

Application News

No. C159

探針エレクトロスプレーイオン化質量分析計

化学反応のリアルタイム追跡

化学分野において、化学合成反応の反応過程や反応速度を追跡することは、どのような反応が生じているかを正確に把握する上で非常に重要です。

PESI (Probe Electro Spray Ionization) は探針を用い、試料を一定の周期でサンプリングし、針先に高電圧を付与することにより、サンプリングした対象成分をイオン化させる直接イオン化法 (図 1) であり、クロマトグラフを介さず迅速に試料の変化を追跡できます。

PESI を質量分析計と組み合わせた探針エレクトロスプレーイオン化質量分析計 DPiMS-2020 を用いることで、分析対象成分の分子量情報の変化をリアルタイムに追跡することで、化学反応の進行を正確に把握することが可能となります。

本アプリケーションニュースでは、サンプルプレート上で生じさせたペプチド保護基の脱保護反応を DPiMS-2020 により、リアルタイムで分析した結果についてご紹介します。

T. Murata

■ ペプチドの脱保護反応

Fmoc-Tyr(tBu)-OH (N-(9-Fluorenylmethoxycarbonyl)-O-tert-butyl-L-tyrosine) 23.0 mg を DMF 5 mL に溶解した溶液 (溶液①) とピペリジンと DMF を 1:4 で混合した溶液 (溶液②) を混合することで、室温下において Fmoc 基の脱保護反応が生じます (図 2)。

PESI 溶液分析で用いる小容量 [10 μ L] サンプルプレートに溶液①および溶液②をそれぞれ 4.5 μ L 注入し、脱保護反応を生じさせ、その反応過程をリアルタイムで分析しました。

PESI 探針の駆動条件を表 1 に、質量分析計の分析条件を表 2 に示します。

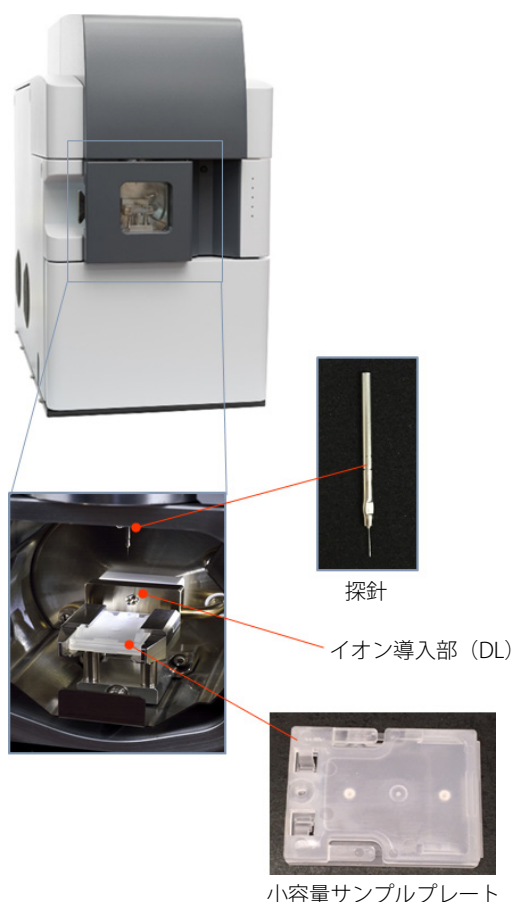


図 1 DPiMS-2020

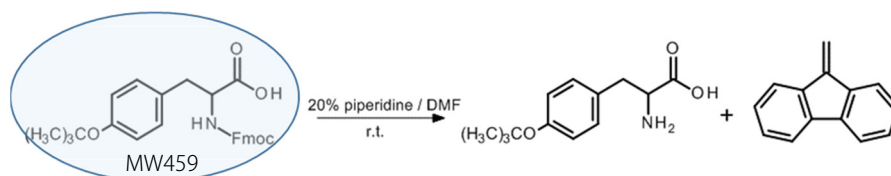


図 2 Fmoc-Tyr(tBu)-OH の脱保護反応

表 1 PESI 駆動条件

イオン化位置	: -37 mm
イオン化停止時間	: 100 msec
サンプル採取位置	: -46 mm
サンプル採取停止時間	: 50 msec
探針速度	: 250 mm/s
探針加速度	: 0.63 G

表 2 質量分析計 分析条件

DL 温度	: 250 $^{\circ}$ C
ヒートブロック温度	: 50 $^{\circ}$ C
インターフェイス電圧	: -2.45 kV (ESI - Negative mode)
スキャンスピード	: 5,000 u/sec

■ 反応過程のリアルタイム追跡

スキャンにより得られたマススペクトルから、Fmoc-Tyr(tBu)-OH のネガティブイオン強度が減衰する様子を追跡することで、脱保護反応を 0.1 min 間隔でリアルタイム追跡することを可能としました。図 3 に溶液混合 3 分後から 4.5 分後までの間で Fmoc-Tyr(tBu)-OH のネガティブイオン強度が減衰している様子を示します。

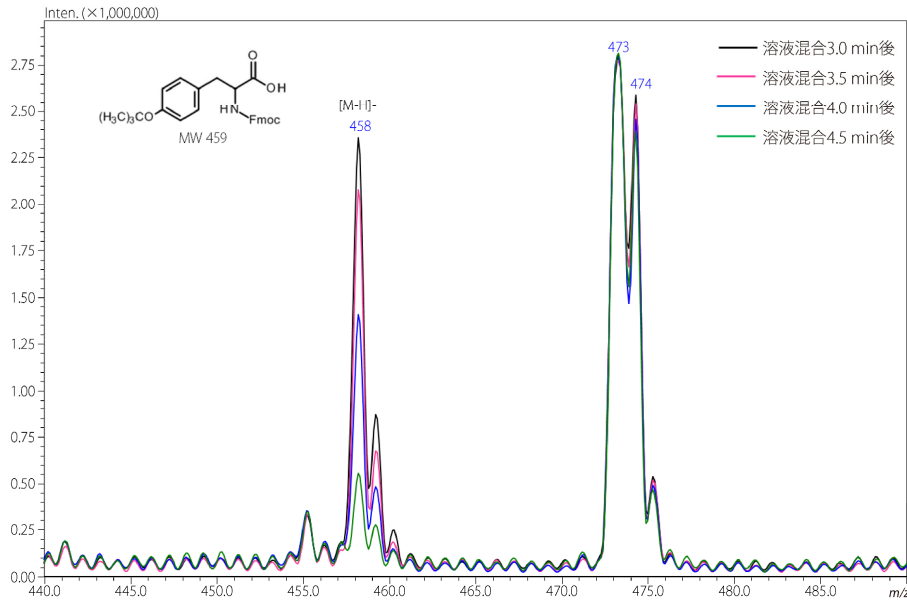


図 3 脱保護反応の時系列マススペクトル

■ 揮発によるサンプリング量減少の影響

サンプルプレート上において 2 種溶液を混合し、生じる反応の追跡を実施していますが、高温に設定された DL 直下にサンプルプレートが配置されているため、分析時間の経過とともに溶液の揮発が生じ、溶液量が減少する可能性が考えられます。これにより、探針の溶液サンプリング量が減少し、イオン強度が減衰している可能性があります。この影響を打ち消し、脱保護反応の進行によるイオン強度の減衰のみを追跡するため、 m/z 474 のイオンを内部標準ピークとし、 m/z 458 との強度比を溶液混合後の経過時間とプロットすることで、溶液混合後に反応が進む速度を求めました (図 4)。その結果、脱保護反応が進む様子をリアルタイムで追跡することができました。

脱保護反応過程 (溶液混合 3 分後～5 分後; 0.1 分ごと)

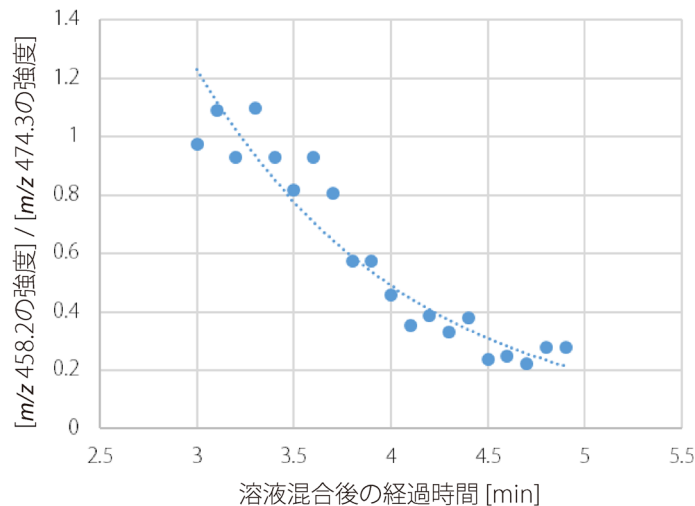


図 4 脱保護反応の時系列変化

謝辞

データ取得及び試料調製について、ご助言を頂きました国立大学法人名古屋大学大学院 医学系研究科 財津桂 准教授、林由美 助教に厚く御礼申し上げます。

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7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。