

# Application News

## No. B73

### MALDI-TOF 質量分析法

## 卓上型 MALDI-TOF MS を用いた リン酸化タンパク質の解析

MALDI-TOF 型質量分析計は、ESI（エレクトロスプレーイオン化）を利用した LCMS と共に幅広い分野で活用されている質量分析計であり、近年は合成物一般や高分子量化合物の簡便な分子量確認やプロファイリング用途として活用されることが多くなってきています。その理由として、このタイプの装置は、1 価イオンが生成し分子量が認識しやすい、質量範囲が広い、試料を乾燥してから測定するため溶媒の選択肢が広い、などの特長があるためです。

一方、ここ数年の社会情勢の変化などから、官庁大学・民間企業を問わず、このような用途の機器に関して、導入コストとランニングコストの双方の低価格化が強く求められてきました。卓上型 MALDI-TOF 質量分析計 MALDI-8020 はこのような市場ニーズに存分に応えることができる新製品です。本製品の特筆すべき点は、性能の要とも言えるフライトチューブが短くなったにも関わらず、従来機種と同等以上の性能を保持していることです。

近年の装置開発は高スペックを目標に推移し、MALDI-TOF 質量分析計の開発においては、MS の高分解能や MS/MS による構造解析機能を持つリフレクトロンモードが注目されてきました。一方、リニアモードはその有用性が古くから知られてきましたが、近年は技術的に大きな進展が見られませんでした。例えばタンパク質の代表的な翻訳後修飾であるリン酸化の検出や、その他不安定な化合物でも分子量の確認にリニアモードが有効であることが知られています。

本アプリケーションニュースでは、卓上型 MALDI-TOF 質量分析計 MALDI-8020 を用いてリン酸化タンパク質の消化物を測定し、リン酸修飾の解析を行った例を紹介します。

Y. Yamazaki

### ■ 卓上型 MALDI-TOF MS MALDI-8020

MALDI-8020 (図 1) は世界最小クラスのコンパクトさ、設置面積を誇るリニア型の MALDI-TOF MS ですが、そのリニア測定モード（正イオン）の性能は、一般的な MALDI-TOF MS の同モードの性能と同等です。200 Hz の固体レーザーと、測定部分の真空度を保ったままサンプルプレートの交換を可能にする機構（ロードロックチャンバー）の採用により、迅速な測定が行えます。

本製品のフライトチューブは 0.85 m ですが、MS 分解能は従来機種に勝るとも劣りません。m/z4000 付近でも同位体分離が可能な実用的な分解能を有しています。

### ■ リニアモードの有用性

リニアモードは高分子量の化合物や不安定な官能基をもつ化合物の測定に有効です。MALDI 法でイオン化した化合物は自由飛行空間で過剰内部エネルギーによる分解を起こすことがあります。このプロセスで生成した分解物は当初の化合物と同じ速度で飛行を続けるため、リニアモードでは同じ分子量として認識されます。他方、リフレクトロンモードではこのような分解物は運動エネルギー依存的に質量分離されるので、それぞれ別の質量として観測されます。そのため、リフレクトロンモードでは MS 分解能・精度が得られる反面、官能基が脱離した成分のシグナルが非常に強くなったり、極端なケースでは分子イオンそのものが観測されないことすらあります。

図 2 に示すように、リン酸化ペプチドのリン酸基は飛行中に脱離しやすく、リニアモードでの測定が適した化合物と言えます。



図 1 卓上型 MALDI-TOF MS MALDI-8020

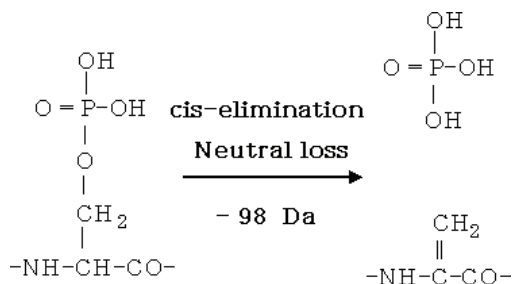


図 2 Ser のリン酸化修飾とニュートラルロス

## ■ リン酸化タンパク質の配列解析例

リン酸化タンパク質であるウシ  $\alpha$  カゼインをトリプシンで消化し、タンパク質換算で約 1 ピコモルの量を薄層した CHCA マトリックス上に滴下、乾燥しました。この消化物を MALDI-8020 のリニアモードにより測定した例を図 3 に示します。Mascot 検索により、 $m/z$ 900 から 2500 の範囲に検出したペプチドの MS から  $\alpha$  カゼインを同定することが出来ました。また、リニアモードの恩恵により、複数のリン酸ペプチドが検出され、データベース検索により修飾部位の情報も得ることができました (図 4)。これらの結果は本装置が消化ペプチドの解析に十分な MS 分解能を維持していることによります。もちろん、いかに MALDI-8020 が優秀なリニアモード専用機とはいえ、プロテオーム解析のような大規模・網羅的解析に適しているとは言えません。しかし、非オミクスの手法により単離精製されたタンパク質を同定したり、その翻訳後修飾を解析する上で、本装置により有用な情報を迅速に得ることができると考えられます。

## ■ まとめ

卓上型 MALDI-TOF MS MALDI-8020 による配列解析を行い、より大型の MALDI-TOF MS と遜色ないデータが得られ、リン酸化タンパク質同定やリン酸化部位解析の一助となることが示されました。

近年の MALDI-TOF MS は、ハイスpekク化と同時に装置の大型化や複雑化が進んだため、MALDI の用途の多くを占めるリニアモードを用いた測定ニーズに対してはオーバースpekクで、かつ、サイズや導入/維持コスト等の面から導入のハードルが高いという側面もありました。

世界最小クラスのコンパクトさを誇るリニア型の MALDI-TOF MS である MALDI-8020 は、リニアモードを用いたタンパク質分析の測定ニーズを満たす製品として、今後の展開が期待されます。

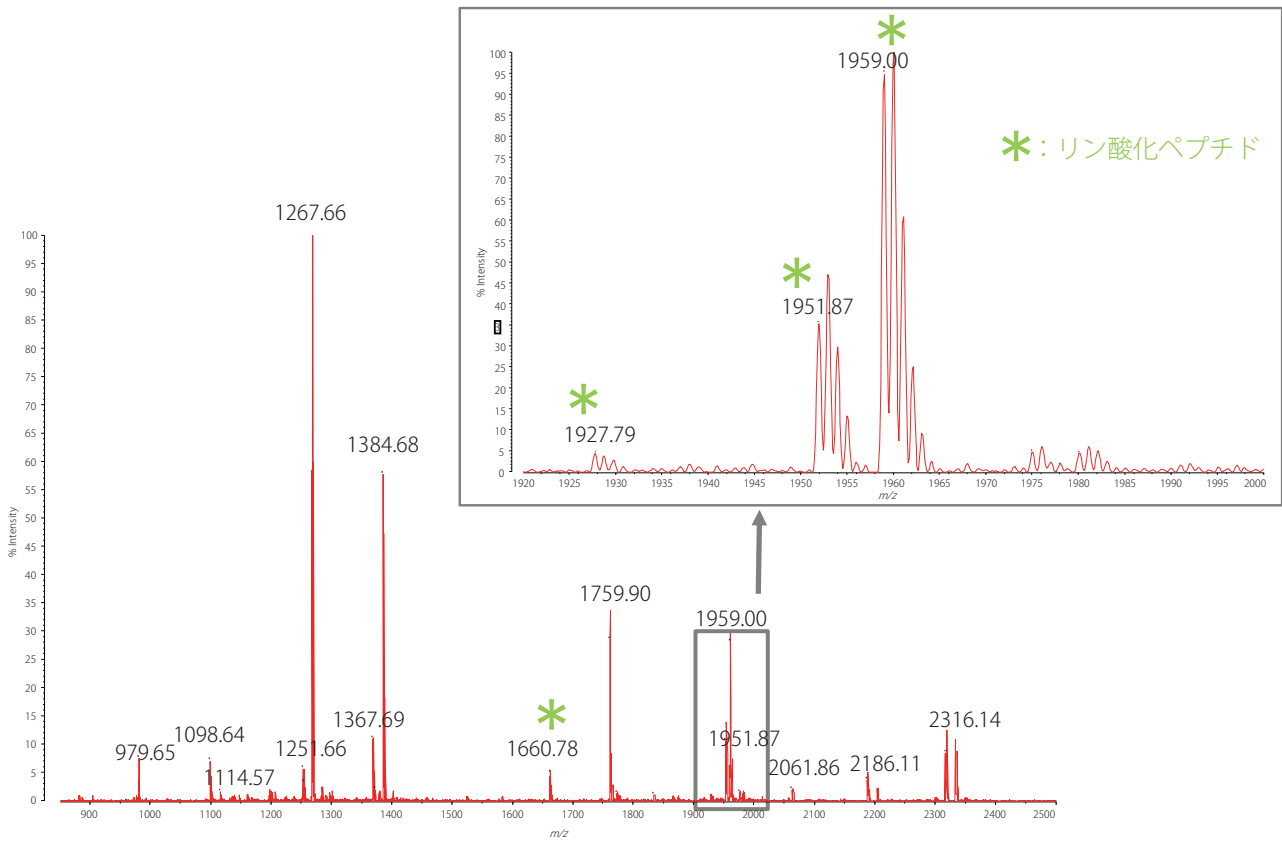


図 3  $\alpha$  カゼインのトリプシン消化物のマスペクトル

Start - End	Observed	Mr (expt)	Mr (calc)	Delta M	Peptide
2 - 18	1959.0000	1957.9927	1958.1515	-0.1588 1	M.KLLILTCLVAVALARPK.H + Phospho (ST)
23 - 37	1759.9000	1758.8927	1758.9377	-0.0449 0	K.HQGLPQEVLENLLR.F
38 - 49	1384.6800	1383.6727	1383.7227	-0.0500 0	R.FVVPFPEVFGK.E
58 - 73	1927.7900	1926.7827	1926.6843	0.0985 0	K.DIGSESTEDQAMEDIK.Q + 2 Phospho (ST)
106 - 115	1267.6600	1266.6527	1266.6972	-0.0445 0	R.YLGLYQLLR.L
119 - 134	1951.8700	1950.8627	1950.9452	-0.0824 1	K.YKVPQLEIVNSAEER.L + Phospho (ST)
121 - 134	1660.7800	1659.7727	1659.7869	-0.0142 0	K.VPQLEIVNSAEER.L + Phospho (ST)
148 - 166	2316.1400	2315.1327	2315.1296	0.0031 0	K.EPMIGVQELAYFYPELFR.Q

図 4 MS/MS Ion Search 結果

株式会社 島津製作所

分析計測事業部  
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行：2017年8月

島津コールセンター ☎0120-131691  
(075) 813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。  
改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。