

質量分析計 Orbitrap Velos Pro を使用した LC/MS システム

生体防御医学研究所 技術室 木庭 絵美子

生体防御医学研究所技術室で提供している研究支援サービスのうち、プロテオーム解析において使用している LC/MS システムについて紹介する。

1. HPLC

ナノフロー型の Advance UHPLC (Bruker)を使用。1.5mL のバイアル中にタンパク質消化物を 5~20 μ L で調製し、HTC-PAL autosampler (CTC Analytics)にセットする。

分析カラムには内径 0.100mm のフューズドシリカキャピラリーにカラム充填剤を詰めた手製の nanoESI カラムを使用している。電気泳動後にゲル内消化したペプチドの同定のようなシンプルな分析であれば 10cm のカラムを、翻訳後修飾や定量解析等の複雑な測定を行う場合には 15cm のカラムを作製する。

カラムの長さに応じて 200~300nL/min にて送液し、グラジエントをかけてサンプルを分離溶出する。LC からの配管とカラムを接続する金属製のユニオンに高電圧 (1.5~2.5kV) をかけてサンプルをイオン化し、MS に導入する。

2. MS

Orbitrap Velos Pro(Thermo Fisher Scientific)を使用。リニアイオントラップ型質量分析計 LTQ Velos Pro と電場型フーリエ変換型質量分析計 Orbitrap とのハイブリッド型質量分析計である。Orbitrap にて高分解能 (最大 100,000) で高い質量精度の (1~2ppm 程度) Parent Mass を測定するのと並行して、LTQ Velos Pro にて Parent Mass に対応する MS/MS (MS^n) を高速スキャンすることが可能である。典型的な測定条件にお



写真左: AdvanceUHPLCとPAL
写真右: Orbitrap Velos Pro

いては、Parent Mass を 2-3 秒間に 1 回スキャンする間に、MS/MS を 9-12 回測定することが可能である。

10cm のカラムを使用する測定では 1 サンプルにつき分析時間は 30 分とし、15cm のカラムの場合は依頼者の測定目的に応じて 1 サンプルにつき 60 分~240 分の分析を行っている。

3. 本システムに関連する技術室の研究支援

プロテオーム解析のための試料調製も研究支援サービスとして提供しており、良好なデータを得られるだけでなく、サンプル由来の装置のトラブルを防ぐことも出来ている。また、質量分析データを解析するシステム (蛋白質同定システム Mascot) を共通機器室に設置しており、データ解析についても研究者のバックアップを行っている。