



Title	Development of a tandem mass spectrometer for probing high-energy electron transfer dissociation
Author(s)	Nagao, Hirofumi
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	http://hdl.handle.net/11094/363
DOI	
rights	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名	ながおひろみ 長尾博文
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第 23856 号
学位授与年月日	平成22年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科環境・エネルギー工学専攻
学位論文名	Development of a tandem mass spectrometer for probing high-energy electron transfer dissociation (高エネルギー電子移動解離が可能なタンデム質量分析装置の開発)
論文審査委員	(主査) 教授 栗津 邦男 (副査) 教授 堀池 寛 教授 西嶋 茂宏 准教授 豊田 岐聡 (理学研究科物理学専攻)

論文内容の要旨

マトリックス支援レーザー脱離イオン化法(MALDI法)やエレクトロスプレーイオン化法(ESI法)などのソフトイオン化法の発展により、タンパク質、ペプチドなどの生体高分子の分析に質量分析が用いられるようになった。現在、これらの生体高分子の構造解析には、タンデム質量分析法(MS/MS法)が広く利用されている。MS/MS法では、一般的に2台の質量分析装置をつなぎ、1台目である質量電荷比(m/z)を持ったイオンを選び、ガスとの衝突によりイオンを解離(CID: Collision-induced dissociation)させ、生成したプロダクトイオンを2台目の装置で質量分析を行い、アミノ酸配列などの構造情報を得る。近年、高感度、高質量精度、かつ質量制限がないという理由で、飛行時間型質量分析計を2台接続させたタンデム飛行時間型質量分析計が、生体高分子の構造解析に広く用いられている。しかしながら、タンデム飛行時間型質量分析計内でのCIDは、その解離効率が1~5%以下と非常に悪いという短所があった。この解離効率が少しでも向上すれば、微量試料での高感度測定も可能となり、応用範囲は格段に広がると思われる。

本論文では、タンデム飛行時間型質量分析計における解離効率を向上させる方法として、アルカリ金属からの電子移動を利用した高エネルギー電子移動解離(ETD: electron transfer dissociation)を提案し、高エネルギーETDが可能なタンデム質量分析装置を開発した。本論文は以下の6章から構成されている。

第1章では、序論として、質量分析法を用いた構造解析法ならびにタンデム飛行時間型質量分析計の長所と短所を示し、タンデム飛行時間型質量分析計における解離効率向上の必要性について論じた。

第2章では、高エネルギーETDの原理およびその利点について述べた。

第3章では、プロトタイプ機として、高エネルギーETDが可能なタンデムセクター型の質量分析装置を開発し、その詳細および実験方法について述べた。

第4章では、開発した装置の性能および高エネルギーETDの有用性を評価するために、クラスターや生体高分子の解離を研究した。クラスターの解離では、解離経路や構造、結合エネルギーに対する新しい知見を得た。生体高分子の解離では、高エネルギーETDが従来のCIDよりも10倍以上の解離効率を有し、生体高分子の構造解析に高エネルギーETDが非常に有用であることを示した。

第5章では、プロトタイプ機の感度や分解能を向上させる目的で、ESIイオン源とタンデム飛行時間型質量分析

計を組み合わせた装置“ESI-TOF/TOF”の開発および性能評価を行なった。高エネルギーETDが原理的にタンデム飛行時間型質量分析計においても可能であるということが実証され、プロトタイプ機の性能を大きく改善することが可能であった。また高エネルギーETDが可能なESI-TOF/TOFは、ポリペプチドやリン酸化ペプチドの構造解析に非常に有用であるという結果が得られた。

第6章では、本研究で得られた成果を総括し、今後の展望についてまとめた。

論文審査の結果の要旨

本論文は、生体高分子の構造解析に非常に有用であるタンデム飛行時間型質量分析計における解離効率の向上を目的として、アルカリ金属原子からの電子移動を利用した新規解離法“高エネルギー電子移動解離法(ETD)”を提案し、高エネルギーETDが可能なタンデム質量分析装置の開発を行なったものである。

本論文は5章構成である。第1章では、研究の背景として質量分析法を用いた構造解析法の有用性および現在広く用いられているタンデム飛行時間型質量分析計の長所および短所を示し、高エネルギーETDが可能なタンデム質量分析装置の必要性について説明している。第2章では、高エネルギーETDの原理およびその利点について説明している。第3章では、プロトタイプ機として高エネルギーETDが可能なタンデムセクター型質量分析装置を開発し、その詳細および実験方法について説明している。第4章では、開発した装置の性能評価および高エネルギーETDの有用性を評価するために、クラスターや生体分子の解離を研究している。クラスターの解離では、解離経路や構造、結合エネルギーに対する新しい知見を示している。また生体高分子の解離では、高エネルギーETDが従来の高エネルギーCIDよりも10倍程度の解離効率を有し、生体高分子の構造解析に高エネルギーETDが非常に有用であることを示している。第5章では、プロトタイプ機の感度や分解能を克服する目的で、ESIイオン源とタンデム飛行時間型質量分析計を組み合わせた装置“ESI-TOF/TOF”の開発および性能評価行なっている。アルカリ金属を用いた高エネルギーETDが原理的にタンデム飛行時間型質量分析計においても可能であることを示し、プロトタイプ機の性能を大きく改善されたことを示している。また高エネルギーETDが可能なESI-TOF/TOFは、ポリペプチドやリン酸化ペプチドの構造解析に非常に有用であるという結果も得ている。第6章は本論文の総括であり、本研究で得られた結果をまとめている。

本論文の意義及び特徴は、次の諸点にある。まず、本論文は、生体高分子を効率良く解離するために、従来の希ガスではなく、アルカリ金属ガスと反応させて高感度化を実現したという世界的にもその例を見ない研究であるという点である。アルカリ金属ガスをターゲットガスとして用いることで、従来の希ガスターゲットの場合と比べて、解離効率を10倍程度上げることが可能なこと、また従来法では構造解析が困難であった修飾タンパク質などの構造解析も可能であることを示している点は評価できる。また高エネルギーETDを、一般的に広く用いられているタンデム飛行時間型質量分析計において実現した点に最大の意義と特徴があり、評価できる。今後、さらなる装置の改良や研究により、高感度分析や新たなアプリケーション開拓も可能であると期待できる。

以上のように、本論文は高エネルギーETDが生体高分子の構造解析を行なう上で非常に有用であり、また一般的に広く用いられているタンデム飛行時間型質量分析計においても可能であるという結果を明らかにした。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。