

## 卓上型両極性MALDI-TOFMS MALDI-8030を用いた合成ペプチドの品質管理

S. Salivo<sup>1</sup>、脇華菜  
<sup>1</sup> KRATOS ANALYTICAL LTD.

### ユーザーベネフィット

- ◆ 簡単にシンプルな負イオン測定によるペプチドのクオリティコントロールが可能です。
- ◆ 不安定な官能基をもつペプチドの検出が可能です。
- ◆ 塩付加物が検出されない負イオンモードのため、明快でより解釈しやすいマススペクトルが得られます。

### ■はじめに

合成ペプチドは今日では生化学、免疫学および医学分野でますます急速に使用されています。これらは癌の診断と治療、薬とそのデリバリーシステムの開発、エピトープマッピング、抗体の生産およびワクチンデザインなど、多数の目的に役立っています。

ペプチドの合成はあるアミノ酸の活性化されたカルボキシル基と別のアミノ酸のアミノ基の間の反応を伴う段階的なプロセスで、いわゆるペプチド結合を形成します。未精製のペプチド製品は、典型的には不純物（例：合成中に生成される副産物）が含まれるため、精製工程を必要とします。

合成ペプチドの生成プロセスにおいて、品質管理（quality control；QC）は高い純度の製品を提供するうえで重要な役割を果たします。MALDI-TOFMSは、最終精製ペプチドの分子の同一性およびその純度を確認するために広く使われています。

本稿では、正および負イオンモードにおける合成ペプチドのQC分析のための卓上型両極性リニア専用質量分析計であるMALDI-8030を紹介（図1）。負イオンモードの利点は以下の点で実証されました。

- 不安定な官能基をもつ化学物質種の完全な状態を維持します
- 塩付加物の影響を排除することにより、マススペクトルの解釈を簡単にします

### ■測定条件とサンプル

合成ペプチドのサンプルはBachem（イギリス）のご厚意により提供されました。ここでは2つの異なるシナリオを示します。

- ペプチドD：チロシン残基に結合した2つの不安定なスルホ基を含む
- ペプチドA：半精製もしくは精製型の条件下不安定な官能基を失うことを防ぎ、無傷の物質種の検出が容易になります

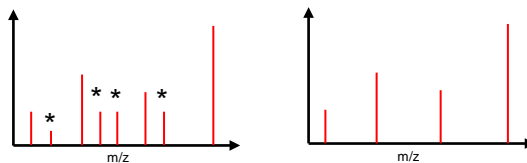
サンプルは装置の極性にに応じて酸 [0.1% トリフルオロ酢酸 (TFA)] あり/なし、アセトニトリル/水 (1:1) で調整しました。

MALDI分析のために、すべてのサンプルは装置の極性にに応じて5 mg/mL α-シアノ-4-ヒドロキシけい皮酸 (CHCA) [アセトニトリル/水 (1:1)、0.1% TFAあり/なし] と共にスポットされました。

### ■ペプチドDの結果

図2はペプチドDについて得られた正および負イオンモードのMALDIスペクトルを示しています。一般的に正イオンモードでの分析は、不安定なスルホ基を失い、正に荷電した物質種を生産します（図2 a）。測定の結果、両方のスルホ基を失ったものに相当する物質種のみが検出されました（ $m/z$  2375.068、理論質量）。

負イオンモードのスペクトル（図2 b）では、2つの不安定なスルホ基が保持されており、インタクトなペプチドの検出に成功し（ $m/z$  2532.966、理論質量）、加えて1つおよび両方のスルホ基を失ったものに対応する物質種（ $m/z$  2453.010 および2373.052、理論質量）も検出されました。検出されたすべての物質種は同位体分離（{ } に示したモノアイソトピックピークの分解能）されていたことに加え、良好な質量精度でした。



**正イオンモード**  
マススペクトルは多様な塩の影響で複雑になる (\*塩付加物を示す)

**負イオンモード**  
マススペクトルはシンプルで解釈しやすい

図1. 合成ペプチドのQC分析のための両極性MALDI-8030

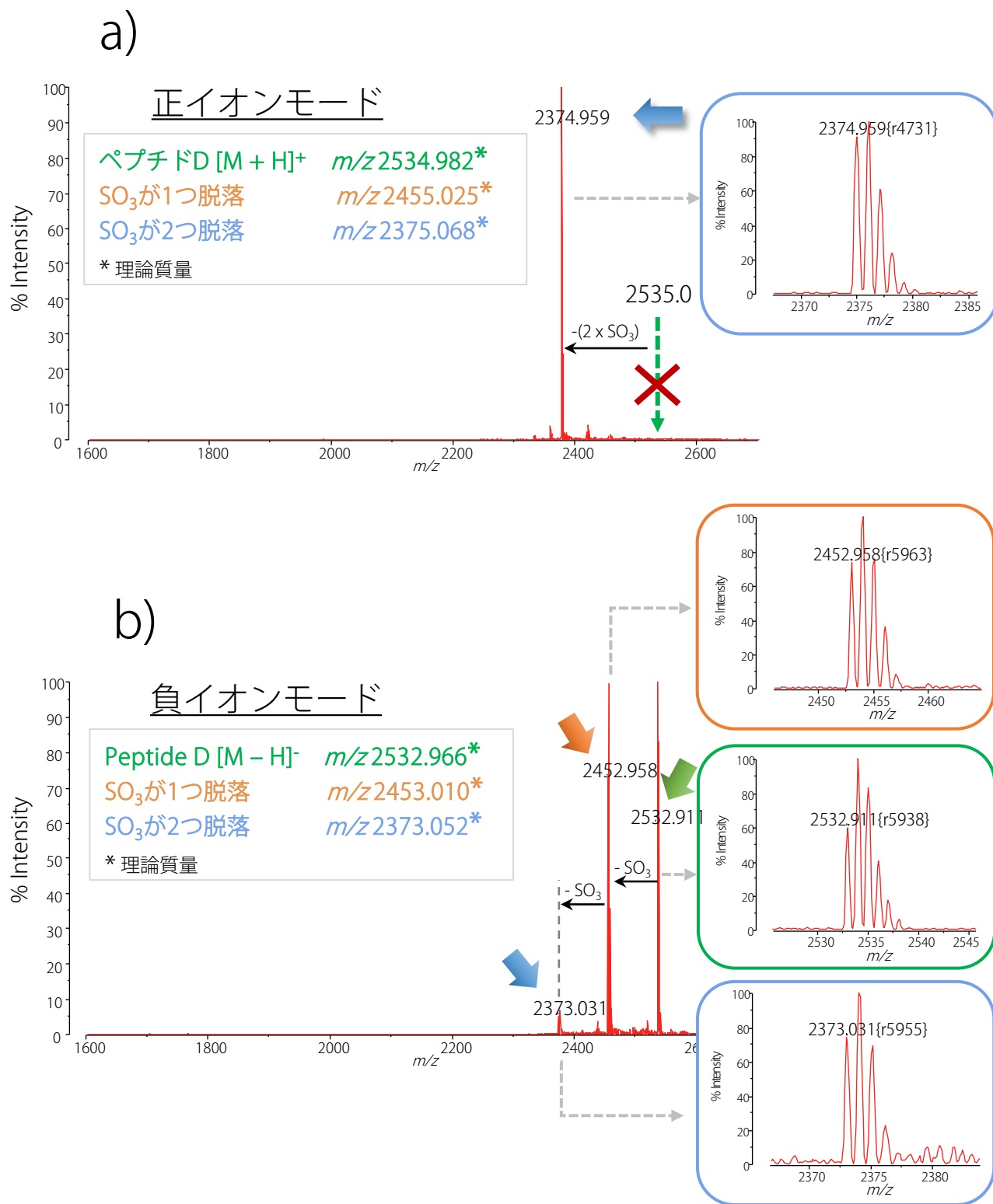


図2.ペプチドDのマスマスペクトル

a) 正イオンモード：両方のスルホ基を失ったものに対応する物質種のみ検出されます。

b) 負イオンモード：1つおよび両方のスルホ基を失ったものに対応する物質種と共に、インタクトな物質種の検出に成功しています。正確に計算したモノアイソトピック質量は左側の挿入図に示しました。検出したモノアイソトピック質量の分解能を {} 内に示しています。

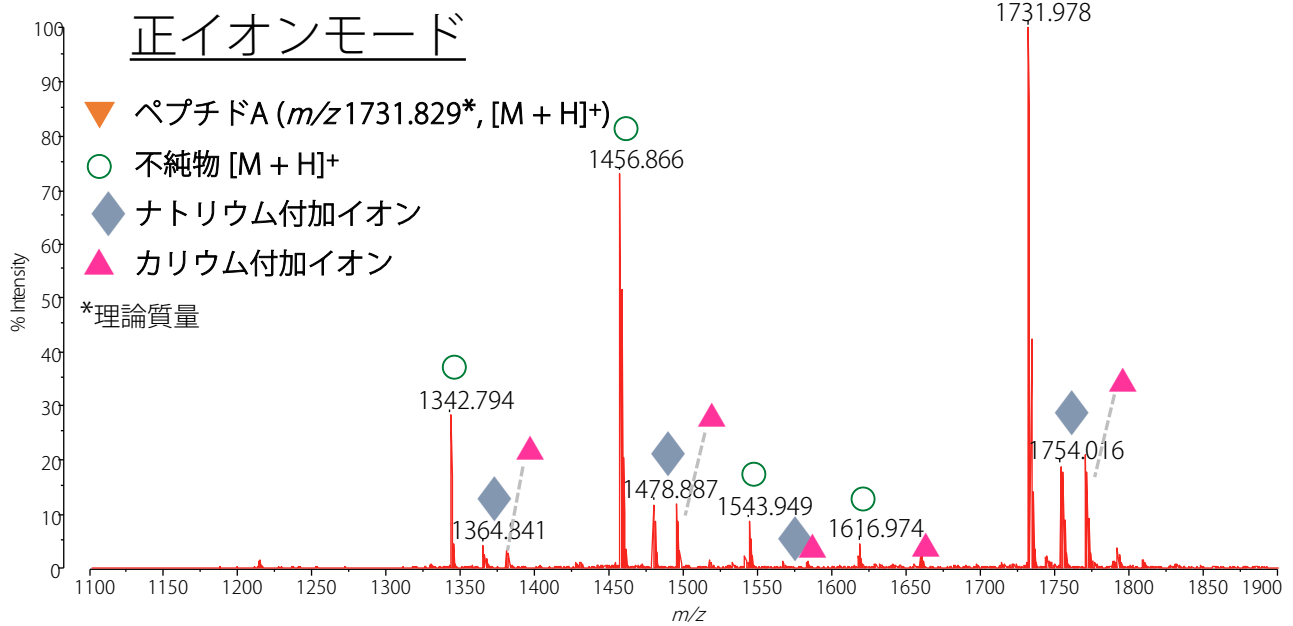
## ■ ペプチドAの結果

ペプチドAは粗生成物の精製の一連の段階に続いて、半精製及び精製型の形態で提供されました。半精製型は相当量の不純物を含んでいる中間体です。図3 a)はペプチドA (半精製型) の正イオンモードのマスマスペクトルを示しています。観察できるように、不純物と最終産物の両方で塩付加物 (ナトリウムとカリウム) が存在し、スペクトルの解釈は複雑になっています。

対照的に負イオンモードのマスマスペクトルは塩付加物がなく、よりクリーンで解釈が容易に見えます (図3 b)。最終産物のペプチドは、両モードで良好な質量精度で検出できました。

ペプチドAの精製型にも同様の検討をおこないました (図4)。この場合も、負イオンモードのマスマスペクトルにおける標的ペプチド生成物の塩付加物の有意な減少により、よりクリーンなスペクトルでした。

a)



b)

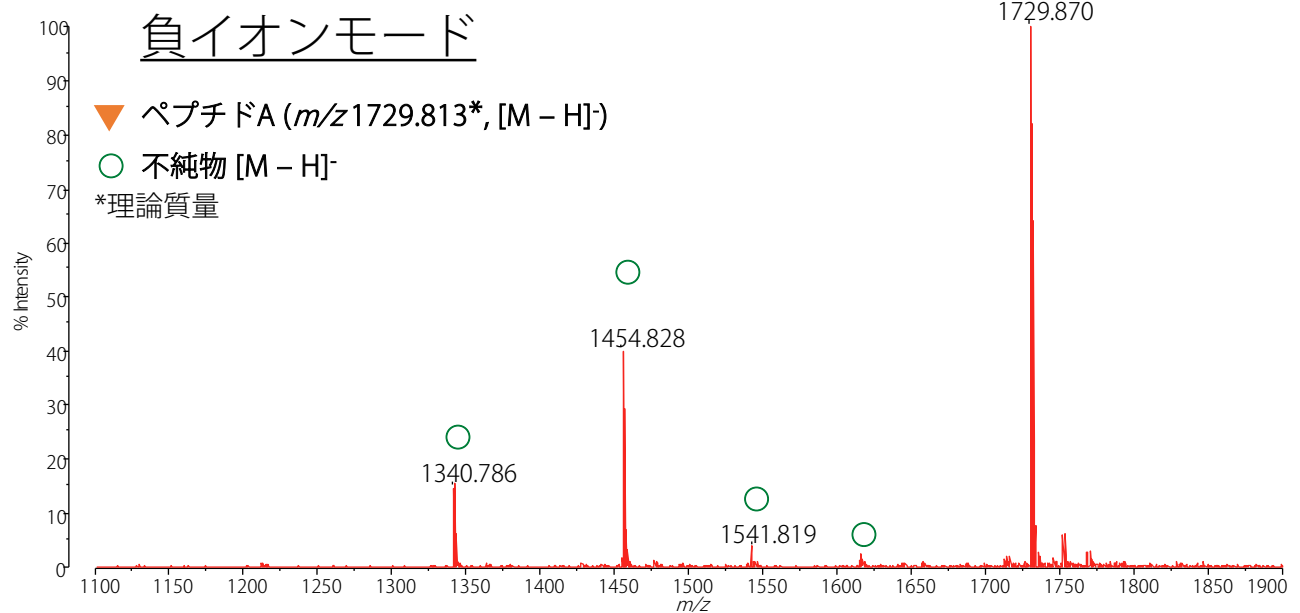


図3 a) ペプチドAの正イオンモードのMALDIスペクトル (半精製型) : スペクトルの解釈は不純物と最終ペプチドの両方で塩付加物シグナルにより複雑になります。

b) ペプチドAの負イオンモードのMALDIスペクトル (半精製型) : 塩付加物シグナルがないため、スペクトルの解釈が容易です。

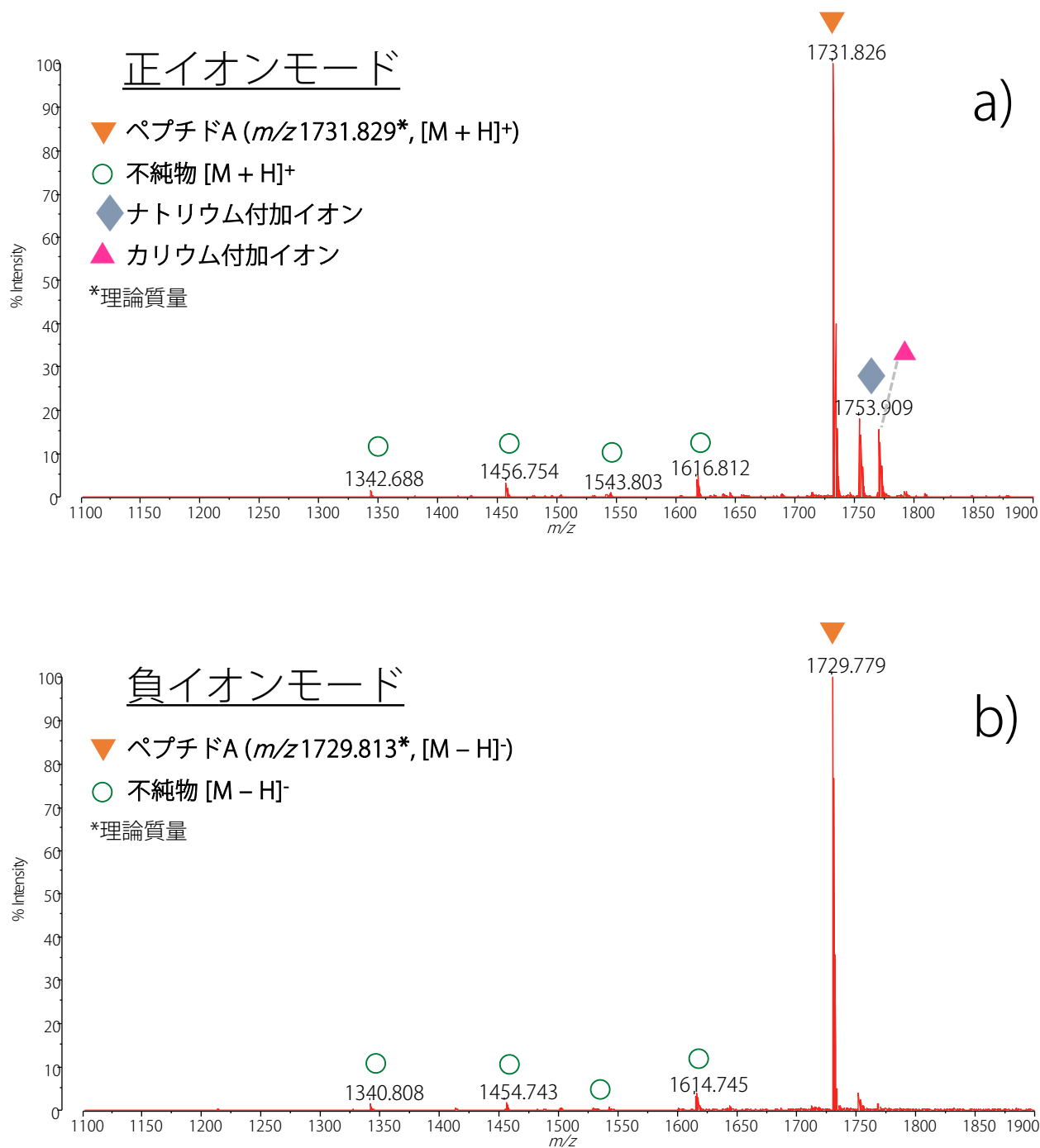


図4 a) ペプチドAの正イオンモードのMALDIスペクトル (精製型): 標的ペプチドが塩付加物と共に検出されます。  
b) ペプチドAの負イオンモードのMALDIスペクトル (精製型): 標的ペプチド種で検出された塩付加物が大幅に減少し、スペクトルがよりクリアになります。

## ■まとめ

このアプリケーションは、合成ペプチドのQC分析において負イオンモードの有用性を示しました。

ペプチドの分析には正イオンモードの検出のほうがより一般的ですが、示された例では負イオンモードは2つの理由でより有用だと証明されました。

- 1) 不安定な官能基を失うことを防ぎ、インタクトな物質種の検出が容易になります。
- 2) 負イオンモードでは塩付加物の生成が有意に減少するため、得られたマスペクトルはよりクリアで解釈しやすくなります。