ノーベル化学賞に輝いたMALDI研究
～田中 耕一氏の足跡をたどる～

川畑 慎一郎

(株)島津製作所 分析計測事業部 ライフサイエンスビジネスユニット
(〒101-8448 東京都千代田区神田錦町1-3)MALDI Research, The Nobel Prize in Chemistry
～ Achievements of Mr. Koichi TANAKA ~

Shin-ichirou KAWABATA

SHIMADZU Corporation, 1-3 Kanda-nishikicho, Chiyoda-ku, Tokyo 101-8448

(Received December 16, 2002)

1. はじめに

2002年12月10日、スウェーデン王立科学アカデミーは2002年ノーベル化学賞を田中 耕一氏を含む3名に贈った。授賞理由は「生体分子の同定および構造解析のための手法の開発」である。Kurt Wüthrich氏は核磁気共鳴分光法(Nuclear Magnetic Resonance, NMR)により、また田中氏とJohn B. Fenn氏は質量分析法(Mass Spectrometry, MS)によりこの難題に挑み、革新的な成果を挙げたことが評価の対象となった。

本稿では、田中氏の偉業がどのように成し遂げられ、またどのように発展していったかについて概説する。

2. 生体高分子が重視される理由

田中氏の成果は、具体的にどのような点が革新的だったのだろうか。

ノーベル財団*は「タンパク質を詳細に分析できるようになり、生命のプロセスをよりよく理解できるようになった・・・(中略)・・・質量分析は世界中のほぼ全ての化学実験室で用いられている大変に重要な分析法である。以前はかなり小さな分子しか同定することができなかったが、John B. Fenn と田中 耕一は生体高分子の分析をも可能にする方法を開発した」と述べている。すなわち、タンパクのような「生体高分子」を解析する手法として評価されているのである。

生体高分子を解析することについて、ノーベル財団はさらにこう述べている。「今日、研究者はある試料の中にどのような異なったタンパク質が入っているのかを、速

やかに、簡単に明らかにすることができる。また、タンパク質分子が実際どんな格好をしているのか立体構造をきめることができるようになり、その結果、細胞中でのタンパク質の機能を理解することができるようになっている。これらの方法は新薬の開発に革命をもたらした。また、食品検査や乳癌・前立腺癌の早期診断など、他分野での応用の可能性も報告されている」と。これは、昨今「プロテオーム」というキーワードで語られる、生命現象をタンパク質とゲノム(遺伝子)との関連で理解しようとするパラダイムにはかならない。生命現象の解明といった自然科学的好奇心からだけでなく、遺伝子診断・遺伝子治療・テイラーメイド医療などの技術がすでに可能でありこれらが人間社会に及ぼす影響が甚大である点で、極めて重大な関心が持たれているのである。

3. 夜明け前

物質が何らかの物理的あるいは化学的な環境下で帯電して荷電状態になる所謂「イオン化」の現象は、19世紀以前にすでに広く知られていた。陰極線の研究で知られるCrooks, 電子の発見者Thomsonらにより、イオン化現象の理解が進んでいた。

一方、1899年前後に同じくThomson, Dempster, Astonらにより創始された質量分析法は、陰極線管内部の残存気体分子がイオン化して発生した「kanalstrahlen」と呼ばれる正イオン流が、磁場や電場により屈曲する現象の観察から発展した。したがって当初は気体分子すなわち非極性低分子だけが測定対象であった。その後も、多様な試料を質量分析装置に導入するために種々のイオン化法が考案

* Nobel Foundation: <http://www.nobel.se/>

されたが、イオン化可能な分子量の上限はせいぜい数100 Daまでにとどまっていた。

ブレイクスルーは1970年台半ば、Macfarlaneによってもたらされた²⁾。プラズマデソープション (Plasma Desorption, PD) と呼ばれるこの方法では、²⁵²Cfのような放射性物質から生ずる高エネルギー粒子を試料表面に照射することにより、数kDaの生体分子をイオン化することに成功した。

さらに1980年代に入り、高速原子衝撃法 (Fast Atom Bombardment, FAB) が登場した (Barberらによる)。この方法により数kDaのペプチドまでも容易に測定できるようになった。このFABイオン化法は現在でも、二重収束型質量分析計などと組み合わせることにより精密質量の測定 (ミリマス測定) に使用されている。

FABイオン化法を特徴づけるのは、a) 試料を粘性液体と混合しておき、b) その表面に高速原子ビームを照射する、の2点である。粘性液体 (グリセリン Glycerin が頻用され、マトリックス Matrix と称する) は物質移動媒体かつプロトン供与体として作用する。また高エネルギー粒子照射下では、対象物質の温度上昇による熱分解よりも、表面からの対象分子の脱離とそれに引き続き起こるイオン化が反応速度論的に優位となる。この現象を熱的に不安定な物質のイオン化に応用する手法を Energy Sudden 法と総称する。

しかしながら、タンパク質など分子量数万以上の生体高分子は、依然として容易に人を近づけない高峰として残されていた。

4. 暁 光

1982年から1986年にかけて、島津製作所中央研究所では新型質量分析装置の開発に向け、基礎技術の開発が進められていた。吉田 多見男リーダーのもと、5名のチームで取り組んでいた (Table 1)。1983年に入社した田中氏は同期の井戸 豊氏とともに、生体分子のイオン化を課題として多様な試料の測定に没頭していた。

チームは Energy Sudden 法のひとつとしてレーザー光パルス照射に着目し、種々のマトリックス素材を用いて生体分子の検出に挑んでいた。試行錯誤の末、グリセリンにコバルト粉末を混ぜた二元系マトリックスを考案し、この手法でインシュリン (分子量5700) などのタンパク質

までもイオン化できることを示したのである。チームはさらに調製手法やハードウェア全体に改良を加え、1987年～1988年には分子量10万を超えるタンパク質の測定例を含めた社外発表を行った³⁻⁵⁾。これは後にノーベル賞授賞理由の中に引用されることになった。但し、真に革新的な技術開発がなされつつあった1985年当時の成果は、他の開発案件との関係があったため直ちに公表せず、国内特許^{6,7)}として公開した。

5. MALDIイオン化法の実用化から現在へ

先に述べたように、島津製作所のチームは1987年～1988年にグリセリン/コバルト混合マトリックスを用いたタンパク質の測定結果を公表した。それとほとんど時を同じくして、ドイツの Michael Karas, Franz Hillenkamp らのグループは全く別種のマトリックスによりタンパク質のイオン化に成功していた。その成果は1988年に公表⁸⁾され、その後も彼らにより精力的な測定手法開発が続けられ現在に至っている。Karasらの開発したマトリックスは、取り扱いが容易・高質量領域でのイオン化効率が良い、などの点で優れており、MALDI法が広く使われるきっかけとなった。

一方で田中らが開発したグリセリン/コバルト混合マトリックスも、低分子医薬品中間体への適用⁹⁾・測定条件の最適化¹⁰⁾などの試みがなされている。

また、Nonamiらにより標的化合物の種類によらず使用できる汎用マトリックスが開発され¹¹⁾、期待を集めている。

ハードウェアの面では、1990年代半ばにMALDIイオン化を用いた質量分析装置が市販されるようになり、それまで一部のMS研究者の独壇場だったタンパク質の測定が、一般の生化学系のラボでも容易にできるようになった。1990年代後半には、イオンリフレクタの光学系を活用してMS/MS測定を可能にした装置や、質量精度を飛躍的に向上させる遅延引き出し法¹²⁾を搭載した装置が市販されるようになり、分子構造解析のツールとして一層活用されるようになった。

現在、MALDIイオン化法はESIイオン化法と並び、生体分子の解析に必須のツールとして汎用されている。

6. 最後に

ごく最近、田中氏が島津製作所の英国関連会社 (Kratos Analytical および Shimadzu Research Laboratory) と開発した、MS/MS、MS/MS/MSなどのMSⁿ測定が高感度/高精度で行える装置が上市された。田中氏は満を持してその性能を世に問おうとしていた矢先に、ノーベル賞という世界最高の栄誉に浴することとなった。受賞以前の氏の地道な仕事ぶりをつぶさに見てきた著者は、この栄誉で氏の努力が報われたことを慶ぶとともに、今後も何らかの形で社会に貢献していきたいとする氏の姿勢に最大の敬意を表したい。

Table 1 The project team in central research laboratory (1982-1986).

Tamio Yoshida	Leader
Yoshikazu Yoshida	Ion optics
Satoshi Akita	Circuit design
Yutaka Ido	Measuring conditions
Koichi Tanaka	Measuring conditions

参考文献

- 1) J. J. Thomson: *Philosophical Magazine* **48:295** (1899) 547.
- 2) R. D. Macfarlane and D. F. Torgerson: *Science* **191** (1976) 920.
- 3) K. Tanaka, Y. Ido, S. Akita, Y. Yoshida, and T. Yoshida: *Proc. Second Japan-China Joint Symposium on Mass Spectrometry, Osaka* (1987) p.185
- 4) 吉田 多見男, 田中 耕一, 井戸 豊, 秋田 智史, 吉田 佳一: *質量分析* **36** (1988) 59.
- 5) K. Tanaka, H. Waki, Y. Ido, S. Akita, Y. Yoshida, and T. Yoshida: *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2** (1988) 151.
- 6) 日本国特許 JP01731501 (出願: 1985/02).
- 7) 日本国特許 JP01769145 (出願: 1985/08).
- 8) M. Karas and F. Hillenkamp: *Anal. Chem.* **60** (1988) 2299.
- 9) 中村 由美子, 藤本 穂子, 中山 登, 田中 耕一, 川畑 慎一郎: *質量分析連合討論会講演要旨集* (1997) 1-P-20.
- 10) S. Kawabata, A. Bowdler, and K. Tanaka: *The 46th Annual Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Orland, May* (1988) WPE216.
- 11) H. Nonami, Y. Fukuyama, K. Tanaka, and R. Erra-Balsells: *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **12** (1998) 285.
- 12) W. C. Wiley and I. H. MacLaren: *Rev. Sci. Instrum.* **26** (1955) 1150.