

フーリエ変換質量分析計の原理

横浜市立大学・高山光男

(本内容の無断転載を禁じます)

FTMS装置 -BRUKER-

New 9.4 and 12 Tesla Magnets and Data-Dependent LC-MS/FTMS

 **BRUKER** **APEX-Q**

The APEX-Q platform combines a Q-q- "front-end" and a high field FTMS magnet (9.4 or 12 Tesla) for the ultimate resolution proteomics mass spectrometer.



FTMS装置 -IonSpec-

IonSpec

.com

4.7, 7.0, 9.4 and 12.0 Tesla Magnets

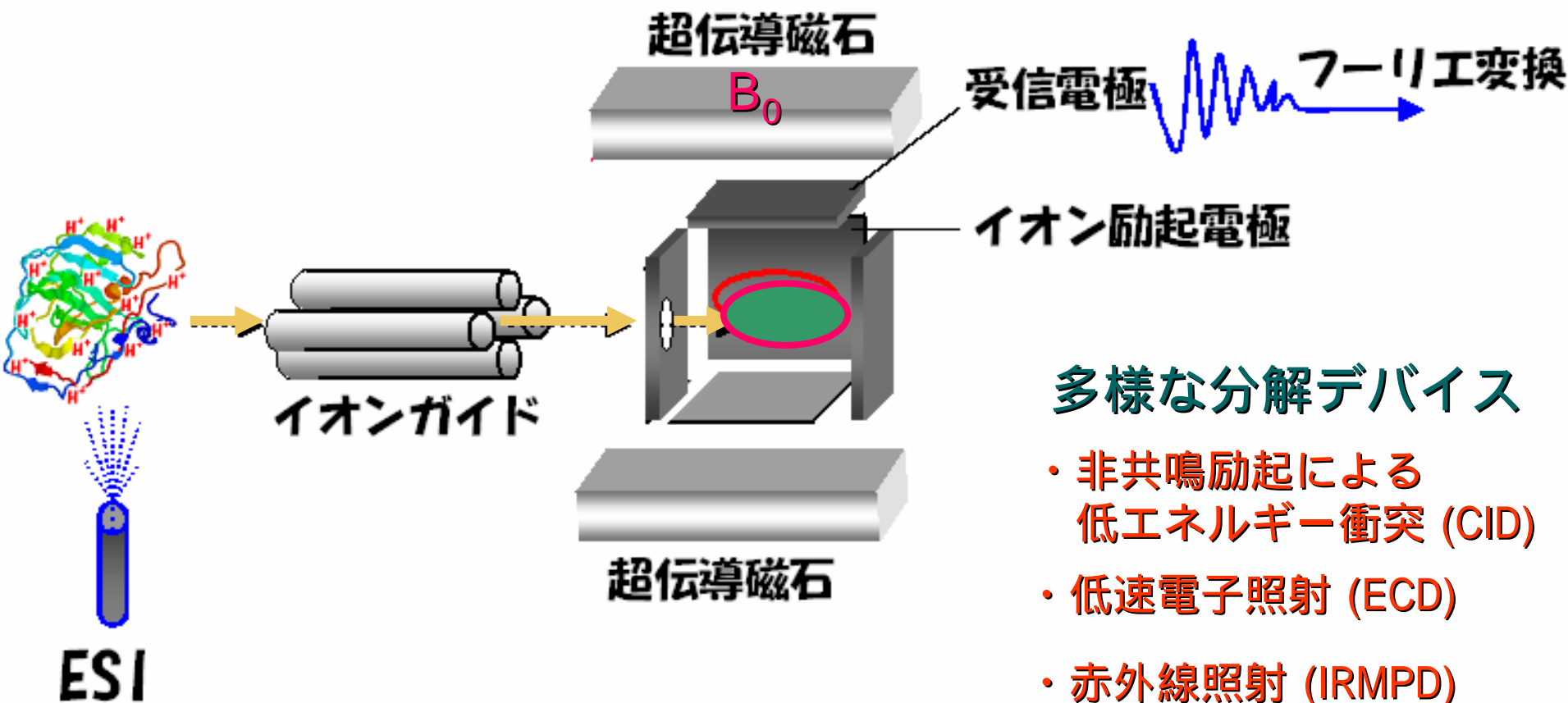


FTMS装置の原理と特徴

- ◆ 磁場型イオントラップ
- ◆ イオンサイクロトロン共鳴による励起
- ◆ 電磁誘導型イオン検出
- ◆ フーリエ変換によるマススペクトルの作成
- ◆ 非共鳴励起による低エネルギー衝突誘起解離
- ◆ 超高分解能 (IonSpec社ホームページより)
- ◆ 精度

ESI-FTICR MS (Tandem in Time)

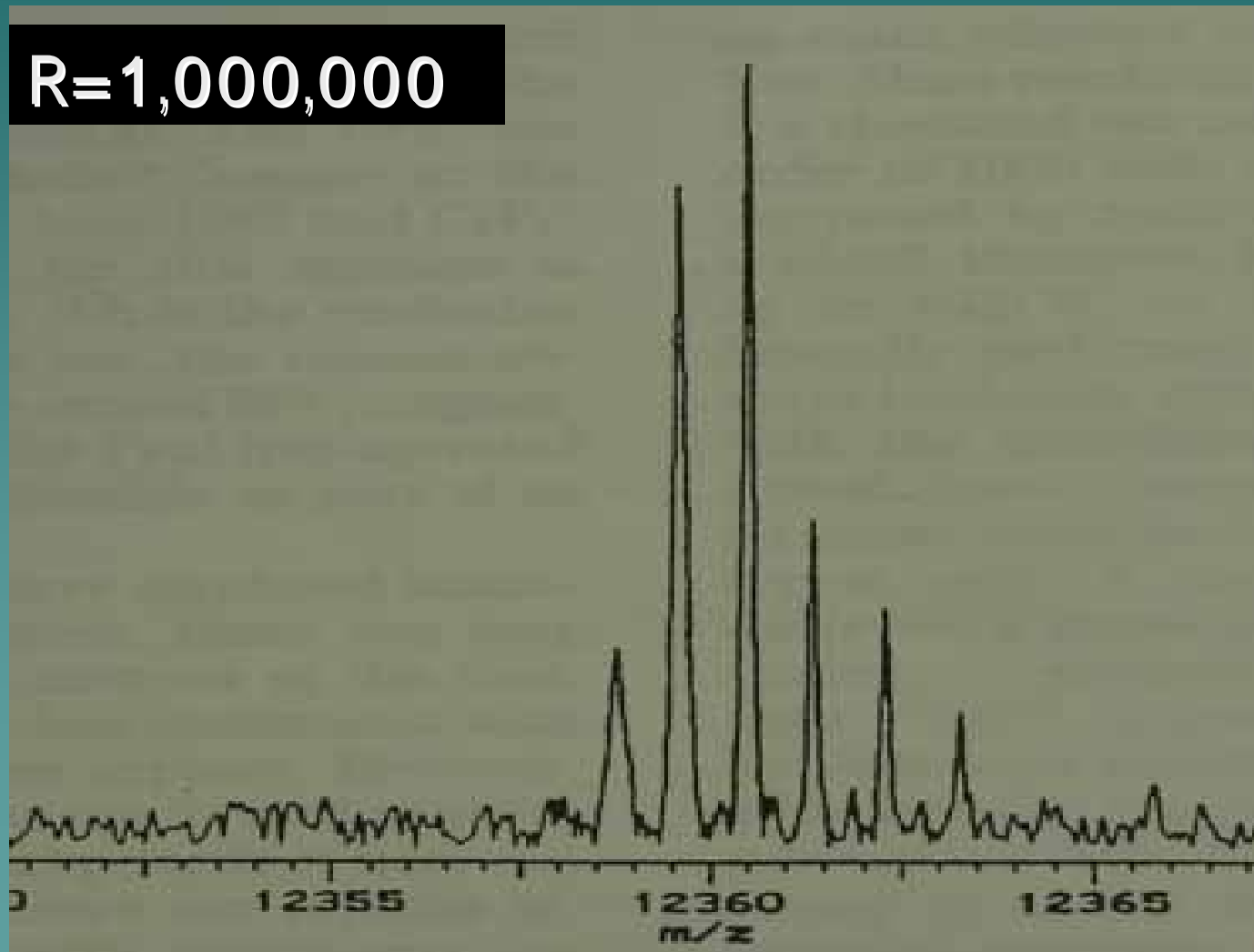
- ・ 超高分解能 ($R=100,000,000$)
分解能 = $(z/m)B_0$
- ・ 時間タンデム機能 (MS^n)
- ・ 誘導電流によるイオン検出 (長時間計測)



FTICR MS の高分解能

Cytochrome c (Mr 12,360)

R=1,000,000

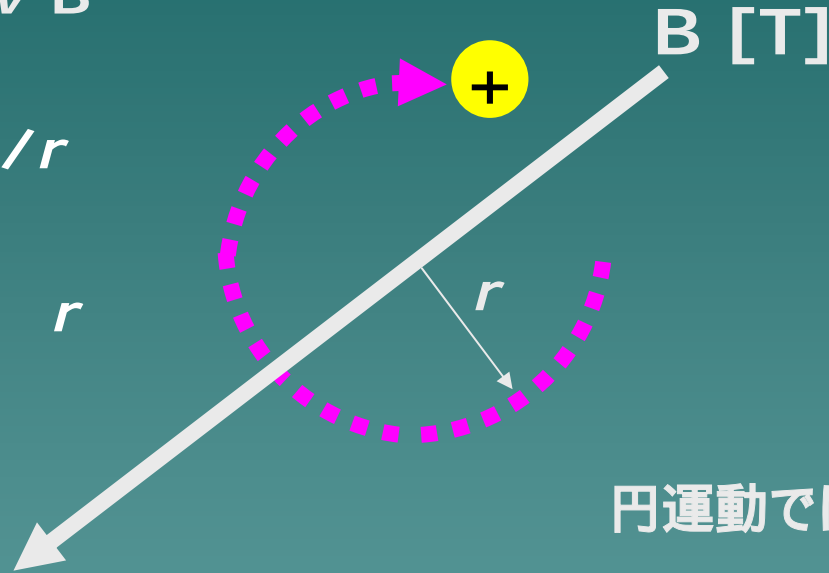


磁場型イオントラップとは

求心力 $F = z \cdot e \cdot v \cdot B$

遠心力 $F = mv^2/r$

振動数 $= v/2r$



円運動では $F = F$

このときの角速度 [Hz] は

$$= 2 \quad = v/r$$

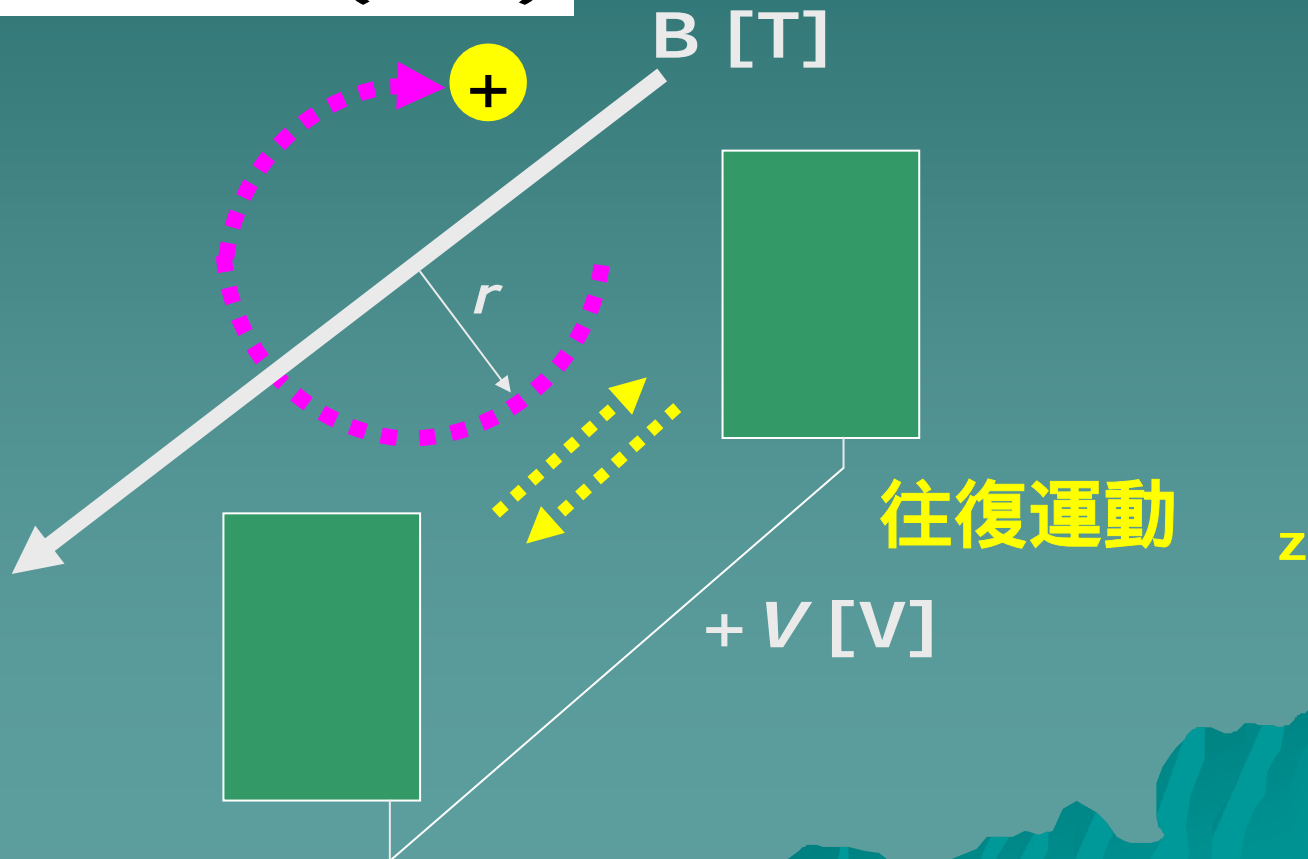
$$= z \cdot e \cdot B / m$$

$$= 1.537 \times 10^7 B \text{ (z/m)}$$

磁場方向運動の制限 (電圧の印加)

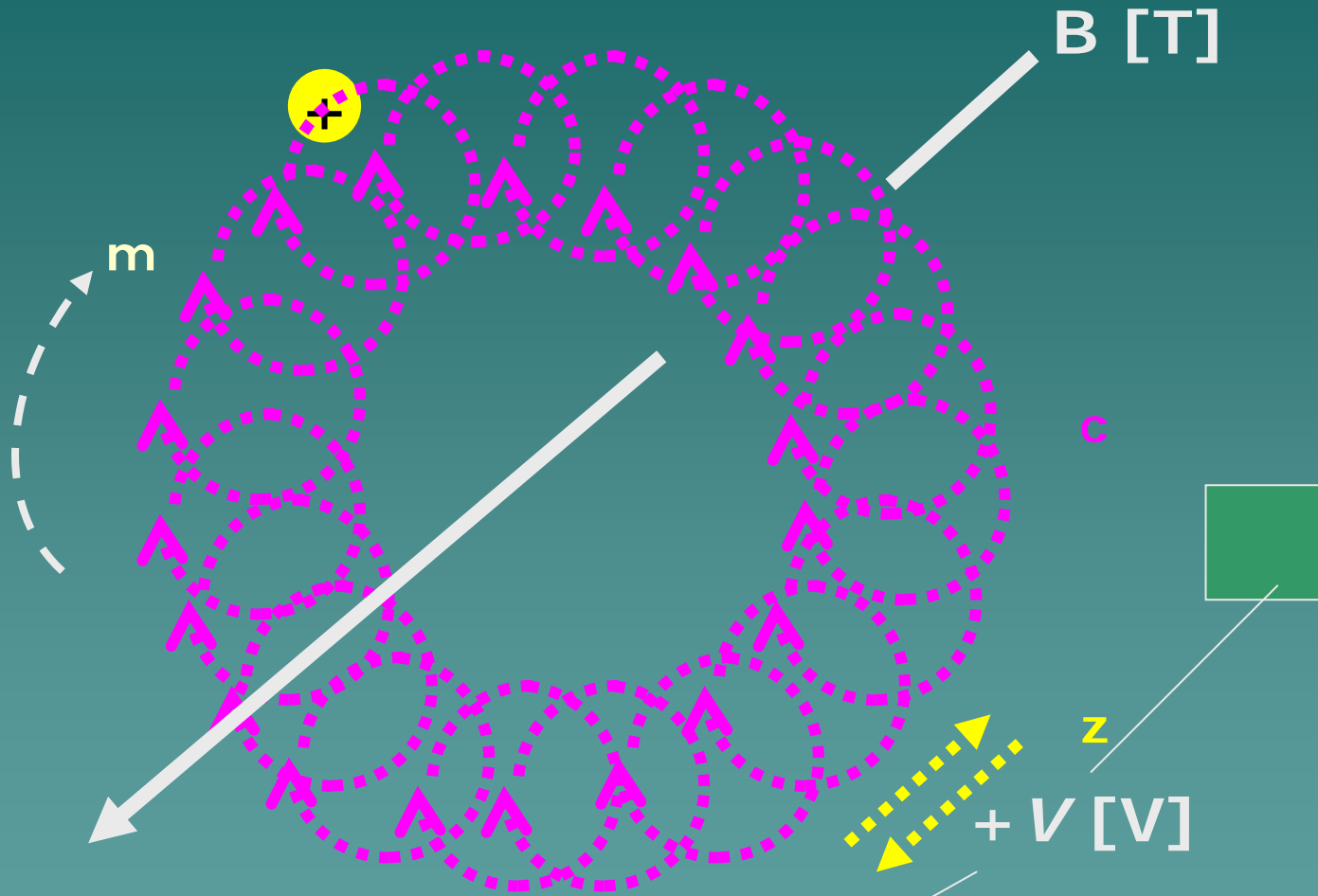
イオンサイクロトロン運動

$$c = 1.537 \times 10^7 B \text{ (z/m)}$$



電場・磁場によるマグネトロン運動

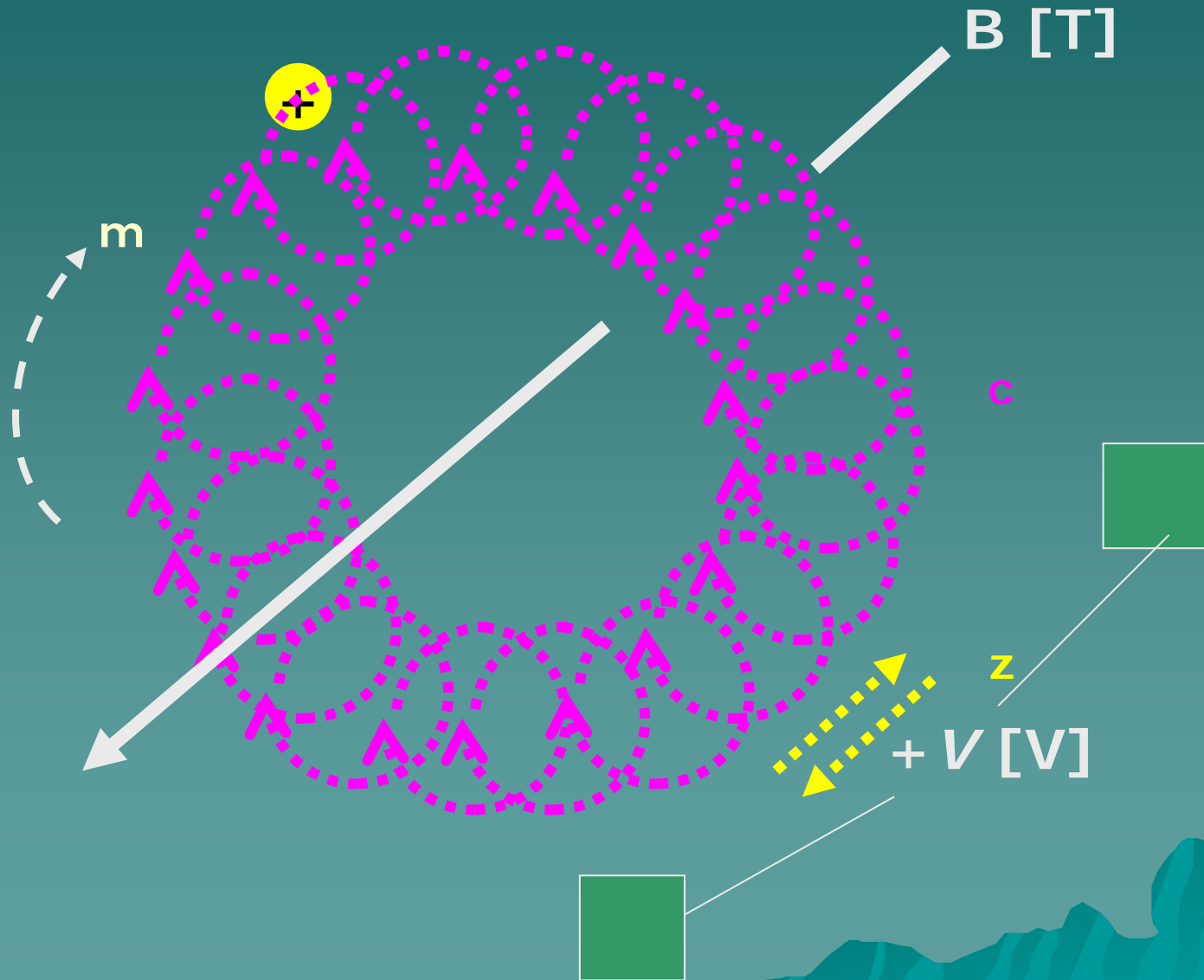
m



m << z << c

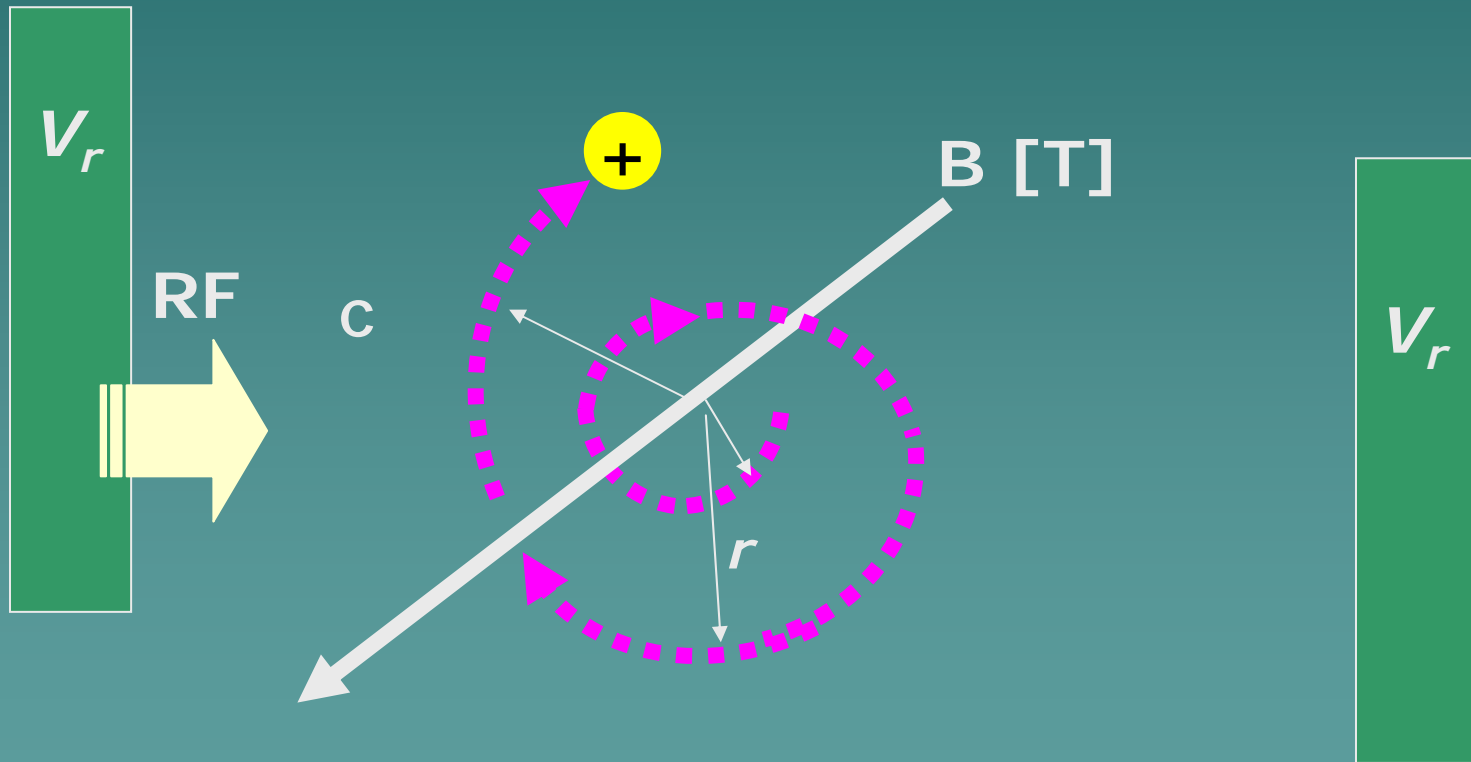


マグネトロン運動は分解能を低下させる要因



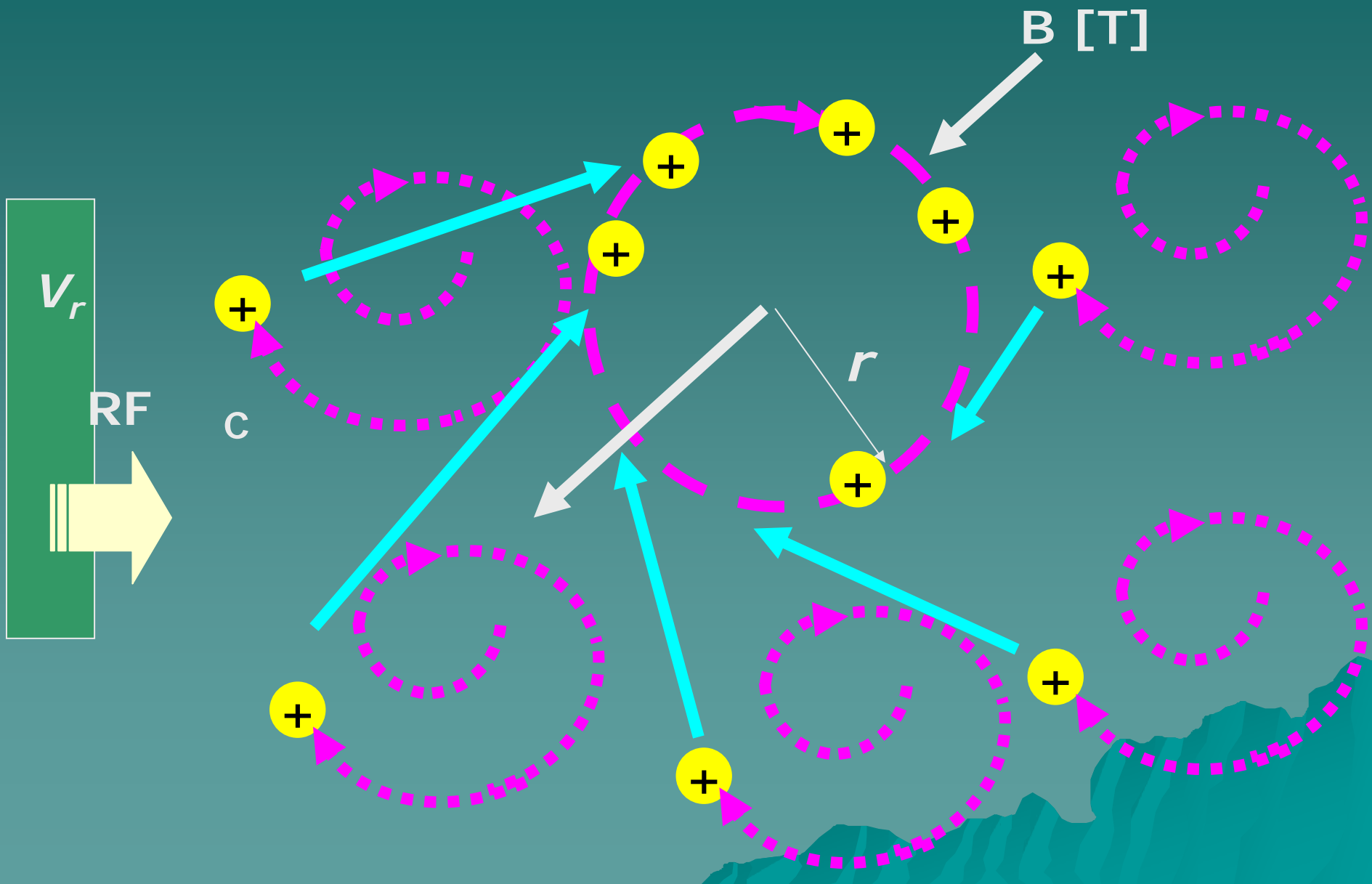
イオンサイクロトロン共鳴による励起

イオンサイクロトロン周波数 ω_c と同じ周波数の交流電場 V_r を印加すると印加時間に比例して回転半径が増す

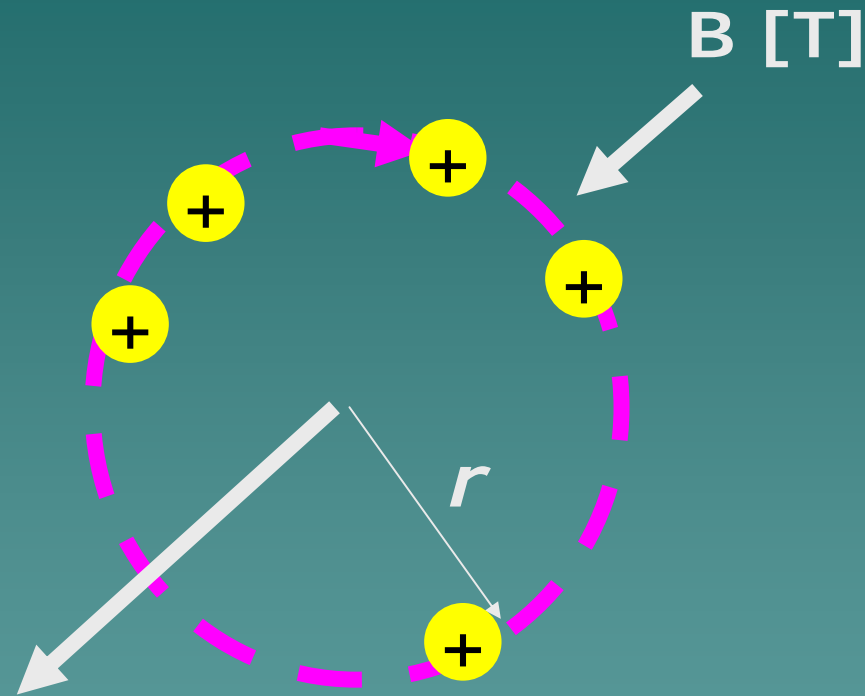


$$r = V_r t / B$$

励起状態では位相がそろおう



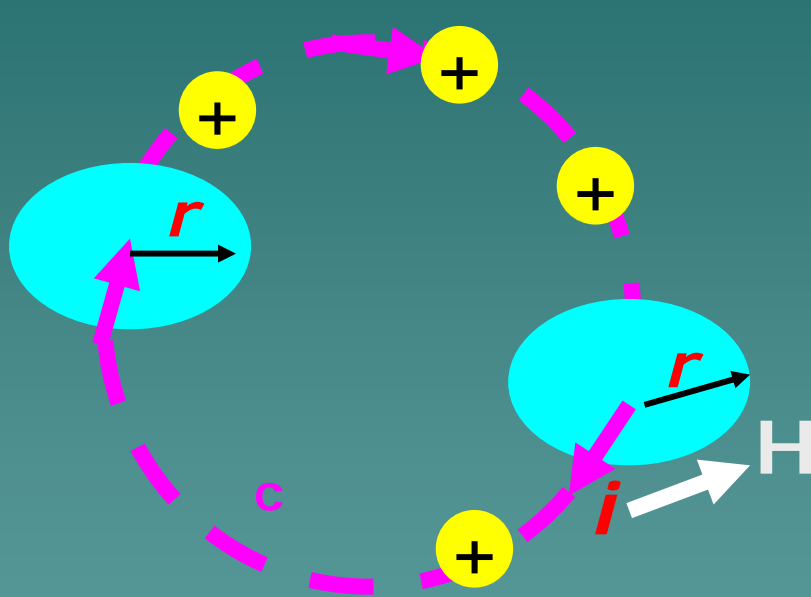
電磁誘導型イオン検出



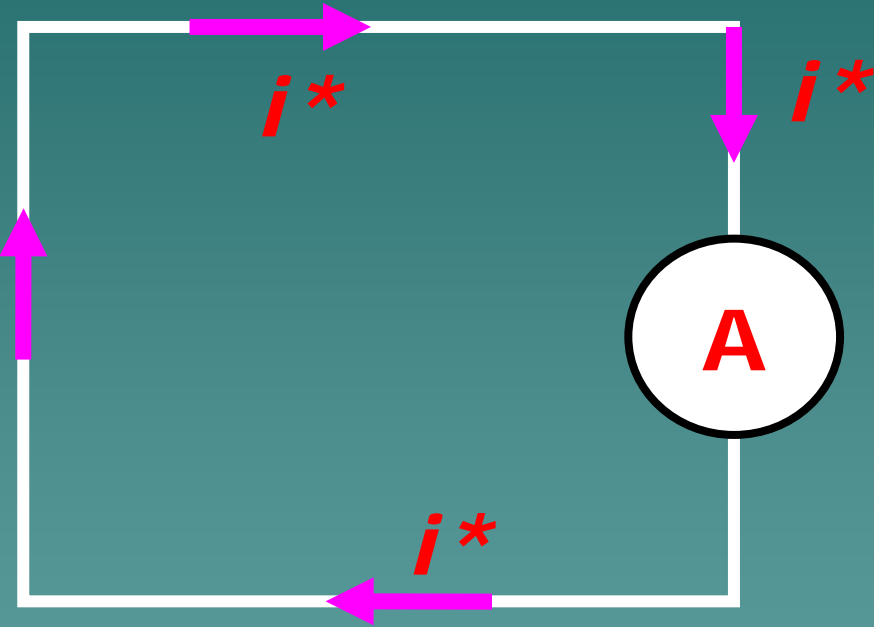
イオンの回転運動は電流 i

電磁誘導とは

イオンの回転運動は電流 i



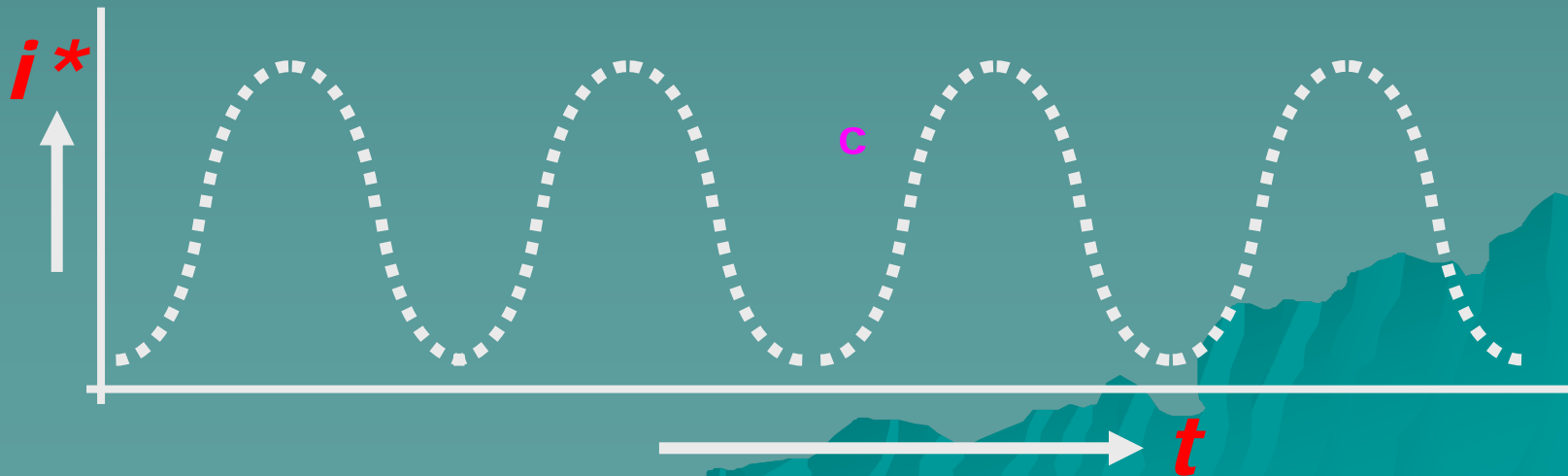
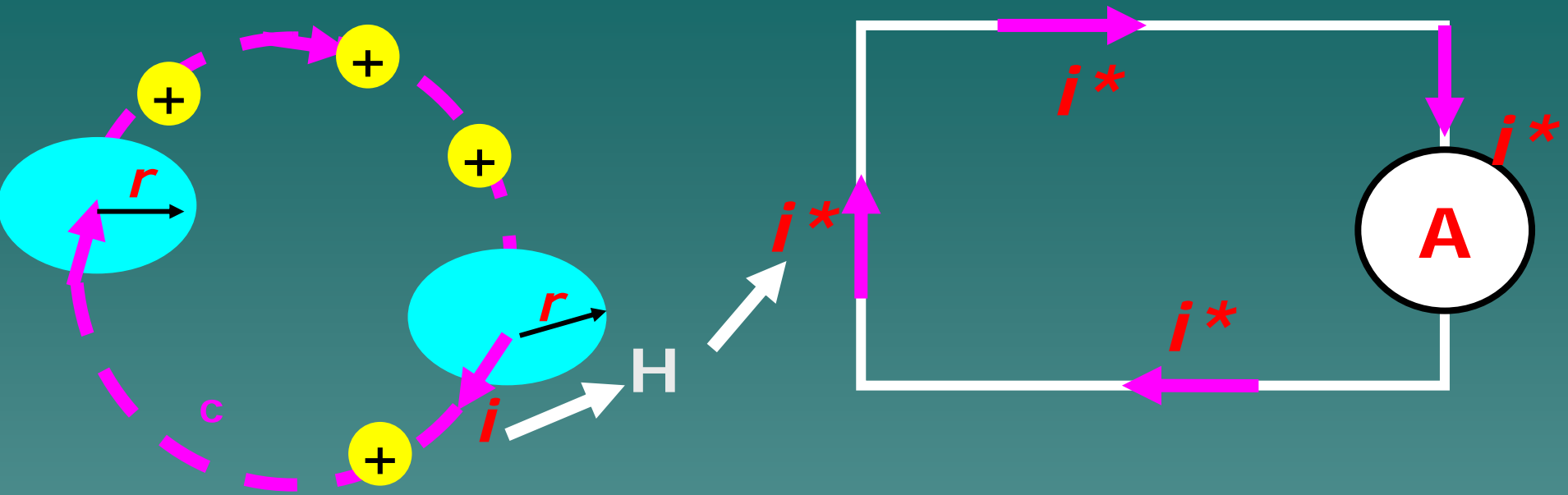
閉回路に誘導電流 i^* が流れる



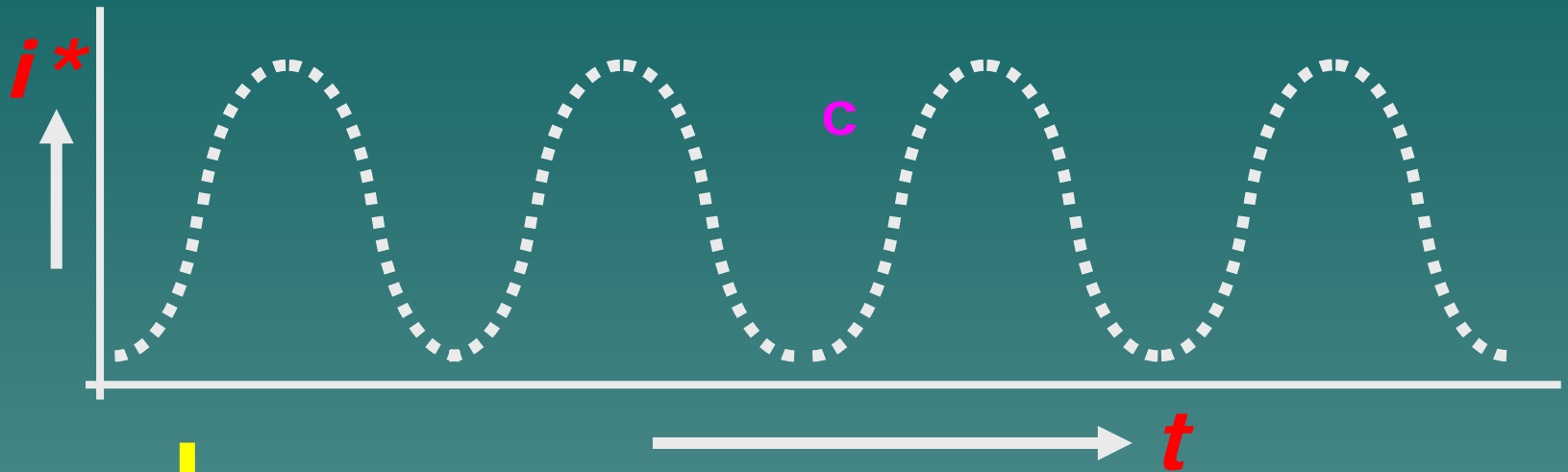
電流 i は磁界 H を生む

$$H = k \cdot i \quad H = k/r$$

誘導電流を観測記録する



誘導電流のAD変換後にフーリエ変換



↓ AD 変換

$i^*(t_0), i^*(t_1), i^*(t_2), \dots, i^*(t_i), \dots$

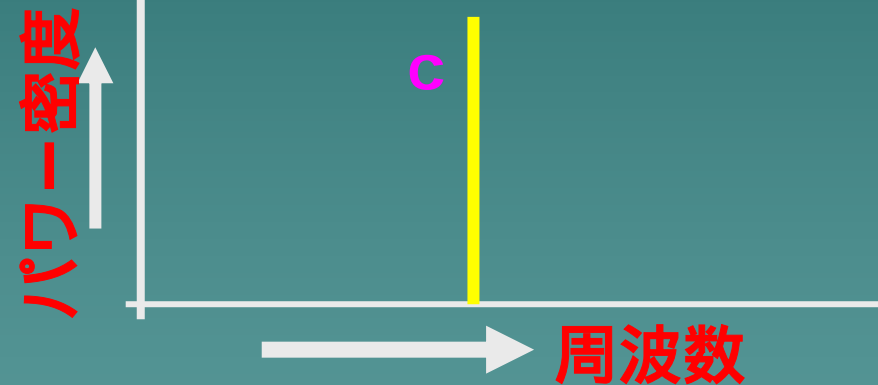
誘導電流の時系列データの作成

↓ フーリエ変換(周波数解析)

フーリエ変換からマススペクトルへ

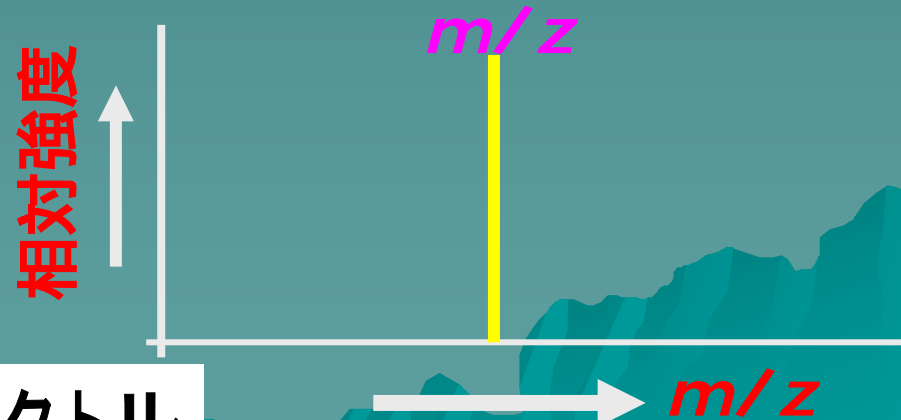
$i^*(t_0), i^*(t_1), i^*(t_2), \dots, i^*(t_i), \dots$

フーリエ変換 (周波数解析)



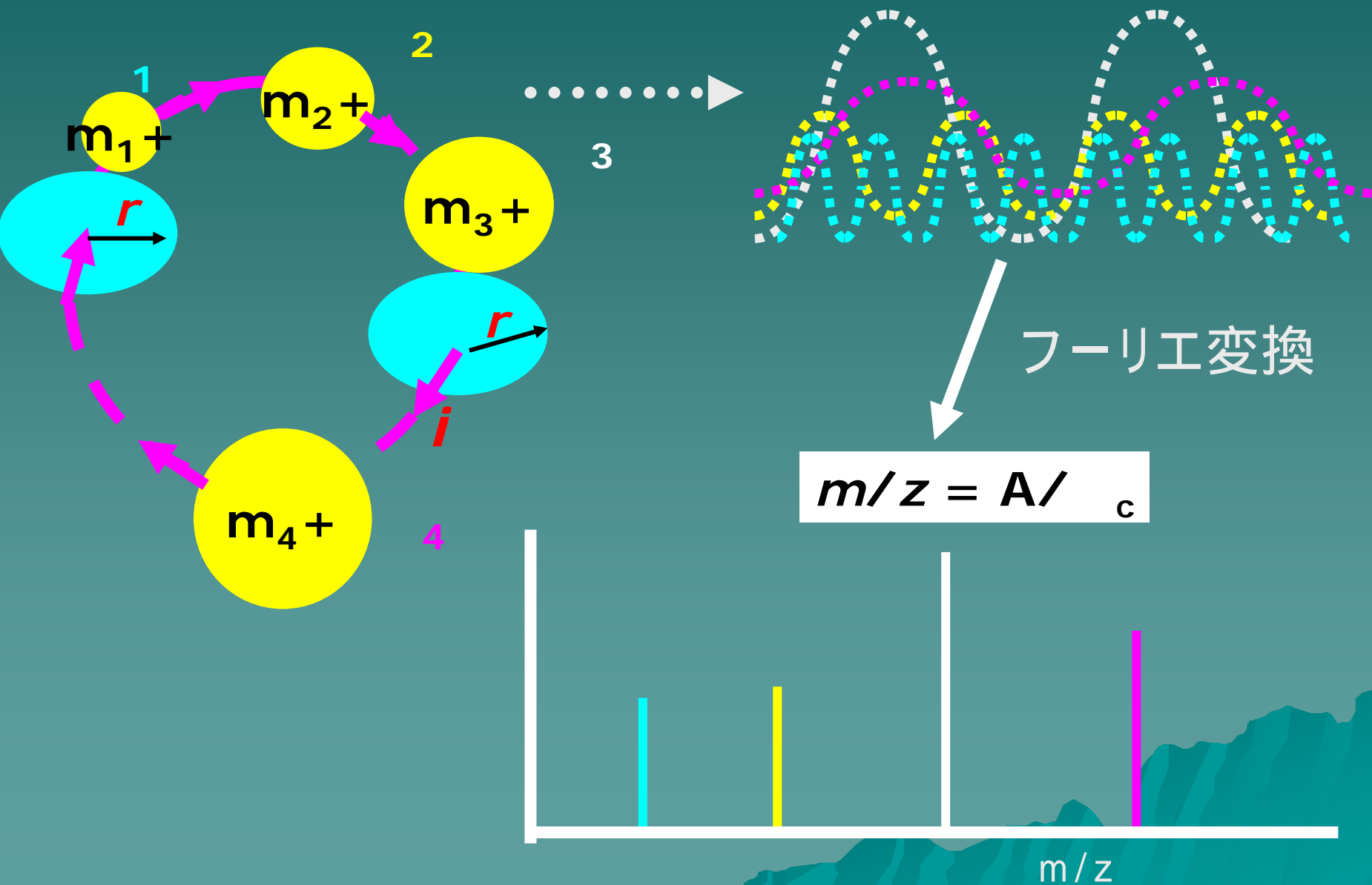
パワースペクトル

$$m/z = 1.537 \times 10^7 B / c$$



マススペクトル

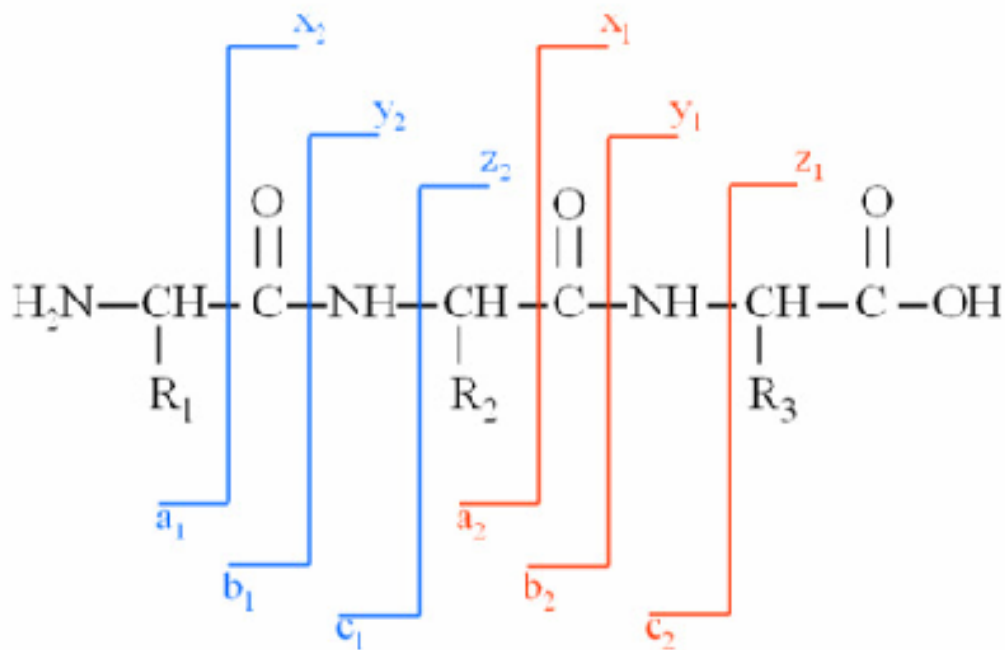
いろいろな m/z 値のイオンを励起して誘導電流を検出しマススペクトルを得る



FTMSにおける質量分析分解法

特定のプリカーサーイオンを分解させ構造解析する

Ion Dissociation Techniques in the FTMS Analyzer Cell



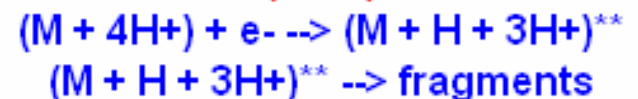
Collision-Induced Dissociation (SORI-CID)



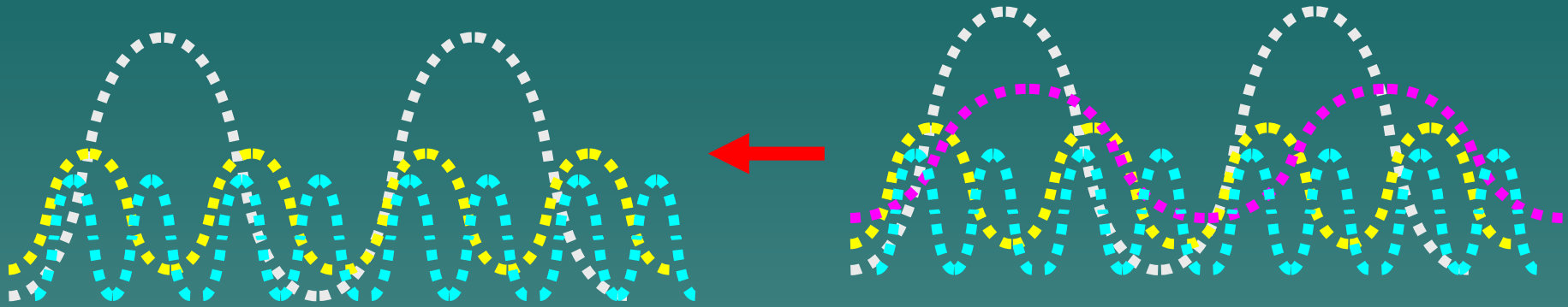
Infrared Multiphoton Dissociation (IRMPD)



Electron Capture Dissociation (ECD)



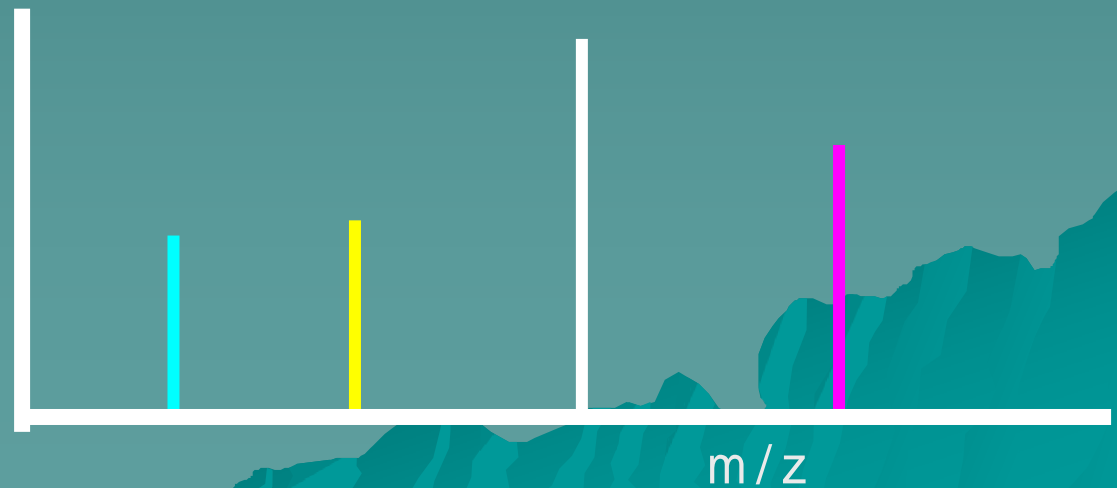
特定のプリカーサーイオンをトラップ内に残す Stored Waveform Inverse Fourier Transform (SWIFT) 法



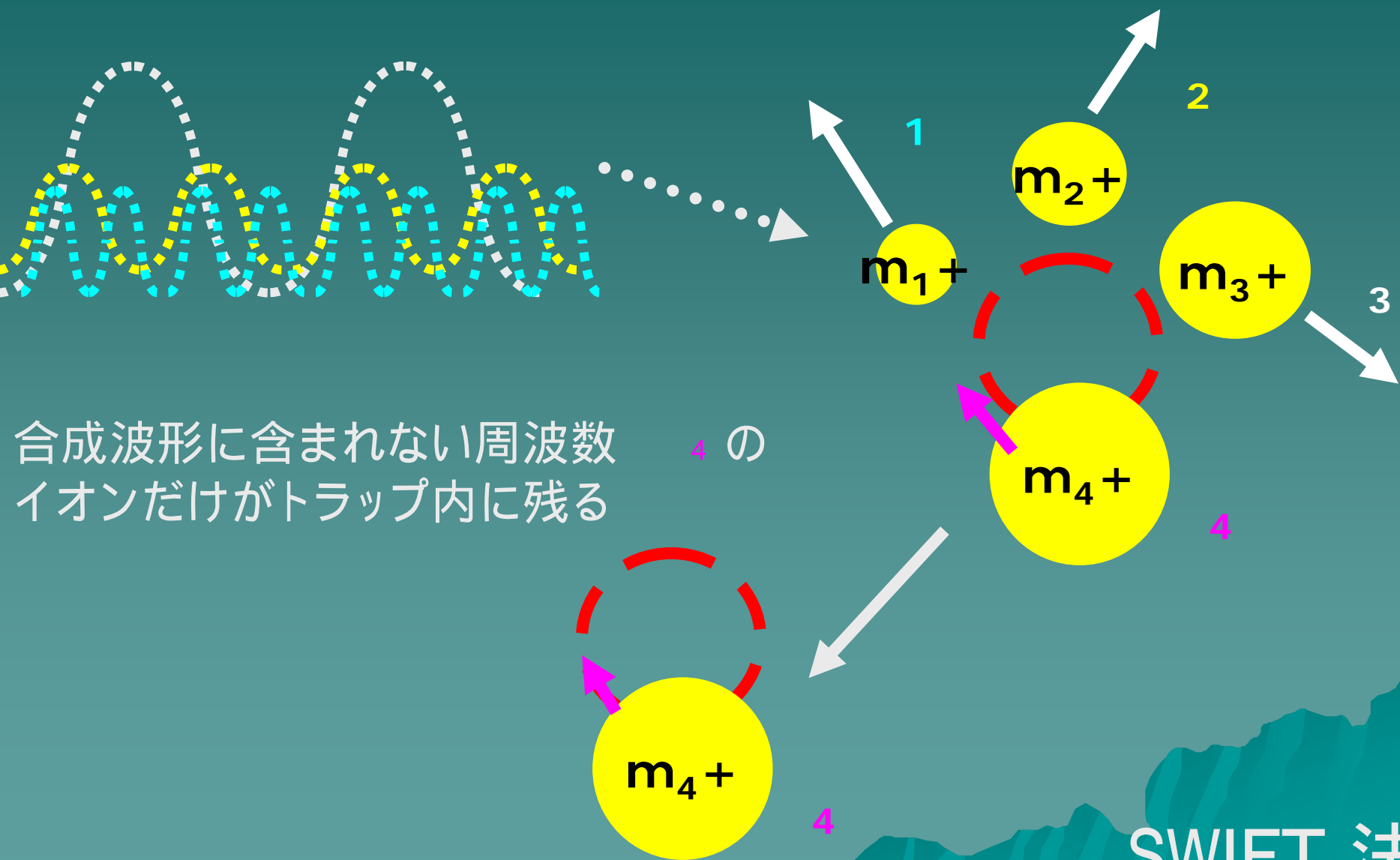
逆フーリエ変換によって得られた合成波から
残したいイオンの周波数を除く

逆フーリエ変換

$$c = A z / m$$



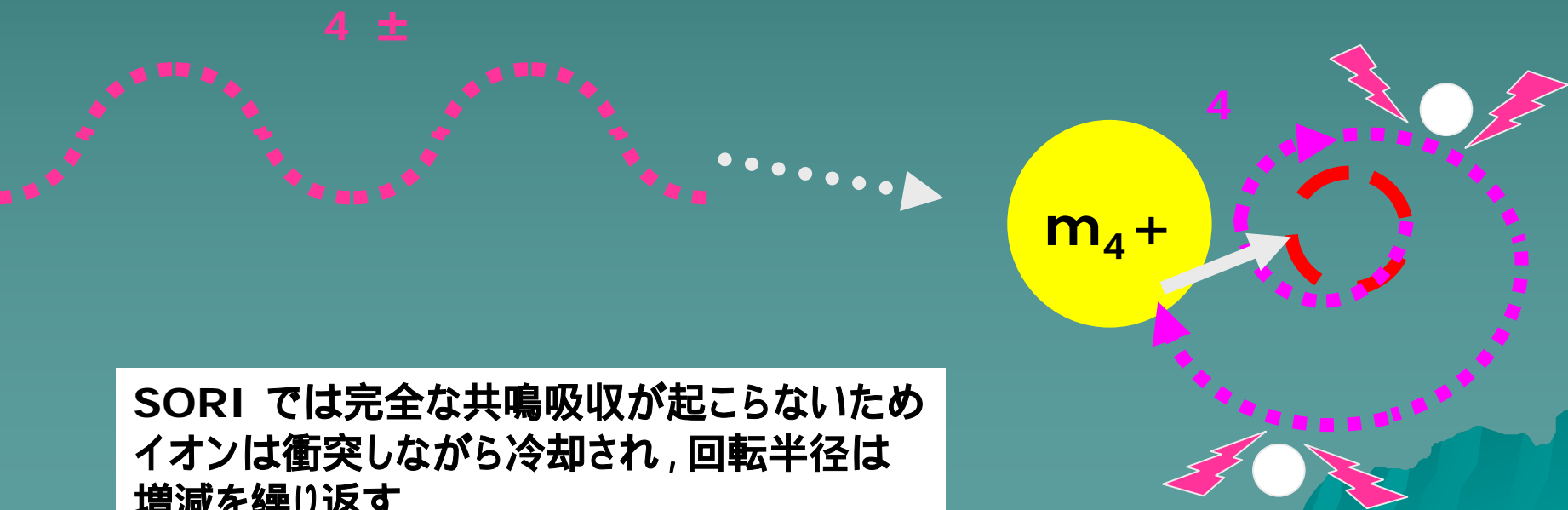
合成波形の交流電場をかけて励起しイオンを追い出す



SWIFT 法

プリカーサーイオンを非共鳴励起させ 低エネルギー衝突誘起解離を起こさせる

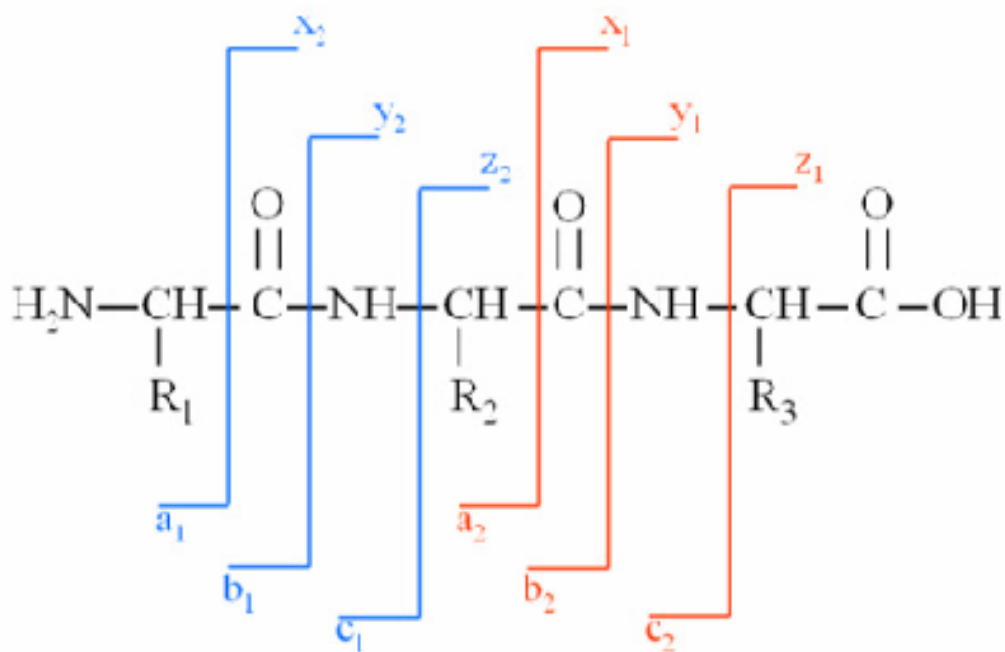
Sustained Off-Resonance Irradiation (SORI)
継続的な非共鳴照射



SORI では完全な共鳴吸収が起こらないため
イオンは衝突しながら冷却され、回転半径は
増減を繰り返す

FTMSでは赤外パルスレーザー照射や 低速電子線照射も行われる

Ion Dissociation Techniques in the FTMS Analyzer Cell



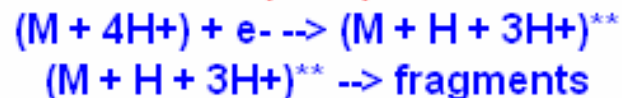
Collision-Induced Dissociation (SORI-CID)



Infrared Multiphoton Dissociation (IRMPD)



Electron Capture Dissociation (ECD)



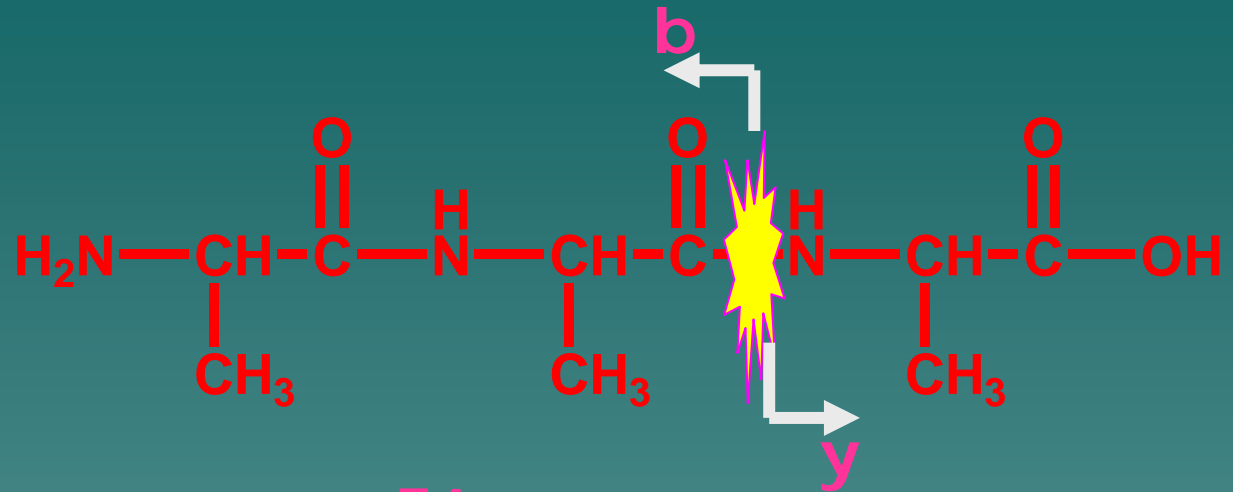
質量分析分解法と分解特性 - 1 -

エネルギー再分配蓄積型 (エルゴード的) :

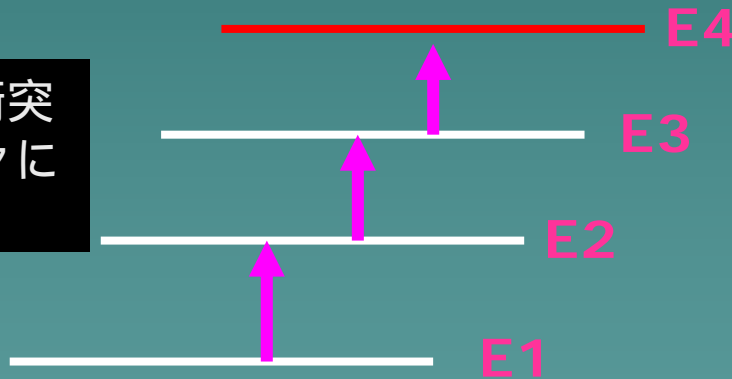
最低エネルギー障壁の分解窓が開く, 例えばペプチド結合 CO-NH の分解. y-, b-イオンの生成が特徴だが, 分解は非特異的(どこでも切れる可能性がある).

- ◆ 低エネルギーCID (SORI-CID)
- ◆ IRMPD

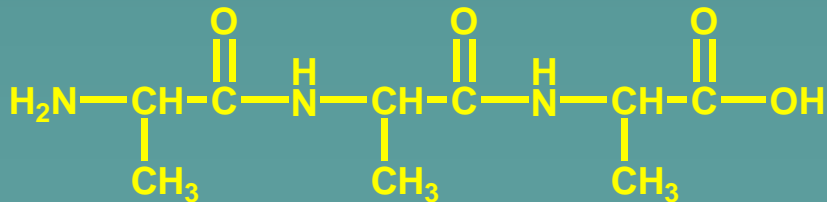
低エネルギーCIDとエルゴード的分解



エネルギーは衝突の度ごとに徐々に蓄積する



各結合にエネルギーが均一に分配され、最も弱い結合が優先的に切れやすい。



質量分析分解法と分解特性 - 2 -

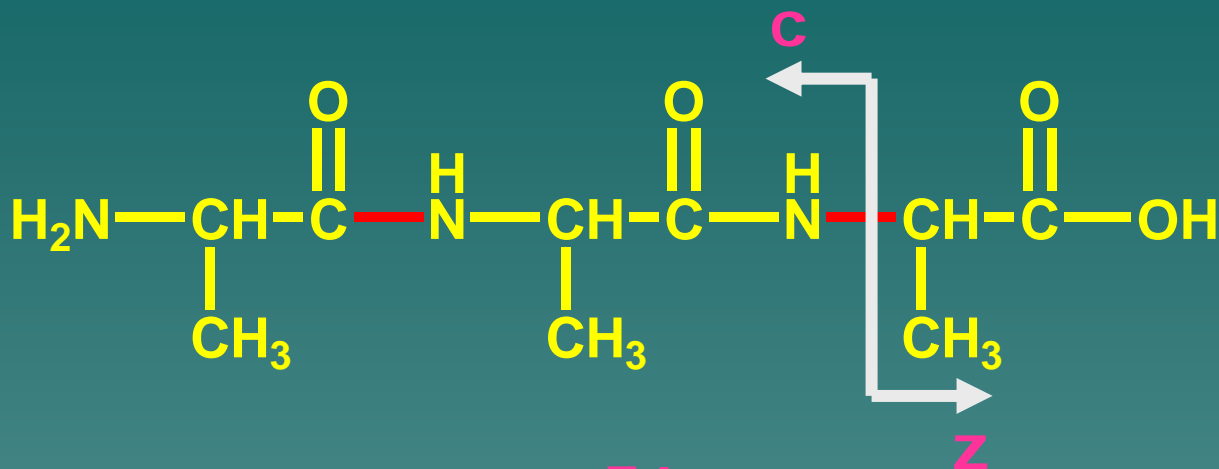
局所不安定化型 (非エルゴード的) :

エネルギーが局所部位に集中し結合を不安定化させ、エネルギー再分配が起こる前に分解する速い過程が特徴。高エネルギーCIDにおけるチャージリモートフラグメンテーションが例。

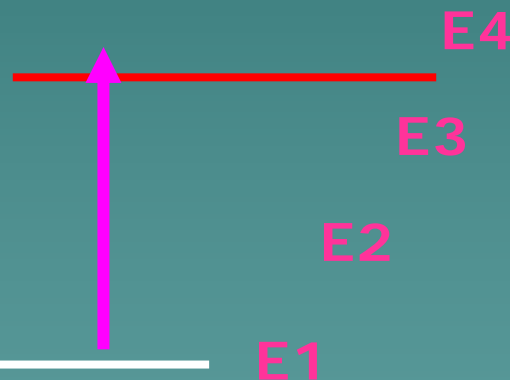
または、部位特異的に不対電子が生じ不安定化する速い特異的分解反応が特徴。

◆ ECD

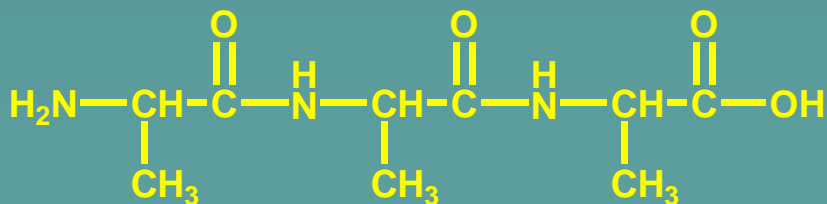
速い非エルゴード的分解



エネルギーは局所的に一気に蓄積される。または、部位特異的に不安定化する。

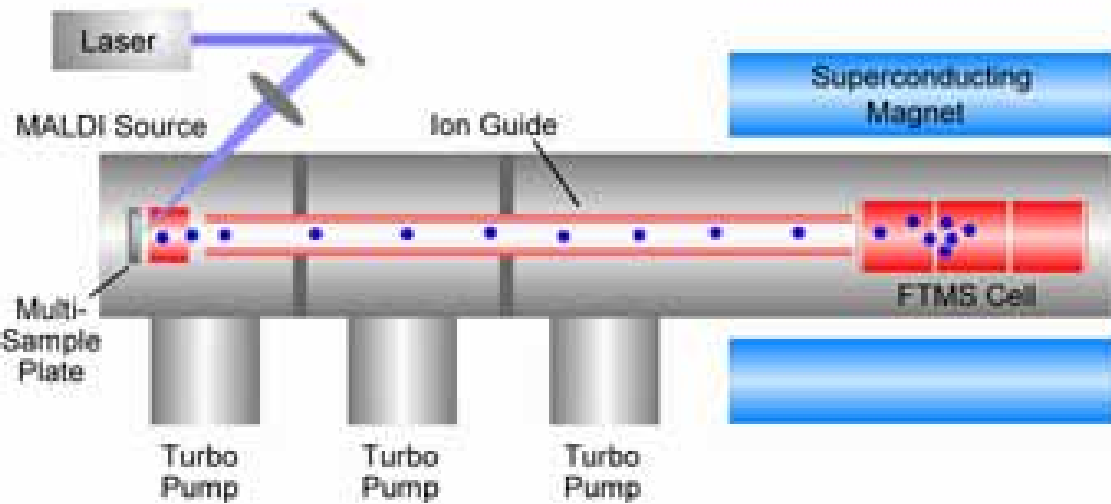


電子付加解離 (ECD)ではN-C結合の特異的分解が生じる。詳細な機構は不明。

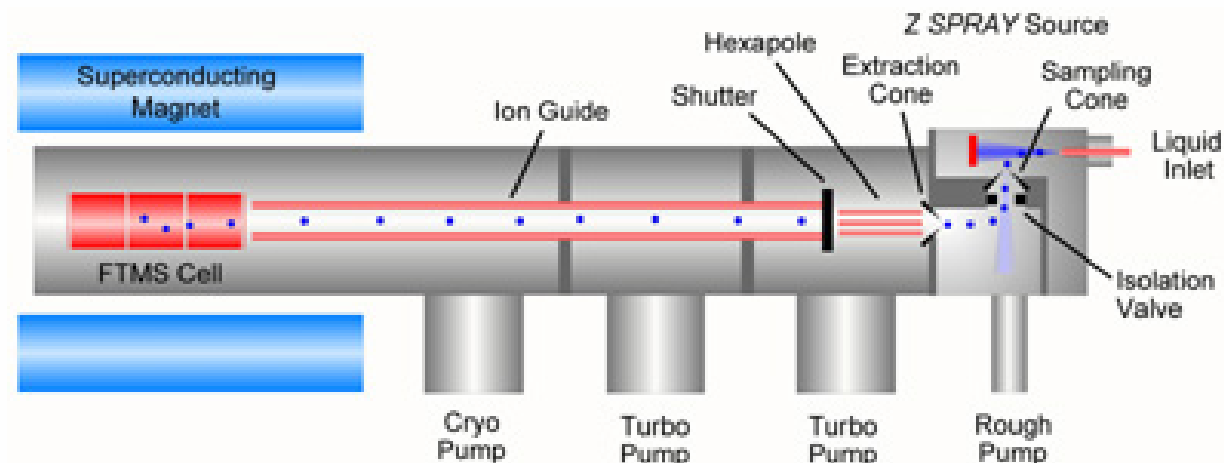


FTMSのイオン光学系

MALDI Source



Electrospray FTMS

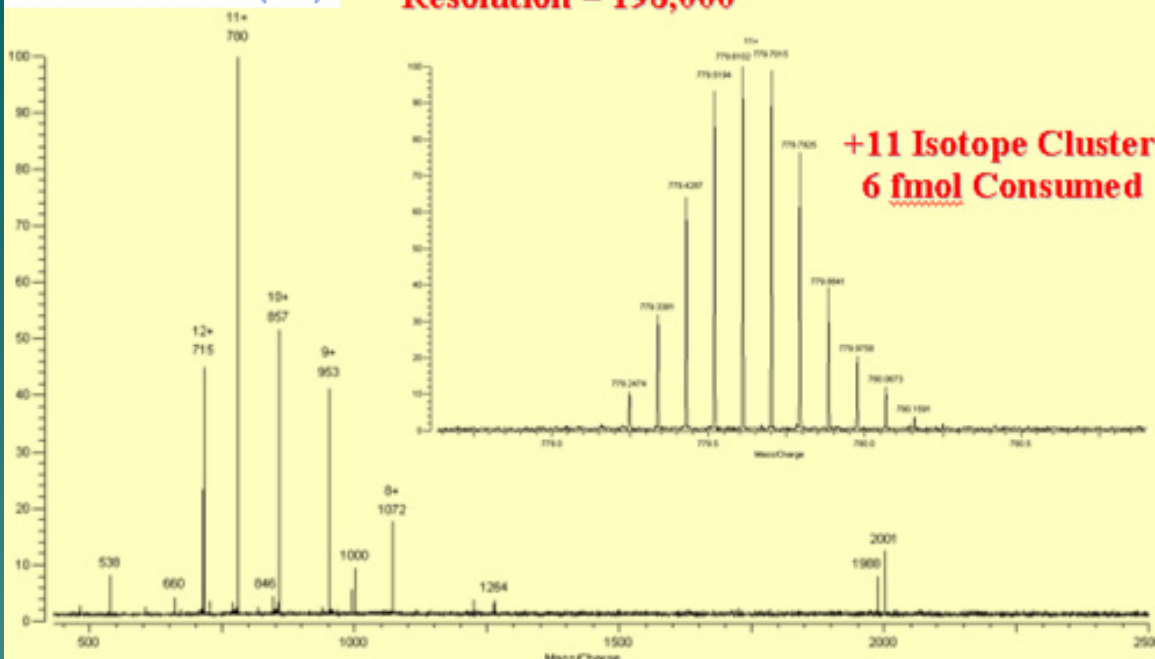


超高分解能

IonSpec HiResESI

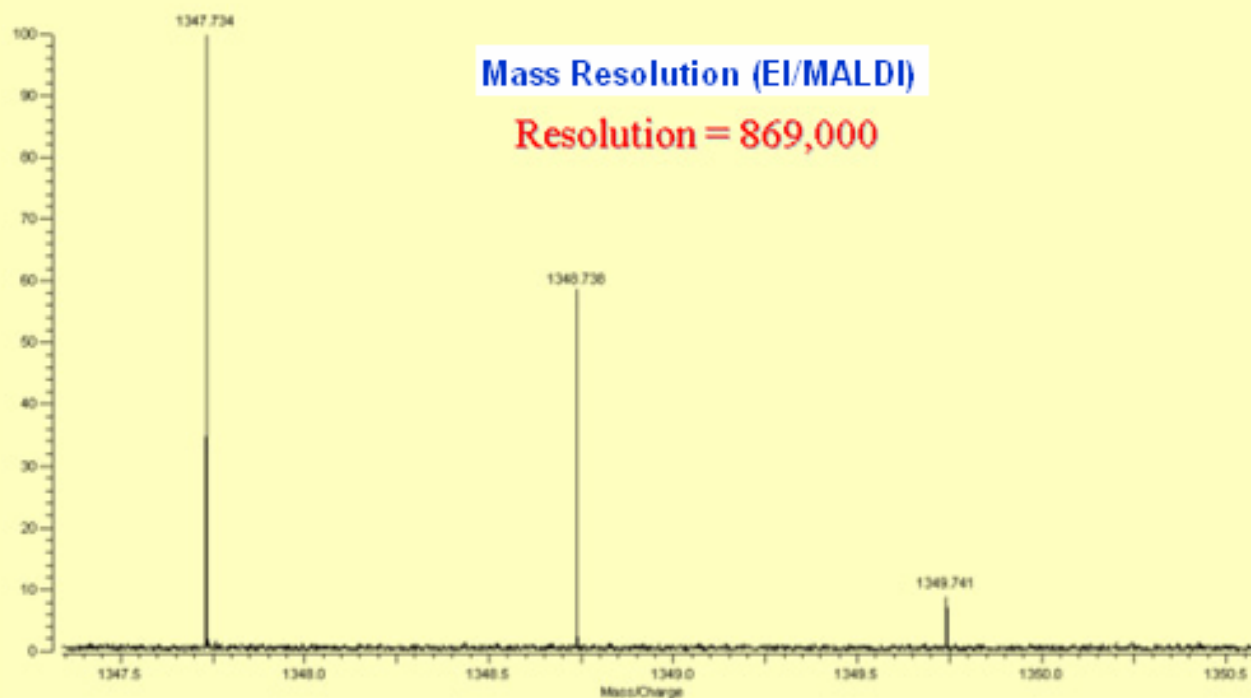
Resolution = 198,000

Scan: 1
Time: 10:31:35
Scale: 390.7453

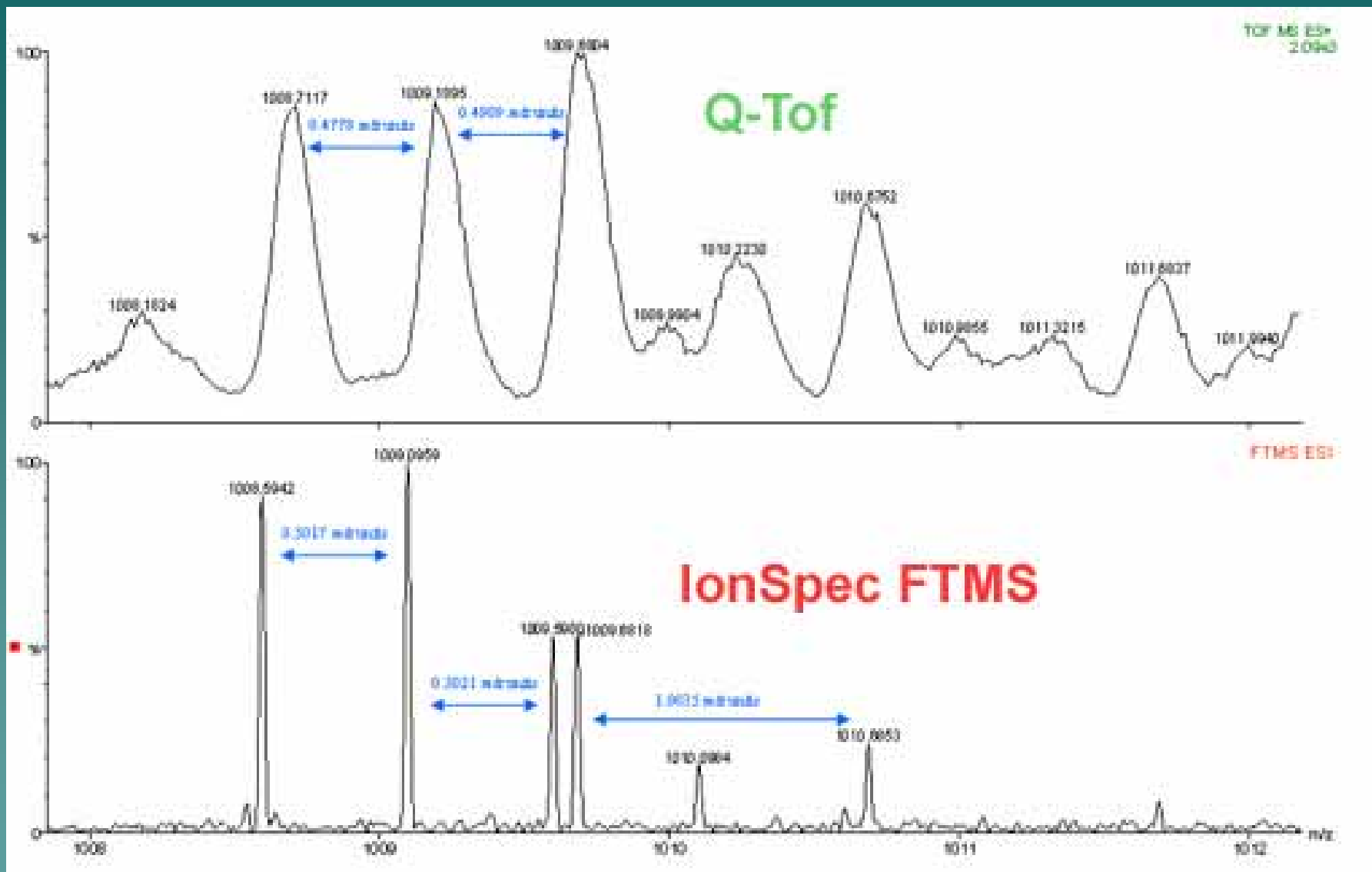


Mass Resolution (EI/MALDI)

Resolution = 869,000



超高分解能と高精度



FTMSにおける質量分解能

$$\frac{m}{\Delta m} = \frac{c}{v} \cdot \frac{z}{m} \cdot B \cdot T \quad (\text{基本関係式})$$

計測時間 T が信号の減衰緩和時間 より十分に長いときに良好な分解能が得られる

$$\frac{m}{\Delta m} = c \cdot e \cdot B \cdot T \cdot \frac{z}{m}$$

- ・高分解能にするには、一回あたりの計測時間を より長くとる。
- ・電荷数 z の高いイオンピークの分解能は高い。
- ・分解能は質量 m とともに低くなる。

質量電荷比決定の精度

Mass Accuracy (ESI)

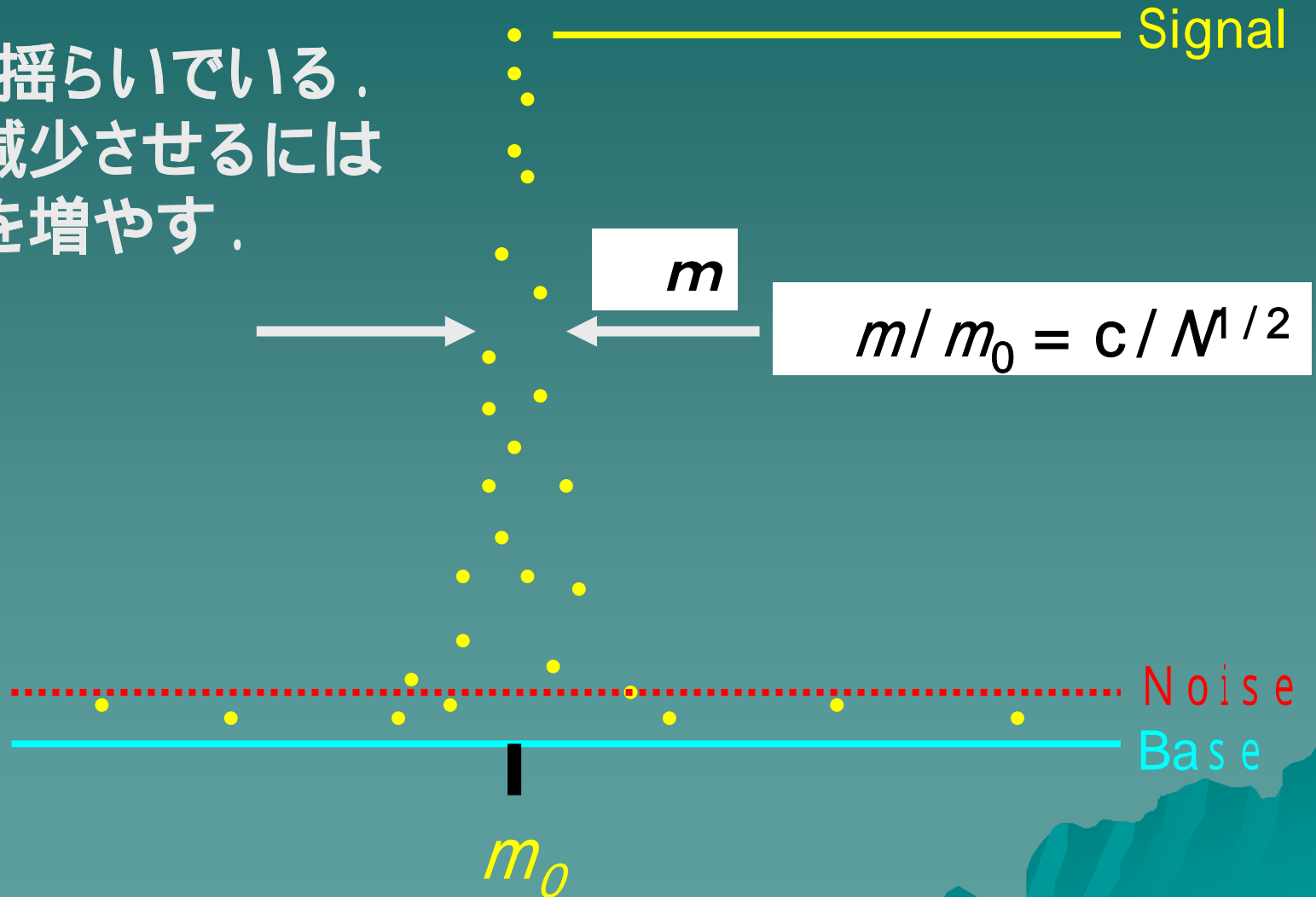
Measured m/z	Exact m/z	Error (ppm)
371.20356	371.20374	-0.5
648.84585	648.84602	-0.3

Mass Accuracy (EI/MALDI)

Measured m/z	Exact m/z	Error (ppm)
143.10673	143.10666	0.91
185.15371	185.15361	0.54
199.16950	199.16926	1.21
241.21646	241.21621	1.04
298.28694	298.28663	1.04

精度は積算回数 N に依存

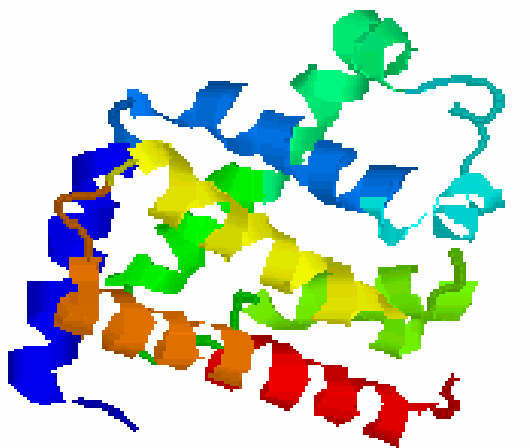
測定値は揺らいでいる。
ゆらぎを減少させるには
データ数を増やす。



FTMSを使うタンパク質研究のトップ ダウン戦略

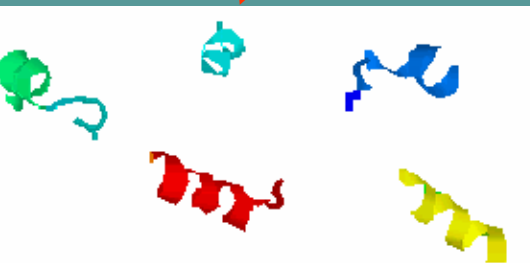


MSを使うタンパク質同定のトップダウン戦略 生成イオンのMS情報 (m/z 値) を使う



Myoglobin (Aquomet, pH 7.1)
X-ray Diffraction

タンパク質を
MS分解



m/z of product ions

Peptide-mass Fingerprinting

Enzymatic digestion



m/z of peptide ions

Top-down by means of
Mass Spectrometric Degradation

ペプチドを
MS分解

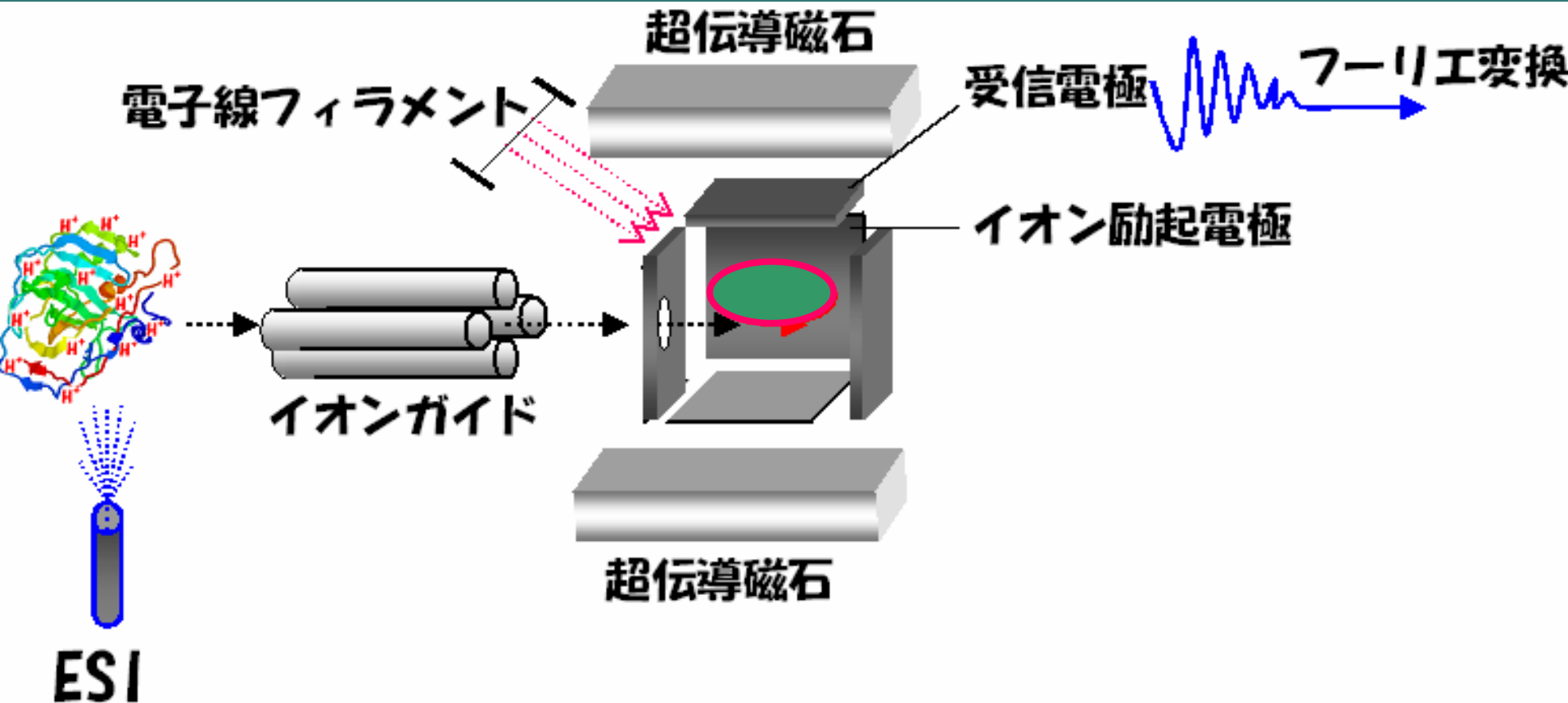


m/z of product ions

生成イオンの m/z 値
からアミノ酸配列解析

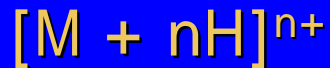
ESI-FTICR MS による 直接シーケンシング

電子とタンパク質の相互作用を利用する特異的開裂



FTICR セル中でのタンパク質の特異的分解

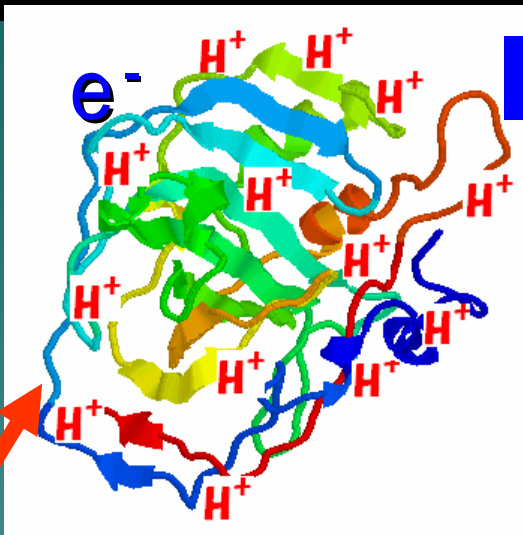
特定の多価イオンを選択



低速電子線の照射

超伝導磁石

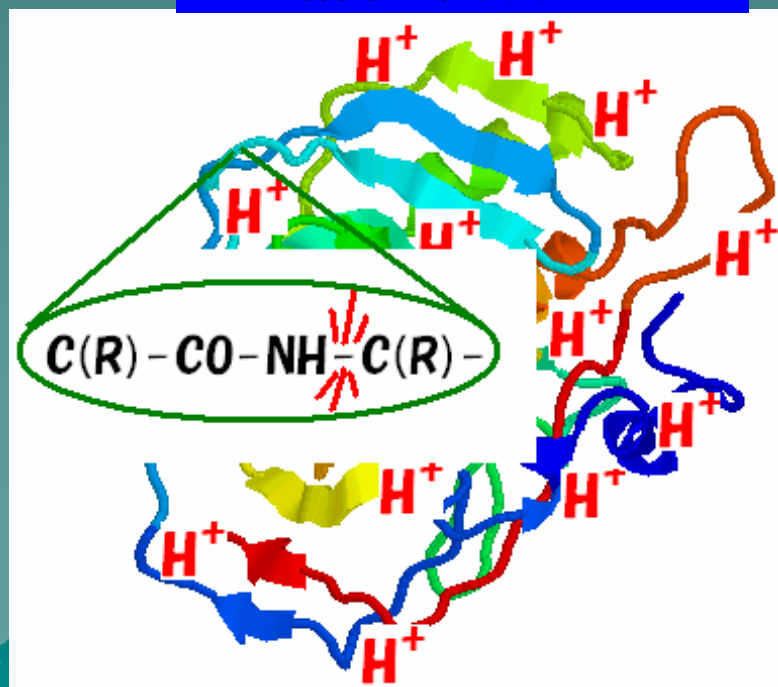
電子線



電子付加



電子親和力による主鎖 N-C結合の開裂



Ubiquitin の多価イオン $[M + 11H]^{11+}$ のECDスペクトル

R.A.Zubarev et al., Anal. Chem., 72 (2000) 563.

