

第1章 ペプチドのMS

(A) はじめに

MS/MS (Tandem Mass spectrometry) による

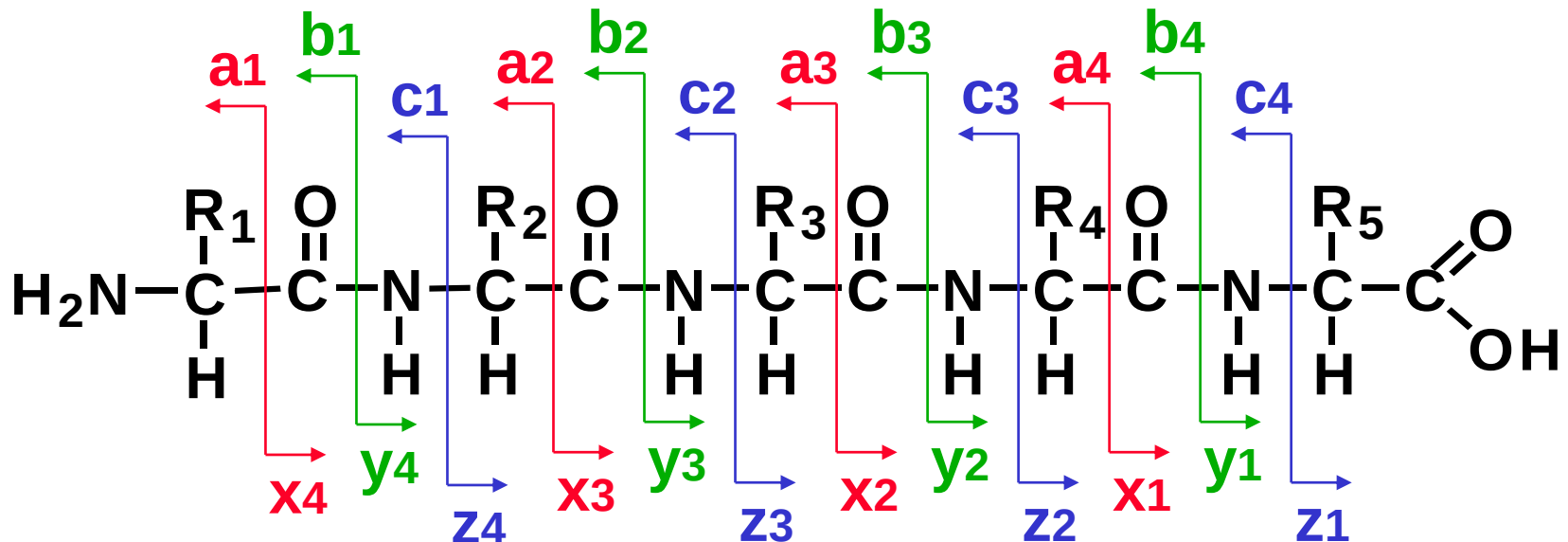
磁場型

四重極型 (Q/Q/Q, triple stage)

Reflector TOF-MS (Voyager MALDI-TOF-MS)

Post-source decay (PSD)

アミノ酸配列の決定ができる



(B) 質量分析計の種類

a) 磁場偏向型質量分析計 **Magnetic Sector Mass Spectrometer**

単収束質量分析計

低分解能

整数の m/z

二重収束質量分析計

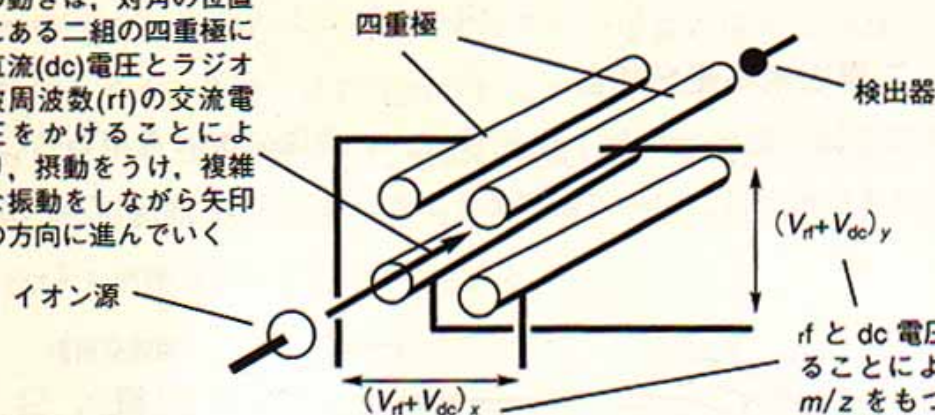
高分解能 → 小数点以下4桁の質量数

b) 四重極型 質量分析計

(**Q-MS**)

Quadrupole Mass Spectrometer

イオンの検出器方向への動きは、対角の位置にある二組の四重極に直流(dc)電圧とラジオ波周波数(rf)の交流電圧をかけることにより、摂動をうけ、複雑な振動をしながら矢印の方向に進んでいく

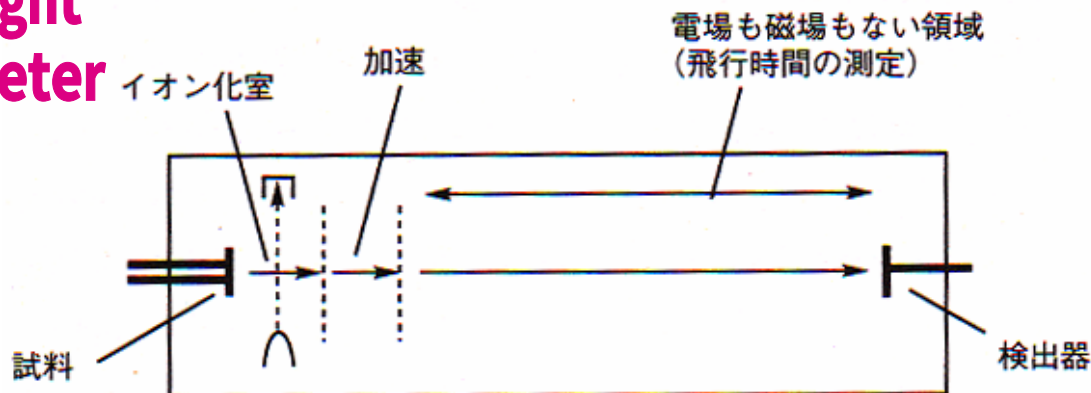


rf と dc 電圧を調整することにより特定の m/z をもつイオンのみを検出器に到達させることができる

c) 飛行時間型質量分析計 (**TOF-MS**) **Time-of-flight Mass Spectrometer**

$$t = L \sqrt{\frac{m}{2zeV}}$$

m が小 → 速い

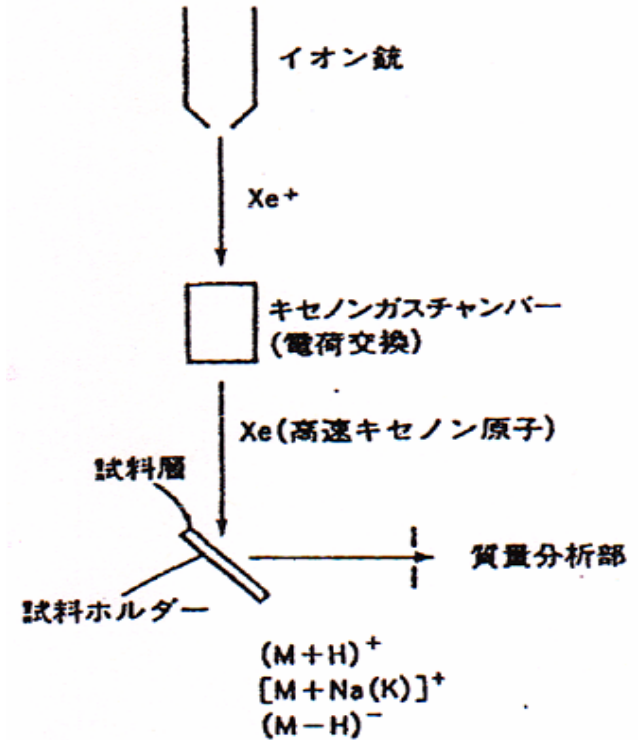


(C) 難揮発性物質、極性物質、 高分子に適用可能なイオン化法

(i) 高速原子衝撃法

Fast atom bombardment (FAB)

試料と液体マトリックス (グリセロール) の混合物に、高速原子 (Xe, Ar) を衝突させる



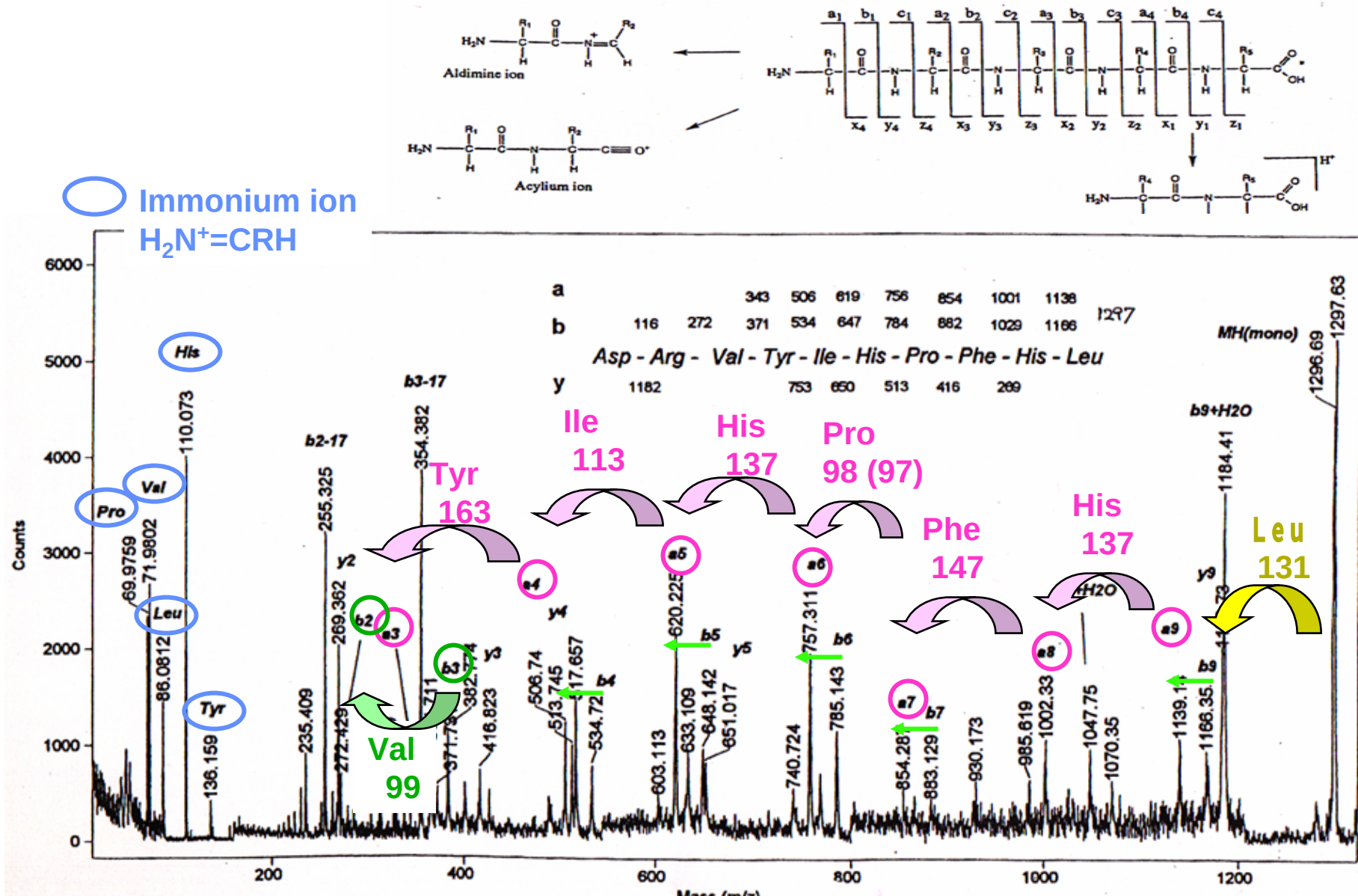
(ii) Matrix assisted laser desorption (MALDI)

試料とマトリックスの混合物 (結晶状態) に、パルスレーザーをあてる

(iii) Field desorption (FD)

(D) TOF-MSによるアミノ酸配列の決定 ①

D-1) PSDによる [1]

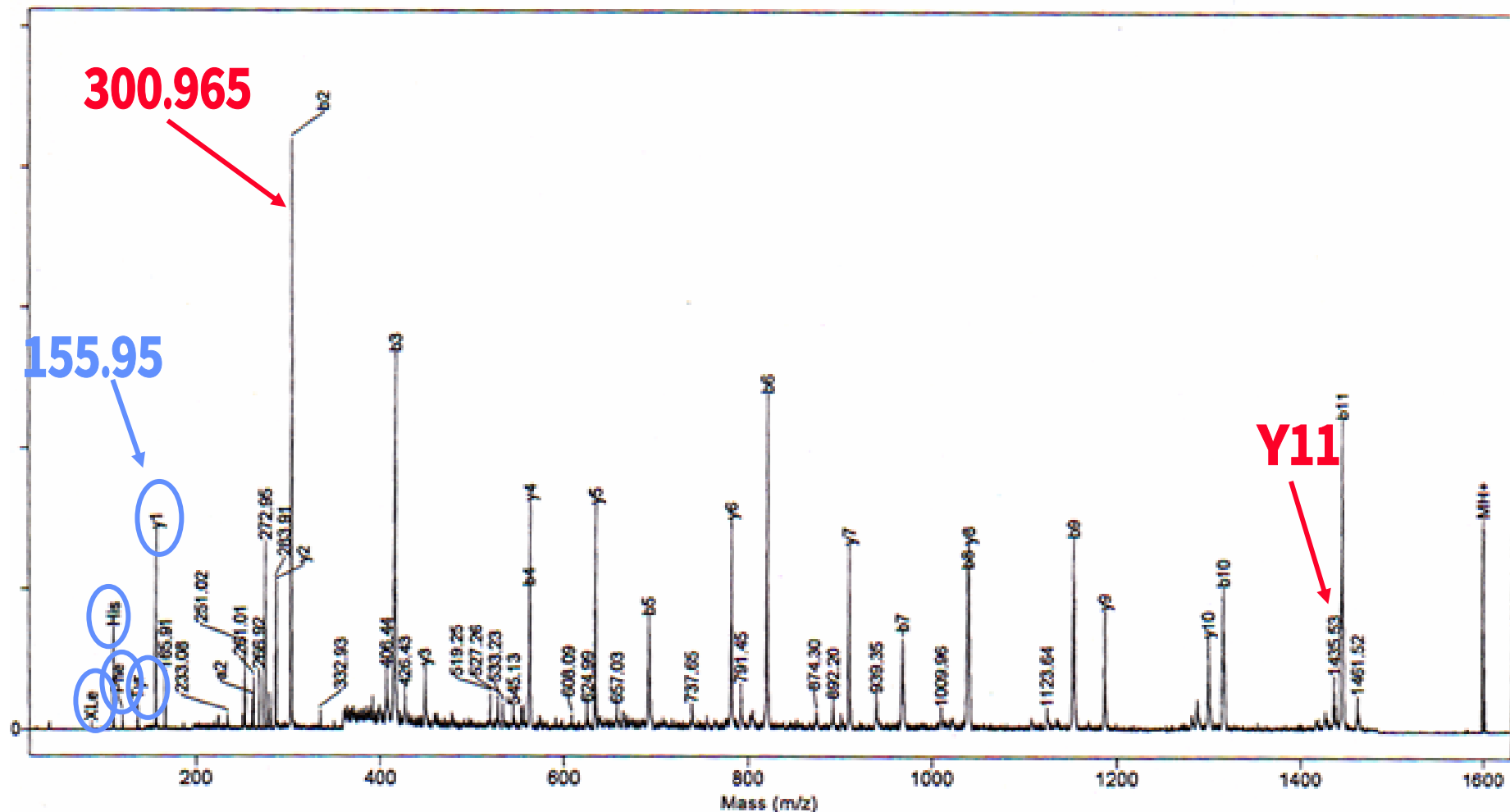


(D) TOF-MSによるアミノ酸配列の決定 ②

D-1) PSDによる [2]

Immonium ion
 $\text{H}_2\text{N}^+=\text{CRH}$

(演習) アミノ酸配列を推定する



(D) TOF-MSによるアミノ酸配列の決定 ③

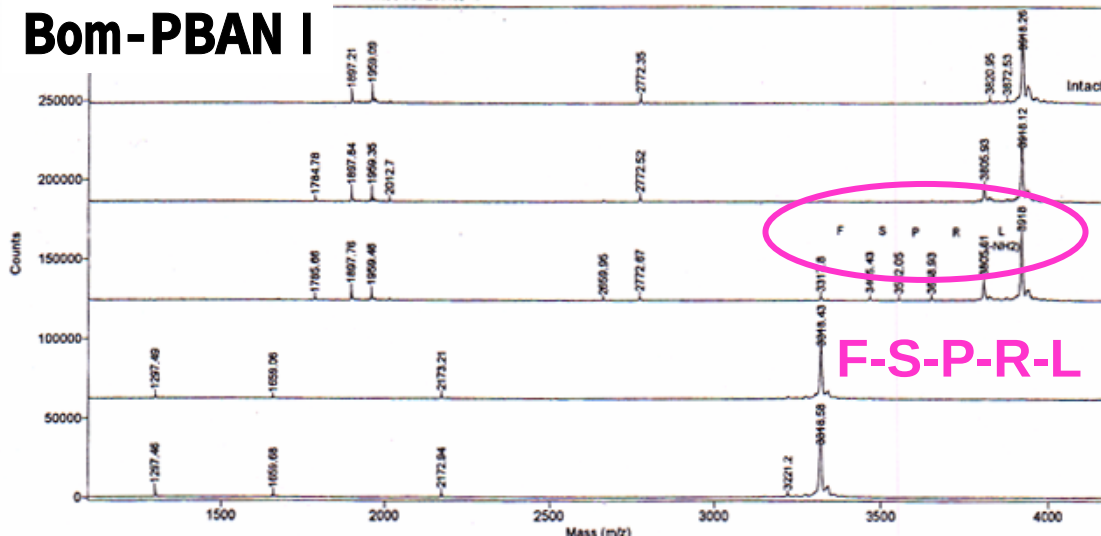
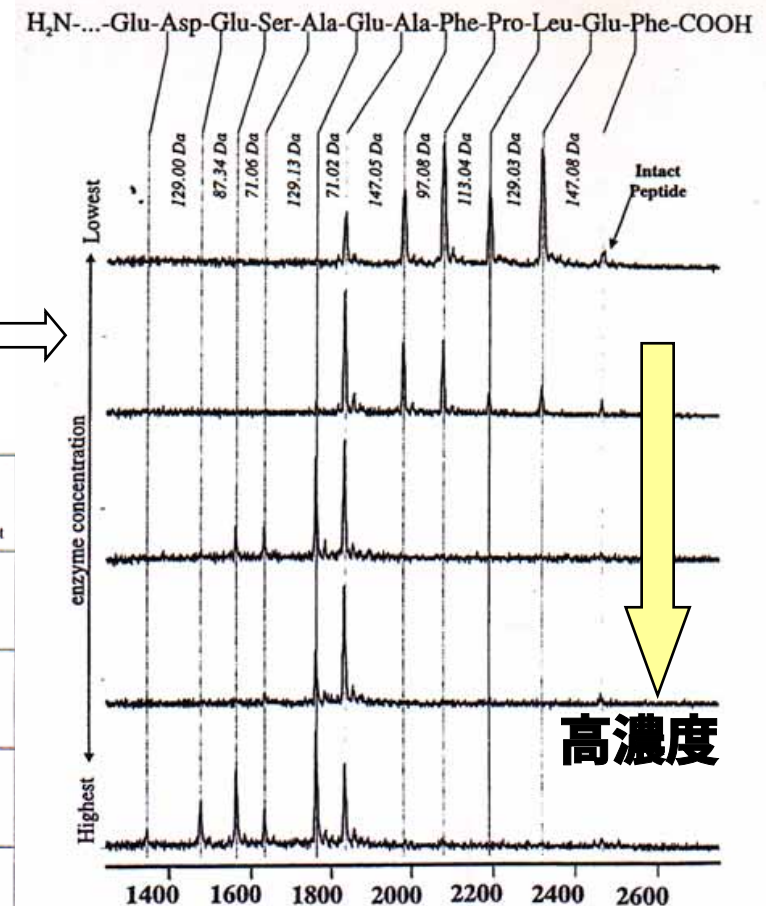
D-2) 酵素 (carboxypeptidase Y) を用いた方法

Patterson *et al.*, 1995. *Anal. Chem.*, 67: 397-3978

ペプチドを金プレート上
異なった濃度のCPY溶液で処理

↓
10分後にマトリックス溶液 (sinapinic acid)
を加えMALDI法にて測定

ACTH (副腎皮質刺激ホルモン) 18-39 →



(E) 分子量のいろいろ

i) Nominal mass (整数質量)

C: 12 H: 1 N: 14 O: 16 S: 32

ii) Monoisotopic mass → monoisotipic molecular weight

天然で存在比の高い同位元素の質量を用いて計算

C: $^{12}\text{C} = 12.0000$ H: $^1\text{H} = 1.0078$ N: $^{14}\text{N} = 14.0031$

O: $^{16}\text{O} = 15.9949$ S: $^{32}\text{S} = 31.9721$

iii) Average mass (平均質量) → average molecular weight
(平均分子量)

天然の安定同位元素の存在比を考慮して計算

C: 12.0111 (^{13}C 1.1%) H: 1.0095 (^2H 0.02%)

N: 14.0067 (^{15}N 0.4%)

O: 15.9994 (^{17}O 0.04%, ^{18}O 0.2%)

S: 32.0666 (^{33}S 0.8%, ^{34}S 4.2%)

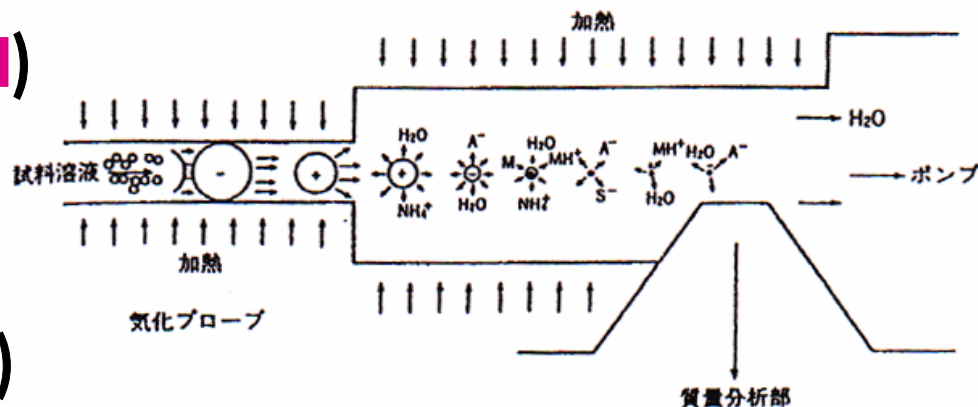
(F) LC-MS用のイオン化法



難揮発性物質、極性物質

(i) Thermospray ionization (TSI)

加熱して噴霧

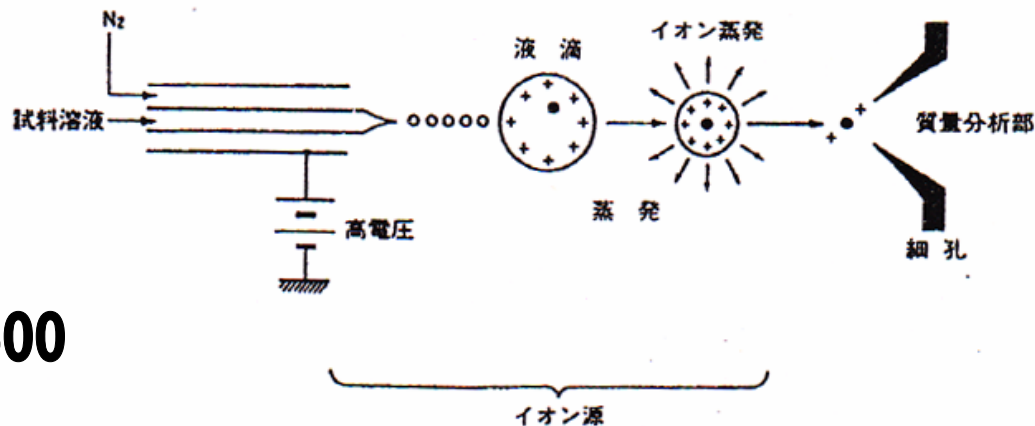


(ii) Electrospray ionization (ESI)

高電解中に噴霧
多価イオンを生成

高分子化合物も分析できる

$M = 10000$, $z = 20$, $m/z = 500$



(iii) 大気圧イオン化法

Atmospheric pressure chemical ionization (APCI)

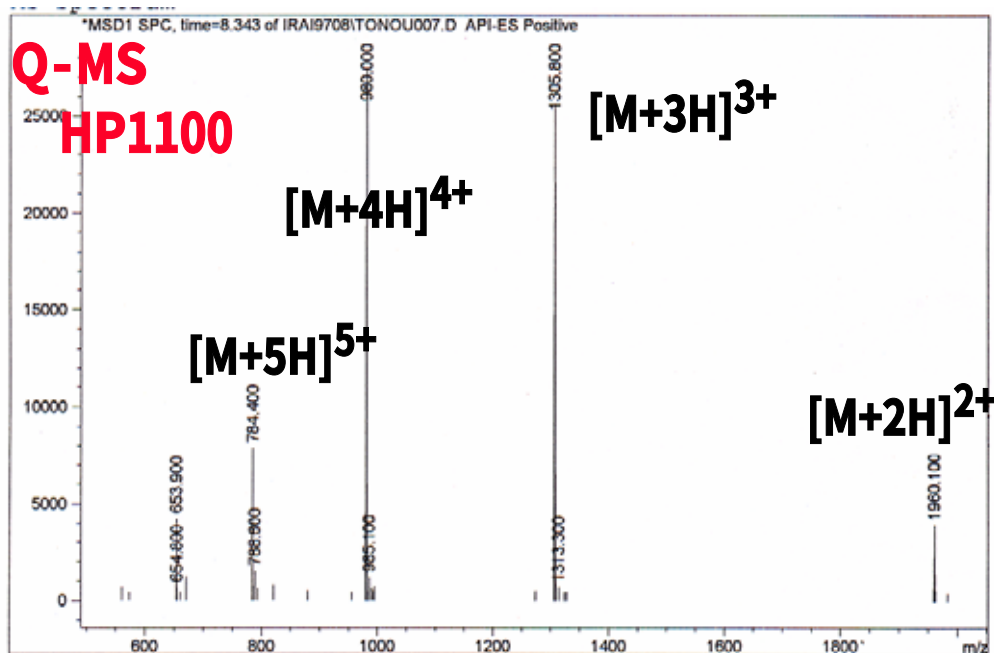
コロナ放電を利用

(G) ESI-マスマスペクトル

Bom-PBAN I

monoisotopic MW: 3914.74

average MW: 3917.28



$$1959.85 \times 2 - 2 = 3917.70$$

$$1306.15 \times 3 - 3 = 3915.45$$

$$980.05 \times 4 - 4 = 3916.20$$

$$784.25 \times 5 - 5 = 3916.25$$

3, 4, 5, 6 価のイオンとすると

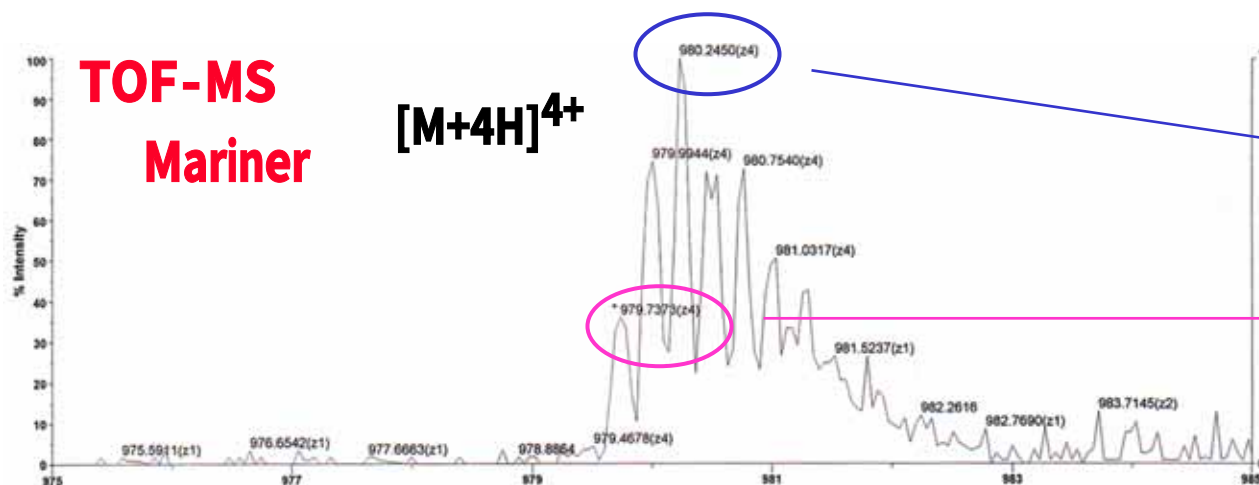
$$1959.85 \times 3 - 3 = 5876.55$$

$$1306.15 \times 4 - 4 = 5220.60$$

$$980.05 \times 5 - 5 = 4895.25$$

$$784.25 \times 6 - 6 = 4699.50$$

収斂しない



$$980.2450 \times 4 - 4 = 3916.98$$

$$979.7373 \times 4 - 4 = 3914.95$$