

Fragmentation de peptides mimes de sequences protéolytiques obtenues par action de la métalloendopeptidase Lys-N

Mathieu Dupré • Sonia Cantel • Pascal Verdié • Jean Martinez • Christine Enjalbal

Institut des Biomolécules Max Mousseron (IBMM), UMR 5247 CNRS-Universités Montpellier, France

Bien que l'usage de la métalloendopeptidase LysN, issue d'un champignon japonais *Grifola Frondosa*,⁽¹⁾ n'est pas encore très répandu dans les procédures d'analyse protéomique, elle a été utilisée avec succès, en alternative ou en complément de la trypsine, dans quelques travaux récents.⁽²⁻⁴⁾ Afin d'étudier le comportement par spectrométrie de masse en tandem de tels peptides protéolytiques qui possèdent tous une lysine en position N-terminale, 15 peptides de composition et de longueur variées mimant cette digestion enzymatique ont été préparés et analysés en spectrométrie de masse sur des appareillages de type ESI-QqToF et MALDI-ToF/ToF. Les caractéristiques de fragmentation de ces peptides où la position N-terminale est toujours occupée par une lysine sont discutées selon les techniques de MS/MS mises en œuvre à savoir dissociations induites par collision (CID) ou par laser (LID). Une comparaison des résultats obtenus en MS/MS, corrélés au recouvrement de séquence et donc aux performances de séquençage, permet de situer cette enzyme par rapport à la trypsine.

[1] Nonaka, T.; Hashimoto, Y.; Takio, K. Kinetic Characterization of Lysine-specific metalloendopeptidases from *Grifola frondosa* and *Pleurotus ostreatus* Fruiting bodies. *J. Biochem.* 1998, 124, 157-162.

[2] Coussot, G.; Hawke, D. H., et al. A method for the isolation of blocked N-terminal peptides. *Anal Biochem.* 2007, 361, 302-304.

[3] Boersema, P. J.; Tamm, N.; Altelaar, A. F.; Gouw, J. W.; Ross, P. L.; Pappin, D. J.; Heck, A. J.; Mohammed S. Straightforward and De Novo peptide sequencing by MALDI-MS/MS using a Lys-N metalloendopeptidase. *Mol. Cell. proteom.* 2009, 8, 650-660.

[4] Carabetta, V. J.; Li, T.; Shukya, A.; Todd, M. G.; Cristea, I. M. Integrating Lys-N proteolysis and N-terminal guanidination for improved fragmentation and relative quantification of singly-charged ions. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2010, 21, 1050-60.