

現代質量分析学考

松尾武清*

Mass Spectrometry Today

Key words : Mass Spectrometry/Electrospray/Laser Desorption/Cluster

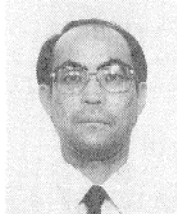
1. はじめに

質量分析法 (MS法と略する) は約100年の歴史を有する伝統ある分析手法であると同時に最新の方法でもある。まずその間の主要なトピックスを振り返ってみる。1860年頃のカナール線の発見により、ダルトンの原子説、アボガドロの分子説が信憑性を増してきた。カナール線の本性の究明が当時の研究者の最大の研究課題であったであろうということは容易に想像ができる。粒子線を電場、磁場で曲げることによって調べる工夫がなされ、トムソンによって電子の、アストンによってほぼすべての原子の質量が決定された。ここにMS法が誕生したのであった。第1期黄金時代である。1940年代になって大型質量分析機器が開発され、各元素の精密質量測定がなされ、現在広く用いられている原子量表の基を築いた。同時に石油化合物の分析法が確立され、MS法の有機化合物の構造解析の基礎も確立したといえる (第2期黄金時代)。1960年代になって、ガス・クロマトグラフィーとの直結がされるようになり、混合物の分離と同定を同時に可能ならしめる手法としてその有用性が広く認められ、多くの研究者が使用するようになった。しかし、大きな壁が存在した。つまり、固体、液体状の試料の分析が出来なかったのである。したがって測定対象試料がガス状

態である、比較的低分子に限られていた。1980年代にその制限がフィールド・ディソープション法 (FD法) 及びファースト・アトム・ボンバードメント法 (FAB法) の誕生によって固体試料の場合は一気に解決した。分析可能な化合物の分子量の上限も1万ダルトンを越え飛躍的に拡大した。第2.5期黄金時代ともいえよう。この時期でもすでにMS法の威力 (有効性) は相当なものであって、その当時に書かれた有力研究者の総説を読めば明らかである。しかし、研究者の新奇な化合物の分子量を決めようとする熱意、貧欲さは相当なものであり、次ぎに解決すべき問題がすでに提唱されていた。つまり、“超高感度化”とさらなる“高質量化”である。(また化合物の分子量決定のみならず、その構造たとえば、タンパク質アミノ酸配列決定等も決めることが要求され実現しているが紙面の都合上省略する。) 別の表現をすると微量の試料を含む液体からの直接イオン化と分子量が数万の生体化合物でも破壊しない超ソフトなイオン化法の出現であった。1990年代になって、この2つの要求が見事に叶えられた。エレクトロ・スプレー法 (ESI法) とマトリックス・アシステッド・レーザー・ディソープション法 (MALD法) の誕生である。この最新のMS技法について、私のグループでの測定を例にとって紹介したい。

2. SIMSおよびFAB法とその応用

このイオン化法は高速に加速したイオンもしくは中性原子を照射し、試料の二次イオンとして引き出すイオン化方法である。すでに完成されたものであるため、詳細の説明は必要ないと



*Takekiyo MATSUO
1943年1月19日生
1968年大阪大学大学院理学研究科
物理学専攻修士
現在、大阪大学理学部物理学科、
教授、理博、物性物理、質量分析
TEL 06-850-5747

生産と技術

おもわれるが、最近私達のグループで水銀にセシウムイオンを照射することにより、クラスター・サイズ n が 1000 にも達する、 (Hg_nCs^+) クラスターを生成し検出することができた。メゾスコピック・パーティクルの構造に関する超殻構造等の新規な知見を得ることができた。図 1 にマスペクトルを示す。

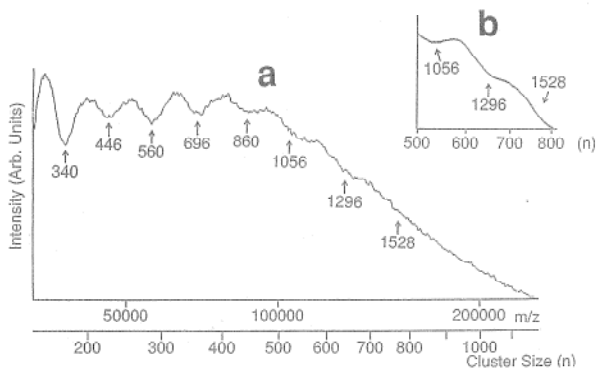


図 1 水銀・セシウム クラスター (Hg_nCs^+) のマスペクトル
図中の数字は安定構造をとる場合の価電子の個数で理論計算値とよい一致を示す。

3. エレクトロ・スプレー法とその応用

このイオン化法の原理は霧吹きである。圧力をかけて液体を大気中に吹き出させるかわりに、大気圧下にある液体試料を真空中に噴霧し、対向電極間に印加した電場の作用で霧滴をイオン化せしめ、イオン源内に吹き込んだ乾燥窒素ガスとの衝突によって溶媒分子を取り除き、目的とする試料のイオンのみを選びだして、質量分析部へ送り込んでいくという手法である。このイオン化法の基礎的報告はすでに 1911 年に行われているが、ターボ・分子ポンプ等の高性能真空機器の完成をまって質量分析法の高性能イオン源として 1980 年代中頃に完成したのである。同法の特徴は (1) 液体試料からの直接イオン化が可能、(2) 分子量が 10 万ダルトン程度の試料のイオン化が可能、とくに (3) 多価イオンとして生成されるので m/z 値が小さくなり、小型装置で大分子量物質の分析が可能である、(4) 製作が容易であり、自作も可能である等である。図 2 に私達の研究室で製作した装置の写真を示す。生体高分子化合物の測定例としてグロ

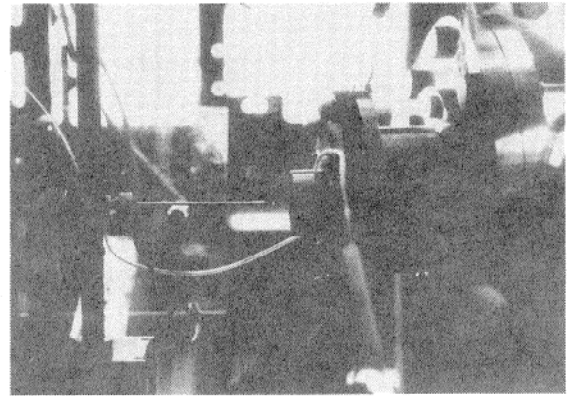


図 2 手作りのエレクトロスプレー・イオン源の写真
注射器の針を大気中に直接設置している様子がわかる。

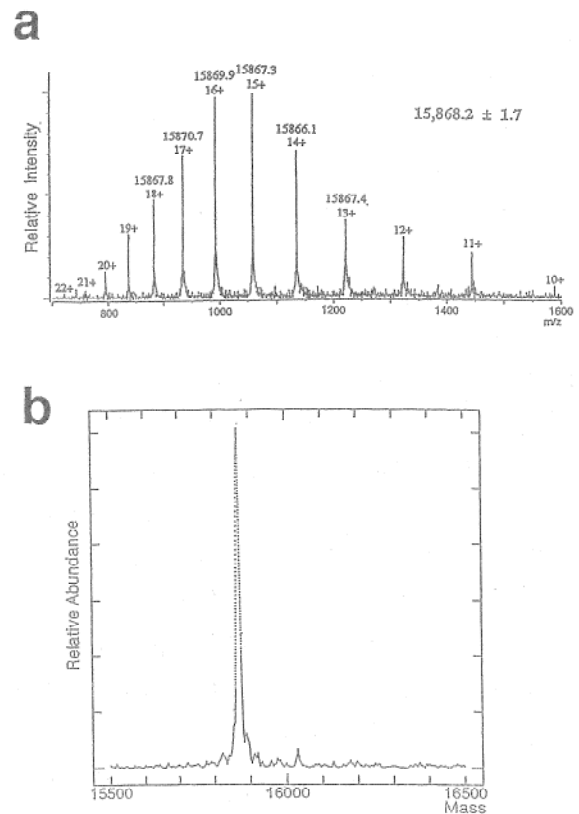


図 3 β -グロビン ($\text{C}_{724}\text{H}_{1119}\text{N}_{195}\text{O}_{201}\text{S}_3$) の ESI マスペクトル
a: 測定した多価イオンスペクトル,
b: 合成して得られたピーク

ビン (ヘモグロビンからヘムをとりのぞいた蛋白質) の ESI マスペクトルを図 3 に示す。

4. マトリックス・アシステッド・レーザー・ディソープション法とその応用

FAB イオン化ではイオンを一次照射粒子と

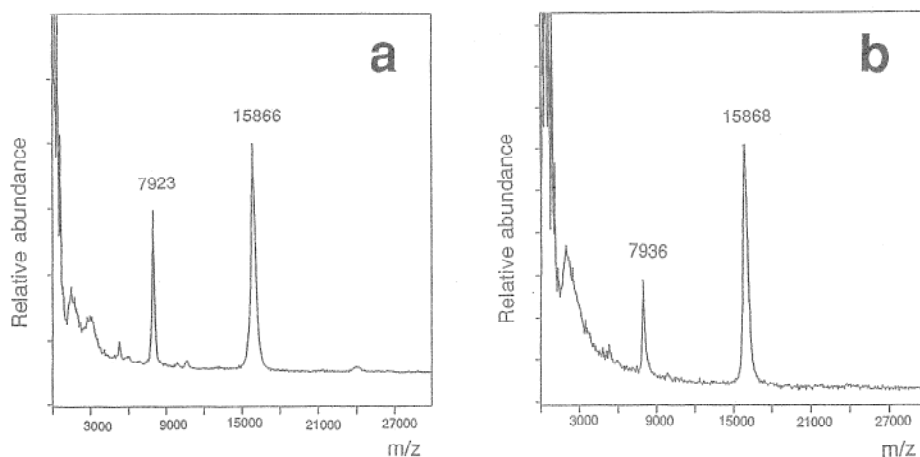


図4 β -グロビン ($C_{724}H_{1119}N_{195}O_{201}S_3$) のレーザー・ディソープション マススペクトル
a: 正イオン, b: 負イオン

したが、それをレーザーとし、マトリックスとしてレーザー波長に吸収レベルをもつ、ニコチン酸を用い、レーザーでこのマトリックスをまずイオン化し、荷電交換で試料をイオン化する方法がマトリックス・アシステッド・レーザー・ディソープション法である。この手法により、分子量が数万から数十万の試料の一価イオンが生成され分子量が決められるようになった。この方法の特徴は検出感度が高いことであり、フェムト・モルレベルの生体高分子の測定が可能である。図4にヘモグロビンのスペクトルを示す。このイオン化法はその操作が従来のイオン源に比べて、非常に簡単なことも、広く使用されていた大きな理由である。ただし、分解能が低いという欠点がある。

5. おわりに

1990年代始めの目標であった、測定の“高感度化”と“高質量化”という目標はかなりの部分が達成されたといえる。その結果、現在のところ、大別して次ぎの二つの分野で種々の化合物の同定・解析にMS法は不可欠な手法となりその応用・適用分野が飛躍的に広がるであろう。まず物理系での物性研究領域である。たとえばカーボン・フラレーンの分析にしても金属クラスターの解析にしてもMS法という言葉はExplicitに表面にはあらわれなくても、取り扱う物理量は質量であり、MS法が基幹分析手段であるといえる。表面分析、同位体比測定に基づ

く地質年代測定等もこのジャンルに属するといえよう。次ぎに、生物学、生化学系の分野においても、その進展には目覚ましいものがある。約10年前に、私達がはじめてグロビンのマススペクトルを取ったころは、トリプシン消化混合物として各フラグメントの質量数をやっと決めることができた。(構造変異タンパク質の構造解析にかかる本質的な情報はこのスペクトルで十分である)。それが今日では、装置の調整用に測定する試料として、インタクトのグロビンのスペクトルがしかもナノからフェムト・モルレベルという超微量な試料量で得られるようになったのである。遺伝子工学が発達した今日において、これですべての生体高分子の構造についての知識が得られるように思われるが、この遺伝子手法のみでは解決されない、新しい課題たとえば翻訳後修飾化合物同定、特に付加している糖鎖構造の解析にはこの新しいMS法が現在のところ唯一適用できる手法である。

最後に“高感度化”と“測定精度”との微妙な関係について二つの考察をする。

(1) 化合物の“分子量”とイオンの“質量”について

分子量とはそれを構成する原子の原子量を加算した量である。原子量は同位体比を考慮した平均値である。従ってこの比が変われば変化する。実際にはこの比を一定なものとしてIUPACが原子量表として公認している。一方イオンの質量は電場、磁場の強さ、あるいは一

定磁場中を回転運動する際のサイクロトロン周波数，あるいは飛行時間等の測定から求められる。その測定精度はどんどん向上してきている。また測定感度もよくなっている。特にエレクトロ・スプレーイオン化法の出現によって多価イオンがつくられるようになって，一個のイオンでもその質量の測定が可能になった。しかしすべての同位体の質量と存在比を測定しない限り分子量は決まらないのである。つまり，一個の分子をイオン化できてその質量が正確に決まるほど，装置が進歩しても，その化合物の分子量は決まらないのである。

(2) 分析の不確定性原理

生体高分子の分子量決定に懸かるもう一つのディレンマについて考えてみよう。

$$\Delta \text{測定試料量} \times \Delta \text{測定誤差} = \text{一定値} / \text{測定感度}$$

この法則を，量子力学のハイゼンベルクの不確定原理になぞらえて，仮に分析の不確定性原理とでも呼ぶことにしよう。測定感度が一定の装置で測定する場合，測定誤差を小さくするた

めには，測定をくり返す必要があり，多量の試料を要することを意味する。つまり微量な試料しかない場合，測定精度に限界があることを意味する。しかし，幸運なことには分析の不確定性原理の場合測定感度はどんどん進歩しており，“一定値/ Δ 測定感度”が小さくなってきている。したがって，より微小量の試料でより高感度な測定が可能になってくるのである。この点がMS法の魅力なのである。

21世紀の質量分析法はいかに進歩しているであろうか，まずは1995年はどうであろうか？

それが問題になるほど，“現代質量分析法”の進展速度が速いのである。

文 献

- 1) T. Matsuo and Y. Seyama, "Biological Mass Spectrometry", John-Wiley & Sons (1994) p.p 3-19.
- 2) 松尾武清, "量子の世界", 大阪大学出版会, (1994), p.p. 175-193.

