

Окисление дисульфидной связи в пептидах:  
 подход к увеличению покрытия сиквенса в методе ESI-MS/MS.

Артеменко Константин Александрович

Аспирант

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: k-artemenko@yandex.ru

Образование дисульфидной связи между атомами серы двух цистеинов пептидной цепи – распространенная посттрансляционная модификация. В биологически активных пептидах, секретлируемых кожными железами амфибий рода *Rana*, обычно присутствует С-концевой дисульфидный цикл (n = 4-9), затрудняющий установление сиквенса масс-спектрометрическими методами. В этом случае фрагментация внутри цикла полностью отсутствует или слабо выражена [1].

Для увеличения покрытия сиквенса, устанавливаемого масс-спектрометрическими методами, проводят предварительную модификацию S-S связи. Чаще всего используют восстановление дисульфида с образованием двух свободных тиольных групп с их последующим алкилированием йодацетамидом [1]. Дальнейший масс-спектрометрический эксперимент требует дополнительной очистки реакционной смеси специальными методами (гель-фильтрация или ZipTip). При этом часть минорных компонентов при анализе смеси пептидов теряется, вследствие неполной десорбции пептидного материала.

В настоящей работе S-S связи в четырех пептидах (М.м.1810, 1873, 2675 и 3517 Д), выделенных нами из кожных секретов спинных желез лягушек *Rana arvalis* и *Rana ridibunda*, были окислены надмуравьиной кислотой по методике [2], лиофилизированы и секвенированы при ионизации электрораспылением (ESI-MS/MS).

Вопреки отмеченным в [2] ограничениям этого метода для секвенирования окисленных цистеинсодержащих пептидов при электрораспылении, нам удалось достичь значимых результатов. Все спектры содержат серии b и y-ионов, которые в сумме обеспечивают информацию о первичной структуре всех анализируемых пептидов. Характер фрагментации обусловлен расположением в цепи пептидов аминокислот с выраженными основными свойствами - *Lys* и *Arg*.

Процедура окисления дисульфидсодержащих пептидов позволяет увеличить покрытие сиквенса, устанавливаемого методом ESI-MS/MS: исходно нечитаемые последовательности внутри цистеинового кольца (покрытие сиквенса ~60%) полностью определяется после окисления S-S связи всех четырех анализируемых пептидов (покрытие сиквенса повышается до ~100%). (См. таблицу)

Пептид, М.м.		Установленная последовательность	Покрытие сиквенса		Набор ионов
1810	Исх.	FLPLLAASFAC-----C-OH	59%	Σ	7 b, 10 y
	Окисл.	(FL)PLLAAS(FA) <sub>C<sub>ox</sub></sub> TVTKKC <sub>ox</sub> -OH	82%	100%	13 b, 12 y
1873	Исх.	FVPLLVSKLV(C-----C-OH)	59%	Σ	5 b, 10 y
	Окисл.	FV(PL)LVSK(LV) <sub>C<sub>ox</sub></sub> VVTKKC <sub>ox</sub> -OH	82%	100%	8 b; 12 y
2675	Исх.	FLPLLAGLAANFL(PK)IF(C-----C-OH)	67%	Σ	10 b; 16 y
	Окисл.	FLPLLAGLAANFL(PK)IFC <sub>ox</sub> K(IT)RKC <sub>ox</sub> -OH	88%	92%	16 b; 17 y
3517	Исх.	(GILL)DKLKNFAK(TA)GKGVLQSLNTAS (C-----C-OH)	68%	Σ	17 b, 18 y
	Окисл.	(GI)LLDKLKNFAK(TA)(GK)(GV) LQSLNTASC <sub>ox</sub> KLSGQC <sub>ox</sub> -OH	88%	94%	25 b; 11 y

Литература.

- 1) Артеменко К.А., Самгина Т.Ю., Лебедев А.Т. (2006) Масс-спектрометрическое *de novo* секвенирование пептидов // Масс-спектрометрия, 3 (4), с. 225-254
- 2) Dai J., Wang J., Zhang Y., Lu Z., Yang B., Li X., Cai Y., Qian X. (2005) Enrichment and identification of Cysteine-containing peptides // Anal. Chem., 77, 7594-7604.