

AXIMA Resonance 实现磷酸化肽段的高灵敏度分析

摘要: 蛋白质磷酸化是翻译后修饰方式之一，其在调控生物体的生命活动中具有重要作用。利用岛津 AXIMA Resonance 实现磷酸化肽段的高灵敏度分析及磷酸化位点的识别。

关键词: 蛋白磷酸化 高灵敏度分析

蛋白质磷酸化是翻译后修饰方式之一，其在调控生物体的生命活动中具有重要作用。当用质谱分析磷酸化蛋白时，其检测灵敏度通常会降低。因此，当进行典型的磷酸化多肽分析时，需要有一套高灵敏度的分析系统。

AXIMA Resonance 是一种将一个特殊的四极杆离子阱与 MALDI 离子源相结合的质谱仪。这个离子阱大大提高了 MS/MS 分析的灵敏度和前体选择性。 μ Focus 板是一种可使样品在其表面富集的 MALDI 靶板，通过使用 μ Focus 板可将分析的灵敏度和前体选择性进一步增强。在这里我们介绍一个将 AXIMA Resonance 与 μ Focus 板相结合来高灵敏度检测磷酸化多肽的例子。 μ Focus 板是一种表面有一系列直径为 600 μ m 孔的 MALDI 靶板，这些孔可富集颗粒样品，从而可以有效地增加灵敏度。

我们用市售的单磷酸化肽检查了检测灵敏度。通过用 5 fmol 至 250 amol 一系列浓度的稀释液进行检测，发现在 250 amol 浓度依然可观察到质谱信号。在 MS/MS 图中，我们可以在 500 amol 浓度水平时观察到一个较好的信号。因此，我们确信将 AXIMA Resonance 和 μ Focus 板联用是一种有效的高灵敏度检测磷酸化肽段的方法。

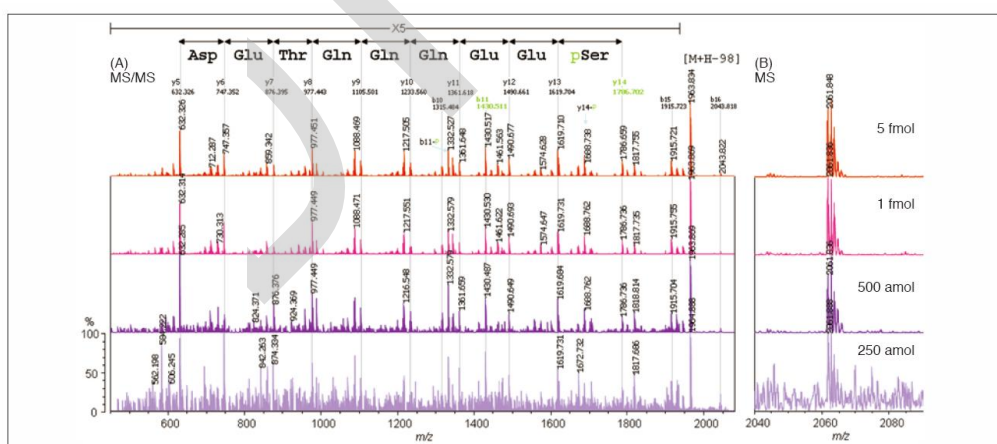


图 1 使用 AXIMA Resonance 分析单磷酸化肽的检测灵敏度

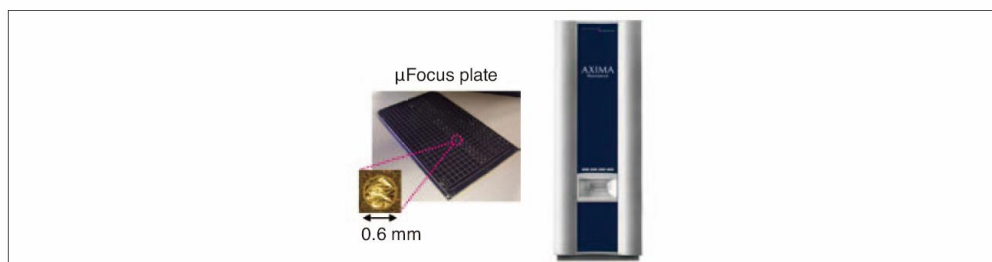


图 2 AXIMA Resonance 和 μ Focus 板图片

随后，我们根据图 1 获得的 MS/MS 数据来识别磷酸化蛋白。从 5 fmol 到 500 amol 浓度范围内，得到了非常明显的识别结果，同时还可以找到对应的磷酸化位点（图 3）。此外，尽管在 250 amol 浓度下很难得到较好的重复性，但进行识别却依然是可行的。即使微摩尔级别的样品，依然能够获得非常好的 MS/MS 质谱图，利用该方法进行磷酸化肽段的识别有很高的准确性。确保好的实验结果除了与灵敏度有关外，与 AXIMA Resonance 稳定的质量数准确度也有密切关系。碎片离子的识别准确度可低至 16 ppm。

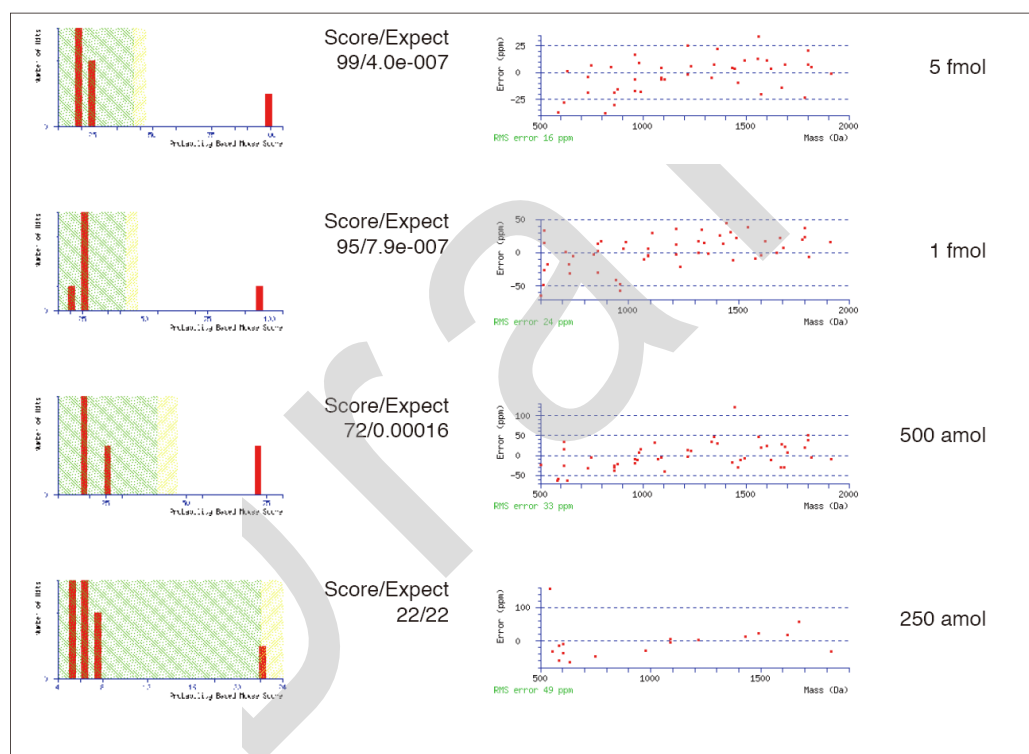


图 3 不同浓度单磷酸肽 MS/MS 谱图显示出的磷酸化肽的识别结果

结论

结合 AXIMA Resonance 与 μ Focus 板能够为磷酸化蛋白分析提供了一个高灵敏度和准确度的分析平台。