

用串联质谱区分天门冬氨酸的 α , β 同分异构体

商金卓, 任玉林, 金海燕, 国新华

(吉林大学化学学院, 吉林 长春 130012)

Differentiating α -Aspartic and β -Aspartic Acids Using Tandem Mass Spectrometry

SHANG Jin-zhuo, REN Yu-lin, JIN Hai-yan, GUO Xin-hua

(Chemistry Department of Jilin University, Changchun 130012, China)

Abstract: Two peptides, HG-(α -Asp)-GT 和 HG-(β -Asp)-GT which contain same amino acids, but α - or β -aspartic acid in the middle of the sequences, respectively, are performed MS/MS studied. The peptide with the α -aspartic acid yields w_3+H_2O ion in the presence of NaOAc or KOAc. In contrast the peptide containing β -aspartic acid generates b_2+H_2O peak in the absence of salts; b_2+H_2O+Na and v_3+Na in the presence of NaOAc and b_2+H_2O+K in the presence of KOAc. Thus, the α - and β -aspartic acids in different peptides are differentiated. The ions w_3+H_2O , v_3+Na ions are first time identified that can be considered as new feature peaks for the distinction of α - and β -aspartic residues.

Key words: α -aspartic acids; β -aspartic acids; tandem mass spectrometry

中图分类号: O 657.63 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997 (2008) 增刊-185-02

天门冬氨酸(Asp)是一种酸性氨基酸,其存在 α 和 β 两种同分异构体。 β 天门冬氨酸在蛋白体内由 α 异构体异构化产生,属非正常的氨基酸,它的存在会引起蛋白结构、功能和性质的变化,因此测定和区分天然生物体中存在的天门冬氨酸的 α 、 β 两种同分异构体是十分重要的。区分这两种同分异构体早期曾使用Edman降解^[1]、核磁共振^[2]等方法,但这些方法都有其局限性。1991年Steven A Carr等人第一次使用质谱成功的区分了 α 、 β 天门冬氨酸^[3],为解决这一问题开辟了一条新的途径。

本工作在不同盐的溶液对含有相同氨基酸组成和不同 α 和 β 天门冬氨酸同分异构体的小肽进行串联质谱研究,找到区分同分异构体的特征峰,目的是通过系统研究建立有效的质谱分析方法鉴定和区分天然和合成肽及蛋白中存在的 α 和 β 天门冬氨酸同分异构体。

1 实验部分

1.1 主要仪器与实验条件

QTRAP2000 质谱仪: 美国 Applied Biosystems 公司产品; 气帘气和雾化气压力为 20 psig; DP 电压 40 V; EP 电压 10 V; 碰撞能 10 eV; 进样流速 $5 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

1.2 主要材料和试剂

肽段 HG-(α -Asp)-GT 和 HG-(β -Asp)-GT: 长春百克生物科技有限公司合成; 乙腈: 色谱纯; 甲酸: 分析纯; 乙酸钠、乙酸钾、乙酸铷: 分析纯, 北京化工厂产品。等浓度的肽段与等浓度的不同乙酸盐混合, 用 $V(\text{乙腈}):V(\text{水}):V(\text{甲酸})=50:50:0.2$ 的混合溶液稀释到 $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 用于质谱分析。

2 结果与讨论

肽串联质谱形成的碎片离子命名如图 1 所示。样品 1 HG-(α -Asp)-GT 和样品 2 HG-(β -Asp)-GT 产生 m/z 485.2 准分子离子峰。文献报道在高能量 (keV) 碰撞的 MS/MS 下, α -Asp 的特征峰为 w_3 和 v_3 。其中: $w_3=z_3-\text{COOHCH}_2$, $v_3=y_3-\text{CHOHCH}_3$ 。在低能量 (eV) MS/MS 下, β -Asp 特征峰

为 b_2+H_2O ^[4]。在未加入任何乙酸盐, β -Asp 出现 b_2+H_2O , 而 α -Asp 并未出现与文献报道一致。

为了进一步区分 α -Asp 和 β -Asp, 向样品 1 和样品 2 中分别加入相同浓度乙酸钠 (NaOAc)、乙酸钾 (KOAc)、乙酸铷 (RbOAc)。当加入 NaOAc 后, 样品 1 的谱图中出现了 234.1 的峰, 经过解谱认为这个峰是 w_3+H_2O (如图 2), 而这个峰在样品 2 中却未被发现。在样品 2 的谱图中出现了 2 个样品 1 中没有的峰 236.2 和 268.1, 经过解谱认为这 2 个峰分别为 b_2+H_2O+Na , v_3+Na (如图 2)。

当加入 KOAc 后发现样品 1 谱图中再次出现了 w_3+H_2O 的峰, 而样品 2 中并未出现, 但样品 2 中出现 252.1 的峰, 经过解谱认为是 b_2+H_2O+K 。

当加入 RbOAc, 样品 1 并未出现 α -Asp 的特征峰 w_3 和 v_3 , 样品 2 出现了 β -Asp 的特征峰 b_2+H_2O 。表 1 比较了 α -和 β -天门冬氨酸在不同盐的条件下形成的特征峰。

其中 w_3+H_2O 和 v_3+Na 这 2 个特征峰在以前的文献中并未见报道, 它们产生的机理正在研究, 希望能够成为新的区分 α 、 β 天门冬氨酸的特征峰。

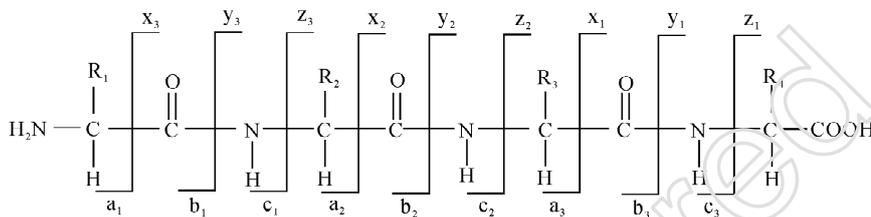


图 1 肽的串联质谱碎裂示意图

Fig.1 Schematic diagram of the fragmentations of peptide

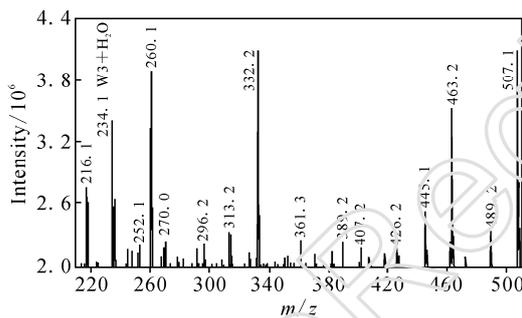


图 2 样品 1 加入 NaOAc 的串联质谱图

Fig.2 MS/MS spectrum of the sample 1 with NaOAc

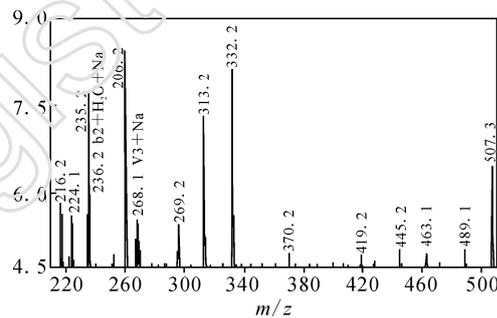


图 3 样品 2 加入 NaOAc 的串联质谱图

Fig.3 MS/MS spectrum of the sample 2 with NaOAc

表 1 α -天门冬氨酸和 β -天门冬氨酸特征峰的比较

Table 1 Comparison of α -aspartic acids and β -aspartic acids feature peaks

	m/z	intensity		m/z	Intensity		
α -Asp			α -Asp in KOAc	234.1	3.4×10^6	w_3+H_2O	
β -Asp	213.2	6.9×10^7	b_2+H_2O	β -Asp in KOAc	252.1	2.4×10^6	b_2+H_2O+K
α -Asp in NaOAc	234.1	3.4×10^6	w_3+H_2O	α -Asp in RbOAc			
β -Asp in NaOAc	236.2	5.0×10^6	b_2+H_2O+Na	β -Asp in RbOAc	213.2	2.1×10^6	b_2+H_2O
	268.2	5.5×10^6	v_3+Na				

参考文献:

[1] WEBER K L, KONIGSBERG W J. J Biol Chem, 1967, 242: 3 563.
 [2] CHAZIN W J, KORDEL J, THULIN E, et al. Biochemistry, 1989, 28: 8 646.
 [3] CARR S A, HEMLING M E, BEAN M F, et al. Anal Chem, 1991, 63: 2 802.
 [4] GONZALEZ L J, SHIMIZU T, SATOMI Y, et al. Mass Spectrom, 2000, 14: 2 092.