

Application News

No. B74

MALDI-TOF 質量分析法

卓上型 MALDI-TOF MS を用いた 高質量タンパク質の検出

今日、タンパク質解析への MALDI-TOF MS の応用は、ライフサイエンス分野では良く知られているところです。この分野で歴史のある分析法、SDS 電気泳動やサイズ排除クロマトグラフィーは時間を要し、分子量測定精度が低いなどの短所があります。より正確な分子量情報を提供する MALDI-TOF MS は、タンパク質の一次構造の解析のための有力なツールとなっています。さらに、近年はフェムトモルおよびサブフェムトモルレベルでのタンパク質の分析がしばしば必要とされ、MALDI-TOF MS の高感度測定に対する期待は高いものがあります。

MALDI-TOF MS の質量範囲は原理的に無制限ですが、実用上においても低質量から抗体など高質量の分子まで完全に網羅することができます。モノクローナル抗体 (図 1 参照) は、診断や治療目的に応用されており、その開発と品質管理のプロセスでは迅速かつ信頼性の高い分析方法を使用することが非常に重要です。

ここでは、ハイスループットかつ高感度にタンパク質を検出できる卓上型 MALDI-TOF MS (MALDI-8020、図 2) の能力を示します。

S. Salivo (Y. Yamazaki)

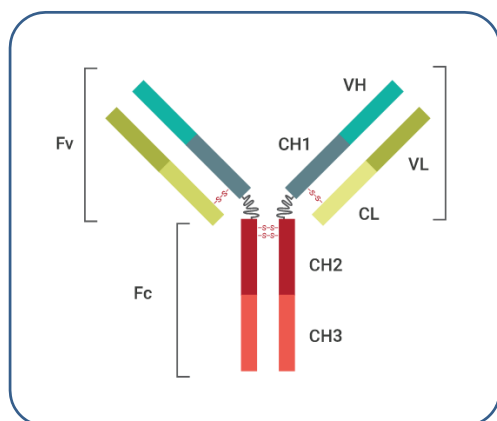


図 1 一般的な抗体の構造

■ サンプル調整と測定条件

ウシ血清アルブミン (BSA) および免疫グロブリン A (IgA) は Sigma-Aldrich から購入した市販品を使用しました。これらは、それぞれ 500 fmol/μL および 20 pmol/μL の濃度で調製しました。サンプル溶液を MALDI マトリックス (シナピン酸、20 mg/mL、1:1 アセトニトリル/0.1% トリフルオロ酢酸水溶液) と混合し、分析しました。

データ取得は、本装置の最大レーザー繰り返し速度 (200 Hz) でリニアモード (正イオン) で行いました。1 プロファイル当たり 50 ショットの設定で、200 プロファイルを積算し、その平均値を MS スペクトルとして得ました。



Tuning	linear
Polarity	positive
Laser rep. rate	200 Hz
Accumulation rate (shots/profile)	50
Profiles	200

卓上型 MALDI-TOF MS
MALDI-8020

図 2 卓上型 MALDI-TOF MS MALDI-8020

MALDI-8020 の感度を示すために、図 3 に BSA のマススペクトルを示します。一価 (約 66 kDa)、二価 (約 33 kDa) および三価 (約 22 kDa) のイオンが、良好な S/N 比で観測され、その分解能は通常のリニアモードと遜色ないものでした。

図 4 に IgA のマススペクトルを示します。約 160 kDa と予想される一価の質量は、二価イオン (約 80 kDa) と共に観察されました。約 54 kDa で検出されたシグナルは、重鎖の質量と一致しました (約 55 kDa 予想)。

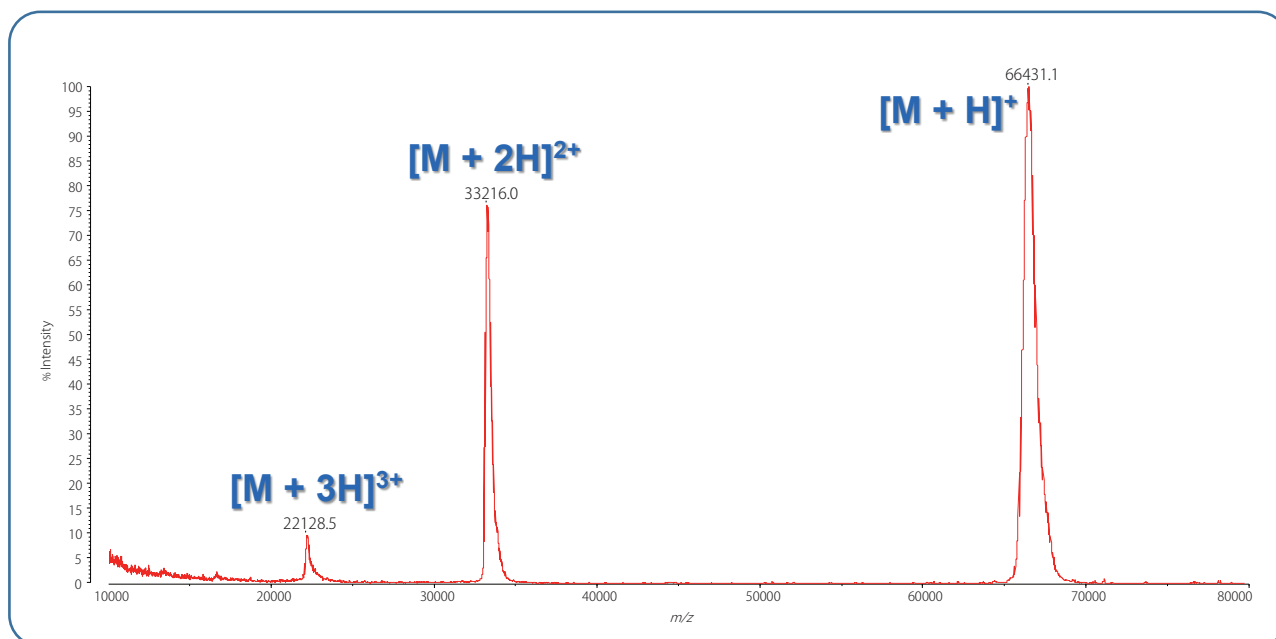


図3 BSA のマススペクトル (500 fmol/ μ L; 250 fmol on-target)

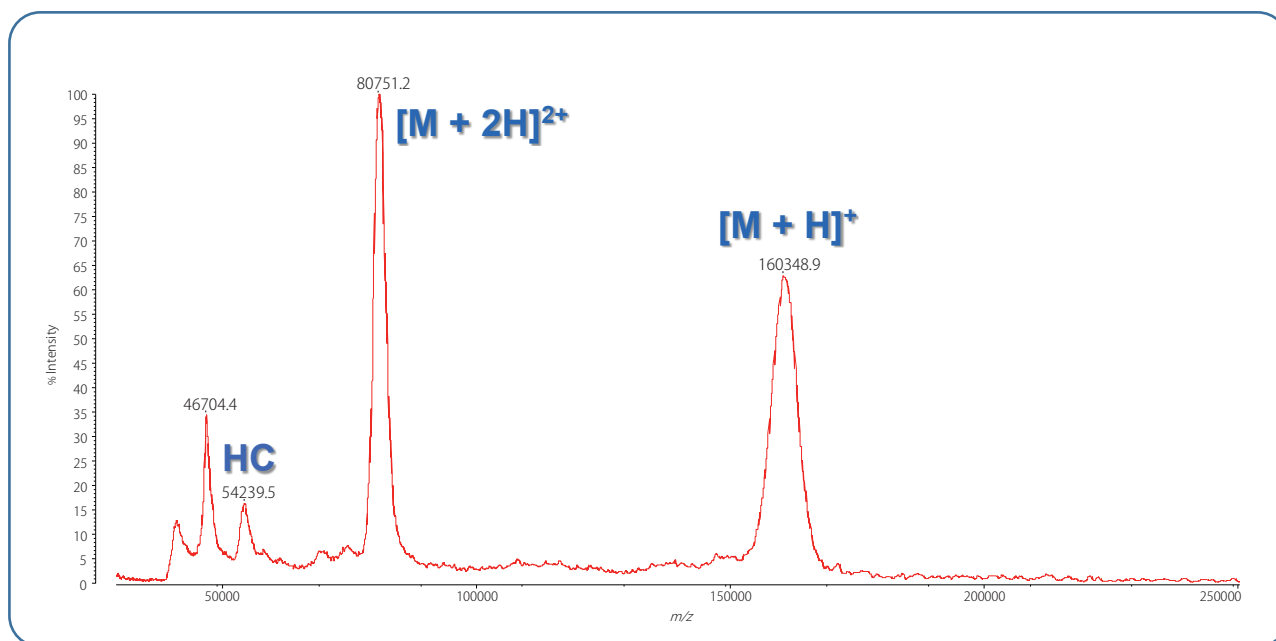


図4 IgA のマススペクトル (20 pmol/ μ L; 10 pmol on-target) HC = heavy chain

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。