DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.10.020
第22卷第10期 第三军医大学学报 Vol. 22, No. 10
972 2000年10月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Oct. 2000

技术方法

文章编号:1000-5404(2000)10-0972-02

LC/MS鉴定固相合成多肽P14分子异构体存在的方法

Methods of identifying the existence of solid-phase synthesis P14 peptide isomer by LC/MS

周 伟,吴玉章,边 疆,贾正才 (第三军医大学基础医学部全军免疫学研究所 重庆,400038)

提 要:目的 确认固相合成多肽P14分子是否存在异构体。方法 通过HP 1100与ESI离子源PE API2000液质联用(LC/MS)分离P14肽,在质谱鉴定合成肽主峰为理论设计分子量前提下,应用PE SCIEX Analyst 1.0b3质谱分析软件分析子离子流色谱图。结果 从总离子流色谱图中精确提取P14肽Q1正离子双电荷质量数,形成P14肽质量数子离子流色谱图,其中有散在的不同保留时间的质量数存在。结论 P14肽有异构体存在,与结合理论上分析P14氨基酸组成发现(P14组成中有6个胱氨酸,其存在无疑增加了分子内二硫键形成的可能性)一致。

化学固相合成P14肽为一修饰后的多肽,从分子设计上考虑期望其为一线性短肽,但分析其氨基酸组成发现肽段中有6个胱氨酸,这不得不使设计者考虑其胱氨酸间形成二硫键发生分子内折叠即异构体出现的可能。如何快捷的得到这一信息?LC/MS的出现无疑给设计者开辟了一条崭新便捷的途径。使问题的解决显得易如反掌。

1 仪器与方法

1.1 仪器

HP 1100高效液相色谱仪;PE API 2000 LC/MS/MS质谱仪;PE SCIEX Analyst 1.0b3质谱分析软件;Waters Symmetry C_{18}分析柱(粒度5μm,孔径100Å,柱直径3.9 mm,柱长150 mm);CH_3CN(HPLC级,浙江临海);TFA(Trifluoroacetic Acid:三氟乙酸,HPLC级,美国Sigma公司)。

1.2 方法

Fmoc法化学固相合成P14肽粗品(已脱盐),1 mg/ml(DMSO溶样)。色谱条件:10% CH_3CN 0.1%TFA到60% CH_3CN 0.1% TFA 50 min 200μl/min。质谱条件:扫描Q1正离子;GAS1:45 GAS2:80 CUR:40 TEM:350 ℃,CAD:0 IS:4 800 NC:2 DP:30 FP:350 EP:-10 DF:0 CEM:1 800。20μl上样执行以上方法。

2 结果

固相合成P14粗肽经液质联用分析鉴定,总离子流图显示35.39 min的主峰为目的肽峰,见图1,经ESI离子源后P14肽主要带双电荷,带双电荷后检测到的质量数为798.7,也可以看到带单电荷的质量数为1 596.1;与其理论值(1 595)一致。随后从总离子流图中提取质量数为798.7的子离子流,见图2,发现子离子流色谱图中除35.39 min以外,明显的是在33.22 min及49.40 min处也有798.7质量数出现。即可说明有质量数完全相同而色谱保留时间有差异的P14异构体存在。

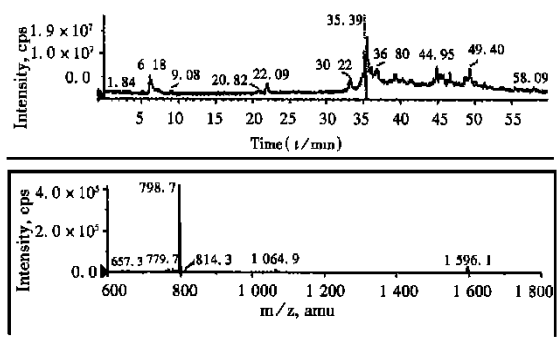


图1 P14肽LC/MS+Q1总离子流色谱图及主峰质量鉴定

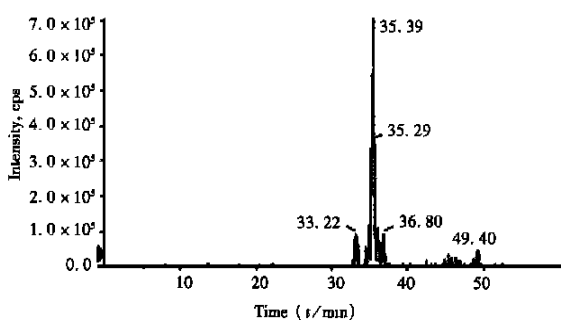


图2 798.7质量数离子流色谱图

3 讨论

已有实验表明,蛋白质多肽片段(Fragment)在水溶液中具有与原同源肽段(Segment)不一定相同的二

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39700132)

作者简介:周 伟(1968—),男,重庆市人,实验师,主要从事多肽及蛋白质分析、纯化及鉴定方面的研究。电话:(023)68752236

收稿日期:2000-08-04;修回日期:2000-09-28

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

级结构[1]，同一片段在不同的溶剂环境中能进行二级结构的构象转变[2]，本实验用一种经修饰的 P14 肽其目的在于设计出合理的多肽后选药物，粗肽样品采用极性溶剂 DMSO 溶样，克服了多肽间疏水性聚积以确保其具有明显分子构象特征。但因其富含胱氨酸（6 个），二硫键的形成已非偶然，从而使其构像呈多元化，然而要快速的获得该信息却非易事；本实验液质联用（LC/MS）的应用无疑使情况大为改观，甚至可运用 LC/MS/MS 得到更为准确的二级结构信息，定位二硫键发生部位；同时本实验也为 P14 肽的固相合成或进一步的反相纯化提供了依据。

关键词：液质联用（LC/MS）；质量数；异构体
中图法分类号：R394－33 文献标识码：A

参考文献：

[1] 胡红雨，鲁子贤. 二级结构形成：蛋白质折叠起始的框架模型[J]. 生物化学与生物物理进展，1994，21(6)：508－512.
[2] Searle M S，Williams D H，Packman L C. A short linear peptide derived from the N-terminal sequence of ubiquitin folds into a water-stable non-native β-hairpin[J]. Nat Struct Biol，1995，2(11)：999－1 006.

（编辑 汪勤俭）

文章编号：1000-5404(2000)10-0973-01

经验与短篇

碘伏对垂直阻生 $\frac{8}{8}$ 急性冠周炎不同龈瓣覆盖的作用比较

Comparison of the therapeutic effect of pvp-Ⅰ on acute pericoronitis due to vertical impaction $\frac{8}{8}$ with diffierent gingival flap cover

游古莲，林景春，周正贵 （第三军医大学附属新桥医院口腔科，重庆 400037）

有关下颌阻生第三磨牙急性冠周炎的各种研究已有报道[1]。本研究就碘伏行冠周冲洗对急性冠周炎不同龈瓣所致急性冠周炎的疗效进行比较，现报告如下。

1 临床资料

下颌垂直阻生第三磨牙急性冠周炎患者 92 例，男 53 例，女 39 例，年龄 18～43 岁。

病例选择：纳入标准：因下颌第三磨牙垂直阻生龈瓣覆盖引起的急性冠周炎，病史长达 1 年，反复发作 5 次以上者；排除标准：伴有严重的全身感染，系统性疾病，同时服用其它抗菌素以及不能复诊者。

方法与指标：生理盐水冲洗盲袋，局部拭干后，用 0.5%（g/ml）碘伏 2 ml 缓慢冲洗冠周，让药液潴留在盲袋内，1/d，连续 2 次，嘱病员 3 d 后复诊。病员初诊和复查时由同一医师测量龈瓣覆盖牙冠面面积，按 1/4、1/3、1/2、2/3、3/4、1 六种情况记录，观察龈瓣红肿、盲袋内溢脓及疼痛等。龈瓣覆盖冠面 1/4、1/3、1/2、2/3、3/4、1 者分别为 10、10、24、22、9、8 例，≤2/3 者 75 例，占 81.52%，＞2/3 者 17 例，占 18.48%。

疗效标准：显效：急性冠周炎症状及体征消失；有效：龈瓣红肿明显消退，盲袋内溢脓减少，疼痛减轻；无效：症状与体征无改善。

2 结果

92 例患者中显效 69 例，占 75%；有效 20 例，占 21.74%；无效 3 例，占 3.26%。总有效率 96.74%。龈瓣覆盖冠面≤2/3 者 75 例，显效 60 例，有效 14 例，显效率 80%；＞2/3 者 17 例，显效 9 例，有效 6 例，显效率 52.94%，$P<0.05$，两者相差显著。龈瓣覆盖冠面面积越小，显效率越高。

3 讨论

有研究发现冠周炎深而窄的盲袋内藏着大量的细菌，是以厌氧菌为主的混合感染[1]。碘伏对口腔内各种厌氧菌（G^+ 和 G^-）有着强烈的抑制和杀灭作用，最低有效浓度为 0.01%[2,3]，而 0.5% 碘伏冲洗冠周，可以潴留在冠周局部盲袋内，因而显效快、病程短，无毒副反应，使用安全。

由本实验可得出：凡龈瓣覆盖冠面≤2/3 的急性冠周炎，应选碘伏作冠周冲洗的首选药物，可配合其它药物将急性炎症控制在并发症发生之前，待炎症控制后再行局部病灶牙处理。

关键词：垂直阻生牙；急性冠周炎；碘伏
中图法分类号：R782 文献标识码：B

参考文献：

[1] 王秀丽. 急性冠周炎与下颌阻生第三磨牙位置的相关研究[J]. 上海口腔医学杂志，1995，4(1)：71.
[2] 浓俊士，周云柏. 固体碘伏液消毒感染根管应用分析[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志，1998，8(3)：214.
[3] 唐子圣，尹仕海. 碘伏的口腔临床研究与应用[J]. 国外医学：口腔医学分册，1998，25(1)：11.

（编辑 王 红）

作者简介：游古莲（1963－），女，四川省垫江县人，主管技师，主要从事牙体牙周方面的研究，发表论文 14 篇。电话：（023）68774645

收稿日期：2000-01-20；修回日期：2000-07-11

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net