

LC-MSMS (Finnigan TSQ) 取り扱いマニュアル Ver. 2

2010/05/20 文責: Eriko Azuma

よくわからない状況になったときは、修復しようとせずその場で MS 担当 倉持先生 [内線 5603, 3 号館 1 階 3102] (または椿先生) に助けを求めること。(変に操作すると修復するのが困難になることがあります。)

PC は Windows NT です。クリックが早いとフリーズします。ゆっくり操作すること。(フリーズすると本体と PC との交信を回復するために RESET する作業が必要になります。)

- ・ ESI プローブがセットされています。
- ・ 本マニュアルで “○○○○” は ○○○○ を手入力することを意味します。

1. サンプル調製

サンプルは必ず μM に薄める。

注: サンプルが濃いと長期間、残留します。

溶媒は HPLC grade (特級溶媒等を専用メンブレンフィルターでろ過したものでもよい) を用いる。メタノール推奨。水は 50% 以下にする。DMF, DMSO 厳禁。

* NMR サンプルを使用する場合。

→NMR サンプルをパスツールピペットで 1 滴とり、1 ml のメタノールで薄める。薄めた溶液をさらにもう一度パスツールピペットで 1 滴とり、2 ml のメタノールで薄めた溶液を用いる。

2. 測定準備

① 本体の準備

1. 使用記録簿に使用開始時刻等を記入する。
2. 窒素ポンベを開き、二次弁メーターの印まで圧を上げる。
かなりの高圧なので操作を熟知した者が十分注意して行うこと。
メーターを除き込んだりしない。ポンベ圧が十分にあるか確認する。
3. ESI プローブを開き、イオンソース内のキャップを外す。
4. プローブをとじ、黒いネジ 2 つを締める。

② PC ソフトを開く。

1. マウスを動かして TSQ tune の画面が表示されていることを確認する。
(初めて使用する人は、保存先のファイルを作成する。デスクトップの [My computer]
→ [D:/] → [Data] → [教員名] (無ければ作る。) → [名前].)

③ 温度を 200 °C に変更。

1. TSQ-Tune 左下 API の画面。左から 3 番目のバー (temp.) をダブルクリック。温度設

定を 100 °C (測定していないときの温度) から 200 °C (測定時の温度) に変える。

- ④ シリンジのセット。
 1. MS 専用シリンジでサンプルを 300 µl 程度吸う。
 2. シリンジの針のつけ根をペンペン叩いて空気を上部に集める。
 3. キムワイプを針先にあて、液を数滴出して空気抜き。
- ⑤ シリンジポンプセット。
 1. シリンジの針をチューブに差し込む。シリンジアダプタ (赤いの) は高価です。無理やり奥まで刺さないこと。奥のかたい部分にあたるくらいまで差し込む。
 2. シリンジポンプにセット。シリンジの先が右側。シリンジの上部が固定具の左端にあたるように。固定具をセット。
 3. 黒いボタンを押し動かし、プランジャー上部にあたるようにセット。
- ⑥ PC 操作。 注: 先にシリンジポンプ ON にしないように。
 1. ESI ダブルクリック ON. 緑点灯なら OK. 電圧がかかる。赤色点灯のときは失敗。OFF → ON. 緑になれば OK。
 2. Emulti ダブルクリック ON. 緑点灯なら OK. 本体始動。測定できる状態になる。
 - * ESI, Emulti が応答しないとき → 本体と PC との交信を RESET する必要がある。(後述の “RESET の方法” を参照。)
- ⑦ 自動保存の設定。
 1. 左上 analysis を active な画面とする。(左上の画面でどこかを 1-click する。)
 2. “file; ファイル名” と入力。これで保存は自動的にこの名前で保存される。(実験番号等をつけておくとよい。)
 3. 保存先を指定する。上のバーの [file] → [Acquisition Directry] → [Browse] → [自分のファイル]。
 - * サンプル名、オペレータ、コメントを入力したいときはそれぞれ “SAMP;サンプル名”, “OPER;オペレータ”, “comm;コメント” を入力する。

3. 測定

- ① シリンジポンプ ON. 緑のランプ点灯を確認。サンプルを流す操作。数秒 - 1 分くらいで検出が始まる。(押し方によっては ON になりにくいので必ずランプを見る。)
 - * PROF 画面の MS 測定範囲を変えたいとき。
 - 右上 PROF 画面を active にして “.s□最小分子量□最大分子量□スキャン周期” を入力する。□ = スペース
 - 例) 分子量 100-1000. 2 秒で 1 スキャン → “.s 100 1000 2” [Enter]。
 - * PROF 画面の MS チャートを拡大・縮小したいとき。
 - PROF 画面のチャートの見たい分子量の範囲を右クリックを押しながら指定する。

→戻すときは右上の [D All] をクリックする。

- * Positive ions か Negative ions は QUADS 画面 (右下) の左上から 2 番目に Positive ions or Negative ions のどちらかが表示されているので確認する。(サンプル分子の特性によるが、Positive ions と Negative ions の両方のピークを見ておくとよい。)
- * negative ions で検出したいときは、QUADS 画面の左上から 2 番目の Positive ions の左の □ をダブルクリックする。Negative ions に表示が変わる。逆も同じ。
- * ピークの表示法を Prof と Cent (セントロイド) で切り替えられる。QUADS 画面の左上から 3 番目の Prof or Cent の左の □ をダブルクリックする。

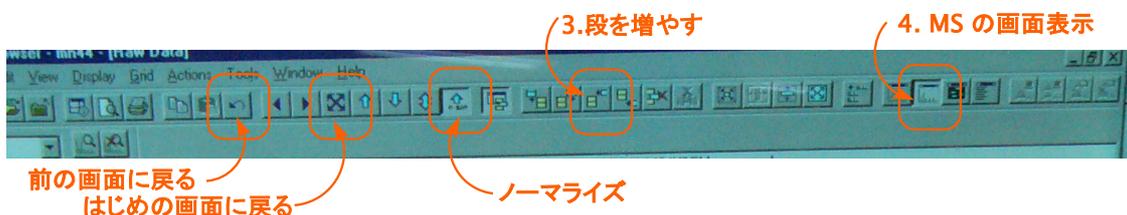
② データをとる。

1. 有意なピークが見えてきたら “start” [Enter] でデータを取り始める。
2. 1 分 - 2 分くらいが目安。”stop” [Enter] でデータを取り終わる。
3. シリンジポンプ OFF。緑のランプ消灯を確認。

* 複数のサンプルを測定するときは 2-④ から 3-② を繰り返す。

4. データ解析

1. X calibur の画面に行き、[Qual Browser] を開く。
2. [file] → [open] からファイルを開く。
3. 画面を 2 段に増やす。
4. 下段の画面を active にし、MS のデータを表示。
5. ぴんを刺して固定。
6. クロマトの画面で積算し適当な MS チャートを表示。
 - * 拡大したいときは左クリックしながら範囲を指定する。最大ピークを縦幅にあわせるには [normalize] のアイコンをクリック。ひとつ前の画面に戻すときは [後ろ向き矢印] をクリック。はじめのチャートに戻すときは [4 矢印] のアイコンをクリック。



5. プリントアウト

1. MS チャートを active にする。
2. [file] → [print preview] → [current data] を選択すると MS チャートのみを表示

する。

3. 用紙が縦になっていたら、[file] → [print setup] から横に変更する。
4. preview で確認する。
5. [file] → [print] → [OK] でプリントアウト。

6. かたづけ

① 洗浄。(この操作は最後のサンプルをとり終えた後に行うとよい。)

1. **シリンジポンプ OFF になっていることを確認**する。
2. シリンジをはずし、廃液に捨てる。
3. メタノールで 2, 3 回シリンジを洗う。
4. メタノールを 300-400 μ l 入れる。空気抜き。
5. シリンジポンプにセット。
6. ESI ON、Emulti ON になっていることを確認し、**シリンジポンプ ON**。
7. 10 分ほど流す。TSQ 画面の右上 PROF 画面で測定したピークが小さくなったら OK。まわりのジャギーと高さが近くなる。(強度が右上に表示されている。)

② 終了

1. **シリンジポンプ OFF**。緑のランプ消灯を確認。
2. **E Multi OFF**。
3. **ESI OFF**。
4. シリンジをはずし、廃液に捨てる。1, 2 回あらい、シリンジを箱に戻す。
5. API 画面から**温度を 100 °C に戻す**。(200 °C だとキャップが溶ける可能性がある。)
6. **X calibur は閉じない**。(測定していないときも本体と交信しているため。電源も切らない。)
7. 本体のプローブを黒ネジ 2 つを反時計回りに回して開く。
8. Heated Capillary 先端に**キャップをする**。(クイットおしてやる。減圧しているので空気が入るのを防ぐため。)
9. **プローブは半開きの状態にする**。(次の人がキャップを取り忘れるのを防止するため。)
10. **窒素ボンベ圧を確認し、ボンベを閉じる**。回転方向を間違えないように。右手で回す。

③ 使用記録簿記入。

窒素ボンベ圧を記入する。1.0 以下になったら倉持先生に連絡してください。

各研究室の使用時間累計は、自分の研究室の人が一番最後に使用したときの累計時間に、今回使用した時間を足して下さい。各研究室ごとの使用時間により諸経費を割り振るための目安です。

以上おつかれさまでした。

異常があったらすぐ連絡。

6. 最後に CHECK

- シリンジは片付けましたか。
- シリンジポンプの緑ランプは消灯していますか。
- キャップはしましたか。
- ESI プローブは半開きですか。
- ESI, Emulti は OFF にしましたか。
- 使用済キムワイブは捨てましたか。

● イオン化しにくいサンプルの場合

- ① HPLC grade の酢酸またはギ酸を添加するとイオン化しやすくなる。その場合、酢酸は 1% 以下、ギ酸は 0.1% 以下の濃度で添加する。

● RESET の方法

- ① ファイルをすべて閉じる。X calibur のアイコンに矢印をもっていき、すぐに開ける状態にする。
- ② 本体後ろの **RESET ボタンを 1 回長押し**する。
- ③ すぐに X calibur をダブルクリックして開く。本体左上の青文字画面で**本体準備が完了するまで TSQ-Tune は触らない**。3-5 分くらいかかる。
- ④ RESET したら、Temp. がデフォルトに戻るので、200 °C に設定しなおす。
- ⑤ 左上の画面が “guide” になっているので左上の画面を active にして、“analysis” [Enter] で analysis の画面にする。

● データの出力

- ・ 補助パソコンから本体パソコンのデータを解析・出力することができる。逆は無理。
- ① 本体パソコン上で、補助パソコンで取り出したいファイルを右クリック。
 - ② [sharing] → [shared] を選択すると本体で共有可能となる。
 - ③ 補助パソコンを起動し、デスクトップ上の [TSQ] のアイコンをダブルクリック。TSQ が本体パソコンとつながっている。
 - ④ ユーザー名、パスワードは共に “finnigan” と入力する。
 - ⑤ 見たいファイルを開き、**本体の D: ドライブの下にコピーしてから、解析する**。