

Q Orbitrap型質量分析計の紹介 -糖タンパク質のインタクトマス分析-

バイオ技術センター 高橋 昭博・岡嶋 孝太郎

1 Q Orbitrap型質量分析計

本稿では、Q Orbitrap型質量分析計によるインタクトタンパク質の分析事例について紹介します。

使用装置Q Exactiveは、Orbitrap analyzerの前段に、四重極マスフィルターを搭載した高分解能(最高140,000 @ m/z 200)および精密質量測定(外部標準<5ppm)の可能なベンチトップ型のQ Orbitrap型質量分析計です(図1)。

※ Q ExactiveはThermo Fisher Scientific Inc.の商品名です。



図1 Q Orbitrap型質量分析計とナノ流速LC(Thermo Fisher Scientific Inc.)

2 分析事例 -質量分析を用いたインタクトタンパク質(糖タンパク質)の分析-

リボヌクレアーゼB(以下、RNase B)は、リボ核酸からオリゴヌクレオチドへの分解反応を触媒する分子量約15,000の糖タンパク質です。RNase Bには、Asn³⁴残基に5種類のHigh Mannose型([GlcNAc]₂[Man]_N; N=5~9)と呼ばれる糖鎖が付加しています。

Q Exactiveにて取得したRNase Bのマススペクトル(分解能

70,000 @ m/z 200)を図2 a)に示します。インタクト状態の試料をナノスプレーにてイオン化し、8価から14価の多価イオンピークを検出しました。このうち10価ピーク群を拡大すると、メインピーク(N=5)である m/z 1490.8824(10+)から m/z 16.2の間隔で、計5つのピーク(N=5, 6, 7, 8および9)を検出しました(図2 b)。これらピークは、Asn³⁴に付加している糖鎖構造の違い([GlcNAc]₂[Man]_N; N=5~9)を反映しています。デコンボリューション処理より、今回検出された各異型ピークの質量誤差は-0.6(N=6), -1.7(N=7)および+2.0 ppm(N=8)であることを確認しました。さらに、各異型ピークの近隣には、 m/z 1.6間隔のピークが合わせて検出されました(図2 c)。これは、RNase Bを構成しているMet残基のいずれかが酸化されたために生じたピークであると推測されます。

以上のように、Q Exactiveの優れた質量分解能(最高140,000 @ m/z 200)を活用することで、分子量約15,000のRNase Bにおける糖鎖構造の違い(162 Da, 約1%質量)に加え、Met残基への酸素原子(¹⁶O)付加の有無(16 Da, 約0.1%質量)についても確認することができました。

3 今後の展開 -バイオ医薬品分析に向けて-

近年、研究開発が急速に進められているタンパク質性医薬品に関しては、医薬品品質の恒常性を評価することを目的に、質量分析計やキャピラリー電気泳動等を用いた物理化学的性質の解明が求められています。このうち質量分析については、目的物質の不均一性(糖鎖付加、アミノ酸変異、酸素付加等の構造修飾)を含む物性を明らかにすることが可能です。今後は、高分解能質量分析計を用いたタンパク質性医薬品の測定事例を増やし、様々な需要に対応可能な体制構築に取り組みます。

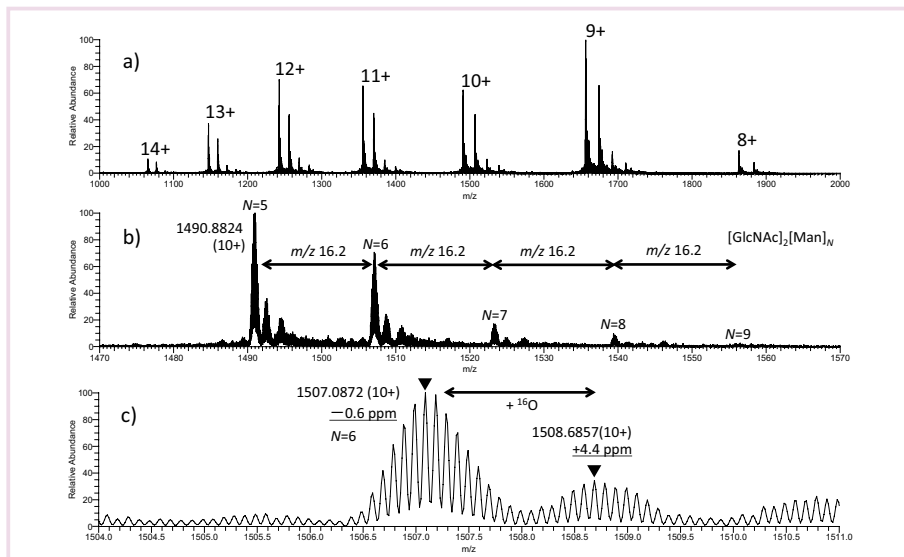


図2 リボヌクレアーゼBのマススペクトル



高橋 昭博
(たかしまし あきひろ)
バイオ技術センター



岡嶋 孝太郎
(おかじま こうたろう)
バイオ技術センター