

LC-MS/MS法测定两种甲基化修饰组氨酸

Determination of two histidine methylation by LC-MS/MS

查海红, 钟晨春, 龙志敏, 郭立海

Haihong Zha, Chenchun Zhong, Zhimin Long, Lihai Guo

SCIEX应用支持中心, 中国

Keywords: histidine methylation; SCIEX Triple Quad™ System;

仪器设备

Exion LC™ AD 系统 + SCIEX Triple Quad™ 系统

引言

甲基化是最丰富和最常见翻译后修饰之一, 广泛参与细胞中重要的生物学过程。组氨酸甲基化发生在咪唑环的N1或N3位置, 约占蛋白质甲基化修饰的13%, 这种位置特异性是由不同家族的组氨酸甲基转移酶所决定的。组氨酸甲基化在蛋白结合金属离子方面具有潜在作用, 能调控细胞内金属离子浓度平衡, 因此对于癌症机理的研究具有重要意义^[1-2]。

本文建立了一种同时检测N1和N3位甲基化修饰组氨酸的快速检测方案, 方法的定量下限可低至0.2-0.5 nM, 仪器灵敏度高, 重现性好, 可以很好的满足蛋白质中修饰组氨酸的测定要求。

本实验方法特点:

1. 使用三重四极杆质谱 (SCIEX Triple Quad™ 系统) 测定2种甲基化组氨酸, 具有较好的色谱保留, 且两种甲基化组氨酸也能实现较好分离, 见图1。
2. 本方法灵敏度低至0.2-0.5 nM, 重现性好, 很好的满足蛋白质中修饰组氨酸的检测需求。

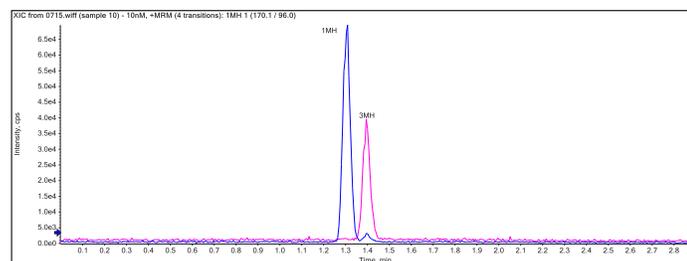


图1. 两种甲基化组氨酸的典型色谱图



液相方法

色谱柱: Luna Omega Polar C18 150 × 2.1mm, 5 μm

流动相: A相: 水 (含0.001% 甲酸+ 1 mM 甲酸铵)

B相: 乙腈

进样体积: 1 μL

柱温: 40°C;

流动相梯度:

Time (min)	Flow (ml/min)	A (%)	B (%)
0.00	0.3	99	1
2.00	0.3	99	1
3.00	0.5	10	90
4.50	0.5	10	90
5.00	0.5	99	1
6.00	0.5	99	1
6.10	0.3	99	1
7.00	0.3	99	1

质谱方法

离子源：ESI源，正离子模式

离子源参数：

电喷雾电压 IS: 5500 V

气帘气 CUR: 35 psi

雾化气 GS1: 50 psi

辅助加热气 GS2: 50 psi

碰撞气 CAD: 8

源温度 TEM: 500°C

表1. 两种甲基化组氨酸的质谱参数

化合物名称	Q1 Mass	Q3 Mass	DP	CE
1甲基组氨酸(1MH)	170.1	96	40	27
3甲基组氨酸(3MH)	170	124	40	19

蛋白样品前处理：

SDS-PAGE胶分离蛋白质，考马斯染色切目的条带蛋白，进行脱色胰酶消化，提取消化后的肽段；使用6M 盐酸 100°C酸解肽段成氨基酸，1.5 mL溶液吹干干燥，150 μL水复溶，10000 rpm离心 5 min，取上清进样分析

实验结果

1. 灵敏度和重复性：

两种甲基化组氨酸的最低定量下限为0.2-0.5 nM，典型色谱图见图2；两种甲基化组氨酸连续进样六针RSD小于5%。

表2. 两种甲基化组氨酸的定量下限、线性范围及重现性

	LLOQ (定量下限)	线性范围	重现性 (RSD)
1MH	0.2 nM	0.2-500 nM	4.94%
3MH	0.5 nM	0.5-500 nM	3.18%

2. 线性范围：

两种甲基化组氨酸在线性范围内线性关系良好，相关系数大于0.995（见图3），标曲各点准确度在90%-110%之间。

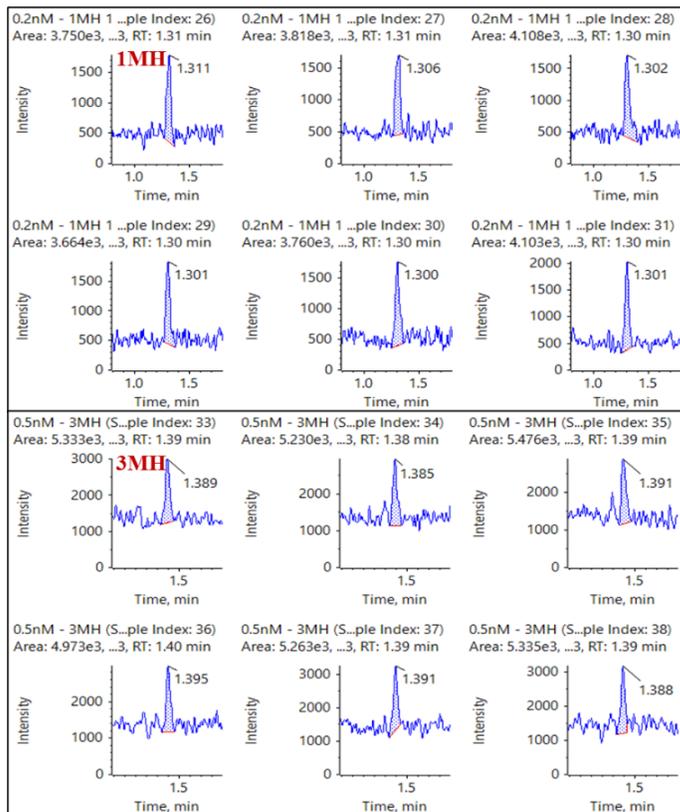


图2. 两种甲基化组氨酸最低定量限色谱图

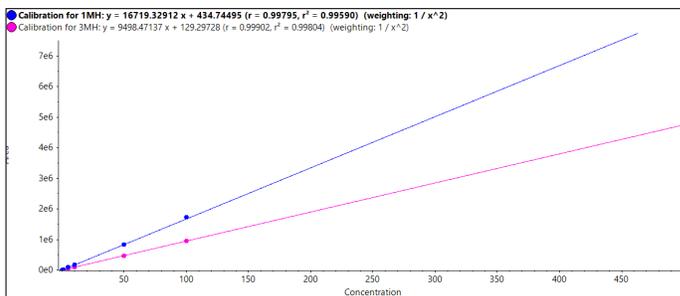


图3. 两种甲基化组氨酸的标准曲线图

3. 样品检测：

实际处理蛋白质样品中甲基化组氨酸结果见图4，可以测到蛋白质中低含量的甲基化修饰组氨酸，进而可以比较不同位点修饰的差异。

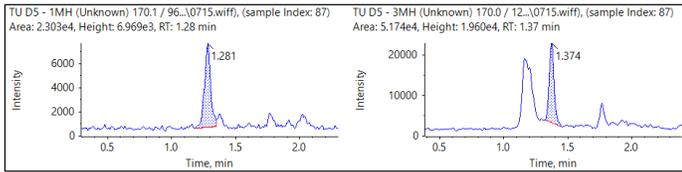


图4. 实际蛋白质样品中甲基组氨酸检测结果图

总结

本文使用SCIEX Triple Quad™ 系统建立了蛋白质中甲基修饰组氨酸的LC-MS/MS方法。结果表明，本方法灵敏度高、重现性好，两个异构体能够实现较好分离，能够满足蛋白质中甲基修饰组氨酸的检测需求。

参考文献

- [1] Lv M, Cao D, Zhang L, et al. METTL9 regulates N1-histidine methylation of zinc transporters to promote tumor growth[J]. Cold Spring Harbor Laboratory, 2021. DOI:10.1101/2021.04.20.440582.
- [2] Cao R, Zhang X, Liu X, et al. Molecular basis for histidine N1 position-specific methylation by CARNMT1[J]. Cell Research, 2018, 28(4). DOI:10.1038/s41422-018-0003-0.

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2023 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-29083-ZH-A



SCIEX中国

北京分公司
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话：010-5808-1388
传真：010-5808-1390
全国咨询电话：800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心
上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话：021-2419-7201
传真：021-2419-7333
官网：sciex.com.cn

广州办公室
广州国际生物岛星岛环北路1号
B2栋501、502单元
电话：020-8842-4017

官方微信：[SCIEX-China](https://www.sciex.com.cn)