

## 修飾ペプチド Modified Peptides

ペプチドは、二個以上のアミノ酸がペプチド結合した化合物の総称です。たんぱく質は様々な翻訳後修飾を受け、その機能を発揮します。ここでは、代表的な翻訳後修飾を加えたペプチドを、メタルフリーカラムを用いて液体クロマトグラフィー/質量分析法(LC/MS/MS)により、MRMモードで一斉分析を行いました。ステンレスカラムとメタルフリーカラム、酸性条件とアルカリ性条件で比較しました。

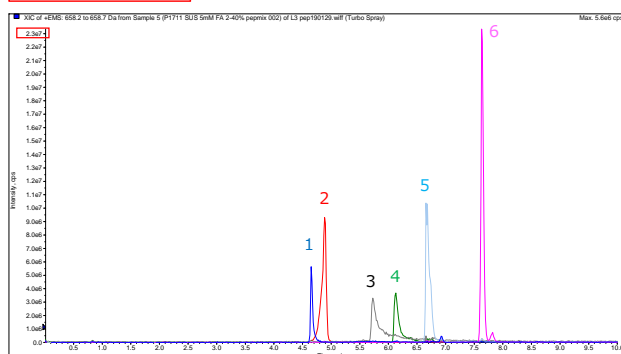
キーワード : C18, ODS, オクタデシルシリル化シリカゲル, ペプチド, 修飾ペプチド, メタルフリーカラム  
 Key words : Octadecyl silanized silica gel, Peptides, Modified peptides, Metal-free column  
 Column : L-column3 C18 (USP category: L1)

[ Analytical conditions (Fig.1) ]

Column : L-column3 C18 (C18, 3  $\mu$ m, 12 nm); 2.0 mm I.D. or 2.1 mm I.D.  $\times$  50 mm L.  
 Eluent : A: CH<sub>3</sub>CN; B: 5 mM HCOOH in H<sub>2</sub>O (pH 3)  
 A/B, 2/98-40/60 (0-10 min)  
 Flow rate : 0.2 mL/min  
 Temperature : 40  $^{\circ}$ C  
 Detection : ESI-MS/MS (+)  
 Injection volume : 1  $\mu$ L (1 pmol/ $\mu$ L, 0.1% HCOOH in H<sub>2</sub>O)  
 System : LC: Ultimate 3000 Bio RS (Thermo Fisher Scientific K.K.); MS/MS: 3200 QTRAP (SCIEX)  
 Sample :

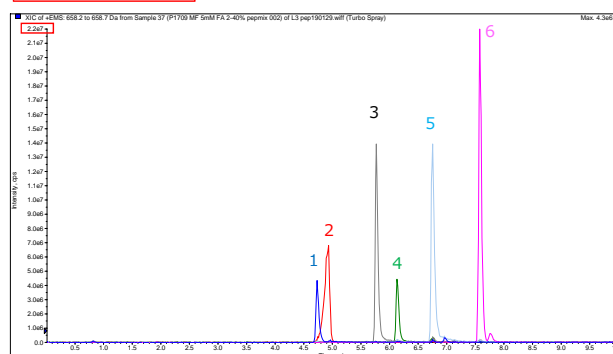
Peptide	Sequence
1. Oxidized ACTH (1-10) : 酸化ペプチド	SYS-M(O)-EHFRWG
2. Glycosylated EPO (117-131) : グリコシル化ペプチド	EAISPPDAA-S(GalNAc)-AAPLR
3. Phosphorylated Angiotensin II : リン酸化ペプチド	DRV(pY)IHPF
4. Nitrated Angiotensin I : ニトロ化ペプチド	DRV-Y(NO <sub>2</sub> )-IHPFHL
5. Methylated Substance P : メチル化ペプチド	RPKPQQFFGL-M(OMe)
6. Acetylated Calcitonin (15-29) : アセチル化ペプチド	DFN-K(Ac)-FHTFPQTAIGV

Max 2.3 e7cps.



① SUS column  
 2.1 mm I.D.  $\times$  50 mm L. (Cat. No. 811140)

Max 2.2 e7cps.



② Metal-free column  
 2.0 mm I.D.  $\times$  50 mm L. (Cat. No. 861140)

Fig.1 MS chromatograms of Peptides.  
 (Acidic eluent pH 3)

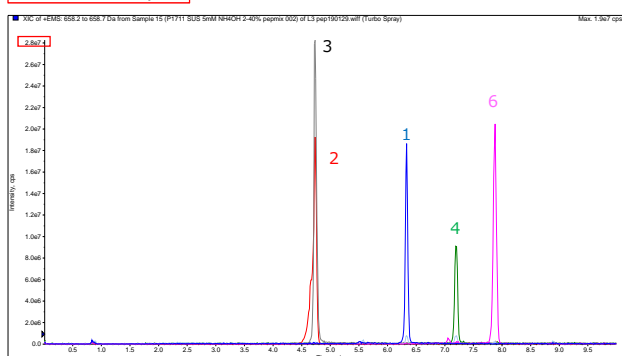
メタルフリーカラムでは、修飾ペプチドのシャープなピークが得られ、キャリアオーバーも減少しました。これは内面に金属を使用していないことに起因します。メタルフリーなシステム環境と、L-column3 メタルフリーカラムの組合せで再現性の良い結果が得られます。

## [ Analytical conditions (Fig.2) ]

Column : L-column3 C18 (C18, 3  $\mu$ m, 12 nm); 2.0 mm I.D. or 2.1 mm I.D.  $\times$  50 mm L.  
 Eluent : A: CH<sub>3</sub>CN; B: NH<sub>3</sub> in H<sub>2</sub>O (pH 10)  
 A/B, 2/98-40/60 (0-10 min)  
 Flow rate : 0.2 mL/min  
 Temperature : 40  $^{\circ}$ C  
 Detection : ESI-MS/MS (+)  
 Injection volume : 1  $\mu$ L (1 pmol/ $\mu$ L, 0.1% HCOOH in H<sub>2</sub>O)  
 System : LC: Ultimate 3000 Bio RS (Thermo Fisher Scientific K.K.); MS/MS: 3200 QTRAP (SCIEX)  
 Sample :

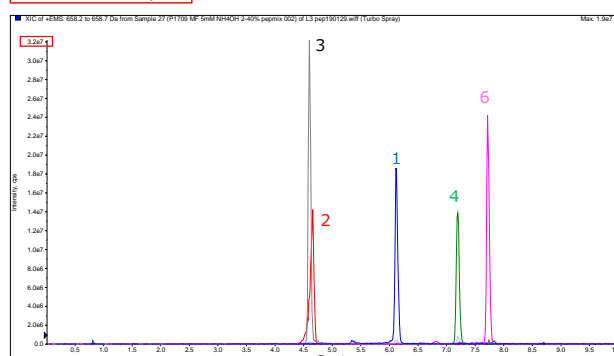
Peptide	Sequence
1. Oxidized ACTH (1-10) : 酸化ペプチド	SYS-M(O)-EHFRWG
2. Glycosylated EPO (117-131) : グリコシル化ペプチド	EAISPPDAA-S(GalNAc)-AAPLR
3. Phosphorylated Angiotensin II : リン酸化ペプチド	DRV(pY)IHPF
4. Nitrated Angiotensin I : ニトロ化ペプチド	DRV-Y(NO <sub>2</sub> )-IHPFHL
5. Methylated Substance P : メチル化ペプチド	RPKPQQFFGL-M(OMe)
6. Acetylated Calcitonin (15-29) : アセチル化ペプチド	DFN-K(Ac)-FHTFPQTAIGV

Max 2.8 e7cps.

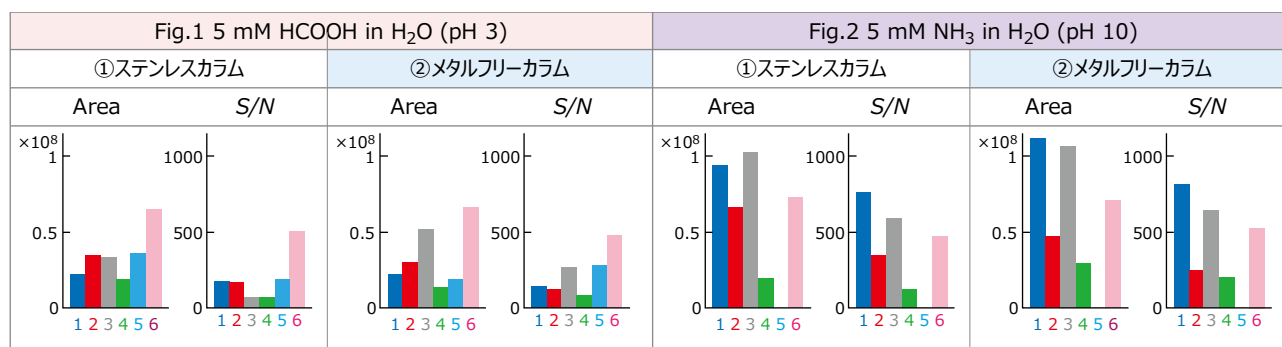


① SUS column  
 2.1 mm I.D.  $\times$  50 mm L. (Cat. No. 811140)

Max 3.2 e7cps.



② Metal-free column  
 2.0 mm I.D.  $\times$  50 mm L. (Cat. No. 861140)

Fig.2 MS chromatograms of Peptides.  
(Alkaline eluent pH 10)

※アンモニア溶液において(Fig.2 ①②)メチル化ペプチド(Peak No.5)はメチル基が外れるため、検出できませんでした。

ペプチドはギ酸やTFAなど酸性条件で分析するのが一般的ですが、L-column3 メタルフリーカラムは、アルカリ性条件でも高耐久性なので、アンモニア溶液を溶離液に用いることもできます(Fig.2②)。これにより、感度のさらなる向上と分離挙動を変えることができます。

1905 Saka