

应用台式 MALDI-TOF-MS 鉴定蛋白质种类

MALDI-007

摘要：本文应用岛津台式基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪 MALDI-8020，在线性正离子模式下，以 CHCA (α -氰基-4-羟基肉桂酸) 为基质，分析花生过敏原蛋白质 Ara h 2 的酶解产物，得到了精确的分子量分布信息。将酶解产物的肽指纹图谱 (PMF) 检索 asco 数据库，成功匹配到理论蛋白质信息。

关键词：基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 MALDI-8020 蛋白质鉴定 Ara h 2

蛋白质鉴定是 MALDI-TOF 的常规应用之一，但传统 MALDI-TOF 体积较大，价格昂贵。MALDI-8020 作为全世界体积最小的 MALDI-TOF，占地面积小，价格相对较低，性能优良，同样可以较为方便地进行蛋白质鉴定分析。Ara h 2 (Conglutin-7) 是主要的花生过敏原蛋白质之一，可以引起严重的食物过敏反应，对该蛋白进行定性分析，有助于花生过敏原研究。

本文以 CHCA 为基质，应用台式基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪 MALDI-8020 检测花生过敏原蛋白质 Ara h 2 的酶解产物，并对其进行 Mascot 搜库分析，搜库结果与理论相符，验证了 MALDI-8020 的检测结果，表明 MALDI-8020 可以满足蛋白质分析的要求。

■ 实验部分

1.1 仪器

MALDI-8020，如图 1 所示。



图1 MALDI-8020

1.2 分析条件

调谐模式：线性正离子模式

扫描范围：m/z 500-3000

激光器：355 nm 固态激光器

激光能量：60

1.3 试剂和样品

基质：CHCA (α -氰基-4-羟基肉桂酸)

样品：花生过敏原蛋白质 Ara h 2 (Conglutin-7)

1.4 样品前处理

取 50 μ g 样品，应用 DTT (二硫苏糖醇) 和 IAA (碘乙酰胺) 进行还原烷基化处理后，加入 1 μ g 胰蛋白酶 37°C 酶解过夜。吸取 1 μ L 酶解产物和 1 μ L CHCA 基质溶液点靶，自然干燥后送入质谱进行分析。

■ 结果与讨论

Ara h 2 酶解产物的一级质谱检测结果如图 2 所示。从结果来看，酶解产物在 m/z 800-2200 之间检测到显著信号峰。将样品一级肽指纹图谱 (PMF) 通过 Mascot 软件检索数据库 SwissProt_Viridiplantae (2018_08, 39603 条序列) (参数设置见图 3)，结果如图 4 所示，成功匹配到蛋白质 Conglutin-7，与理论一致。

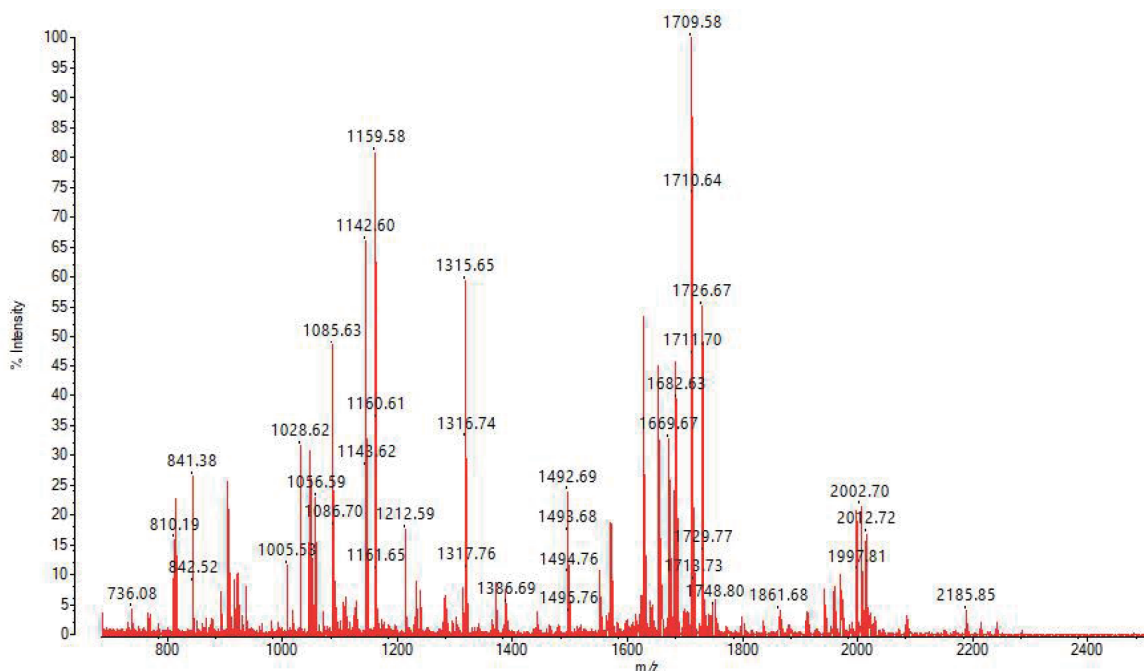


图2 Ara h 2的胰蛋白酶酶解产物的一级质谱图

Mascot Search Parameters

Server parameters
Please specify a server URL to be used to submit searches
Server URL:

Search Parameters
Database: Enzyme:
Taxonomy: Hits:
 Decoy Missed cleavages:

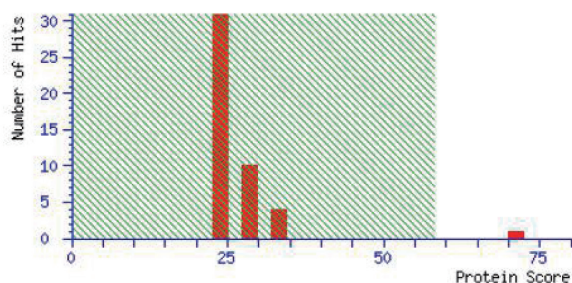
Fixed modifications: Display all modifications

Variable modifications: Display all modifications

- Acetyl (K)
- Acetyl (N-term)
- Acetyl (Protein N-term)
- Amidated (C-term)
- Amidated (Protein C-term)
- Ammonia-loss (N-term C)
- Carbamidomethyl (N-term)
- Carbamyl (K)
- Carbamyl (N-term)
- Carboxymethyl (C)
- Cation:Na (C-term)

Peptide tolerance:
 Monoisotopic Average
Mass type:

图3 Mascot检索参数



1. [CONG7 ARAHY](#) Mass: 20558 Score: 71 Expect: 0.0029 Matches: 9
Conglutin-7 OS=Arachis hypogaea OX=3818 PE=1 SV=2

Start - End	Observed	Mr (expt)	Mr (calc)	Delta M	Peptide
23 - 31	1159.5800	1158.5727	1158.5418	0.0309 0	R.QQWELQGDR.R
23 - 32	1315.6500	1314.6427	1314.6429	-0.0002 1	R.QQWELQGDRR.C
40 - 52	1624.6800	1623.6727	1623.7973	-0.1246 0	R.ANLRPCEQHLMQK.I
56 - 62	841.3800	840.3727	840.3250	0.0478 0	R.DEDSYGR.D
92 - 102	1212.5900	1211.5827	1211.5755	0.0072 1	R.RGAGSSQHQR.C
93 - 102	1056.5900	1055.5827	1055.4744	0.1083 0	R.GAGSSQHQR.C
103 - 115	1726.6700	1725.6627	1725.6835	-0.0208 0	R.CCNELNEFENNQR.C
116 - 131	2012.7200	2011.7127	2011.8220	-0.1093 0	R.CMCEALQQIMENQSDR.L
147 - 155	1085.6300	1084.6227	1084.5448	0.0780 0	R.NLPQQCGLR.A

图4 Ara h 2 (Conglutin-7) 酶解产物一级PMF搜库结果

结论

本文应用台式基质辅助激光解析电离飞行时间质谱 MALDI-8020 检测花生过敏原蛋白质 Ara h 2 的酶解产物，搜库结果与理论相符。MALDI-8020 作为台式基质辅助激光解析电离飞行时间质谱，体积紧凑、分析速度快、仪器维护方便，性能卓越，是蛋白质鉴定的有力工具。