

液体クロマトグラフ質量分析計(NanoFrontier eLD)の紹介

科学分析支援センター 安武 幹雄, 新美 智久
工学部応用化学科 設楽 浩明

1. まえがき

昨年度、補正予算で科学分析支援センターに日立ハイテック社の液体クロマトグラフ質量分析計, NanoFrontier eLD が導入されました。本稿では、通常の有機化合物の高分解能質量分析について紹介します。



図 1. 設置された nano LC/MS system

2. ESI/MS とは

エレクトロスプレー/イオン(ESI)化法では、イオン化した物質を含む溶液に電圧をかけながらキャピラリーから噴霧した後、溶媒を蒸発させ 1 分子ずつのイオンとすることにより、分子量が数万の物質の質量分析(MS)が可能です。

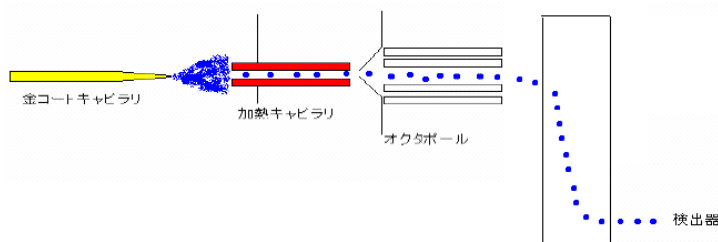


図 2. ESI/TOFMS の原理図

また、nanoLC と ESI/MS を組み合わせることにより、タンパク質を酵素で部分加水分解したペプチドを分離し、ESI 法でイオン化し、1 段目の質量分析をした後、エネルギーをかけ分解すると、種々のフラグメントイオンを生じます。このイオンをさらに 2 段目の質量分析にかけ(MS/MS)、質量/電荷(m/z)の差からペプチドのアミノ酸配列が解析できます。この nonLC-ESI 法では、pmol から 100 fmol の量でタンパク質のアミノ酸配列を解析することができます。

3. 試料の準備, 測定操作

この測定では主に溶媒としてメタノール, アセトニトリルが用いられています。他の溶媒でも測定が可能なものもありますが検出感度, イオン化しにくい等の理由からこの 2 種の溶媒が主に使われています。また, 検出イオンに関しては, カチオン種(一般的に使われている方法)を検出するポジティブモードとアニオン種を検出するネガティブモードの 2 種の測定が可能です。測定する化合物の性質に合わせて測定モードの指定をしなければなりません。2 種のイオン化において試料溶液の濃度が異なりますので以下に従って調整する必要があります。

ポジティブモード: 約 25~100 mg/L のメタノール溶液もしくは, アセトニトリル溶液を準備
(最高でも 500 mg/L (1 mg / 2 mL の溶液) - 装置汚染の可能性大)

ネガティブモード: 約 50~200 mg/L のメタノール溶液もしくは, アセトニトリル溶液を準備
(最高でも 800 mg/L (8 mg / 10 mL の溶液) - 装置汚染の可能性大)

*メタノールやアセトニトリルに対し溶解性の悪い化合物については, センターにご相談ください。

現在のところ測定には、サンプルの直接導入法のみを行っております。その一連の操作を次に示します。

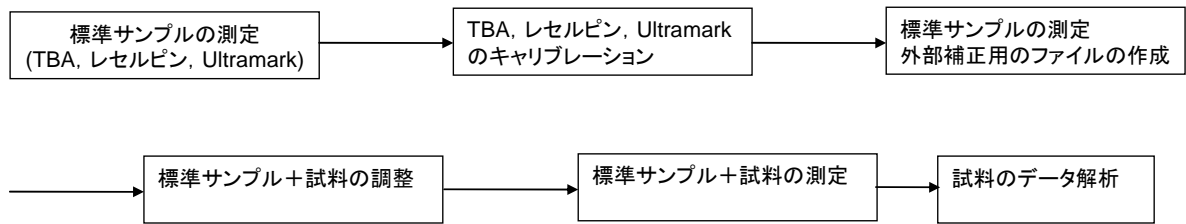


図 3. ESI/MS の一連の操作

図の操作で得られた質量の情報に基づきシグナルの同位体比、質量の値から本来の分子組成で得られる質量からのズレを ppm オーダーで出すことが可能です。

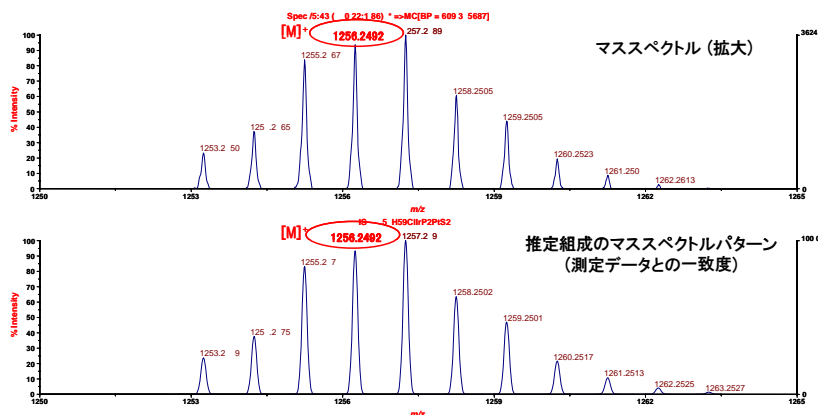


図 4. ESI/MS で得られたデータ

このように本装置は非常に簡単に HRMS(高分解能質量)分析の測定ができます。

また、本装置ではイオントラップが付いていますので MS/MS の測定ができ、分子構造の解析には非常に手助けとなる装置です。

*この装置では、質量の補正として標準サンプルを必要としますが、しばらくはセンターで補充いたしますのでご相談ください。

4. nanoLC-ESI/MS

最後に本装置は、nanoLC との組み合わせによって、タンパク質の解析が行える装置です。また、ESI/MS 装置内には電子捕獲解離 ECD(Electron Capture Dissociation)が備え付けてあるため、より正確なタンパク質の解析が可能となっています。本測定は、教職員のみとなっていますが、学内依頼分析を受け付けているので、ご相談ください。また、タンパク質解析の補助ソフト PEAKS を使った解析ができます。

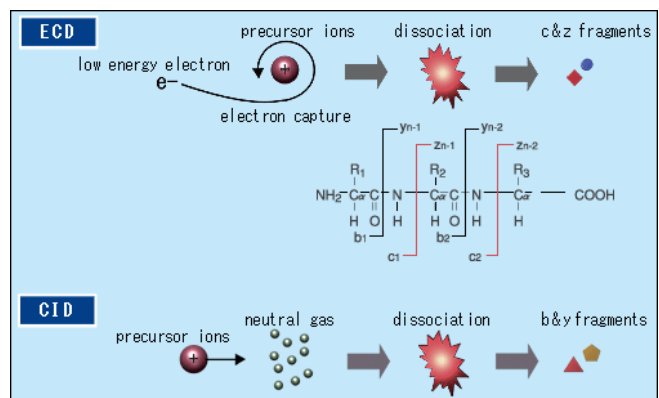


図 5. ECD によるタンパク質の分解