MALDI Matrix List for 337(355) nm

Koichi Tanaka Laboratory of Advanced Science and Technology

http://www.first-ms3d.jp/

SHIMADZU

ms3d FIRST Program

Soft Laser Desorption法発明30周年記念

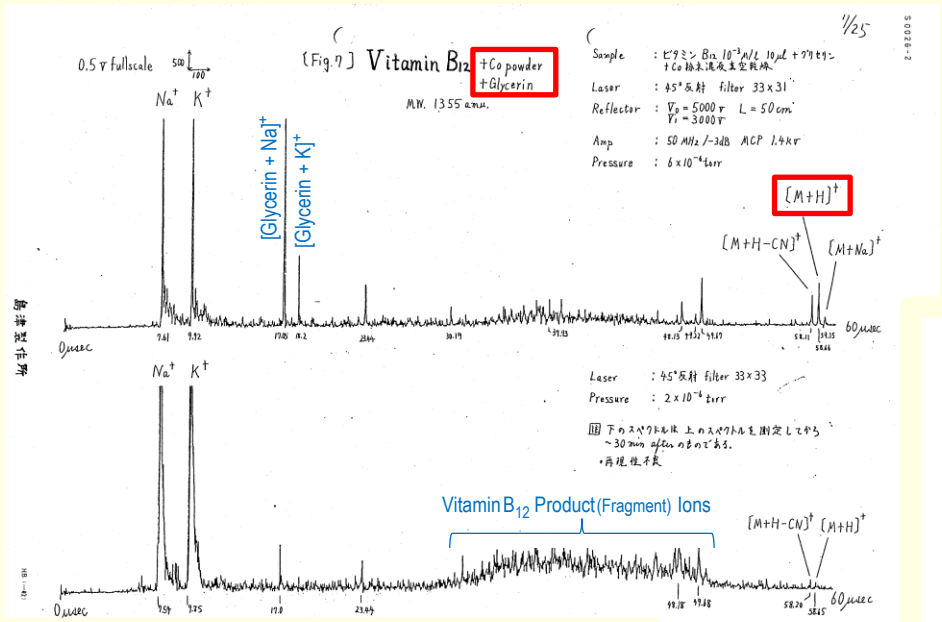
Original Rev. 1.0 28/April/2013 **Final Rev. 2.8 26/Feb/2015**

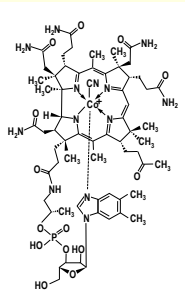
本資料は、**Soft Laser Desorption (SLD)** 及び **MALDI** の**歴史**を辿りながら、主なMatrixを一覧にしたものです。これまでMatrixは数百種類以上も検討されていますが、本資料では特に**黎明期**を重視し、しかも**FIRST-ms3d**プロで数多く開発した特に液体Matrix 及び 島津グループが関わったMatrixを中心に列記しています。記載されている論文・学会発表情報は、個々のMatrixに対する世界初（調査時点で情報が入手可能であった文献に限る）または 島津グループが開発に関わった情報 を中心に列記しています。

特に日本語による解説は、今回 参考に数点取り上げた文献で示された応用を中心に記述しています。その後の応用範囲等までを必ずしも反映していない、記載情報が厳密・正確ではない可能性がある事をご了承ください。あらためて、原著他の情報に立ち返って確認をお願いします。

本リストに記載されているMatrixは、原則 論文等に記載された情報に基づいて列記したものであり、**試薬として入手可能である事を保証するものではありません**。例えば、CAS Number が設定されていても、現在 製造中止 になっている試薬があります。

下Spectraは、**1985**年2月 島津製作所中央研究所内における報告書に添付された実験結果の一部である。
Vitamin B_{12}は、複雑な構造 かつ 337nm Laser光を効率高く直接吸収できるため、たとえ Co powder (UFMP)を添加しても 分解イオン(Product Ion)ばかりが測定されている（下図下）のに対し、Glycerin（**液体Matrix**）を更に添加すると、明確に分子イオン$[M+H]^+$が測定された（下図上）。
この後 様々な条件を最適化、分子量1万を超えるタンパク質をも測定可能にするSoft Laser Desorption (/Ionization)等へと進展した。





島津製作所製SLD-MS “LAMS-50K”
製品発表：**1989**年
1990年 米国“City of Hope”に納入

温故知新

Develop **new** ideas through studying **old** knowledge

1)

Element	C	H	N	O	S	P	Br	Cl	F	I
Monoisotopic Mass	**12** (exactly)	1.00782503223	14.00307400443	15.99491461957	31.97207117441	30.973761998	78.918337579	34.968852682	18.998403163	126.904471853
Atomic Mass	***12**.0107*	*1.00794*	*14.0067*	*15.9994*	*32.065*	*30.973762*	*79.904*	*35.453*	*18.9984032*	*126.90447*

（統一）原子質量単位（Daltonと同定義）は、炭素12 (^{12}C) 原子の質量の1/12 と定義されている。従って ^{12}Cは上記の様に“12 (exactly)”と表記した。

測定技術の進歩により、各元素の同位体存在度は（地球上で起こる様々な過程のため）必ずしも一定ではなく、それが原子量に反映する事が分かってきた背景から、2009年IUPACは 10の元素について 原子量を単一の数値ではなく 変動範囲で示すことを決めた。---「原子量表（2013）」について / 日本化学会 原子量専門委員会資料 より

上記の“*Atomic Mass*”（原子量）は、変動範囲で表す前の値で示している。

参考文献 : M. Wang, et al. “The Ame2012 atomic mass evaluation (II)” CPC(HEP & NP), Vol. 36, p1603 (2012)

MALDI Matrix List for 337(355) nm (1/25)

Koichi Tanaka Laboratory of Advanced Science and Technology

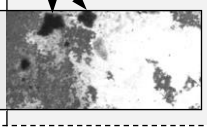
http://www.first-ms3d.jp/

SHIMADZU

ms3d FIRST Program

Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass *(Aver. Mass)* [1]	Structure	Reference(s)
Cobalt Powder **Ultra Fine Metal Powder** (“**UFMP**”)	**(Co)** - - - -	**58.933194** ***(58.93)***	有機物**試料**（黒色） SEM画像 200 μm	Don Zakett, Alan E. Schoen, R. Graham Cooks, Philip H. Hemberger “Laser-desorption mass spectrometry / mass spectrometry and the mechanism of desorption ionization” J. Am. Chem. Soc., Vol. 103, p1295 (**1981**) Patent: JP01731501（出願:28/Feb/**1985**） 田中耕一, 井戸豊, 秋田智史, 吉田佳一, 吉田多見男 “レーザイオン化飛行時間型質量分析装置の開発 IV ー 高質量有機化合物からの擬似分子イオンの生成 ー” 質量分析連合討論会 1B-6 (4/May/**1987**) “MALDI-MS Technical Reports” No.06

UFMP（疎水性）は電子反射が良好なため、SEM画像では白色に写る。有機物**試料**（親水性）は 電子反射が少ないため、黒色に写る。右写真は、Matrix : UFMPと**試料**が 十分混合していない状況を表している。

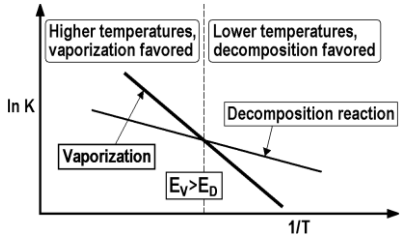


“金属超微粉末”(UFMP)の一種。元素はCobalt (Co)。1980年代当時、市販品としてCo UFMPが最も粒径（20~30nm）が小さく、比較的安価。Coは、同位体が存在しない、比較的元素番号が小さい、融点・沸点が高くイオン化困難（→不要Backgroundが軽微（右下図参照））、等々が有利な**Inorganic Matrix**の一種。当初より、**N_2 Laser (337nm)** で検討。質量分離・検出手法等が不十分だった当時、ペプチド・合成オリゴマー等 $m/z \lesssim 3{,}000$検出が中心。

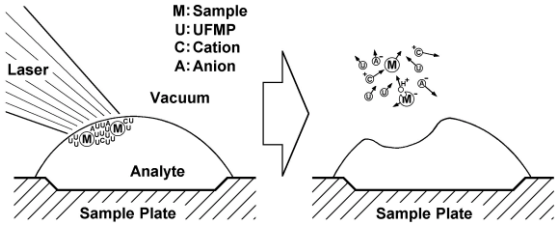
（近）紫外・可視・（近）赤外 ほぼ全てで吸光度がある “**黒体**”に近い。金属塊Bulkと比較すると、吸光度・表面積が多大（DIOS説明図参照）で、集光パルスレーザ光照射後、近傍にある分析対象物Analyteに対し**Rapid Heating**を施し、固相（液相）から分解無しで気相への脱離を促進する効果が期待できる。

後に、無機物表面媒体を主体とした“Surface Assisted Laser Desorption/Ionization” (SALDI), “Graphite Assisted Laser Desorption/Ionization” (GALDI), “Desorption/Ionization On porous Silicon” (DIOS)構想へ寄与。

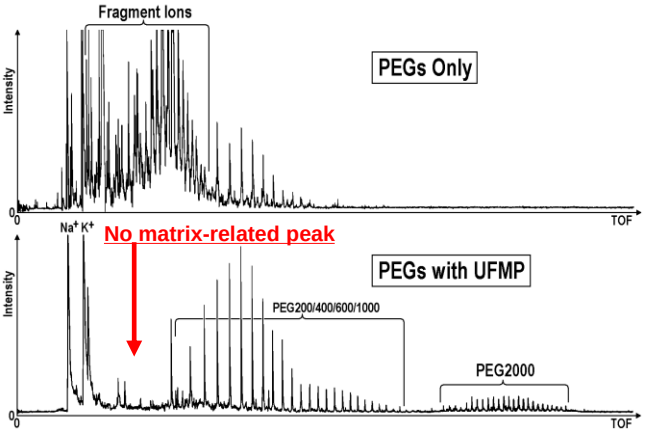
Glycerinとの混合により、“Soft Laser Desorption” (SLD)へと発展（下記参照）。UFMPを用いたImagingへの活用例もある。



たとえ低温（1/Tが大）で分解 Decomposition reaction が優位（$\ln K_D > \ln K_V$）な化合物でも、（Rapid Heatingにより）高温（左図左側）になると 気化 Vaporizationが促進される Arrhenius equationより



UFMPによる イオン化機構概略図

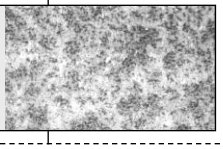


UFMP無し（Laser直接イオン化）（上）とUFMP添加（下）による PEG混合物測定

Glycerin (Glycerol)	$C_3H_8O_3$ 56-81-5	**92.04734** *(92.094)*	SEM画像 200 μm

Melting Point : 17.8 deg

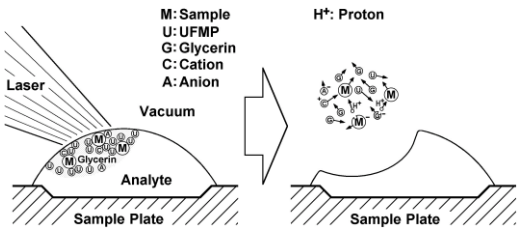
上記の UFMP単独 と異なり、Glycerin との混合により 試料（とUFMP）が均一に分散（定量性が向上）している。
--- 通常 MALDI に用いる N_2 Laser は 直径:100～200 μm で照射されるため、十分な均一度



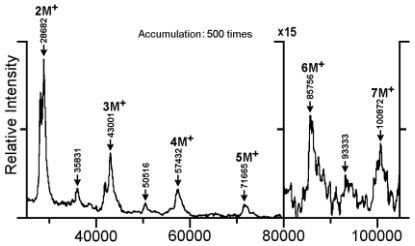
Patent: JP01769145（出願:21/Aug/**1985**）
吉田多見男, 田中耕一, 井戸豊, 秋田智史, 吉田佳一“レーザイオン化TOF質量分析装置による高質量イオンの検出” 質量分析連合討論会 1A-2 (4/May/**1987**)
Koichi Tanaka, Yutaka Ido, Satoshi Akita, Yoshikazu Yoshida, Tamio Yoshida “Detection of High Mass Molecules by Laser Desorption Time of Flight Mass Spectrometry” Proceedings of the Second Japan-China Joint Symposium on Mass Spectrometry, p185 (**1987**)
Koichi Tanaka, Hiroaki Waki, Yutaka Ido, Satoshi Akita, Yoshikazu Yoshida, Tamio Yoshida “Protein and Polymer Analyses up to *m/z* 100000 by Laser Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry” Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 2, August, p151 (**1988**)
“MALDI-MS Technical Reports” No.06,07,08

1980年代は、Fast Atom Bombardment (FAB) 用Matrixとして多用。337/355nm吸光度は極めて低いため、単体では UV MALDI用Matrix としては不向き。2.94μm(Er:YAG)/2.79μm(Er)光を吸収可能なため、後に IR-MALDI用Matrixとしても使用。

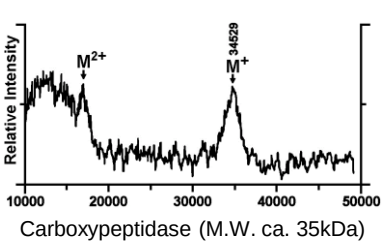
1985年以降、金属超微粉末UFMPとの混合により “**Soft Laser Desorption**” (**SLD**)へと発展。“**液体Matrix**”の一種。**レーザ光**（337nm: 1~5nsec）を用いて**タンパク質**を**イオン化**した**世界初**の手法。「UFMPによるパルスレーザ光吸収・急速過熱、Glycerinによる均一な**液状**保持、両者の効果により、**ソフト**（分子の分解を避けた）脱離・イオン化が可能」。 --- 脱離: 固体（表面に吸着状態）から気体（液体）状態へ変化すること



Glycerin,UFMPによる イオン化機構概略図



Lysozyme Cluster Ion 検出例



Carboxypeptidase (M.W. ca. 35kDa) 検出例

MALDI Matrix List for 337(355) nm (2/25)

Koichi Tanaka Laboratory of Advanced Science and Technology

http://www.first-ms3d.jp/

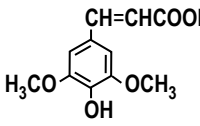
SHIMADZU

ms3d FIRST Program

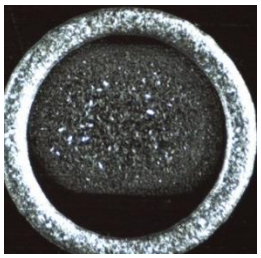
Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass *(Aver. Mass)* [1]	Structure	Reference(s)
"NA" Nicotinic Acid (Niacin)	$C_6H_5NO_2$ 59-67-6	123.03203 *(123.109)*		Michael Karas, Doris Bachmann, Franz Hillenkamp "Influence of the wavelength in high-irradiance ultraviolet laser desorption mass spectrometry of organic molecules" Anal. Chem., Vol. 57 No.14 December 1, p2935 (1985) Michael Karas, U. Bahr "Laser desorption mass spectrometry" TrAC Trends in Anal. Chem., Vol. 5, p90 (1986) Michael Karas, D. Bachmann. U. Bahr, Franz Hillenkamp "Matrix-assisted ultraviolet laser desorption of non-volatile compounds" Int. J. Mass Spectrom. Ion Proc., Vol. 78, p53 (1987) Michael Karas, Franz Hillenkamp "Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10,000 daltons" Anal. Chem., Vol.60, October 1, p2299 (1988)

Nd:YAG Laser 第4高調波(266nm)用に開発された(337,355nmにおける吸光度は微弱)。

「レーザ照射で アミノ酸単体のイオン化を試みた際に、イオン化が容易な化合物(例:Trp)と混合する事で、難イオン化アミノ酸(例:Ala)のイオン化が促進された」(1985年論文)事が契機、と言われている(MALDIの原点)。NAを用いた1988年論文で、タンパク質測定が可能である事が発表される。

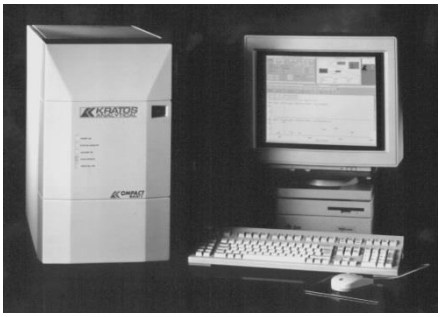
Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass *(Aver. Mass)* [1]	Structure	Reference(s)
"SA" Sinapinic Acid 3,5-Dimethoxy-4-hydroxycinnamic acid	$C_{11}H_{12}O_5$ 530-59-6	224.06847 *(224.210)*		Ronald Beavis, Brian Chait "Cinnamic acid derivatives as matrices for ultraviolet laser desorption mass spectrometry of proteins" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 3, p432 (1989) Ronald Beavis, Brian Chait "Matrix-assisted laser-desorption mass spectrometry using 355 nm radiation" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 3, p436 (1989)

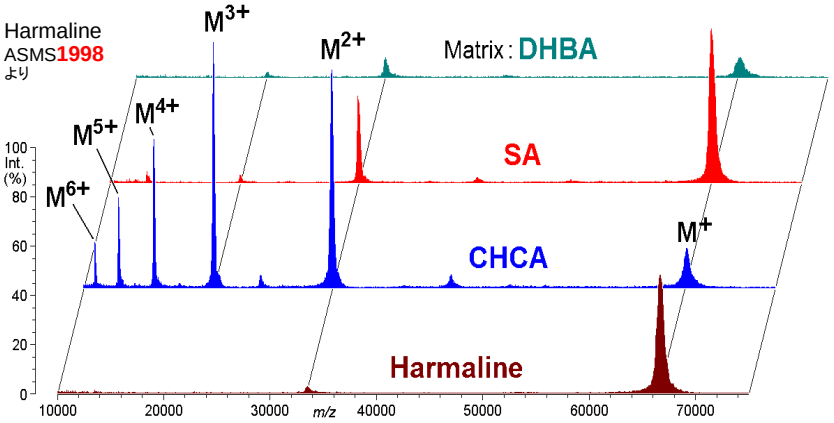
元々は、Nd:YAG Laser 第3高調波(355nm)用に開発された。MALDIの黎明期から用いられてきたMatrixの1つであるが、現在も 主に タンパク質計測に多く用いられる。pKa : 6.2 のため、正イオン・負イオン両方の計測に適している。



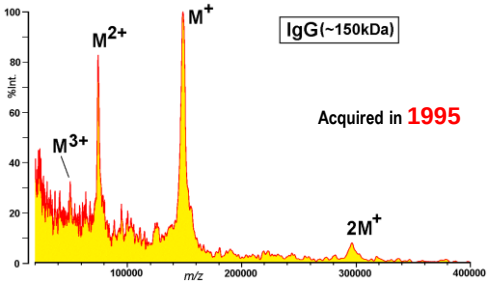
← 左写真は、SAを用いた場合の試料搭載後Sample Plate光学顕微鏡画像の一例である。
通常 溶媒乾燥後の表面は 巨視的には均一な薄膜状になるが、微視的には「荒れた乾燥肌」状態になる。

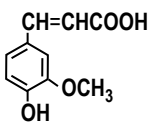
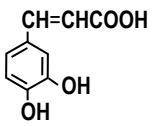
SAは、pKa : 6.2(ほぼ中性)のため 特に(酸性度が高く多価イオン生成力の高い)CHCA(pKa : 4.08)と比較すると1価イオンを生成し易く、タンパク質測定結果の解析が容易である。
Harmaline(14/25参照)は、1価イオンのみ生成の傾向が更に強い結果が得られている。





"KOMPACT MALDI I"(上写真)は卓上型装置(1994年発売)であり、この様な小型装置を用いても、SA使用で IgG(~150kDa)のCluster Ion までも測定できている。



Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass *(Aver. Mass)* [1]	Structure	Reference(s)
***trans*-Ferulic Acid** 4-Hydroxy-3-methoxycinnamic acid	$C_{10}H_{10}O_4$ 537-98-4	194.05791 *(194.184)*		(初出論文は Sinapinic Acidと同一 (1989)) Adam Saenz, Catherine Petersen, Nancy Valentine, Stephanie Gantt, Kristin Jarman, Mark Kingsley, Karen Wahl "Reproducibility of Matrix-assisted Laser Desorption/ionization Time-of-flight Mass Spectrometry for Replicate Bacterial Culture Analysis" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 13, p1580 (1999)
Caffeic Acid 3,4-Dihydroxy-cinnamic acid	$C_9H_8O_4$ 331-39-5	180.04226 *(180.157)*		(初出論文は Sinapinic Acidと同一 (1989)) Burkhard Rosinke, Kerstin Strupat, Franz Hillenkamp, Jürg Rosenbusch, Norbert Dencher, Ulrike Krüger, Hans-Joachim Galla "Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry (MALDI-MS) of membrane proteins and non-covalent complexes" J. Mass Spectrom., Vol. 30, p1462 (1995)

Sinapinic Acidと同様、元々は Nd:YAG Laser 第3高調波(355nm)用に開発され、主に タンパク質計測に用いられていた。
その後、Ferulic Acidは 微生物(のタンパク質)測定等に用いられ、Caffeic Acidは 膜タンパク質や非共有性化合物の測定等に用いられた。

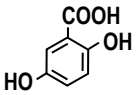
MALDI Matrix List for 337(355) nm (3/25)

Koichi Tanaka Laboratory of Advanced Science and Technology

http://www.first-ms3d.jp/

SHIMADZU

ms3d FIRST Program

Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass *(Aver. Mass)* [1]	Structure	Reference(s)
"DHB(A)" 2,5-Dihydroxy-benzoic Acid (Gentisic acid)	$C_7H_6O_4$ 490-79-9	**154.02661** *(154.120)*		Michael Karas, U. Bahr, A. Ingendoh, E. Nordhoff, B. Stahl, K. Strupat, Franz Hillenkamp "Principles and applications of matrix-assisted UV-laser desorption / ionization mass spectrometry" Analytica Chimica Acta, Vol. 241, p175 (**1990**) Karstin Strupat, Michael Karas, Franz Hillenkamp "2,5-Dihydroxybenzoic acid: a new matrix for laser desorption-ionization mass spectrometry" Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes, Vol. 111, p89 (**1991**)

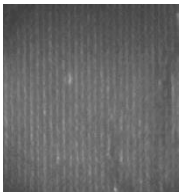
DHBは**水溶性**が高く、Oligosaccharides・Conjugated lipids・(極性の高い)Synthetic polymers(以上[M+Cation]$^+$生成促進)・Peptides(一部 Proteinsにも適用可能(3/25 Matrix比較図参照))・核酸関連物質等、**応用範囲**は**幅広い**。不純物耐性の高さも特徴。CHCAと比較すると、"**Cool**"(よりソフト)なイオン化が可能だが、真空中で昇華sublimationし易い。また、337nm吸光度が低く(25/25 吸光スペクトル参照) 乾燥後の不均一な巨大結晶成長により TOF-MSにおいて定量性・再現性・分解能が低下し易い(下写真)が、Ink Jet方式等による微量滴下により、MALDI Imagingへの試行(**2007**論文)も行われている。

Yutaka Aoki, Atsuhiko Toyama, Takashi Shimada, Tetsuyoshi Sugita, Chikage Aoki, Yukari Umino, Atsushi Suzuki, Daisuke Aoki, Yataro Daigo, Yusuke Nakamura, Taka-Aki Sato "A novel method for analyzing formalin-fixed paraffin embedded (FFPE) tissue sections by mass spectrometry imaging" Proc. Jpn Acad. Ser.B, Vol. 83, p205 (**2007**)

Hong Wang, Chee-Hong Wong, Alice Chin, Ayumu Taguchi, Allen Taylor, Samir Hanash, Sadanori Sekiya, Hidenori Takahashi, Masaki Murase, Shigeki Kajihara, Shinichi Iwamoto, Koichi Tanaka "Integrated mass spectrometry–based analysis of plasma glycoproteins and their glycan modifications" Nature Protocols, Vol. 6, p253 (**2011**)

"MALDI-MS Technical Reports" No.08

通常**DHB**を用いた場合、外側から針状結晶が成長し、ミクロ的には表面に凹凸の多い(外側と内側の組成が異なる)状態になる。

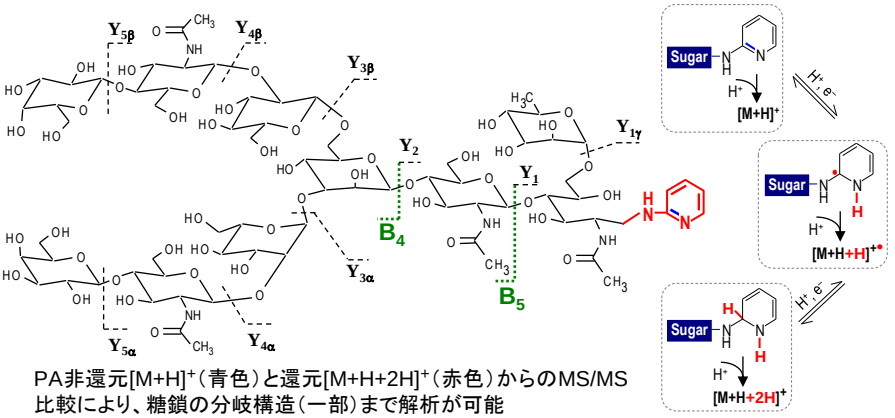


"Chemical Printer"本体(左)とDHB滴下例(右)

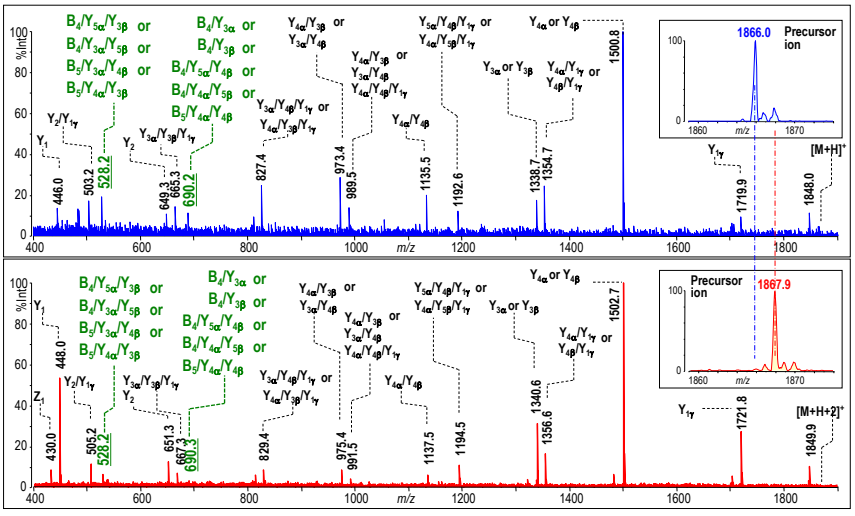
Inkjet Printerの機構を応用した**"Chemical Printer"**にて **DHB**を滴下した場合、結晶成長は抑制され、真空蒸着法を用いずにImaging MALDI等への適応が容易となる。

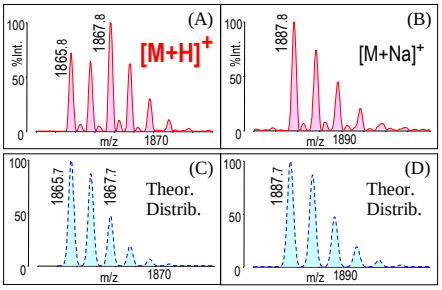
Sadanori Sekiya, Yoshiki Yamaguchi, Koichi Kato, Koichi Tanaka "Mechanistic elucidation of the formation of reduced 2-aminopyridine-derivatized oligosaccharides and their application in matrix-assisted laser desorption/ ionization mass spectrometry" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 19, p3607 (**2005**)

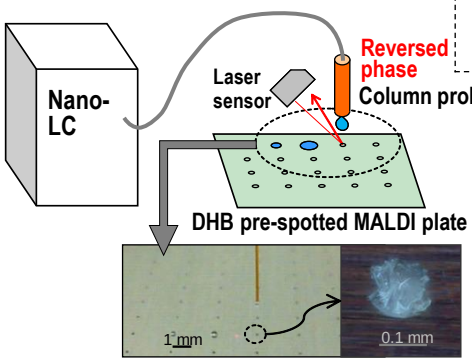
化合物によっては、Proton Donor作用だけでなく 還元作用も働く(反応式参照)。



PA非還元[M+H]$^+$(青色)と還元[M+H+2H]$^+$(赤色)からのMS/MS比較により、糖鎖の分岐構造(一部)まで解析が可能







Yusaku Hioki, Ritsuko Tanimura, Shinichi Iwamoto, Koichi Tanaka "Nano-LC/MALDI-MS Using a Column-Integrated Spotting Probe for Analysis of Complex Biomolecule Samples" Anal. Chem., Vol. 86, p2549 (**2014**)

水の表面張力の高さを活用し、水を含むAnalyte溶液の乾固する面積を最小限に止める事で、実質的な感度向上とRaster時間を短縮できる。

左図は、**Offline-LC-MALDI-MS**システム の1例であり、ここでは撥水性の高い試料Plate表面(緑色)の一部を改質、DHBを**"pre-spot"**する事で**"Hydrophilic anchor"**を作製した。**"Nanoliter spotting"**と "溶離液を試料Plate上で濃縮" を実現した事で、クロマト分解能を損なわずに 極微量Glycopeptide測定が行えた(**2014**論文)。

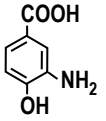
MALDI Matrix List for 337(355) nm (4/25)

Koichi Tanaka Laboratory of Advanced Science and Technology

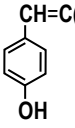
http://www.first-ms3d.jp/

SHIMADZU

ms3d FIRST Program

Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass (Aver. Mass) [1]	Structure	Reference(s)
"AHBA" 3-amino-4-hydroxybenzoic acid	$C_7H_7NO_3$ 1571-72-8	153.04259 (153.135)		K. K. Mock, M. Davey, J. S. Cottrell "The analysis of underivatised oligosaccharides by Matrix-Assisted Laser Desorption Mass Spectrometry" Biochem. Biophys. Res. Commun., Vol. 177, p644 (**1991**)

「**糖鎖**測定用としては最初のMatrix」とされている。核酸関連物質測定等にも応用される。

Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass (Aver. Mass) [1]	Structure	Reference(s)
"CHCA" α-Cyano-4-hydroxy-cinnamic Acid	$C_{10}H_7NO_3$ 28166-41-8	189.04259 (189.167)		Ronald Beavis, T. Chaudhary, Brian Chait "α-Cyano-4-hydroxycinnamic acid as a matrix for matrix-assisted laser desorption mass spectrometry" Org. Mass Spectrom., Vol. 27, p156 (**1992**) Ole Vorm, Peter Roepstorff, Matthias Mann "Improved Resolution and Very High Sensitivity in MALDI TOF of Matrix Surfaces Made by Fast Evaporation" Anal. Chem., Vol. 66, p3281 (**1994**a)

D.J.C. Pappin, P. Hojrup, A.J. Bleasby "Rapid identification of proteins by peptide-mass fingerprinting" Current Biol., Vol. 3, p327 (**1993**)

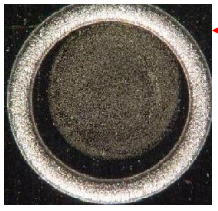
Toyofumi Nakanishi, Nobuhiko Okamoto, Koichi Tanaka, Akira Shimizu "Laser desorption time-of-flight mass spectrometric analysis of transferrin precipitated with antiserum: A unique simple method to identify molecular weight variants" Biol. Mass Spectrom., Vol. 23, p230 (**1994**b)

Plamen Demirev, Yen-Peng Ho, Victor Ryzhov, Catherine Fenselau "Microorganism Identification by Mass Spectrometry and Protein Database Searches" Anal. Chem., Vol. 71, p2732 (**1999**)

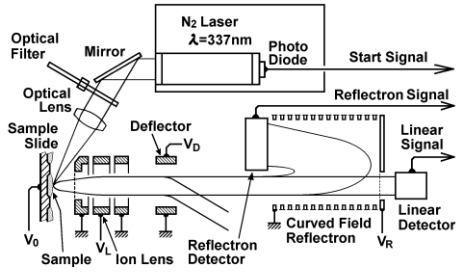
Yusaku Hioki, Hiroki Kuyama, Chikako Hamana, Kohei Takeyama, Koichi Tanaka "An improved sample preparation method for the sensitive detection of peptides by MALDI-MS" J. Mass Spectrom., Vol.48, p1217 (**2013**)

peptide測定を中心に"**標準**Matrix"として最も多く用いられている。特にDHBと比較すると、337nm吸光度が高く(より少ない光量でイオン化可能)、疎水性(acetone, acetonitrile等に良く溶ける)均一な細かい結晶化(左下写真参照)のため、再現性の高い測定が期待できる。この構造を活用し、Thin-layer化したMatrixにより感度と分解能の向上を試みている(**1994**a論文)。Thin-layer化に頼らず、溶媒調節で高感度化した報告もある(**2013**論文)。

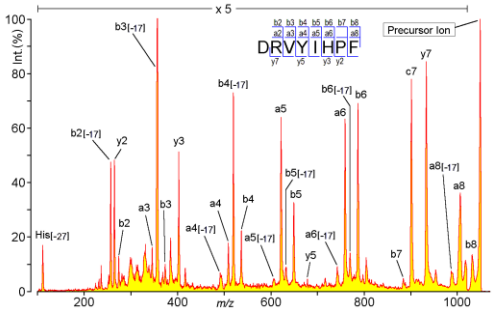
また、"**Hot**"(イオン化直後and/orTOFMS飛行途中でイオンが分解容易)な**Matrix**であり、**Post**-(/In-)**Source Decay**による内部構造情報入手にも多用されている。**Peptide Mass Fingerprint**によるProtein I.D.や、**Microorganism I.D.**に最も多く用いられているMatrixでもある。



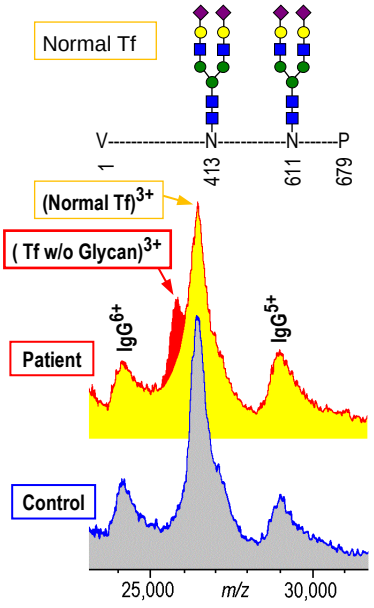
← 左写真は、**CHCA**を用いた場合の試料搭載後Sample Plate光学顕微鏡画像の一例であり、微細な「結晶」が 薄く 均一に分布している状態がうかがえる。



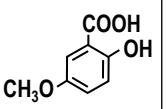
CHCAにより生成したHigh internal energy (precursor) ionのみを**Deflector**で通過させ、**Reflectron**で**Seamless**に測定するための卓上型装置 Kratos **Kompact MALDI 4** と、Angiotensin II Post Source Decay Ion測定例。



Angiotensin II PSD Spectrum
Data acquired in **1995** (Unpublished)



*m/z*値が大きくなるに従い 感度・分解能が低下する(当時の)欠点を回避し、CHCAの多価イオン生成能力を活用して、糖タンパク質(Transferrin)の糖鎖欠損疾患の有無を検出した一例。(**1994**b論文)

Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass (Aver. Mass) [1]	Structure	Reference(s)
"MSA" 2-Methoxy-salicylic Acid 2-Hydroxy-5-methoxybenzoic Acid	$C_8H_8O_4$ 2612-02-4	168.04226 (168.147)		Todd Billeci, John Stults "Tryptic mapping of recombinant proteins by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry" Anal. Chem., Vol. 65, p1709 (**1993**) Anthony Tsarbopoulos, Michael Karas, Kerstin Strupat, Birendra Pramanik, Tattanahalli Nagabhushan, Franz Hillenkamp "Comparative Mapping of Recombinant Proteins and Glycoproteins by Plasma Desorption and Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry" Anal. Chem., Vol. 66, p2062 (**1994**) Arkady Gusev, William Wilkinson, Andrew Proctor, David Hercules "Improvement of signal reproducibility and matrix/comatrix effects in MALDI analysis" Anal. Chem., Vol. 67, p1034 (**1995**)

DHB及びFucoseと混合する事により、トリプシンによる酵素消化混合物を sequence coverage高く測定できる事が紹介された。また、DHB:MSA=9:1混合Matrix("**Super DHB**")により **再現性**向上が行えた事、等も報告されている。

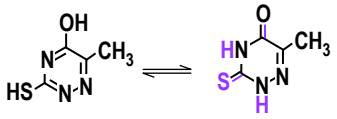
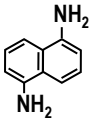
MALDI Matrix List for 337(355) nm (5/25)

Koichi Tanaka Laboratory of Advanced Science and Technology

http://www.first-ms3d.jp/

SHIMADZU

ms3d FIRST Program

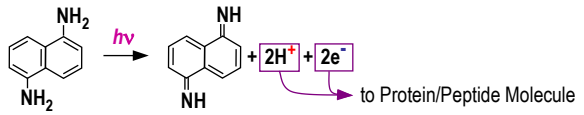
Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass (Aver. Mass) [1]	Structure	Reference(s)
"ATT" 6-Aza-2-thiothymine	$C_4H_5N_3OS$ 615-76-9	143.01533 (143.167)		Peter Juhasz, Catherine Costello "Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry of underivatized and permethylated gangliosides" J. Am. Soc. Mass Spectrom., Vol. 3, p785 (1992) Paolo Lecchi, Han Le, Lewis Pannell "6-Aza-2-thiothymine: a matrix for MALDI spectra of oligonucleotides" Nucl. Acids Res., Vol. 23, p1276 (1995)
複合糖脂質・核酸関連物質の分析等に用いられる。				
"1,5-DAN" 1,5-Diamino naphthalene	$C_{10}H_{10}N_2$ 2243-62-1	158.08440 (158.200)		Peter Juhasz, Catherine Costello "Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry of underivatized and permethylated gangliosides" J. Am. Soc. Mass Spectrom., Vol. 3, p785 (1992) Peter Juhasz "Selection of matrix for MALDI" Proc. Workshop 41st Am. Soc. Mass Spectrom. Conference, p77 (ASMS1993)

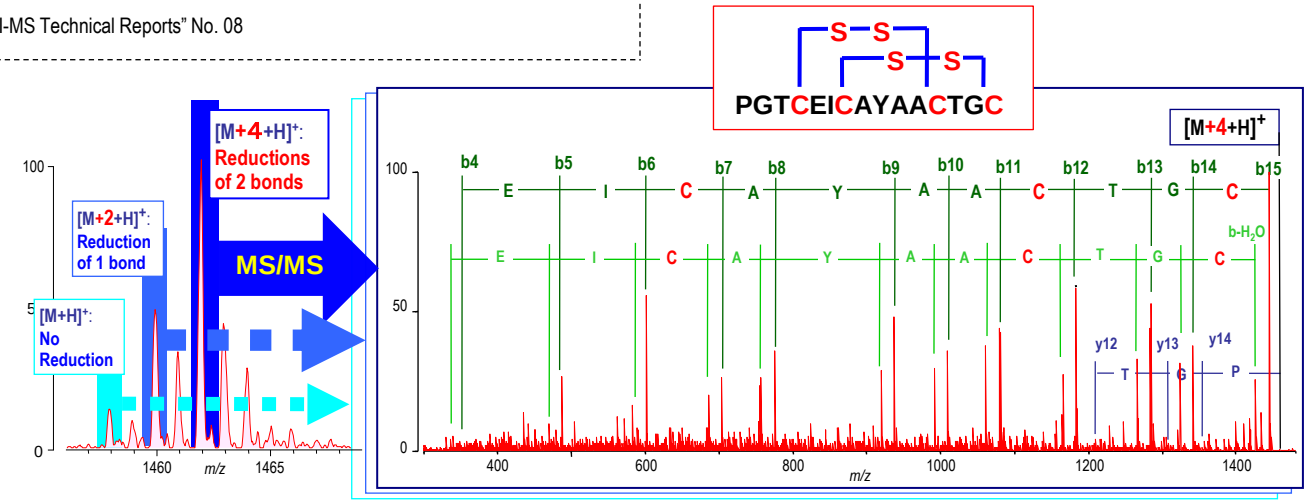
Yuko Fukuyama, Shinichi Iwamoto, Koichi Tanaka "Rapid sequencing and disulfide mapping of peptides containing disulfide bonds by using 1,5-diaminonaphthalene as a reductive matrix" J. Mass Spectrom., Vol. 41, p191 (2006)

Yuko Fukuyama, Koichi Tanaka "Post-translational modification analyses using 1,5-diaminonaphthalene as a matrix" WP469 (ASMS2006)

"PA"(2007)論文参照 "5-ASA"(2010)論文参照

"MALDI-MS Technical Reports" No. 08



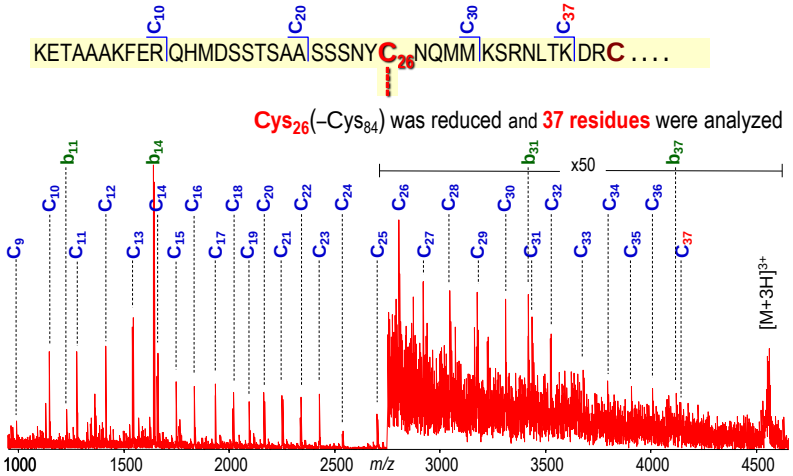


DANによるS-S結合含有ペプドー部還元MS spectrum (Left) 及び 完全還元[M+4+H] MS/MS spectrum (Right)

(特に[M+2+H]のMS/MSを解析する事で、どのCysとどのCysが結合しているか、推測可能な場合がある)

(上記の場合、片方のS-S結合が優先的にreductionされたため、結合の組み合わせが推測できた)

上写真は、DANを用いた場合の試料搭載後Sample Plate光学顕微鏡画像の一例であり、DHBと同様 巨大な結晶が成長している状態がうかがえる。



Mass Spectra of Ribonuclease A by In Source Decay using 1,5-DAN (ASMS2006)

測定に用いたMALDI-QIT-TOFMS "Axima-QIT"(2002年発売)

1990年代は、複合脂質・合成高分子等に有効な(Negative Mode用)Matrixと考えられたが、2000年代に特にDisulfide結合に対する強力な還元作用を活用し、S-S結合還元のみに留まらず、翻訳後修飾PTMs解析・Top Down Proteomicsへの活用に進展。ただし、不均一な結晶成長(写真参照)、真空中での昇華sublimationの速さ(測定時間が限られる)、発癌性carcinogenicity等に留意しなければならない。

還元力・感度としては1,5-DANが最も高い結果が得られているが、1,8-DAN, 2,3-DANでもイオン化・還元力が確認されている(2006論文)。

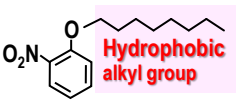
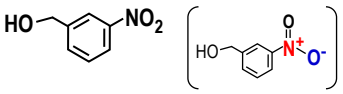
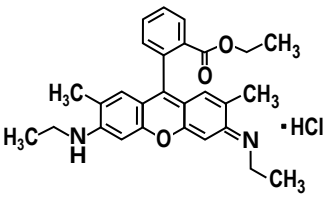
MALDI Matrix List for 337(355) nm (6/25)

Koichi Tanaka Laboratory of Advanced Science and Technology

http://www.first-ms3d.jp/

SHIMADZU

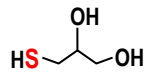
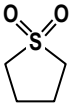
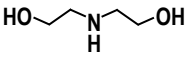
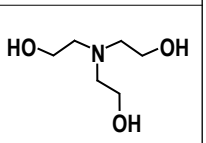
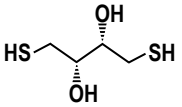
ms3d FIRST Program

Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass *(Aver. Mass)* [1]	Structure	Reference(s)
"NPOE" 2-Nitrophenyl octyl ether	$C_{14}H_{21}NO_3$ 37682-29-4	251.15214 *(251.321)*		Ute Bahr, Andreas Deppe, Michael Karas, Franz Hillenkamp, Ulrich Giessmann "Mass spectrometry of synthetic polymers by UV-matrix-assisted laser desorption/ionization" Anal. Chem., Vol. 64, p2866 (1992)
Glycerinと同様 FAB 用Matrixとして用いられる。疎水性のアルキル鎖を持つ特徴を生かし、MALDIでは 非極性のPolymer分析等に用いられる。				
"3-NBA" 3-Nitrobenzyl Alcohol Melt. Pnt. : 30-32 deg	$C_7H_7NO_3$ 619-25-0	153.04259 *(153.135)*		T-W. Dominic Chan, A. W. Colburn, Peter J. Derrick, "Matrix-assisted laser desorption/ionization using a liquid matrix: Formation of high-mass cluster ions from proteins" Org. Mass Spectrometry, Vol. 27, p53 (1992)
Glycerinと同様 FAB 用Matrixとして最も多く用いられている。MALDI（主に266nm）では、室温で**液状**である特性を利用し、高質量Cluster Ion生成促進や Online MALDI等が試行された。ESIでは、Analyteの電荷数を増加させるために 添加剤として用いられる場合がある。				
Rhodamine 6G	$C_{28}H_{31}N_2O_3Cl$ 989-38-8	478.20232 *(479.010)*		D. Shannon Cornett, Michael A. Duncan, I. Jonathan Amster "Matrix-assisted Laser Desorption at Visible Wavelengths Using a Two-Component Matrix" Org. Mass Spectrom., Vol.27, p831 (1992) K. Tang, S. L. Allman, R. B. Jones, C. H. Chen "Comparison of Rhodamine Dyes as Matrices for MALDI-MS" Org. Mass Spectrom., Vol.27, p1389 (1992) Gary Parr, Michael Fitzgerald, Lloyd Smith "Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of synthetic oligodeoxyribonucleotides" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 6, p369 (1992)
主に3-NBAやGlycerin（液状Matrix）と混合して（可視光MALDIで）用いられた。 多くの生体分子は可視領域で吸収が弱く、赤い染料であるRhodamineは可視光を吸収する。これをMatrixとして用いる事により，UV波長でのイオン化よりFragmentationが発生し難い。				

MALDI黎明期以降 窒素レーザ光（337nm）が多く用いられた、考えられる主な理由は？

- 特にNd-YAG Laserと比較し、安価・小型
- パルスレーザ（半値幅：1~5nsec）であり、Mass Resolution向上のための"遅延引出し"が本格化する前から TOF-MSに適していた
- Φ数10μmに絞る事で、ある程度のImagingが可能
- 集光部断面におけるレーザ強度が 正規分布ではなく ほぼ台形Plateauなため、Soft Ionizationに適切なレーザ密度が保てる照射領域が広い
- 337nm付近に吸光度が高い化合物が少ない（Matrixのみがレーザ光を直接吸収すれば良い）ため、**fragmentationの危険が少ない**

--- 25/25 マトリックス別吸光スペクトル 参照

Thioglycerol Melt. Pnt. : < 25 deg	$C_3H_8O_2S$ 96-27-5	108.02450 *(108.160)*	
Sulfolane Melt. Pnt. : 27.5 deg	$C_4H_8O_2S$ 126-33-0	120.02450 *(120.170)*	
Diethanolamine Melt. Pnt. : 28.0 deg	$C_4H_{11}NO_2$ 111-42-2	105.07898 *(105.136)*	
Triethanolamine Melt. Pnt. : 20.5 deg	$C_6H_{15}NO_3$ 102-71-6	149.10519 *(149.188)*	
DTT Dithiothreitol Melt. Pnt. : 43 deg	$C_4H_{10}O_2S_2$ 3483-12-3	154.01222 *(154.251)*	

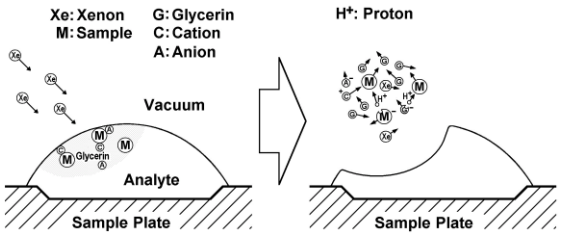
左に列記したのは、主に1980年代 Glycerinと同様 Fast Atom Bombardment (FAB) 用Matrixとして用いられた化合物である。

--- **SLD**は、FABのアイデア等を参考にして発明された

Xe等の高速（非荷電）粒子を衝突させても （Dynamic SIMSよりも）"**Soft Ionization**"が可能になるのは、

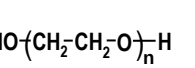
- 固体試料が液状Matrixに溶解、固体状態よりも分子間力が弱まる
- 真空中でMatrixが液状表面から次第に気化、試料が表面に集積する

等の効果による、と考えられる。



Glycerinを用いた場合の FABイオン化機構概略図

FAB用Matrix解説論文一例：
Mitsuo Takayama, Toshie Takahashi "Criterion for the Choice of Matrix in Fast Atom Bombardment Mass Spectrometry" J. Mass Spectrom. Soc. Jpn, Vol. 44, p493 (1996)

PEG polyethylene glycol	$(C_2H_4O)nH_2O$ - -			低分子量PEG(200～600)は 常温で液状であり、固体高分子（極性）Polymerを溶かし込み 液状にする能力があるため、液体Matrixとして試用例あり（1980年代の実験では Glycerinの代わりにUFMPと混合）。 特に「類似」化学構造化合物（例：高分子PEG）測定に効果が期待できる。

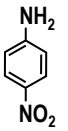
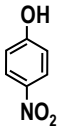
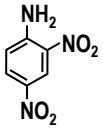
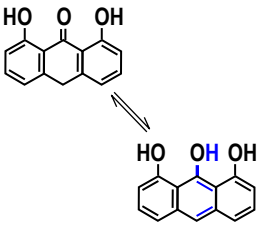
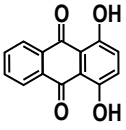
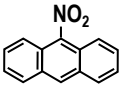
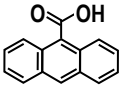
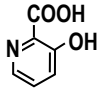
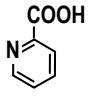
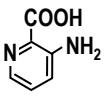
MALDI Matrix List for 337(355) nm (7/25)

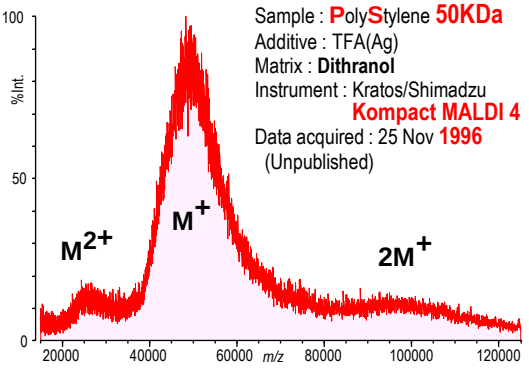
Koichi Tanaka Laboratory of Advanced Science and Technology

http://www.first-ms3d.jp/

SHIMADZU

ms3d FIRST Program

Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass *(Aver. Mass)* [1]	Structure	Reference(s)
4-Nitroaniline	$C_6H_6N_2O_2$ 100-01-6	**138.04293** *(138.124)*		M. E. Gimon, L. M. Preston, T. Solouki, M. A. White, D. H. Russell "Are proton transfer reactions of excited states involved in UV laser desorption ionization?" Org. Mass Spectrom., Vol. 27, p827 (**1992**) Kermit Murray, David Russell "Aerosol matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry" J. Am. Soc. Mass Spectrom., Vol. 5, p1 (**1994**) Mary Gimon, Gary Kinsel, Ricky Edmondson, David Russell, Timothy Prout, Hernita Ewald "Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-flight Mass Spectrometry of Paclitaxel and Related Taxanes" J. Nat. Prod., Vol. 57, p1404 (**1994**) Rory Steven, Alan Race, Josephine Bunch "*para*-Nitroaniline is a Promising Matrix for MALDI-MS Imaging on Intermediate Pressure MS Systems" J. Am. Soc. Mass Spectrom., Vol. 24, p801 (**2013**)
4-Nitrophenol	$C_6H_5NO_3$ 100-02-7	**139.02694** *(139.109)*		
2,4-Dinitroaniline	$C_6H_5N_3O_4$ 97-02-9	**183.02801** *(183.122)*		Michael Fitzgerald, Gary Parr, Lloyd Smith "Basic matrixes for the matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of proteins and oligonucleotides" Anal. Chem., Vol. 65, p3204 (**1993**) Lisa Preston-Schaffter, Gary Kinsel, David Russell "Effects of heavy-atom substituents on matrices used for matrix-assisted laser desorption-ionization mass spectrometry" J. Am. Soc. Mass Spectrom., Vol. 5, p800 (**1994**)
当初、核酸関連物質・糖鎖・天然物等の分析に用いられていたが、特に4-Nitroanilineは**Imaging MALDI**に用いられるようになった（**2013**論文）。				
Dithranol 1,8-Dihydroxy-9[10H]-anthracenone	$C_{14}H_{10}O_3$ 1143-38-0	**226.06299** *(226.227)*		Peter Juhasz, Catherine Costello "Generation of large radical ions from oligometallocenes by matrix-assisted laser desorption ionization" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 7, p343 (**1993**)
Quinizarin 1,4-dihydroxyanthraquinone	$C_{14}H_8O_4$ 81-64-1	**240.04226** *(240.211)*		
9-Nitroanthracene	$C_{14}H_9NO_2$ 602-60-8	**223.06333** *(223.227)*		
"9-**ACA**" 9-Anthracenecarboxylic acid	$C_{15}H_{10}O_2$ 723-62-6	**222.06808** *(222.239)*		Xiaodong Tang, Peter Dreifuss, Akos Vertes "New matrices and accelerating voltage effects in matrix-assisted laser desorption / ionization of synthetic polymers" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 9, p1141 (**1995**)
Anthracene誘導体に属する。特にDithranolは、主に合成高分子の分析に用いられ、Silver Trifluoroacetate（Cation Donor）を添加し、Polystylene等の検出が行われた。特に9-Nitroanthraceneは、Transferable protonを持たない事を逆に利用し、Radical Ion生成（例：Oligometallocene）が期待できる。 9-ACAは、5-MSAとのmole比（5:2）混合で"Super 9-ACA"と呼び、Synthetic Polymerに適応（**1995**論文）。				
"**HPA**" 3-Hydroxypicolinic acid	$C_6H_5NO_3$ 874-24-8	**139.02694** *(139.109)*		Kuang J. Wu, Anna Steding, Christopher H. Becker "Matrix-assisted laser desorption time-of-flight mass spectrometry of oligonucleotides using 3-hydroxypicolinic acid as an ultraviolet-sensitive matrix" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 7, p142 (**1993**) Noah Christian, Steven Colby, Lori Giver, Chris Houston, Randy Arnold, Andrew Ellington, James Reiily "High resolution matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight analysis of single-stranded DNA of 27 to 68 nucleotides in length" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 9, p1061 (**1995**)
核酸関連物質（DNA,RNA）測定に多く用いられる。				
"**PA**" (Picolinic acid)	$C_6H_5NO_2$ 98-98-6	**123.03203** *(123.109)*		K. Tang, N. I. Taranenko, S. L. Allman, C. H. Chen, L. Y. Ch'ang, K. B. Jacobson "Picolinic acid as a matrix for laser mass spectrometry of nucleic acids and proteins" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol.8, p673 (**1994**) Kevin Demeure, Loïc Quinton, Valérie Gabelica, Edwin De Pauw "Rational Selection of the Optimum MALDI Matrix for Top-Down Proteomics by In-Source Decay" Anal. Chem., Vol. 79, p8678 (**2007**)
PAは 337,355nmに強い吸光度がないため、co-matrixとして用いられる場合が多い。元来は核酸関連物質分析で試用されたが、特に1,5-DANとの混合で **In-Source Decay**, **Top Down Proteomics**にも用いられた。				
"**APA**" 3-Aminopicolinic acid	$C_6H_6N_2O_2$ 1462-86-8	**138.04293** *(138.124)*		N. I. Taranenko, K. Tang, S. Allman, L. Ch'ang, C. Chen "3-aminopicolinic acid as a matrix for laser desorption mass spectrometry of biopolymers" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 8, p1001 (**1994**)
				（Single-/double- stranded）DNAやタンパク質測定に試用された。



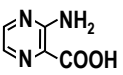
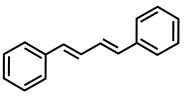
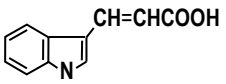
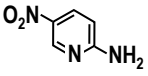
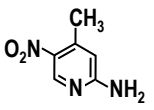
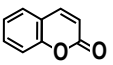
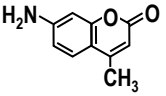
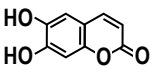
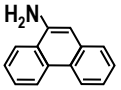
MALDI Matrix List for 337(355) nm (8/25)

Koichi Tanaka Laboratory of Advanced Science and Technology

http://www.first-ms3d.jp/

SHIMADZU

ms3d FIRST Program

Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass (Aver. Mass) [1]	Structure	Reference(s)
3-Aminopyrazine-2-carboxylic acid	$C_5H_5N_3O_2$ 5424-01-1	**139.03818** (139.112)		Kuang J. Wu, Anna Steding, Christopher H. Becker "Matrix-assisted laser desorption time-of-flight mass spectrometry of oligonucleotides using 3-hydroxypicolinic acid as an ultraviolet-sensitive matrix" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 7, p142 (**1993**) Klaus Schneider, Brian Chait "Matrix-assisted laser desorption mass spectrometry of homopolymer oligodeoxyribonucleotides. Influence of base composition on the mass spectrometric response" Org. Mass Spectrom., Vol. 28, p1353 (**1993**)
特にMALDI黎明期に、核酸関連物質測定に試用された。				
"DPB" 1,4-diphenyl-1,3-butadiene	$C_{16}H_{14}$ 538-81-8	**206.10955** (206.282)		Shannon Cornett, Michael Duncan, Jonathan Amster "Liquid mixtures for matrix-assisted laser desorption" Anal. Chem., Vol. 65, p2608 (**1993**) David Schriemer, Randy Whittal, Liang Li "Analysis of Structurally Complex Polymers by Time-Lag Focusing Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry" Macromolecules, Vol. 30, p1955 (**1997**)
元来、1,4-diphenyl-1,3-butadieneは、532nm, 337nmレーザ光を用い、3-NBA, Glycerol等に溶解させた液体Matrixとして使用されている。その後、極めてNon-polar polymer分析（$AgNO_3$添加で）等に用いられた。				
"IAA" *trans*-3-Indoleacrylic acid	$C_{11}H_9NO_2$ 29953-71-7	**187.06333** (187.195)		Paul Danis, Dane Karr "A Facile Sample Preparation for the Analysis of Synthetic Organic Polymers by Matrix-assisted laser Desorption / Ionization" Org. Mass Spectrom., Vol. 28, p923 (**1993**) Paul Danis, Dane Karr, Yansan Xiong, Kevin Owens "Methods for the Analysis of Hydrocarbon Polymers by Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-flight Mass Spectrometry" Rapid Commun Mass Spectrom., Vol.10, p862 (**1996**)
主に合成高分子の分析に用いられる。				
2-Amino-5-nitropyridine	$C_5H_5N_3O_2$ 4214-76-0	**139.03818** (139.112)		Michael Fitzgerald, Gary Parr, Lloyd Smith "Basic matrixes for the matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of proteins and oligonucleotides" Anal. Chem., Vol. 65, p3204 (**1993**)
特にMALDI黎明期に、様々なBasic Matrix候補30種類以上の中の1つとして試用された。その中でoligonucleotideに最も良いMatrixに選ばれた。				
2-amino-4-methyl-5-nitropyridine **2-Amino-5-nitro-4-picoline**	$C_6H_7N_3O_2$ 21901-40-6	**153.05383** (153.139)		Michael Fitzgerald, Gary Parr, Lloyd Smith "Basic matrixes for the matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of proteins and oligonucleotides" Anal. Chem., Vol. 65, p3204 (**1993**)
特にMALDI黎明期に、様々なBasic Matrix候補30種類以上の中の1つとして試用された。				
Coumarin	$C_9H_6O_2$ 91-64-5	**146.03678** (146.143)		T-W. Chan, A. Colburn, Peter Derrick, Derek Gardiner, Michael Bowden "Suppression of matrix ions in ultraviolet laser desorption: Scanning electron microscopy and raman spectroscopy of the solid samples" Org. Mass Spectrom., Vol. 27, p188 (**1992**) I.K. Perera, S. Kantartzoglou, P.E. Dyer "Coumarin laser dyes as matrices for matrix assisted UV laser desorption/ionization mass spectrometry" Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes, Vol. 137, p151 (**1994**) Yuqin Dai, Randy M Whittal, Craig A Bridges, Yukihiro Isogai, Ole Hindsgaul, Liang Li "Matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry for the analysis of monosulfated oligosaccharides" Carbohydr. Res., Vol. 304, p1 (**1997**)
Coumarin 120 7-amino-4-methylcoumarin	$C_{10}H_9NO_2$ 26093-31-2	**175.06333** (175.184)		
イオン化効率向上Tag物質としても使われる。官能基の組み合わせによって、様々な"Coumarin XXX"がある。**Coumarin 120**は、**Glycosphingolipid**測定に有用。その他、**Coumarin 2**, **Coumarin 47**, **Coumarin 152**, **Coumarin 175** 等の検討が報告されている。				
Esculetin 6,7-Dihydroxycoumarin	$C_9H_6O_4$ 305-01-1	**178.02661** (178.142)		Klaus Schneider, Brian Chait "Matrix-assisted laser desorption mass spectrometry of homopolymer oligodeoxyribonucleotides. Influence of base composition on the mass spectrometric response" Org. Mass Spectrom., Vol. 28, p1353 (**1993**)
Coumarin derivativeの一種。核酸関連物質等の分析に用いられた。				
9-Aminophenanthrene 9-Phenanthrenamine	$C_{14}H_{11}N$ 947-73-9	**193.08915** (193.244)		E. A. Stemmler, R. L. Hettich, G. B. Hurst, M. V. Buchanan "Matrix-assisted laser desorption/ionization Fourier-transform mass spectrometry of oligodeoxyribonucleotides" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 7, p828 (**1993**)
核酸関連物質等の分析に用いられた。DHBよりもFragmentationが多い。				

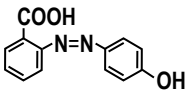
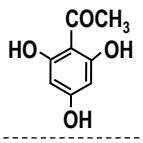
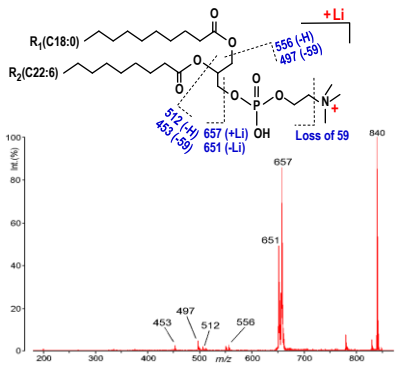
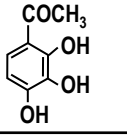
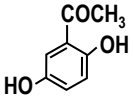
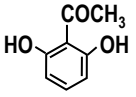
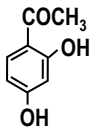
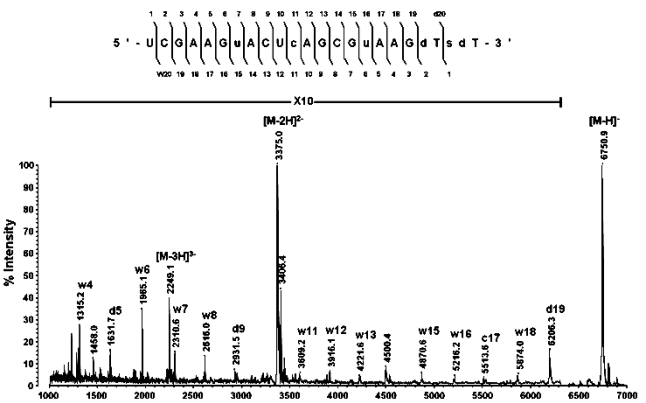
MALDI Matrix List for 337(355) nm (9/25)

Koichi Tanaka Laboratory of Advanced Science and Technology

http://www.first-ms3d.jp/

SHIMADZU

ms3d FIRST Program

Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass *(Aver. Mass)* [1]	Structure	Reference(s)
"HABA" 2-(4-hydroxy phenylazo) benzoic acid	$C_{13}H_{10}N_2O_3$ 1634-82-8	**242**.06914 *(242.230)*		Peter Juhasz, Catherine Costello, Klaus Biemann "Matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry with 2-(4-hydroxyphenylazo) benzoic acid matrix" J. Am. Soc. Mass Spectrom., Vol. 4, p399 (**1993**) Giorgio Montaudo, Mausizio Montaudo, Concetto Puglisi, Filippo Samperi "2-(4-hydroxyphenylazo)-benzoic acid: A solid matrix for matrix-assisted laser desorption/ionization of polystyrene" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 8, p1011 (**1994**)
主に合成高分子･ペプチド/タンパク質の分析に用いられる。				
"THAP" 2',4',6'-Trihydroxy acetophenone	$C_8H_8O_4$ 480-66-0	**168**.04226 *(168.147)*		Uwe Pieles, Werner Zürcher, Martin Schär, Heinz Moser "Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry: a powerful tool for the mass and sequence analysis of natural and modified oligonucleotides" Nucl. Acids Res., Vol. 21, p3191 (**1993**) Nien-Yeen Hsu, Wen-Bin Yang, Chi-Huey Wong, Yuan-Chuan. Lee, Reiko T. Lee, Yi-Sheng Wang, Chung-Hsuan Chen "Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of polysaccharides with 2',4',6'-trihydroxyacetophenone as matrix" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 21, p2137 (**2007**a) Gerald Stübiger, Omar Belgacem "Analysis of Lipids Using 2,4,6-Trihydroxyacetophenone as a Matrix for MALDI Mass Spectrometry" Anal. Chem., Vol. 79, p3206 (**2007**b)
				 PSD spectrum of [M + **Li**]$^+$ ions of sn-1-stearoyl-2-docosahexaenoyl-PC (22:6/18:0)
				 Kratos/Shimadzu Axima TOF^2
Cation付加分子を生成する場合、Cationとして何が適切か？ は、分子の立体構造等によって異なる。ある複合脂質をPSD MS/MS測定した場合（上図）は、Li ionが最適（Internal energy解放後も安定）であった。（**2007**b論文）				
2',3',4'-Trihydroxy acetophenone	$C_8H_8O_4$ 528-21-1	**168**.04226 *(168.147)*		I Gruic-Sovulj, H C Lüdemann, F Hillenkamp, I Weygand-Durasevic, Z Kucan, J Peter-Katalinic "Matrix-assisted laser desorption/ionisation mass spectrometry of transfer ribonucleic acids isolated from yeast" Nucleic Acids Res., Vol. 25, p1859 (**1997**)
"2,5-DHAP" 2',5'-Dihydroxy acetophenone	$C_8H_8O_3$ 490-78-8	**152**.04734 *(152.147)*		(上記THAP(1993)論文に加え 下記も) Hyun Joo An, Suzanne Miyamoto, Katherine S. Lancaster, Crystal Kirmiz, Bensheng Li, Kit S. Lam, Gary S. Leiserowitz, Carlito B. Lebrilla "Profiling of Glycans in Serum for the Discovery of Potential Biomarkers for Ovarian Cancer" J. Proteome Res., Vol. 5, p1626 (**2006**)
"2,6-DHAP" 2',6'-Dihydroxy acetophenone	$C_8H_8O_3$ 699-83-2	**152**.04734 *(152.147)*		(上記THAP(1993)論文に加え 下記も) Martin Mohr, K. OlafBörnsen, H. Michael Widmer "Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry: Improved matrix for oligosaccharides" Rapid Commun. Mass Spectrom. Vol. 9, p809 (**1995**) Lucinda Cohen, Kerstin Strupat, Franz Hillenkamp "Analysis of quaternary protein ensembles by matrix assisted laser desorption/ionization mass spectrometry" J. Am. Soc. Mass Spectrom., Vol. 8, p1046 (**1997**) Benoit Colsch, Amina Woods "Localization and imaging of sialylated glycosphingolipids in brain tissue sections by MALDI mass spectrometry" Glycobio., Vol.20, p661 (**2010**)
2,6-DHAP は、脂質 imaging にも用いられるが、真空中での昇華 sublimationが欠点。				
"2,4-DHAP" 2',4'-Dihydroxy acetophenone	$C_8H_8O_3$ 89-84-9	**152**.04734 *(152.147)*		(上記THAP(1993)論文に加え 下記も) Hisao Shimizu, Fumihiro Jinno, Akio Morohashi, Yuzo Yamazaki, Masaki Yamada, Takahiro Kondo, Satoru Asahi "Application of high-resolution ESI and MALDI mass spectrometry to metabolite profiling of small interfering RNA duplex" J. Mass. Spectrom., Vol. 47, p1015 (**2012**)
				
他のDHAPと同様、当初 核酸関連物質･糖鎖･脂質測定等に用いられた。2,4-DHAPは、In-Source Decayで**RNA Sequence**解析が行えた報告がなされている。				
THAPは、当初は 核酸関連物質分析に用いられたが、後に 糖鎖や脂質測定等にも用いられるようになった。				

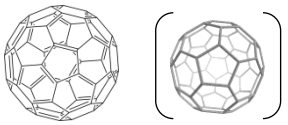
MALDI Matrix List for 337(355) nm (10/25)

Koichi Tanaka Laboratory of Advanced Science and Technology

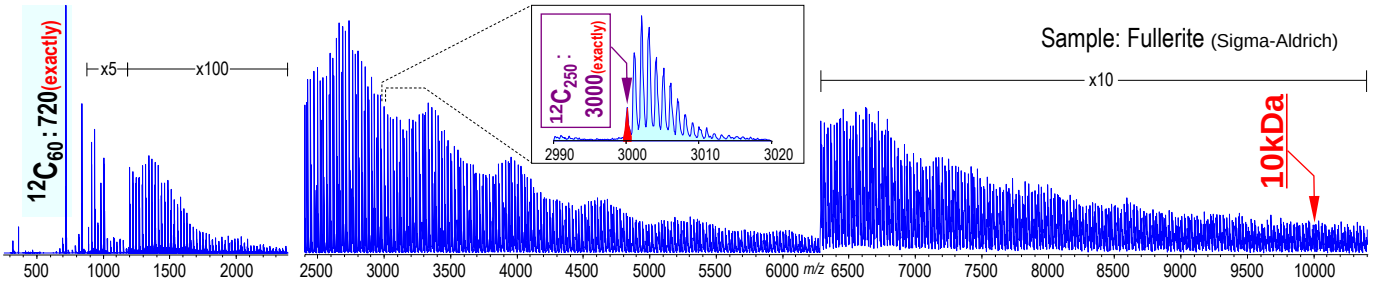
http://www.first-ms3d.jp/

SHIMADZU

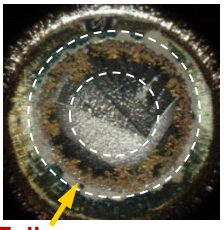
ms3d FIRST Program

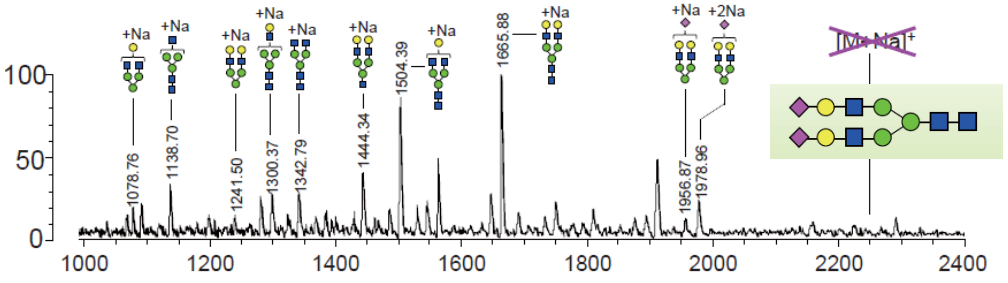
Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass *(Aver. Mass)* [1]	Structure	Reference(s)
Fullerene	C_{60} 99685-96-8	**720**(exactly) *(720.642)*		Femia Hopwood, Leszek Michalak, David Alderdice, Keith Fisher, Gary Willett "C_{60}-assisted laser desorption / Ionization mass spectrometry in the analysis of phosphotungstic acid" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 8, p881 (**1994**)

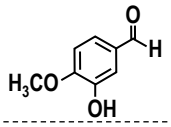
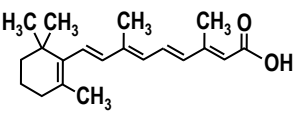
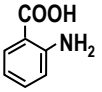
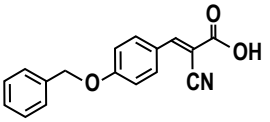
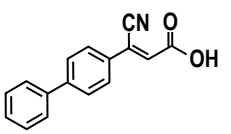
イオン化よりも、特にレーザ光を吸収する「**黒体**」・レーザ脱離用媒体として利用。^{12}Cの**1/12**は 統一原子**質量単位**（**1 dalton : Da**）。高分子不純物を多く含む"Fullerite"は、*m/z*～[Max]10k で C_2間隔で**正負両イオン**が観測できるため、**Mass Calibration**にも活用可能（ただし contaminationに注意）。



Fullerene添加（下写真）により、IR-Laserにおいて**Product Ion生成**効率が向上した結果も得られている（下記**FIRST-ms3d** project 研究成果報告書 参照）





Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass *(Aver. Mass)* [1]	Structure	Reference(s)
Salicylamide 2-hydroxybenzamide	$C_7H_7NO_2$ 65-45-2	**137**.04768 *(137.136)*		Kuang Jen Wu, Thomas Shaler, Christopher Becker "Time-of-flight mass spectrometry of underivatized single-stranded DNA oligomers by matrix-assisted laser desorption" Anal. Chem., Vol. 66, p1637 (**1994**) Joern Krause, Markus Stoeckli, Urs Schlunegger "Studies on the selection of new matrices for ultraviolet matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry" Rapid Commun Mass Spectrom., Vol. 10, p1927 (**1996**)
非ステロイド性抗炎症薬の一種。				
Isovanillin 3-Hydroxy-4-methoxybenzaldehyde	$C_8H_8O_3$ 621-59-0	**152**.04734 *(152.147)*		Graeme Currie, John Yates "Analysis of oligodeoxynucleotides by negative-ion matrix-assisted laser desorption mass spectrometry" J. Am. Soc. Mass Spectrom., Vol. 4, p955 (**1993**) Tang K, Allman SL, Chen CH, Chang LY, Schell M. "Matrix-assisted laser desorption / ionization of restriction enzyme-digested DNA" Rapid Commun Mass Spectrom., No.8, p183 (**1994**)
核酸関連物質等の分析に用いられた。				
Retinoic Acid all-*trans*-retinoic acid	$C_{20}H_{28}O_2$ 302-79-4	**300**.20893 *(300.435)*		Kathleen Walker, Michael Kahr, Charles Wilkins, Zhifu Xu, Jeffrey Moore "Analysis of hydrocarbon dendrimers by laser desorption time-of-flight and Fourier transform mass spectrometry" J. Am. Soc. Mass Spectrom., Vol. 5, p731 (**1994**) David Schriemer, Liang Li "Detection of High Molecular Weight Narrow Polydisperse Polymers up to 1.5 Million Daltons by MALDI Mass Spectrometry" Anal. Chem., Vol. 68, p2721 (**1996**)
非極性Polymer（例：Dendrimer）測定の報告等がなされている。				
Anthranilic acid	$C_7H_7NO_2$ 118-92-3	**137**.04768 *(137.136)*		Bing Wang, Klaus Biemann "Matrix-Assisted Laser Desorption / Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry of Chemically Modified Oligonucleotides" Anal. Chem., Vol. 66, p1918 (**1994**)
当初、Nicotinic Acidとのco-matrixとして試用された。主に糖鎖・核酸関連物質（・合成高分子）の分析に用いられる。				
4-benzyloxy-α-cyanocinnamic acid 3-(4-Benzyloxyphenyl)-α-cyanoacrylic acid	$C_{17}H_{13}NO_3$ 162882–36–2	**279**.08954 *(279.290)*		M. George, J. M. Y. Wellemans, R. L. Cerny, M. L. Gross, K. Li, E. L. Cavalieri "Matrix design for matrix-assisted laser desorption ionization: Sensitive determination of PAH-DNA adducts" J. Am. Soc. Mass Spectrom., Vol.5, p1021 (**1994**)
α-Cyano-4-phenylcinnamic acid 3-(4-Biphenylyl)-2-cyanoacrylic acid	$C_{16}H_{11}NO_2$ 63472–31–1	**249**.07898 *(249.264)*		
PAH-DNA adducts測定に用いられた。				

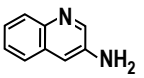
MALDI Matrix List for 337(355) nm (11/25)

Koichi Tanaka Laboratory of Advanced Science and Technology

http://www.first-ms3d.jp/

SHIMADZU

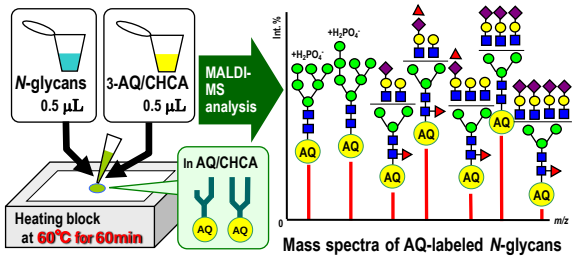
ms3d FIRST Program

Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass *(Aver. Mass)* [1]	Structure	Reference(s)
"3-AQ" **3-Aminoquinoline** 3-Quinolineamine	$C_9H_8N_2$ 580-17-6	144.06875 *(144.173)*		Jürgen Metzger, Ralf Woisch, Wilfried Tuszynski, Raimond Angermann "New type of matrix for matrix-assisted laser desorption mass spectrometry of polysaccharides and proteins" Fresenius. J. Anal. Chem., Vol. 349, p473 (**1994**)

元来 糖鎖・タンパク質用として発表されたが、その後 **液体Matrix 3-AQ/CHCA**、3-AQの**ラベル化（化学修飾）**活用が注目されるようになった。

"3-AQ/CHCA"

（3-AQ, CHCA説明を参照）



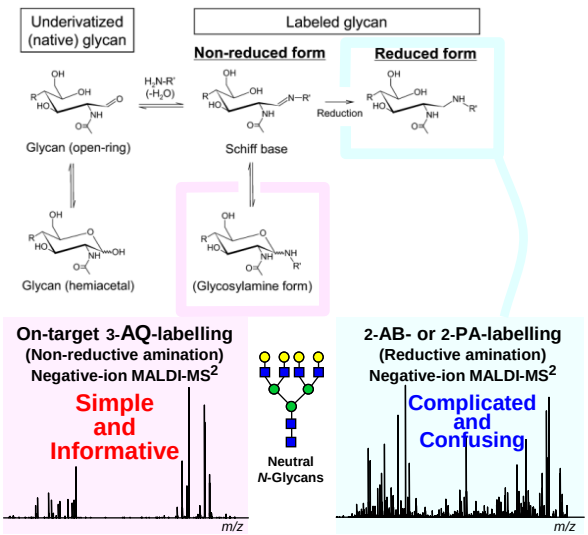
Mass spectra of AQ-labeled *N*-glycans

60℃加熱による糖鎖3-AQ化とAQ化糖鎖混合物測定

常温でも進行する化学反応を加熱により加速、ほぼ100%の糖鎖3-AQラベル化後 Sample Plate上液滴のままで測定する事により、最大**1万倍高感度**イオン化が可能になった。

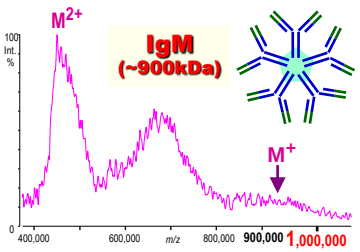
Kaoru Kaneshiro, Yuko Fukuyama, Sinichi Iwamoto, Sadanori Sekiya, Koichi Tanaka "Highly Sensitive MALDI Analyses of Glycans by a New Aminoquinoline-Labeling Method Using 3-Aminoquinoline / α-Cyano-4-hydroxycinnamic Acid Liquid Matrix" Anal. Chem., Vol. 83, p3663 (**2011**)

Kaoru Kaneshiro, Makoto Watanabe, Kazuya Terasawa, Hiromasa Uchimura, Yuko Fukuyama, Shinichi Iwamoto, Taka-Aki Sato, Kazuharu Shimizu, Koichi Tanaka "Rapid Quantitative Profiling of *N*-Glycan by the Glycan-Labeling Method Using 3-Aminoquinoline/α-Cyano-4-hydroxycinnamic Acid" Anal. Chem., Vol. 84, p7146 (**2012**a)



Takashi Nishikaze, Kaoru Kaneshiro, Shin-ichirou Kawabata, Koichi Tanaka "Structural Analysis of N-Glycans by the Glycan-Labeling Method Using 3-Aminoquinoline-Based Liquid Matrix in Negative-Ion MALDIMS" Anal. Chem., Vol. 84, p9453 (**2012**b)

Kumar Kolli, Ron Orlando "A new matrix for MALDI on magnetic sector instrument with point detectors" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 10, p923 (**1996**)

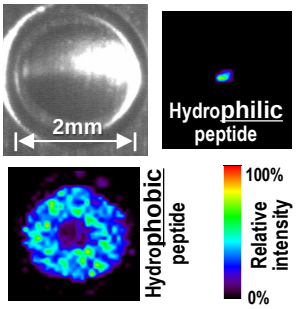


Koichi Tanaka, Sadanori Sekiya, Masafumi Jinno, Makoto Hazama, Kei Kodera, Shinichi Iwamoto "Macromolecule Measurement using MALDI-DIT-MS" MP011 (ASMS**2008**)

Koichi Tanaka, Sadanori Sekiya, Shinichi Iwamoto "MALDI-DITMS/MS for High Mass High Sensitivity and High Resolution Measurement" MP586 (ASMS**2009**)

Sadanori Sekiya, Ken-ichi Taniguchi, Koichi Tanaka "On-target separation of analyte with 3-aminoquinoline / α-cyano-4-hydroxycinnamic acid liquid matrix for matrix-assisted laser desorption / ionization mass spectrometry" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 26, p693 (**2012**c)

Takuya Shuo, Naohiko Koshikawa, Daisuke Hoshino, Tomoko Minegishi, Hiroko Ao-Kondo, Masaaki Oyama, Sadanori Sekiya, Shinichi Iwamoto, Koichi Tanaka, Motoharu Seiki "Detection of the Heterogeneous *O*-Glycosylation Profile of MT1-MMP Expressed in Cancer Cells by a Simple MALDI-MS Method" PLOS ONE, Vol. 7, e43751 (**2012**d)

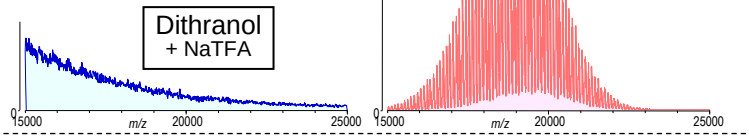


3-AQ/CHCAにより 親水性化合物が中心に集積している事を示すイオン強度分布

Acquired in **2009**
using **Axima-TOF2**
(Unpublished)

PMMA 23k

Dithranol + NaTFA



Yuko Fukuyama, Kohei Takeyama, Shin-ichirou Kawabata, Shinichi Iwamoto, Koichi Tanaka "An optimized matrix-assisted laser desorption/ionization sample preparation using a liquid matrix, 3-aminoquinoline/α-cyano-4-hydroxycinnamic acid, for phosphopeptides" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 26, p2454 (**2012**e)

Makoto Watanabe, Kazuya Terasawa, Kaoru Kaneshiro, Hiromasa Uchimura, Rie Yamamoto, Yuko Fukuyama, Kazuharu Shimizu, Taka-Aki Sato, Koichi Tanaka "Improvement of mass spectrometry analysis of glycoproteins by MALDI-MS using 3-aminoquinoline/α-cyano-4-hydroxycinnamic acid" Anal. Bioanal. Chem., Vol. 405, p4289 (**2013**)

Takashi Nishikaze, Shin-ichirou Kawabata, Koichi Tanaka "Fragmentation Characteristics of Deprotonated *N*-linked Glycopeptides: Influences of Amino Acid Composition and Sequence" J. Am. Soc. Mass Spectrom., Vol. 25, p988 (**2014**)

元来は、MALDIイオン源・Sector（磁場）型MSで糖鎖を安定的に測定するため開発された **Liquid Matrix**の一種（**1996**論文）。

その後、固体Matrixよりも**Soft** イオン化能力（ASMS**2008**/**2009**）、3-AQ**ラベル化**（化学修飾）・**高感度化能力**（**2011**,**2012**a論文）、液状であるため**定量性**・**再現性**の高さ、適度な表面張力・**液滴収縮**による 最大**1万倍高感度化**（**2012**e論文, G_2/CHCA,G_3/CA濃縮写真参照）、有機溶媒気化後に疎水性化合物が辺縁に残余・**液滴**表面**中心**に**親水性化合物**が**集約**（不純物分離による不純物耐性の高さ）（右中写真）、不純物耐性の高さ、等々の特長を活かし、糖鎖（3-AQラベル化により構造情報が豊富に得られる）（**2012**b論文）に限らず、（翻訳後修飾）ペプチド/タンパク質（**2013**論文）、（極性）合成高分子（右中PMMA data）等々、幅広く活用されている。

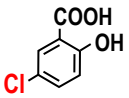
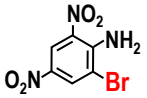
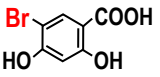
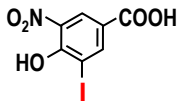
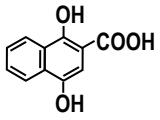
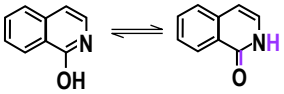
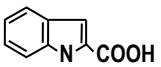
MALDI Matrix List for 337(355) nm (12/25)

Koichi Tanaka Laboratory of Advanced Science and Technology

http://www.first-ms3d.jp/

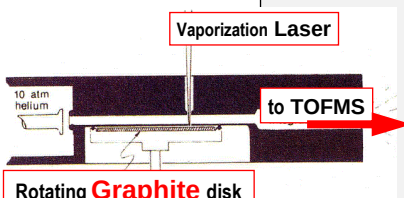
SHIMADZU

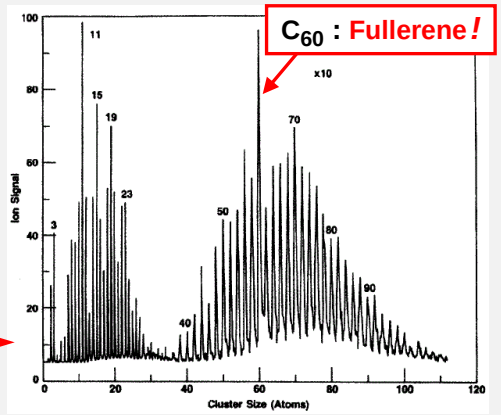
ms3d FIRST Program

Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass *(Aver. Mass)* [1]	Structure	Reference(s)
"CSA" **5-Chloro-salicylic Acid** 5-Chloro-2-hydroxybenzoic acid	$C_7H_5ClO_3$ 321-14-2	171.993 *(172.566)*		Lisa Preston-Schaffter, Gary Kinsel, David Russell "Effects of heavy-atom substituents on matrices used for matrix-assisted laser desorption-ionization mass spectrometry" J. Am. Soc. Mass Spectrom., Vol. 5, p800 (1994)
DHB 5位 OH が Cl に置換した構造。疎水性化合物（非極性Polymer、膜タンパク質）測定 等が報告されている。				
2-bromo-4,6-dinitroaniline	$C_6H_4BrN_3O_4$ 1817-73-8	260.93852 *(262.018)*		Burkhard Rosinke, Kerstin Strupat, Franz Hillenkamp, Jürg Rosenbusch, Norbert Dencher, Ulrike Krüger, Hans-Joachim Galla "Matrix-assisted laser desorption/ ionization mass spectrometry (MALDI-MS) of membrane proteins and non-covalent complexes" J. Mass Spectrom., Vol. 30, p1462 (1995)
5-bromo-2,4-dihydroxybenzoic acid (monohydrate)	$C_7H_5BrO_4$ 7355–22–8	231.93712 *(233.016)*		
4-Hydroxy-3-iodo-5-nitrobenzoic acid	$C_7H_4INO_5$ 10463–17–9	308.91342 *(309.014)*		Josef Chmelík, Josef Planeta, Pavel Řehulka, Josef Chmelík "Determination of molecular mass distribution of silicone oils by supercritical fluid chromatography, matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry and their off-line combination" J. Mass Spectrom., Vol. 36, p760 (2001)
従来Matrix構造（の水素部位）に Cl, Br, I 等 heavy-atomを導入、exited state relaxationを変化させ、イオン化効率を高める事等が行われている。				
1,4-Dihydroxy-2-naphthoic acid	$C_{11}H_8O_4$ 31519-22-9	204.04226 *(204.179)*		Xiaodong Tang, Peter Dreifuss, Akos Vertes "New matrices and accelerating voltage effects in matrix-assisted laser desorption/ionization of synthetic polymers" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 9, p1141 (1995) D. J. Harvey "Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of phospholipids" J. Mass Spectrom., Vol. 30, p1333 (1995)
合成高分子・脂質等の測定に試行された。				
"HIQ" 1-hydroxy isoquinoline	C_9H_7NO 491-30-5	145.05276 *(145.158)*		Martin Mohr, K. OlafBörnsen, H. Michael Widmer "Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry: Improved matrix for oligosaccharides" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 9, p809 (1995) Ute Kallweit, K. OlafBörnsen, Gerhard Kresbach, H. Michael Widmer "Matrix compatible buffers for analysis of proteins with matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 9, p845 (1995)
（DHB等に1~数10%添加する事により）bufferやその他contaminantが存在しても、糖鎖やタンパク質をquality高く測定できる。				
Indole-2-carboxylic acid	$C_9H_7NO_2$ 1477-50-5	161.04768 *(161.157)*		Hanno Ehring, Bo Sundqvist "Studies of the MALDI process by luminescence spectroscopy" J. Mass Spectrom., Vol. 30, p1303 (1995) Thorsten Selmer, Jörg Kahnt, Marcel Goubeaud, Seigo Shima, Wolfgang Grabarse, Ulrich Ermler, Rudolf Thauer "The Biosynthesis of Methylated Amino Acids in the Active Site Region of Methyl-coenzyme M Reductase" J. Biol. Chem., Vol. 275, p3755 (2000)
IR-Laserでも用いられる。				

Graphite

for "Graphite Assisted Laser Desorption / Ionization" (GALDI)





Jan. Sunner, Edward. Dratz, Yu-Chie. Chen "Graphite surface-assisted laser desorption/ ionization time-of-flight mass spectrometry of peptides and proteins from liquid solutions" Anal. Chem., Vol. 67, p4335 (1995)

Michael Dale, Richard Knochenmuss, Renato Zenobi "Graphite / Liquid Mixed Matrices for Laser Desorption / Ionization Mass Spectrometry" Anal. Chem., Vol. 68, p3321 (1996)

Stefan Zumbuhl, Richard Knochenmuss Stefan Wulfert, Frederic Dubois, Michael Dale, Renato Zenobi "A Graphite-Assisted Laser Desorption/Ionization Study of Light-Induced Aging in Triterpene Dammar and Mastic Varnishes" Anal. Chem., Vol. 70, p707 (1998)

Claudie Black, Chris Poile, John Langley, Julie Herniman "The use of pencil lead as a matrix and calibrant for matrix-assisted laser desorption/ionisation" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 20, p1053 (2006)

元来、SLDIにおける「UFMPが果たす役割の代用」、例えば Organic Matrix使用時に問題になるLow Mass Chemical Noise低減が期待できる。

鉛筆の芯Pencil leadを使った例も示されている。

なお、Laser Desorption(/Ionization) によるGraphiteイオン化とOrthogonal TOFを組み合わせたMS実験から、Fullereneが発見された、と言われている（Richard Smalley, Nobel Prize in Chemistry 1996 "Discovering the Fullerenes" 受賞講演より）。

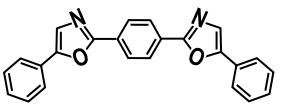
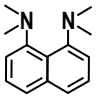
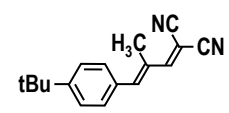
MALDI Matrix List for 337(355) nm (13/25)

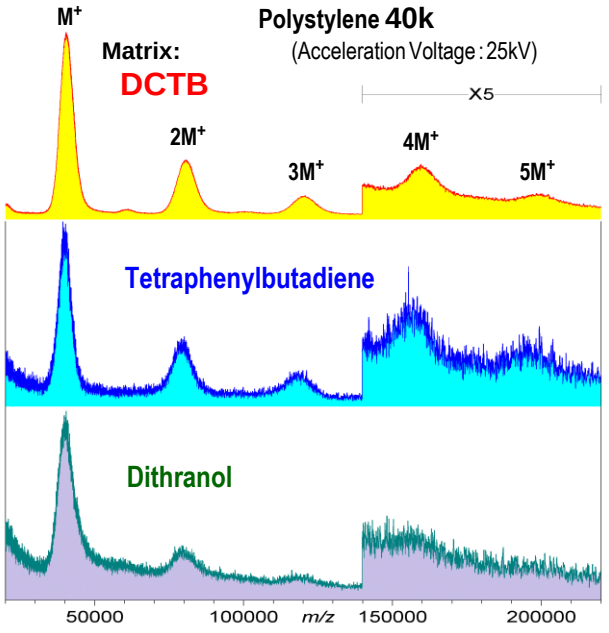
Koichi Tanaka Laboratory of Advanced Science and Technology

http://www.first-ms3d.jp/

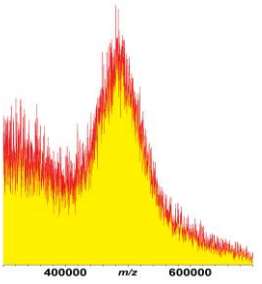
SHIMADZU

ms3d FIRST Program

Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass *(Aver. Mass)* [1]	Structure	Reference(s)
$K_4[Fe(CN)_6]$/ glycerol				Peter Zöllner, Erich Schmid, Günter Allmaier "K4[Fe(CN)6]/glycerol--A new liquid matrix system for matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of hydrophobic compounds" Rapid Commun Mass Spectrom., Vol. 10, p1278 (**1996**) Peter Zöllner, Gerald Stübiger, Erich Schmid, Ernst Pittenauer, Günter Allmaier "MALDI mass spectrometry of biomolecules and synthetic polymers using alkali hexacyanoferrate (II) complexes and glycerol as matrix" Int J Mass Spectrom. Ion Proc., Vol. 169/170, p99 (**1997**)
SLDにおいて Glycerinと混合するCo Powderを無機化合物に置き換えた場合に相当する。				
"POPOP" **1,4-di-(2-(5-phenyloxazolyl)) benzene** 1,4-bis(5-phenyl-2-oxazolyl)benzene	$C_{24}H_{16}N_2O_2$ 1806-34-4	**364.12118** *(364.396)*		Paul Danis, Dane Karr, Yansan Xiong, Kevin Owens "Methods for the Analysis of Hydrocarbon Polymers by Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-flight Mass Spectrometry" Rapid Commun Mass Spectrom., Vol.10, p862 (**1996**) Andreas Woldegiorgis, Peter Löwenhielm, Anders Björk, Johan Roeraade "Matrix-assisted and polymer-assisted laser desorption / ionization time-of-flight mass spectrometric analysis of low molecular weight polystyrenes and polyethylene glycols" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 18, p2904 (**2004**)
Polymer-Assisted Laser Desorption / Ionization (PALDI)用Matrixの一種。				
"Proton sponge" **"DMAN"** N,N,N',N'-Tetramethyl-1,8-naphthalenediamine	$C_{14}H_{18}N_2$ 20734-58-1	**214.14700** *(214.306)*		James Stephenson Jr., Scott McLuckey "Ion/ion reactions in the gas phase: Proton transfer reactions involving multiply-charged proteins" J. Am. Chem. Soc., Vol. 118, p7390 (**1996**) Rohit Shroff, Ales Svatos "Proton Sponge: A Novel and Versatile MALDI Matrix for the Analysis of Metabolites Using Mass Spectrometry" Anal. Chem., Vol.81, p7954 (**2009**)
強塩基性のMatrix。Deprotonated Ion生成に優れ、Negative ModeではMatrix由来イオンの検出が極めて少ない。Metabolomics用に期待される。				
"DCTB" 2-[(2*E*)-3-(4-*tert*-Butylphenyl)-2-methylprop-2-enylidene]-malononitrile	$C_{17}H_{18}N_2$ 300364-84-5	**250.14700** *(250.338)*		Christina Siedschlag, Heinrich Luftmann, Christian Wolff, Jochen Mattay "Functionalization of [60]fullerene by photoinduced electron transfer (PET): Syntheses of 1-substituted 1,2-dihydro[60]fullerenes" Tetrahedron, Vol. 53, p3587 (**1997**) Mark Wyatt, Bridget Stein, Gareth Brenton "Characterization of Various Analytes Using Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry and 2-[(2E)-3-(4-tert-Butylphenyl)-2-methylprop-2-enylidene] malononitrile Matrix" Anal. Chem., Vol. 78, p199 (**2006**) Shin-ichirou Kawabata, Shinichi Iwamoto, Koichi Tanaka "Stable Ion Formation Techniques with MALDI and Their Applications on High Mass Substances" 16P-039 (**MSSJ2010**)



Polystylene **500k**



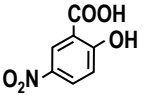
Kratos/Shimadzu Axima Performance

DHBやDithranolと異なり、DCTBは **電子の授受**によって**イオン化**が行われている と考えられている。

（疎水性合成）polymer, Organometallic, Fullerene (derivative), Inorganic Compound 等々の分析に多用される。Reflectron mode での測定も行われており、極めて**Soft**なイオン化が可能 といえる。

Solvent-freeでの使用も検討されている。

一般にMALDI-TOFMSでは、イオン"寿命"が短くなる傾向がある高質量（特にPolymer）イオンの検出は困難であるが、**DCTB**を用いる事により M.W.:500k測定も可能であった。(MSSJ**2010**)

5-nitrosalicylic acid	$C_7H_5NO_5$ 96-97-9	**183.01677** *(183.118)*		J. Guittard, J. C. Blais, G. Bolbach, A. Brunot, M. Tessier, E. Marechal, J. C. Tabet "Ionization of synthetic polymers in matrix-assisted laser desorption ionization (MALDI)" Proc. 45th ASMS Conf. Mass Spectrom. Allied Topics, p840 (**1997**) Daiki Asakawa, Mitsuo Takayama "Specific cleavage at peptide backbone Cα–C and CO–N bonds during matrix-assisted laser desorption/ionization in-source decay mass spectrometry with 5-nitrosalicylic acid as the matrix" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 25, p2379 (**2011**)
試料Polyesterに対し、Protonated IonをPromoteする能力がある。ISD用としても使用。				

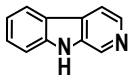
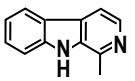
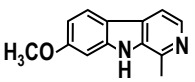
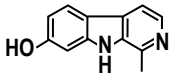
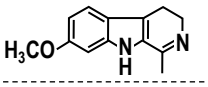
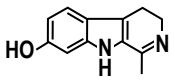
MALDI Matrix List for 337(355) nm (14/25)

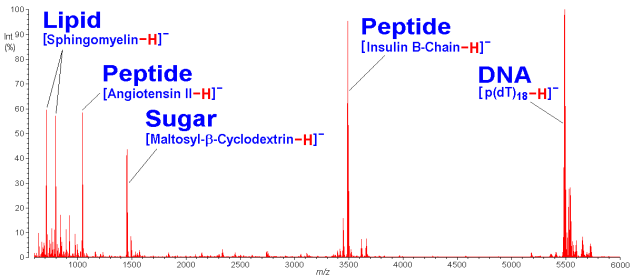
http://www.first-ms3d.jp/

Koichi Tanaka Laboratory of Advanced Science and Technology

SHIMADZU

ms3d FIRST Program

Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass *(Aver. Mass)* [1]	Structure	Reference(s)
***nor*-harman** 9*H*-pyrido[3,4-b] indole	$C_{11}H_8N_2$ 244-63-3	168.06875 *(168.195)*		Hiroshi Nonami, Shinsaku Fukui, Rosa Erra-Balsells "β-Carboline Alkaloids as Matrices for Matrix-assisted Ultraviolet Laser Desorption Time-of-flight Mass Spectrometry of Proteins and Sulfated Oligosaccharides: a Comparative Study Using Phenylcarbonyl Compounds, Carbazoles and Classical Matrices" J. Mass Spectrom., Vol.32 , p287 (**1997**)
Harmane	$C_{12}H_{10}N_2$ 486-84-0	182.08440 *(182.221)*		Koichi Tanaka, Hiroshi Nonami, Yuko Fukuyama, Rosa Erra-Balsells "β-Carbolines as Matrices for MALDI ToF-MS(/MS) in Positive and Negative Modes" WP222 (ASMS**1998**)
Harmine	$C_{13}H_{12}N_2O$ 442-51-3	212.09496 *(212.247)*		Hiroshi Nonami, Koichi Tanaka, Yuko Fukuyama, Rosa Erra-Balsells "β-Carboline Alkaloids as Matrices for UV-Matrix assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-flight Mass Spectrometry in Positive and Negative Ion Modes. Analysis of Proteins of High Molecular Mass, and of Cyclic and Acyclic Oligosaccharides" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 12, p285 (**1998**)
Harmol	$C_{12}H_{10}N_2O$ 487-03-6	198.07931 *(198.221)*		Hiroshi Nonami, Feiyue Wu, Randolph Thummel, Yuko Fukuyama, Hidenobu Yamaoka, Rosa Erra-Balsells "Evaluation of pyridoindoles, pyridylindoles and pyridylpyridoindoles as matrices for ultraviolet matrix-assisted laser desorption/ ionization time-of-flight mass spectrometry" Rapid Commun. Mass Spectrom. Vol. 15, p2354 (**2001**)
Harmaline	$C_{13}H_{14}N_2O$ 304-21-2	214.11061 *(214.263)*		Mariana Barboza, Vilma Duschak, Yuko Fukuyama, Hiroshi Nonami, Rosa Erra-Balsells, Juan Cazzulo, Alicia Couto "Structural analysis of the N-glycans of the major cysteine proteinase of Trypanosoma cruzi -- Identification of sulfated high-mannose type oligosaccharides --" FEBS Journal, Vol. 272, p3803 (**2005**)
Harmalol	$C_{12}H_{12}N_2O$ 525-57-5	200.09496 *(200.236)*		"MALDI-MS Technical Reports" No.08



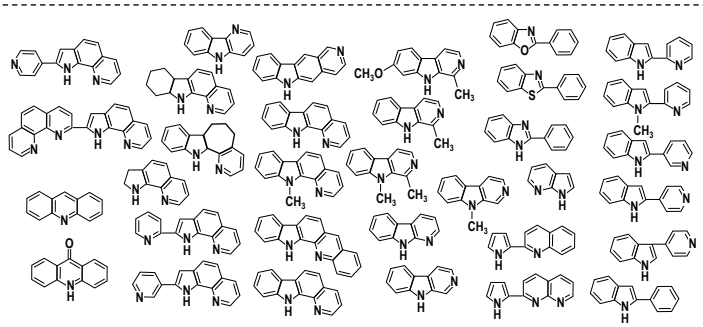
脂質（クロロホルム溶解可）・ペプチド・糖質・核酸関連物質 一斉分析例

β-Carbolines	m.p. (°C)	Absorption λ_{max}(log ε) (nm)($mol^{-1}cm^{-1}$)	ΔpKa H_2O	ΔpKa EtOH	ΔpKa MetCN
***nor*-Harmane(*nH*)**	**198-200**	**350**(3.59)	**5.5**	**6.9**	**8.5**
Harmane	**237-238**	**350**(3.72)	**4.9**	**6.2**	**7.3**
Harmine	**261(dec)**	**336**(3.69)	**4.6**	**6.4**	**7.5**
Harmol	**- - - -**	**338**(3.77)	**6.6**	**6.6**	**7.6**
Harmaline	**232-234**	**338**(4.42)	**13.6**	**13.0**	**14.1**
Harmalol	**212(dec)**	**342**	**11.8**	**12.0**	**13.7**

Ref: Δp*Ka* = [p*Ka**(Lower Singlet Excited State)] – [p*Ka*(Ground State)]

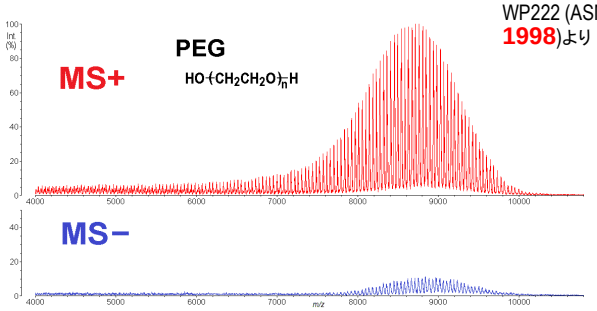
nor-Harmane Solubilities / Stabilities (>1 Month) to Several Solvents

100%H_2O	100%TFA	100%AcOH	MetOH	CH_3CN	Acetone	THF	Toluene	$CHCl_3$	CH_2Cl_2
Little / Y	Y / Y	Y / Y	Y / Y	Y / Y	Y / Y	Y / Y	Y / Y	Y / Y	Y / Y

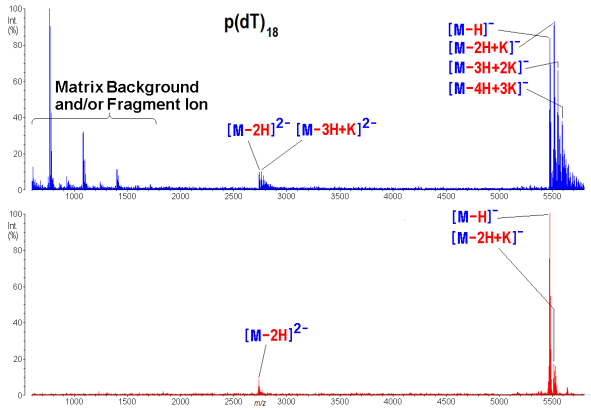


Only these compounds that possessed indole N–H and pyridine nitrogen groups in a 1–4 relationship demonstrated good matrix properties with a nitrogen laser. (**2001**論文)

WP222 (ASMS **1998**)より



Polymer分析例（PEGでもNegative Ion観測）



DNA/RNA試料はCation付加分子が生成し易く、HPAをMatrixとして用いる（上図青色）と [M-nH+(n-1)Cation]⁻イオンが検出され易いが、Halmalineを用いると [M-H]⁻が強度高く得られた例

植物毒アルカロイドであるβ-Carbolineの基礎研究からMatrix開発へと進展。他の大部分のMatrixが溶けない**chloroform**・**ether**を含む有機溶媒に幅広く溶解可能なため、脂質や（非極性）合成高分子にも適応可能。強力な**proton acceptor**能力を活かし、中性糖からも [M-H]⁻イオン生成可能。**硫酸糖**の測定にも有効（**2005**論文）。***nor*-Harman**の他に、メチル基等が付加した**Harmane**, **Harmine**, **Harmol**, **Harmaline**, **Harmalol** も Matrixとして有効。関連して、Pyridoindole, Pyridylindole, Pyridylpyridoindole（計33種類）（左 構造式参照）のMatrixとしての効果を検証（**2001**論文）。

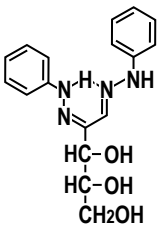
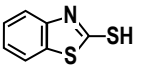
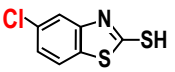
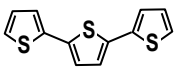
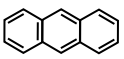
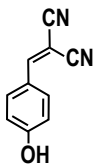
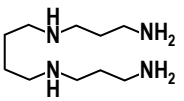
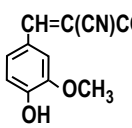
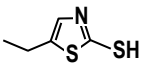
MALDI Matrix List for 337(355) nm (15/25)

Koichi Tanaka Laboratory of Advanced Science and Technology

http://www.first-ms3d.jp/

SHIMADZU

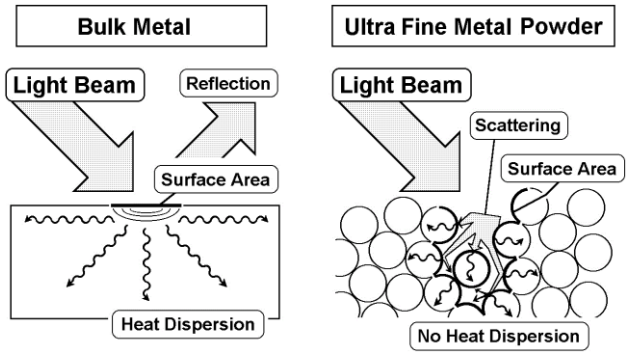
ms3d FIRST Program

Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass *(Aver. Mass)* [1]	Structure	Reference(s)
D-Arabinosazone	$C_{17}H_{20}N_4O_3$ - -	**328.15354** *(328.366)*		Peng Chen, Andrew Baker, Milos Novotny "The Use of Osazones as Matrices for the Matrix-Assisted Laser Desorption / Ionization Mass Spectrometry of Carbohydrates" Anal. Biochem., Vol. 244, p144 (1997) Susan Wheeler, David Harvey "Negative Ion Mass Spectrometry of Sialylated Carbohydrates: Discrimination of N-Acetylneuraminic Acid Linkages by MALDI-TOF and ESI-TOF Mass Spectrometry" Anal. Chem., Vol. 72 p5027 (2000) Susan Wheeler, David Harvey "Extension of the In-Gel Release Method for Structural Analysis of Neutral and Sialylated N-Linked Glycans to the Analysis of Sulfated Glycans: Application to the Glycans from Bovine Thyroid-Stimulating Hormone" Anal. Biochem., Vol. 296, p92 (2001)
Neutral sugarのみならず、negative modeにおいて sialylated, sulphated glycans測定に適している。DHBよりも低いレーザ強度でイオン化可能で、低いfragementation・TOFMSにおける高分解能測定に向いている。				
"MTB" 2-mercaptobenzothiazole	$C_7H_5NS_2$ 149-30-4	**166.98634** *(167.251)*		Naxing Xu, Zhi-Heng Huang, J. Throck Watson, Douglas Gage "Mercaptobenzothiazoles: A new class of matrices for laser desorption ionization mass spectrometry" J. Am. Soc. Mass Spectrom., Vol. 8, p116 (1997)
"CMTB" 5-Chloro-2-mercaptobenzothiazole	$C_7H_4ClNS_2$ 5331-91-9	**200.94737** *(201.696)*		
「2-mercaptobenzothiazole(MTB)よりもCMTBが有用」 糖鎖(High-Mannose型)・Glycopeptide等 様々な化合物の分析に試用される。				
Terthiophene	$C_{12}H_8S_3$ 1081-34-1	**247.97881** *(248.387)*		Tracy McCarley, Robin McCarley, Patrick Limbach "Electron-Transfer Ionization in Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry" Anal. Chem., Vol.70, p4376 (1998) Stephen Macha, Tracy McCarley, Patrick Limbach "Influence of ionization energy on charge-transfer ionization in matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry" Analytica Chimica Acta, Vol. 397, p235 (1999)
Charge-transfer ionization用のMatrix。				
Anthracene	$C_{14}H_{10}$ 120-12-7	**178.07825** *(178.229)*		Tracy McCarley, Robin McCarley, Patrick Limbach "Electron-Transfer Ionization in Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry" Anal. Chem., Vol. 70, p4376 (1998) Stephen Macha, Patrick Limbach, Philip Savickas "Application of nonpolar matrices for the analysis of low molecular weight nonpolar synthetic polymers by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry" J Am Soc Mass Spectrom., Vol. 11, p731 (2000)
幾つものAnthracene derivativesがmatrixとして検討されているが、Anthracene自身がmatrixとして用いられた例は少ない。				
(4-Hydroxybenzylidene) malonitrile	$C_{10}H_6N_2O$ 3785-90-8	**170.04801** *(170.167)*		Katharina Linnemayr, Philipp Vana, Günter Allmaier "Time-delayed extraction matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry of polyacrylnitrile and other synthetic polymers with the matrix 4-hydroxybenzylidene malononitrile" Rapid Commun Mass Spectrom., Vol. 12, p1344 (1998)
Polyacrylnitrile等の合成高分子測定に有効。				
Spermine	$C_{10}H_{26}N_4$ 71-44-3	**202.21575** *(202.340)*		Yehia Mechref, Milos Novotny "Matrix-Assisted Laser Desorption / Ionization Mass Spectrometry of Acidic Glycoconjugates Facilitated by the Use of Spermine as a Co-matrix" J Am. Soc. Mass Spectrom., Vol. 9, p1293 (1998) John Asara, John Allison "Enhanced Detection of Oligonucleotides in UV MALDI MS Using the Tetraamine Spermine as a Matrix Additive" Anal. Chem., Vol. 71, p2866 (1999) Anne Distler, John Allison "5-Methoxysalicylic Acid and Spermine: A New Matrix for the Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry Analysis of Oligonucleotides" J Am. Soc. Mass Spectrom., Vol. 12, p456 (2001)
主に、他のLaser光吸収可能なMatrixと共に加えるCo-matrixとして用いる。特に$[M+Cation]^+$低減に有効。 特に DNAのhelical structureを安定させる作用がある、と考えられている。				
α-cyano-ferulic acid	$C_{11}H_9NO_4$ - -	**219.05316** *(219.193)*		Deng Huimin, Zha Qingmin, Li Jun, Shao Weiyan, Lai Zhihui, Zhao Shankai "Studies of Applications of a New Matrix α-Cyano Ferulic Acid in MALDI-TOFMS" Chemical Research In Chinese Universities (2001)
タンパク質、核酸関連物質、糖鎖、特にdextranの測定が報告されている。				
5-ethyl-2-mercaptothiazole	$C_5H_7NS_2$ - -	**145.00199** *(145.246)*		N. Prasada Raju, Shama P. Mirza, M. Vairamani, A. Raghu Ramulu, M. Pardhasaradhi "5-ethyl-2-mercaptothiazole as matrix for matrix-assisted laser desorption / ionization of a broad spectrum of analytes in positive and negative ion mode" Rapid Commun Mass Spectrom., Vol. 15, p1879 (2001)
ペプチド、糖鎖、脂質、合成高分子等、様々な化合物に適用。				

MALDI Matrix List for 337(355) nm (16/25)

Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass (*Aver. Mass*) [1]	Structure	Reference(s)

"DIOS"
Desorption/Ionization on Porous Silicon



"MALDI-MS Technical Reports" No.06より

Zhouxin Shen, John Thomas, Claudia Averbuj, Klas Broo, Mark Engelhard, John Crowell, M. G. Finn, Gary Siuzdak "Porous Silicon as a Versatile Platform for Laser Desorption/ Ionization Mass Spectrometry" Anal. Chem., Vol. 73, p612 (**2001**)

John Thomas, Zhouxin Shen, John Crowell, M. G. Finn, Gary Siuzdak "Desorption / ionization on silicon (DIOS): A diverse mass spectrometry platform for protein characterization" Proc. Nat. Acad. Sci., Vol. 98, p4932 (**2001**)

Warren G. Lewis, Zhouxin Shen, M.G. Finn, Gary Siuzdak "Desorption/ionization on silicon (DIOS) mass spectrometry: background and applications" Int. J. Mass Spectrom., Vol. 226, p107 (**2003**)

Shoji Okuno, Ryuichi Arakawa, Yoshinao Wada "Reduction of Cu(II) and Riboflavin in DIOS Mass Spectrometry" J. Mass Spectrom. Soc. Jpn. Vol.52, p13 (**2004**)

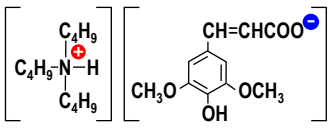
Sunia Trauger, Eden Go, Zhouxin Shen, Junefredo Apon, Bruce Compton, Edouard Bouvier, M. G. Finn, Gary Siuzdak "High Sensitivity and Analyte Capture with Desorption/Ionization Mass Spectrometry on Silylated Porous Silicon" Anal. Chem., Vol. 76, p4484 (**2004**)

Shoji Okuno, Yoshinao Wada, Ryuichi Arakawa "Quantitative analysis of polypropyleneglycol mixtures by desorption/ionization on porous silicon mass spectrometry" Int. J. Mass Spectrom., Vol. 241, p43 (**2005**)

Trent Northen, Oscar Yanes, Michael Northen, Dena Marrinucci, Winnie Uritboonthai, Junefredo Apon, Stephen Golledge, Anders Nordström, Gary Siuzdak "Clathrate nanostructures for mass spectrometry" Nature, Vol. 449, p1033 (**2007**)

通常、試料台の素材はStainless Steel・Aluminium(合金)・Nickelメッキ表面等 であり、UV光に対しても ある程度 吸光度があるが、表面に様々な凹凸を設け(表面積・散乱吸収を大幅に増加) かつ proton供給(体であるH_2O付加)を促進する構造が検討されており、その代表例がDIOSである。更に化学修飾を施す事で、480 molecules (800 yocto mol) 超高感度検出も得られている。 Imaging用のnanostructure-initiator mass spectrometry (NIMS)も開発された。

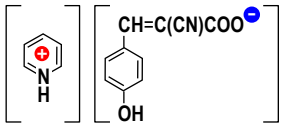
"tBA/SA"



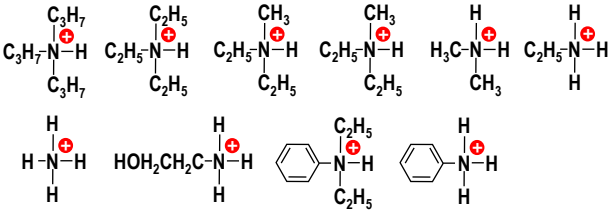
Daniel Armstrong, Li-Kang Zhang, Lingfeng He, Michael Gross "Ionic Liquids as Matrixes for Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry" Anal. Chem., Vol. 73, p3679 (**2001**)

"**(Ionic) Liquid Matrix**"として初出。337nm MALDIイオン化能力のある固体状・液状Matrixとしては、**CHCA**をAnionとする場合は 14種類、**SA**をAnionとする場合は 4種類 を比較紹介している。

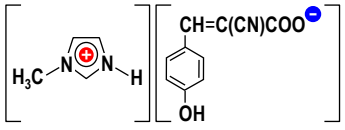
"Py/CHCA"
Pyridinum α-cyano-4-hydroxycinnamate



左記以外の紹介Cation 10種類は下記の通り。



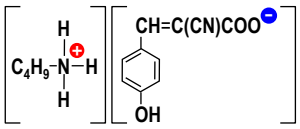
"Im/CHCA"
1-Methylimidazolium α-cyano-4-hydroxycinnamate



Kenneth Chan, Patricia Lanthier, Xin Liu, Jagdeep K. Sandhu, Danica Stanimirovic, Jianjun Li "MALDI mass spectrometry imaging of gangliosides in mouse brain using ionic liquid matrix" Analytica Chimica Acta, Vol. 639, p57 (**2009**) Im/CHCAを脂質Imagingにも活用

Cation, Anion両者を混合する事により(足し算ではなく掛け算での組み合わせになるので)、様々なIonic (Liquid) Matrixが試作可能である。

"CHCA/B"

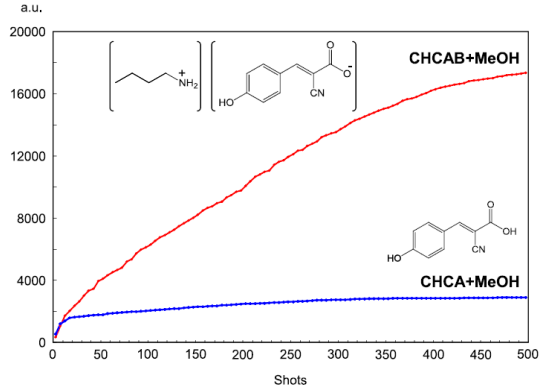


(上記論文に加え 下記も)

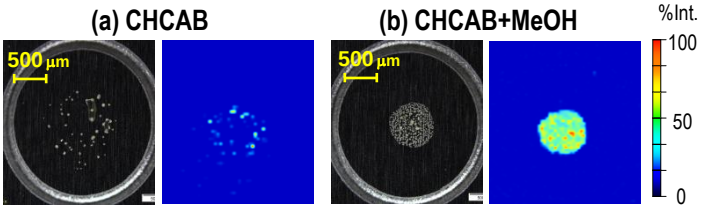
Yuko Fukuyama, Natsumi Funakoshi, Shinichi Iwamoto, Koichi Tanaka "Adding methanol to α-cyano-4-hydroxycinnamic acid butylamine salt as a liquid matrix to form a homogeneous spot on a focusing plate for highly sensitive and reproducible analyses in matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 28, p662 (**2014**)

一般に液体Matrixを用いると、再現性・定量性が期待されるが、感度が不十分な場合がある。

上記論文では、試料・matrix乾固後にMeOHを滴下する事により、液滴の集約が可能になり(下右写真)、高い均一性・イオン化持続性とともに、積算イオン量が増加(高感度分析が達成)した結果(左図)を紹介している。



同一位置におけるイオン生成持続性と積算強度



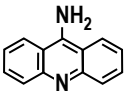
MALDI Matrix List for 337(355) nm (17/25)

Koichi Tanaka Laboratory of Advanced Science and Technology

http://www.first-ms3d.jp/

SHIMADZU

ms3d FIRST Program

Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass *(Aver. Mass)* [1]	Structure	Reference(s)
"9-AA" 9-Aminoacridine	$C_{13}H_{10}N_2$ 90-45-9	**194**.08440 *(194.232)*		Rachal Vermillion-Salsbury, David Hercules "9-Aminoacridine as a matrix for negative mode matrix-assisted laser desorption/ionization" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol.16, p1575 (**2002**) Christopher Cerruti, Farida Benabdellah, Olivier Laprévote, David Touboul, Alain Brunelle "MALDI Imaging and Structural Analysis of Rat Brain Lipid Negative Ions with 9-Aminoacridine Matrix" Anal. Chem., Vol. 84, p2164 (**2012**)

Takahiro Harada, Akiko Yuba-Kubo, Yuki Sugiura, Nobuhiro Zaima, Takahiro Hayasaka, Naoko Goto-Inoue, Masatoshi Wakui, Makoto Suematsu, Kengo Takeshita, Kiyoshi Ogawa, Yoshikazu Yoshida, Mitsutoshi Setou "Visualization of Volatile Substances in Different Organelles with an Atmospheric-Pressure Mass Microscope" Anal. Chem., Vol. 81, p9153 (**2009**)

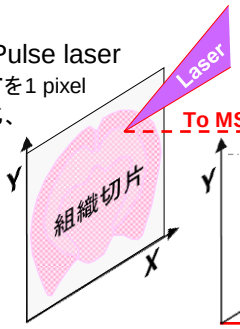
Akiko Kubo, Mitsuyo Ohmura, Masatoshi Wakui, Takahiro Harada, Shigeki Kajihara, Kiyoshi Ogawa, Hiroshi Suemizu, Masato Nakamura, Mitsutoshi Setou, Makoto Suematsu "Semi-quantitative analyses of metabolic systems of human colon cancer metastatic xenografts in livers of superimmunodeficient NOG mice" Anal. Bioanal. Chem., Vol. 400, p1895 (**2011**)

参）質量顕微鏡メカニズム

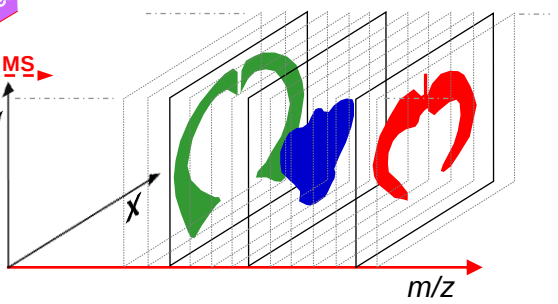
"**iMLayer**"

5μm分解能を可能にする Matrix 真空蒸着装置

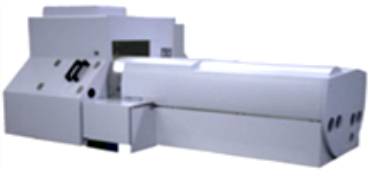
凸レンズ集光Pulse laser 光で組織切片を1 pixel ごとにイオン化、raster scan しながら MS dataを収集



各*m/z*に対し 個別pixelイオン強度を画像化



"**iMScope *TRIO***"



Imaging MALDI (Prototype)

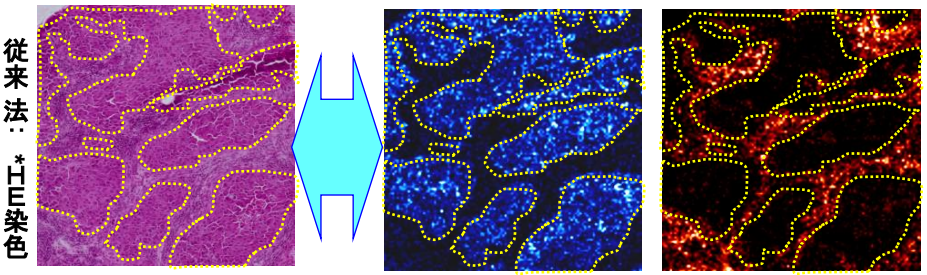
（下記データはPrototype機で測定）

Masahiro Kawashima, Noriko Iwamoto, Nobuko Kawaguchi-Sakita, Masahiro Sugimoto, Takayuki Ueno, Yoshiki Mikami, Kazuya Terasawa, Taka-Aki Sato, Koichi Tanaka, Kazuharu Shimizu, Masakazu Toi "High-Resolution Imaging Mass Spectrometry Reveals Detailed Spatial Distribution of Phosphatidylinositols in Human Breast Cancer" Cancer Sci., Vol. 104, p1372 (**2013**)

Takayuki Goto, Naoki Terada, Takahiro Inoue, Kenji Nakayama, Yoshiyuki Okada, Takeshi Yoshikawa, Yu Miyazaki, Masayuki Uegaki, Shinji Sumiyoshi, Takashi Kobayashi, Tomomi Kamba, Koji Yoshimura, Osamu Ogawa "The Expression Profile of Phosphatidylinositol in High Spatial Resolution Imaging Mass Spectrometry as A Potential Biomarker for Prostate Cancer" PLOS ONE, Vol. 9, e90242 (**2014**)

がん細胞：黄色点線 内部

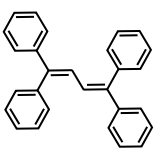
1mm



* hematoxylin-eosin staining

HE染色・光学顕微鏡観察（左）ではコントラストが不十分だが、顕微MALDIでは 異なる*m/z*（脂質関連物質）のImageとして がん部位を明確に差別化できた（2013論文）

主に**塩基性**を活かした（低分子量）**負**イオン測定に多く用いられている。特に（iMLayer等で）Matrix真空蒸着を行うと、極めて薄く均一に塗布可能なため、ミクロンレベルの**MALDI Imaging**（顕微MALDI）にも多く用いられている。

Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass *(Aver. Mass)* [1]	Structure	Reference(s)
"TPB" 1,1,4,4-Tetraphenyl-1,3-butadiene	$C_{28}H_{22}$ 1450-63-1	**358**.17215 *(358.474)*		滝川宏司, 中島秀明, 岡田明彦, 佐々木俊夫 "MALDI-TOFMS 用新規マトリクスと合成高分子への応用" 第51回質量分析総合討論会, 1-P35 (**2003**) Midori Ishitsuka, Yasuyuki Niino, Takatsugu Wakahara, Takeshi Akasaka, Michael T.H. Liu, Kaoru Kobayashi, Shigeru Nagase "A verification of the photolytic decomposition pathways of 3-*tert*-butyl-3-chlorodiazirine based on the application of the C60 probe technique" Tetrahedron Letters, Vol. 45, p6321 (**2004**) Hiroaki Sato, Nobuyuki Ichieda, Hiroaki Tao, Hajime Otani "Data Processing Method for the Determination of Accurate Molecular Weight Distribution of Polymers by SEC/MALDI-MS" Analytical sciences, Vol.20, p1289 (**2004**)

Nonpolar polymer, Fullerene等の分析用matrixとして用いられる。

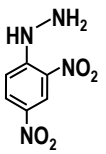
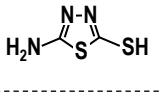
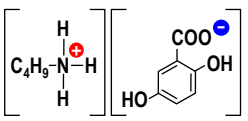
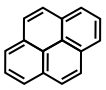
MALDI Matrix List for 337(355) nm (18/25)

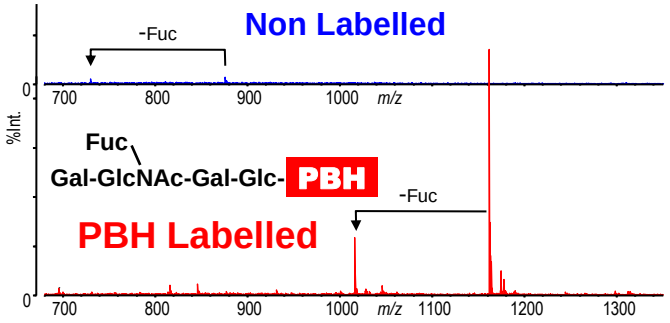
Koichi Tanaka Laboratory of Advanced Science and Technology

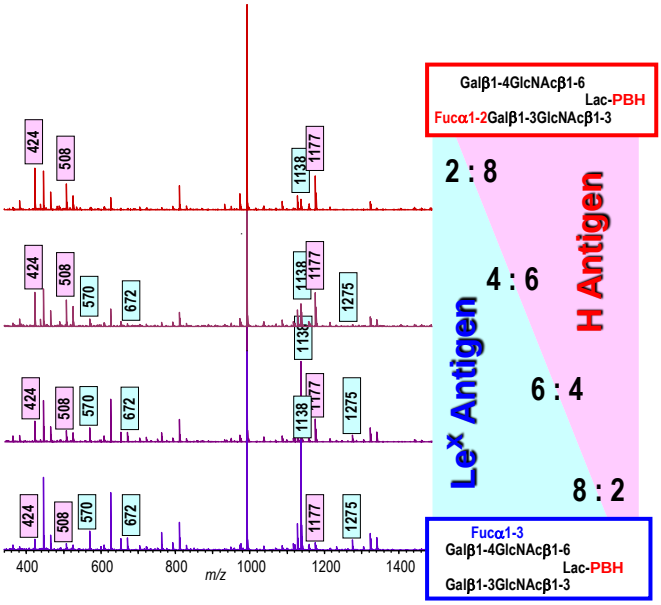
http://www.first-ms3d.jp/

SHIMADZU

ms3d FIRST Program

Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass *(Aver. Mass)* [1]	Structure	Reference(s)
"DNPH" 2,4-Dinitrophenyl hydrazine	$C_6H_6N_4O_4$ 119-26-6	198.03890 *(198.136)*		François Fenaille, Jean-Claude Tabet, Philippe Guy "Identification of 4-Hydroxy-2-nonenal-Modified Peptides within Unfractionated Digests Using Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry" Anal. Chem., Vol. 76, p867 (2004) Kristin Teuber, Maria Fedorova, Ralf Hoffmann, Jürgen Schiller "2,4-Dinitrophenylhydrazine as a New Reactive Matrix to Analyze Oxidized Phospholipids by MALDI-TOF Mass Spectrometry" Analytical Letters Vol. 45, p968 (2012)
DNPHをReactive Matrixとして用い、peptideやphospholipidの感度を大幅に高めた例等が紹介されている。				
"AMT" 5-Amino-2-mercapto-1,3,4-thiadiazole	$C_2H_3N_3S_2$ 2349-67-9	132.97684 *(133.195)*		Shama P. Mirza, N. Prasada Raju, S. S. Madhavendra, M. Vairamani "5-Amino-2-mercapto-1,3,4-thiadiazole: a new matrix for the efficient matrix-assisted laser desorption/ionization of neutral carbohydrates" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 18, p1666 (2004)
DHBと比較し、dextran等の中性糖に有効。巨大結晶成長がない（uniform surface morphology）が、"Hot matrix"（fragment ion生成が多い）になる。				
"DHB/B" 2,5-Dihydroxybenzoic Acid Butylamine				Marko Mank, Bernd Stahl, Günther Boehm "2,5-Dihydroxybenzoic Acid Butylamine and Other Ionic Liquid Matrixes for Enhanced MALDI-MS Analysis of Biomolecules" Anal. Chem., Vol. 76, p2938 (2004) Masoud Zabet-Moghaddam, Elmar Heinzle, Andreas Tholey "Qualitative and quantitative analysis of low molecular weight compounds by ultraviolet matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry using ionic liquid matrices" Rapid Commun Mass Spectrom , Vol. 18, p141 (2004)
液状にする事により、DHBよりも 定量性・再現性を高める事ができた。				
Pyrene	$C_{16}H_{10}$ 129-00-0	202.07825 *(202.251)*		Stephen Macha, Patrick Limbach, Philip Savickas "Application of Nonpolar Matrices for the Analysis of Low Molecular Weight Nonpolar Synthetic Polymers by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry" J. Am. Soc. Mass Spectrom., Vol. 11, p731 (2000) Junko Amano, Koichi Tanaka "Negative-ion MALDI MS^n for Identification and Quantification of Isomeric Fucosylated Oligosaccharide Mixtures" ThP026 (ASMS2005) Junko Amano, Fumio Tougasakoi, Koichi Tanaka "Highly sensitive MALDI MS for Indentification of Polysulfated Oligosaccharides by a Simple Pyrene-derivatization Method" ThP298 (ASMS2006) Junko Amano, Daisuke Sugahara, Kenji Osumi Koichi Tanaka "Negative-ion MALDI-QIT-TOFMS^n for structural determination of fucosylated and sialylated oligosaccharides labeled with a pyrene derivative" Glycobiol., Vol. 19, p592 (2009) Junko Amano, Minako Osanai, Takahiro Orita, Daisuke Sugahara, Kenji Osumi "Structural determination by negative-ion MALDI-QIT-TOFMS^n after pyrene derivatization of variously fucosylated oligosaccharides with branched decaose cores from human milk" Glycobiol. Vol. 19, p601 (2009) Junko Amano, Takashi Nishikaze, Fumio Tougasaki, Hiroshi Jinmei, Ichiro Sugimoto, Shu-ichi Sugawara, Masaya Fujita, Kenji Osumi, Mamoru Mizuno "Derivatization with 1-Pyrenyldiazomethane Enhances Ionization of Glycopeptides but Not Peptides in Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry" Anal. Chem., Vol. 82, p8738 (2010)

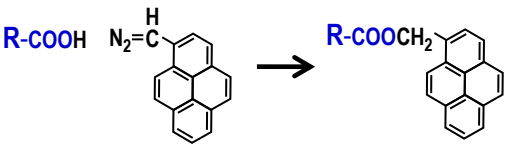




Pyreneの337nmにおけるMatrix効果が高い とは言えないが、感度（イオン化効率）・定量性向上を期待した 特にOligosaccharideやGlyco-peptideの（On-Target）Labelling（ラベル化剤例：pyrene butanoic acid hydrazide（PBH））に用いられる場合が多い。

左図は、組成が同一のPBHラベル化糖鎖（赤枠・青枠内構造参照）を混合し、異なるMS/MS Product Ion種の強度を比較することにより、混合比を推定した一例である。

下図は、1-Pyrenyldiazomethan (PDAM) を用いた場合のラベル化を表しており、主にカルボキシル基（例：Sialic acid）の修飾に用いられる。



B：Butylamine ($C_4H_{11}N$: 109-73-9)は、単体ではMatrixとしての働きが（十分）行えない

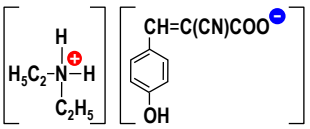
MALDI Matrix List for 337(355) nm (19/25)

http://www.first-ms3d.jp/

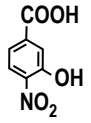
Koichi Tanaka Laboratory of Advanced Science and Technology

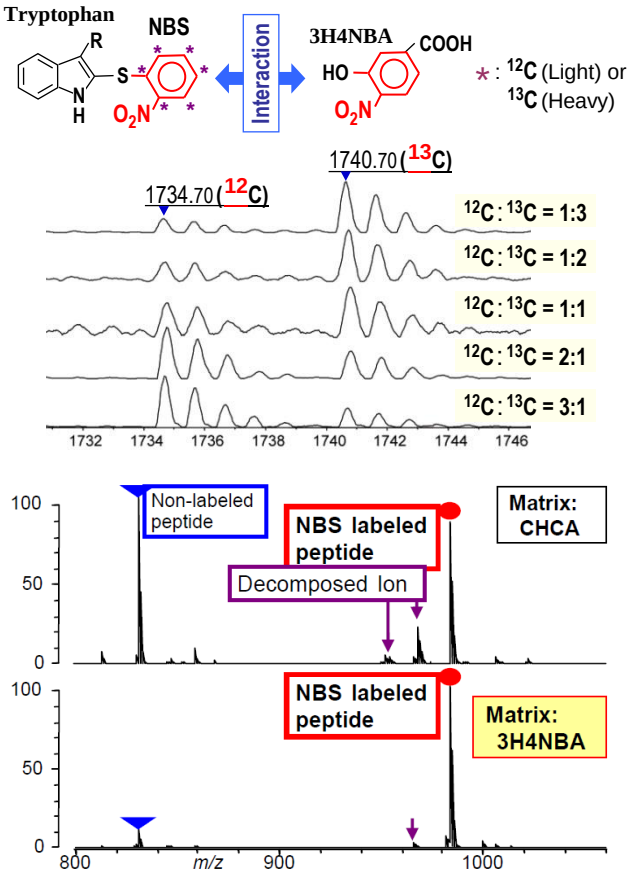
SHIMADZU

ms3d FIRST Program

Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass *(Aver. Mass)* [1]	Structure	Reference(s)
"DEA/CHCA" α-Cyano-4-hydroxycinnamic acid diethylammonium salt diethylammonium α-cyano-4-hydroxy cinnamate				Ying Li, Michael Gross "Ionic-liquid matrices for quantitative analysis by MALDI-TOF mass spectrometry" J. Am. Soc. Mass Spectrom., Vol. 15, p1833 (2004)

定量性・Dynamic Rangeが良好。Ionic Liquid Matrixの一種ではあるが、室温で固形。薄く平坦に乾固する。

Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass *(Aver. Mass)* [1]	Structure
"3H4NBA" 3-hydroxy-4-nitrobenzoic acid	$C_7H_5NO_5$ 619-14-7	183.01677 *(183.118)*	



竹政伊知朗, 渡辺真, 吉岡慎一, 池田正孝, 山本浩文, 関本貢嗣, 西村紀, 永井克也, 松原謙一, 門田守人 "大腸癌の発育・進展過程に 関与する分子異常: 網羅的な遺伝子およびタンパク質の発現プロファ イル解析" 第64回 日本癌学会学術総会, W-011 (2005)

Ei-ichi Matsuo, Chikako Toda, Makoto Watanabe, Noriyuki Ojima, Shunsuke Izumi, Koichi Tanaka, Susumu Tsunasawa, Osamu Nishimura "Selective detection of 2-nitrobenzenesulfenyl-labeled peptides by matrix-assisted laser desorption / ionizationtime of flight mass spectrometry using a novel matrix" Proteomics Vol. 6, p2042 (2006)

Watanabe M, Takemasa I, Nishimura N, Matsubara T, Yoshioka S, Miyake M, Nagai K, Monden M, Nishimura O "The proteomic profiling of human colorectal cancer tissue using NBS method" MP624 (ASMS2006)

Keli Ou, Djohan Kesuma, Kumaresan Ganesan, Kun Yu, Sou Yen Soon, Suet Ying Lee, Xin Pei Goh, Michelle Hooi, Wei Chen, Hiroyuki Jikuya, Tetsuo Ichikawa, Hiroki Kuyama, Ei-ichi Matsuo, Osamu Nishimura, Patrick Tan "Quantitative Profiling of Drug-Associated Proteomic Alterations by Combined 2-Nitrobenzenesulfenyl Chloride (NBS) Isotope Labeling and 2DE/MS Identification" J. Proteome Res., Vol. 5, p2194 (2006)

Ueda K, Katagiri T, Shimada T, Irie S, Sato T, Nakamura Y, Daigo Y "Comparative profiling of serum glycoproteome by sequential purification of glycoproteins and 2-nitrobenzensulfenyl (NBS) stable isotope labeling: a new approach for the novel biomarker discovery for cancer" J Proteome Res., Vol. 6, p3475 (2007)

Okamura N, Masuda T, Gotoh A, Shirakawa T, Terao S, Kaneko N, Suganuma K, Watanabe M, Matsubara T, Seto R, Matsumoto J, Kawakami M, Yamamori M, Nakamura T, Yagami T, Sakaeda T, Fujisawa M, Nishimura O, Okumura K. "Quantitative proteomic analysis to discover potential diagnostic markers and therapeutic targets in human renal cell carcinoma" Proteom., Vol. 8, p3194 (2008)

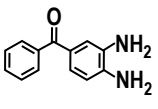
Watanabe M, Takemasa I, Kawaguchi N, Miyake M, Nishimura N, Matsubara T, Matsuo E, Sekimoto M, Nagai K, Matsuura N, Monden M, Nishimura O "An application of the 2-nitrobenzenesulfenyl method to proteomic profiling of human colorectal carcinoma: A novel approach for biomarker discovery" Proteomics Clin Appl., Vol. 2, p925 (2008)

Ei-ichi Matsuo, Makoto Watanabe, Hiroki Kuyama, Osamu Nishimura "A new strategy for protein biomarker discovery utilizing 2-nitrobenzenesulfenyl (NBS) reagent and its applications to clinical samples" J. Chromatogr. B, Vol. 877, p2607 (2009)

"MALDI-MS Technical Reports" No.08

NBS法は、peptide鎖に含まれるTryptophan残基側鎖のIndole ringに NBS(2-nitrobenzenesulfenyl)を化学結合させる方法であり、NBSの炭素6個全てを^{12}C化した(Light)試薬を 例えば患者由来, ^{13}C化した(Heavy)試薬を健常人由来のタンパク質に結合させ 酵素消化物を混合する事により、同一peptideでありながら質量差 6, 12, .. の違い(pair peak)が現れ、その強度差でUp-regulate, Down-regulateを検知する(半定量)方法、**Stable Isotope Labeling**方法の一種である。

通常の酵素消化混合物には、Tryptophanを含む/含まない 両方のpeptideが多数混在し、上記pair peak検知による半定量が困難になる。**3H4NBAはNBSと構造が類似**しており、NBSを含むpeptideとの混合が容易であるため、NBSラベル化peptideのイオン化が促進され易い。この利点を活用し、特に**NBS試薬付加の化合物イオン化促進**のために**3H4NBA**が開発され、特に 様々な癌の**Biomarker**(候補)発見・評価に用いられた。

Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass *(Aver. Mass)* [1]	Structure
"DABP" 3,4-Diaminobenzophenone	$C_{13}H_{12}N_2O$ 39070-63-8	212.09496 *(212.247)*	

DABPは、3-HPA, 2,4,6-THAPよりも 337, 355nmにおける吸光度が高い。結果として、Fragmentationが少なく Alkali metal ion adductsも少ない高感度分析が可能になる。乾固した試料・Matrix混合物も均一であり、Sweet Spot検索が不要になる。また、Urea, Guanidine hydrochloride等が存在下でも 試料イオンの測定が容易である。

Yu Fu, Songyun Xu, Chensong Pan, Mingliang Ye, Hanfa Zou, Baochuan Guo "A matrix of 3,4-diaminobenzophenone for the analysis of oligonucleotides by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry" Nucl. Acids Res., Vol. 34, e94 (2006)

Songyun Xu, Mingliang Ye, Danke Xu, Xin Li, Chensong Pan, Hanfa Zou "Matrix with High Salt Tolerance for the Analysis of Peptide and Protein Samples by Desorption / Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry" Anal. Chem., Vol. 78, p2593 (2006)

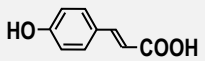
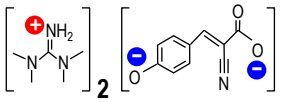
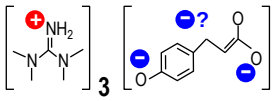
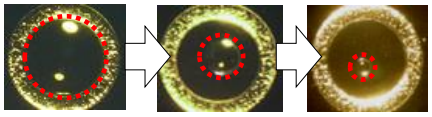
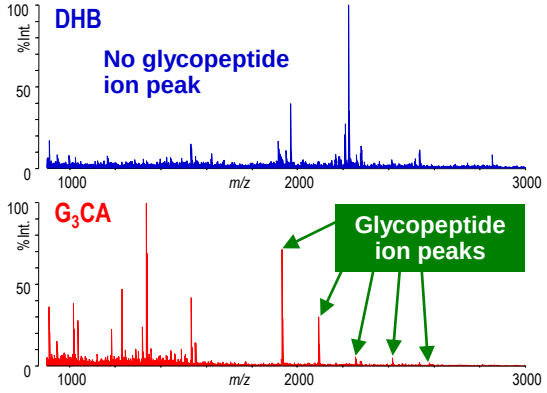
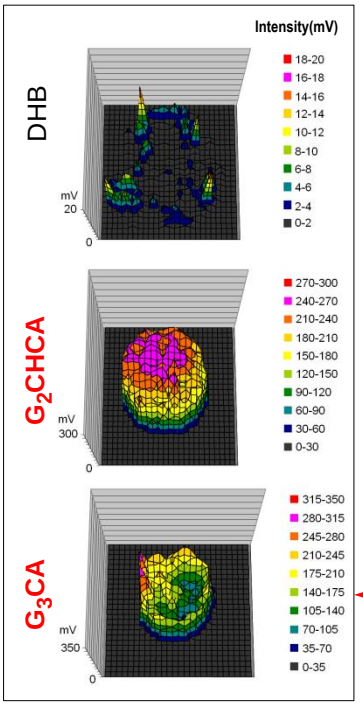
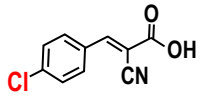
MALDI Matrix List for 337(355) nm (20/25)

Koichi Tanaka Laboratory of Advanced Science and Technology

http://www.first-ms3d.jp/

SHIMADZU

ms3d FIRST Program

Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass *(Aver. Mass)* [1]	Structure	Reference(s)
"Nano-PALDI" Nanoparticle-Assisted Laser Desorption / Ionization				Shu Taira, Yuki Sugiura, Shinji Moritake, Shuichi Shimma, Yuko Ichiyanagi "Nanoparticle-assisted laser desorption/ionization for ultra resolution imaging mass spectrometry" WP068 (ASMS**2007**) Shu Taira, Yuki Sugiura, Shinji Moritake, Shuichi Shimma, Yuko Ichiyanagi, Mitsutoshi Setou "Nanoparticle-Assisted Laser Desorption / Ionization Based Mass Imaging with Cellular Resolution" Anal. Chem., Vol. 80, p4761 (**2008**)
通常の有機固体Matrix(例:DHB)と異なり 結晶成長がないため、特にImaging MALDIにおいて 位置分解能を高めるために用いられる。				
"CA" *trans-p*-Coumaric Acid *trans-4*-hydroxycinnamic acid	$C_9H_8O_3$ 501-98-4	**164**.04734 *(164.158)*		
p-Coumaric Acidは、337nmに十分な吸光度を持っているが、単体では脱水重合するため、通常は単体でMatrixに用いられる事はない。				
"G2/CHCA"				Tatiana Laremore, Fuming Zhang, Robert Linhardt "Ionic Liquid Matrix for Direct UV-MALDI-TOF-MS Analysis of Dermatan Sulfate and Chondroitin Sulfate Oligosaccharides" Anal. Chem., Vol. 79, p1604 (**2007**)
"G3/CA"				Yuko Fukuyama, Shuuichi Nakaya, Yuzo Yamazaki, Koichi Tanaka "Improvement of sulfated / sialylated / neutral oligosaccharide and glycopeptide analyses using ionic liquid matrices" WP290 (ASMS**2007**)
G: 1,1,3,3-**tetramethylguanidine** (**C5H13N3** : 80-70-6) は、単体ではMatrixとしての働きが(十分)行えない				Yuko Fukuyama, Atsuhiko Toyama, Koichi Tanaka "On-target digestion using liquid matrixes for glycopeptide analysis" ThP382 (ASMS**2008**)
 溶媒気化→液体Matrix液滴収縮・(数10倍に)濃縮				Yuko Fukuyama, Shuuichi Nakaya, Yuzo Yamazaki, Koichi Tanaka "Ionic Liquid Matrixes Optimized for MALDI-MS of Sulfated / Sialylated / Neutral Oligosaccharides and Glycopeptides" Anal. Chem., Vol. 80, p2171 (**2008**)
 Negative-ion mass spectra of Ribonuclease B digests with DHB and G_3CA				Takashi Nishikaze, Yuko Fukuyama, Shin-ichirou Kawabata, Koichi Tanaka "Sensitive Analyses of Neutral N-Glycans using Anion-Doped Liquid Matrix G_3CA by Negative-Ion Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry" Anal. Chem., Vol. 84, p6097 (**2012**)
 試料台表面の各位置における試料イオン強度を縦軸として 各Matrixの強度分布を表している G_3CAで中心の強度が低下しているのは、溶媒乾燥時に不純物が集積したため、と考えられる				Takashi Nishikaze, Shin-ichirou Kawabata, Shinichi Iwamoto and Koichi Tanaka "Reversible hydrazide chemistry-based enrichment for *O*-GlcNAc-modified peptides and glycopeptides having non-reducing GlcNAc residues" Analyst, Vol. 138, p7224 (**2013**) "MALDI-MS Technical Reports" No.08
3-AQ/CHCAと同様、**Liquid Matrix** の特徴を有する。特に 硫酸化糖鎖・シアロ糖鎖等の酸性糖鎖のソフトなイオン化と、糖鎖全般の高感度化に適切。Plate上で液状を保てるため、前処理ステップを簡略化するための**On-Target Enzymatic Digestion** も試行されている。 一般に**Liquid Matrix**は、通常のSolid Matrixと比較し 液滴に厚みと丸みをおびている(3-AQ/CA写真参照)ため、通常のMALDI-TOF型では イオン散乱と飛行時間の広がりによる 感度と分解能・精度の低下を招く事が危惧されるため、**Ion Source**と**TOF-MS**が**decouple**された 例えば MALDI-QIT-TOF型に適している。(「Sample・Matrix乾固状態と 主にMALDI-TOF感度・分解能の関係(2/2)」参照)				
"Cl-CCA" 4-chloro-α-cyanocinnamic acid	$C_{10}H_6ClNO_2$ 69727-07-7	**207**.00885 *(207.613)*		Thorsten Jaskolla, Wolf-Dieter Lehmann, Michael Karas "4-Chloro-α-cyanocinnamic acid is an advanced, rationally designed MALDI matrix" Proc. Nat. Acad. Sci., Vol. 105, p12200 (**2008**)
CHCAと比較し、(様々なbasicityのpeptideに対する)**Sequence coverage**の大幅向上が期待できる(337nm Laser使用時)。				

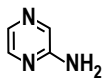
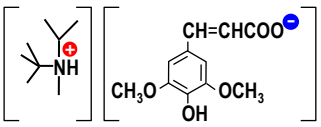
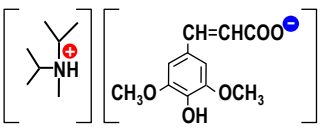
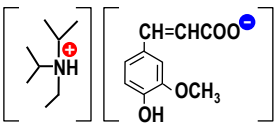
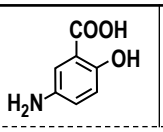
MALDI Matrix List for 337(355) nm (21/25)

Koichi Tanaka Laboratory of Advanced Science and Technology

http://www.first-ms3d.jp/

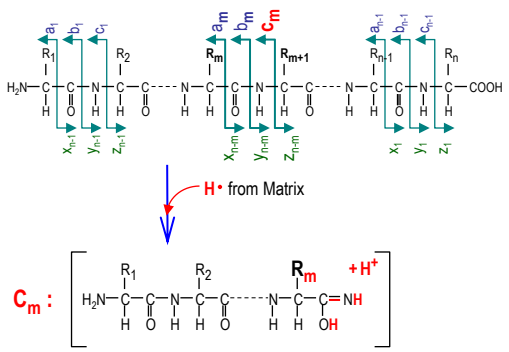
SHIMADZU

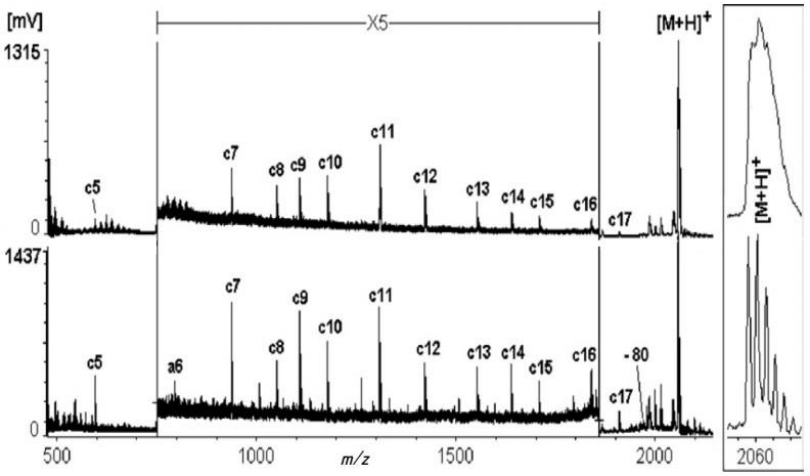
ms3d FIRST Program

Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass *(Aver. Mass)* [1]	Structure	Reference(s)
Aminopyrazine	$C_4H_5N_3$ 5049-61-6	95.04835 *(95.103)*		Muhammad Hashir, Guenther Stecher, Guenther Bonn "Identification of low molecular weight carbohydrates employing new binary mixtures for matrix-assisted laser desorption/ionisation mass spectrometry" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 22, p2185 (2008)
DHBのco-matrixとして用いられる。Derivatization reagentとしても活用される。				
"IMTBA/CHCA" N-isopropyl-N-methyl-N-tert-butylammonium α-cyano-4-hydroxycinnamate				Jeffrey Crank, Daniel Armstrong "Towards a Second Generation of Ionic Liquid Matrices (ILMs) for MALDI-MS of Peptides, Proteins, and Carbohydrates" J Am. Soc. Mass Spectrom., Vol. 20, p1790 (2009) Carlos Serrano, Yi Zhang, Jian Yang, Kevin Schug "Matrix - assisted laser desorption / ionization mass spectrometric analysis of aliphatic biodegradable photoluminescent polymers using new ionic liquid matrices" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 25, p1152 (2011)
"DIEA/CHCA" *N,N*-diisopropylethylammonium α-cyano-4-hydroxycinnamate				
"DIEA/FA" *N,N*-diisopropylethylammonium ferulate				
IMTBA/CHCAは 高質量ペプチド・タンパク質、DIEA/CHCAは 高質量ペプチド・タンパク質・糖鎖・Polymer、DIEA/FAは 高質量ペプチド・タンパク質・糖鎖、の測定に有用。				
"G/THAP" 1,1,3,3-tetramethylguanidinium salt of 2,4,6-trihydroxyacetophenone			(Cation, Anion電離度等の情報が不足しているため、表記なし)	Roman Ullmer, Andreas Rizzi "Use of a novel ionic liquidmatrix for MALDI-MS analysis of glycopeptides and glycans out of total tryptic digests" J. Mass. Spectrom., Vol. 44, p1596 (2009)
Glycan・Glycopeptide測定用。特にpeptide混在におけるcarbohydrateの"Ion suppression"を避ける事に効果がある。				
"3-AQ/Cl-CCA"			(Cation, Anion電離度等の情報が不足しているため、表記なし)	Mark Towers, John Mckendrick, Rainer Cramer "Introduction of 4-Chloro-α-cyanocinnamic Acid Liquid Matrices for High Sensitivity UV-MALDI MS" J. Proteome Res., Vol. 9, p1931 (2010)
固体MatrixのCl-CHCAよりも均一性が高く、定量性・安定性・持続性が高い。				
"5-ASA" 5-amino-salicylic acid	$C_7H_7NO_3$ 89-57-6	153.04259 *(153.135)*		Motoshi Sakakura, Mitsuo Takayama "In-source decay and fragmentation characteristics of peptides using 5-aminosalicylic acid as a matrix in matrix-assisted laser desorption / ionization mass spectrometry" J. Am. Soc. Mass Spectrom., Vol. 21, p979 (2010)

DHBの5-位の-OHが NH_2に置換した構造。既に 抗炎症薬(メサラジン)として用いられている。

1,5-DANと同様、**In-Source Decay**用 Matrix。 1,5-DANと比較すると、還元力は弱いが TOFMSで分解能が高い結果が得られる傾向がある。**Top Down Proteomics** (/Peptidomics)への活用が期待される。





MALDI-ISD spectra of [pTyr6]-ACTH18-35 obtained with 1,5-DAN (top) and 5-ASA(bottom)

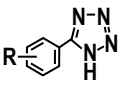
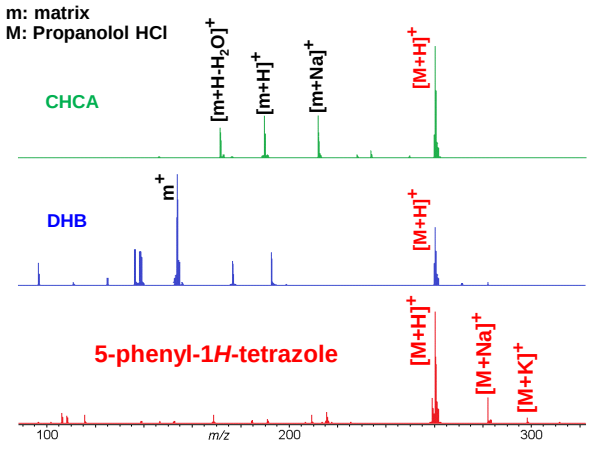
MALDI Matrix List for 337(355) nm (22/25)

Koichi Tanaka Laboratory of Advanced Science and Technology

http://www.first-ms3d.jp/

SHIMADZU

ms3d FIRST Program

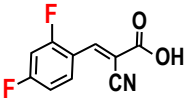
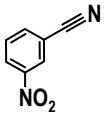
Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass (Aver. Mass) [1]	Structure	Reference(s)
5-aryl-1*H*-tetrazoles	- - - - - - - - - -		 R: H, 2-Br, 4-OH	

中越雅道, 高橋豊, 船越なつ美, 中島宏樹 “低分子化合物測定用新規MALDIマトリックスの開発(1)” 2P-038 (MSSJ**2009**)

中島宏樹, 船越なつ美, 岩本慎一, 高橋豊, 中越雅道 “低分子化合物測定用新規MALDIマトリックスの開発(2)～低分子化合物の測定～” 2P-039 (MSSJ**2009**)

Masamichi Nakakoshi, Natsumi Funakoshi, Hiroki Nakajima, Masayoshi Tsubuki “New Type Of Matrix For Analysis Of Low Molecular Weight Compounds by MALDI-TOF MS” HETEROCYCLES, Vol. 85, p927 (**2012**)

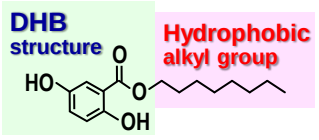
Matrix関連ピークが検出され難いため、低分子化合物の測定に有用、と考えられる。

“DiFCCA” α-Cyano-2,4-difluorocinnamic acid	$C_{10}H_5F_2NO_2$ 953905-51-6	**209**.02884 (209.148)		Kristin Teuber, Jürgen Schiller, Beate Fuchs, Michael Karas, Thorsten Jaskolla “Significant sensitivity improvements by matrix optimization: a MALDI-TOF mass spectrometric study of lipids from hen egg yolk” Chemistry and Physics of Lipids, Vol. 163, p552 (**2010**)
3-Nitrobenzonitrile	$C_7H_4N_2O_2$ 619-24-9	**148**.02728 (148.119)		Shirley Lomeli, Ivory Peng, Sheng Yin, Rachel Loo, Joseph Loo “New Reagents for Increasing ESI Multiple Charging of Proteins and Protein Complexes” J Am. Soc. Mass Spectrom., Vol. 21, p127 (**2010**)

LipidsをPositive modeで測定する場合、DiFCCAは他のMatrixよりも1桁以上感度が高いが、Negative modeでは 特にphospholipids測定に不向きである。

Ellen Inutan, Sarah Trimpin “Matrix assisted ionization vacuum (MAIV), a new ionization method for biological materials analysis using mass spectrometry” Mol. Cell. Proteom., Vol. 12, p792 (**2010**)

主に**Matrix Assisted Ionization Vacuum** (MAIV)用Matrixとして用いられる。

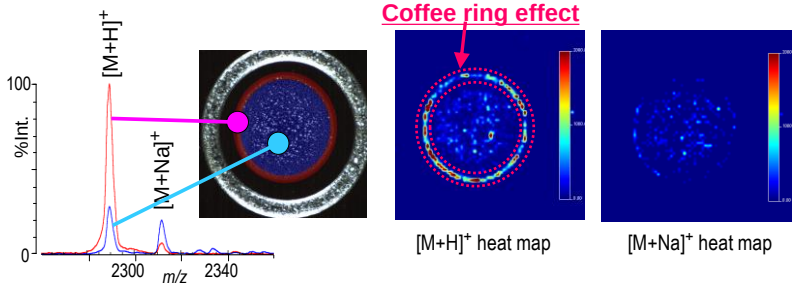
“ADHB” *O*-alkylated dihydroxy benzoic acid	$C_{15}H_{22}O_4$ - -	**266**.15181 (266.333)		福山裕子, 谷村里都子, 泉俊輔, 岩本慎一, 田中耕一 “新規添加剤ADHB混合マトリックスを用いた疎水性ペプチド高感度分析” 質量分析総合討論会 2P-40 (MSSJ**2011**)

構造修正論文:
Anal. Chem., Vol. 86, p 5187 (2014)

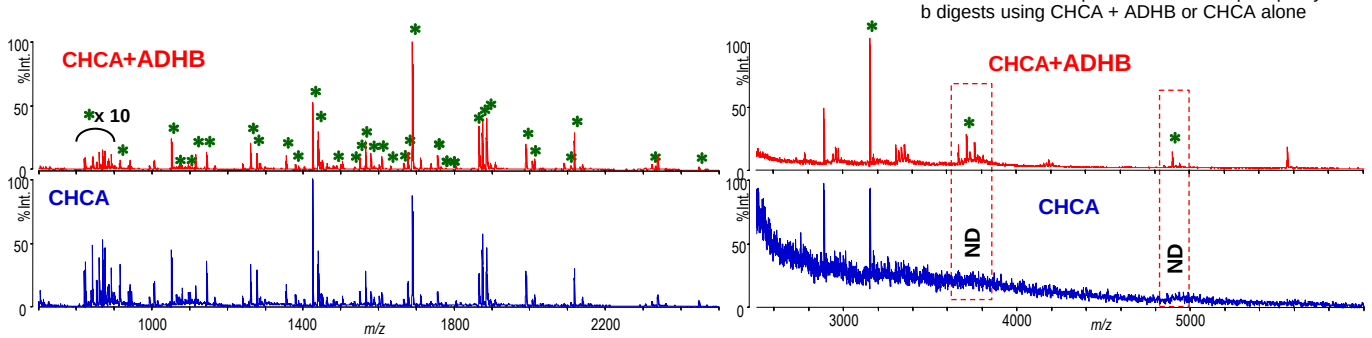
Yuko Fukuyama, Ritsuko Tanimura, Kazuki Maeda, Makoto Watanabe, Shin-ichirou Kawabata, Shinichi Iwamoto, Shunsuke Izumi, Koichi Tanaka “Alkylated Dihydroxybenzoic Acid as a MALDI Matrix Additive for Hydrophobic Peptide Analysis” Anal. Chem., Vol. 84, p4237 (**2012**)

生体関連物質のみに限っても 化合物の種類は数十万以上ある と言われており、それら全てを効率高くイオン化可能なMatrixは存在しない。

DHBと比較するとCHCAは疎水性であり、特に疎水性peptideイオン化効率が高いため 多用されてきたが、アルキル基を付加させたDHB(上記ADHB)とCHCAを適切に混合する事により、CHCA単独よりも**Hydrophobic peptide**を**最大100倍高感度**に**検出**する事が可能になった。右図は、Hydrophobisityの高いpeptideをCHCA, ADHB co-matrixで測定した一例であり、[M+H] peptide ionがRim areaに集積している状況がHeat mapにより確認できる。



Positive-ion mass spectra of 100 fmol phosphorylase b digests using CHCA + ADHB or CHCA alone



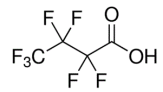
MALDI Matrix List for 337(355) nm (23/25)

Koichi Tanaka Laboratory of Advanced Science and Technology

http://www.first-ms3d.jp/

SHIMADZU

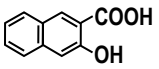
ms3d FIRST Program

Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass *(Aver. Mass)* [1]	Structure	Reference(s)
"HFBA" Heptafluorobutyric acid	$C_4F_7HO_2$ 375-22-4	**213.98647** *(214.039)*		Benoit Colsch, Shelley Jackson, Sucharita Dutta, Amina Woods "Molecular Microscopy of Brain Gangliosides: Illustrating their Distribution in Hippocampal Cell Layers" Neurosci., Vol. 2, p213 (**2011**) Alice Delvolve, Benoit Colscha, Amina Woods "Highlighting anatomical sub-structures in rat brain tissue using lipid imaging" Anal. Methods, Vol. 3, p1729 (**2011**)

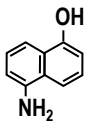
HFBAをDHAに添加する事により、真空中でのsublimationを抑制できる。更にammoniumsulfateを添加する事により、脂質の高分解能Imagingでcation付加を大いに抑制できた。

Name				Reference(s)
Graphene				Xiaoli Dong, Jinsheng Cheng, Jinghong Li, Yinsheng Wang "Graphene as a Novel Matrix for the Analysis of Small Molecules by MALDI-TOF MS" Anal. Chem., Vol. 82, p6208 (**2010**) Received for review : **19/Apr/2010** Jing Zhang, Xiaoli Dong, Jinsheng Cheng, Jinghong Li, Yinsheng Wang "Efficient analysis of non-polar environmental contaminants by MALDI-TOF MS with graphene as matrix" J. Am. Soc. Mass Spectrom., Vol. 22, p1294 (**2011**)

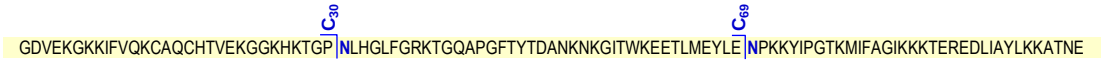
2010年ノーベル物理学賞受賞対象となった化合物：Grapheneをmatrixとして使用。

Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass *(Aver. Mass)* [1]	Structure	Reference(s)
"HNA" 3-Hydroxy-2-naphthoic acid	$C_{11}H_8O_3$ 92-70-6	**188.04734** *(188.179)*		Sirantha Perera, Alain Berthod, Edra Dodbiba, Daniel Armstrong "Coupling solid-phase microextraction and laser desorption ionization for rapid identification of biological material" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 26, p853 (**2012**) Yasushi Shigeri, Shinya Ikeda, Akikazu Yasuda, Masanori Ando, Hiroaki Sato, Tomoya Kinumi "Hydrazide and hydrazine reagents as reactive matrices for MALDI-MS to detect gaseous aldehydes" J. Mass Spectrom., Vol.49, p742 (**2014**)

Material-enhanced laser desorption ionization (MELDI)用にMatrixとして使用。Reactive matrixとしても使用。

Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass *(Aver. Mass)* [1]	Structure	Reference(s)
"5,1-ANL" **5-Amino-1-naphthol**	$C_{10}H_9NO$ 83-55-6	**159.06841** *(159.185)*		Mitsuo Takayama "Flexible Xxx–Asp/Asn and Gly–Xxx Residues of Equine Cytochrome c in Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization In-Source Decay Mass Spectrometry" Mass Spectrom. (Tokyo), Vol. 1, A0007 (**2012**) Issey Osaka, Mami Sakai, Mitsuo Takayama "5-Amino-1-naphthol, a novel 1,5-naphthalene derivative matrix suitable for matrix-assisted laser desorption/ionization in-source decay of phosphorylated peptides" Rapid Commun. Mass Spectrom., Vol. 27, p103 (**2013**)

Mitsuo Takayama, Sadanori Sekiya, Ryunosuke Iimuro, Shinichi Iwamoto, Koichi Tanaka "Selective and Nonselective Cleavages in Positive and Negative CID of the Fragments Generated from In-Source Decay of Intact Proteins in MALDI-MS" J. Am. Soc. Mass Spectrom., Vol. 25, p120 (**2014**)

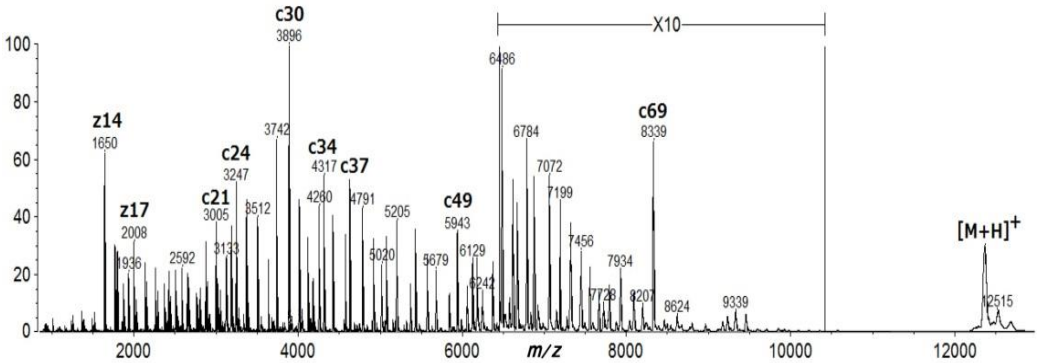


5-ASAと同様、**In-Source Decay**測定に活用されている。特に**Phosphopeptide**に対しては、1,5-DANよりもISD効率が高い。

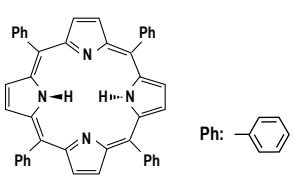
他の特徴としては、

- Sweet-spot（イオン化容易な部位）の偏りがなく、Raster測定でISDデータを取得可能
- 真空下での揮発性（昇華性）が低い
- $[M+H]^+$生成効率が高い

Top Down Proteomicsへの活用が期待される。



Positive ion MALDI-ISD spectra of equine holo-cytochrome c (Mr 12360.1) with 5-ANL matrix

Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass *(Aver. Mass)* [1]	Structure	Reference(s)
"TPP" Tetraphenyl porphyrin	$C_{44}H_{30}N_4$ 917-23-7	**614.24705** *(614.736)*		Makoto Watanabe, Rie Yamamoto, Shinichi Iwamoto, Yuko Fukuyama, Ritsuko Tanimura, Shin-ichirou Kawabata, Taka-Aki Sato, Shunsuke Izumi, Koichi Tanaka "Potential of radical scavenging reagents as a matrix additive in the direct detection of S-nitrosylated peptides with UV-MALDI MS" Int. J. Mass Spectrom., Vol. 333, p67 (**2013**)

S-ニトロシル化は、翻訳後修飾PTMの1種である。そのpeptideに対する結合は紫外光で不安定になるため、従来のUV-MALDI用Matrixでは測定不可能と考えられていた。MatrixとしてTetraphenyl porphyrin(TPP)をDHBに適切に混合する事により、TPPが **Radical scavenger** となり、ニトロシル化peptideを分子イオンとして生成する事に（一部）成功した。

MALDI Matrix List for 337(355) nm (24/25)

Koichi Tanaka Laboratory of Advanced Science and Technology

http://www.first-ms3d.jp/

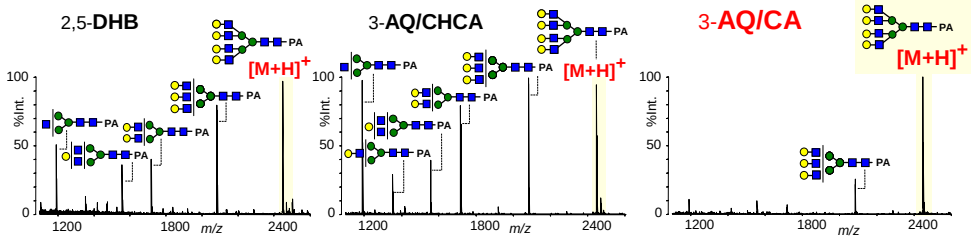
SHIMADZU

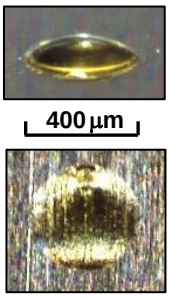
ms3d FIRST Program

Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass (Aver. Mass) [1]	Structure	Reference(s)
"3-AQ/CA"			(Cation, Anion電離度等の情報が不足しているため、表記なし)	Yuko Fukuyama, Natsumi Funakoshi, Kohei Takeyama, Yusaku Hioki, Takashi Nishikaze, Kaoru Kaneshiro, Shin-ichirou Kawabata, Shinichi Iwamoto, Koichi Tanaka "3-Aminoquinoline / *p*-Coumaric Acid as a MALDI Matrix for Glycopeptides, Carbohydrates, and Phosphopeptides" Anal. Chem., Vol. 86, p1937 (2014) Takashi Nishikaze, Shin-ichirou Kawabata, Koichi Tanaka "In-Depth Structural Characterization of N-Linked Glycopeptides Using Complete Derivatization for Carboxyl Groups Followed by Positive- and Negative-Ion Tandem Mass Spectrometry" Anal. Chem., Vol. 86, p5360 (2014) Ritsuko Yoda, Yusaku Hioki, Takashi Nishikaze, Shinichi Iwamoto, Koichi Tanaka "Sequential detection of glycopeptides and their glycans by using LC/MALDI-MS and on-target digestion" SCS25, P-06 (2014)

CHCAよりも親水性のCAを用いる事により、糖ペプチド・糖鎖・リン酸化ペプチドを 3-AQ/CHCAよりも さらにSoftに感度高く測定できる場合がある。下図は、PAラベル化糖鎖を測定した1例であり、3-AQ/CAは DHB, 3-AQ/CHCAよりも分解を大幅に抑制し、感度高く分子イオン$[M+H]^+$が測定できている(2014論文)。

また、液状内(右下写真)で化学反応が容易である事を活用し、滴下した液滴内で酵素消化 さらに 糖鎖AQラベル化まで行った結果も紹介されている(SCS25 2014)。



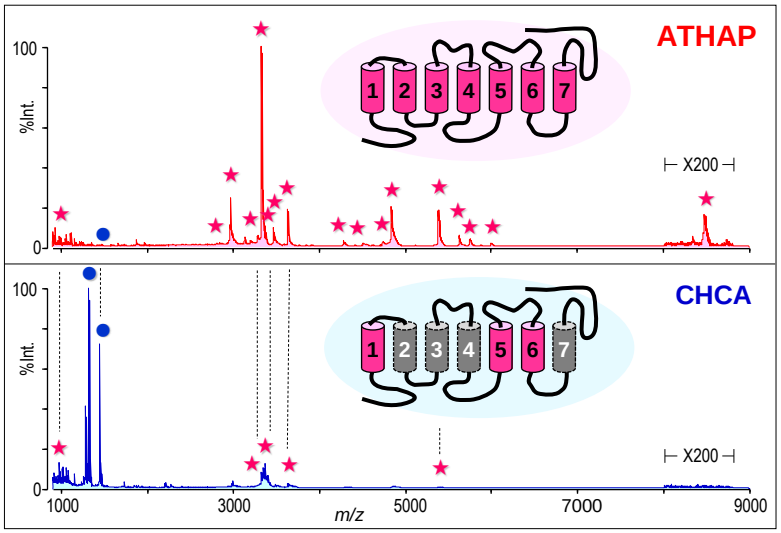


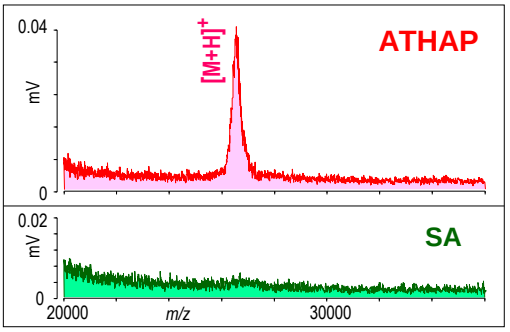
3-AQ/CA溶液滴下乾燥例(斜め横から見た写真)

蒸気圧が低く、真空中でも液相を保持

3-AQ/CA溶液滴下乾燥例(真上から見た写真)

Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass (Aver. Mass) [1]	Structure	Reference(s)
"ATHAP" Alkylated Trihydroxyacetophenone	$C_{14}H_{20}O_4$ - - - -	252.13616 (252.306)	Hydrophobic alkyl group; THAP structure	Yuko Fukuyama, Chihiro Nakajima, Keiko Furuichi, Kenichi Taniguchi, Shin-ichirou Kawabata, Shunsuke Izumi, Koichi Tanaka "Alkylated Trihydroxyacetophenone as a MALDI Matrix for Hydrophobic Peptides" Anal. Chem., Vol. 85, p9444 (2013) Yuko Fukuyama, Chihiro Nakajima, Shunsuke Izumi, Koichi Tanaka "Enhanced MALDI-MS using Alkylated Trihydroxyacetophenone as a Matrix for Hydrophobic Peptides in Membrane Protein Analysis" MP130 (ASMS2014)





Mass spectra of Intact Bacteriorhodopsin(BR)

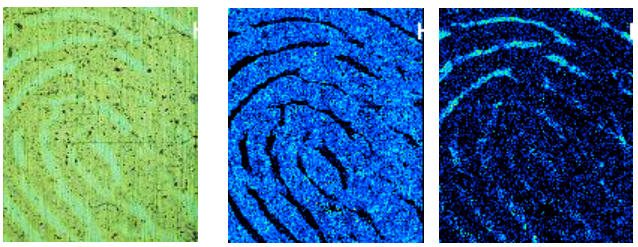
Mass spectra of BR trypsin digestion (100 fmol)
★: Hydrophobic peptides containing TM domains
●: Hydrophilic peptides

ATHAPは、従来のMatrixにアルキル鎖を伸長させた観点からは ADHBと同様であるが、ATHAPは 単体でのMatrix効果が十分ある。

Peptideにおける疎水性度を見るSequence Specific Retention Calculator (SSRC) Index による比較では、CHCAを用いても適応困難な hydrophobicityが極めて高い(SSRC>50)peptideでもイオン化が容易であるため、上図の様に Membrane Proteinの一種:BacteriorhodopsinのTransmembrane (TM)部分も全て検出できている(ASMS2014)。

右図は、Imaging MALDIを用い Stainless Steel Sample Plateについた指紋を ATHAPを真空蒸着して計測した一例である。ある脂質関連化合物は指紋の"山"の部分に、別の化合物は"谷"の部分に 偏在している様子がうかがえる。

Data acquired and analyzed by M. Kusano (unpublished)(under FIRST-ms3d project) →



Plate上"指紋"における光学顕微鏡画像(左:コントラストは高くない)とATHAPを用いた化合物MS代表例(複合脂質)2種類(中、右)の分布(ポジ・ネガの関係)

MALDI Matrix List for 337(355) nm (25/25)

Koichi Tanaka Laboratory of Advanced Science and Technology

http://www.first-ms3d.jp/

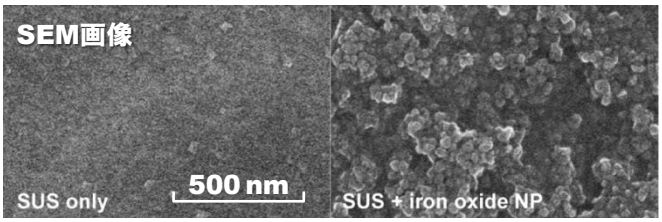
SHIMADZU

ms3d FIRST Program

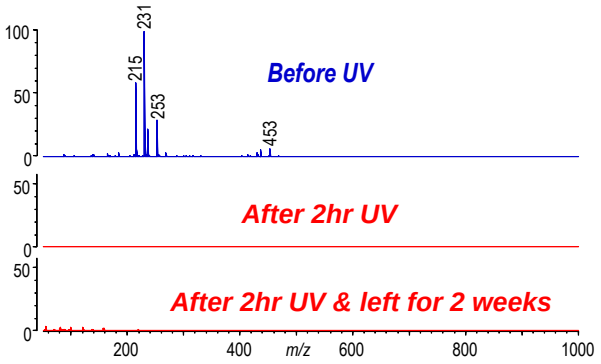
Name	Empir. Form. CAS No.	Monoiso. Mass *(Aver. Mass)* [1]	Structure	Reference(s)
Iron Oxide Nanoparticle-Coated Target				田村祐介, 溝口大剛, 室内聖人, 川崎英也, 荒川隆一 “酸化鉄(III)ナノ粒子をマトリックスとするSALDI-MS用高感度基板の開発” 18P-013 (MSSJ**2010**) Maiko Kusano, Shin-ichirou Kawabata, Yusuke Tamura, Daigou Mizoguchi, Masato Murouchi, Hideya Kawasaki, Ryuichi Arakawa, Koichi Tanaka “Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry (LDI-MS) of Lipids with Iron Oxide Nanoparticle-Coated Targets” Mass Spectrom. (Tokyo), Vol. 3, A0026 (**2014**)

DIOSは 主にSilicon表面化学処理等後の微細な凹凸構造でイオン化効率を向上させているが、本手法は、Stainless Steel表面に酸化鉄を塗布する 比較的安価・容易な作成方法で “**Matrix-less**” Targetを達成している。

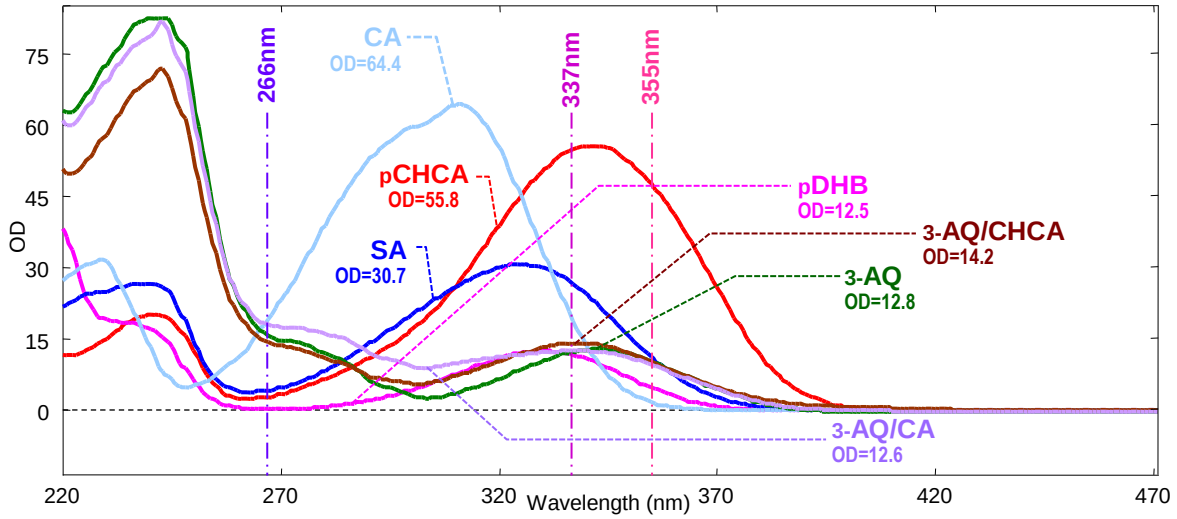
さらに、Deep Ultraviolet光(＜200nm)照射により、表面の残存有機物をほぼ100%分解し、“Low Mass Chemical Background”の低減を図っている。



電子顕微鏡によるTarget表面画像



主要Matrix 吸光スペクトル例



各マトリックス(0.5mg/mL)の吸収極大波長と吸光度

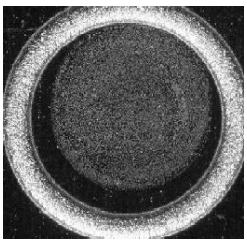
	CA	pCHCA*	SA	pDHB*	3-AQ	3-AQ/CHCA	3-AQ/CA
吸収極大波長(nm)※	**311**	**341**	**325**	**330**	**343**	**338**	**338**
吸光度(OD)※	**64.4**	**55.8**	**30.7**	**12.5**	**12.8**	**14.2**	**12.6**

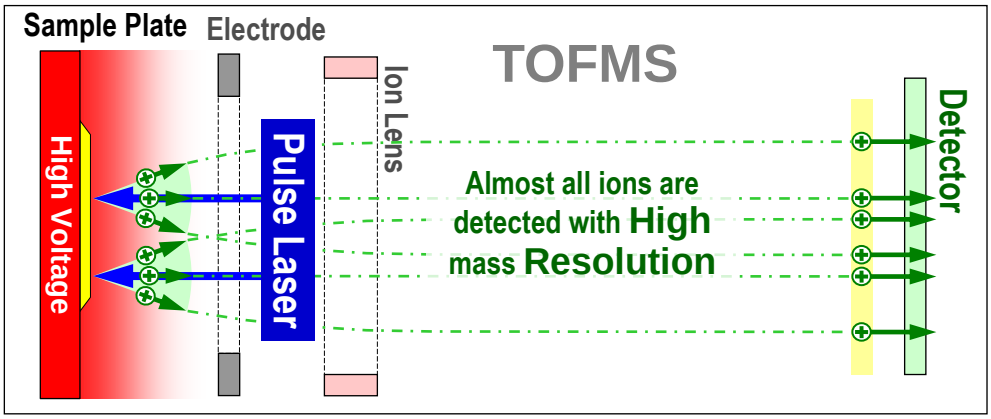
※ 波長300nm～500nm間でODが最も高い時の波長と数値を示した　　＊ pCHCA, pDHBにおける“p”は purifiedを意味する

註: 上記は、溶液中での吸光度であり、溶媒気化後の(試料との混合結晶)状態での吸光度とは(一部)異なる

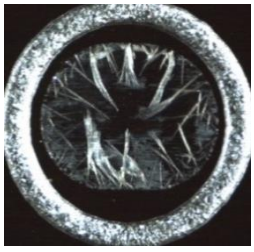
Sample・Matrix乾固状態と 主にMALDI-TOF感度・分解能の関係（1/2）

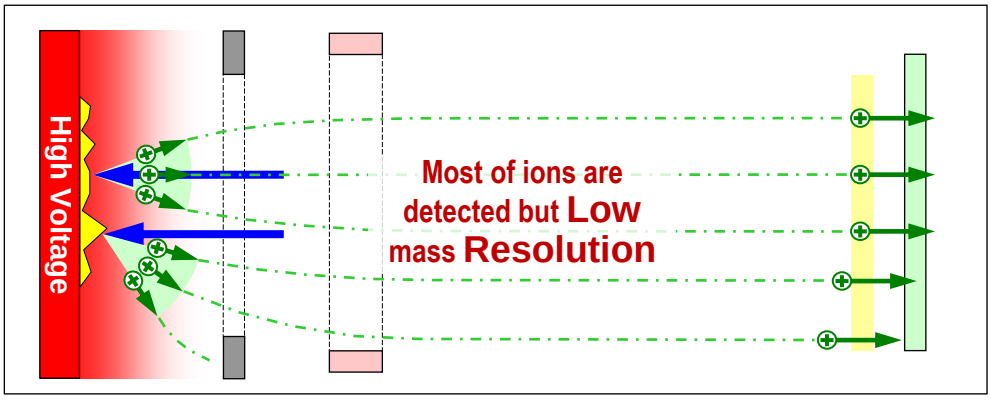
MALDIによるイオン化と最も多く接続されているMSは、Time of Flight (TOF) MSである。
TOFMSでは、Sample Plateに試料を搭載し、Pulse Laser等でイオン化させる。通常、Sample Plateには高電圧High Voltageが印加されそのすぐ右側（下図参照）のElectrodeには0 V (Ground)を印加する。*m/z*値の小さいイオンは（最終到達）速度が速く 先に検出器Detectorに到達、大きいイオンは後から到達、この飛行時間の違いでイオンを分離・検出・測定できる。



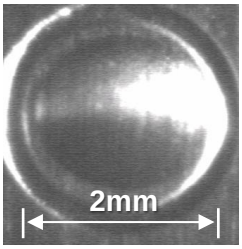


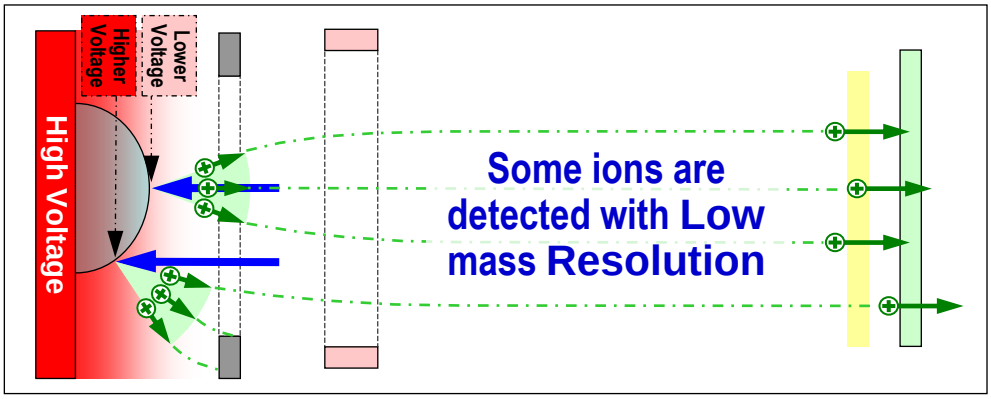
イオンは、ミクロレベルで見た試料表面に対し、ほぼ垂直方向（上図では右方向）に向かって発生する。通常、Sample Plate表面は イオン飛行・検出器方向に対し垂直に設置されており、発生したイオンはSample Plateに印加された高電圧によって加速される。イオンの向かう方向が 多少垂直方向よりずれていても、Ion Lensによって修正される。
CHCAの様（左上写真参照）にミクロレベルでの凹凸が少なく、薄い試料・Matrix膜が生成できる場合は、上図の様に ほぼ全てのイオンが検出器まで届く。しかも、同じ*m/z*イオンならば（ほぼ）同時に検出器に到達できるため、質量分解能も高い状態での測定が容易である。





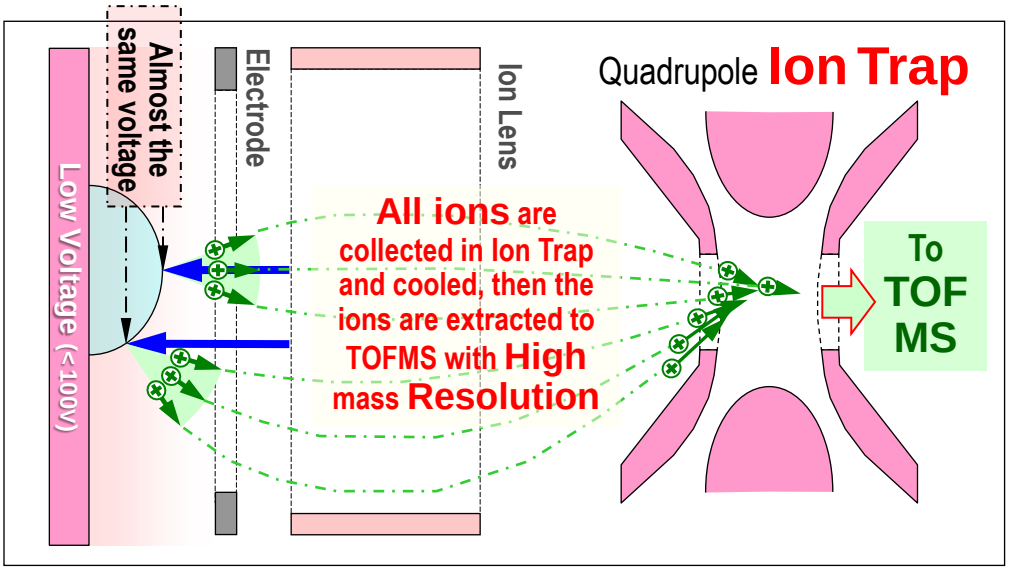
DHBや**DAN**をMatrixとして用いた場合、巨大な針状結晶が生成し易く（左上写真参照）、ミクロレベルで見ればイオン生成方向が垂直方向から大幅にずれる場合が増加し、イオン化部位によっては 一部または大部分の生成イオンが検出器に到達できないばかりでなく、イオンの軌道が垂直方向（上図では検出器へ向かう方向）からずれるため、同一*m/z*イオン同時到達が困難になり、質量分解能も低下し易くなる。





真空中でも液滴状態を保つ 主にIonic Liquid Matrix（例：3-**AQ/CHCA**、3-**AQ/CA**）を用いた場合、巨大（直径＞1mm）な半球状の液滴が生成し易く、ミクロレベルで見ればイオン生成方向が垂直方向から大幅にずれる場合が増加し、イオン化部位によっては 一部または大部分の生成イオンが検出器に到達できないばかりでなく、イオンの軌道が垂直方向からずれるため、同時到達が困難になり、質量分解能の低下も発生し易くなる。Sample PlateにはHigh Voltageが印加されているが、Sample Plateより離れた特に液滴の頭頂では印加（イオンにとっての加速）電圧が低下する事になり、この効果によってさらに分解能も低下する傾向がある。
通常のTOF-MSでLiquid Matrixを用いる場合、感度・分解能が低下する（Liquid Matrixの利点を十分利用できない）要因になっている。

Sample・Matrix乾固状態と 主にMALDI-TOF感度・分解能の関係（2/2）

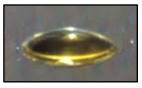


Ion TrapをTOFMSの手前に置いた装置（例：**Axima-Resonance**, **iMScope**）では、MALDIイオン化によって生成したイオンが Ion Lens等によって一旦Ion Trap内に収集され、Cooling Gas等によって中心にfocusされた後、Pulse電圧でTOFMSに一度にまとめて引き出される（Ion Trap中心がTOFMSの出発“**点**”となる）。

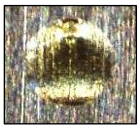
MALDIイオン源とTOFMSが**decouple**されているため、例えばDHB, DANを用いた場合の不規則・凹凸のある結晶やLiquid Matrixを用いた場合でも、TOFMSにおける分解能・感度の低下を避ける事が容易になる。

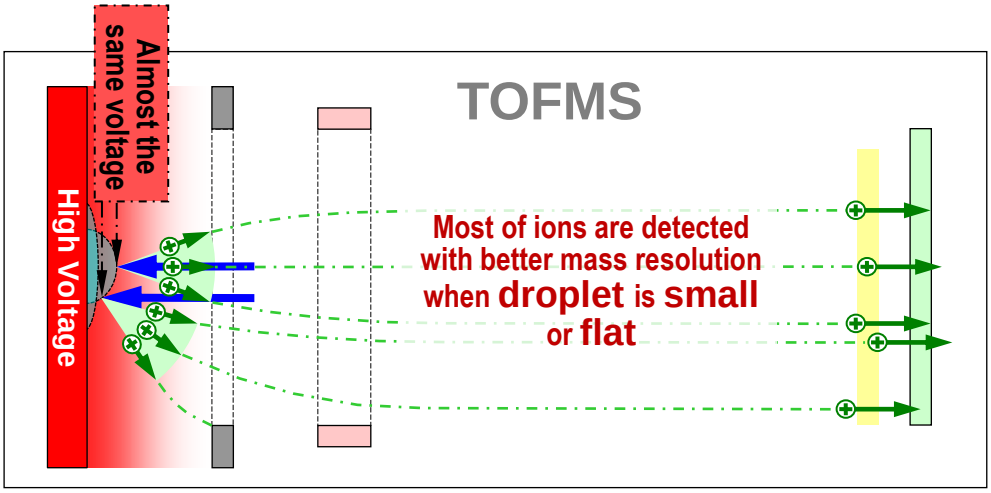
なお、Ion TrapでCoolingされるまでにdecomposeしたPost Source Decayイオンが生成する場合、その混在を考慮した解析が必要になる。

註：(Quadrupole) Ion Trapは、QITの原理を発明したWolfgang Paul (Nobel prize in Physics **1989**)にちなんで “**Paul Trap**”とも呼ばれている。



400 μm





MALDIイオン源をTOFMSに直結させる場合でも、分解能・感度を向上させるためには、例えば、液滴を小さくする、液滴をできる限り平坦にする方法がある（上図左側写真参照）。

Soft Laser Desorption法発明30周年記念