

シーストレス CE-ESI-TOF MS によるペプチド・タンパク質の分析

○木下 充弘¹, 神末 和哉¹, 早川 堯夫², 掛樋 一晃¹(¹近畿大・薬, ²近畿大・薬総研)

【目的】キャピラリー電気泳動法-質量分析法(CE-MS)は、LC を凌ぐ高い分解能を有し、MS によるオンライン検出を達成できるペプチド・タンパク質分析の強力なツールとして期待されている。しかし、CE-MS で一般に使用されるシー液を用いる手法では、測定成分の拡散による感度の低下は避けられない。本研究ではシーストレスインターフェースを備えたキャピラリー電気泳動-質量分析 (CESI-MS) システムを用いたペプチド・タンパク質分析への適用について検討した。

【方法】分析試料：条件検討用としてアンジオテンシン I および II の混合物を使用した。タンパク質は還元アルキル化後トリプシン消化し、ペプチド混合物とした。CESI-MS：Beckman Coulter 社製キャピラリー電気泳動装置 (PA800) 及び島津製作所製 LCMS-IT-TOF を用いた。

【結果および考察】アンジオテンシン I および II の混合物を用いて分析条件を検討した結果、アミノ酸 2 残基の違いで両者を完全に分離することができ、感度は試料注入量として約 1fmol であった。次に、ウシ血清アルブミン (BSA) をトリプシン消化物を分析した結果、LC を用いる一般的なペプチドマップ法に比べ分離は劣るものの、BSA のアミノ酸配列について 52.8% のカバー率を達成できた。さらに、糖タンパク質としてウシ膵由来 RNase B については、単純ペプチドと糖ペプチドを相互分離でき、糖ペプチドについてはマンノース残基数の違いにより分離できた。逆相分配型カラムを使用する LC-MS によるペプチドマップ法では、糖鎖の違いによる分離は困難であるため、CESI-MS が糖ペプチドの分離において優位性を有することが明らかになった。