

# 使用 MALDImini-1 紧凑型 MALDI 数字离子阱质谱仪鉴定蛋白质种类

MALDI-020

**摘要：**本文展示了应用 MALDImini-1 紧凑型基质辅助激光解吸电离数字离子阱质谱（MALDI-DIT）质谱仪通过肽指纹图谱（PMF）和二级质谱搜库成功鉴定牛血清白蛋白（BSA）的案例，表明 MALDImini-1 可以满足蛋白质种类鉴定分析的要求。

**关键词：**基质辅助激光解吸电离数字离子阱质谱 MALDImini-1 蛋白质鉴定 牛血清白蛋白

蛋白质鉴定在生物学研究中具有重要意义，MALDI-TOF MS（基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱）因其分析速度快、通量高，是进行蛋白质种类鉴定的常用手段之一。传统用于蛋白质鉴定的 MALDI-TOF 体积较大，价格昂贵。MALDImini-1 质谱仪整合了 MALDI 离子源和数字离子阱（DIT）（岛津原创技术），可以实现  $m/z$  650-70000 Da 内的多肽/蛋白、

多糖、聚合物等常规样品分子量检测，其多级碎裂功能还可以对样品进行复杂的结构分析。本文展示了应用 MALDImini-1 紧凑型 MALDI-DIT 质谱仪进行蛋白质鉴定的方法和结果，通过肽指纹图谱（PMF）和二级质谱搜库均成功实现蛋白质鉴定，表明 MALDImini-1 可以满足蛋白质种类鉴定分析的要求，该案例可以作为蛋白质鉴定分析时的参考。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

MALDImini-1 紧凑型 MALDI 数字离子阱质谱仪



图1 岛津 MALDImini-1 质谱仪

### 1.2 仪器参数

调谐模式：线性正离子模式

激光器：349 nm 固态激光器

扫描范围： $m/z$  650-5000

激光能量：22.5（范围 0-100）

### 1.3 样品前处理

取 100  $\mu\text{g}$  牛血清白蛋白样品，溶解后使用 5 mM DTT（二硫苏糖醇）和 20 mM IAA（碘乙酰胺）进行还原烷基化处理后，加入 2  $\mu\text{L}$  胰蛋白酶（0.5  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ）37°C 酶解过夜。酶解完成后采用 MonoSpin C18 脱盐柱，按照说明书进行脱盐。吸取 0.5  $\mu\text{L}$  样品溶液和 0.5  $\mu\text{L}$  CHCA（5 mg/mL）基质溶液点靶，自然干燥后送入质谱进行分析。

## ■ 结果与讨论

### 2.1 通过肽指纹图谱（PMF）进行蛋白质鉴定

BSA 酶解产物的一级质谱检测结果如图 2 所示。从结果来看，酶解产物的主要信号峰位于  $m/z$  650-3600 之间，将样品质谱数据通过 Mascot 网站 (<http://www.matrixscience.com>) PMF 搜库功能检索数据库 SwissProt (2020\_06, 563972 条序列)，结果如图 3 所示，成功匹配到蛋白质 ALBU\_BOVIN (牛血清白蛋白) 的部分肽段序列，与理论结果一致。

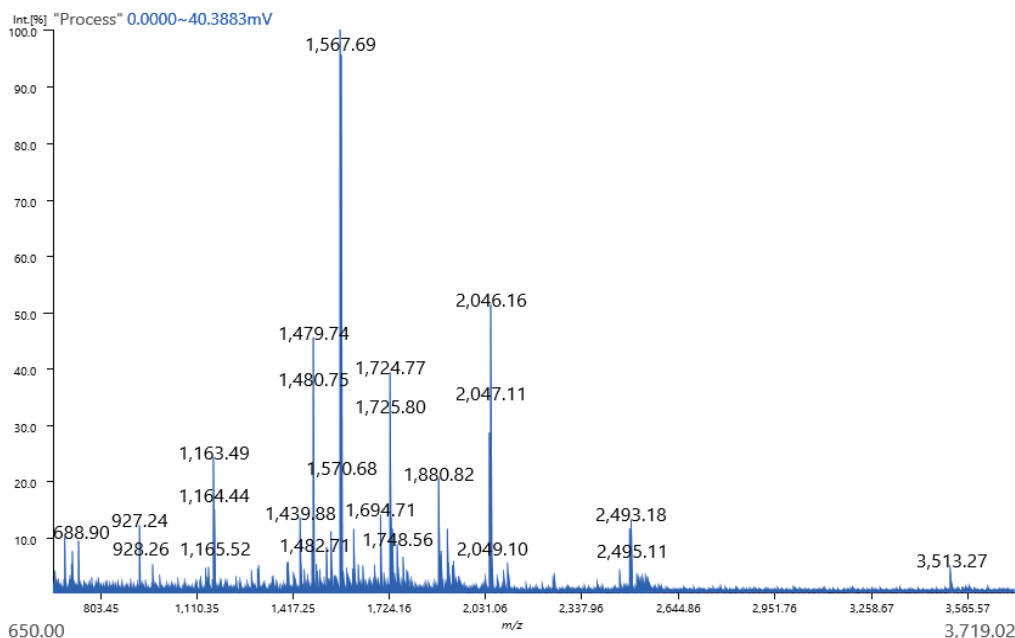
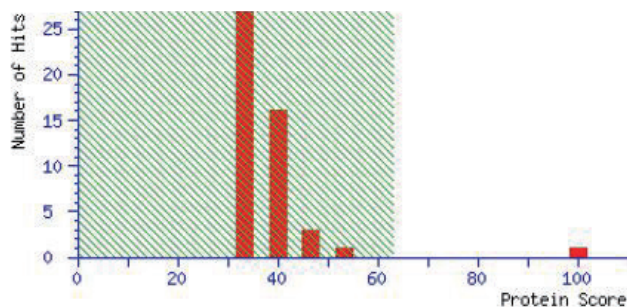


图 2 牛血清白蛋白的胰蛋白酶酶解产物的一级质谱图



1. [ALBU BOVIN](#) Mass: 71244 Score: 100 Expect: 1.1e-05 Matches: 36  
Albumin OS=Bos taurus OX=9913 GN=ALB PE=1 SV=4
2. [ALBU SHEEP](#) Mass: 71139 Score: 52 Expect: 0.63 Matches: 27  
Albumin OS=Ovis aries OX=9940 GN=ALB PE=1 SV=1

Start - End	Observed	Mr(expt)	Mr(calc)	Delta M	Peptide
35 - 44	1249.4896	1248.4824	1248.6139	-0.1315 1	R.FKDLGEEHFK.G
45 - 65	2492.1317	2491.1244	2491.2570	-0.1325 0	K.GLVLIAFSQYLQQCPFDEHVK.L
66 - 75	1163.4859	1162.4786	1162.6234	-0.1447 0	K.LVNELTEFAK.T
76 - 88	1463.6347	1462.6274	1462.5817	0.0457 0	K.TCVADESHAGCEK.S
89 - 100	1419.7558	1418.7485	1418.6864	0.0621 0	K.SLHTLFGDELCK.V
89 - 105	1945.8861	1944.8788	1945.0091	-0.1303 1	K.SLHTLFGDELCKVASLR.E
106 - 117	1494.7744	1493.7671	1493.5109	0.2562 0	R.ETYGDMADCCEK.Q + Oxidation (M)
118 - 130	1673.5181	1672.5109	1672.7627	-0.2519 1	K.QEPERNECFLSHK.D
139 - 151	1576.6021	1575.5948	1575.7603	-0.1654 0	K.LKPDPTLCDEFK.A
161 - 167	927.2390	926.2317	926.4861	-0.2544 0	K.YLYEYIAR.R
168 - 183	2045.2061	2044.1988	2044.0206	0.1782 1	R.RHPYFYAPELLEYANK.Y
169 - 183	1888.9002	1887.8929	1887.9195	-0.0266 0	R.HPYFYAPELLEYANK.Y

184 - 197	1747.6065	1746.5992	1746.6978	-0.0986	0	K.YNGVFQECQAEDK.G
236 - 245	1145.4045	1144.3972	1144.6353	-0.2380	1	K.AWSVARLSQK.F
267 - 280	1749.5160	1748.5087	1748.6553	-0.1465	0	K.ECCHGDLLLECADDR.A
267 - 285	2247.8467	2246.8394	2246.9354	-0.0960	1	K.ECCHGDLLLECADDRDLAK.Y
347 - 359	1567.6883	1566.6811	1566.7354	-0.0544	0	K.DAFLGSFLYEYSR.R
360 - 371	1439.8784	1438.8712	1438.8045	0.0667	1	R.RHPEYAVSVLLR.L
361 - 371	1283.8056	1282.7983	1282.7034	0.0949	0	R.HPEYAVSVLLR.L
375 - 386	1502.4573	1501.4501	1501.6065	-0.1564	0	K.EYEATLEECCAK.D
387 - 399	1554.4343	1553.4270	1553.6457	-0.2186	0	K.DDPHACYSTVFDK.L
402 - 412	1305.7985	1304.7912	1304.7088	0.0824	0	K.HLVDEPQNLIK.Q
421 - 433	1479.7378	1478.7305	1478.7881	-0.0577	0	K.LGEYGFQNALIVR.Y
437 - 451	1639.9906	1638.9833	1638.9305	0.0528	1	R.KVPQVSTPTLVEVSR.S
460 - 468	1166.3633	1165.3560	1165.4856	-0.1296	0	R.CCTKPESER.M
469 - 482	1724.7738	1723.7665	1723.8273	-0.0608	0	R.MPCTEDYLSLILNR.L
469 - 482	1740.7849	1739.7776	1739.8222	-0.0446	0	R.MPCTEDYLSLILNR.L + Oxidation (M)
483 - 489	898.3208	897.3135	897.4742	-0.1607	0	R.LCVLHEK.T
483 - 495	1539.7200	1538.7127	1538.8127	-0.0999	1	R.LCVLHEKTPVSEK.V
499 - 507	1138.3420	1137.3347	1137.4907	-0.1560	0	K.CCTESLVNR.R
508 - 523	1880.8176	1879.8103	1879.9138	-0.1035	0	R.RPCFSALTPDETYVPK.A
529 - 544	1907.8014	1906.7941	1906.9135	-0.1194	0	K.LFTFHADICTLEDTEK.Q
549 - 561	1504.6366	1503.6294	1503.9137	-0.2843	1	K.QTALVELLKHKPK.A
569 - 580	1399.7747	1398.7674	1398.6853	0.0820	0	K.TVMENFVAFVDK.C
581 - 597	1927.6448	1926.6376	1926.7910	-0.1535	1	K.CCAADDKEACFAVEGPK.L
588 - 607	2091.0519	2090.0446	2090.0718	-0.0272	1	K.EACFAVEGPKLVVSTQTALA.-

图3 牛血清白蛋白酶解产物的一级 PMF 搜库结果

## 2.2 通过二级质谱进行蛋白质鉴定

在样品的一级质谱中，分别选取前体离子  $m/z$  1568 与  $m/z$  1725 进行二级 CID 碎裂（见图 4），将获得的质谱数据导出，通过 Mascot 网站 MS/MS 离子搜库功能在线检索数据库 SwissProt，结果如图 5 所示，成功匹配到 DAFLGSFLYEYSR ( $m/z$  1568) 与 MPCTEDYLSLILNR ( $m/z$  1725) 两条肽段序列，归属的蛋白质为 ALBU\_BOVIN (BSA)，与理论值一致，肽段的离子匹配信息见图 4。

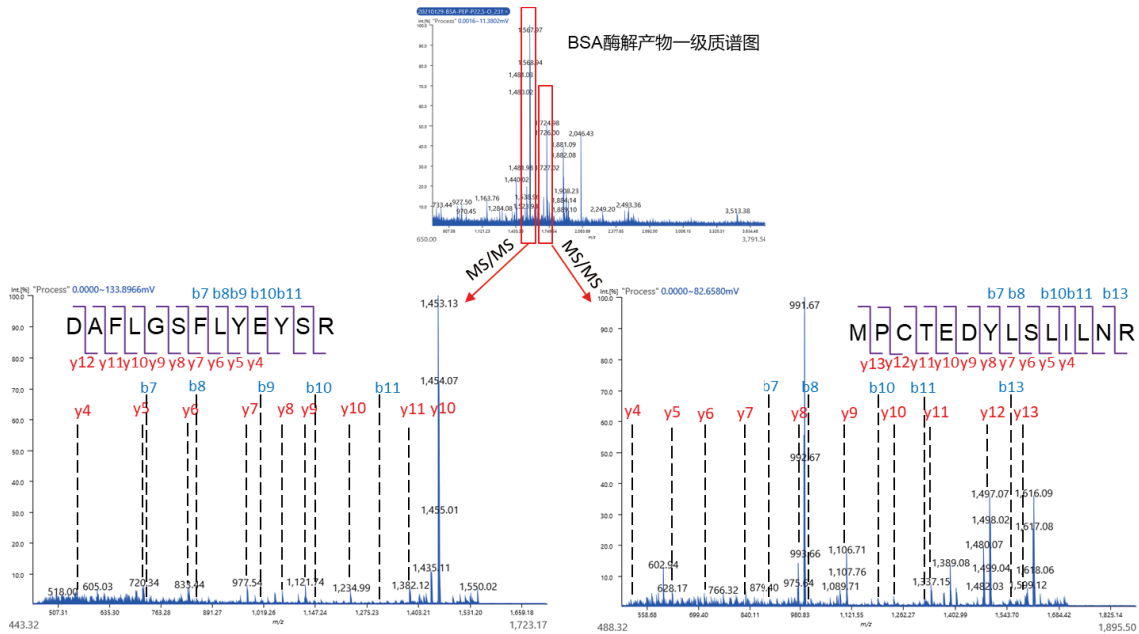


图4  $m/z$  1568 及  $m/z$  1725 的二级质谱图 (左:  $m/z$  1568; 右:  $m/z$  1725)

1. [ALBU BOVIN](#) Mass: 71244 Score: 45 Matches: 1(1) Sequences: 1(1) 上 : m/z 1568  
 Albumin OS=Bos taurus OX=9913 GN=ALB PE=1 SV=4  
 Check to include this hit in error tolerant search

Query	Observed	Mr(expt)	Mr(calc)	Delta	Miss	Score	Expect	Rank	Unique	Peptide
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">1</a>	1568.0000	1566.9927	1566.7354	0.2573	0	45	0.0052	1	U	K.DAFLGSLYEYSR.R

1. [ALBU BOVIN](#) Mass: 71244 Score: 44 Matches: 1(1) Sequences: 1(1) 下 : m/z 1725  
 Albumin OS=Bos taurus OX=9913 GN=ALB PE=1 SV=4  
 Check to include this hit in error tolerant search

Query	Observed	Mr(expt)	Mr(calc)	Delta	Miss	Score	Expect	Rank	Unique	Peptide
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">1</a>	1725.1000	1724.0927	1723.8273	0.2654	0	44	0.0044	1	U	R.MPCTEDYLSLIILNR.L

图 5 m/z 1568 与 m/z 1725 二级质谱搜库结果

## ■ 结论

本文应用紧凑型 MALDI 数字离子阱质谱仪 MALDImini-1 检测牛血清白蛋白的酶解产物，搜库结果与理论值相符，成功匹配到了牛血清白蛋白的肽段序列。MALDImini-1 作为紧凑型基质辅助激光解吸电离数字离子阱质谱仪，体积小、功能强大、性能卓越，是进行蛋白质种类鉴定的有力工具。

岛津应用云

