

Application News

No. 12-MO-481-K

MALDI-TOF Mass Spectrometry Analysis MALDI-8030

Dual Polarity Benchtop MALDI-TOF 질량분석기 MALDI-8030를 이용한 합성 펩타이드의 품질관리

Quality Control of Synthetic Peptides using the MALDI-8030 Dual Polarity Benchtop MALDI-TOF Mass Spectrometer

S. Salivo KRATOS ANALYTICAL LTD.)

사용자 활용 포인트

- ◆ Benchtop MALDI-TOF를 이용하여 펩타이드의 음이온 품질관리를 쉽고 간단하게 할 수 있다.
- ◆ 불안정한 작용기를 가진 펩타이드에 유용하여, 온전한 펩타이드 종의 검출에 용이하다.
- ◆ 염 부가물이 검출되지 않기 때문에 깨끗한 질량 스펙트럼을 얻을 수 있으며 해석하기 쉽다.

■ 서론

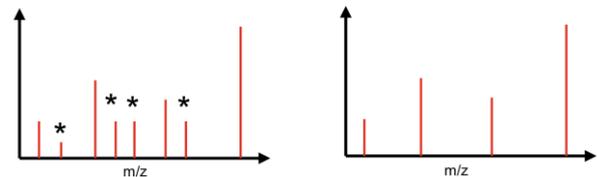
합성 펩타이드는 현재 생화학, 면역학 및 의학 분야에서 사용되고 있으며 그 사용량은 점차적으로 확대되고 있다. 이는 암 진단 및 치료, 약물 및 전달 시스템 개발, 항원결정부 매핑, 항체 생산, 백신 설계와 같은 다양한 목적으로 이용된다.

펩타이드의 합성은 한 아미노산의 활성화된 카르복실기와 다른 아미노산의 아미노기 사이의 반응을 포함한 단계별 과정으로, 소위 말하는 펩타이드 결합이 생성된다. 일반적으로 처음 얻어지는 펩타이드 제품에는 불순물(예: 합성 중에 생성된 부산물 등)이 포함되어 있으므로 정제 단계가 필요하다.

합성 펩타이드의 제조 과정에서 품질관리(QC)는 고순도 제품을 생산하는 데 중요한 역할을 한다. MALDI-TOF 질량분석법은 최종 펩타이드의 정성 및 순도를 확인하는 데 널리 사용된다.

이 뉴스레터에서는 양이온 및 음이온 모드에서의 합성 펩타이드 품질관리 분석을 위해 dual polarity benchtop 선형 질량 분석기인 MALDI-8030을 소개한다(그림 1). 음이온 모드의 이점은 다음과 같다: i) 불안정한 작용기를 가진 물질을 손상시키지 않고 유지할 수 있다. ii) 염 부가물 간섭을 제거하여 질량 스펙트럼 해석을 단순화한다.

음이온 모드 스펙트럼(Fig 2b)에서는 두개의 불안정한 설포기가 보존되어, 한 개 및 두 개 설포기의 손실에 해당하는 종(m/z 2453.010 and 2373.052, 계산 값)과 함께 손상되지 않은 펩타이드 (m/z 2532.966, 계산 값)를 성공적으로 검출하였다. 검출된 모든 종은 우수한 질량 정확도와 함께 동위원소 피크 별로 분리되었다(단일동위원소 피크의 분리도를 { }에 표시함).



Positive mode
Mass spectra are complicated by multiple salt interferences (indicated by *)

Negative mode
Mass spectra are simplified and easier to read

■ 분석 조건과 시료

합성 펩타이드 시료는 Bachem(영국)에서 제공받았다. 여기에는 두 가지 다른 시나리오가 제시된다: 1) 펩타이드 D, 티로신 아미노산에 결합된 두 개의 불안정한 설포기(sulfo group)를 포함함; 2) 펩타이드 A, 반 순수 및 순수한 형태로 제공됨. 샘플은 기기의 극성 모드에 따라 1:1 아세트니트릴/물에 산(0.1% trifluoroacetic acid(TFA))을 첨가/무첨가 상태로 준비하였다.

MALDI 분석을 위해 모든 샘플은 1:1 아세트니트릴/물에 용해한 alpha-cyano-4-hydroxycinnamic acid(CHCA) 5 mg/mL 을 함께 점적하였다. 기기의 극성 모드에 따라 산의 첨가 여부를 선택하였다.

■ 결과 - 펩타이드 D

그림 2는 펩타이드 D에 대한 양이온 및 음이온 모드의 MALDI 스펙트럼을 보여준다. 양이온 모드(그림 2a)에서의 분석 결과, 불안정한 설포기가 모두 손실되어 양이온으로 하전된 종을 생성한다. 따라서, 두 설포기가 손실되는 종 (m/z 2375.068, 계산 값)만 검출이 가능하다.

그림 1. 합성 펩타이드의 QC 분석을 위한 Dual polarity MALDI-8030

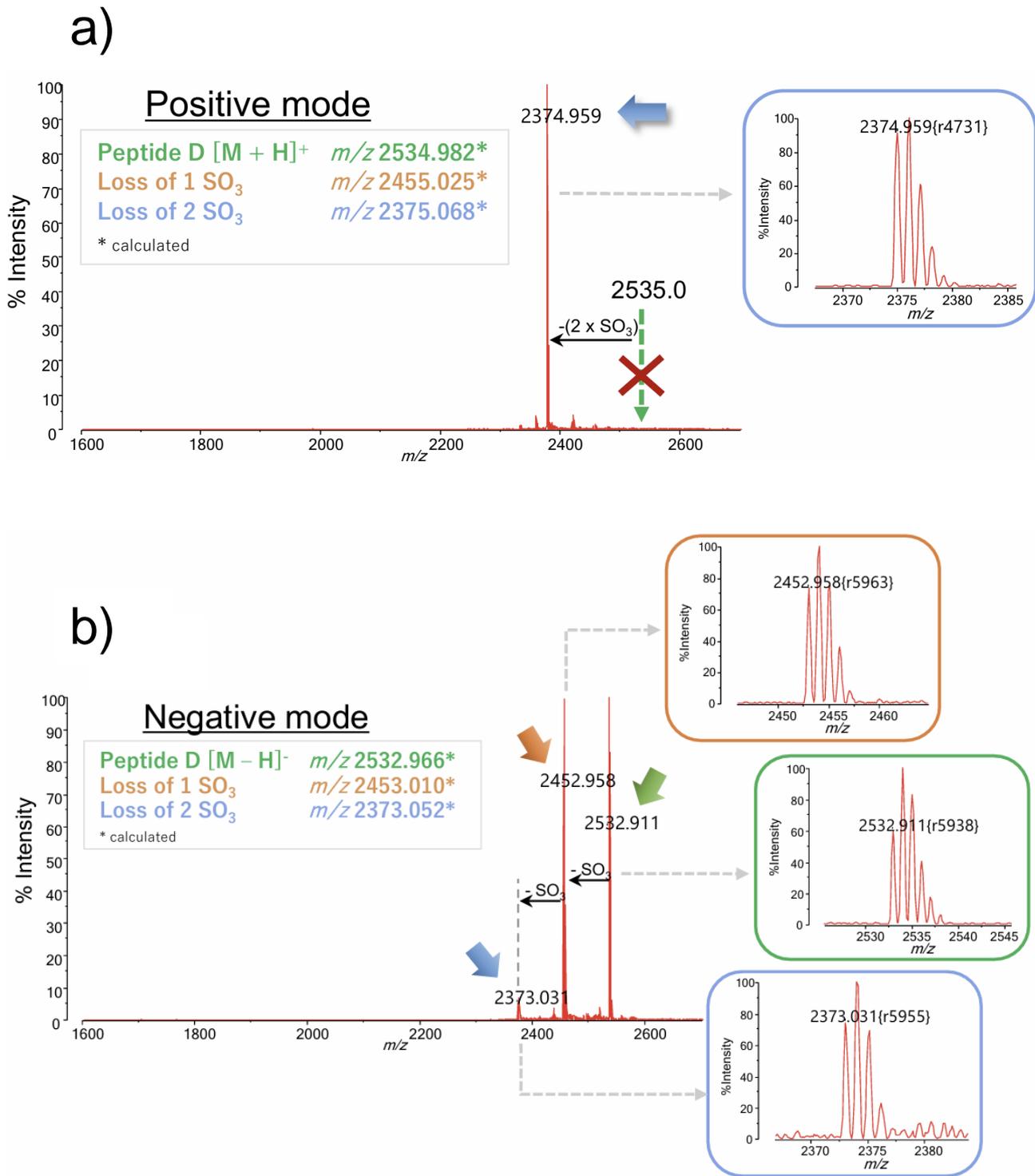


그림 2. a) 펩타이드 D의 양이온 모드 MALDI 스펙트럼: 두 설포기가 모두 손실된 종만 검출됨.
 b) 펩타이드 D의 음이온 모드 MALDI 스펙트럼: 한 개 및 두 개 설포기가 손실된 종과 함께 손상되지 않은 종이 성공적으로 검출됨.
 정확하게 계산된 단일동위원소 질량은 좌측 상단에 기재함. 검출된 단일동위원소 피크의 부리도는 { }에 표시함.

■ 결과 - 펩타이드 A

펩타이드 A는 조생성물(crude product) 정제의 순차적 단계에 따라 반 순수 및 순수한 형태로 제공되었다. 반 순수 형태는 여전히 상당한 양의 불순물을 함유하고 있는 중간 형태이다. 그림 3a는 Peptide A(반 순수 형태)의 양이온 모드 MALDI 스펙트럼을 보여준다. 그림에서 확인할 수 있듯이, 불순물과 최종 생성물 모두 염(나트륨 및 칼륨) 부가물의 존재로 인해 스펙트럼 해석이 복잡해진다.

대조적으로, 음이온 모드 MALDI 스펙트럼은 염 부가물이 없기 때문에 더 깨끗하고 해석하기 쉽다(그림 3b). 최종 펩타이드는 두 모드에서 우수한 질량 정확도로 성공적으로 검출되었다.

순수한 형태의 Peptide A에도 유사한 고려 사항이 적용된다(그림 4). 음이온 모드에서 표적 펩타이드 생성물의 염 부가물이 크게 감소하면 더 깨끗한 스펙트럼 결과를 얻게 된다.

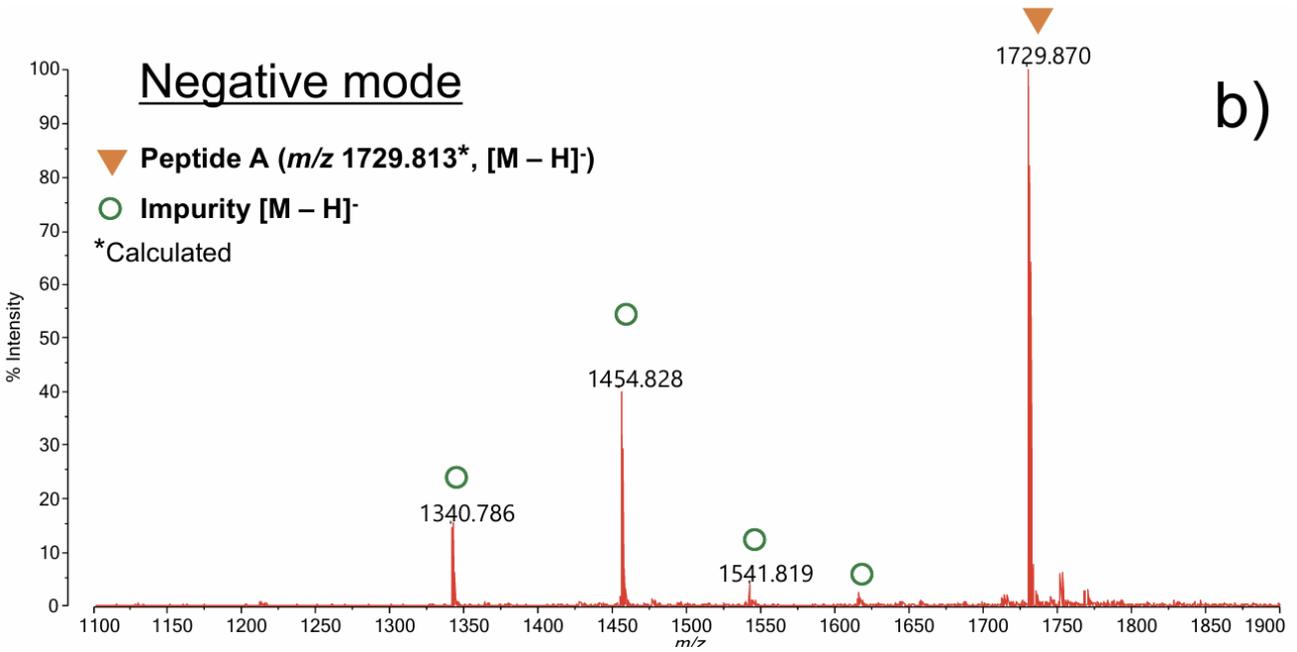
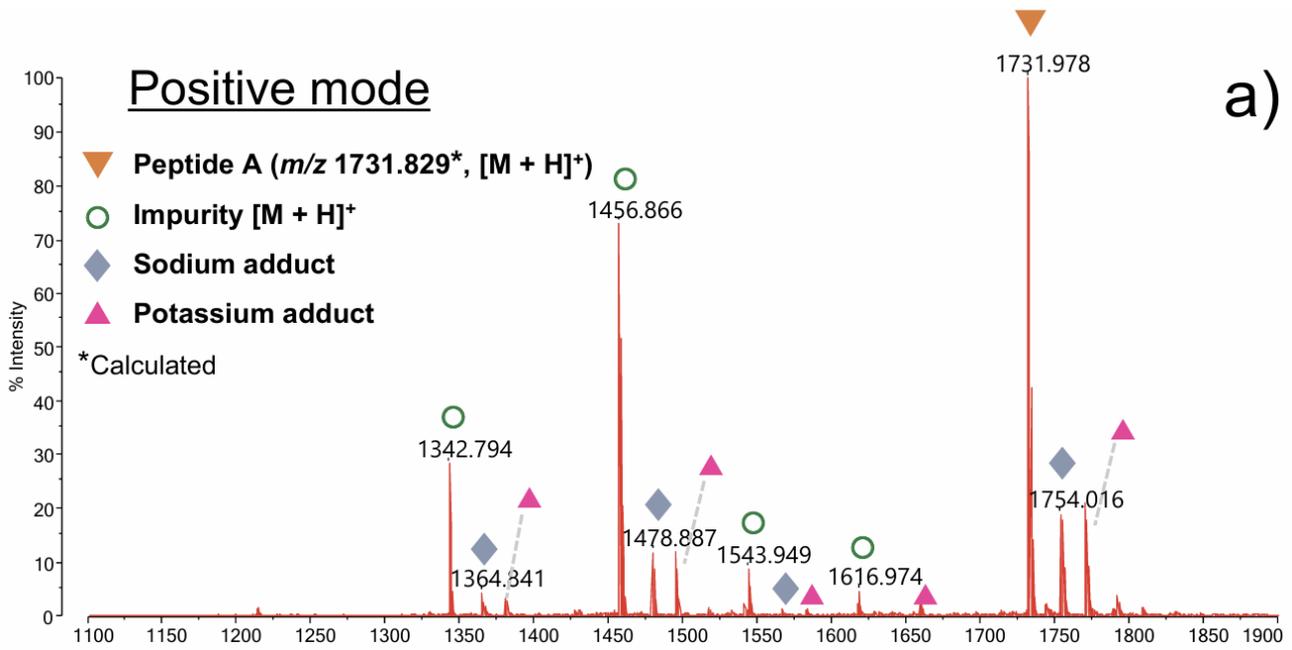


그림 3. a) 펩타이드 A(반 순수 형태)의 양이온 모드 MALDI 스펙트럼: 불순물과 최종 펩타이드의 염 부가물로 인해 스펙트럼 해석이 복잡하다.
 b) 펩타이드 A(반 순수 형태)의 음이온 모드 MALDI 스펙트럼: 염 부가물 신호가 없기 때문에 스펙트럼 해석이 더 쉽다.

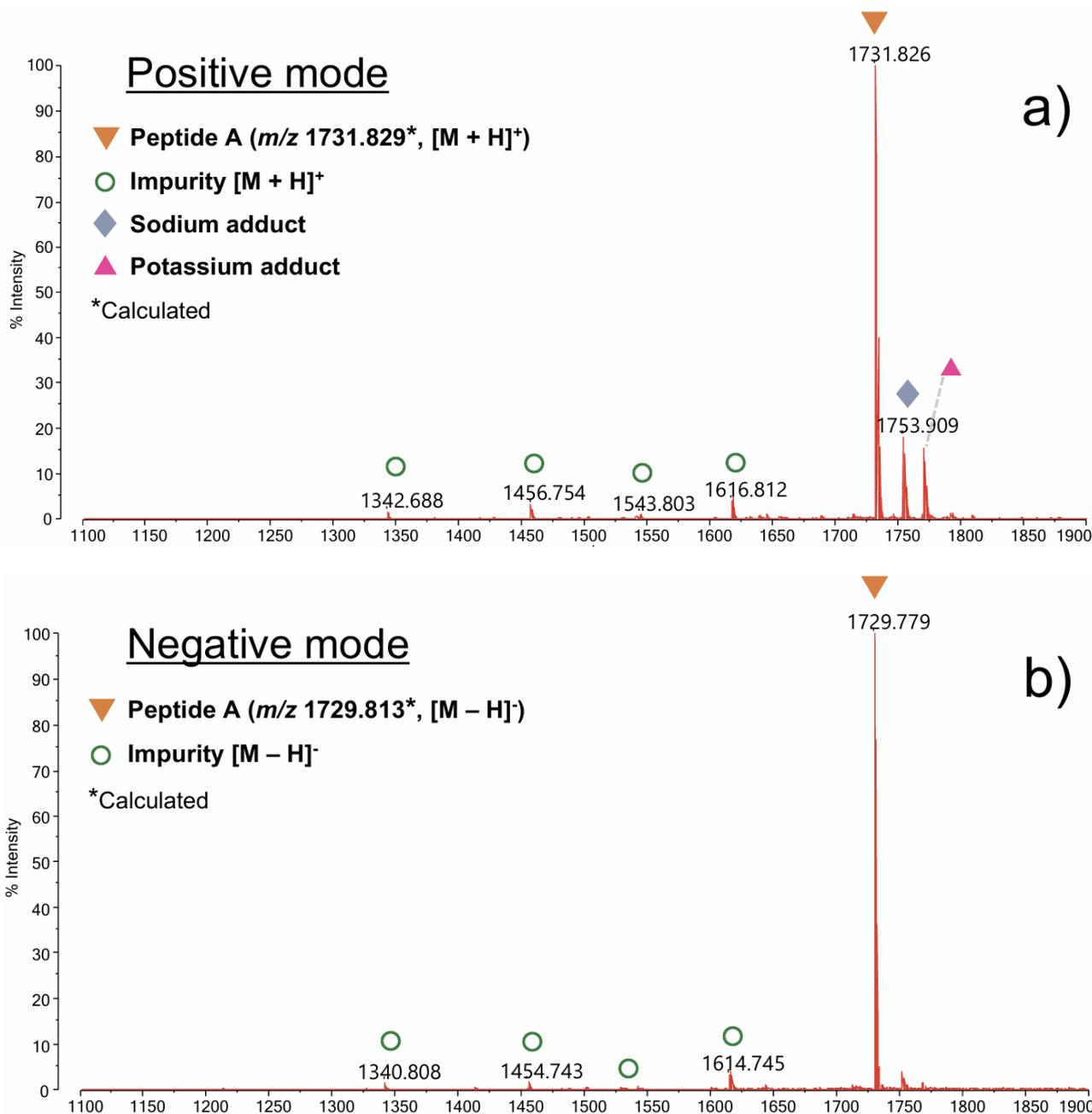


그림 4. a) 펩타이드 A(순수 형태)의 양이온 모드 MALDI 스펙트럼: 표적 펩타이드가 염 부가물과 함께 검출된다.
 b) 펩타이드 A(순수 형태)의 음이온 모드 MALDI 스펙트럼: 표적 펩타이드 중에 대해 검출된 염 부가물이 크게 감소하여 더 깨끗한 스펙트럼이 얻어진다.

■ 결론

이 뉴스레터는 합성 펩타이드의 품질관리 분석을 위한 음이온 모드의 이점을 보여준다. 펩타이드 분석에 양이온 모드 검출이 더 널리 사용되고 있지만, 보여진 예시의 경우, 음이온 모드가 다음 두 가지 이유로 더 유용한 것이 확인되었다.

- 1) 불안정한 작용기의 손실을 방지하여 온전한 종의 검출을 용이하게 한다.
- 2) 음이온 모드에서 염 부가물의 형성이 크게 감소하기 때문에 질량 스펙트럼이 더 깨끗하고 해석하기 쉽다.



Shimadzu Corporation
 www.shimadzu.com/an/

Shimadzu Scientific Korea
 www.shimadzu.co.kr

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

This publication may contain references to products that are not available in your country. Please contact us to check the availability of these products in your country.

The content of this publication shall not be reproduced, altered or sold for any commercial purpose without the written approval of Shimadzu. See <http://www.shimadzu.com/about/trademarks/index.html> for details.

Third party trademarks and trade names may be used in this publication to refer to either the entities or their products/services, whether or not they are used with trademark symbol "TM" or "®".

Shimadzu disclaims any proprietary interest in trademarks and trade names other than its own.

The information contained herein is provided to you "as is" without warranty of any kind including without limitation warranties as to its accuracy or completeness. Shimadzu does not assume any responsibility or liability for any damage, whether direct or indirect, relating to the use of this publication. This publication is based upon the information available to Shimadzu on or before the date of publication, and subject to change without notice.

12-MO-481-K