XU Jiayi, Tak Wah CHAN, Rebecca L.C. LAN

(College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University, Beijing 100871, China)

Five Peptide Sequences were analysed and two kinds of peptide mixture system were identified by Electrospray Ionization Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass spectrometry. The results provide important information in the field of peptide combinatorial chemistry research.