



Peptidek LC-MS/MS karakterisztikájának javítása fluoros kémiai módosítással, proteomikai alkalmazásokhoz

Dr. Schlosser Gitta
tudományos munkatárs
MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport

MedInProt Tavaszi Konferencia
2017. április 22.

PÁLYÁZÓK



Rábai József, Ph.D., D.Sc.

egyetemi tanár

Szerves Kémiai Tanszék, ELTE, A Szerves
Fluorvegyületek Laboratóriumának vezetője



Sármay Gabriella, Ph.D., D.Sc.

egyetemi tanár

Immunológiai Tanszék, ELTE Biológiai Intézet



Schlosser Gitta, Ph.D.

tudományos munkatárs

MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport,
ELTE Kémiai Intézet



Vékey Károly, Ph.D., D.Sc.

tudományos tanácsadó

MTA Természettudományi Kutatóközpont,
Műszercentrum

RÉSZTVEVŐK



Berta Máté

II. vegyész MSc hallgató
ELTE, Szerves Fluorvegyületek
Laboratóriuma



Molnár Adrienn

II. kémia BSc hallgató
MTA-ELTE Peptidkémiai
Kutatócsoport



Steckel Arnold

vegyész, PhD hallgató
MTA-ELTE Peptidkémiai
Kutatócsoport

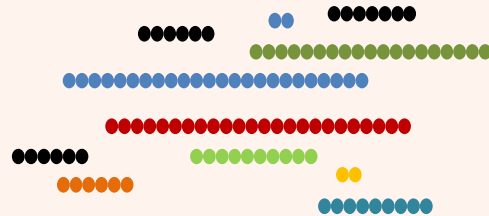
Célkitűzés

- Kis tagszámú, poláris peptidok kromatográfiás és tömegspektrometriás tulajdonságának javítása **fluoros csoport** bevitelével.
- Olyan módosítási módszer kidolgozása, amely egyszerűen integrálható a **tömegspektrometria-alapú proteomikai** munkafolyamatokba.

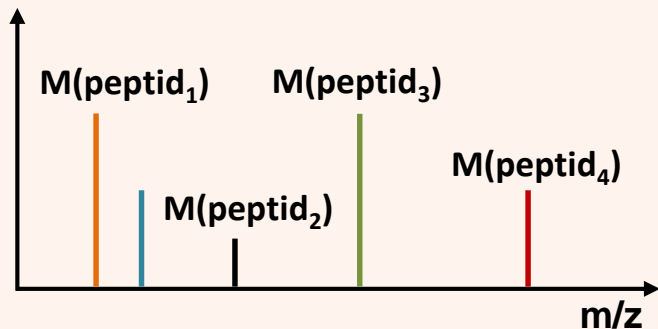
A tömegspektrometria-alapú proteomika alapkoncepciója

Fehérje

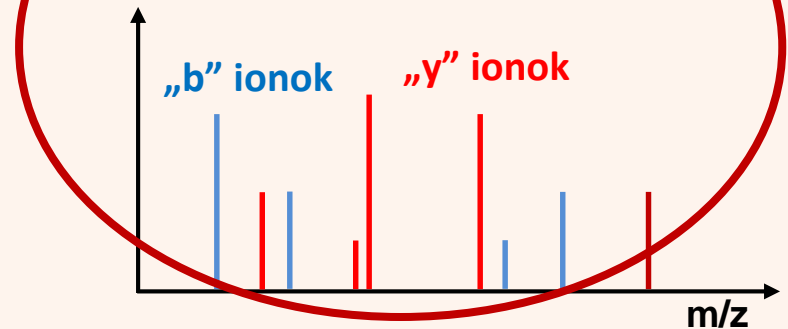
Enzimatis hasítás tripszinnel



Peptid
molekulatömeg-térkép

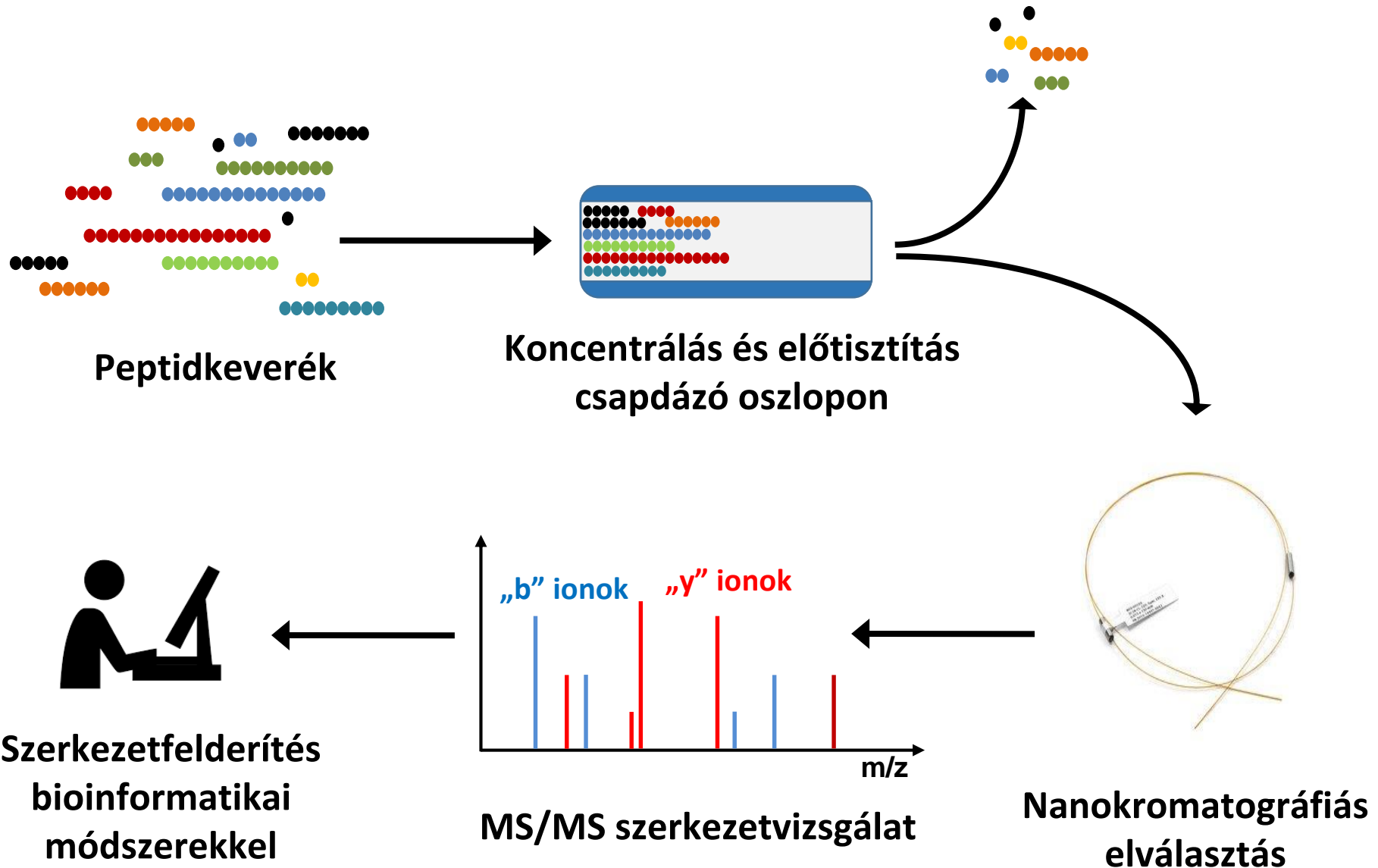


Peptid
MS/MS szekvenálás



NanoLC-MS/MS szerkezetvizsgálat

Sók és egyéb nem kötődő
komponensek eltávolítása



Probléma

- A kis méretű, poláros peptidek elvesznek a szokványos mérési körülmények között.
- MS/MS szekvenálással ezekből gyakran nem nyerhetőek informatív fragmensionok.

Példa:

Filaggrin fehérje: ³⁰⁶SHQEST**RGRSRGRSGR**SGS³²⁴

Hisztón H4 fehérje: ²SG**R**G**K**GG**K**GL¹¹

R, K: triptikus hasítási helyek

Módosítási koncepció

- Polaritás csökkentése:
 - N-terminális aminocsoport és oldallánc funkciós csoportok kémiai módosítása.
 - Propionsavanhidridet elterjedten alkalmazzák hisztonfehérjék vizsgálatában. (tripszines hasítási helyek megszüntetése a lizinek acilezésével).
 - A propionsavanhidriddel történő módosítás a jelenlegi legjobb megoldás.
 - Nem javítja jelentősen a poláris peptidek HPLC visszatartását.*
- Fluoros módosítás lehetősége:
 - A létező legapolárisabb csoportok bevitele a célmolekulába.
 - Korábban fluoros jelölést ciszteinek alkilezésére alkalmaztak.**

**Sidoli S*, et al: Drawbacks in the use of unconventional hydrophobic anhydrides for histone derivatization in bottom-up proteomics PTM analysis. *Proteomics*, 15(9): 1459 (2015)

** *Ying W*, et al: Highly efficient and selective enrichment of peptide subsets combining fluorous chemistry with reversed-phase chromatography. *Rapid Commun Mass Spectrom.* ,23(24): 4019 (2009)

Modellvegyületek:

- SS
- GEA
- GEX
- TIT
- GGGG
- TAGAS
- TXGXS
- TRGRS
- TKPPR
- GYAAAPAK

X= citrullin

Tömegspektrometriás szerkezetvizsgálat:

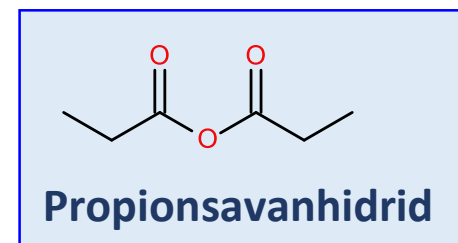
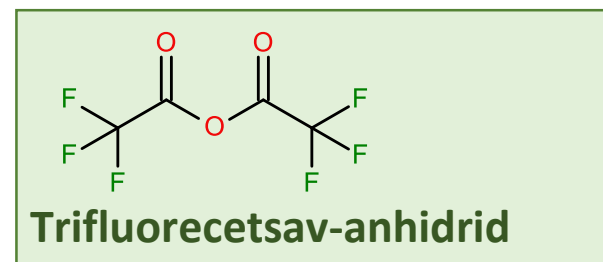
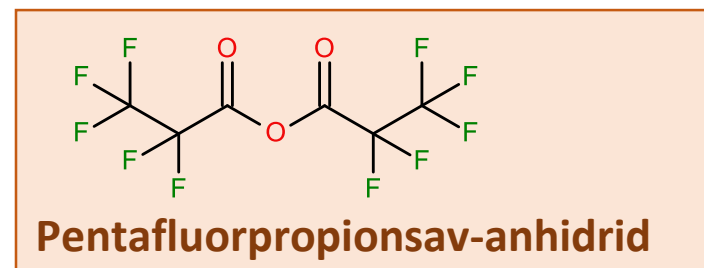
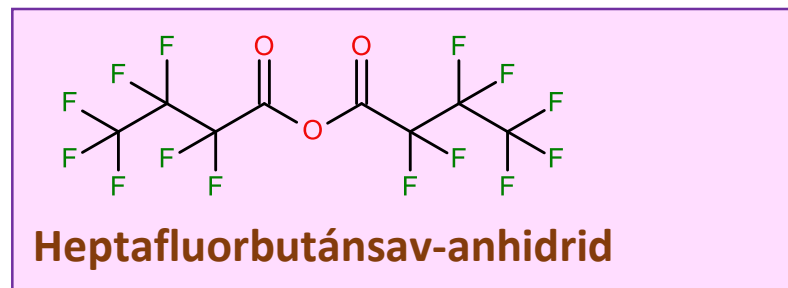
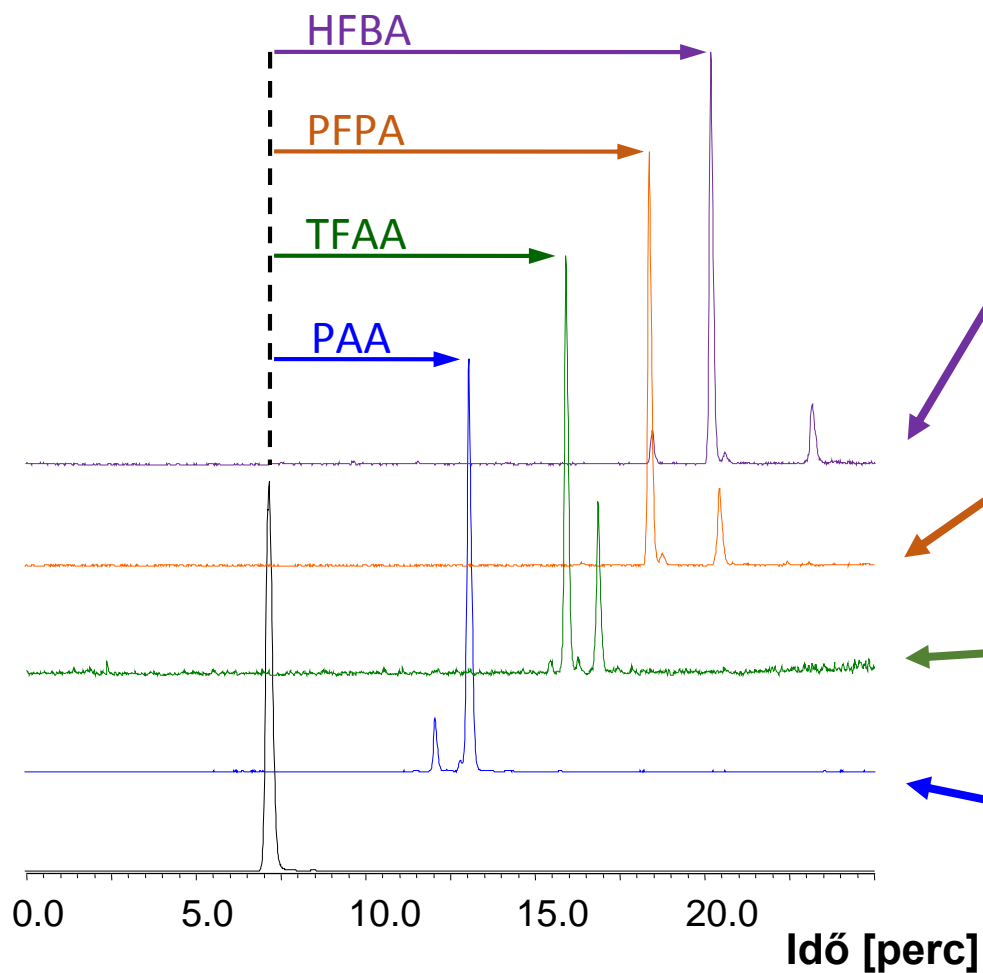
- Bruker Esquire 3000+ ioncsapda, MSⁿ
- Waters Q-TOF Premier

Fontosabb kérdések:

- Szerkezetvizsgálat: jelölési helyek meghatározása.
- HPLC-MS kromatográfiás profil, retenciósidők.
- Melléktermékek azonosítása, kísérleti körülmények optimalizálása.
- MS/MS tulajdonságok összehasonlító vizsgálata.

LC-MS retenciós idők változása

TIT peptid monoacilezett
származékainak LC-MS
szelektív ionkromatogramjai



Köszönetnyilvánítás

Dr. Gömöry Ágnes,

Dr. Turiák Lilla

(MTA Természettudományi Kutatóközpont)

Prof. Hudecz Ferenc

Dr. Magyar Anna,

Dr. Uray Katalin

(MTA-ELTE Peptidkémiai Kutatócsoport)

Bolyai János Kutatási Ösztöndíj