

# Application News

## No. B76

### MALDI-TOF 質量分析法

## 卓上型 MALDI-TOF MS を用いた ペプチド核酸 (PNA) の分析

マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析計 (MALDI-TOF MS) は「簡便なサンプル前処理作業で正確な分子量情報が得られる」という特徴から好評を得ています。この MALDI-TOF MS は、品質管理の現場において、或いは研究開発を行う研究室において、ペプチド核酸 (PNA) オリゴマーの合成支援や合成品確認に有用です。ここでは、卓上型の MALDI-TOF MS を使って、3 種類の PNA について分析を行った例を紹介いたします。

Tom Abban

ペプチド核酸 (PNA) は DNA を真似た人工合成オリゴマーで、DNA の核酸塩基 (A/G/C/T) はそのまま主鎖のデオキシリボースとリン酸基部分がペプチド様の構造に置き換わっています (図 1)。その主鎖の構造は、N-(2-アミノエチル)グリシル単位がアミド結合によってつながったもので、DNA の主鎖がマイナス電荷を持った糖リン酸であるのとは違い、電荷的中性でかつ光学不活性です。この電荷状態の違いにより、PNA は相補的 DNA/RNA 配列へ強く結合します。DNA と比較して強い結合力でハイブリダイゼーションする性質が PNA の重要性の鍵となっています。この性質により、PNA は分子診断や研究の分野で一塩基多型 (SNP) 検出、蛍光 in situ ハイブリダイゼーション (FISH) や分子バイオセンサーといった技術に応用されています。

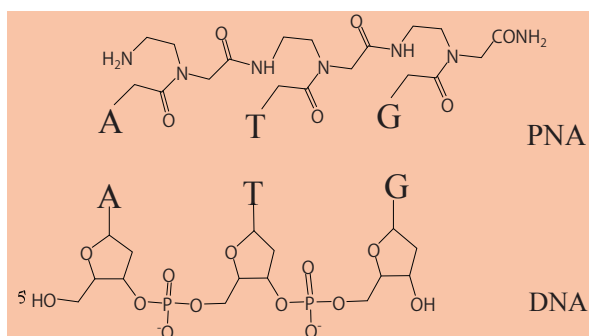


図 1 主鎖構造の比較でみる PNA と DNA の違い

これら応用例では、配列特異性と生物学的な安定性を兼ね備えた PNA が、高い選択性を持つ分子プローブとして一塩基変異やこれと関連する遺伝疾患などの「ほとんど同じだがほんの一部だけ異なる配列」を見分けるのに使われています。また、PNA はヒト免疫不全ウイルス (エイズウイルス; HIV-1) 治療のためのアンチセンス薬としての応用可能性があるとも言われています。



図 2 卓上型マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析計 MALDI-8020

### ■ 材料と方法

PNA サンプルは DestiNA Genomica S.L. 社 (スペイン) のご厚意によりご提供頂きました。このサンプル溶液 (4-15  $\mu$  mol/L、0.1% トリフルオロ酢酸 (TFA) 水溶液) を等量のマトリックス溶液と共に、MALDI 測定用ステンレスプレート上に滴下して乾燥させました。マトリックスとしては、 $\alpha$ -シアノノ-4-ヒドロキシ桂皮酸 (CHCA、5 mg/mL) または、シナピン酸 (SA、20 mg/mL) をアセトニトリル/0.1% TFA 水溶液 = 1/1 溶液に溶解させたものを用いました。測定は卓上型 MALDI-TOF MS (MALDI-8020 (図 2)) を用いて、表 1 のパラメータにより行いました。

表 1 MALDI 質量分析時のデータ取得用パラメータ

Tuning	linear
Polarity	positive
Mass range	100-12000 Da
Laser rep. rate	200 Hz
Accumulation rate (shots/profile)	50
Profiles	200
Sampling method	Dither

■ 結果

PNA サンプル A のマスペクトルを示します (図 3 上)。ベースピークを含む同位体クラスターのモノアイソトピックピークの測定値は  $m/z$  4510.9 で、拡大図からは同位体ピークがそれぞれよく分離されていることが分かります。リニアモードでの測定ですが、質量分析計の分解能は卓越した値 (>8000 FWHM) を示しました。更に大きい分子量を持つ PNA サンプル B およびサンプル C のマスペクトルについても示します (図 3 下)。

<参考文献>

- Bowler, F.R., Reid, P.A., Boyd, A.C., Diaz-Mochon, J.J. and Bradley, M., 2011. Dynamic chemistry for enzyme-free allele discrimination in genotyping by MALDI-TOF mass spectrometry. *Analytical Methods*, 3(7), pp.1656-1663.
- Nielsen, P.E. and Egholm, M., 1999. An introduction to peptide nucleic acid. *Curr Issues Mol Biol*, 1(1-2), pp.89-104.

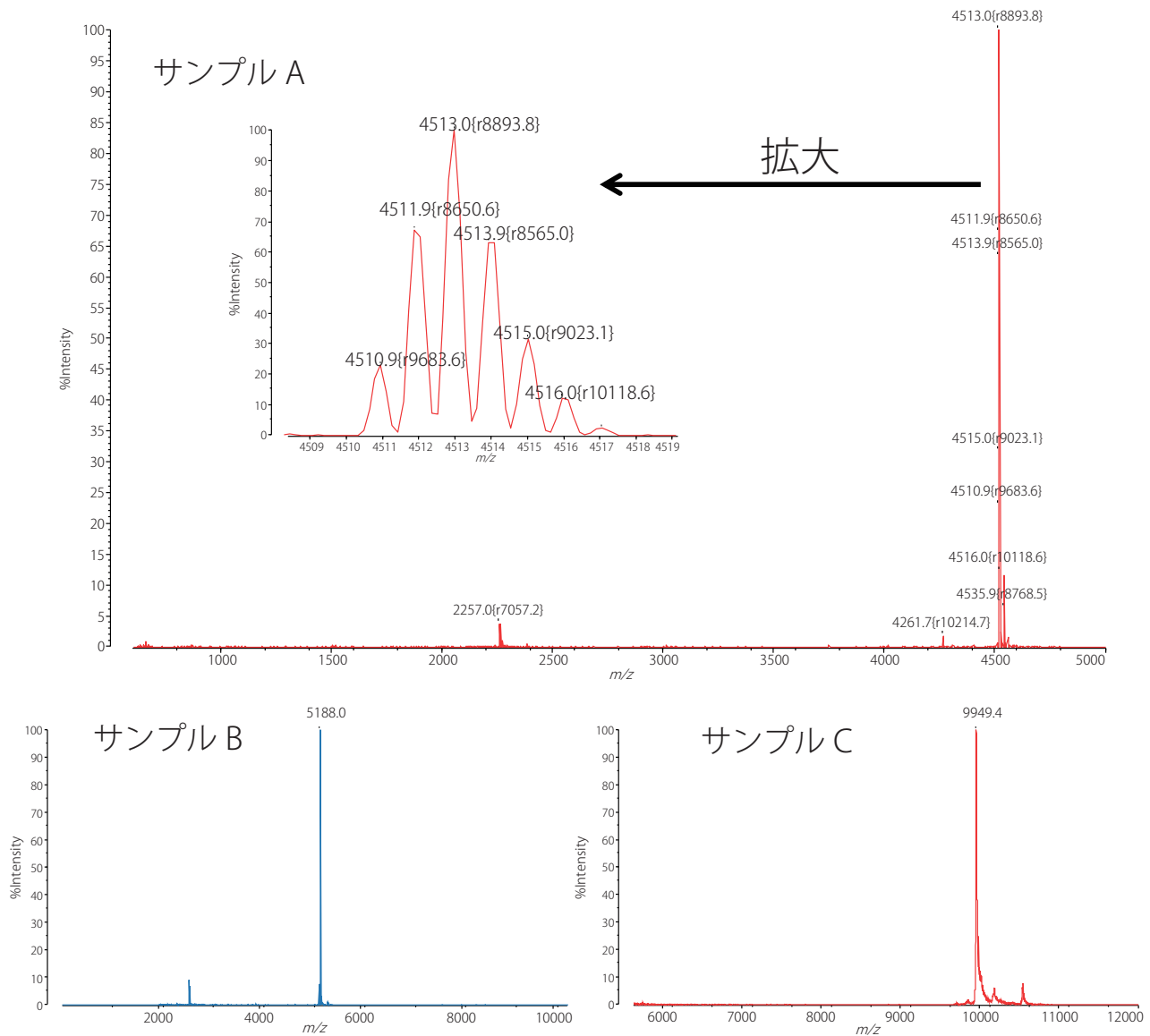


図 3 卓上型 MALDI-TOF MS による PNA 分析例：  
サンプル A (2 pmol、マトリックスに CHCA 使用) の分析ではリニアモードにも関わらず卓越した分解能 (>8000) を示しました。  
サンプル B / サンプル C (5.5 pmol / 7.5 pmol、同シナピン酸使用) の分析では高分子量領域につき、アベレージ表示しています。