

# レーザーイオン化法による質量分析技術の進展

米 澤 徹

## Development of Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry

Tetsu YONEZAWA

In this report, I would like to introduce recent development of laser desorption ionization mass spectrometry (LDI-MS), especially, surface-assisted LDI-MS (SALDI-MS). Surfaces of inorganic nanoparticles and nanostructures can help desorption and ionization of organic compounds from the sample plate surface. Feasibility of various inorganic nanoparticles, not only metals, but also carbons, metal oxides, silicons, and semiconductors, has been examined so far. Platinum nanoflowers as well as GaP nanoparticles have show unique properties for SALDI-MS, that is, good candidates for higher mass weight compounds and high soft ionization ability, respectively.

**Key words:** mass spectrometry, laser desorption, nanoparticles, nanostructure, ionization

質量分析装置は2つのシステムが接続された装置である。ひとつは、対象となる物質をイオン化するシステム、そしてそれに続いてこのイオンの質量電荷比を求めるシステムである。物質のイオン化にはさまざまなシステムがあり、電子イオン化 (EI)、化学イオン化 (CI)、エレクトロスプレーイオン化 (ESI)、レーザー脱離イオン化 (LDI) などである。質量電荷比を求めるシステムは、飛行時間測定法 (TOF)、四重極測定法 (QP) などに分けられる。それぞれのシステムには特徴があり、測定したい対象物によってこの組み合わせを使い分ける。

その中で LDI 法は、高分子量の有機物をソフト (フラグメントイオンを生じさせないで) イオン化することが得意なイオン化システムである。一般的に LDI には TOF を組み合わせて質量電荷比を測定する。一般的に紫外レーザー (窒素レーザー (波長 377 nm)、Nd:YAG レーザーの3倍波 (波長 355 nm)) をイオン化のためレーザーとして用い、パルスで照射する。このとき、レーザーのエネルギーで物質は脱離し、イオン化され質量電荷比が測定できる。本稿では、このレーザー脱離イオン化法による質量分析の最近の進展、特に表面支援レーザー脱離イオン化法 (SALDI 法) について述べる。

### 1. マトリックス支援レーザー脱離イオン化 (MALDI) 法

パルスレーザーを照射し試料を試料基板から脱離・イオン化させようとする多くの場合において、レーザーエネルギーを熱に変えて対象化合物をイオン化するために、安息香酸の分子構造に似た構造を有する有機化合物を測定対象物と混合して測定する (図 1a)<sup>1-3)</sup>。紫外レーザーのエネルギーはこの安息香酸様の化合物に吸収され、熱に変わる。それによって試料基板上に塗布された試料は急速に加熱される。質量分析装置のような高真空中で物質を急速に加熱すると、その物質は燃焼されずに、塗布された基板上からそのまま真空中へ脱離される。熱エネルギーが運動エネルギーへ変化したのである。このとき働く安息香酸様の化合物はマトリックスとよばれる。測定対象物が基板から脱離するとき、このマトリックスのもつカルボン酸基からプロトンが供与され、測定対象物がプロトン付加体になる。これによって、測定対象物は+1 価のイオンとなる。測定対象物がソフトイオン化され、プロトン付加体となると、これは分子量関連イオンとなって、測定対象物の分子量+1 の質量電荷比のところにピークを示す。そのため、分子量が非常に容易に判断することができる測定システムとして重宝なものとなっている。このシステムを、マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析法 (MALDI-MS) とよぶ。

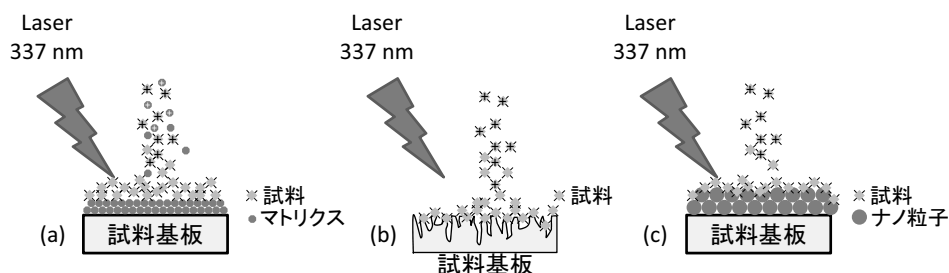


図1 (a) 有機マトリックス分子を用いたMALDI, (b) ポーラスシリコンを用いたDIOS, (c) ナノ粒子を用いたSALDIの模式図。

しかし、このとき、測定対象物以外に用いたマトリックス分子も基板から脱離・イオン化する。上に書いたように、マトリックス分子はレーザーエネルギーを直接受けるため、ハードにイオン化され、フラグメントイオンを生成させる。その結果、マトリックス分子の分子量より低い領域では、複数のピークが観察されることになる。つまり、比較的低分子量の化合物をMALDI-MSで測定しようとするとき、この対象化合物のピークは、マトリックス分子がイオン化され示すピークの中に含まれることになり、物質の同定・分子量の決定が必ずしも容易ではなくなるようになってしまう。しかし、一方で人間が用いる薬に含まれる作用分子、一方で摂取すると体に悪さをする違法薬物や毒物などの分子は比較的小さく、500程度以下の分子量を示す。これらの領域はマトリックス分子の分子量領域に近い。このため、樹脂などの検定には法科学でもMALDI-MSが用いられるものの<sup>4)</sup>、薬物・毒物の検定にはMALDI-MSは不向きであるとされてきた。

## 2. ナノ粒子の利用による表面支援レーザー脱離イオン化(SALDI)法

一方、レーザー脱離イオン化による高分子分析でノーベル賞を受賞した田中耕一博士は、グリセリンに分散したCoナノ粒子を用いてたんぱくをイオン化している(図1b)<sup>5)</sup>。レーザーの光エネルギーをうまく熱エネルギーに変えることができ、対象化合物にスムーズにイオンを供与することができれば、それは有機物である必要が必ずしもないことがわかる。そこで、さまざまなナノ材料がレーザー脱離イオン化の支援剤として用いられるようになってきた。こうしたナノ材料による支援化システムは表面支援レーザー脱離イオン化(SALDI)(図1c)とよばれる。この手法だと有機分子をマトリックスに使用しないので、低分子量物質の質量分析へのLDIの応用可能性が格段に広がり、薬物・毒物の検出への利用も視野に入れることができる。

SALDI-MSに用いられるナノ材料にはこれまでさまざまな物質がすでに報告されているが、代表例としてあげられ

るものは、ポーラスシリコンである。電解エッチングで容易に作成される50~200nm程度の大きさの穴がたくさん開いたポーラスシリコンの表面はよいSALDI基板となる。この基板を用いたイオン化法はDIOS(desorption ionization on silicon)とよばれる<sup>6)</sup>。こうしたナノ構造体上でレーザーによって脱離イオン化するためには、熱伝導性の小さい物質で試料が局所的に急速加熱され昇華される必要があると考えられている。シリコン以外にも、さまざまなカーボン材料もよくSALDIに用いられる。

ゲルマニウムナノドットをシリコン表面に成長させた基板がSALDI-MSに有効であることが見いだされ、ペプチド、ポリマーを含むさまざまな有機化合物が測定できることがわかった<sup>7)</sup>。また、ナノ構造体を作るために、ナノ粒子分散液を試料基板に塗布する方法もよく採用されるようになった。これはナノ構造体を作る非常に簡便な方法といえる。われわれはレーザーアブレーションで作製し、保護剤をもたずに分散できる各種金属ナノ粒子を用いてSALDI-MSを行った<sup>8)</sup>。そのとき、金ナノ粒子もSALDI-MSに有効であることが示されたが、白金を用いれば、低いエネルギーでソフトイオン化効率が高くなり、より強度の高いピークを示した。金ナノ粒子は特有なプラズモン吸収も影響すると考えられている。さらに、白金表面に突起をもたせたナノフラワー形状の粒子が低分子量から分子量10000を超えるチトクロムCまで効率よくイオン化できることも見いだした<sup>9)</sup>(図2)。こうした金属ナノ粒子を用いたSALDI-MSでは、金属表面との吸着を用いたり、さらにはナノ粒子表面を修飾したりすることで、特定の分子を表面に濃縮できるため、効率のよい物質検出が可能であることも報告されている。

磁性ナノ粒子もSALDI-MSにとって非常に有効な材料である。磁性ナノ粒子を用いて特定の物質を濃縮もしくは除去する目的で磁気による分離がよく行われる。この手法を用いて磁性ナノ粒子表面に特定の物質に親和性のある部位を提示すると、ナノ粒子表面にその物質が吸着する。それを磁気分離によって回収し試料基板に塗布してSALDI-MS

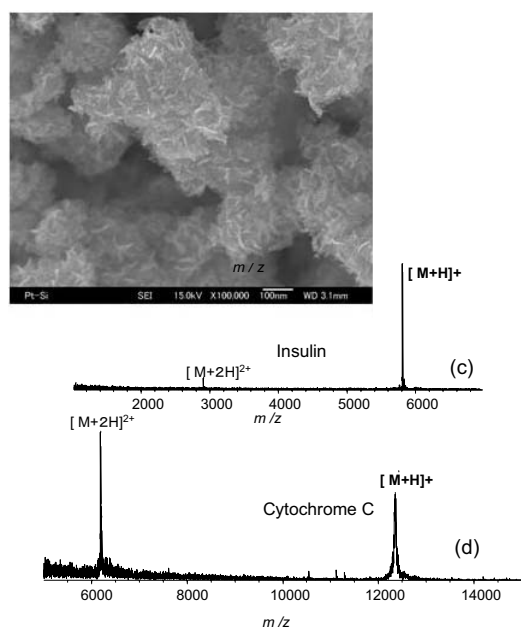


図2 白金ナノフラワーのSEM像とそれを用いたインシュリンとチトクロムCのSALDI-MSスペクトル<sup>9)</sup>。Reprinted with permission from H. Kawasaki, T. Yonezawa, T. Watanabe and R. Arakawa: *J. Phys. Chem. C*, **111** (2007) 16278. Copyright (2007) American Chemical Society.

を行えば、希薄溶液からの物質の高感度検出が可能となる。ナノ粒子によるSALDI-MSはこのような利点も有する。

しかし、一方で、ソフトイオン化能（物質を分解しないで分子量関連イオンとして脱離イオン化させる能力）は、MALDIのほうがSALDIよりも高い場合が多い。それに対し、われわれはGaPナノ粒子を用いることを提案した<sup>10)</sup>。この粒子も表面を清浄なものとするため、ガス中蒸発法で作製した。GaPナノ粒子は可視域に吸収をもつが、赤色のGaPナノ粒子が高いソフトイオン化能を示すことが見いだされた(図3)。今後、さらにソフトイオン化能も高いナノ粒子系SALDI-MSが報告されることが期待される。

レーザー脱離イオン化法による質量分析において、有機マトリックスに代えてさまざまな無機ナノ粒子表面を支援化剤とした表面支援レーザー脱離イオン化法(SALDI)について、最近の進展を紹介した。手近なものではチタニアナノ粒子なども有効であり、低分子量のLDI-MS測定を行ってみようと思われる方はこうした材料を用いた分析を試されてはいかがだろうか。今後、この分野がさらに進展し、薬物・毒物などの簡便な検出法として確立され、人々の安心・安全に寄与できるようになることが強く期待される。

本研究の一部は科学研究費補助金基盤研究(A)(24241041)によって支援された。ここに感謝の意を表す。

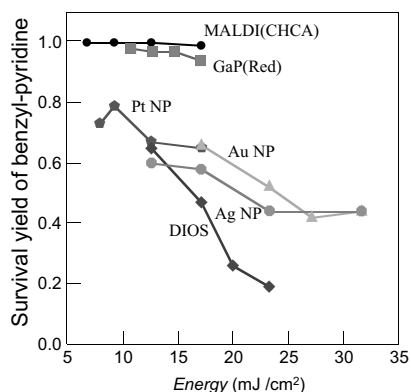


図3 各種ナノ粒子およびDIOS, SALDIとCHCAを用いたMALDIのソフトイオン化率と照射レーザーエネルギーとの関係<sup>10)</sup>。Reproduced from Ref. 10 with permission from The Royal Society of Chemistry.

## 文 献

- 1) M. Karas, D. Bachmann and F. Hillenkamp: "Influence of the wavelength in high-irradiance ultraviolet laser desorption mass spectrometry of organic molecules," *Anal. Chem.*, **57** (1985) 2935-2939.
- 2) M. Karas and F. Hillenkamp: "Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10,000 daltons," *Anal. Chem.*, **60** (1988) 2299-2301.
- 3) R. Aebersold and D. R. Goodlett: "Mass spectrometry in proteomics," *Chem. Rev.*, **101** (2001) 269-296.
- 4) 雲岡義雄: "マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析法による芳香族石油樹脂とクマロン樹脂の分析," *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **56** (2008) 41-48.
- 5) K. Tanaka, H. Waki, Y. Ido, S. Akita, Y. Yoshida and T. Yoshida: "Protein and polymer analyses up to m/z 100 000 by laser ionization time-of-flight mass spectrometry," *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2** (1988) 151-153.
- 6) J. Wei, J. M. Buriak and G. Siuzdak: "Desorption-ionization mass spectrometry on porous silicon," *Nature*, **399** (1999) 243-246.
- 7) T. Seino, H. Sato, A. Yamamoto, A. Nemoto, M. Torimura and H. Tao: "Matrix-free laser desorption/ionization-mass spectrometry using self-assembled germanium nanodots," *Anal. Chem.*, **79** (2007) 4827-4832.
- 8) T. Yonezawa, H. Kawasaki, A. Tarui, T. Watanabe, R. Arakawa, T. Shimada and F. Mafuné: "Detailed investigation on the possibility of nanoparticles of various metal elements for surface-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry," *Anal. Sci.*, **25** (2009) 339-346.
- 9) H. Kawasaki, T. Yonezawa, T. Watanabe and R. Arakawa: "Platinum nanoflowers for surface-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of biomolecules," *J. Phys. Chem. C*, **111** (2007) 16278-16283.
- 10) T. Yonezawa, H. Tsukamoto, S. Hayashi, Y. Myojin, H. Kawasaki and R. Arakawa: "Suitability of GaP nanoparticles as a surface-assisted laser desorption/ionization mass spectroscopy inorganic matrix and their soft ionization ability," *Analyst*, **138** (2013) 995-999.

(2013年8月1日受理)