

5.2 2011年度 信州大学機器・分析技術研究会

質量分析測定例の紹介：orbitrap を用いた MALDI, ESI, APCI によるイオン化

桑田啓子

京都大学大学院工学研究科合成・生物化学専攻 kuwata@sbchem.kyoto-u.ac.jp

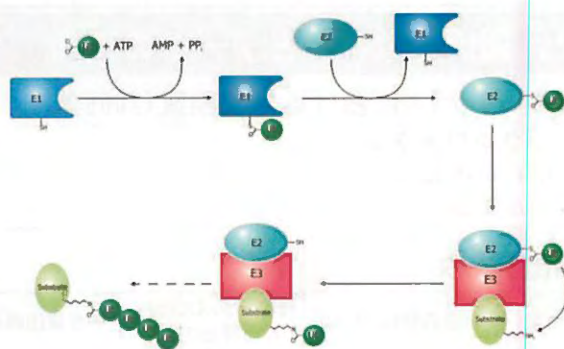
1. 概要

発表者は現在合計 8 台の質量分析計を維持管理する傍ら、有機合成化合物から天然高分子に至るまで幅広い範囲のサンプルの測定を行っている。今回、平成 22 年度に質量分析計が 2 台導入されたことにより測定可能な幅が広がったので HPLC を用いた ESI 測定(LC-MS)および MALDI-orbitrap 測定をここで紹介する。

2. LC-MS(separation of protein using non-porous column)

LC での分離が難しい化合物としてタンパク質が挙げられる。

タンパク質は通常 porous column(C4, C8)または size-exclusion column で測定を行うが、前者はどのようなタンパク質でもほぼ同じ retention time で検出され、後者は分子量での分離が可能ではあるが不揮発性の塩を使うことから MS には向かないこと、塩の替わり有機溶媒を用いることによるタンパク質の変性が懸念されること、さらには分離能が低いと分子量が大きく異なるタンパク質の分離は難しい。今回、ubiquitin system の分析を行うために non-porous column を用いたところ、45kDa と 53kDa のタンパク質を分離可能であった。



3. LC-MS(separation of synthetic compounds)

有機合成化合物のなかでジアステレオマーは分子量が同じであり構造も類似しているためたとえばシリカゲルカラムクロマトグラフィーでの分離は非常に困難である。研究室ではこのようなジアステレオマーを分離するために GPC などを使用し一晩など長時間をかけて分離を行っている。今回ジアステレオマーを porous graphite column を使用したところわずか 10 分間で分離が可能であった。

4. MALDI-orbitrap(identification of phosphate group in peptide)

リン酸化ペプチドのリン酸化部位の同定は MALDI-TOF で行うことは非常に困難であり、ETD を用いた ESI による同定が主流である。MALDI-orbitrap は MALDI-TOF と構造が異なることから、イオン化法が MALDI であってもリン酸化部位の同定が可能であった。また、マトリックスを変更することで in-source decay を行い ETD と同様の c-ion の検出が可能であった。

