

【WEB】令和4年度 質量分析初歩講習会 7
質量分析の基礎演習編-マススペクトルの解析演習-

第1回 GC/MSにより得られるマススペクトル解析
(奇数電子イオンのフラグメンテーション解析)

【開催日時】 2022年11月11日(金) 13時30分～16時00分 (途中参加・途中退室可)

【場所】 WEB ミーティング(ZOOM)

【世話人】 大阪大学 三宅里佳、奈良先端科学技術大学院大学 西川嘉子、
鳥取大学 横野瑞希、北海道大学 岡征子、名古屋大学 瀧健太郎

【講師】 高橋 豊 氏 (エムエス・ソリューションズ株式会社)

【参加対象者】 MS測定経験者および今後、測定する予定のある方。

【参加者】 34人

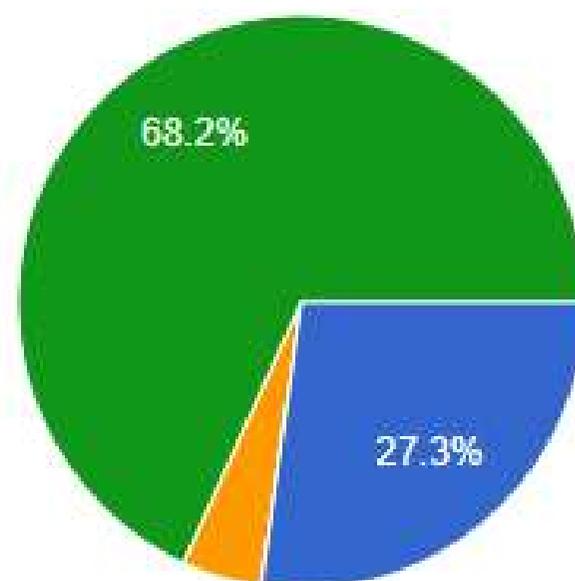
【プログラム】

13:30-16:00

1. マススペクトルの読み方(復習)
 - (1) マススペクトルから得られる情報
 - (2) マススペクトルで観測されるイオンについて
 - (3) マスディフェクト値の利用
2. マススペクトル解析演習(課題を出しておきます)

設備ネット 質量分析初歩講習会への参加は初めてですか？

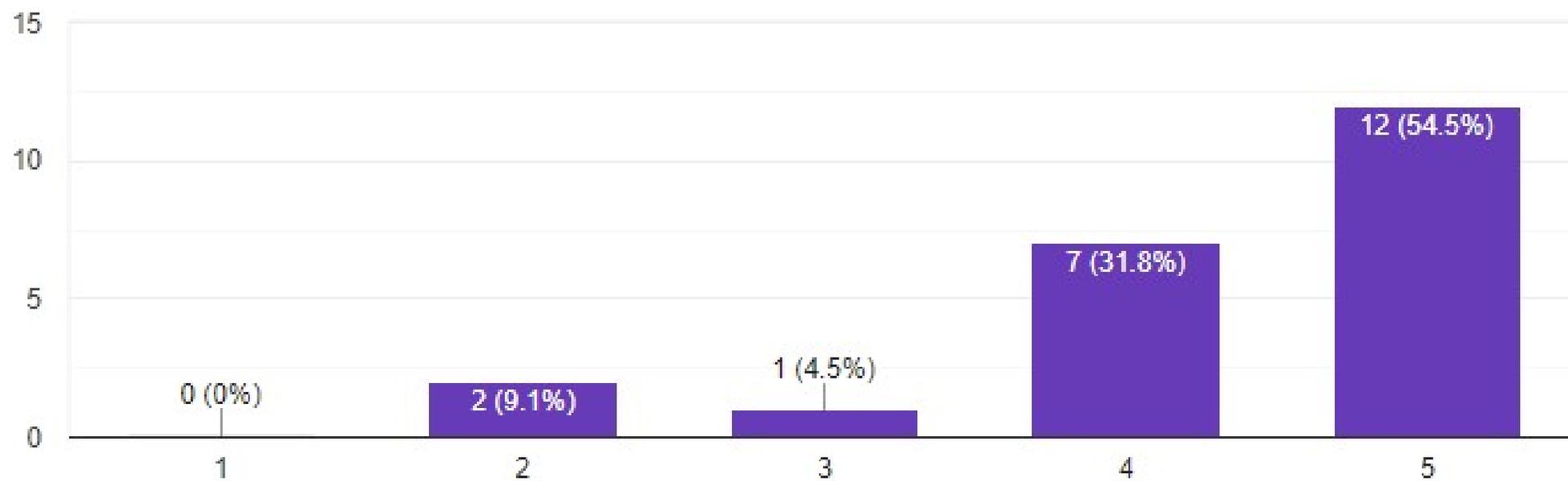
22 件の回答



- 初めて
- 2回目
- 3回目
- それ以上

セミナーにはどのくらい満足されましたか。

22件の回答

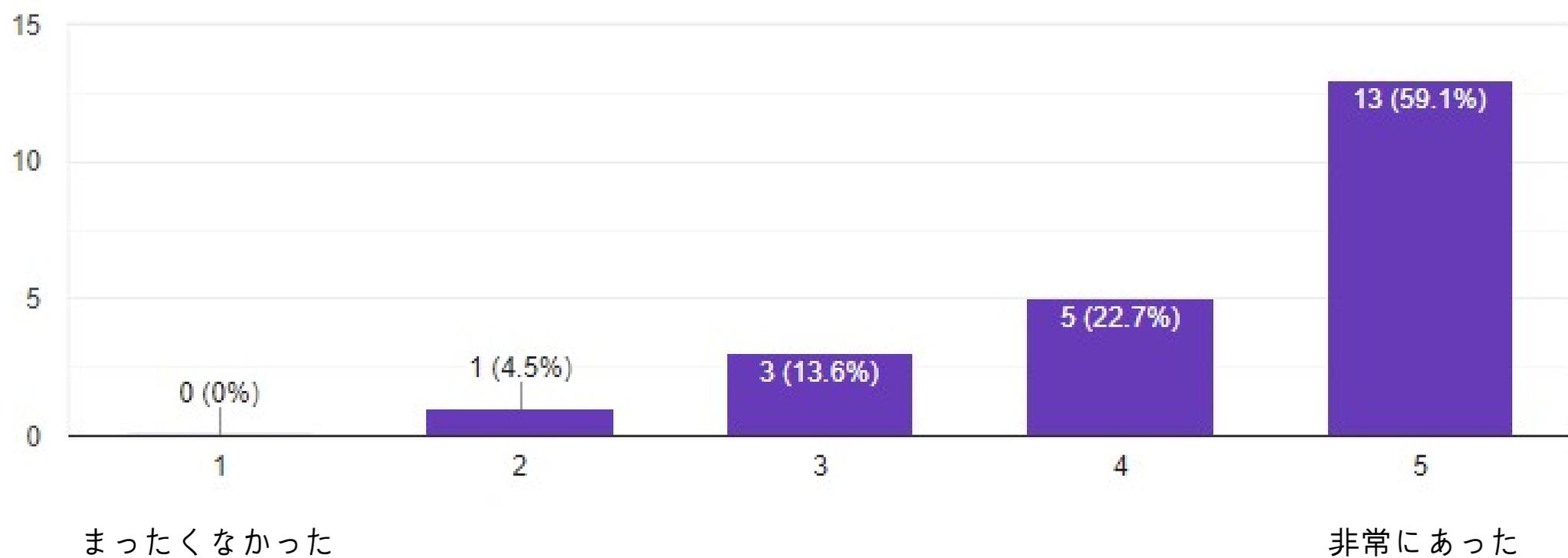


まったく満足しなかった

非常に満足した

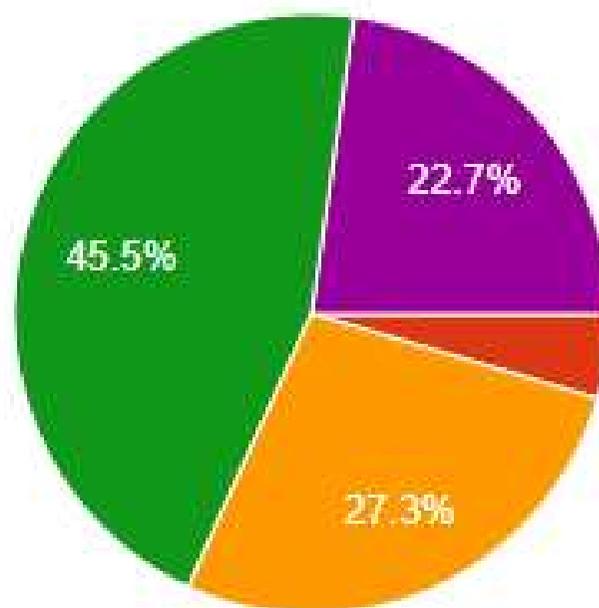
ご自分の仕事との関連性や、仕事に役立つ部分がありましたか。

22 件の回答



事前に送付した宿題は難しかったですか。

22 件の回答



- 簡単
- やや簡単
- ちょうどよい
- やや難しい
- 難しい

質問があればご記入ください。可能な限りフィードバックします。

- CIの解析で、分子イオンが出ない場合はどのような場合か教えて頂きたいです。ヒドロキシル基があると外れて見える(?)などがあればお願いします。

分子イオンと言うのは、分子質量関連イオン ($[M+H]^+$ など) と考えて良いでしょうかね?
CIで分子イオンが出るのは、そもそも結構稀なケースなので。
そうだとすると、CIで $[M+H]^+$ などが出ない場合と言うのは、なかなか難しいですね。

まず、加熱気化の段階で熱分解を起こしていると、CIであってもフラグメントイオンしか検出されませんね。

また、代表的な試薬ガス (メタン、イソブタン、アンモニア) の中で比較すると、メタンを使った場合は、フラグメントイオンが生成し易いです。

更に、CIは試薬ガスイオンと分析種分子とのプロトン移動 (電荷移動の場合もある)

なので、分析種分子が試薬ガスよりもプロトン親和力が小さい場合、CI反応は起こりません。

質問があればご記入ください。可能な限りフィードバックします。

- MALDIでのTOF-TOFの説明の時に、MALDIでは〇〇を観測できる貴重な手法とお話されていたと思います。聞き取れなかったので教えていただけるとありがたいです。

MALDIではCID（衝突誘起乖離）同様ポストソースフラグメンテーション（イオン化室を出てから検出器に到達する間に起こる）でメタステーブル分解が見れます。そのような装置が今の装置では少ないという話でした。

MALDIで生成したイオンの中で、フラグメンテーションが起こる活性化エネルギーぎりぎりの内部エネルギーをもって飛行管に飛び出したイオンの中で、その内部エネルギーの高さによって自発的に開裂するイオンがあります。加速電圧を受けて、検出器に到達するまで（実際にはリフレクターの手前）に開裂したイオンは、開裂によって運動エネルギーの一部を失うために、通常のイオンが反射するリフレクター条件では反射されず、通常のMALDI-TOFMSのマスペクトルでは検出されません。

そこで、リフレクター電圧を下げて、この飛行中に開裂したイオンをリフレクターで反射させて、プロダクトイオンスペクトルを測定する方法が、初期の頃のMALDI-TOF/TOFです。

MALDIで生成したイオンが飛行管に飛び出した直後に、タイムダイオンセクターでプリカーサーイオンを選択し、そのイオンのメタステーブル分解によって生成したイオンを、リフレクターの電圧を少しずつ下げながらリフレクターを通し、それらを積算して1枚のプロダクトイオンスペクトルとして記録します。

メタステーブル分解は効率が悪いですし、プロダクトイオンの運動エネルギーが低くなっているため検出感度も低く、更にイオンが生成してからタイムダイオンセクターまでの距離が短かったために、プリカーサー分解能が低いというデメリットがありました。

現在のTOF/TOFは、プリカーサーイオンを選択した後に高エネルギーCIDで開裂させて、コリジョンセルの出口で再加速させるので、検出感度が低いという問題はかなり解決されています。とはいえ、そもそも高エネルギーCID自体が、プリカーサーイオンからプロダクトイオンへの変換効率が低いので、LC-MS/MSに比べると圧倒的に感度は低いです。

ついでに、メタステーブルイオンはEIでも生成しますが、EIで生成したイオンのメタステーブル分解を観測できる装置は、EBやEBEなど、電場が後ろに配置されているセクターの装置だけです。更についでに書くと、昔のアナログ検出だった頃のセクターの装置では、EBの配置でも、通常のマスペクトルの中にメタステーブル分解によって生成したイオンが混ざって観測されていました。今のデジタル処理された装置では見えませんが、...

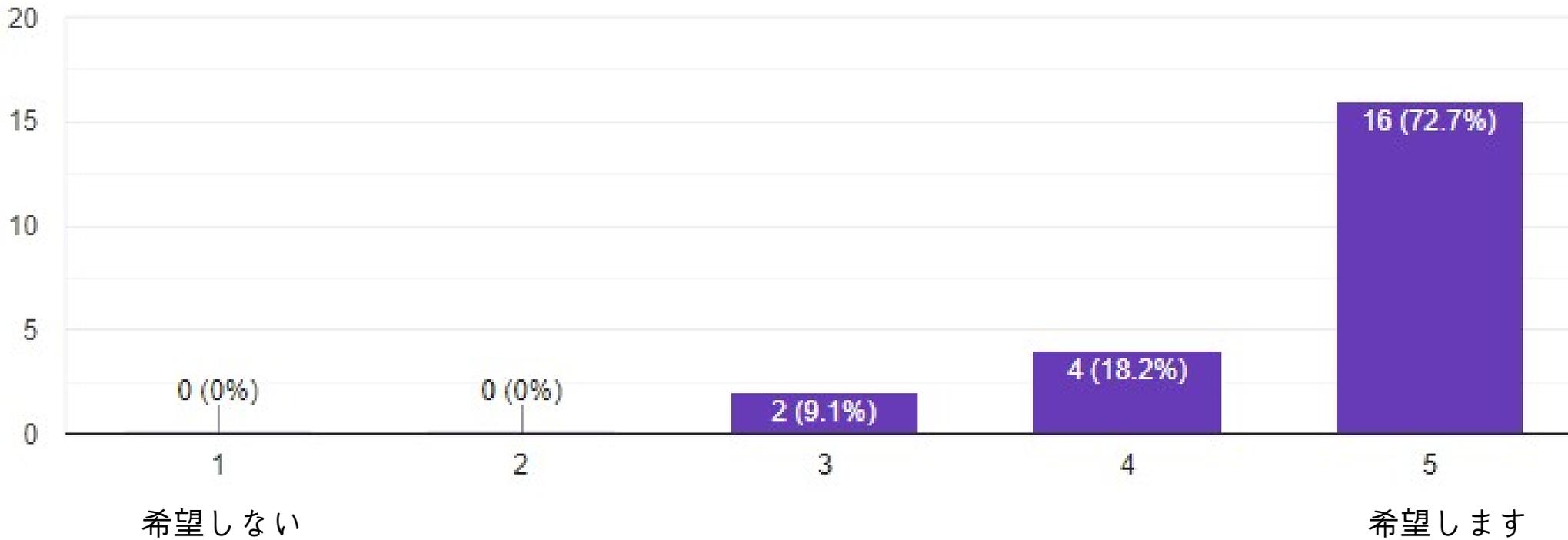
メタステーブル分解と通常のCIDによる分解で何が違うかと言うと、現象として現れる違いとしては、メタステーブル分解の方が転位反応を伴う開裂が起こり易いという特徴があります。

このセミナーの感想をご自由にお書きください。

- 普段EIを使っていないので良い勉強になりました
- 頭がパンパンになりましたが、電子の移動と開環のところは大変興味深く参考になりました。特に私のように高校化学で知識が止まってしまっている人にはとても分かりやすかったと思います。
- 今後も是非このようなセミナーに積極的に参加したいです。
- フラグメンテーションについて基礎的なことは知っておくといいなと思います。実際に解析に使うのは難しいのですが、宿題ははじめての方には難しいかなあ と思いました。お忙しい中、ご講演くださりありがとうございます。
- 内容が難しかったです
- 普段LC-MSかMALDIしか使っていなかったもので、GC-MSはこんなにフラグメントイオンが発生するのかと驚きました。
- フラグメントを解析していく無料の講習会はめったにないので、非常に参考になりました。EIとCIを比較してフラグメントの帰属があると良いと思いました。
- 普段はピークとして出ているフラグメントにばかり目を向けていましたが、残った構造が安定かどうか解析の上で重要だということ、とても勉強になりました。ありがとうございました。
- フラグメンテーションの解析について確認できました。宿題以外の例のフラグメンテーションについては、進むのが速くてあまり確認できなかったもので、資料をいただいてから確認したいと思います。分かっているのが前提なのかもしれませんが、解説するスペクトル数は絞って、解説できなかった分は後で自分で確認するのも良いので、せっかくなので有機化学論的反応の解説をもう少し詳しくしていただけたらありがたいです。

今後もこのようなセミナーの開催を希望されますか。

22 件の回答



今後企画してほしいセミナー内容やご意見ございましたらご記入ください。

- タイムプログラムの組み方や移動相の選び方など実践に近いもの
- もっと初心者向けの講習
- 業務が忙しく今年度は参加できないことが多いですが、また是非参加させていただきますのでよろしくお願いいいたします。



【WEB】令和4年度 質量分析初歩講習会 7
質量分析の基礎演習編-マススペクトルの解析演習-

第2回 LC/MSで得られるマススペクトルと低エネルギーCIDによる
フラグメンテーションの解析、初～中級編

【開催日時】 2022年12月9日(金) 13時30分～16時00分 (途中参加・途中退室可)

【場所】 WEB ミーティング(ZOOM)

【世話人】 大阪大学 三宅里佳、奈良先端科学技術大学院大学 西川嘉子、
鳥取大学 横野瑞希、北海道大学 岡征子、名古屋大学 瀧健太郎

【講師】 高橋 豊 氏 (エムエス・ソリューションズ株式会社)

【参加対象者】 MS測定経験者および今後、測定する予定のある方。

【参加者】 27人

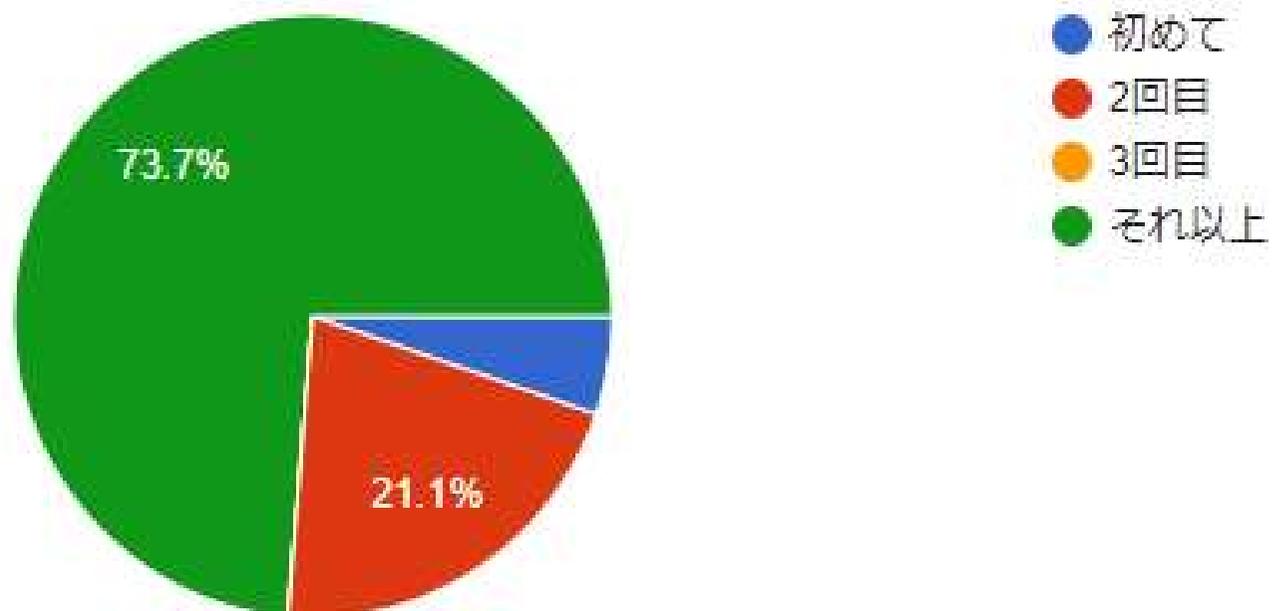
【プログラム】

13:30-16:00

1. ESIやAPCIで得られるマススペクトルの読み方（基本編）
2. 偶数電子イオンのフラグメンテーション解析の基本
3. 構造とフラグメントイオンの帰属

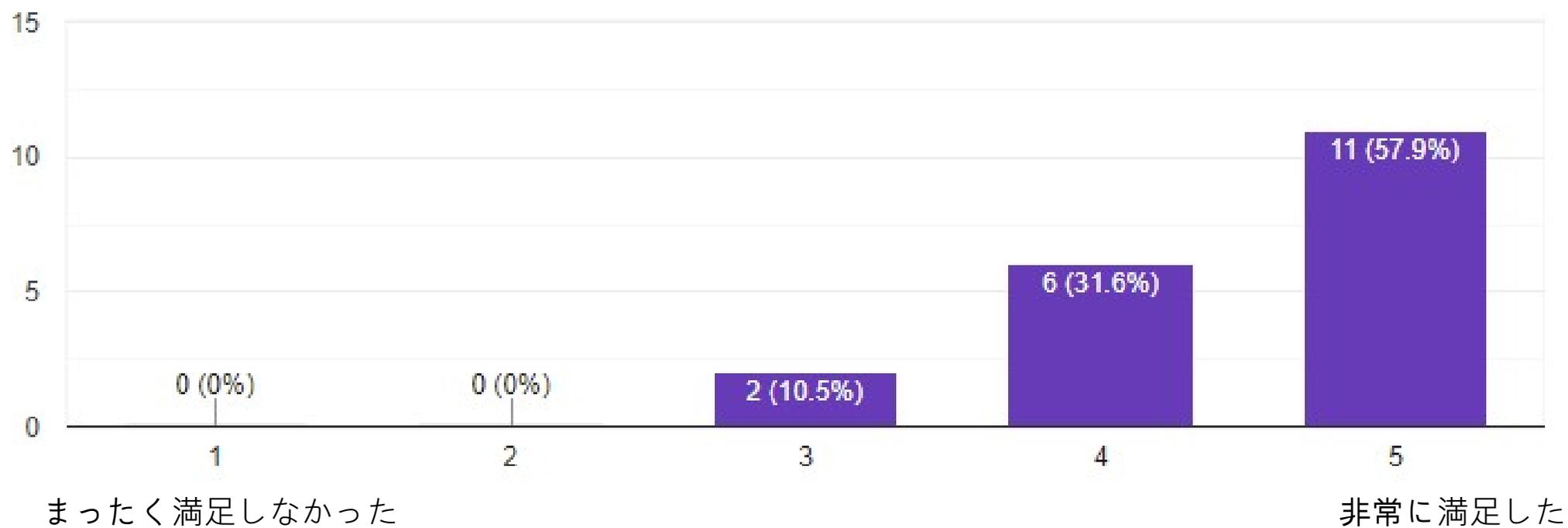
設備ネット 質量分析初歩講習会への参加は初めてですか？

19 件の回答



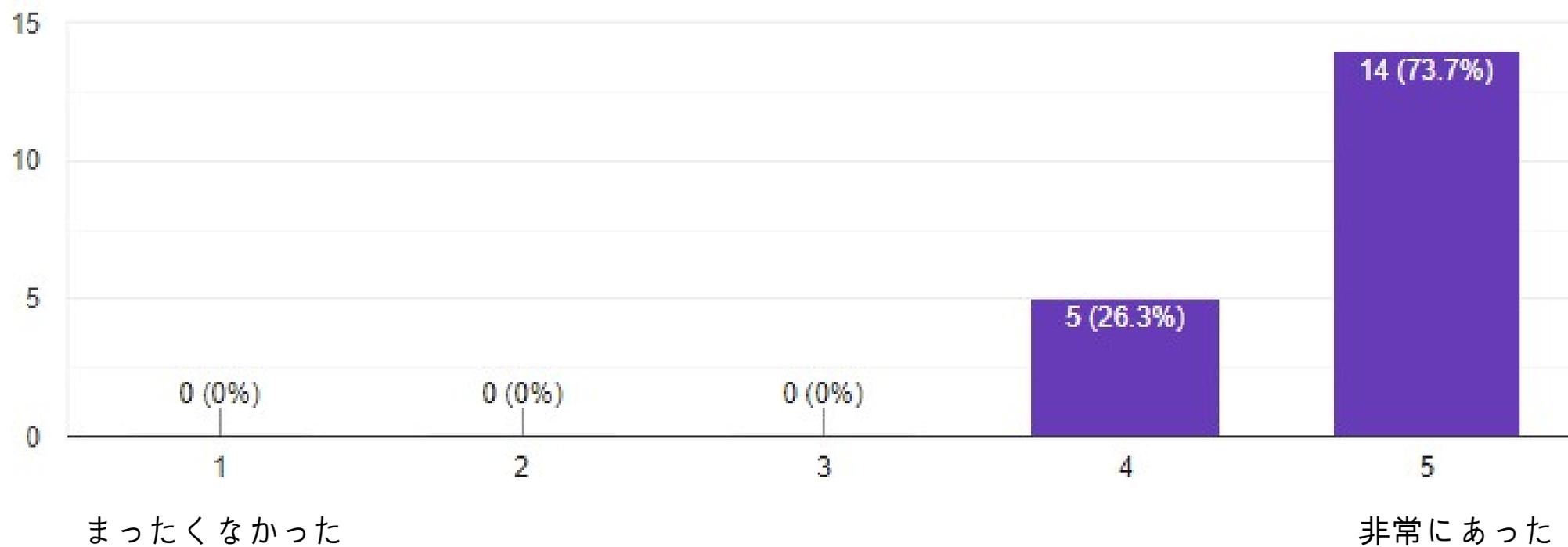
セミナーにはどのくらい満足されましたか。

19 件の回答



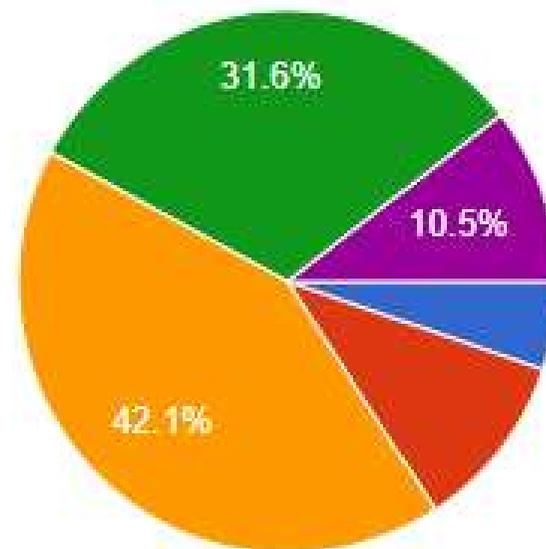
ご自分の仕事との関連性や、仕事に役立つ部分がありましたか。

19 件の回答



事前に送付した宿題は難しかったですか。

19 件の回答



- 簡単
- やや簡単
- ちょうどよい
- やや難しい
- 難しい

質問があればご記入ください。可能な限りフィードバックします。

- 低エネルギーCIDと高エネルギーCIDの効率の違いの原因は何でしょうか？単に不活化ガスと衝突する確率からでしょうか？もしくは、電子や振動の励起の様に、調度必要なエネルギーを与えた方が効率が上がるのでしょうか？（フラグメントイオンの数の違いにより、生じる各フラグメントイオン数が変わることによる感度への影響も入るのでしょうか。）

両者の違いは、イオンが不活性ガスと衝突する際の運動エネルギーの違いです。低エネルギーCIDは概ね200 eV以下、高エネルギーCIDは1 keV以上（通常10 keV以上）です。

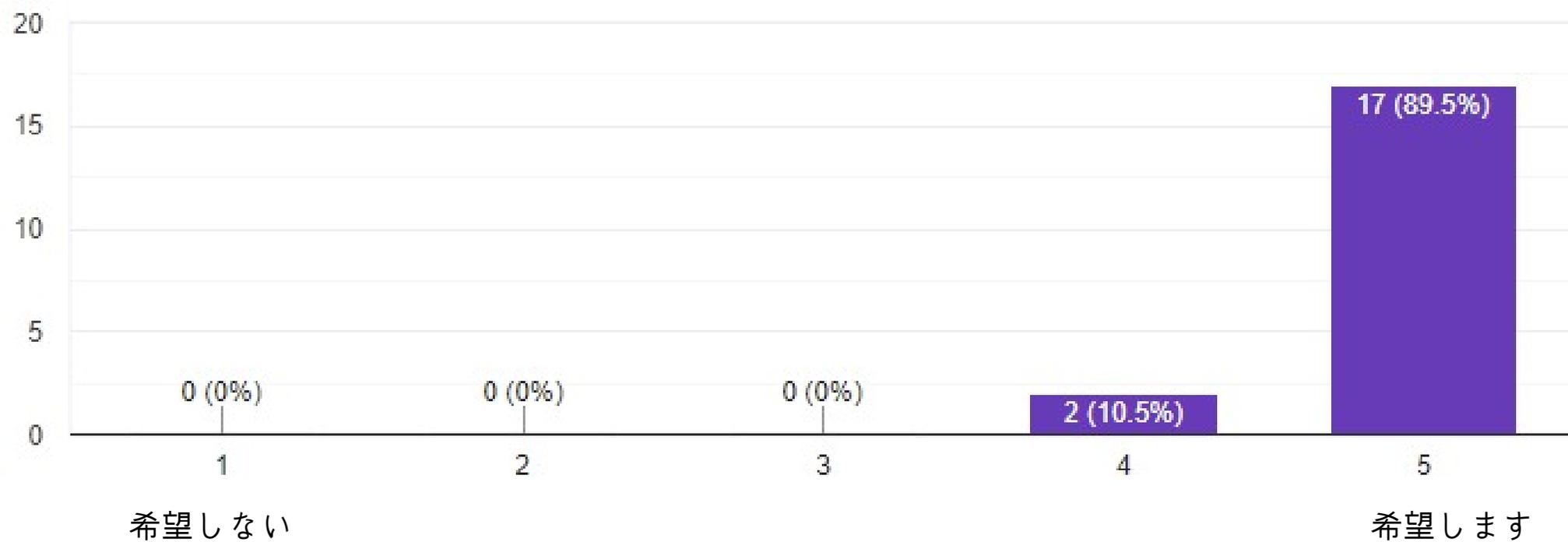
低エネルギーCIDでは数十回にも及ぶ衝突によって徐々にイオンの内部エネルギーが上昇するのに対して、高エネルギーでは通常1回の衝突で急速に内部エネルギーが上昇します。1回衝突と言っても、CIDセルに導入されたプリカーサーイオンの全てが不活性ガスと1回衝突するという意味ではなく、イオンがガスと衝突する確率が非常に低いという事で、ご推察のように、「単に不活化ガスと衝突する確率から」と言う認識で合っています。

高エネルギーCIDでは、イオンと不活性ガスが衝突する時のエネルギーが高いために、複数の結合が同時多発的に開裂して、一度に複数のフラグメントイオンが生成します。

高エネルギーCIDの感度が低いのは、衝突する確率が低い事はもちろん、多くのフラグメントイオンが生成するために、内部エネルギーが多くの結合の開裂に分散されて使われるためです。

今後もこのようなセミナーの開催を希望されますか。

19 件の回答



このセミナーの感想をご自由にお書きください。

- 業務の関係で後半しか見れなかった。ビデオの公開を検討願いたい。
- 受動的なセミナーとは違い、緊張感があって良かったです。途中出てきたchem spiderやfrom monoisotopic massなどの利用方法などもとても参考になりました。
- これからLCMSの利用を予定している者です。MSスペクトルの見方が大変、参考になりました。有難うございました。
- 業務に役立つ内容で大変勉強になりました。ありがとうございました。
- 精密質量はどのピークからも同じように算出されないといけないと思っていましたが、誤差が生じてしまうことがわかって良かったです。
- 業務と重なってしまったので、途中退席しました。基礎から説明して下さるので、勉強になります。
- 実際に測定することがなく、解析をどのようにするのかわからなかったのですが、実例があると理解しやすくなりました。その点で宿題は良かったです。
- 1回目と2回目で高エネルギーCIDと低エネルギーCIDについて説明していただき、更に質問に対して色々な解答をしてくださったことで、今まで気付いていなかった事について考えたり、普段使っていないCIDについての興味が増したりして、CIDとフラグメントイオンの発生、また装置についての理解が少し深まりました。

今後企画してほしいセミナー内容やご意見ございましたらご記入ください。

- 測定したい物質に対する最初の条件検討の方法。



【WEB】令和4年度 質量分析初歩講習会 7
質量分析の基礎演習編-マススペクトルの解析演習-

第3回 LC/MSで得られるマススペクトルと低エネルギーCIDによる
フラグメンテーションの解析、中～上級編

【開催日時】 2023年1月11日(水) 13時30分～16時00分(途中参加・途中退室可)

【場所】 WEB ミーティング(ZOOM)

【世話人】 大阪大学 三宅里佳、奈良先端科学技術大学院大学 西川嘉子、
鳥取大学 横野瑞希、北海道大学 岡征子、名古屋大学 瀧健太郎

【講師】 高橋 豊 氏 (エムエス・ソリューションズ株式会社)

【参加対象者】 MS測定経験者および今後、測定する予定のある方。

【参加者】 29人

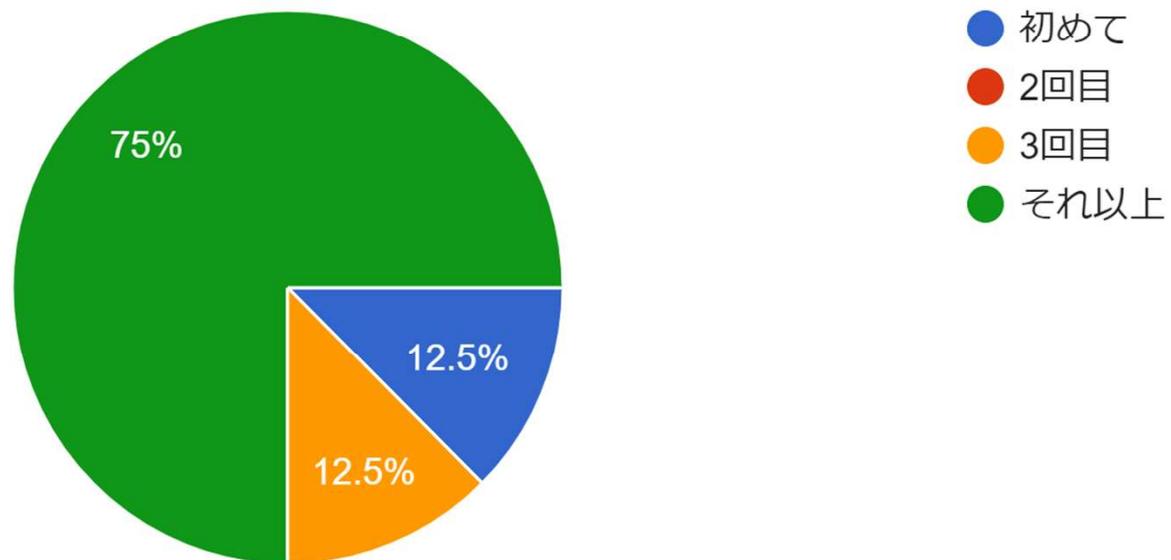
【プログラム】

13:30-16:00

1. ESIやAPCIで得られるマススペクトルの読み方(応用編)
電子の動きから考える偶数電子イオンのフラグメンテーション解析
プロダクトイオンと解析ツールを使った構造推定
2. マススペクトル解析演習(課題)
3. まとめ
4. Q&A

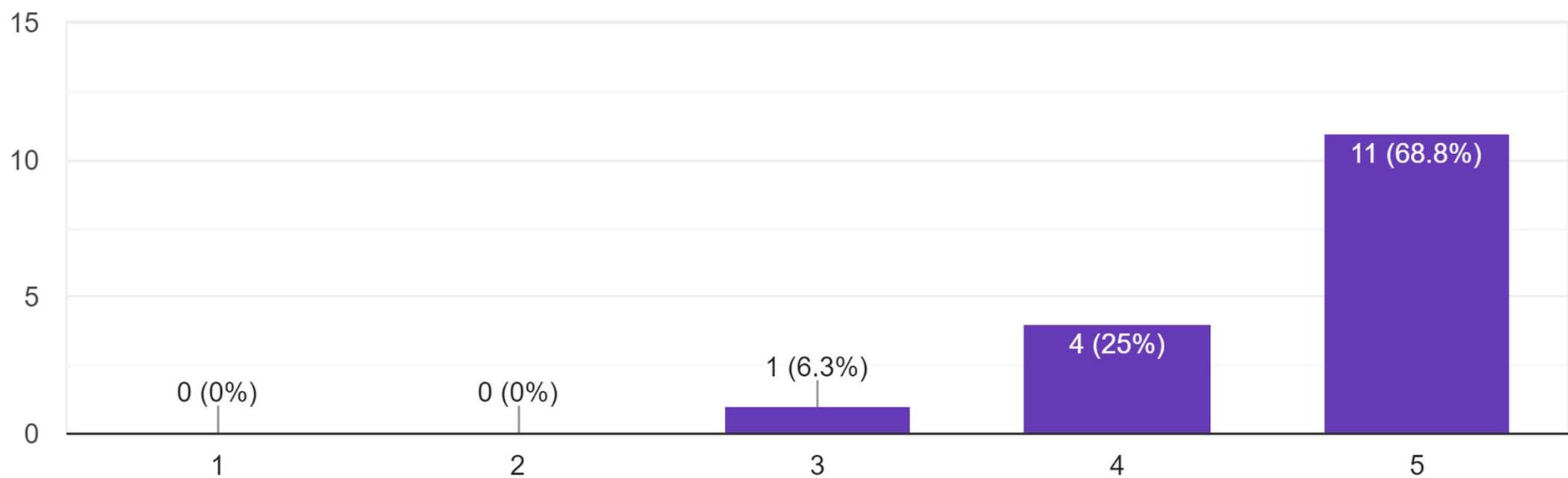
設備ネット 質量分析初歩講習会への参加は初めてですか？

16 件の回答



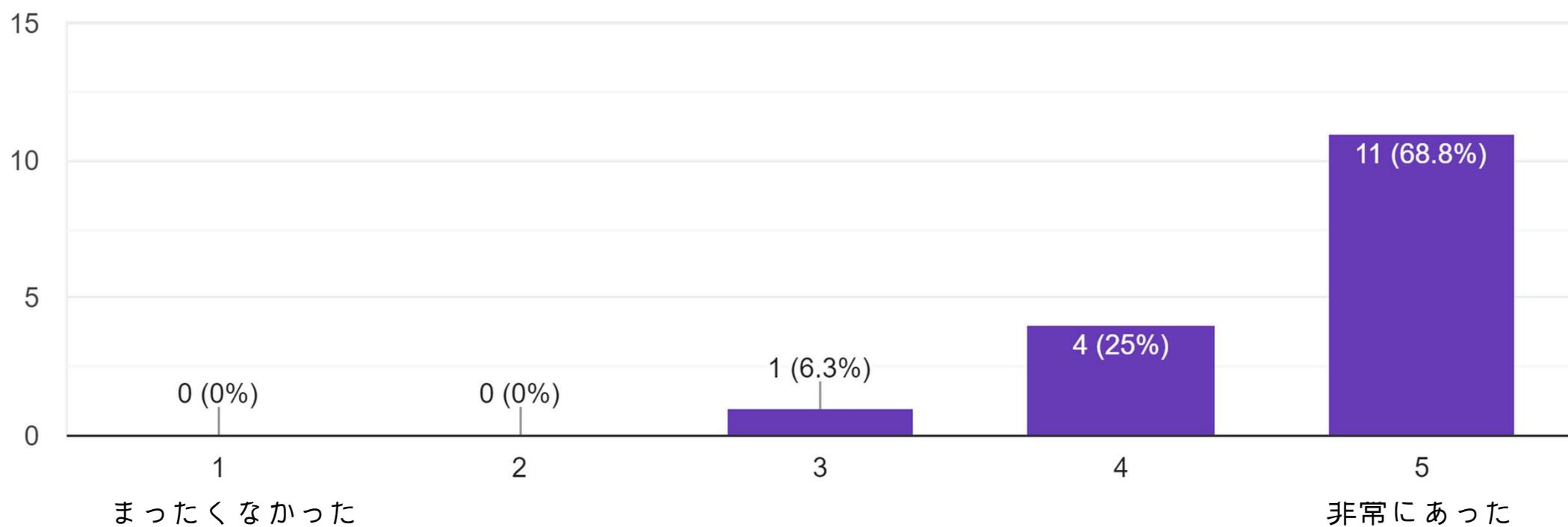
セミナーにはどのくらい満足されましたか。

16件の回答



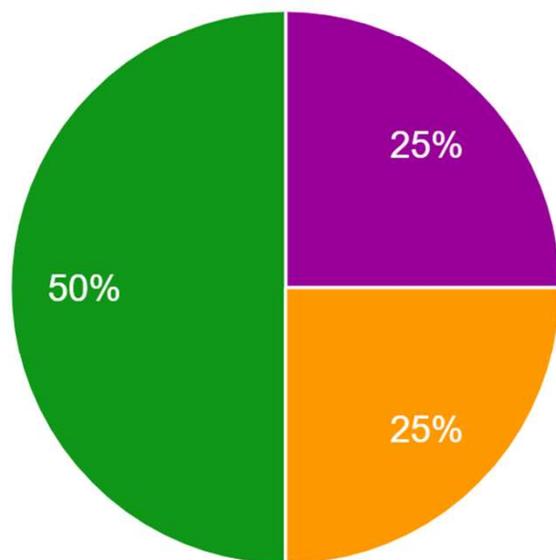
ご自分の仕事との関連性や、仕事に役立つ部分がありましたか。

16件の回答



事前に送付した宿題は難しかったですか。

16 件の回答



- 簡単
- やや簡単
- ちょうどよい
- やや難しい
- 難しい

質問があればご記入ください。可能な限りフィードバックします。

- フラグメンテーションの説明のところ、アミノ酸に H^+ が付加する NH_2 のところから H^+ が移動することがわかっているとお話でした。証明にはD体を使っているのでしょうか。

アミノ基の水素ならマクラファティーター転位が成立するので、その可能性が高いと思います。D体での確認はしていません。確定させるなら、その必要があります。

質問があればご記入ください。可能な限りフィードバックします。

- 構造異性体(光学異性体ではなく、官能基の位置違い)が複数含まれるサンプルにおいて、それぞれの異性体がクロマトにて分離できているとします。そのそれぞれの異性体のピークの検出イオンが異なる(付加イオンが異なる)ことはありえますでしょうか。例えば、分子量が100の成分があったとして、一つ目のピークではm/z 101(プロトン付加)、2つ目のピークではm/z 118(アンモニウムイオン付加)、3つ目のピークがm/z123(Na付加)のような感じですか。

実際に、異性体同士で付加イオンの強度比が変わっているのは見たことがあります。プロトン付加とアンモニウムイオン付加が観測されていて、一方はプロトン付加の方が強く、他方はアンモニウムイオン付加の方が強いという感じです。全く異なる付加イオンだけが観測されているのは見た事がないです。全く有り得ないという事はない(否定する説明が出来ない)と思いますが、可能性は低そうです。

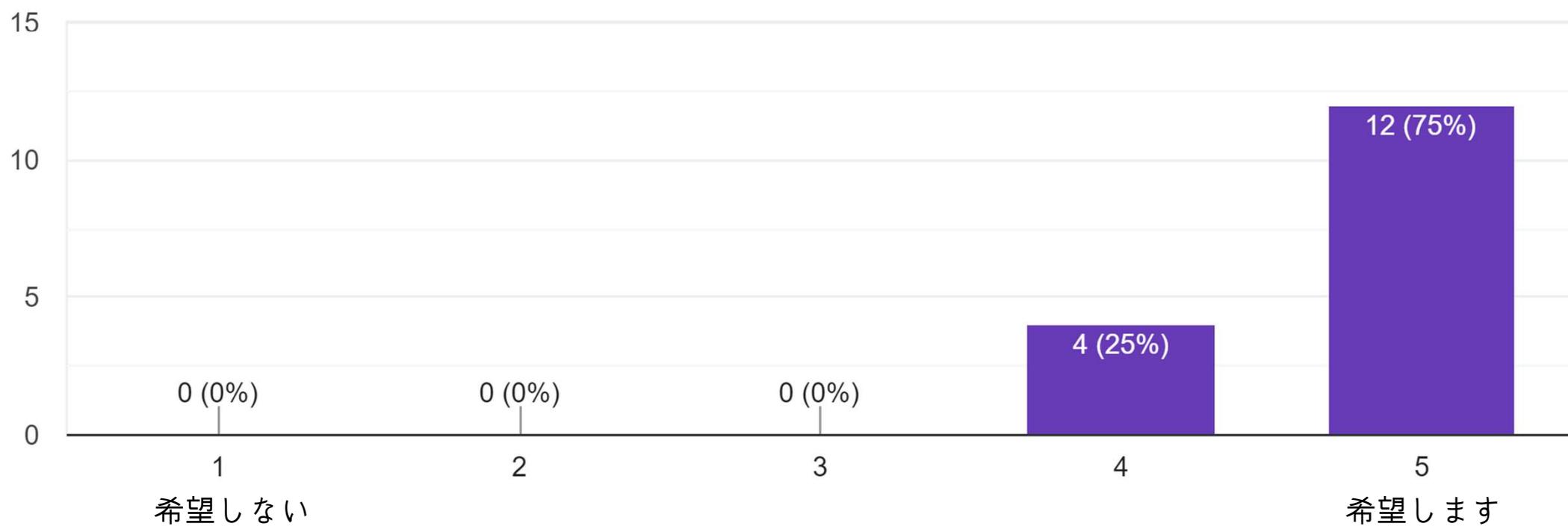
質問があればご記入ください。可能な限りフィードバックします。

- APCIで、あるサンプルにおいてイオン化の温度が低いとピークがブロードになる現象が起きています。この現象について、何か知見はありますでしょうか。

推測の域を出ませんが、ベーパーライザーの内壁に吸着してしまうのではないのでしょうか？ GC/MSでも、インターフェースの温度が低いとピークがブロードになる事があります。それと同じような現象かと思われます。

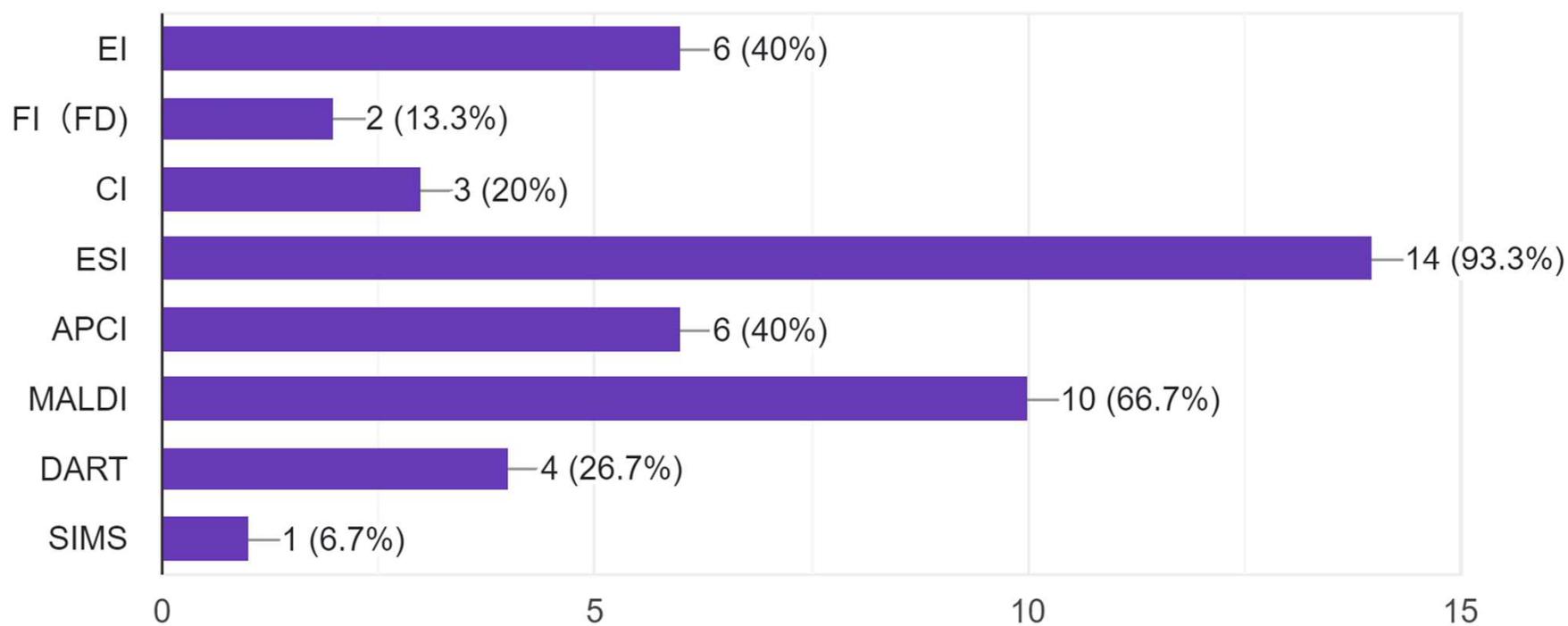
今後もこのようなマススペクトルの解析演習の開催を希望されますか。

16 件の回答



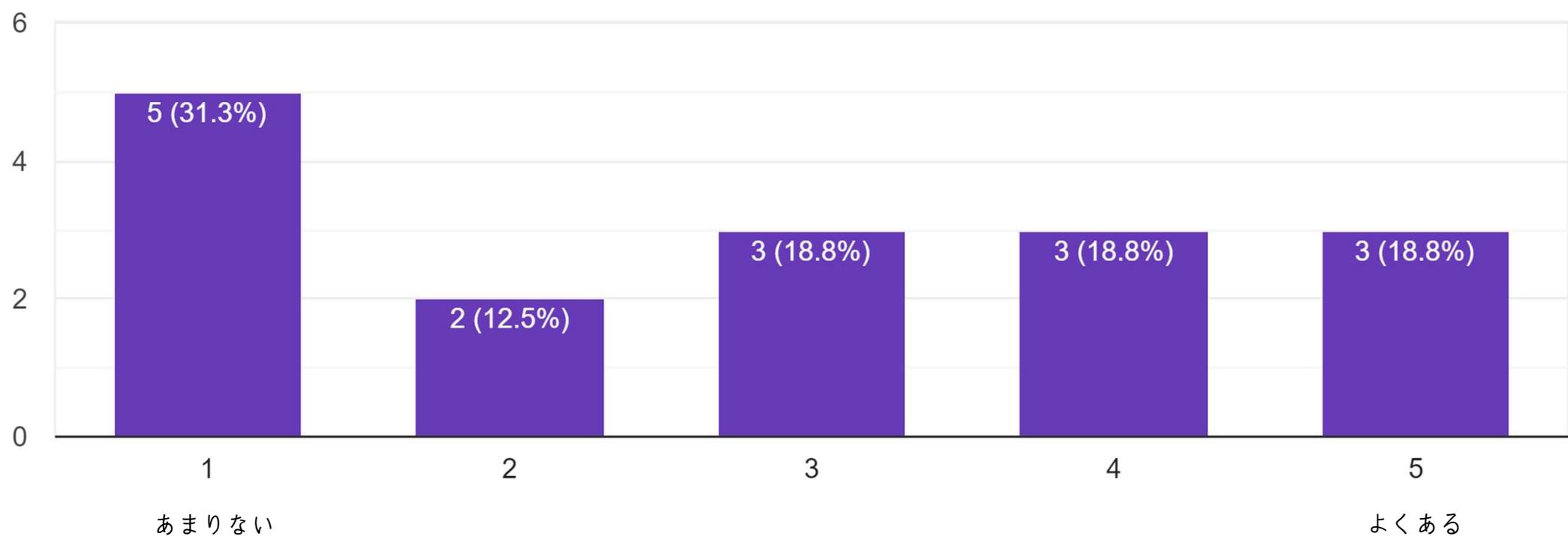
普段お使いのイオン化法を教えてください。

15件の回答



普段の業務でマスペクトルの帰属をされていますか。（またはその必要がありますか）

16件の回答



このセミナーの感想をご自由にお書きください。

- 最後の雑談に関してで申し訳ないのですが、フッ素化合物がLCMSから出て行かないのは私もとても悩んでいます。5mMを移動相に入れて結構な流速で流されるので、もうあれこれ汚染されて・・・。
効率的な落とし方がありましたら是非教えてください。水、酸、有機溶媒、カラム圧や溶媒濃度を振ったり、色々試しても出てくるのです。使用禁止して1カ月たってもまだまだ出ます。

→フッ素系の添加剤、恐らくパーフルオロ酪酸のようなイオン対試薬だと推察します。

この種の添加剤は、アルキル鎖が長い程、またフッ素数が多い程、ラインなどにコンタミし易いです。

例えばパーフルオロ酪酸の場合、どんなに洗っても1か月では消えないと思います。

負イオンで検出されなくなるには、下手をすると半年くらいは見た方が良いでしょう。

程度の問題ですが、多少検出されるくらいであれば、気にせずに使うのも有りだと思います。

洗浄に使う溶媒は、メタノール、エタノール、IPAなど。あるいはメタノールに10～100 mM程度のアンモニア水を添加しても良いかも知れません。

とにかく、徹底的に流すしかありません。

それと、バルブなどにもコンタミし易いので、流路の途中にバルブがある場合、洗浄しながらバルブを動かした方が良いでしょう。

- 初心者として、どこまで理解出来ていれば最低限の仕事ができるのかが気になった。
- これまでの復習も踏まえていただき、非常に分かりやすく、ためになるセミナーでした。ありがとうございました。
- 解析ソフトウェアの実演はとても参考になります。

今後企画してほしいセミナー内容やご意見ございましたらご記入ください。

- 何も分からないところから3回受講しましたが、いつもいつも新しい何かがでてくるので、緊張しています。でもとても楽しいし、知識が増えるので、今後の仕事に生かせそうです。
- フラグメンテーションは簡単なものではないので、後回しにしてしまいがちですが、化合物の構造は、マススペクトルとつながっているものですので、触れる機会が多いのは良いと思います。講師の高橋先生の「生々しいデータと向き合うことで、歳に関係なく、研ぎ澄まされる」ことは素晴らしいと思います。日々精進しないと、です。
- 演習形式で手と頭を動かしながら、解説していただけながら学べるので非常にありがたいです
- 実践的な内容でとても役に立ちました。精密質量を取り扱うときの考え方が良かったです。
- 普段は、合成された化合物の確認やタンパク質をトリプシン消化してからの測定をしています。質量分析をはじめから勉強するのは知識がなく難しいので、このような機会があれば今後も利用したいです。
- たくさんのことを学ぶことができ、大変有意義でした。ありがとうございました。
- 同様のオンラインセミナーをたくさんして欲しい。1回では分からない。
- いつも魅力的なので、今後も期待しています。企画・報告など、ありがとうございます。
- マススペクトルの解析、さらに回数を重ねてほしいです
- MALDI測定、イオン化法のコツなど
- イオン化が難しかったサンプルの測定紹介。実際にイオン化条件を作成する際に気を付けていること。よく気にするMS分析装置のパラメーターについてなど。

