

Оглавление

Предисловие	7
Использованные сокращения	9
Введение	11
Глава 1. Методы ионизации молекул пептидов и белков	14
1.1. Бомбардировка быстрыми атомами, ББА (Fast Atom Bombardment, FAB)	14
1.2. Матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация, МАЛДИ (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization, MALDI)	16
1.3. Ионизация электрораспылением, ИЭР (Electrospray Ionization, ESI)	19
Глава 2. Измерение молекулярной массы пептидов и белков	25
Глава 3. Установление первичной структуры пептидов	34
3.1. Деградация по Эдману	34
3.2. Идентификация пептидов по сиквенсу кДНК	36
3.3. Леддерное секвенирование	37
Глава 4. Масс-спектрометрическое секвенирование	39
4.1. Номенклатура фрагментных ионов пептидов	39
4.2. Масс-спектры отрицательных ионов	45
4.3. Методы инициирования фрагментации молекулярных ионов	46
4.3.1. Диссоциация, активированная соударениями, ДАС (Collisionally Activated Dissociation, CAD)	47
4.3.2. Диссоциация индуцированная столкновениями с поверхностью, ДИП (Surface Induced Dissociation (SID))	56
4.3.3. Диссоциация при захвате электрона, ДЗЭ (Electron Capture Dissociation, ECD)	59
4.3.4. Диссоциация при переносе электрона, ДПЭ (Electron Transfer Dissociation, ETD)	64
4.3.5. Фотоактивация диссоциации	65
4.3.6. Диссоциация, активированная электронами	69

4.3.7. Диссоциация отрицательных ионов при отрыве электрона	70
4.4. Методы секвенирования пептидов на приборах с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией	71
4.4.1. Метод задержанной экстракции. Распад в источнике, РВИ (In Source Decay, ISD)	71
4.4.2. Распад за пределами источника, РПИ (Post Source Decay, PSD)	72
Глава 5. Идентификация белков и пептидов	76
5.1. Идентификация с использованием баз данных	76
5.1.1. Метод идентификации белков «снизу вверх» («Bottom-up»)	76
5.1.2. Метод идентификации белков «сверху вниз» («Top-down»)	91
5.2. Ручная идентификация пептидов	94
Глава 6. Основные сложности масс-спектрометрического секвенирования пептидов и пути их преодоления	97
6.1. Покрытие сиквенса	98
6.2. Аминокислоты с одинаковой целочисленной массой	102
6.2.1. Лизин и глутамин	102
6.2.2. Фенилаланин и окисленный метионин	104
6.3. Изомерные аминокислоты: лейцин и изолейцин	106
6.4. Циклизация коротких пептидов	108
6.5. Пептиды, содержащие дисульфидную связь	116
Глава 7. Использование для секвенирования масс-спектров отрицательных ионов	121
Глава 8. Количественный анализ белков с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии–масс-спектрометрии. Количественная протеомика	126
8.1. Сравнительная (количественная) протеомика	129
8.1.1. Безизотопный метод	129
8.1.2. Изотопные методы	132
8.2. Установление абсолютных количеств	145
Список литературы	149
Приложение. Bruker: Многомерный путь к разгадке протеома	163