

Application News

No. B69

MALDI-TOF 質量分析法

卓上型 MALDI-TOF MS を用いた In-Source Decay によるタンパク質の 配列解析

MALDI-TOF 質量分析計は、タンパク質の分子量測定や同定に盛んに用いられています。タンパク質の同定を質量分析計で行うためには、通常、前処理としてトリプシン消化を行う必要がありますが、単離精製されたタンパク質であれば、イオン源内におけるフラグメンテーション (ISD, In-Source Decay) により生じたイオンを検出することにより、トリプシン消化を行うことなく、インタクトのタンパク質の配列解析を行うことが可能です。

MALDI によるタンパク質の分子量測定を行うには通常シナピン酸という試薬 (マトリックス) を用いますが、ISD による配列解析を行う場合には、1,5-diaminonaphthalene (DAN) をマトリックスとして使用します。ISD により生じたフラグメントイオンを Mascot 等のデータベース検索にかけることにより、タンパク質同定を行うことができます。また、フラグメントイオンの質量に基づき取得したアミノ酸配列情報をホモロジー検索することによって、データベース検索ではヒットしないタンパク質の推定を行うことも可能です。

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、タンパク質の分子量測定と ISD による配列解析を行った例を紹介します。

K. Shima

■ 卓上型 MALDI-TOF MS MALDI-8020

MALDI-8020 は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。

■ タンパク質の分子量測定例

250 フェムトモル (約 17 ng) のウシ血清アルブミン (BSA) をシナピン酸 (10 mg/mL、50% アセトニトリル水溶液 / 0.1% トリフルオロ酢酸水溶液) と混合し、MALDI-8020 のリニアモードにより測定した例を図 2 に示します。 m/z 66430 に BSA の一価のプロトン化分子のピークが S/N100 以上で検出されています。

この測定例でも一部示されているように、リニアモードの感度、質量精度、分解能等のスペックは、一般的な MALDI-TOF MS の同じモードと比べても遜色ありません。



図1 卓上型 MALDI-TOF MS MALDI-8020

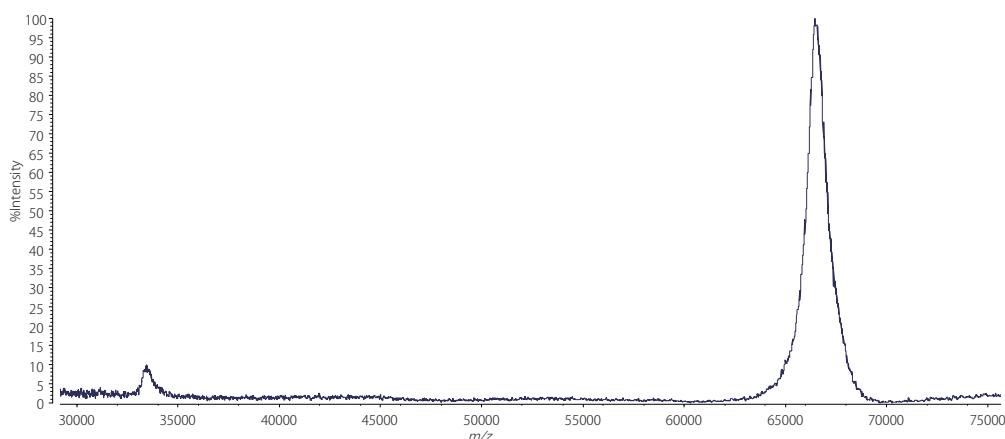


図2 微量タンパク質 (ウシ血清アルブミン) のマススペクトル

■ タンパク質のISDによる配列解析例

5ピコモルのBSAをDAN(10mg/mL、50%アセトニトリル水溶液/0.1%トリフルオロ酢酸水溶液)と混合し、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。ISDにより生じた、BSAのN末端のフラグメントイオンであるc系列のイオンc9~c44(c34、c39、c42を除く)が検出されています。

また、図3のマスペクトルについて、あるcイオンをプリカーサイオンとして得られたMS/MSと仮定することにより、トリプシン消化ペプチドのMS/MSと同様にデータベース検索によるタンパク質の同定が可能です。図3のフラグメントイオン情報について、C33イオン(m/z 3886)を擬似的にプリカーサイオンとし、Instrument typeはMALDI-ISDを選択して、Mascot(Matrix Science)のMS/MS ion searchによるデータベース検索を行いました。データベース検索の結果、ウシ血清アルブミンが最上位候補としてヒットしました(図4)。

■ まとめ

卓上型MALDI-TOF MS MALDI-8020が、より大型のMALDI-TOF MSと同様に、タンパク質の分子量測定やISDによる配列解析を行え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。

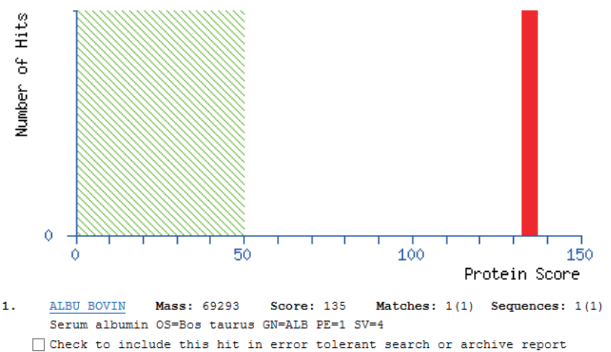


図4 MS/MS Ion Search 結果

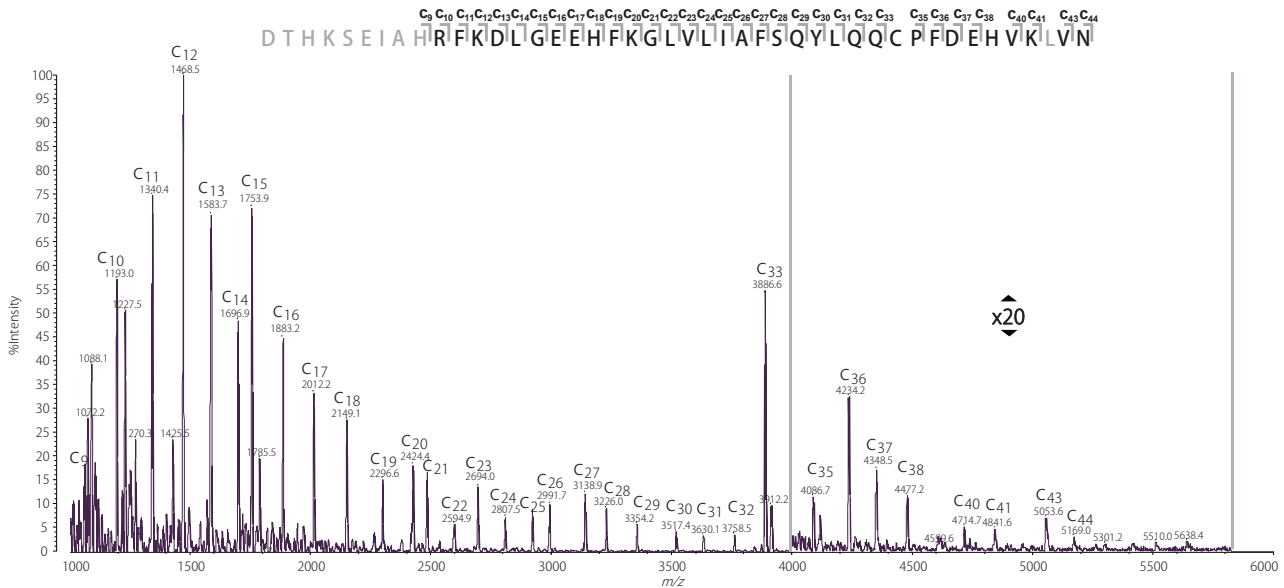


図3 ウシ血清アルブミンのISDによる配列解析