生体分子解析用 FT-ICR MS の特色と展望

Characteristics and Perspective of FT-ICR MS Applied to Biomolecular Characterization

内 藤 康 秀*

Yasuhide NAITO

(Received March 1, 1999; Accepted April 12, 1999)

Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry (FT-ICR MS) is considered as one of the best option for biological application fields, where an extreme analytical performance in a very high mass region is increasingly demanded. This paper illustrates the characteristics of FT-ICR MS, involving the advantage and disadvantage, especially in being used for biological mass spectrometry. The contents include the origin of the ultra-high resolving power, the versatility of the ion trapping technique, and the congeniality to the advanced ionization methods for biomolecules.

1. はじめに

目覚しく発展する微量生体試料の構造解析への質量分析の利用は、質量分析に関連した分野での技術革新の主要な原動力になっている。その測定対象はタンパク質や DNA などの巨大分子やそれらの複合体にも及び、高質量電荷比 (m/z) 域での高い質量精度や分解能といった、質量分析に極限的能力を要求するような状況も生じている。その中で従来は過剰とも思える高性能をもつ反面、高いコストや操作面での特殊性などの理由から敬遠されてきたフーリエ変換イオンサイクロトロン共鳴質量分析 (Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry, FT-ICR MS) も、有望な選択肢の一つとして見直されるようになってきた。

また一方で FT-ICR MS は、気相イオン化学の研究に適する多くの優れた特色を備えており、比較的低い分子量の系を対象として、気相イオンの物性と化学反応に関するさまざまな方法論が提案され、おおいに発展してきた経緯がある。そして最近では巨大生体分子の気相イオンを対象にしてイオン分子反応を応用した研究も試みられるようになってきた。

この解説では特に生体分子解析への利用を念頭に置いて、FT-ICR MS の長所だけでなく問題点も忌憚なく指摘して展望を述べたい。

2. FT-ICR MS で高分解能スペクトルが得られる理由

FT-ICR MS は超高分解能の質量分析法として一般に認知されている。果たして生体試料に対しても期待どおりの高分解能が得られるかどうか、生体分子解析への利用を考えたとき FT-ICR MS に向けられる第一の疑問である

う、高分解能が得られる仕組みについての理解を深めるため、まずは FT-ICR MS の原理から説明を始めよう。

磁場を横切るように飛行している荷電粒子にはローレンツ力が中心力として作用するので、遠心力でつりあうように荷電粒子の軌道は湾曲し、その曲率半径は磁場が強いほど小さくなる。このため、非常に強い磁場が均一な磁束密度 B をもって分布している場合では、磁場に対して垂直な面内への運動の射影は等速円運動となる (Fig. 1)。質量 m 、電荷 q のイオンについては、角周波数は $\omega_c = qB/m$ になる。なお、これらの記号は特にことわりのない限り S.I. 単位系で表されているものとする。この等速円運動をサイクロトロン運動といい、 $\nu_c = qB/(2\pi m)$ をサイクロトロン共

Fig. 1. Cyclotron orbital motion of a positive charged particle (mass: m , charge: q) in a uniform magnetic field B . A negative charge may orbit in the opposite sense. The balance between the inward-directed Lorentz magnetic force $F_{in} = q r \omega_c B$ and the centrifugal force $F_{out} = m r \omega_c^2$ gives the expression of the cyclotron resonance frequency; $\omega_c = qB/m$.

* 理化学研究所 (☎351-0198 和光市広沢 2-1)
The Institute of Physical and Chemical Research (RIKEN)
(2-1 Hirosawa, Wako-shi 351-0198, Japan)

鳴周波数と呼ぶ。サイクロロン共鳴周波数と m/z の反比例関係を利用すれば、 m/z の測定を周波数計測によって実現できる。FT-ICR MS の歴史はサイクロロン共鳴周波数の計測にコンピュータとデジタル信号処理技術を活用したことから始まった²⁾。

さて、検出に十分な量のイオンが磁場中に存在しても、それらは熱運動により微小な軌道をランダムな位相で回転しているだけなので、自然の状態ではサイクロロン共鳴周波数を測ることはできない。そこで、十分広い周波数スペクトル分布をもつパルス状交流電場を磁場と直交するように加えると、イオンは各々のサイクロロン共鳴周波数に応じて交流電場の各周波数成分からエネルギーを吸収し、瞬時に加速されて回転半径が増大するとともに、イオン種ごとに位相をそろえて回転し始める。この現象をイオンサイクロロン共鳴と呼び、これを利用した操作を FT-ICR MS では励起 (excitation) と呼ぶ。

励起停止直後も位相の整合性 (コヒーレンス) と大きな回転半径は保たれる。イオン群の存在する空間には、この大きなサイクロロン運動により交流電場が発生する。そこでサイクロロン軌道を閉むように一対の平行平板電極を磁場に対して平行に配置し、回路を通して電極間をつなぐと、回路上に交流電流が誘導される。複数のイオン種が存在する場合には、個々のイオン種に対応する交流成分を波形合成した誘導電流が発生するので、全イオン種に関する情報 (サイクロロン共鳴周波数とその周波数成分の強度) が誘導電流の波形の中に一括して含まれている。FT-ICR MS ではこの誘導電流をイオンの信号として検出し、電圧波形に変換して記録する。このように FT-ICR MS の信号検出は、すべてのイオンに対して同時に行われ (多重性)、また電荷交換によるイオンの中性化を伴わない (非破壊性) といったユニークな性質をもつ。

実際の測定ではイオン群と中性分子の衝突などにより、サイクロロン運動の回転半径やコヒーレンスが損なわれたりイオン量が減少するのに対応して、誘導電流は時間の経過とともに減衰し消滅する。したがって、有限時間長の電圧波形が記録される。これをフーリエ変換するとサイクロロン共鳴周波数のスペクトルを得るが、反比例関係を用いて水平軸を校正すると m/z のスペクトル (マススペクトル) になる。ここでは [周波数スペクトルの分解能] = [マススペクトルの分解能] の関係が成り立っており、さらに重要な帰結として、FT-ICR MS の分解能 R とサイクロロン共鳴周波数 ν_c の比例関係が導かれる。すなわち $R \propto qB/(m\Delta\nu_c)$ となり、磁場が強いほど分解能を向上できる。このため FT-ICR MS では早い時期から超伝導マグネットによる高磁場が利用されてきた。また、分解能はイオンの電荷 q (すなわち価数 z) に比例し、質量 m に反比例する。FT-ICR MS といえども高質量域での高分解能測定は困難であるが、多価イオン化に対しては同種の一価イオンよりも高い分解能が期待できる。フーリエ変換の性質から、周波数スペクトル上のピークの線幅 $\Delta\nu_c$ は記録された電圧波形の長さに反比例する。したがって、FT-ICR MS

Table 1. FT-ICR Mass Resolution $m/\Delta m_{50\%}$

	Low-resolution ($T^* \ll \tau^{**}$)	High-resolution ($T \gg \tau$)
S.I. units	$\frac{0.132qBT}{m}$	$\frac{qB\tau}{2m\sqrt{3}}$
m/z in Th	$\frac{1.274 \times 10^7 zBT}{m}$	$\frac{2.785 \times 10^7 zB\tau}{m}$

* Time-domain ICR signal acquisition period.

** Damping constant of time-domain ICR signal decay.

において高分解能のマススペクトルを得るには、できる限り寿命の長い電圧波形を獲得することが望まれる (Table 1)。そこで信号減衰の第一の要因となるイオン群と中性分子の衝突を抑えるため、装置内を超高真空 ($< 10^{-6}$ Pa) に保つ必要がある。

例として 5.0 T の磁場の装置を用いて m/z 100 のイオンを測定したときの、時定数 $\tau = 1.0$ s で指数関数的に減衰する電圧波形を記録した場合について考える。Table 1 より分解能 $m/\Delta m_{50\%} = 1.4 \times 10^6$ を達成できるが、仮にサイクロロン軌道半径が 1 cm で一定であったとすると、信号を発生している間にこのイオンが飛行する総距離は 4.8×10^4 m にも達し、同じ長さのフライトチューブをもつ飛行時間型質量分析計に置き換えて考えると FT-ICR MS の超高分解能にも納得できる。

FT-ICR MS の分解能を制限する別のタイプの要因として、計測系の能力の問題がある。電圧波形の波高値は一定の間隔 (サンプリング周期) でデジタル化され、時系列データとしてメモリ上に蓄えられる。記録された電圧波形の長さは [サンプリング周期] $\times$ [データ点数] で与えられるが、正しいスペクトルを得るには、サンプリング周期は電圧波形に現れる最も短い周期の 1/2 以下にしなければならない。言い換えると、観測される最も小さい m/z に対応する共鳴周波数が、サンプリング周期の逆数の 1/2 を超えないように設定する。データ点数の上限はメモリの容量やフーリエ変換プログラムの処理速度によって決まるので、実用上これが電圧波形の長さを制限する要因となることもある。ただしデータ点数が限られている場合でも測定しようとしている m/z 範囲が狭ければ、実信号と人工的に発生した正弦波形 (参照信号) との和からうなり成分を抽出し、長いサンプリング周期を適用して記録すれば波形記録時間を延長して測定できる。これをフーリエ変換して得られるスペクトルの水平軸は、参照信号の周波数を基準とした周波数差を表すので、校正すればマススペクトルになる。このようにして高分解能スペクトルを得る方法をヘテロダインモードと呼ぶ。

比較的低い質量域、例えば $^{132}\text{Xe}^+$ では分解能 2×10^8 を達成した測定例がある³⁾。しかし現状では m/z 1,000 を超える生体分子のイオンに対して、日常的な測定で得られる分解能は 10,000 から 100,000 程度である。 m/z 5,000 を超えると分解能の低下はさらに著しい。また多価イオンの測定では分子量 30 kDa を超えるあたりから高分解能測定は非常にむずかしくなる。つまり、大多数のタンパク質分

子に対しては日常測定で高分解能スペクトルを得ることができない。この問題についてはFT-ICR MS とエレクトロスプレーイオン化法 (electrospray ionization, ESI) との相性について述べる節で再び取り上げる。

このような分解能の低下がFT-ICR MS の原理に依存した本質的なものであれば、巨大生体分子の高分解能測定は望めないことになるが、先に述べたように分解能は m/z に反比例するとはいえ、実際はさらに急峻な分解能低下が高 m/z 域で認められている。つまり原理からは明らかに見えてこない理由によって分解能の低下がもたらされているのである。分解能低下の機構に関する正確な知見に基づいた適切な対処により、巨大生体分子の高分解能測定は可能になるはずである。FT-ICR MS の測定における融通性を具現するさまざまな技法については以下で詳しく述べるが、その中には分解能低下の機構に働きかけてこれを解消できる手段もある。

3. イオントラッピングの効用

均一静磁場に対して垂直な面内でのイオンの軌道は中心力によって閉じているが、磁場に対して平行な方向には拘束力が存在しないので、均一静磁場だけではイオンは直ちに飛散してしまい測定にならない。そこで一対の平行平板電極を磁場に対して垂直に配置し、イオンと同じ極性の静電位を与えると、電極間に発生する井戸型静電場（トラッピング電場）の中にイオンを安定に閉じ込めること（トラッピング）ができる。これはペニングトラップの原理であるが、同時にFT-ICR MS の最も重要な技術的要素にもなっている。

FT-ICR MS では1個イオンの場合で測定ごとに通常 $10^3 \sim 10^6$ 個のイオンをトラップするが、それを実現するための電極によって構成した容器はセルと呼ばれ、立方体型や円筒型などさまざまな形状のものが考案されている⁴⁾。例として円筒型セルをFig. 2に示した。セルの中心軸は磁場の方向と一致し、円筒の底面に相当する2枚の電極がトラッピング電極になる。4等分に分割された円筒面に相当する4枚の電極のうち、向かい合う一対を励起のための直線偏向交流電場の発生に用い、残る一対を誘導電流の検出に用いる。

FT-ICR MS ではセル内にトラップしたイオンに対し、励起などのさまざまな操作がパルスシーケンスと呼ばれる一連の制御用パルスに同期して順次行われる。通常は測定を繰り返して信号を積算するので、パルスシーケンスの最後にはトラッピングの電気的極性を反転してセル内の全イオンを排除する操作（クエンチ）があり、パルスシーケンスの先頭から再び始まる新しい測定サイクルに備える。Fig. 3に基本パルスシーケンスとそれに対応するセル内の状態を模式的に示した。MS/MSなどの複雑な実験の場合も同様に、イオンの選別や断片化などの操作が、パルスシーケンスに組み込まれた制御パルスによって時間的に区切られ、セル内部の同一の空間で行われる。このようなFT-ICR MS の特徴は“Tandem-in-time”と呼ばれ、複数

Fig. 2. Schematic drawing of a cylindrical cell, one of the most typical FT-ICR ion-trap.

Fig. 3. Schematic drawing of elemental events (top), excitation waveform and detected signal (middle) and pulse sequence (bottom) for a basic FT-ICR MS experiment. The time course is rightward (i.e., $p_1 \rightarrow p_2 \rightarrow p_3 \rightarrow p_4$).

のMSステージを空間的につないだ“Tandem-in-space”の質量分析法に比べて多段のMSⁿの実現が容易であり、構造解析への応用に大きな特色をもつ。

セルを用いたイオントラッピングは先に述べた信号検出の多重性や非破壊性に直接関係しており、FT-ICR MS に備わる超高分解能などの優れた基本性能の根源にもなっている。またイオントラッピングによって可能になった特殊な技法がFT-ICR MS には数多くある。以下にその中のいくつかについて概観してみよう。

3.1 イオン冷却法による性能改善

ここでいう「イオン冷却」とはイオンの並進運動状態に関しての「冷却」であり、ビーム型装置における減速操作に相当している。ビーム型の装置と違い、トラップ型装置ではイオンの並進運動の方向は一定ではなく、いくつかの運動モードが複雑に入り組んでいるので減速の現象も単純ではない。トラッピングが行われると、まずイオン間のクーロン相互作用がエネルギー交換の律速過程となり、イオンの並進運動エネルギーの分布は急速にマックスウェル分布に近づく。このようなイオン集団に対する減速操作とは、単に並進運動エネルギーの中心値の低減だけでなく、エネルギー分布の熱的変化をももたらすものであるため、イオン冷却と呼ばれるゆえんである。イオン冷却の直接の目的は、並進運動エネルギーの低下、並進運動エネルギー分布の収束、空間的分布の収束、の3点に集約されるが、これらはさまざまな理由でFT-ICR MS の性能改善に関わっている。

まず並進運動エネルギーの低下はトラッピングの安定性に寄与して、検出されるイオン量の増大をもたらす感度や再現性を向上させる。トラッピング開始直後にイオン冷却を行えばその効果は最大になる。例えばイオン化の方法によってはイオンの初期並進運動エネルギーが極めて大きく、トラッピングそのものが困難な場合もあるが、通常よりも深めのトラッピング電場でイオンをキャッチし、すぐにイオン冷却を行えばトラッピングの効率を大幅に改善できる。またセルから離れた場所でイオン化を行う“外部イオン源”の装置では、ある程度イオンを加速して磁場の中心にあるセルの内部に導入するので、トラッピングのためイオン冷却を必要とされるものもある。

並進運動エネルギー分布の収束は次に述べる空間的分布の収束とともに、イオン集団のコヒーレンス（イオン個々の運動とイオン集団の重心の運動との相関）に寄与して感度や分解能を向上させる。励起の作用は前述したように、検出できるくらい大きくてコヒーレントなサイクロトロン軌道運動を得ることであるが、その初期条件である励起直前のトラッピング状態は励起過程の終状態にも反映される。並進運動エネルギー分布の広がり励起期間中のイオンの散逸、放出の原因となって感度を低下させるほか、励起後のコヒーレンスの劣化を招いて感度と分解能の低下をもたらす。このような場合は励起に先立ちイオン冷却を行ってトラッピング状態を整える必要がある。

空間的分布の収束にはコヒーレンスだけでなく、運動モード制御の意味合いも含まれている。FT-ICR セル内のイオンの運動は、サイクロトロン運動、マグネトロン運動、トラッピング振動の三つのモードに分離できるが、この中でマグネトロン運動だけは準安定な運動モードで直接これを冷却できない⁵⁾。マグネトロン運動とはサイクロトロン軌道の中心がさらにセルの中心軸の周りを回転する運動で、磁場と電場の両方に垂直な方向へ荷電粒子がドリフトする作用に基づいているためドリフト運動とも呼ばれる。トラッピング電場はセルの中心軸方向（磁場に対して平行な方向）では井戸型なので、1次元的にはイオンは井戸型電場内を振動（トラッピング振動）し、イオン冷却によって電場の底（セルの中央）に集まる。しかしトラッピング電場をセルの中心軸に対して垂直な断面で見ると、等電位線は Fig. 4b のようになり、中心から放射状に外へ向かう電場成分が存在する。この放射状電場成分と磁場の両方に垂直な方向へのドリフトがマグネトロン運動で、等電位線上の等速運動になる。サイクロトロン回転中心がセルの中心軸上に留まっているときは位置エネルギーが最も高い状態であり、電位の谷を下るのに従いマグネトロン回転半径が増大し、位置エネルギーは下降するが運動エネルギーは上昇する。大抵の場合、位置エネルギーの下降分が運動エネルギーの上昇分より大きいので、エネルギーを損失する過程はマグネトロン回転半径の増大につながり、これが進展するとイオンは励起・検出電極に到達して消滅する。不用意なイオン冷却はときとしてマグネトロン回転半径の増大をもたらすが、生体分子解析にとっては幸いなことに、

Fig. 4. Contour maps of a trapping potential in a cylindrical ion-trap. (a) xy -plane including the central axis (z -axis) of the ion-trap. (b) $z=0$ plane, the middle of the ion-trap. All boundary conditions are set to 0 V, except 5 V on the trapping electrodes.

高質量域ではこの傾向は小さい。また、マグネトロン運動モードが存在することでサイクロトロン共鳴周波数が変調を受けたり、到達可能なサイクロトロン軌道の大きさが制限されるといった弊害も生じるので、感度、分解能、精度、確度、再現性などすべての性能面について迷惑な存在である。マグネトロン回転半径の増大を抑える方策としては、高磁場の利用が最も効果的である。トラッピング電場をできるだけ弱くするのも有効であるが、これはトラッピング電極に与える電圧（トラッピング電圧）をイオンが保たれる範囲内で最小（通常は 1 V 程度）にした設定や、セルの構造を工夫してトラッピング電場の放射状成分を重点的に抑制する処置により達成できる。またトラップするイオンの量を必要以上に多くしないことも重要である。さらにこの後詳しく述べる積極的な対処法として、マグネトロンモードの運動エネルギーをサイクロトロンモードに変換して取り除き、マグネトロン回転半径を縮小させる有効な技法がある。

電場だけによるイオントラッピング（ポルトラップ）では、ヘリウムなどのバッファガスを満たした中にイオンをトラップするだけで、冷却されたイオンは自発的にトラップの中心部に集まるが、FT-ICR MS のイオン冷却ではある程度能動的な操作が必要になる。イオン冷却法には断熱膨張、検出回路の電気抵抗、放射光、レーザー光による誘導放出、バッファガスとの衝突、電子または軽イオンとのクーロン衝突などを利用したさまざまな方法がある。バッファガスにはヘリウムや窒素などの軽い不活性ガスが用いられ、パルスバルブを通してセル内に瞬間的に導入されてから排気されるまでの間、イオンはバッファガスの分

子と衝突を繰り返す。その結果イオンの並進運動エネルギーは熱平衡状態であるボルツマン分布に近づくので、冷却効果が得られる。簡便なイオン冷却法として良く用いられるが、先に述べたマグネトロン回転半径の増大を招くおそれもある。そこで四重極励起 (quadrupolar excitation) と呼ばれる方法によりマグネトロンモードとサイクロトロンモードが交叉する周波数 (実はこれは $\nu_c = qB/(2\pi m)$ になる) でイオンを励起すると、マグネトロンモードの運動エネルギーがサイクロトロンモードに流入して、サイクロトロン回転半径は増大するがマグネトロン回転半径は減少する。これをバッファガスによるイオン冷却と併用すればマグネトロン回転半径の増大を免れるばかりでなく、イオンをセルの中心軸付近に集めることもできる⁶⁾。この操作を後者に重点を置いて QEA (quadrupolar excitation/axialization の略) と呼んでいる。QEA が非常に良くできた場合、すでに検出されている大きなサイクロトロン軌道を周回するイオン集団をセルの中心に戻し、再度励起して検出を繰り返すこと (remeasurement) が高い効率で実現できる。試料を消費することなくデータを獲得し続けることができて、全く夢のような話であるが、現に報告例がいくつもある⁷⁾。しかし日常測定で利用できるほど技術的に確立していないのが現状である。QEA は自動車の運転に例えるならアクセルとブレーキを同時に踏み込むようなもので、実験者の技量に依存した部分が大きい。またバッファガス分子との衝突でイオンの内部エネルギーは上昇するので、かなり安定なイオンでなければ適用できない。高磁場の利用は FT-ICR MS のほとんどすべての性質について有利に作用するが、QEA と remeasurement に関しては例外的に不利である。単位回転半径あたりの運動エネルギーが磁場の強さの自乗に比例して増加し、バッファガスとの衝突によりエネルギーを奪うことが困難になるためである。

3.2 多様なイオン除去法による高選択性の実現

特定の m/z を有するイオンの選別は MS/MS あるいは MSⁿ で必須の操作であるが、FT-ICR MS では不要なイオンをセルから排除することによりこれを行う。基本的には不要なイオンのサイクロトロン運動を過剰に励起し、励起電極または検出電極に衝突させて中性化して除去するが、交流電場の与え方によりいくつかの方法が考案されている。また m/z の近接した複数のイオン種を選別する場合には、測定と同様に分解能が問われる。高磁場の利用は測定における分解能だけでなく、このイオン選別の分解能にとっても有利である。しかもイオンの除去に必要なエネルギーは磁場強度の 2 乗に比例するため、測定時の分解能よりも高い次数で磁場強度に依存すると考えられる⁸⁾。

除去したいイオンの種類は少ないがイオン強度は非常に高いような場合には、イオン種ごとに周波数を固定した交流電場によって励起し、一つずつ除去するのが直接的かつ効果的である。このとき残そうとしているイオンも一緒に励起されないようにする工夫が必要である。単一周波数の正弦波形でも長さが有限であると、その周波数スペクトル

Fig. 5. (a) Time-domain waveform and (b) frequency-domain power spectrum of a fixed frequency excitation in a finite duration T . The power spectrum has a broaden main peak with the width of approximately $1/T$ and a number of small peaks (sidelobes).

は線スペクトルにはならない。波形の始点と終点に含まれる非連続性のため、Fig. 5 に示すようなピークの広がりやサイドローブと呼ばれるピークの裾から延びる振動がスペクトルに現れるので、交流電場の周波数以外の位置でも共鳴を起こすことがある。これを防ぐには、交流電場の波形にサイドローブを抑えるような重み関数 (窓関数) を掛けておくか、残そうとするイオンのサイクロトロン共鳴周波数がサイドローブの谷の位置にくるように励起時間を調節する必要がある^{9), 10)}。

除去したいイオンの種類が多く、広い m/z 範囲にわたって分布している場合は、周波数を掃引した交流電場による励起が現実的である。実際にはデジタルシンセサイザによって発生した掃引波形が多く用いられ、周波数の異なる複数の正弦波を位相が連続するように接続して、ステップ状に周波数を掃引している。単一周波数の場合と同様に、周波数掃引範囲の外で共鳴が起こらないよう注意する必要がある。窓関数の利用や掃引速度の調節といった対策を行うこともある。こうした対策はコンピュータを駆使したデジタル信号処理によりアルゴリズム化、自動化されている¹¹⁾。

デジタル信号処理が可能にしたイオン選別方法の極めつけは、周波数スペクトルから逆フーリエ変換によって励起波形を作製する SWIFT (stored-waveform inverse Fourier transform) の利用である¹²⁾。まず周波数スペクトルをコンピュータ上で設計するが、その際に残すべきイオンの共鳴周波数付近を外すように矩形ピークを配置する。次にこのスペクトルを逆フーリエ変換し、得られた励起波形データをメモリに蓄える。励起の際は励起波形データをメモリから読み出し、アナログ電圧信号に変換して励起電極に印加する。この交流電圧波形のスペクトルは元の周波

数スペクトルとはほぼ合同であり（データの離散性や回路の再現性などの理由から両者は完全には一致しない）、イオン選択性は非常に良好である。励起のスペクトルを構成する“データ点”の周波数軸への射影は等間隔に並んでおり、SWIFT による励起の精度は $([\text{スペクトルの上限}] - [\text{スペクトルの下限}]) / [\text{データ点数}]$ で与えられる。したがって、広い m/z 範囲に分布しているイオンを高分解能で選別するには多くのデータ点が必要で、メモリの容量や逆フーリエ変換できる最大データ点数が問題になる。選別の対象としている m/z 範囲が狭い場合は、測定時と同様にヘテロダイン法を用いれば高分解能を達成できる。SWIFT の長所は残すべきイオンをきめ細かく指定できることで、例えば ESI で生成された価数の異なる複数の多価プロトン化分子を残すような指定もできる。これは広い価数分布をもつタンパク質などでは多価プロトン化分子を無駄なく利用できて効果的である。しかし SWIFT とて万能ではなく、残すべきイオンの共鳴周波数を外すようにスペクトルを設計しても、実際にはこのようなイオンに影響を与えてしまうこともある。計算機による軌道シミュレーションの結果、励起周波数帯の外にあって励起前後で軌道半径が変わらないイオンも、励起期間中に加速と減速を交互に受けて軌道半径は増減していることがわかった¹³⁾。つまり正味の励起パワーはゼロであっても、時間分解すると正のパワーと負のパワーがサイクロトロン運動に注入される期間が現れる。また、交流電場の空間的分布は均一ではないため、イオンが感受する電場のスペクトルが設計したとおりにならないこともある¹⁴⁾。いずれも SWIFT を用いたイオン選別で実用上の分解能を制限する要因になると考えられる。

イオントラッピングを用いるとイオン選別には手間がかかるものの、感度を犠牲にすることなく高分解能でイオンを選別できるなど、その効果は期待できる。4.7 T の装置で非常に注意深くイオン選別を行い、 m/z 79 のイオンで 50,000 以上の分解能を達成した報告例がある⁹⁾。測定時の分解能に比べるとかなり低くなるが、それでも他のタイプのタンデム質量分析計では現実味の薄い値である。

3.3 極めてゆっくりとした低エネルギー衝突活性化

生体分子を対象にした応用では、断片化の効率やパターンが極めて重要になる例が多い。衝突活性化による断片化 (collision-induced dissociation, CID) は最も一般的な断片化の方法であり、加速したイオンをターゲットガス分子に衝突させて壊した際に得られる規則的な断片化のパターンを利用するが、質量分析器の種類に依存した加速のエネルギー領域の違いにより高エネルギー CID (数 keV) と低エネルギー CID (数 10 eV) に分類される。低エネルギー CID では通常、イオンが断片化するのに十分な内部エネルギーを獲得するのに複数回の衝突を要するが、衝突に伴う散乱も小さいため、衝突頻度を最適化すれば高い断片化効率を達成できる。一方、高エネルギー CID では散乱による損失が断片化の効率を著しく制限するが、断片化パターンの再現性に優れ、特に生体分子の構造情報が低エネルギー

Fig. 6. Pulse sequence for a typical SORI-CID MS/MS experiment. The MS/CID block can be repeated for MSⁿ experiments.

CID より豊富に得られる場合が多い。

こうした違いを踏まえた上で、FT-ICR MS における衝突活性化はどちらかというと低エネルギー CID であり、断片化効率は極めて高い。特にトラッピングを活用して持続的にイオンの衝突活性化を行えるのが FT-ICR MS の特徴で、このような衝突活性化方法の代表例が SORI (sustained off-resonance irradiation の略) と呼ばれる操作を用いたものである¹⁵⁾。Fig. 6 は SORI CID 実験の大まかな流れをパルスシーケンスで表現している。ターゲットガスは前駆イオンを選別した後にパルスバルブを通してセル内に導入されるが、CID の後はターゲットガスがセルから排気されて真空度が十分回復するまで待機する。これは真空度の低下によりイオンの選別や測定の分解能が劣化することを防ぐためである。SORI では、活性化の対象となるイオンを交流電場によって加速する点で通常の励起と同様であるが、その際に交流電場の周波数をイオンのサイクロトロン共鳴周波数からわずかにずれた値で固定するのが操作上の違いである。衝突のない場合には、交流電場を与えずにずっとイオンは Fig. 7 のような軌道を描き、セルの縁まで達することなく周期的に運動エネルギーの増減を繰り返す。衝突を含む場合も散乱があまり深刻にならない限りほぼ同様になる。したがって、対象のイオンがすべて断片化するまで延々と交流電場を与えて衝突活性化を続けることができる。ビーム型の装置で行われる低エネルギー CID 実験と違い、イオンの加速が衝突活性化の期間中何度も繰り返されるため、2 回目以降の衝突も最初の衝突と同程度の活性化への寄与が見込まれる。衝突エネルギーはイオンの運動エネルギーの増減とともに変化するが、通常は極めて小さな値であるため断片化に至るまでに相当多くの衝突を必要とする。模式的に表現するなら、SORI による衝突活性化は弱火で時間をかけてイオンを加熱するようなもので、内部エネルギーの上昇は極めてゆっくりとしている。このため断片化パターンの中では最低エ

Fig. 7. Simulated temporal variation of the x , y , and z coordinates of an ion in a SORI event (zero pressure limit). The simulation conditions were: $B=1$ T, $m=132$ u, $q=1$ elementary charge, initial position $(x_0, y_0, z_0)=(0, 0, 0)$, initial velocity $(dx_0/dt, dy_0/dt, dz_0/dt)=(200, 200, 200)$ m/s, cell length 3 cm, cell diameter 3 cm, trapping voltage +15 V, excitation amplitude $10 V_{p-p}$, excitation frequency offset +7.5 kHz, excitation duration 0.4 ms, and simulation time step 5 ns.

エネルギーの解離経路や、転位反応などの単分子過程を経た生成物が一般に優勢である。また共鳴現象を利用してイオンの加速を行っているため、生成物も一緒に加速されることは滅多になく、2次生成物が現れないのもSORIによる衝突活性化の特徴である。

このような仕組みにより、SORIによる衝突活性化では100%近い断片化効率を達成できる反面、単純な断片化パターンしか得られないという難点もある。しかしそれを補ってあまりあるのが多段階の MS^n への適応力である。Fig. 8はC末端カルボキシル基を ^{18}O で標識したブラジキニン $[M+H]^+$ (m/z 1064)の MS^n 実験の例である¹⁶⁾。 MS^2 の生成物スペクトルでは、最低エネルギーの解離経路と思われる脱アンモニア $[M+H-NH_3]^+$ (m/z 1047)が顕著に現れたが、ブラジキニンのアミノ酸配列情報を与える断片化イオンはあまり得られず、脱アンモニアの箇所を推定できるようなピークも見られない(Fig. 8a)。そこで $[M+H-NH_3]^+$ を前駆イオンとして残し、他のイオンをすべてセルから除去して衝突活性化により MS^3 の生成物スペクトルを求めると、ほぼ100%の効率で m/z 889のピークを得た(Fig. 8b)。これはC末端カルボキシル基の ^{18}OH がC末端側から二つめの残基に転位する過程を経てC末端残基(アルギニン)が外れる反応(C末端転位反応)の生成物で、 $[M+H-NH_3-Arg^9]^+$ のように記述できるが、プロトン化ペプチド分子の低エネルギーCIDで得られる通常のN末端側イオン(Biemannの表記法に従うと $[b_1+H]^+$)と異なり、元のプロトン化分子と同様のC末端カルボキシル基をもっている。このイオンについてさらに衝突活性化を行い MS^4 の生成物スペクトルを求めると、今度はアミノ酸配列を反映した有益な断片化イオンが数多く得られ、脱アンモニアの箇所もN末端残基と推定できた(Fig. 8c)。 MS^n の段数を増やすことで取得できる情報量は大幅に向上するが、装置本来の質量分解能や感度を犠牲にする

Fig. 8. SORI-CID MS^n of $[^{18}O_2]$ -bradykinin. (a) MS^2 product spectrum of $[M+H]^+$. (b) MS^3 product spectrum of $[M+H-NH_3]^+$ which was derived by the first stage SORI-CID. (c) MS^4 product spectrum of $[M+H-NH_3-Arg^9]^+$ which was derived by the second stage SORI-CID. m/z 486 is attributable to be isomeric $[Pro-Pro-Gly-Phe-Ser]^+$ and $[Pro-Gly-Phe-Ser-Pro]^+$, also m/z 389 could be both $[Pro-Gly-Phe-Ser]^+$ and $[Gly-Phe-Ser-Pro]^+$. Presumable second generation C-terminal rearrangement products $[M+H-NH_3-Arg^9-Phe^8]^+$ (m/z 740 and m/z 742) are marked by asterisk. Argon was used as the collision target. The experiment was carried out using 9.4 T ESI-FT-ICR instrument in the National High Magnetic Field Laboratory (NHMFL) in Tallahassee, FL.

ことなくこれを達成できるのは、“Tandem-in-time”であるFT-ICR MSの長所といえる。

3.4 衝突によらない活性化法のあれこれ

FT-ICR MSにおけるトラッピングの効用として、衝突活性化以外にもさまざまな活性化方法が考案されている。赤外多光子吸収による断片化(infrared radiative multiphoton dissociation, IRMPD)はCIDに似た断片化パターンを与えるが、イオンに赤外ビームを照射する際にトラッピングは都合がよく、赤外レーザーと簡単な光学系で比較的容易に実現できる¹⁷⁾。CIDと違って衝突ガスの排気期間を必要としないので、より高速に MS^n 生成物スペクトルを得ることができる。LCなどの分離装置とオンライン接続するような測定のスPEEDが重視されるアプリケーションでは、IRMPDはCIDよりも適している。またIRMPDでは生成物も一緒に活性化されるので2次以上の断片化生成物が現れやすく、場合によってはCIDよりも多くの構造情報が得られる。

IRMPDと同様に赤外多光子吸収による活性化であるが、 CO_2 レーザーなどの光源を必要としない方法として黒体輻射を利用した断片化(blackbody infrared radiative

dissociation, BIRD) がある¹⁸⁾。BIRD 実験ではセルをとりまく真空容器全体をヒーターで加熱し、温度上昇により黒体輻射モードが発生した中でイオンを長時間トラップして、黒体輻射の赤外光子をイオンに吸収させる。超高真空中でイオントラッピングを行う FT-ICR MS ならではの活性化方法といえる。活性化速度は SORI CID と比べても際立って遅いが、イオンを全く損失することなく 100% の断片化効率を達成できて、タンパク質などの巨大生体分子でもある程度の配列情報を与えるような断片化パターンが得られることは驚嘆に値する。実験時間が長すぎるので通常の構造解析には不向きであるが、気相イオンの熱化学的性質を示すデータが明快に得られることから、基礎分野で有力な研究手段として注目されている。

多価プロトン化分子の場合に限定されるが、低エネルギー CID などとは全く異なる断片化パターンを与える方法として、電子捕獲反応を経由した断片化 (electron capture dissociation, ECD) が最近登場している¹⁹⁾。トラップされている多価プロトン化分子は熱電子に対して相当大きな電子捕獲断面積をもつと考えられる。大抵の場合、セルには EI 用の電子銃が備わっているので、ある程度の加速電圧が与えられた電子であれば標準の装置構成でもセル内に入射できる。この電子を捕獲した多価プロトン化分子 $[M+nH]^{(n+1)+}$ は高電子励起状態にあり、その緩和過程で内部エネルギーの一部が振動モードに分配される結果、低エネルギー CID では起こらないような開裂が可能になる。この方法をタンパク質の多価プロトン化分子に用いて c タイプや z タイプの断片化イオン (注: Biemann 表記を適用) が得られた例がある。EI 用の電子銃では電子捕獲に適した十分低いエネルギーの電子を得るのがむずかしく、また脱プロトンなどの断片化以外の緩和過程との競合もあるので、現状では ECD の効率はかなり低い。しかし電子銃の改良や正負の荷電粒子を同時にトラップできるセルの開発などにより、明快な構造情報が豊富に得られる断片化方法としての実用化が期待されている。

3.5 気相イオン分子反応の反応容器として

イオン分子反応の研究は質量分析の長年にわたるテーマであり、質量分析法を発展させてきた主要な原動力の一つといえる。FT-ICR MS の発明自体も、その前身である ICR MS を用いたイオン分子反応の研究における技術革新の流れが背景にあり、当初から FT-ICR MS の最も適切な用途としてイオン分子反応への応用は高い関心を集めていた。そしてこれまでに多くの実験が、主として比較的低分子量の有機化合物や金属錯体の系を対象にして行われ、多大な成果をあげている²⁰⁾。

FT-ICR MS でイオン分子反応を調べるとき、セルが反応容器となる。その働きは化学イオン化のイオン源に似ているが、イオン選別法により反応を整理できる。つまり複数存在する 1 次イオンの中から興味のあるイオン種だけセルに残した後、反応イベントを始めることができる。また特定の反応経路の中間生成物イオンを推定できる場合は、反応イベントの期間中そのイオンを持続的に除去すれ

ば反応経路も整理できる²¹⁾。反応させるガスはパルスバルブを用いて瞬時に導入するか、またはリークバルブを介して定常的に導入する。反応速度定数を求める場合などは、圧力を一定にできる後者の方法が望ましいものの、イオンをトラップしている間は常に反応が進行するので反応制御は困難になる。中心に細孔を穿った圧力隔壁で仕切られた二つのトラッピング領域をもつセル (デュアルセル) を備えた装置では、片方のトラッピング領域を一定の圧力が保たれるように反応ガスで満たし、反応専用の領域とすることも可能である²²⁾。その場合、圧力隔壁の細孔を通してイオンの移動を行うパルスシーケンスにより反応制御が実現できるので、イオン分子反応研究にはいっそう適した装置構成といえる。

FT-ICR MS によるイオン分子反応研究にも問題点はある。まず測定タイムスケールが長いので、高速反応を捉えることができない。これに伴い、生成物スペクトルでは高次反応の生成物が優勢になる傾向がある。またセル内の圧力をあまり上げられないので、生成物の高い内部エネルギーを緩和させるのがむずかしく、高真空中でも安定な生成物イオンしか検出できない。後者の問題に関しては、セルのトラッピングモードを一時的にポールトラップの動作モード (RF-only mode) にし、比較的高い圧力 (0.1 Pa 程度) のバッファガスを導入して準安定な生成物イオンを緩和させる方法が提案されている²³⁾。

生体分子解析にイオン分子反応を応用した代表例として、気相 H/D 交換反応²⁴⁾とプロトン引き抜き反応²⁵⁾が挙げられる。どちらもプロトン化分子の気相中での立体構造を調べる有望な手段であり、長時間にわたり安定したトラッピングを行える FT-ICR MS の特色をいかに発揮している。

4. ESI や MALDI との相性

あらゆるタイプの質量分析計は高 m/z 域での性能低下を免れることができず、測定可能な m/z には上限がある。非常に高い分子量の試料から多価イオンを生成し、取り扱いやすい m/z の範囲内にできる ESI の登場は、多くの質量分析法に新たな可能性をもたらした。とりわけ測定範囲の制約が厳しい四重極 MS はその恩恵を最も受けたといえる。動作真空度が比較的低いので、真空装置に向けて噴霧する荒っぽい仕組みのイオン源をつなぎやすかったことも、四重極 MS と ESI の相性の良さを高めている。

高 m/z 域での性能低下は FT-ICR MS も例外ではなく、最良の結果は m/z 3,000 程度までの測定範囲で得られているので、ESI の導入は望むところであった。しかし FT-ICR MS では信号検出のために超高真空が必要であり、大気圧に近い条件下で生成されるイオンを超高真空中に保たれたセル内にどうやって導くかが、ESI を FT-ICR MS につなぐ際の大きな課題になった。イオン源をセルと同じ軸上にマグネットから離して設置し、両者を結びイオンガイドを通してセル内にイオンを導入する装置構成は ESI の接続を可能にした²⁶⁾。その後はこのような外部イオ

ン源をもつ構成がFT-ICR MSの主流となり、現在では市販されているFT-ICR MSの装置は大抵、ESIを標準のイオン源として備えている。

イオンガイドの役割は重要で、さまざまな形態が発案されているが、基本的には圧力隔壁で仕切られた複数段の差動排気ステージと、周辺磁場によるミラー効果を避けながらイオンを磁場中心に導くためのイオン光学系で構成されている。イオン光学系は大きく分けて静電光学系方式^{27), 28)}とRF多重極方式²⁹⁾とがある。筆者の限られた経験からいえば、制御に必要なパラメータが少なく、イオン源の動作状況に影響されにくいRF多重極方式の方が取り扱いが容易である。しかしマグネットに対する位置や幾何学的形状、対称性などの高い精度をRF多重極に要求する。また、RF多重極がマスフィルタとして作用し装置の m/z 範囲に制限が加わることがある。静電光学系方式は制御パラメータの調整がむずかしく、装置の能力を有効に発揮するためには熟練を要するが、イオンガイドによって m/z 範囲などに制限が加わることはない。

ESIは連続モードで動作するイオン源で恒常的にイオンが生成されるのに対し、FT-ICR MSはパルスモードで動作しパルスシーケンスに沿って実験が行われる。つまり励起などの操作の前にイオンのトラッピングは完結しなければならず、それ以降は次のパルスシーケンスが始まるまでの間、生成され続けているイオンを導入することができない。イオンをセルに導入する際は、イオン源側のトラッピング電圧を下げて電気的なゲートを開ける。その時間が長すぎると一度導入したイオンが再びゲートを通してセルの外に漏洩するので、トラッピングの効率が最大になるようにゲート時間を調節する。できれば瞬間的に、なるべく多くのイオンを導入したい。そこで外部ESIで生成したイオンは直ちにセルに送り込まれるのではなく、イオンガイドの中である程度の量まで蓄えられてから短いゲート時間でセルに導入される。このやり方は非常に有益な副作用をもたらした。イオンガイドで蓄えられる間に気体分子との衝突によりイオンの運動は緩和するので、軸上に鋭くコリメートされたイオン束が得られる。いわばセル内でのイオン冷却と同じ作用がより効果的に実現できる。この効果を積極的に利用した2段RF八重極イオンガイドにより、感度や分解能を大幅に向上した事例が報告されている³⁰⁾。また、セル内で進行するFT-ICR MSの実験イベントと独立に、イオンガイドでのため込みを恒常的に行うこともできる。その場合イオン化のデューティーサイクルはパルスモードのFT-ICR MSでも損なわれることがなく、ESIが生成するイオンを無駄なく利用できる。

価数の極めて高い多価プロトン化分子の測定がESI-FT-ICR MSで実現してから、空間電荷効果の弊害があらためてクローズアップされるようになった。過剰な空間電荷によるクーロン相互作用の影響は、共鳴周波数の変調によるピークのシフト、正常な励起を妨げられることによるピーク強度のサプレッション、サイクロトロン運動のコヒーレンスが急速に失われることによるピーク幅の拡大、異種イ

Fig. 9. ESI-FT-ICR MS spectra of (a) ubiquitin (MW 8,566 Da) and (b) bovine serum albumin (BSA, MW 66,430 Da), obtained by a commercial available 4.7 T Bruker FT-ICR mass spectrometer (BioAPEX 4.7). The ESI solutions of ubiquitin (10 pmol/ μ L) and BSA (1 pmol/ μ L) in H_2O /methanol/acetic acid (45:50:5) were injected at the rate of 30 μ L/h. No assist gas was used. (a) Resolving power of 118,000 was achieved, and ^{13}C -contents of $[M+12H]^{12+}$ were perfectly resolved (see inset). (b) Resolution became quite poor due to severe space-charge effects.

オンの協同運動（フェーズロック）によるピークの合体など多岐に及ぶ³¹⁾。炭素原子をたくさん含む巨大生体分子から生成した多価プロトン化分子のマススペクトルでは、まず価数によっていくつかのピークが現れ、各々のピークは ^{13}C の含有数に従ってさらに細かい多くのピークに分かれるため、低質量のイオンを測定する場合に比べると、より大量のイオンを測定しなければ同程度のS/N比を得ることができない。その極端な場合には、空間電荷効果が分解能の限界を決定する主要因となるので、高分解能測定は非常に困難である³²⁾。一例として、4.7 Tの装置によって得られたユビキチンとウシ血清アルブミンのESI-FT-ICR マススペクトルを示した (Fig. 9)。後者の m/z の領域は前者のそれに比べて2~3倍程度に留まるにもかかわらず、高い価数による大きな空間電荷効果のため分解能は著しく低下している。

マトリックス支援レーザーイオン化法 (matrix-assisted laser desorption/ionization, MALDI) と相性が良い質量分析法として真っ先に思い浮かぶのは、飛行時間型質量分析 (time-of-flight mass spectrometry, TOF MS) である。MALDI-TOF MS は今や微量生体試料の分析には欠かせなくなった感もあるが、MALDI とのコンビネーションがこれだけ成功した背景には、両者ともパルスで制御され、高真空で動作すること、また TOF MS は生成したすべてのイオンを検出し、 m/z の上限が極めて高いことがある。同じことはFT-ICR MSにも大体当てはまるので、

MALDI と FT-ICR MS の相性も悪くないように思える。

実際、MALDI の前身であるレーザー脱離イオン化 (laser desorption, LD) は早くから FT-ICR MS に導入されている³³⁾。しかし MALDI-FT-ICR MS には課題も多い。まず MALDI で生成したイオンの大きな並進運動エネルギーが問題になる。これは MALDI-FT-ICR MS での分解能低下の主要因と考えられており、対策として効果的なイオン冷却法が求められている。MALDI-TOF MS も同様の事情に苦慮していたため、イオン源からの遅延引出し技術 (delayed extraction) が開発されている。TOF MS に比べると FT-ICR MS は加速電圧が低く、イオンの並進運動エネルギーの影響は相対的に大きくなるので、イオン源からの引出し効率はあまり高くできない。

MALDI-FT-ICR マススペクトルではメタステーブル分解が優勢になる傾向があり、場合によっては MALDI-TOF MS では観測されていないような断片化イオンが現れたり、プロトン化分子が全く見られない奇妙なスペクトルが得られることもある (Fig. 10a)。これは FT-ICR MS の測定タイムスケールが TOF MS に比べてけた違いに長く、短寿命のイオン種は検出できない一方で、メタステーブル状態にあるイオンにとっては十分な分解時間が用意されているためである。より多くの構造情報が得られることもあるので一概に問題視できないが、マトリックスの検討以外に有効な対策がないのも事実である。

悪い点ばかり強調しすぎたが、MALDI-FT-ICR MS のもつ可能性にも目を向けたい。ESI と違って高真空中にイ

オン源を置けるので、適切なイオン冷却法を行えばセルの内部でイオンを生成し測定することも原理的には可能である³⁴⁾。また MALDI の性質からいって remeasurement による改善の効果は絶大で、超微量生体試料に対する高分解能質量分析の期待を抱かせる。

FT-ICR MS のイオン源として ESI と MALDI ではどちらが適しているか? の問いには容易に答えられない。また両方とも使えることも FT-ICR MS の特色といえる。あえて現状を述べれば、高磁場を利用した装置の能力を十分活かす (あるいは問題点をうまく補う) 点で ESI-FT-ICR MS が若干上回るようである。これはあくまで設計のコンセプトや製品の完成度の問題であって本質的な優劣ではなく、また用途に合わせてイオン源を選ぶのが本筋であろう。しかし装置開発の動向を見る限り明らかに ESI-FT-ICR MS に力点が置かれており、この状況は当分覆りそうもない。

5. おわりに

特に対象を生体分子解析に絞って FT-ICR MS が現在直面している課題をまとめると、ESI-FT-ICR MS に関しては、多価プロトン化分子を測定する際の空間電荷効果の解決、LC-ESI-FT-ICR MS に向けた測定の高速化、構造情報量を増大する断片化法の実現、また MALDI-FT-ICR MS に関しては、イオン源からの引出し効率の向上、効果的なイオン冷却、メタステーブル分解の抑制、remeasurement 技術の確立などが挙げられる。ESI-FT-ICR MS はマグネットの高磁場化が性能改善の道筋を与えられ、国際的な趨勢も実際そのように推移している。高磁場の使用により空間電荷効果を相対的に薄めることができるが、より根本的な解決を目指して、クーロン相互作用が引き起こす現象を理解する努力は今後も続けるべきであろう。高磁場はまた衝突活性化の際に利用できる衝突エネルギー域の拡大をもたらすので、FT-ICR MS による高エネルギー CID の実現も目標となりうる。しかし LC-ESI-FT-ICR MS で用いる断片化法としては IRMPD がより適しており、技術的な目途も大体ついている。MALDI-FT-ICR MS でも高磁場化のメリットは多いが、いずれにせよ MALDI-TOF MS に比べると質量上限は低く適用の範囲は限られる。FT-ICR MS の特色を十分に活かすには、remeasurement の標準的利用を前提にした比較的低い磁場の装置も、MALDI-FT-ICR MS 開発の方向性としてありうるのではないだろうか。

FT-ICR MS を気相イオン化学研究に用いる際の方法論は、対象が生体分子であってもほとんどそのまま適用できる。理論計算が与える結果と直接比較できるような、気相中での生体分子の高次構造に関するデータを取得できる実験手段として、FT-ICR MS はユニークな役割を果たしている。イオン分子反応をプローブとして具体的な生物学的興味に結びつく研究を行う素地もできつつあり、今後さらにエキサイティングな領域に発展しそうな気配を漂わせている。

Fig. 10. MALDI-FT-ICR negative-mode MS spectra of ganglioside GD1b ($M_1=1,866$ Da and $M_2=1,838$ Da), obtained by a BioAPEX 4.7 FT-ICR mass spectrometer. 2,5-Dihydroxybenzoic acid (DHB) was used as matrix. (a) Normal measurement. No $[M-H]^-$ peaks were observed. (b) Accumulating 32 laser shots without quench. Heavier species may be more effectively cooled than lighter ones, then, can be remeasured with a higher efficiency. Hence the heaviest ions m/z 1,847 and m/z 1,819 (presumably $[M-H-H_2O]^-$) appeared to be the base peaks.

謝 辞 ^{18}O 標識したブラジキニンの MS^c 実験は S. J. Gaskell 教授 (UMIST) の指導の下, A. G. Marshall 教授との共同研究の一環として米国高磁場研究所の FT-ICR 共同利用施設で行われ, 実験遂行にあたっては T. Solouki 博士と C. L. Hendrickson 博士のご助力をいただきました。また MALDI-FT-ICR MS の実験に用いた糖脂質サンプル (GD1b) は, 東京都老人総合研究所の脇 初枝博士からご提供いただきました。関係各位に深く感謝の意を表します。

参考文献

- 1) a) A. G. Marshall, C. L. Hendrickson, and G. S. Jackson, *Mass Spectrom. Rev.*, **17**, 1 (1998). b) 内藤康秀・井上雅夫, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **42**, 291 (1994).
- 2) M. B. Comisarow and A. G. Marshall, *Chem. Phys. Lett.*, **25**, 282 (1974).
- 3) M. Knobel and K.-P. Wanczek, Proceedings of the 14th International Mass Spectrometry Conference, Tampere, Finland, 25-29 August 1997, B02-5200.
- 4) S. Guan and A. G. Marshall, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, **146/147**, 261 (1995).
- 5) L. S. Brown and G. Gabrielse, *Rev. Mod. Phys.*, **58**, 233 (1986).
- 6) S. Guan, H. S. Kim, A. G. Marshall, M. C. Wahl, T. D. Wood, and X. Xiang, *Chem. Rev.*, **8**, 2161 (1994).
- 7) For examples see a) J. P. Speir, G. S. Gorman, C. C. Pitsenberger, C. A. Turner, P. P. Wang, and I. J. Amster, *Anal. Chem.*, **65**, 1746 (1993). b) T. Solouki, L. Pasatolic, G. S. Jackson, S. Guan, and A. G. Marshall, *Anal. Chem.*, **68**, 3718 (1996).
- 8) A. G. Marshall and S. Guan, *Rapid Commun., Mass Spectrom.*, **10**, 1819 (1996).
- 9) A. J. R. Heck, L. J. de Koning, F. A. Pinkse, and N. M. M. Nibbering, *Rapid Commun., Mass Spectrom.*, **5**, 406 (1991).
- 10) S. Haebel and T. Gäumann, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, **144**, 139 (1995).
- 11) L. J. de Koning, N. M. M. Nibbering, S. L. van Orden, and F. H. Laukien, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, **165/166**, 209 (1997).
- 12) a) A. G. Marshall, T.-C. L. Wang, and T. L. Ricca, *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, 7893 (1985). b) S. Guan and A. G. Marshall, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, **157/158**, 5 (1996).
- 13) B. A. Hearn, C. H. Watson, G. Baykut, and J. R. Eyler, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, **95**, 299 (1990).
- 14) Y. Naito and M. Inoue, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **11**, 578 (1997).
- 15) J. W. Gauthier, T. R. Trautman, and D. B. Jacobson, *Anal. Chim. Acta*, **246**, 211 (1991).
- 16) Y. Naito, S. J. Gaskell, T. Solouki, C. L. Hendrickson, and A. G. Marshall, Proceedings of the 45th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Palm Springs, California, 1-5 June 1997, p. 1325.
- 17) D. P. Little, J. P. Speir, M. W. Senko, P. B. O'Connor, and F. W. McLafferty, *Anal. Chem.*, **66**, 2809 (1994).
- 18) W. D. Price, P. D. Schnier, and E. R. Williams, *Anal. Chem.*, **68**, 859 (1996).
- 19) R. A. Zubarev, N. L. Kelleher, and F. W. McLafferty, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 3265 (1998).
- 20) a) B. S. Freiser, "Techniques for the Study of Ion Molecule Reactions," Vol. 20, ed. by J. M. Farrar and W. H. Saunders, Jr., Wiley, New York (1988), p. 61. b) N. M. M. Nibbering, *Trends in Anal. Chem.*, **13**, 223 (1994).
- 21) H. E. Audier and T. B. McMahon, *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 8294 (1994).
- 22) C. D. Hanson, E. L. Kerley, and D. H. Russell, *Anal. Chem.*, **61**, 83 (1989).
- 23) D. L. Rempel and M. L. Gross, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **3**, 590 (1992).
- 24) E. Gard, D. Willard, J. Bregar, M. K. Green, and C. B. Lebrilla, *Org. Mass Spectrom.*, **28**, 1632 (1993).
- 25) C. J. Cassidy, J. Wronka, G. H. Kruppa, and F. H. Laukien, *Rapid Commun., Mass Spectrom.*, **8**, 394 (1994).
- 26) K. D. Henry, E. R. Williams, B. H. Wang, F. W. McLafferty, J. Shabanowitz, and D. F. Hunt, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **86**, 9075 (1989).
- 27) P. Kofel, M. Allemann, H. Kellerhals, and K.-P. Wanczek, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, **65**, 97 (1985).
- 28) P. A. Limbach, A. G. Marshall, and M. Wang, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, **125**, 135 (1993).
- 29) R. T. McIver, Jr., R. L. Hunter, and W. D. Bowers, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, **64**, 67 (1985).
- 30) M. W. Senko, C. L. Hendrickson, M. R. Emmett, S. D.-H. Shi, and A. G. Marshall, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **8**, 970 (1997).
- 31) a) J. B. Jeffries, S. E. Barlow, and G. H. Dunn, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, **54**, 169 (1983). b) T. J. Francl, M. G. Sherman, R. L. Hunter, M. J. Locke, W. D. Bowers, and R. T. McIver, Jr., *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, **54**, 189 (1983). c) T. C.-L. Wang and A. G. Marshall, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, **68**, 287 (1986). d) S. Chen and M. B. Comisarow, *Rapid Commun., Mass Spectrom.*, **6**, 1 (1992). e) M. V. Gorshkov, A. G. Marshall, and E. N. Nikolaev, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **4**, 855 (1993). f) C. L. Hendrickson, S. C. Beu, and D. A. Laude, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **4**, 909 (1993). g) Y. Naito and M. Inoue, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **42**, 1 (1994). h) J. Huang, P. W. Tiedemann, D. P. Land, R. T. McIver, Jr., and J. C. Hemminger, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, **134**, 11 (1994). i) A. J. Peurrung and R. T. Kouzes, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, **145**, 139 (1995). j) D. W. Mitchell and R. D. Smith, *J. Mass Spectrom.*, **31**, 771 (1996).
- 32) J. E. Bruce, G. A. Anderson, H. R. Udseth, and R. D. Smith, *Anal. Chem.*, **70**, 519 (1998).
- 33) D. A. McCrery, E. G. Ledford, and M. L. Gross, *Anal. Chem.*, **54**, 1435 (1982).
- 34) M. Knobel and K. P. Wanczek, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **7**, 1026 (1996).

Keywords: Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry, Biomolecular characterization, Penning trap, Tandem-in-time, Low-energy collision-induced dissociation, Gas-phase ion chemistry