

## JMS-S3000 “SpiralTOF”による高質量分解能インソース分解の測定

関連製品：質量分析計(MS)

お問合せ先： 日本電子株式会社 グローバル営業推進本部 TEL:03-6262-3568

### 【はじめに】

マトリックス支援レーザー脱離イオン化(MALDI)とインソース分解(ISD)を組み合わせたタンパク質やペプチドの分析では、N末端やC末端からのアミノ酸配列情報を得ることができ、インタクトなタンパク質やペプチドのトップダウンシーケンシングに有効な手法である。しかし、MALDI-ISDのフラグメントイオンの生成には高いレーザー強度が必要であり、質量分解能の低下につながる。本報告では、17mのらせん状のイオン軌道を実現し、高い質量分解能を達成できるJMS-S3000 “SpiralTOF”を用いたペプチドのMALDI-ISD測定例を報告する。

### 【実験】

ACTH fragment 18-19とInsulin B chainをそれぞれ0.1%トリフルオロ酢酸溶液に10 pmol/ $\mu$  Lの濃度で溶解した。マトリックスには、ISDのフラグメントイオンを高いS/Nで観測することができる1,5-diaminonaphthalene (DAN)を用いた[1]。DANは、0.1%トリフルオロ酢酸/50%アセトニトリル溶液に10 mg/mLの濃度で溶解した。試料溶液とマトリックス溶液は等量混合し、1  $\mu$  Lをターゲットプレートに滴下した。

### 【結果】

はじめに、ペプチドの分布をMALDIイメージングを用いて調べた。Fig.1a, bはそれぞれ、DANの結晶の光学顕微鏡像とInsulin B chainのISDにより生成した $y_{10}$ -ion ( $m/z$  1215.6)のマスイメージである。両者を比較すると $y_{10}$ -ionは、DANの円形の結晶の縁から多く検出できた。そこで以下の測定では、レーザー照射を縁に沿って行うことで、MALDI-ISDのフラグメントイオンを効率よく検出し、高感度なマスペクトルを取得できた。ACTH fragment 18-39とInsulin B chainのISD測定で得られたマスペクトルをそれぞれFig.2a, bに示す。ACTH fragment 18-39のフラグメントイオンは主にc-ionが生成したのに対し、Insulin B chainからはy-ionが主に生成した。MALDI-ISDの開裂経路は、塩基性アミノ酸がN末端にある場合はc-ionが主に生成し、C末端側にある場合はy-ionが主に生成する[2]。すなわち、これら開裂経路の違いは、末端基ペプチドに塩基性アミノ酸が存在についての情報を与える。次に、ACTH fragment 18-39、Insulin B chainのフラグメントイオンの質量精度を外部標準法で評価した結果(N=3)をTable 1、2にまとめた。ACTH fragment 18-39、Insulin B chainのフラグメントイオンの質量誤差(絶対値の平均)は4 ppm、と4.7 ppm以内と高い質量精度が得られた。

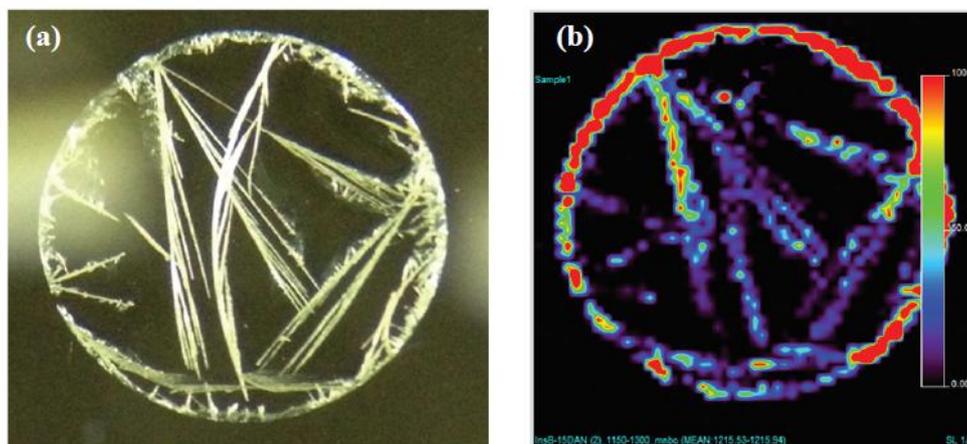


Fig.1 (a) Optical microscope image of DAN crystal、(b) MALDI imaging of  $m/z$  1215.6 ( $y_{10}$  ISD fragment ion of oxidized Insulin B chain (width 3.0mm x height 3.0mm、interval 0.05mm)).

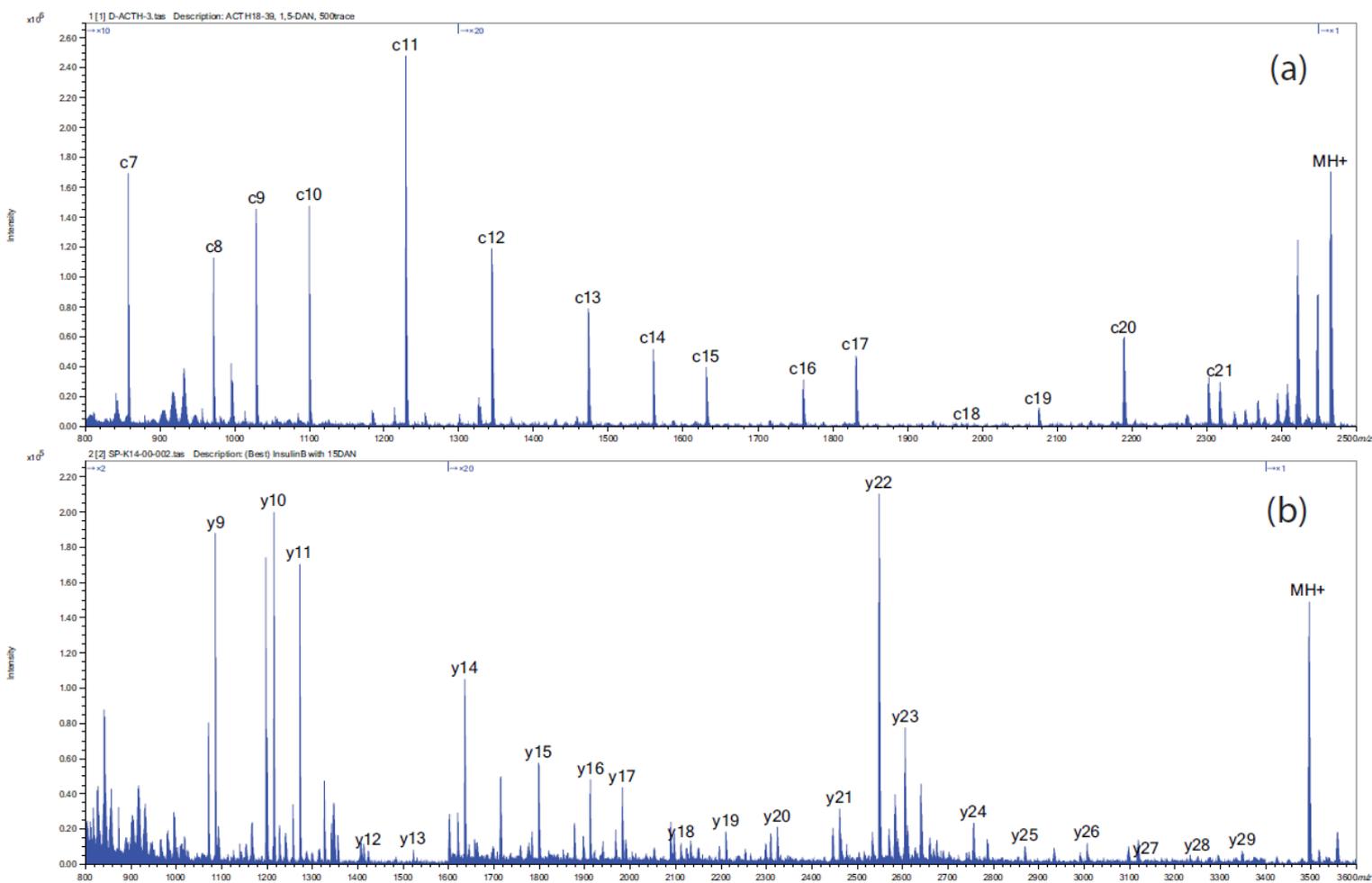


Fig.2 ISD mass spectra for (a) ACTH18-39, (b) oxidized Insulin B chain.

Ion species	Calc. m/z	Mass error (ppm)		
		Data 1	Data 2	Data 3
c7	857.5356	-3.73	13.18	2.92
c8	971.5785	-1.96	12.87	3.50
c9	1028.6000	-0.49	11.76	3.01
c10	1099.6371	-0.36	11.55	2.46
c11	1228.6797	1.06	10.09	2.28
c12	1343.7066	-0.52	7.59	0.52
c13	1472.7492	0.95	6.52	-0.88
c14	1559.7812	0.26	4.62	-1.15
c15	1630.8184	-0.06	3.07	-1.59
c16	1759.8610	-1.88	1.99	-2.84
c17	1830.8981	-0.66	0.44	-4.64
c18	1977.9665	6.77	-3.08	-6.32
c19	2075.0192	-1.11	-0.82	-5.73
c20	2188.1033	-5.12	-4.30	-8.91
c21	2317.1459	-4.19	-3.88	-8.03
<b>Abs. Average</b>		<b>1.94</b>	<b>6.38</b>	<b>3.65</b>

Table 1. Accurate mass measurement results for c-ion series of ACTH fragment 18-39.

Ion species	Calc. m/z	Mass error (ppm)		
		Data 1	Data 2	Data 3
y9	1086.5731	1.76	0.10	-0.08
y10	1215.6157	0.76	-0.48	-1.22
y11	1272.6372	-0.98	-0.04	-1.06
y12	1423.6311	-11.51	-11.51	-9.12
y13	1522.6995	-9.25	-4.98	-7.81
y14	1635.7836	-4.19	-5.41	-3.82
y15	1798.8469	-4.55	-6.27	-7.49
y16	1911.9310	-8.29	-4.89	-9.81
y17	1982.9681	-3.56	-6.33	-5.33
y18	2112.0107	2.30	-6.37	-3.29
y19	2211.0791	-4.42	-8.94	-5.69
y20	2324.1631	-3.97	-5.31	-8.92
y21	2461.2220	-1.15	-1.15	0.96
y22	2548.2541	-2.77	-4.42	-3.44
y23	2605.2755	-3.82	-4.81	-2.28
y24	2756.2695	-5.68	-5.43	-2.96
y25	2869.3535	-4.47	-8.76	-2.87
y26	3006.4124	-5.47	-0.55	-4.40
y27	3134.4710	-6.13	-13.47	16.65
y28	3248.5139	-1.40	-16.76	-13.22
y29	3347.5824	3.33	-6.83	4.04
<b>Abs. Average</b>		<b>4.37</b>	<b>5.10</b>	<b>4.55</b>

Table 2. Accurate mass measurement results for y-ion series of oxidized Insulin B chain.

## 【まとめ】

本報告では、*SpiralTOF* を用いた標準品ペプチドのMALDI-MSの測定例を報告した。MALDI-MS測定では、通常の測定よりも高いレーザー強度が必要となり、従来のリフレクトロンTOFMSでは質量分解能や質量精度の低下を招くが、*SpiralTOF* を用いれば高質量分解能(20,000~30,000)を達成でき、外部標準法でも高質量精度でフラグメントイオンをアサインできることがわかった。

## 【参考文献】

[1] Issey Osaka, Mami Sakai, Mitsuo Takayama, 5-Amino-1-naphthol, a novel 1,5-naphthalene derivative matrix suitable for matrix-assisted laser desorption/ionization in-source decay of phosphorylated peptides, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, Volume 27, Issue 1, pages 103-108, 15 January 2013.

[2] Mitsuo Takayama, The Characteristics of In-source Decay in Mass Spectrometric Degradation Methods \_Hydrogen-Attachment Dissociation (HAD)\_ , *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, Vol. 50, No. 6, 2002.

本誌の記載内容は予告なしに変更することがあります。

Copyright(C)2016 JEOL Ltd. All Rights Reserved.

このカタログに掲載した商品は、外国為替及び外国貿易法の安全輸管理の規制品に該当する場合がありますので、輸出するとき、または日本国外に持ち出すときは当社までお問い合わせ下さい。



本社・昭島製作所

〒196-8558 東京都昭島市武蔵野3-1-2 TEL : (042) 543-1111(大代表) FAX : (042) 546-3353

www.jeol.co.jp ISO 9001・ISO 14001 認証取得

東京事務所 〒100-0004 東京都千代田区大手町2丁目1番1号 大手町野村ビル13階

営業企画室 TEL : 03-6262-3560 FAX : 03-6262-3577

EO営業推進室 TEL : 03-6262-3567 AI営業推進室 TEL : 03-6262-3568

産業機器営業部 TEL : 03-6262-3570 MEソリューション販売室 TEL : 03-6262-3571

東京支店 〒100-0004 東京都千代田区大手町2丁目1番1号 大手町野村ビル18階 TEL : 03-6262-3580 FAX : 03-6262-3588

東京 S11グループ TEL : 03-6262-3581 東京 S12グループ TEL : 03-6262-3582

東京 S13グループ TEL : 03-6262-5586 ME営業グループ TEL : 03-6262-3583

東京第二事務所 〒190-0012 東京都立川市曙町2丁目8番3号 新鈴倉ビル9階

SE営業部 TEL : 042-528-3491 ソリューションビジネス部 TEL : 042-526-5098

横浜事務所 〒222-0033 神奈川県横浜市港北区新横浜3丁目6番4号 新横浜千歳ビル6階 TEL : 045-474-2181 FAX : 045-474-2180

海外事務所・営業所 Boston, Paris, London, Amsterdam, Stockholm, Sydney, Milan, Singapore, Munich, Beijing, Moscow, Sao Paulo ほか

札幌支店 〒060-0809 北海道札幌市北区北9条西3丁目19番地 ノルテプラザ5階

TEL : 011-726-9680 FAX : 011-717-7305

仙台支店 〒980-0021 宮城県仙台市青葉区中央2丁目2番1号 仙台三菱ビル6階

TEL : 022-222-3324 FAX : 022-265-0202

筑波支店 〒305-0033 茨城県つくば市東新井18番1

TEL : 029-856-3220 FAX : 029-856-1639

名古屋支店 〒450-0001 愛知県名古屋市中村区那古野1丁目47番1号 名古屋国際センタービル14階

TEL : 052-581-1406 FAX : 052-581-2887

大阪支店 〒532-0011 大阪府大阪市淀川区西中島5丁目14番5号 ニッセイ新大阪南口ビル11階

TEL : 06-6304-3941 FAX : 06-6304-7377

西日本ソリューションセンター

〒532-0011 大阪府大阪市淀川区西中島5丁目14番5号 ニッセイ新大阪南口ビル11階

TEL : 06-6305-0121 FAX : 06-6305-0105

広島支店 〒730-0015 広島県広島市中区橋本町10番6号 広島 NSビル5階

TEL : 082-221-2500 FAX : 082-221-3611

高松支店 〒760-0023 香川県高松市南町1-1-12 パシフィックシティ高松5階

TEL : 087-821-0053 FAX : 087-822-0709

福岡支店 〒812-0011 福岡市博多区博多駅前2丁目1番1号 福岡朝日ビル5階

TEL : 092-411-2381 FAX : 092-473-1649