AXIMA-CFR

基质辅助激光离子化飞行时间质谱仪

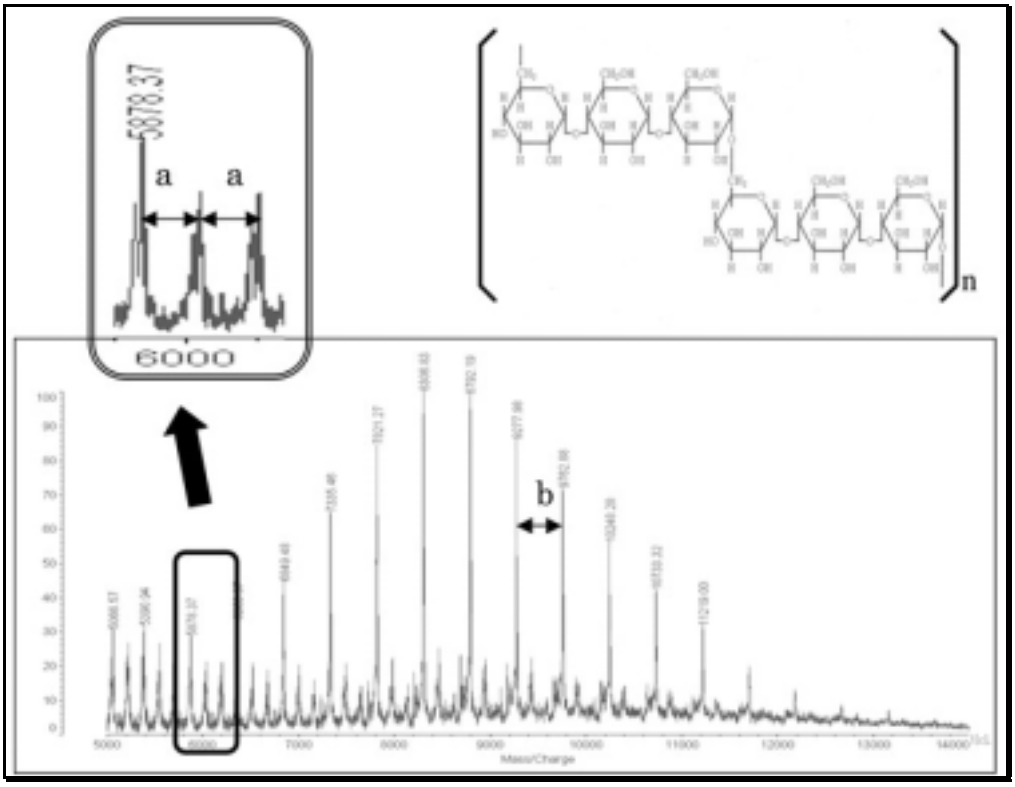
应用文集 No. 5

MALDI-TOF 应用分析实例

1. MALDI-TOF 测定直链多糖
2. AXIMA-CFR 进行蛋白质组分析实例
3. 采用 Seamless PSD 测定和鉴别植物凝血素
4.
5. 采用数据库检索确定蛋白质
   - Seamless PSD 测定进行 MS-Tag 法的应用

1．采用 MALDI-TOF 测定直链多糖

Pullulan 是由 3 个葡萄糖形成多丙糖结合成链状的中性单纯多糖。作为食品、药品的添加剂被广泛使用。使用 AXIMA-CFR 可以观察到最小重合单位的葡萄糖(a：fM=162)的碎片以及多丙糖单位(b：fM=486)的碎片。



MALDI-TOF MS (AXIMA-CFR)的质谱图

2．采用 AXIMA-CFR 进行蛋白组分析的应用实例

蛋白质网络分析的蛋白组分析是后基因组研究内容，以 AXIMA-CFR 进行蛋白组分析，这个实例说明分析蓝藻(Anabaena sp. PCC7120 株)的蛋白组分析。

多肽指纹图 (Peptide Mass Finger Print, PMF)

PMF 法是使用质谱仪确定蛋白质方法的一种。首先将待分析的蛋白质用双向电泳等设备分离，然后用胰蛋白酶消解，获得的多个多肽的消解片段。接着将此组数据和 DNA · 蛋白质数据库计算的理论值相比较进行确定。图 1 是双向电泳图(a)和其中一点的 PMF 质谱图(b)。根据 PMF 方法，该蛋白质被确定与图 2 中的遗传产物相同。

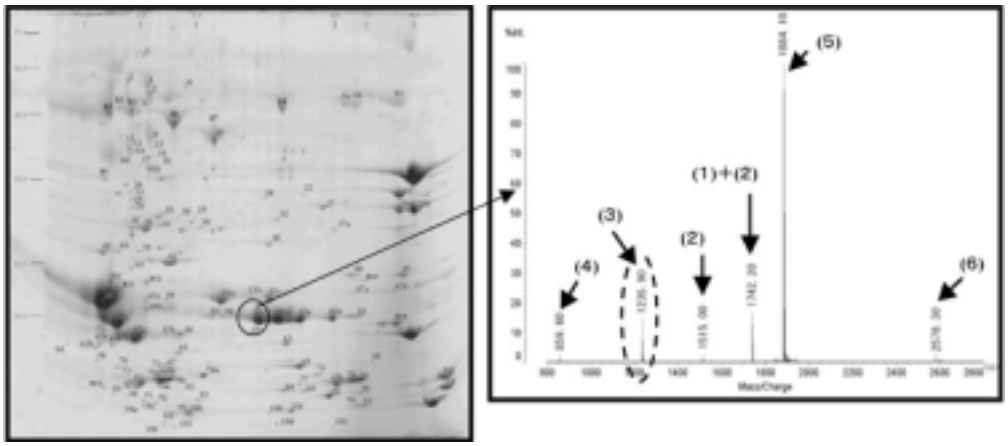


图 1：Anabaena sp. PCC7120 株的全蛋白质双向电泳图(a)和 PMF 谱图(b)

遗传产物	全长氨基酸序列
A29674： Anabaena sp. PCC 7120 C-PHYCOCYANIN ALPHA CHAIN	VK(1) TPITEAIAAADTQGR(2) FLGNTELQSAR(3) GR YER AAASLEAAR(4) GLTSNAQR LIDGATQAVYQK PYTTQTPGPQFAADSR(5) GK SK CAR DVGHYLR IITYSLVAGGTGPLDEYLIAGLAEINSTFDLSPSWYVEALK HIK ANHGLSGQAANEANTYIDYAINALS(6)

图 2：被确定蛋白质的遗传物质及编码的蛋白质全长氨基酸序列，()内的数字对应图 1 中的数字

PSD 分析(Post Source Decay)

采用 PSD 进行 MS/MS 分析是分析多肽结构的有效方法，由 Curved Field Reflectron 模式进行 PSD 分析，不需根据碎片离子的质量改变 Reflectron 电场的设定，可以在一次分析中检测全范围的碎片离子实现快速分析。针对图 1 中的多肽(3)质量峰进行 PSD 分析时，得到图 3 的谱图。其结果是全部 11 个氨基酸中的 9 个氨基酸的序列得到确认。

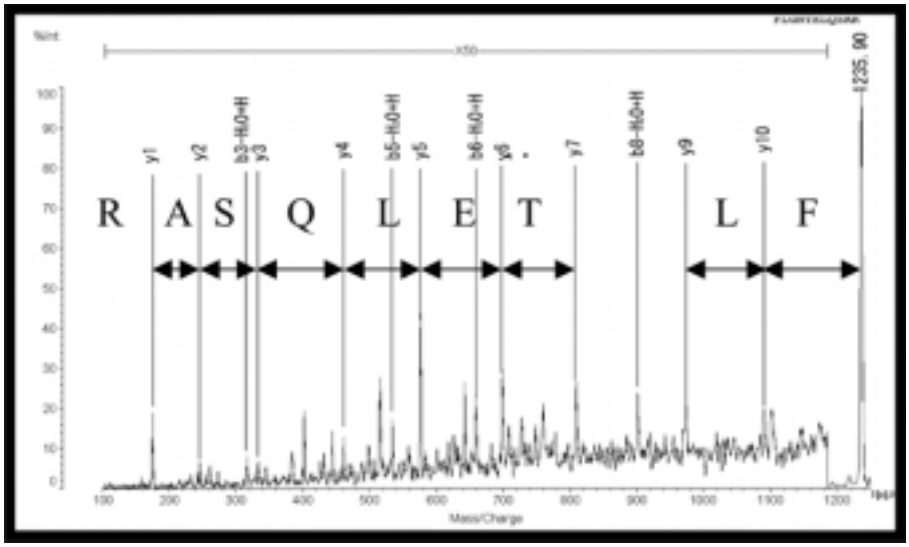


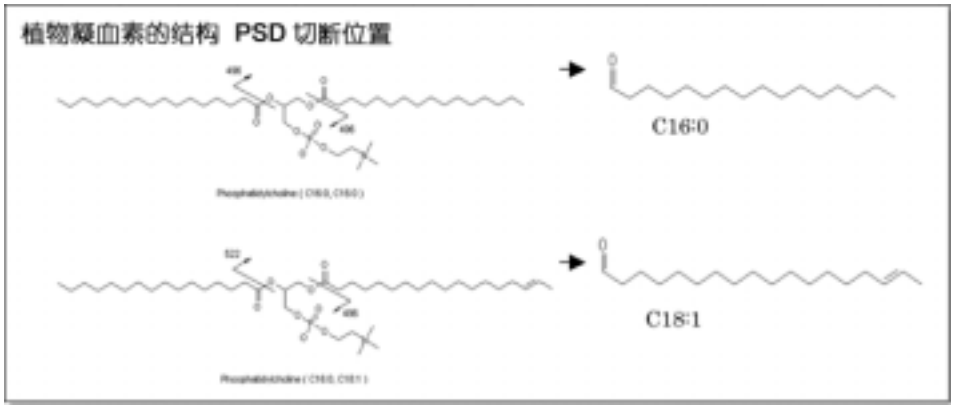
图 3：多肽(3)的 PSD 质谱图，图中字符为对应氨基酸的缩写字符
从遗传序列预测的氨基酸序列：FLGNTELQSAR

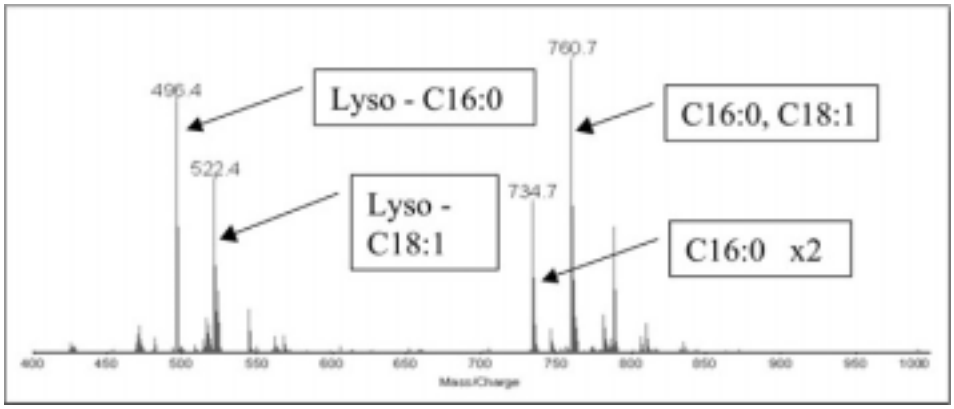
根据 PMF 方法确定蛋白质，而且由 PSD 分析确认被消解多肽的氨基酸序列。AXIMA-CFR 的高精度分析能力是蛋白组分析的解决方法。

文章提供：Kadzusa DNA Institute, Dr. Saitsuka

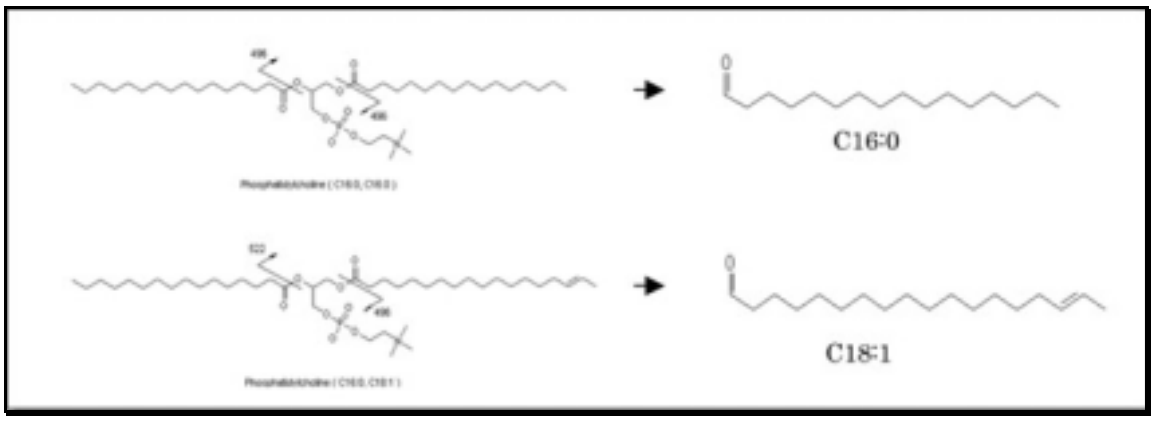
3．采用 Seamless PSD 测定识别植物凝血素

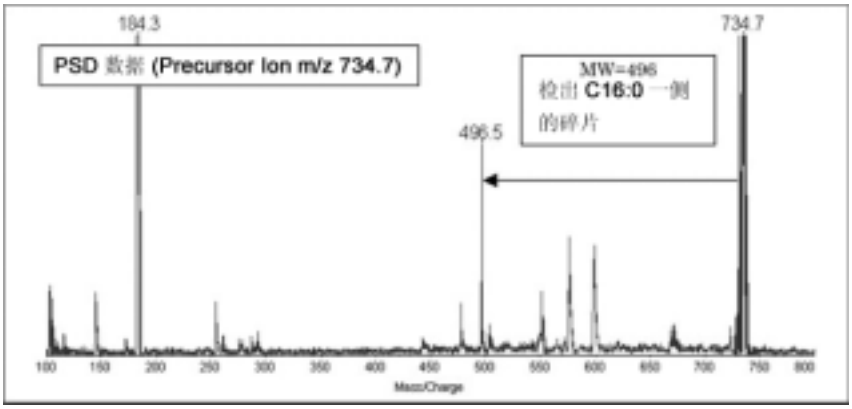
采用 Bling 和 Dyer 方法从豚鼠(大白鼠)脑提取出脂质在薄层色谱上分离(样品提供：群马大学医学部生化教研室和泉孝志教授)，将富有植物凝血素的成分在 AXIMA-CFR 上进行分析。采用 PSD 对植物凝血素的两个不同种类的分子进行 MS/MS 分析，从各自植物凝血素中的一个脂肪酸中的溶血卵磷脂被确定。如果使用 AXIMA-CFR，仅激发一次由 MS/MS 功能便可在瞬间完成这样的分析。



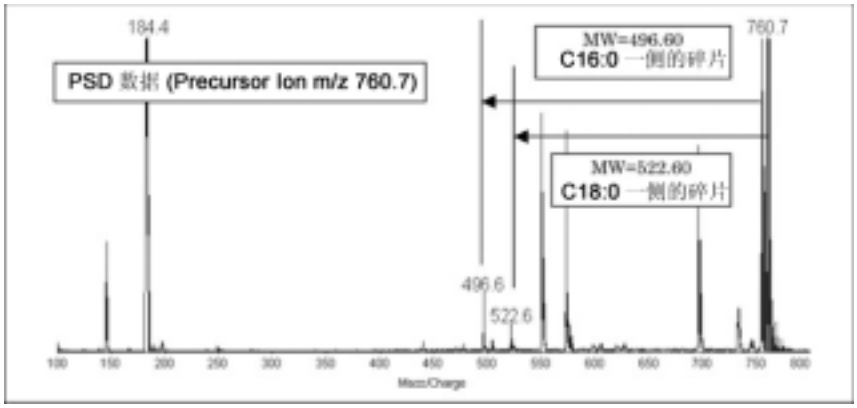


MALDI-TOF MS (AXIMA-CFR)质谱图





MALDI-TOF MS (AXIMA-CFR)质谱图

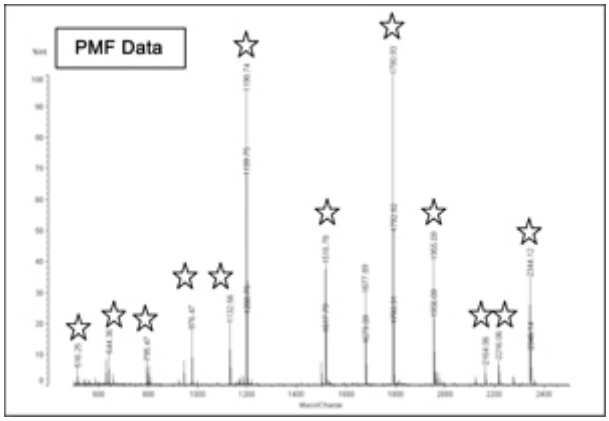


MALDI-TOF MS (AXIMA-CFR)质谱图

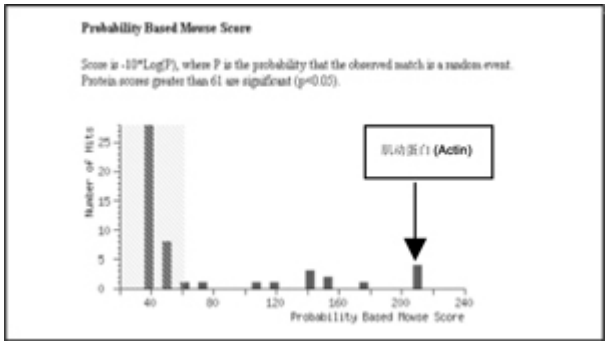
4.

5．采用数据库检索确定蛋白质 - 由 Seamless PSD 测定进行 MS-Tag 法的应用

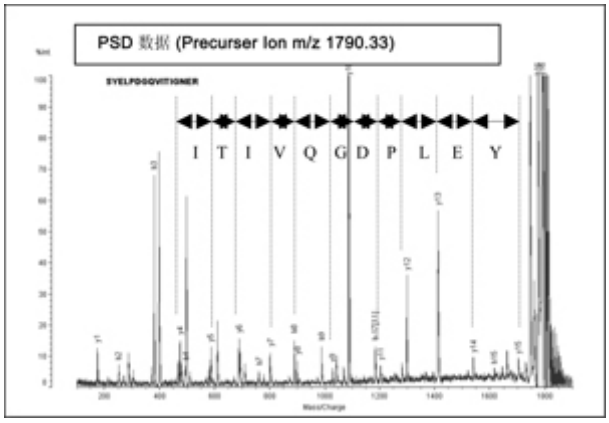
以带☆标记的峰作为分析对象可确定人的肌动蛋白。而且由 PSD 进行 MS/MS 分析可确定全部 16 氨基酸内的 11 氨基酸的序列。AXIMA-CFR 的高精度分析能力，提供了蛋白质研究的解决方法。



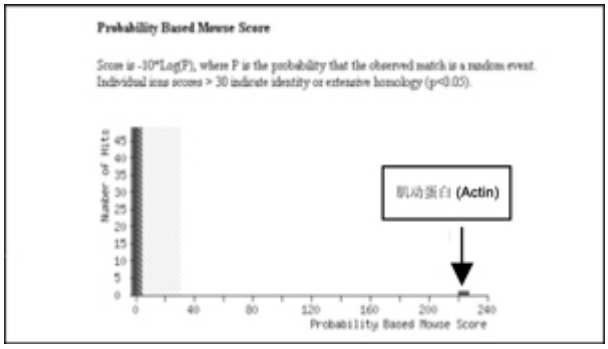
MALDI-TOF MS (AXIMA-CFR)质谱图



由 MS 数据进行数据库检索的结果(PMF 法)



MALDI-TOF MS (AXIMA-CFR)质谱图



由 MS 数据进行数据库检索的结果(MS-Taq 法)

样品提供：新泻药科大学应用生命科学部应用微生物学遗传工程学研究室梨本先生