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

2010/05/21 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 "〇〇〇〇" は 〇〇〇〇 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<u>必ず μM に薄める</u>。 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。 <u>DMF, DMSO 厳禁</u>。

- * 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 <u>1 滴とり、1 ml のメタノール</u>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 <u>1 滴とり、2 ml のメタノール</u>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. 窒素ボンベを開き、二次弁メーターの印まで圧を上げる。
 <u>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</u>。
 メーターを除き込んだりしない。ボンベ圧が十分にあるか確認する。

アーチーを除るというしない。ハンドエル・トリーののが唯能する

- 3. ESI プローブを開き、イオンソース内の<u>キャップを外す</u>。
- ①-2. 窒素ボンベ圧を確認し、
 ①-3. ESI プローブを開く。
 ①-3. キャップを外す。
 ① 印まで開く。



- 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。
 - 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 <u>温度を 200 °C に</u>変更。
 - TSQ-Tune 左下 API の画面。左から 3 番目のバー (temp.) をダブルック。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。



④-1. サンプルを 300 µl 吸う。④-2. 空気を上部に集める。



③. 温度を 200 ℃に設定。







- **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<u>高価</u>です。<u>無理やり</u> <u>奥まで</u>刺さないこと。奥のかたい部分に<u>あたるくらい</u>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。

- 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。)

⑤-1. シリンジをチューブに挿す。



⑤-2. シリンジポンプに針先が 右になるように置く。



6-1, 2. <u>ESI ON.</u> <u>E Multi ON.</u>



⑤-1.このくらいまで。



⑤-4. プランジャー上部にあた るようにプッシャーをセット。



- ⑦ 自動保存の設定。
 - 1. <u>左上 analysis を active</u> な画面とする。(左上の画面でどこかを 1-click する。)
 - 2. <u>"file; ファイル名" と入力</u>。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。



⑦-3. 自動保存設定 [file] → [Acquisition Directry]。









⑦-3. [Browse]。



- 3. 測定
- 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。 \Box = スペース
 - 例) 分子量 100-1000。2 秒で 1 スキャン → "<u>.s 100 1000 2</u>" [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 <u>Positive ions or Negative ions のどちらかが表示されている</u>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。



* positive ions/negative ions の切替。



*右クリックしながら移動で拡大。 [D All] で元に戻る。



".s 100 1000 2" [Enter] で MS 100-1000, scan 2 (s-¹)

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. <u>シリンジポンプ OFF</u>。<u>緑のランプ消灯</u>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。



4-1. X calibur → [Qual Browser]。



4-3. 画面を 2 段に増やす。





4-2. [file] → [open] から開く 。



- 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] \rightarrow [print] \rightarrow [OK] でプリントアウト。









4-4. 元に戻すとき。ノーマライズ。 Red Browner - and 4. Han Data Part & War Data War Took Medical Control Part & War Data War Han Data Part & Pa



- 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. <u>シリンジポンプ OFF になっていることを確認</u>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 µl 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. <u>シリンジポンプ OFF</u>。緑のランプ消灯を確認。
 - 2. <u>E Multi OFF</u>_o <u>ESI OFF</u>_o



ジャギーが上がり、強度が



2–2, 3. E<u>SI OFF.</u> E<u>Multi OFF.</u>





②-1 シリンジポンプ OFF。



- 3. 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。
- 4. API 画面から温度を 100 ℃ に戻す。(200 ℃ だとキャップが溶ける可能性がある。)
- 5. スキャンする範囲を 10-20 に戻す。(".s 10 20 2" と入力する。)
- 6. <u>X calibur は閉じない</u>。(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<u>キャップをする</u>。(クイっとおしてやる。減圧しているので空気が入るのを防ぐため。)
- 9. <u>プローブは半開き</u>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。



②-7-9. 黒ネジを回し、プローブを開き、キャップをする。





and the state of t

②-10. 窒素ボンベ圧をノートに 記入。その後、閉じる。



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
 - □ <u>シリンジ</u>は片付けましたか。
 - □ シリンジポンプの<u>緑ランプは消灯</u>していますか。
 - □ <u>+ャップ</u>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。
 - □ 使用済キムワイプは捨てましたか。
 - □ 印刷したチャートは持ちましたか。
 - イオン化しにくいサンプルの場合
- 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 <u>RESET ボタンを 1 回長押し</u>する。
- 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 ℃ 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、<u>本体の D: ドライブの下にコピーしてから、解析する</u>。