生体物質への応用

神原 秀記*・関 節子*

(昭和57年9月17日 受理)

Application to Bio-Organic Compounds

Hideki KAMBARA and Setsuko SEKI

(Central Research Laboratory, Hitachi, Ltd., Kokubunji, Tokyo 185)

(Received September 17, 1982)

1. はじめに

ライフサイエンスなど生物に関連した分野はここ数年、飛躍的に発展してきたが、この分野で対象となる種々の物質の計測に対する期待も一層大きくなってきている。質量分析の分野でも、生物に関連した有機化合物の分子量および分子構造情報をいかに得るたが大きな課題で種々の手法が工夫されている。

ここで対象となる有機物の大部分は熱に弱く難揮発性であるために、従来用いられている電子衝撃イオン化(EI)や化学イオン化(CI)を用いることはできない。そこで加熱気化を必要としない種々のイオン化法が発展してきた。これらの中には電界を用いてイオン化するField Desorption (FD) 法¹⁾、カリフォルニウムの核分裂生成物で薄膜に塗布された試料をはじき出しイオン化するPlasma Desorption (PD) 法²⁾、レーザーを用いて試料をスパッタしイオン化するLaser Desorption (LD) 法³⁾、あるいは、これから述べるMolecular Secondary Ion Mass Spectrometry (SIMS) 法⁴⁻⁹⁾などがある。さらに最近の話題として、SIMS法の変形とも言えるFast Atom Bombardment (FAB) 法¹⁰⁻¹⁵⁾の発展がある。これらはいずれもこれまで質量分析法では測定し得なかった物質の分子量を測る目的で開発されてきたものである。

ここでは、生体関連物質の質量測定がMolecular SIMS法の開発によって可能になってきた過程をはじめとして、その歴史、原理、測定法などについてMolecular SIMSの問題点の把握と解明およびその応用などを中心に述べる。

2. Molecular SIMS の誕生

Molecular SIMS (あるいはorganic SIMS) と呼ばれる手法は5年前から発展してきた手法であるが、その源は、固体の元素分析法として古くから用いられてきたSIMS (あるいはIMA) である。現在SIMSにはいろいろ呼び方がある。照射する一次ビームの密度が高く、測定対象を掘りながら分析するものをdynamic SIMSと呼び、一次ビームの密度を低くして表面の数分子量の情報を得ようとする時はstatic SIMSと呼んでいる。また、測定対象が金属や無機物であったり、目的が元素分析である場合を単にSIMSと呼ぶのに対し、有機化合物の分子イオンを得ることを目的とした場合をMolecular SIMS、あるいはorganic SIMSと呼ぶ。このような測定対象の変化に伴ない実験条件も大きく変化する。Molecular SIMSでは、一次ビーム密度に関する限りstatic SIMSに近い条件の場合も、dynamic SIMSに近い条件の場合もある。測定される試料の導入法には、試料を金属表面に塗布しただけで導入する方法と、グリセロールなどの有機流体マトリックス中に保持して導入する場合とがある。前者をdry surface (Molecular) SIMS、後者をmatrix assisted (Molecular) SIMSと呼ぶ。

試料を有機流体マトリックス中に保持し、イオン衝撃の代りに中性原子衝撃を行う手法を特にFABと呼んでいる。

2.1 表面分析から難揮発性化合物分析へ

Benninghovenらは一次イオン(Ar^+ を使用)を絞ることなく低い電流密度($10^{-9} \sim 10^{-8} \text{A/cm}^2$)で、かつ、低い衝撃エネルギー($1 \sim 3 \text{keV}$)で二次イオンスペクト

* 日立製作所中央研究所(東京都国分寺市東恋ヶ窪1-280)

ルを測定することにより固体表面の情報が得られることを示した。この条件下では一次イオンによる固体のスパッタ速度は遅く、表面単原子層あるいは固体表面に吸着された有機物などの情報が得られる。(static SIMS)

Benninghoven らは金属表面に吸着された有機物の分子イオン種 (MH^+ ; プロトン付加分子) がこの static SIMS により観測できることに着目し、アミノ酸や簡単なペプチドなどの難揮発性化合物の測定を試みた。試料を単分子層状に金属表面に塗布して static SIM (Secondary Ion Mass) スペクトルを測定して MH^+ の観測に成功した。これは難揮発性化合物の新しいイオン化法として注目された。

その後、Cooks らにより、分子イオン種として MH^+ に加えて下地金属 (Cu や Ag) と有機物のクラスター ($M+Cu)^+$ や ($M+Ag)^+$ がスペクトル中に観測されることが見出されるとともに、イオン化プロセスの考察が行われた。

Static SIMS は $10^{-7} \sim 10^{-6}$ Pa 以下の圧力下で、密度の低い一次イオンビームを用いて行われる。従ってスペクトルの記録にはスロースキャン (1 ~ 300 dalton を 10 ~ 30 分かけてスキャン) のもとで感度の得られるペンレコーダーにより、なされていた。また、測定対象も 300 dalton 以下の小さな分子に限られていた。

2.2 Dry surface Molecular SIMS

Static SIMS では表面層の情報を得るため高真空中で測定を行う必要がある。通常の分析に用いている質量分析計の操作圧力は $10^{-4} \sim 10^{-5}$ Pa であり、この圧力下では表面に吸着するガスが問題となり十分な情報が得られない。また、static SIMS では単分子試料層を均一に作るため、金属ホルダー表面を酸によりエッチングするなど手間のかかる操作を必要とした。

そこで筆者らは金属表面に数分子層以上の試料を塗布し、dynamic SIMS に近い条件下で、バックグラウンドを与える吸着分子層をスパッタして除去しながら測定を行うことにより、通常有機物分析に用いている質量分析計 ($10^{-4} \sim 10^{-5}$ Pa で操作) の使用を可能にした。また、金属ホルダー表面を水素炎あるいはアルコール炎中で処理し、試料を均一に塗布できるようにした。これによりこれまで Molecular SIMS では分子イオン種の測定が困難であった糖類についても、その測定を可能にした。一次イオン量の増加は二次イオンの増加をもたらした。またスペクトルの記録も応答の早い U. V. レコーダーを用いて 10 秒以下の短時間で行えるようになった。

このような改良の結果、これまで FD 法などによっても分子イオン種が全く観測されたことのなかった種々の物質について分子イオンを含んだ SIMS スペクトルが

得られるようになった。

Dry surface 下での多種類の生体関連物質の Molecular SIM スペクトル測定を通して、試料によってはイオン照射後数秒の間に二次イオン放出量が極端に減少するものがあることがわかった。この現象は Benninghoven らによっても観測されており¹⁶⁾、イオン照射によって試料分子同士が反応したり、あるいは分解物が表面に堆積した結果であると考えられた。これを除去する方法として、Cooks らは、試料中に NH_4Cl のような塩を多量に入れ試料を相互に分離することを試み¹⁷⁾、一方、筆者らは試料を保持した金属板を $100^\circ \sim 130^\circ C$ に加熱して分解物を熱脱離させる手法を試みた^{8,18)}。

更に最近、Surman らおよび Barber らは試料を流体マトリックス中に保持して試料を相互に分離することを試み非常に成功を納めた¹⁰⁻¹²⁾。

2.3 Matrix assisted molecular SIMS

次の項で述べる、Surman および Barber らによって始められた流体マトリックスを用いる手法は、dry surface 下では測定しにくい大きな質量を持った物質の分子イオン種の観測を可能とし、生体関連物質の質量分析法に画期的な進歩をもたらした。

Matrix assisted molecular SIMS では、1 ~ 2 μg の試料を 1 ~ 2 μl のグリセロールなどと混合して金属板上に塗布し、0.5 ~ 5 $\mu A/cm^2$ のイオンを照射してスペクトルを得る。試料分子は千倍近いグリセロール分子に囲まれており、試料同士が反応するようなことはない。また、試料分子が分解してもグリセロールとともにスパッタされるので二次イオン放出能が低下するようなことはない。matrix の効用は試料分子を相互に分離すること、matrix の流動性を利用して試料を連続的にイオン照射領域に供給できること、二次元的にでなく三次元的に試料を保持し、試料層を高速度で掘りながらスペクトルを測定することにより、強い二次イオン電流を得て測定を容易にしたこと、などである。

有機物マトリックス素材としてはグリセロールが最も

図1 molecular SIMS の原理図

広く用いられているが、対象物によってはトリトンX、テトラゴール、ジエタノールアミン、チオグリセロールなども有効である。

Matrix の使用により強度の大きな分子イオン種が長時間 (10分以上) 得られるようになり、これにより物質の元素組成の解明に有効な高分解能の実験や、分子構造情報を得る上で有効なイオンの衝突解離 (CID; Collision Induced Dissociation) 法の実験が可能となった。

2.4 FAB (Fast Atom Bombardment) Mass Spectrometry

イオン衝撃に代り高速中性原子衝撃を用いる手法は絶縁物分析などに関連して、SIMS (あるいは IMA) でも古くから用いられていた。1981年、Surman らおよび Barber らは流体 matrix 中に難揮発性の試料を保持し、これに高速原子を衝撃して安定で大きな強度の分子イオン種を得た。さらに Barber らはこれまで FD 法でも測定が困難であったいろいろな質量の大きな分子イオンの測定に成功し、1981年~1982年にかけて世界の質量分析界の大きな話題となった。

彼らの成功の原因は、中性原子衝撃によったのではなく、グリセロールのような流体 matrix を利用した点にある。実際、イオン衝撃でも中性原子衝撃でも得られるスペクトルパターンは同じである。

3. Molecular SIMS の原理

図1は Molecular SIMS の原理を示したものである。

Ar^+ などを 5 keV 程度に加速し、ターゲットに当てると Ar^+ は試料を保持したグリセロール層中にもぐり込む。 Ar^+ はその運動エネルギーを主成分であるグリセロール分子に与える。グリセロール分子は一部分解したりしてその場所からはじき出される。はじかれた粒子は、まわりのグリセロール分子と衝突し、これをはじく。このようなくり返しにより入射 Ar^+ の通り道に沿った所から衝突カスケードが生じる。この衝突カスケードは四方八方に広がってゆくが、表面層に到達すると表面近傍のグリセロールはスパッタされて外部にとび出して行く。表面近くに試料分子があるとグリセロール分子といっしょにスパッタされて外へ飛び出して行く。このとき一部が正イオンになったり負イオンになったりして出てゆく。大きな試料分子を壊さずに表面から脱離させるには、できるだけ多くの粒子で同時に下から試料分子を突き上げることが必要である。すなわち1個のイオンが入射したとき、これによりスパッタされる粒子数が多いほど Molecular SIMS には都合が良い。

ターゲットが金属などの場合のスパッタ率は報告されているが、グリセロールなど有機流体のスパッタ率は報

図2 SIMS 装置

告がない。スパッタ率は入射粒子の種類とエネルギーおよび入射角に依存する¹⁹⁾。依存する様子は金属でも有機物でも定性的に同じであると考えられる。そこで銅などの場合に大きなスパッタ率の得られる Xe^+ を一次イオンに用い²⁰⁾、5~10 keV の衝撃エネルギーでターゲット平面と 20° 位の角度で一次ビームを入射させることにより高質量の分子イオン種を大きな強度で得るなど良好な結果が得られている²⁾。

4. 一次イオン源および照射室

Molecular SIMS 用一次イオン源として saddle field 型イオン源、直流放電型イオン源あるいは一般的な電子衝撃型イオン源が用いられる。必要なイオン量は $10^{-8}\text{A} \sim 10^{-6}\text{A}$ で照射面積は 2mm^2 内外である。

イオン照射室は質量分析計の他の測定機能を損うことがないように作られるのが普通である。図2は日立 M-80 SIMS 装置の模式図である。通常の EI および FD スペクトル測定、GC-MS 測定がそのままでき、またイオン源を交換すれば CI スペクトル測定も容易にできる。ターゲットとして FD エミッターホルダーの先端に銀板 ($2\text{mm} \times 8\text{mm}$) を固定したものをを用いている。ターゲットは直接試料導入プローブを用いてイオン化箱内に導入される。ターゲットの位置は、EI スペクトル測定の際にイオンが生成される位置にあたる。

一次イオンは別の EI イオン源で生成され、前方からターゲットを衝撃する。生成した二次イオンはレンズで精密可変スリット上に収束されて質量分析部へと入ってゆく。二次イオンの生成位置が EI オペレーションの場

vitamin B₁₂

図3 Vitamin B₁₂ の SIM スペクトル

合と全く同じであり、同じイオン光学系を利用できるため二次イオンの透過率が高く、高感度が得られる。

Molecular SIMS イオン源の良否は、高感度が得られるか、高い質量分解能が得られるか、壊れやすい物質でも分子イオンが大きな強度で観測されるか、で判断できる。図3は非常に壊れ易いことで代表的な試料である Vitamin B₁₂ のスペクトルの分子イオン領域の U.V. chart である。この分子は中心にコバルトイオンがあり、それに配位している CN 基が脱落しやすい。イオン源が適正でないと m/z 1355 に表われる MH^+ のイオン強度は弱く、 $(MH^+ - CN)$ が強く現れられる。図4は、ペプチド Proctolin (m.w. 648) の高分解能スペクトルである。EI オペレーションの場合とほぼ同様に高分解能が得られる。感度については Rinehalt らの検討があるが FD 法とほぼ同様の感度持ち、1000 dalton 位の分子で約 10 ng が測定下限である。

5. Dry surface および matrix assisted molecular SIMS の比較

前述したように Molecular SIMS の測定条件には dry surface と Matrix assisted の二通りがある。それぞれ長所を持っており、状況により使い分けことが望ましい。表1は両者を比較したものである。

Dry surface 下では多量の一次イオンビームを当てると短時間で試料がスパッタされ、スペクトルが測定できない。表に記した条件下でスペクトルの持続時間は1分内

Proctolin (Arg-Tyr-Leu-Pro-Thr)

図4 Proctolin の高分解能 SIM スペクトル

表1 Dry surface と matrix assisted molecular SIMS の比較

	dry surface	matrix assisted
一次イオン量	$10^{-8} \sim 10^{-7}$ A/cm ²	$10^{-7} \sim 10^{-5}$ A/cm ²
試料量	0.05~2 μ g	0.5~5 μ g
分子イオン種	MH ⁺ , (M+Na) ⁺ , (M+Ag) ⁺	MH ⁺ , (M+Na) ⁺ , (MH ⁺ +グリセロール)
試料間の反応	分子種によってはある	なし
大きな分子の測定	1000 dalton 以上は難しい	3000~5000 dalton まで可
グリセロールとの反応	なし	試料によってはある
バックグラウンド	少ない, 微量試料に適	多い, 微量試料に不適

図5 Streptomycin の SIM スペクトル

外である。一次イオン電流が少ないので、これに応じて二次イオン電流も少なく、多量のイオン電流を必要とする高分解能実験や CID あるいは娘イオンスペクトル測定には適さない。しかし、バックグラウンドが少いため微量の試料の測定に適している。図5は2 ng の Streptomycin を金属表面に塗布して得られた SIM スペクトルと、分子イオン MH⁺ 領域の U.V. chart である。Matrix assisted 下ではグリセロールによるバックグラウンドが大きく、分子イオン種 (MH⁺) の観測に 100倍以上の試料量が必要であった。

Matrix assisted の場合には0.5~5 μ g の試料を1~2 μ l のグリセロールと混合して金属表面に塗布する。スペクトルはグリセロールが存在する限り持続して観測され、10分以上の間、分子イオン種が観測される。グリセロールが消失すると分子イオンも短時間で消失する。しかし、グリセロールを1 μ l 程度ターゲットに塗布してかき混ぜると、分子イオンが再び観測されるようになる。一次イオン量に応じた大きな二次イオン電流が得られるので高分解能や CID の実験に適している。分子イオン種として MH⁺ が観測されるが、これはグリセロー

図 6 Stachyose の SIM スペクトル
a) グリセロールなし b) グリセロールあり

ル分子から H^+ 移動で生成すると考えられる。グリセロールイオンは試料量が $0.5 \mu g$ と少ないときには強く表われるが、試料量を $5 \sim 10 \mu g$ に増加すると著しく減少することから、このような反応の存在が推定される。

両手法は、表 1 に記した違いに加えて、得られるスペクトルパターンが大きく異なる場合があり、相補的な役割を果たしている。図 6 は四糖類であるスタキオースの SIM スペクトルを両条件下で測定したものである。Dry surface 下では $(M+Na)^+$ や $(M+Ag)^+$ は観測されるが MH^+ は観測されなかった。フラグメントとして分子イオン種から単糖 (S) 部の脱落した $(M+Na-S)^+$ や $(M+Ag-S)^+$ が観測されている。これらは $(M+Na)^+$ あるいは $(M+Ag)^+$ が生成してからフラグメントに開裂したものと考えられる。一方、Na や Ag を含まないフラグメント (MH^+ から生成すると考えられる) は単糖以下の小さいものであり、 MH^+ がスペクトル中に観測されないことと併せて考えると、この条件下では MH^+ はイオン生成時にかなり励起されており、小さなフラグメントにまで開裂してしまうと思われる。一方、グリセロール共存下では MH^+ が観測されたが、分子イオン種の観測には dry surface に比べて十倍近い試料が必要であった。 $(M+Na)^+$ とそのフラグメント $(M+N$

$a-S)^+$ のイオン強度比を比較すると、dry surface の場合にはほぼ 1 : 1 であるのに対してグリセロール共存下では $(M+Na)^+$ の強度が遥かに大きくなっている。 MH^+ が観測されることと併せて考えると、グリセロール共存下の方がイオン化および脱離に際して得るイオンの内部エネルギーが小さいことがわかる。

Matrix はペプチドなどの測定に際して威力を発揮する。図 7 はアミノ酸 7 つからなるペプチド Kemptide の SIM スペクトルである。Dry surface 下では分子イオン MH^+ の強度は弱く、スペクトルの持続時間も $10 \sim 20$ 秒と短い。フラグメントには分子構造とは結びつかないものも多い。一方、matrix assisted では同じ一次イオン電流を照射しても十倍近い強度の MH^+ が観測され、フラグメントも良く分子構造を反映するものであった。

更に多くの物質について両条件下でのスペクトルを比較したが、matrix assisted の方がスペクトルの再現性が良く、フラグメントも分子構造と対応のつくものであった。しかし、グリセロールよりも H^+ affinity の小さい物質では全く分子イオン種が現われなかったり、CHO 基を含むような反応性に富む物質ではグリセロールと試料の反応物が観測されたりする難点もあった。

図7 Kemptide の SIM スペクトル a) グリセロールなし, b) グリセロールあり

γ -Cyclodextrin (mw 1296)

図8 γ -Cyclodextrin の SIM スペクトル

m.w. 543

図 9 Phosphoramidon の SIM スペクトル

6. いくつかの物質の SIM スペクトル

これまでに筆者らの研究室だけでも数百種の化合物についてスペクトルが測定され、他の研究室 (FAB を含む) の測定を合わせると数千にのぼる化合物が測定されている。これらの一部は論文あるいはデータ集として入手できるので、ここではいくつかの SIM スペクトルを紹介するに止める。

Cyclodextrin は包接化合物として注目されている物質である。極性が強く不揮発性であることからその分子イオンの観測は非常に困難であった。図 8 は γ -Cyclodextrin のスペクトルで MH^+ , $(M+Na)^+$ およびグリセロール付加イオンが分子イオン領域に観測されている。

糖部分とペプチド部分を持つ抗生物質 Phosphoramidon は分解しやすく、FD 法を用いても分子イオンの観測は困難であった。図 9 は SIM スペクトルで分子イオン種 $(M+Na)^+$ あるいは $(M+2Na-H)^+$ に加えて分子構造を反映したフラグメントが多数観測された。

一般に SIM スペクトル 中には分子構造を反映したフラグメントが多く観測される。これを利用して SIM スペクトルから分子構造を決めることもできる。

Antrimycin は3年前に発見された抗結核菌性の物質である。その分子構造はNMRを用いて決定されたが、その後 Aatrimycin にはいくつかの同族体が存在することが判明した。図10に示すように Antrimycin のSIM スペクトル中には MH^+ に加えて分子構造を反映

した多くのフラグメントが観察された。そこで同族体の SIM スペクトルを測定し、比較することによりそれらの分子構造が決定された²²⁾。

ペプチドのように分子を構造するアミノ酸の種類が限られている物質では SIM スペクトル からアミノ酸配列などを決定することも可能である。多くのペプチドについて SIM スペクトルを測定し、フラグメントイオンの現われ方を調べると、いくつかの決まった結合開裂様式に従っていることがわかった。これをもとにペプチドのアミノ酸組成が分かっている場合にはその配列を決定することができる。図11は Bradykinin の SIM スペクトルでフラグメントからアミノ酸配列がわかる。

7. 娘イオンスペクトルの測定による分子構造情報

SIM スペクトル中には多くのフラグメントが観測される。これらフラグメントの多くは分子構造を良く反映したものであるが、分子構造と結びつかないフラグメントもある。また、試料中に不純物が混入している場合などもあり、フラグメントだけから確実な分子構造情報を得るのは難しい。このような場合、分子イオンから生じるフラグメントだけを抜き出して記録できると都合が良い。この目的を達成するために、種々の方法が開発されている。

SIMS で観測されるフラグメントの生成過程には2通りある。第1は、イオン照射により破壊された試料がイ

Antrimycin (antitubercle)

Secondary Ion Mass Spectrum of AntrimycinA

図10 Antrimycin 同族体の SIM スペクトル

図11 Bradykinin の SIM スペクトルとアミノ酸配列

Chymostatin (M.W. 607)

図12 Chymostatin の a) SIM スペクトル
b) MH⁺ からの娘イオンスペクトル.
c) (MH+G)⁺からの娘イオンスペクトル

オン化されて出てくる場合である。第2は、まず分子イオンが生成するが生成過程で得るエネルギーが大きく、イオン源内に滞在している間、あるいはイオン源を出てイオンコレクターに到達する間（この場合二重収束質量分析計ではスペクトル中にピークとして現われない）に分解してしまう場合である。後者の場合、観測されるフラグメントは分子構造をよく反映していることが多い。分子イオンが開裂する場合、分子イオンが電子的に励起されており、生成直後開裂してフラグメントを与える場合と、電子的に励起されているが励起エネルギーが種々の自由度に分散する過程で弱い結合が切れる場合とがある。後者の場合には、開裂までに数 μ s 以上かかることもある。イオン生成から数 μ s 以上経て開裂するイオンの中には、イオン源を出て加速された後の無電場領域で分解するイオンも存在する。これらのイオンは、元のイオン（親イオンと呼ぶ）と速度が同じであることを利用して、これだけを選別して記録することができる。このように特定のイオン（親イオン）からイオン源外で開裂して生じるフラグメントを娘イオンと呼び、そのスペクトルを娘イオンスペクトルと呼ぶ。娘イオンスペクトルは共存する不純物などに影響を受けないスペクトルパターンとなるので分子構造情報を得るには都合がよい。

図12は生理活性物質 Chymostatin の SIM スペクトルと MH⁺ および m/z 700 のイオンからの娘イオンスペクトルである。SIM スペクトル中には分子イオン領域に MH⁺ に加えて種々のイオンが観測されている。このような場合、フラグメントから信頼できる分子構造情報を得るには娘イオンスペクトルの測定が必要である。MH⁺ からの娘イオンスペクトル中には SIM スペクトル中に現われているイオン種も多く観測されたが、分子構造をよく反映したものになっている。 m/z 700 に観測されるイオン種からの娘イオンは、MH⁺ および MH⁺ からの娘イオンと同種のイオンが観測された。これらから m/z 700 のイオンは、MH⁺ とグリセロールのクラスターであることがわかる。また、図に示したように CHO 末端を含む娘イオン m/z 417, 443 には92 dalton 上にグリセロール付加イオンが観測されたが、 m/z 431, 476 などのように CHO 末端を含まない娘イオンには対応するものが観測されない。このことからグリセロールの付加しやすいのは CHO 部分であることがわかる。

このように MH⁺ あるいは他の分子イオン種から生じる娘イオンを観測することにより豊富な分子構造情報が得られる。娘イオンの測定には大きな強度の分子イオン種を SIM スペクトル中に観測する必要があり、matrix

assisted molecular SIMS が適している。

8. おわりに

生物に関連した物質の分析は今後益々重要に、そして盛んになると思われる。これまでこれらの物質のイオン化に難点があり質量分析法はあまり広範には用いられていなかった。スパッタリングを利用した Molecular SIMS や FAB の開発によりこの難点がかなり解明されたとと言える。今後更に質量の大きい物質や化学的に不安定な物質の分析へ Molecular SIMS の応用が盛んになって行くと考えられる。現在、種々化合物について SIM スペクトルが測定されたデータが集積されつつあって、応用面が先行しており、イオン化機構の解明など現象の基礎的な把握がやや立ち遅れている。しかし、更にこの手法を進展させ、幅広く応用するには基礎過程の解明とその装置へのフィードバックが必要である。

〔文 献〕

- 1) H. R. Schulten: *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.* **32** (1979) 97.
- 2) R. D. Macfarlane and D. F. Torgerson: *Science* **191** (1976) 920.
- 3) D. Zakett, A. E. Schoen and R. G. Cooks: *J. Am. Chem. Soc.* **103** (1981) 1295.
- 4) A. Benninghoven, D. Jaspers and W. Sichtermann: *Appl. Phys.* **11** (1976) 35.
- 5) A. Benninghoven and W. K. Sichtermann: *Anal. Chem.* **50** (1978) 1180.
- 6) H. Grade and R. G. Cooks: *J. Am. Chem. Soc.* **100** (1978) 5615.
- 7) R. J. Day, S. E. Unger and R. G. Cooks: *Anal. Chem.* **52** (1980) 557A.
- 8) H. Kambara and S. Hishida: *Org. Mass Spectrom.* **16** (1981) 167.
- 9) H. Kambara, S. Hishida: *Anal. Chem.* **53** (1981) 2340.
- 10) D. J. Surman and J. C. Vickerman: *J.C.S. Chem. Comm.* (1981) 324.
- 11) M. Barber, R. S. Bordoli, R. D. Sedgwick and A. N. Tyler: *J.C.S. Chem. Comm.* (1981) 325.
- 12) M. Barber, R. S. Bordoli, R. D. Sedgwick and A. N. Tyler: *Org. Mass Spectrom.* **16** (1981) 256.
- 13) M. Barber, R. S. Bordoli, R. D. Sedgwick, A. N. Tyler and E. T. Whalley: *Biomed. Mass Spectrom.* **8** (1981) 337.
- 14) D. H. Williams, C. Bradley, G. Bojesen, S. Santikarn and L. C. E. Taylor: *J. Am. Chem. Soc.* **103** (1981) 5700.
- 15) M. Barber, R. S. Bordoli, R. D. Sedgwick and A. N. Tyler: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **101** (1981) 632.
- 16) A. Benninghoven, D. Jaspers and W. Sichtermann: *Adv. Mass Spectrom.* **7B** (1978) 1433.
- 17) S. E. Unger, R. J. Day and R. G. Cooks: *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.* **39** (1981) 231.
- 18) H. Kambara, S. Hishida and H. Naganawa: *Org. Mass Spectrom.* **17** (1982) 67.
- 19) 染野 檀, 安盛岩雄編: 表面分析 (講談社サイエンティフィック, 1976)
- 20) H. Kambara: *Org. Mass Spectrom.* **17** (1982) 29.
- 21) H. Kambara, K. Mochizuki and S. Hishida: 質量分析. **30** (1982) 169.
- 22) K. Morimoto, N. Shimada, H. Naganawa, T. Takita, H. Umezawa and H. Kambara: *J. Antibiotics* **35** (1982) 378.