

# 電子捕獲解離法(ECD法)の動作と タンパク質試料への適用

照井 康 (日立ハイテクノロジーズ)

タンパク質の翻訳後修飾としてリン酸化があり、この修飾は細胞の機能維持に係わる重要な調節機構であるといわれている。タンパク質のリン酸化・脱リン酸化による機能調節は、細胞内シグナル伝達や細胞増殖、細胞死、代謝調節、細胞の運動性、細胞分裂・細胞周期、細胞の分化など多くの生命現象において重要な役割を果たしている。昨今、タンパク質のリン酸化・脱リン酸化過程異常が、自己免疫疾患、代謝異常、などの多くの疾患に関与している例も報告されており、これら疾患との関連を解明するため、リン酸化部位の同定やリン酸化・脱リン酸化の解析は、タンパク質の機能解明において重要となっている。

日立ハイテクノロジーズでは、LC/MSとしてNanoFrontier eLDを販売している。本装置は、新たなイオン解離方式としてリニアトラップ(LIT)とTOF/MSの間に電子捕獲解離(ECD)用のセルを実装しECDによるイオン解離を可能とした。

図1にイオン光学系の模式図を示す。

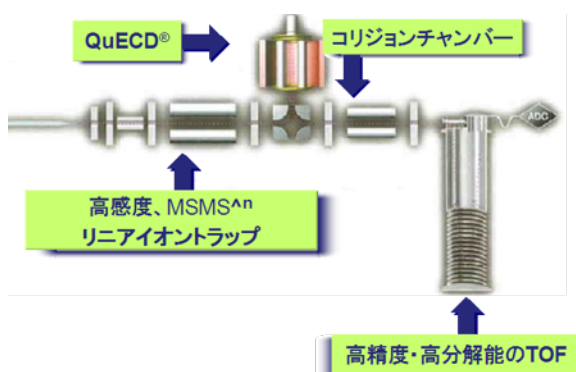


図1 NanoFrontier eLDイオン光学系模式図

図1で示している LIT中での解離は衝突誘導解離 (collision induced dissociation : CID) であり、試料イオンをヘリウムなどの不活性ガスと多数回衝突させ、分子構造のぜい弱な部分に解離を起こす方法である。翻訳後修飾解析でも広く使われている解離法であるが、修飾タンパク質を分析する場合、ペプチドの主鎖の解離より修飾基の脱離が起こり易く、修飾部位の決定が難しいという課題もあった。

ECDでは正電荷を持った目的分子に低速の電子 (1 eV程度) を照射し、電子が捕獲されたとき、目的分子の解離が起こる。ECDとCIDでは反応機構が異なるため、解離をおこす部位が異なる。ECDの特長はタンパク質主鎖を選択的に、かつほぼ横断的に解離すること、c-およびz-フラグメントイオンが主に発生することである。また、この際CIDでは失われやすい修飾分子を残したままタンパク質主鎖を切断する性質があるため、修飾部位の情報を容易に得ることが可能である。図2にリン酸化タンパク質のCID、ECDスペクトルの測定例を示す。

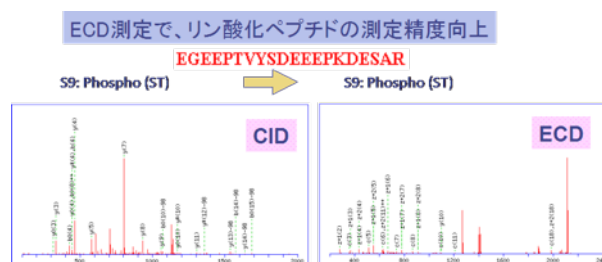


図2 リン酸化ペプチドのCID, ECDによるフラグメント例

フラグメントパターンが明らかに異なることが判り、両データを利用することで、測定精度も向上する。