

# JMS-S3000 “SpiralTOF” とリニアTOFオプションによるタンパク質のインソース分解分析

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)を組み合わせるとタンパク質やペプチドを分析すると、N末端やC末端からのアミノ酸配列情報が得られ、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。既報[1]では、JMS-S3000 “SpiralTOF” を用いてペプチド標準品のMALDI-ISD分析における高い質量精度の有効性を示した。より分子量の大きいタンパク質のMALDI-ISDでは、高感度分析が可能なりニアTOFオプションが有効である。本報告では、JMS-S3000 “SpiralTOF” とリニアTOFオプションを用いてタンパク質標準品のMALDI-ISD分析を行ったので報告する。

## 【実験】

ミオグロビンと牛血清アルブミン(BSA)をそれぞれ0.1%トリフルオロ酢酸水溶液に10 pmol/ $\mu$  Lの濃度で溶解した。MALDI-ISD分析でフラグメントイオンを多く生成できる1,5-diaminonaphthalene (DAN)をマトリックスに用いた[2]。DANは、0.1%トリフルオロ酢酸/50%アセトリル水溶液に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】

ミオグロビンとBSAのSpiralモードとLinearモードで取得したマスペクトルをそれぞれFig. 1、2に示す。両タンパク質のISDの開裂経路として、主にc-ionのシリーズが観測された。Linearモードを用いるとSpiralモードより全体的に高感度であり、その傾向は、特にm/z 5000以上でより顕著であった(右上の拡大図)。一方、Spiralモードでは高質量分解能・高質量精度での測定が可能であり、Linearモードの情報を補足することができる。

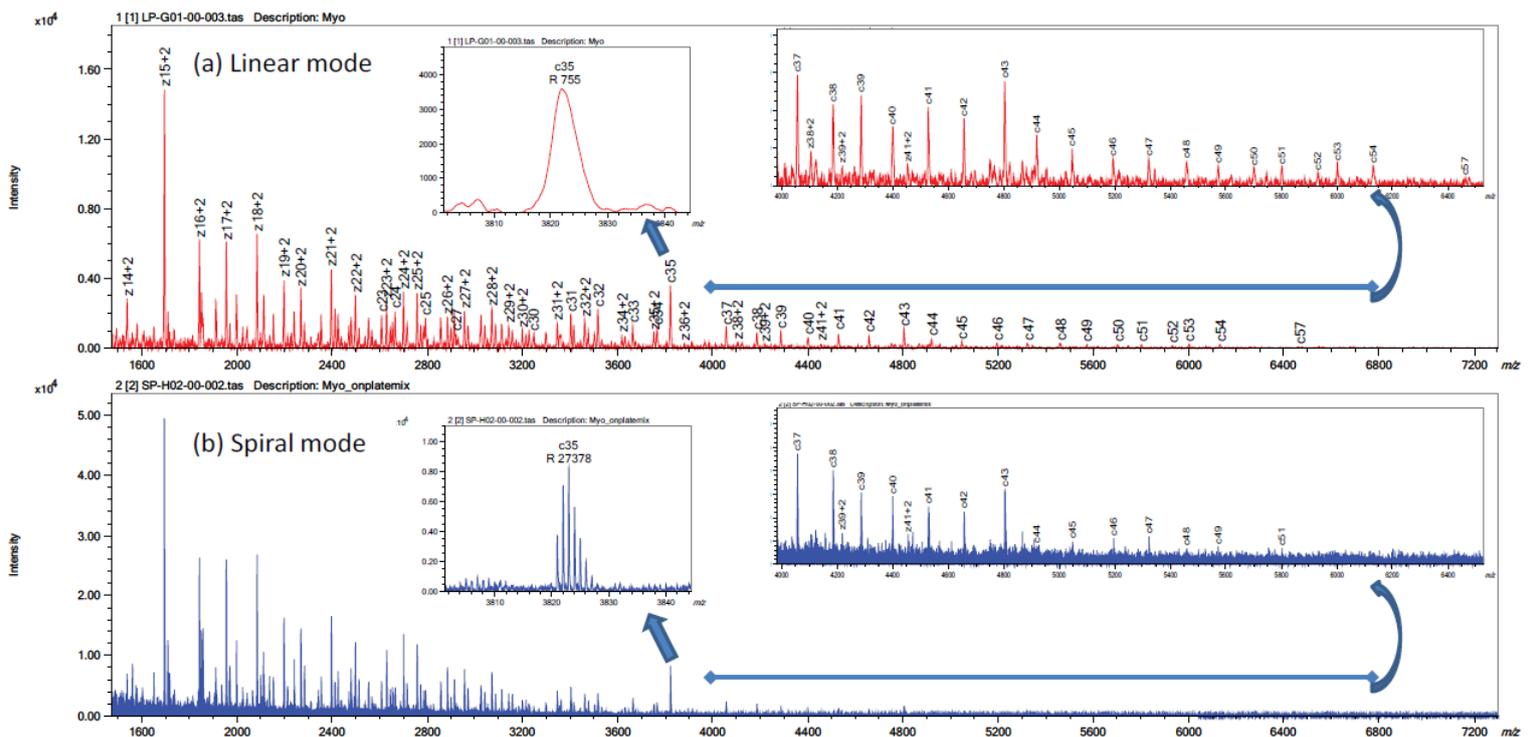


Fig.1 ISD Spectra of myoglobin (MW: 16,952Da) using (a) LinearTOF mode、(b) SpiralTOF mode.

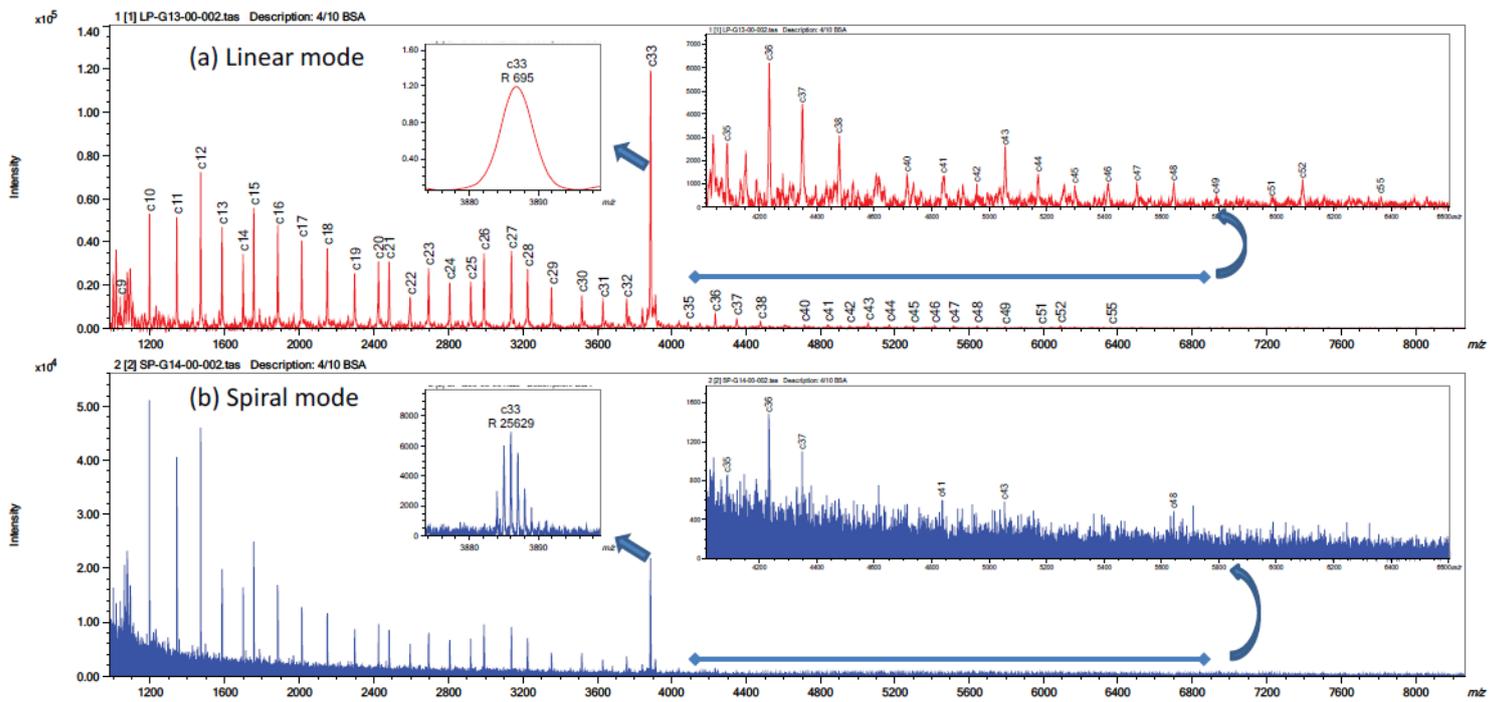
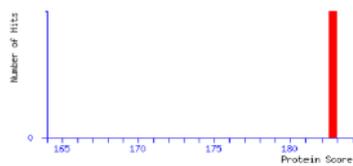


Fig.2 ISD Spectra of BSA (MW: 66,430Da) using (a) LinearTOF mode、(b) SpiralTOF mode.



Peptide Summary Report

| Query     | Observed   | Mr(expt)   | Mr(calc)   | Delta  | Miss | Score | Expect  | Rank | Unique | Peptide    |
|-----------|------------|------------|------------|--------|------|-------|---------|------|--------|------------|
| MYG_FQUBU | 16952.3060 | 16951.2986 | 16951.2579 | 0.0407 | 0    | 183   | 1.1e-18 | 1    | U      | M.GLSDGRBK |

Proteins matching the same set of peptides:  
 MYG\_HORSE Mass: 17082 Score: 183 Matches: 1(1) Sequences: 1(1)  
 Myoglobin OS=Equus caballus GN=MB PE=1 SV=2

Search Parameters

Type of search : MS/MS Ion Search  
 Enzyme : NoCleavage  
 Mass values : Average  
 Protein Mass : Unrestricted  
 Peptide Mass Tolerance : ± 1 Da  
 Fragment Mass Tolerance : ± 2 Da  
 Max Missed cleavages : 1  
 Instrument type : MALDI-ISD  
 Number of queries : 1

次に、Linearモードの結果を用いて、MascotのMS/MS Ion searchでタンパク質のデータベース検索を行った。Fig.3は、Fig.1のピークリストを用いたデータベース検索結果であり、ミオグロビンがヒットした。これは、MALDI-ISDがアミノ酸配列について十分な情報量を持ち、Linearモードの質量精度でもデータベース検索が可能であることを示している。

【まとめ】

本報告では、SpiralTOFとリニアTOFオプションを用いた標準品タンパク質のMALDI-ISDの測定例を報告した。Linearモードを使用することで高分子量のフラグメントイオンを感度よく検出でき、タンパク質のデータベース検索に有利に働くことが考えられる。

Fig.3 Mascot search result for the myoglobin sample.

参考文献

- [1] JEOL Applications note MSTips. 228
- [2] 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.

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出入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部 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 新鈴音ビル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 新横浜千歳観光ビル6階 TEL: 045-474-2181 FAX: 045-474-2180

海外事業所・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 ノルテラザ5階

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

筑波支店 〒305-0033 茨城県つくば市東新井18番1

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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