

JMS-S3000 SpiralTOF MALDI-TOF-TOF タンデム質量分析計による低分子化合物および脂質の分析

JMS-S3000 SpiralTOF MALDI-TOF-TOF Analysis of low molecular weight compounds and lipids by tandem mass spectrometer

田村 淳

Jyun Tamura

日本電子（株） MS 事業ユニット

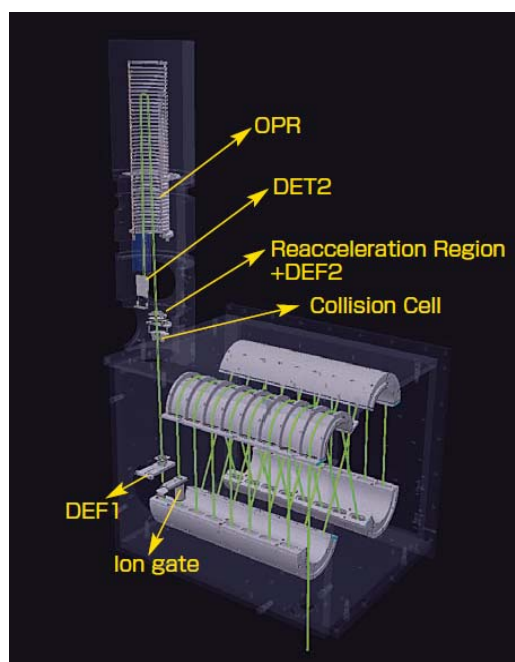
〒196-8558 東京都昭島市武蔵野 3-1-2

Tel: 042-542-2237

E-mail: tamura@jeol.co.jp

1. はじめに

我々は以前から、独自のらせん軌道型イオン光学系を用いた飛行時間型質量分析計(Time-of-Flight Mass Spectrometer; TOFMS) [1, 2, 3] の研究開発を進め、第 1MS として飛行距離約 17 m のらせん軌道型イオン光学系を採用した、マトリックス支援レーザー脱離イオン化 (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization; MALDI-TOF-TOF) タンデム MS、JMS-S3000 SpiralTOF™を開発した [4]。我々はこの装置を用いて天然有機化合物、脂質、ペプチドなどのプロダクトイオンスペクトルを測定し、4-sector tandem MS と事実上同一(virtually identical)と言って良いプロダクトイオンスペクトルが得られることを確認した。2010 年第 3 回 TMS 研究会講演会では、この MALDI-TOF-TOF タンデム質量分析計の概要と基本性能を中心に紹介したが、本講演ではこの装置の特徴を生かしたアプリケーションとして、低分子化合物の分析と、脂質、特にトリアシルグリセロール (Triacylglycerol; TAG) の構造解析について述べる。



2. JMS-S3000 SpiralTOF™ MALDI-TOF-TOF タンデム質量分析計の概要

装置の詳細については、すでに [4] に述べた通りである。装置のイオン光学系の概要を Fig. 1 に示す。イオン化用レーザーには波長 349 nm の Nd:YLF レーザー (Explorer 349; Newport, CA, USA) を用いた。第 1 MS は、飛行距離 17 m のらせん軌道型 TOFMS である。プリカーサーイオンの選択を行うイオンゲートは、第 1 MS 用検出器より 1 周回前の、飛行距離 15 m の位置にある。第 1 MS を通過したイオンは、減速されることなく衝突室 (collision cell) へ導入され、衝突ガス (collision gas) と衝突して衝突誘起解離 (collision

induced dissociation; CID) を起こす。生成したプロダクトイオンは、再加速部 (reacceleration region) と Offset Parabolic Reflectron からなる第 2 MS で質量分離され、検出される。

3. 低分子化合物の分析

一般に MALDI-TOFMS は高分子量化合物 ($> 1,000$ Da) の分析に用いられることが多く、低分子化合物 ($< 1,000$ Da) の分析は不得意とされることが多い。その理由として「マトリックス由来のイオンによる妨害」が挙げられることが多いが、歴史的には多くの低分子化合物が FAB, liquid SIMS で分析されてきたことを考えると、マトリックス由来イオンの存在のみがその理由とは言えない。従来からの MALDI リフレクトロン飛行時間型質量分析計 (RTOF) による低分子化合物の分析における問題点としては、以下のような点が考えられる。

- A) マトリックス由来のイオン、特にマトリックスのクラスターイオンが、飛行中に準安定イオン分解 (metastable ion decay) (ポストソース分解 (post-source decay; PSD)) し、その結果生じるフラグメントイオンの一部が時間収束されることなく検出器に到達するため、低 m/z 領域に連続的なバックグラウンドを生じる。
- B) 低 m/z 領域では、分解能が低下する [6] ため、マトリックス由来のイオンと分析対象物のイオンとの分離が困難となり、質量測定の精度が低下する。
- C) 遅延引き出し (delayed extraction) の影響により、低 m/z 領域における飛行時間と m/z の関係が複雑となり [7]、質量測定の正確度が低下する。

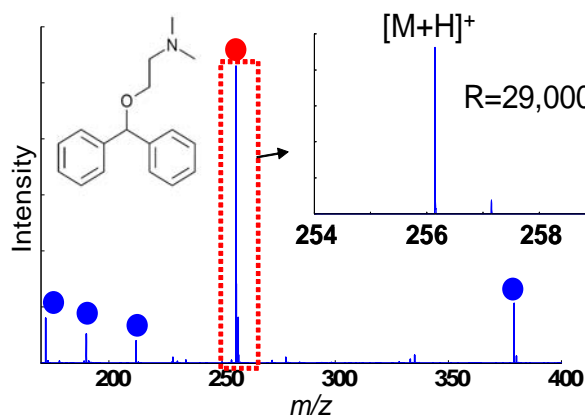
SpiralTOF では、これらの課題を以下のように解決した。

- A) セクター型電場はある狭い範囲の運動エネルギーを持ったイオンしか通過できないため、準安定イオン分解の結果生じるフラグメントイオンは検出器に到達せず、低 m/z 領域に連続的なバックグラウンドを生じない。
- B) 長い飛行距離と飛行時間のため、検出系の応答速度による、低 m/z 領域での分解能低下が少ない。
- C) 長い飛行距離により、遅延引き出しに起因する m/z に依存した現象が大幅に希釈されるため、単純な 3 次式により、飛行時間と m/z との関係を十分正確に近似することができる。

低分子化合物の例として、diphenhydramine を、CHCA をマトリックスとして分析し、CHCA 由来のイオンを内部標準として diphenhydramine の質量を求めたところ、理論値との誤差は 0.00089 u であった。(Fig. 2)

4. Triacylglycerols の構造解析

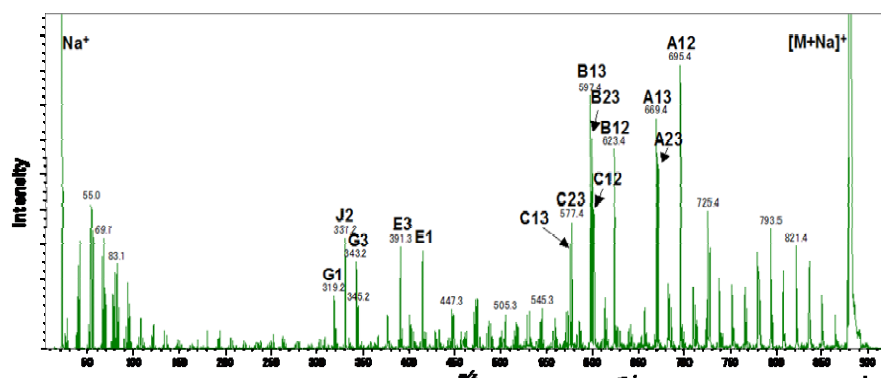
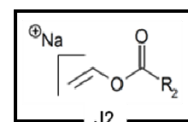
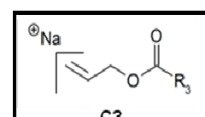
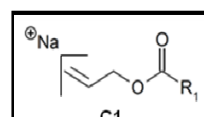
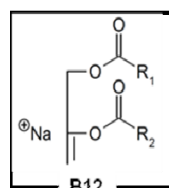
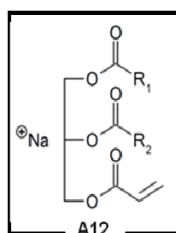
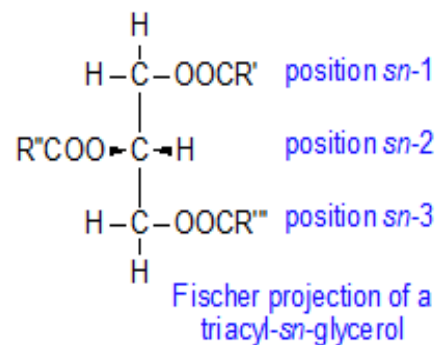
Triacylglycerols は所謂単純脂質であるが、その構造解析は、各分子に 3 つの脂肪



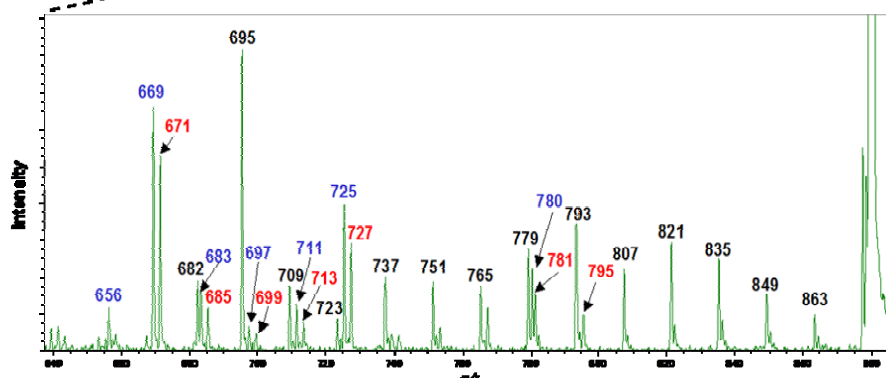
酸を含むことから容易ではない。特に位置異性体を区別して分析するには極めて高度なクロマトグラフィー分離が必要であり、簡便で迅速かつ正確な構造解析手法が求められていた。Cheng ら [8] は、高エネルギー衝突誘起解離 (high-energy CID; HE-CID) によるタンデム質量分析で、位置異性体の区別が可能であることを示したが、極めて大型かつ高価な、アレー検出器を装備した 4 セクター・タンデム質量分析計が必要な技法であったため、実際的な応用には至らなかった。Pittenauer ら [9] は、MALDI-TOF-TOF タンデム質量分析計でも、[8] と同様な分析が可能であることを示したが、同時に、実際的な応用には、従来からの MALDI-TOF-TOF ではプリカーサイオンの選択性が不足していることを指摘した。これは、triacylglycerol に限らず、殆どの脂質試料は、二重結合の数が異なる、すなわち分子量にして 2 Da 異なるものの混合物として得られることが多く、これらを完全に分離するためには、やはり高度なクロマトグラフィー分離が必要となってしまうためである。

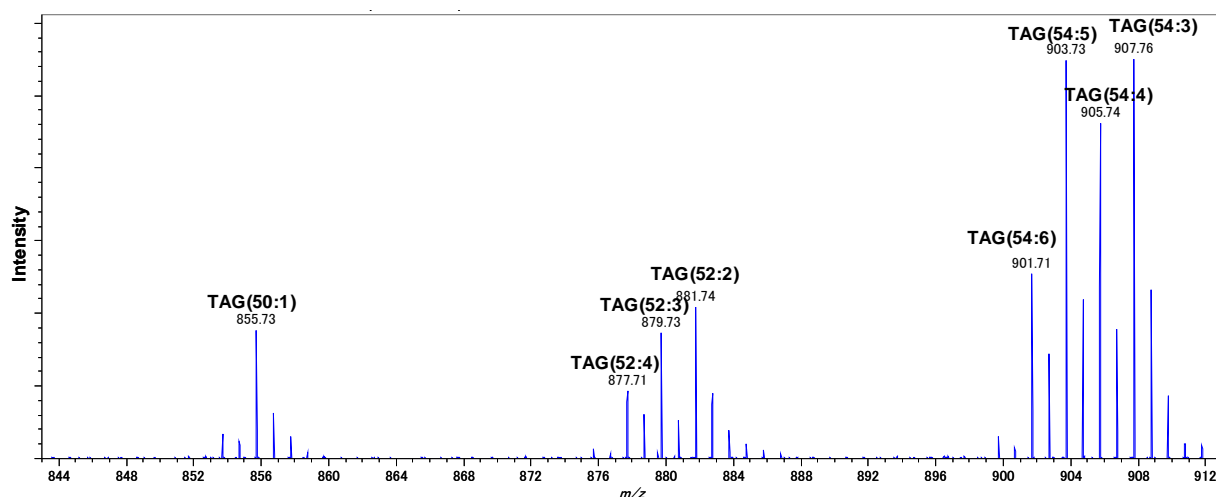
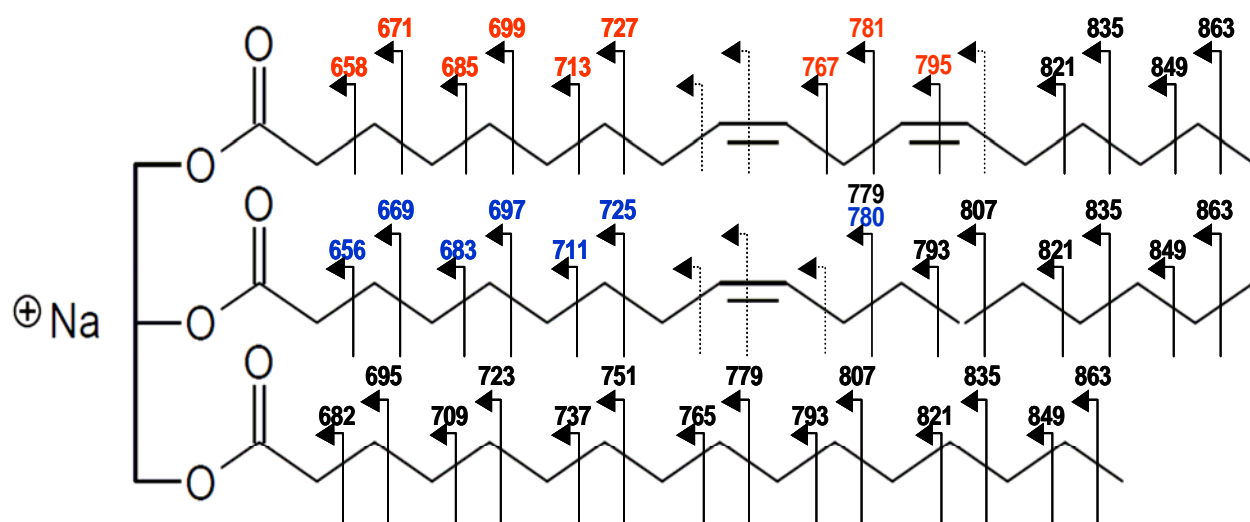
SpiralTOF は、タンデム質量分析計として使用した場合、純粋な HE-CID プロダクトイオンマススペクトルが得られるだけでなく、従来からの MALDI-TOF-TOF がない、高いプロダクトイオン選択性 (m/z 2,500 以下の領域で完全な monoisotopic イオン選択が可能) を持つため、triacylglycerol の構造解析には最適と予想された。

Triacylglycerol の構造解析において重要なフラグメントイオン [8] を Fig. 4 に示す。この中で特に重要なのは J2 イオ



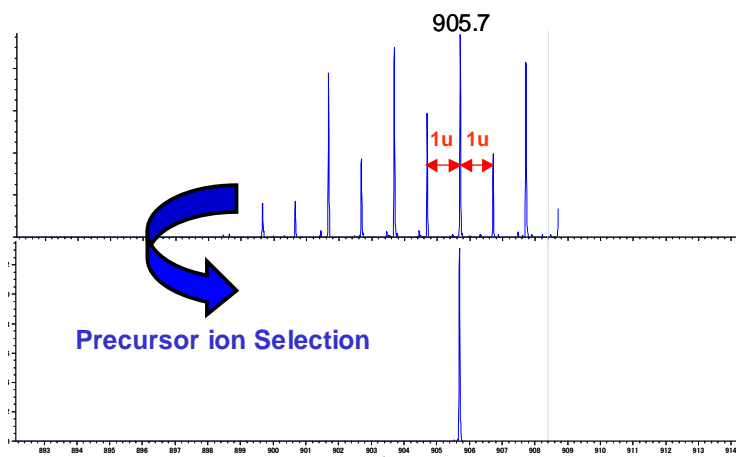
Enlarged





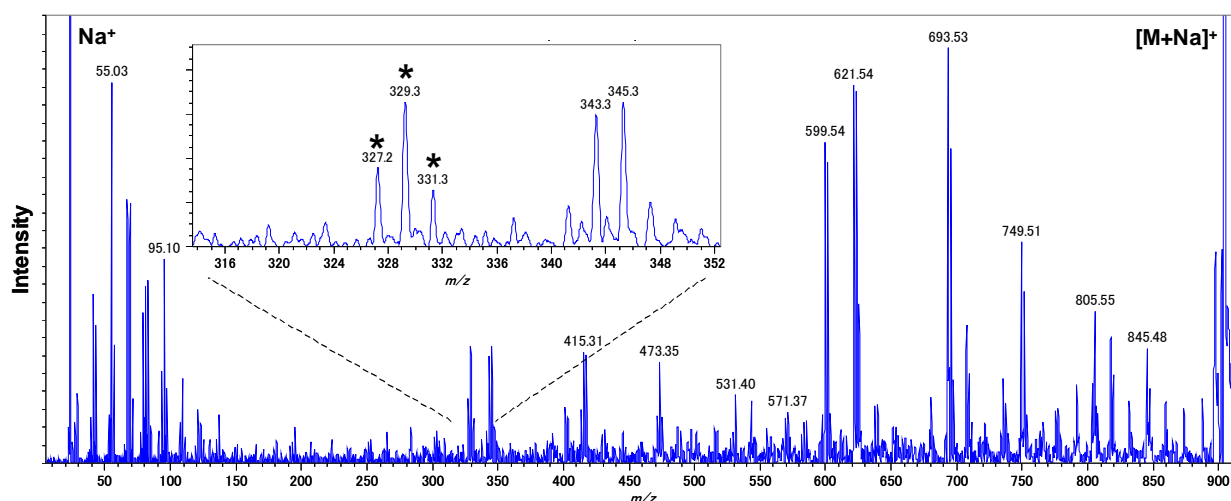
ンと G イオンであり、これらによって triacylglycerol の位置異性体を区別することができる。

1-Palmitoyl-2-oleoyl-3-linoleoyl-rac-glycerol (sigma-aldrich) のナトリウムイオン付加分子のプロダクトイオンマスペクトルを Fig. 5 に示す。位置異性体の区別に重要な J2, G イオンの他に、A, B イオン、及び、各脂肪酸内部の詳細構造を示す charge-remote fragmentation が明確に観測されている。 Fig. 6 は 1-Palmitoyl-2-oleoyl-3-linoleoyl-rac-glycerol の構造と、charge-remote fragment イオンの



m/z 値を示す。

市販の標準品の分析により、十分な情報が得られることがわかったので、実際的な応用



m/z	Acylcarbon number and number of double bond	Composition of each fatty acid			
855.7	50:1	(16:0,16:0,18:1)			
877.7	52:4	(16:0,18:2,18:2)	(16:0,18:3,18:1)		
879.7	52:3	(16:0,18:1,18:2)	(16:0,18:2,18:1)		
881.7	52:2	(16:0,18:1,18:1)			
901.7	54:6	(18:2,18:1,18:3)	(18:1,18:2,18:3)	(18:2,18:2,18:2)	(18:1,18:3,18:2)
903.7	54:5	(18:1,18:2,18:2)	(18:1,18:3,18:1)		
905.7	54:4	(18:1,18:1,18:2)	(18:1,18:2,18:1)		
907.7	54:3	(18:1,18:1,18:1)			

の例として食用油脂の分析を行った。市販のマーガリンに含まれる triacylglycerol のマススペクトルを Fig. 7 に示す。ここで TAG(X:Y) は、X = 総アシル炭素数、Y = 総二重結合数を示す。二重結合の数が異なり、分子量で 2 Da 異なる物質の混合物であることがわかる。この中から m/z 905.7 (TAG(54:5) のナトリウムイオン付加分子ピーク) をタンデム質量分析のために選択した際の、選択前後の比較を Fig. 8 に示す。 m/z 905.7 のイオンのみが分離され、SpiralTOF の高いプリカーサーイオン選択性が示されている。

Fig. 9 には、 m/z 901.7 (TGA(54:6) のナトリウムイオン付加分子) のプロダクトイオンマススペクトルを示す。ここで興味深いのは、J2 イオンと思われるピーク (*) が 3 本観測されたことである。これは、選択した m/z 901.7 のイオンが、すでに位置異性体の混合物であることを示している。G, A, B など、他のプロダクトイオンピークから、この m/z 901.7 のプリカーサーイオンは、(18:2, 18:1, 18:3), (18:1, 18:2, 18:3), (18:2, 18:2, 18:2), (18:1, 18:3, 18:2) の混合物であると解釈するのが妥当と考えた。 m/z 901.7 以外の主要なイオンについても、それらのプロダクトイオンマススペクトルを測定し、その結果、このマーガリンに含まれると考えられた TAG の位置異性体の一覧を Table 1 に示す。

5. まとめ

SpiralTOF MALDI-TOF-TOF タンデム質量分析計を用いることにより、従来からの MALDI-TOFMS では不得意と考えられていた低分子化合物の精密質量測定が容易に行えることが示された。また triacylglycerol の構造解析に適用したところ、triacylglycerol の位置異性体の区別までが可能であることが示された。クロマトグラフィー分離を用いずに triacylglycerol の位置異性体の区別を行った最初の例だと思われる。

参考文献

1. T. Satoh, H. Tsuno, M. Iwanaga, Y. Kammei, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **16**, 1969 - 1975 (2005).
2. T. Satoh, H. Tsuno, M. Iwanaga, and Y. Kammei, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **54**, 11 - 17 (2006).
3. T. Satoh, T. Sato, and J. Tamura, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **18**, 1318 (2007).
4. Takaya Satoh, Takafumi Sato, Ayumi Kubo, Jun Tamura, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **22**, 797 - 803 (2011)
5. 田村 淳, TMS 研究 2010 巻 3 号 52 - 58
6. J.N. Coles, M. Guilhaus, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **5**, 772-778 (1994)
7. P. Juhasz, M. L. Vestal, S. A. Martin, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **8**, 209-217 (1997)
8. Cheng, C., Gross, M. L., Pittenauer, E., *Anal. Chem.* **70**, 4417 - 4426 (1998)
9. Pittenauer, E., Allmaier, G., *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **20**, 1037 - 1047 (2009)