

# LC-MS 使用方法

## 逆相編

Ver. 20230301

### メソッドファイルの選択、上書き

Msx-shortcut→master LTQCal に glycan-usuallyfile.LTQCal を上書き

### 装置のセットアップ

注意：少なくとも送液ラインの操作をする場合には手袋（パウダーフリー）を着けること。

1. モニター電源 ON（PC 本体の電源は常時 ON のまま）
  2. 窒素発生器の電源 ON⇒フローは 0.7 前後
  3. HPLC の電源 ON⇒4 か所（1 番上のはポンプの電源と連動している。）
  4. 配管を確認する。
    - ポンプ⇒カラムなし⇒divert Valve⇒MS
  5. Xcalibur を起動
  6. Dionex Chromatography MS link をクリックして、下の Panels をクリックする。
  7. Chromeleon Xpress の Home の Take control が反転していることを確認する。  
していない場合は、Take over control⇒OK をクリックする。
  8. タブの中からポンプタグ(xPG-3x00)を選択
  9. 液クロ A solvent を 0.2% HCOOH、B solvent を 20% CH<sub>3</sub>CN in 0.2% HCOOH に代える。  
ラインと吸引口に付いた液をキムワイプで良く拭き取っておく。  
(solvent の水は蒸留後しばらく循環させたものを用いる。シロキサンの混入が感度を下げ  
てしまう。)
  10. パージを行う。
    - ドレインバルブを開く。(1 回転以上)
    - %B を 50 に設定する。
    - Purge ボタンをクリック(3 mL/min, 5 min)
    - ドレインバルブを再度確認して、リターンキーを押す。
    - Purge が終わったら、ドレインバルブを閉める。
    - %B を 0%に設定する。
    - Flow rate を 0.05 mL/min に設定する。
  11. カラムを付ける。
  12. Flow rate を 0.05 刻みで上げていき、0.2 mL/min に設定する。
- LC の設定完了

### 分析ファイルの作成

1. Xcaliber Sequence Setup を開く。
2. Method file 中の過去ファイル(Sequence file)を open

3. 各人の Data folder 中にデータ保存用の新規 folder を作る。
4. ID path に作成した保存先 folder を選択する。
5. 列を反転させて fil down をクリックする。
6. 分析ファイル(Inst Meth)を確認する。  
(通常は“AQ-C18-MS\_15-4\_250-p-ddMS2\_Top5\_20160909”を用いている。)
7. File Name、Inj Vol、Position を入力する。(F2 でセル内カーソルが現れる。)
8. File→save as で保存
9. 質量分析器のサンプル導入口の針を抜く。
10. Thermo tune plus を立ち上げ、scan を開始 (左上端の「=」ボタン)
11. Scan が開始したことを確認する。
12. Sequence file の内、行う行を指定して反転させる
13. Run Sequence をクリック
14. 左パネルから Acquisition Queue を選択し、指定した行(Sequence Row)が入っていることを確認する。
15. シャットダウンメソッド “Stop-200\_B-100\_16min”の行を反転させ、Run Sequence をクリックし、最後に足されることを確認する。

#### 終了時

1. Chromeleon Xpress の Home タグから Take Control を押す。Take over control⇒OK
2. タブの中からポンプタグ(xPG-3x00)を選択
3. カラムを洗浄する。
  - 溶媒ボトル A を 75% CH<sub>3</sub>CN in 0.05% AcOH に付け替える。
  - ドレインバルブを開く。(1回転)
  - %B を 0 に設定する。
  - Purge ボタンをクリック(3 mL/min, 5 min)
  - ドレインバルブを再度確認して、リターンキーを押す。
  - Purge が終わったら、ドレインバルブを閉める。
  - Flow を 0.2 mL/min にして 10 分間置換する。
4. カラムを外す。
5. 溶媒置換を行う。
  - 溶媒ボトル A と B を 10% イソプロパノール(IPA)に付け替える。
  - ドレインバルブを開く。(1回転)
  - %B を 50 に設定する。
  - Purge ボタンをクリック(3 mL/min, 5 min)
  - ドレインバルブを再度確認して、リターンキーを押す。
  - Purge が終わったら、ドレインバルブを閉める。
  - Flow を 0.2 mL/min にして 10 分間置換する。
  - Flow を 0 にする。
6. HPLC の電源を OFF にする。

7. プログラムを閉じる。
8. データファイルを 2nd PC の各人のフォルダーにコピーする。  
(データ解析は原則 2nd PC で行う。)
9. モニター電源 OFF (注意 : PC 本体の電源は常時 ON のまま)