硫化金属微粒子をマトリックスとする表面支援レーザー脱離イオン化法の研究

Study of Surface-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry Using Metal Sulfide Particles as a Matrix

香川修司*・竜田明美・吉岡 強

Shuji KAGAWA, Akemi RYODA, and Tsuyoshi YOSHIOKA

株式会社三菱化学科学技術研究センター横浜分析センター *Yokohama Laboratory, Science and Technology Research Center, Inc., Mitsubishi Chemical Group, Yokohama, JAPAN*

Metal sulfide compounds have unique properties and are widely used in various applications. In this study, we investigated the efficacy of metal sulfide particles as matrices for the ionization of synthetic polymers, by surface-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry (SALDI-MS). After the preparation of metal sulfide particles (NiS, CuS, and ZnS) using a shaker, the dispersed solutions of matrix and analytes were spotted on an LDI plate and measured using a 337 nm nitrogen laser. Among the particles studied, NiS particles were the most efficient matrix for SALDI-MS.

(Received September 30, 2008; Accepted October 30, 2008)

1. 序 論

近年、金属や酸化金属などのナノ粒子をマトリックスとする表面支援レーザー脱離イオン化質量分析法 (surface-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry: SALDI-MS) が急速に進歩している^{1)~10)}。SALDI-MSは有機マトリックスを使用するマトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析法 (matrix assisted laser desorption/ionization mass spectrometry: MALDI-MS) と比較すると、i) 特に低分子領域 (m/z : 100~400) に出現する有機マトリックス由来のイオンピークを低減できるため、スペクトルが簡素化し、解析が容易となる⁹⁾、ii) MALDI-MSでは、分析試料に応じた有機マトリックスを複数そろえ、煩雑な調製を必要とするが、SALDI-MSでは限定されたマトリックスで種々の分析試料のイオン化に柔軟に対応できる²⁾、iii) 金属やシリコンをベースとした粒子を修飾し、混合物から選択的に対象化合物を吸着抽出、イオン化できる^{2), 11)~17)}、などの利点がある。

硫化金属は、さまざまな酸化状態を形成し、その都度、色調、熱安定性、結晶構造などが変化する、たいへんユ

ニークな物性を有する金属化合物である。この中には、硫化亜鉛のように蛍光体材料として広く用いられ、エレクトロルミネセンスも発するものもある。このような種々の物性に富む硫化金属であるが、これまで SALDI-MS のマトリックスとして検討された報告例はなく、これらの SALDI マトリックスとしての有効性はわかっていない。

本稿では、硫化ニッケル (NiS)、硫化銅 (CuS)、硫化亜鉛 (ZnS) の微粒子をマトリックスとする SALDI-MS の合成高分子やペプチドの分析例を示し、これらの有効性を検討したので報告する。

2. 実 験

2.1 試薬

SALDI マトリックスとして使用した NiS, CuS, ZnS は和光純薬工業(株) から購入した。MALDI マトリックスとして使用した 2,5-ジヒドロキシ安息香酸 (2,5-dihydroxybenzoic acid: 2,5-DHB) は東京化成工業(株)、ジスラノール、シナピン酸 (sinapinic acid: SA) は和光純薬工業(株) から購入した。イオン化助剤として使用したトリフルオロ酢酸ナトリウム (sodium trifluoroacetate: NaTFA)、トリフルオロ酢酸銀 (silver trifluoroacetate: AgTFA) は Aldrich 社、クエン酸はキシダ化学(株) から購入した。イオン化検討試料として使用したポリエチレングリコール (polyethyleneglycol: PEG; 平均分子量 400) は東京化成工業(株)、PEG (平均分子量 3,000, 8,000) およびポリスチレン (polystyrene: PS; 平均分子量 500, 2,400) は和光

* Correspondence to: Shuji KAGAWA, *Yokohama Laboratory, Science and Technology Research Center, Inc., Mitsubishi Chemical Group, Kamoshida-cho 1000, Aoba-ku, Yokohama 227-8502, JAPAN*, e-mail: kagawa.shuui@mp.m-kagaku.co.jp

香川修司, 株式会社三菱化学科学技術研究センター横浜分析センター, 〒227-8502 横浜青葉区鴨志田町 1000 番地

純薬工業(株), angiotensin II は Sigma 社から購入した。また, NiS, CuS, ZnS の分散溶媒に使用したイソプロピルアルコール (isopropyl alcohol: IPA), 2,5-DHB, SA, および PEG の溶解溶媒に使用したアセトニトリル, ジスラノール, および PS の溶解溶媒に使用したテトラヒドロフラン (tetrahydrofuran: THF), NaTFA, および AgTFA の溶解溶媒に使用したメタノールは, いずれも和光純薬工業(株) から購入した。クエン酸の溶解溶媒にはミリ Q 水を用いた。また, angiotensin II の溶解溶媒には, ミリ Q 水/アセトニトリル (50:50, v/v) の混合溶媒を用いた。

2.2 硫化金属微粒子の作成

NiS, CuS, ZnS 250 mg をそれぞれ専用ビンに採取した。各々にガラスビーズ 15 g (直径 1 mm) と IPA 5 g を加えて, 密栓した。これをペイントシェーカー ((株)東洋精機

製作所) に固定し, 4 時間激しく振とうした。こうして得られた微粒子分散液を SALDI マトリックスとした。粒子の大きさを確認するため, 走査電子顕微鏡 (scanning electron microscopy: SEM, S-4100; Hitachi) により観察したところ, $1\mu\text{m}$ 以下にまで破碎されていた (Fig. 1)。

2.3 試薬の調製

SALDI マトリックスは, 2.2 で調製した分散液をそのまま用いた。MALDI マトリックス濃度はいずれも 1% (w/v) 溶液, イオン化助剤濃度はいずれも 0.1% (w/v) 溶液に調製した。イオン化検討試料濃度は, PEG, PS は 0.5%, angiotensin II は $1\mu\text{M}$ に調製した。

2.4 測定

レーザー脱離イオン化飛行時間質量分析計 (Voyager-DE STR; Applied Biosystems) を用い, リフレクトロンおよび正イオンモードとした。MS では, 良好なスペクトルを得るため, 各試料でレーザーパワー (337 nm; 窒素レーザー) を調整した。また, イオン化助剤は, PEG では NaTFA, PS では AgTFA, angiotensin II ではクエン酸を用いた。

1) SALDI-MS

専用プレートにマトリックス分散液 $0.3\mu\text{L}$ をアプライし, 自然乾燥した。このスポットの上に検討試料溶液/イオン化助剤溶液 (50:50, v/v) の混合溶液 $0.3\mu\text{L}$ をアプライし, 自然乾燥した。これを装置にセットし, MS を実施した。

2) MALDI-MS

専用プレートにマトリックス溶液/検討試料溶液/イオン化助剤溶液 (40:30:30, v/v/v) の混合溶液 $0.3\mu\text{L}$ をアプライし, 自然乾燥した。これを装置にセットし, MS を実施した。

3. 結果と考察

PEG, PS, および angiotensin II において, SALDI および MALDI マトリックスで得られたマスペクトルを Fig. 2~7 に示した。

低質量合成高分子である PEG-400 (Fig. 2), PS-500 (Fig. 5) では, NiS でブランクピークのない良好なスペクトルを得た。CuS, ZnS でも PEG-400 では良好なスペクトルを得た。しかし, CuS, ZnS は PS-500 ではレーザー感度が不良で, レーザー強度をやや高く設定して, MS を実施した。その結果, これに併せて, マトリックス中の夾雑成分由来のイオンが強く現れた。さらに, CuS では Cu(II) の還元により生成されたと考えられる Cu^+ 付加体を検出した。MALDI-MS では, いずれもマトリックス由来のイオンを低質量領域に強く検出し, 煩雑なスペクトルとなった。

高質量合成高分子である PEG-3,000, 8,000 (Fig. 3, 4), および PS-2,400 (Fig. 6) では, NiS において MALDI マトリックスと同等の良好なスペクトルを得た。しかし, CuS, ZnS ではレーザー分解によるフラグメントイオンが低質量側に現れ, 良好なスペクトルを得ることができな

Fig. 1. SEM (scanning electron microscopy) images of metal sulfide particles. (a) NiS, (b) CuS, and (c) ZnS.

Fig. 2. SALDI (surface-assisted laser desorption/ionization) and MALDI (matrix-assisted laser desorption/ionization) mass spectra of PEG-400. (a) NiS, (b) CuS, (c) ZnS, and (d) 2,5-DHB. NaTFA was used as the specific cationization agent. Peaks from the matrix are marked with asterisks.

Fig. 3. SALDI and MALDI mass spectra of PEG-3,000. (a) NiS, (b) CuS, (c) ZnS, and (d) 2,5-DHB. NaTFA was used as the specific cationization agent.

かった。

これら合成高分子における分子量分布を比較すると、MALDI スペクトルは SALDI スペクトルよりも低質量側にシフトする傾向が見られた (Fig. 2, 3, 6)。これについては、MALDI および SALDI のイオン化効率の違いに起因していると筆者らは考えている。MALDI は SALDI よりもややハードなイオン化が進行しており、高エネルギー状態のイオンが多く生成されると考える。このため、低質量側の検出強度が相対的に増加し、分子量分布に差異が生じ

るプロセスを推定した。これを解消するには、MALDI-MS の有機マトリックス、イオン化助剤、および装置パラメーターの最適化が必要である。

Angiotensin II では、スポット量を約 1 pmol に調製して MS を実施した (Fig. 7)。結果、NiS では SA と同等の良好なスペクトル (MH^+ ; m/z : 1,046.5) を得た。しかし、CuS, ZnS ではレーザー感度が不良で、PS-500 の場合と同じく、レーザー強度をやや高く設定して、MS を実施した。このため、得られたスペクトルの S/N がやや不良となっ

Fig. 4. SALDI and MALDI mass spectra of PEG-8,000. (a) NiS, (b) CuS, (c) ZnS, and (d) 2,5-DHB. NaTFA was used as the specific cationization agent.

Fig. 5. SALDI and MALDI mass spectra of PS-500. (a) NiS, (b) CuS, (c) ZnS, and (d) dithranol. AgTFA was used as the specific cationization agent.

た。また、CuS では Cu(II) の還元に伴う Cu^+ 付加体を併せて検出した。

以上のことから、NiS はイオン化効率およびレーザー感度ともに良好なマトリックスで、これまで MALDI-MS で使用していた有機マトリックスと同等の有効性があることが判明した。特に、低質量領域でのブランクピークが少ないことは、低分子量化合物の MS において、NiS は有機マトリックスよりも優位であることを示している。

NiS, CuS, ZnS はいずれも特徴的な物性を有し、特定の

温度で結晶構造や酸化状態が次々と変化する¹⁸⁾。CuS のレーザー照射による還元反応 ($\text{Cu(II)} \rightarrow \text{(I)}$) の進行は、マススペクトルからも読み取ることができる。今回検討した硫化金属の中で、NiS のみ良好なイオン化が進行する直接的要因は不明であるが、レーザー照射により、結晶構造や酸化状態が変化する際、放出されるエネルギーが CuS, ZnS よりも効率よくイオン化エネルギーに移行していると言える。あるいは、CuS, ZnS は照射レーザーが自己反応（還元、結晶変化など）に強く寄与するため、イオン化エネル

Fig. 6. SALDI and MALDI mass spectra of PS-2,400. (a) NiS, (b) CuS, (c) ZnS, and (d) dithranol. AgTFA was used as the specific cationization agent.

Fig. 7. SALDI and MALDI mass spectra of Angiotensin II (1 pmol). (a) NiS, (b) CuS, (c) ZnS, and (d) SA. Citric acid was used as the specific cationization agent.

ギーの放出量が少ない可能性もある。

今後、SALDI-MSは、ナノマテリアルの作成技術の進歩に伴い、ますます深化していくと思われる。われわれもこれに追従し、適切なSALDIマトリックスを見いだしたいと考えている。

文 献

- 1) K. Tanaka, H. Waki, Y. Ido, S. Akita, Y. Yoshida, T. Yoshida, and T. Matsuo, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2**, 151 (1988).
- 2) J. A. McLean, K. A. Stumpo, and D. H. Russell, *J. Am.*

Chem. Soc., **127**, 5304 (2005).

- 3) L. Hua, J. Chen, L. Ge, and S. N. Tan, *J. Nanopart. Res.*, **9**, 1133 (2007).
- 4) Y. Chen and A. Vertes, *Anal. Chem.*, **78**, 5835 (2006).
- 5) E. P. Go, J. V. Apon, G. Luo, A. Saghatelian, R. H. Daniels, V. Sahi, R. Dubrow, B. F. Cravatt, A. Vertes, and G. Siuzdak, *Anal. Chem.*, **77**, 1641 (2005).
- 6) Si. Xu, Y. Li, H. Zou, J. Qiu, Z. Guo, and B. Guo, *Anal. Chem.*, **75**, 6191 (2003).
- 7) N. H. Finkel, B. G. Prevo, O. D. Velez, and L. He, *Anal. Chem.*, **77**, 1088 (2005).
- 8) E. T. Castellana and D. H. Russell, *Nano Lett.*, **7**, 3023

- (2007).
- 9) X. Wen, S. Dagan, and V. H. Wysocki, *Anal. Chem.*, **79**, 434 (2007).
- 10) S. Link and M. A. El-Sayed, *Annu. Rev. Phys. Chem.*, **54**, 331 (2003).
- 11) P. C. Lin, M. C. Tseng, A. K. Su, Y. J. Chen, and C. C. Lin, *Anal. Chem.*, **79**, 3401 (2007).
- 12) B. N. Y. Vanderpuije, G. Han, V. M. Rotello, and R. W. Vachet, *Anal. Chem.*, **78**, 5491 (2006).
- 13) C. H. Teng, K. C. Ho, Y. S. Lin, and Y. C. Chen, *Anal. Chem.*, **76**, 4337 (2004).
- 14) T. Z. Mengistu, L. DeSouza, and S. Morin, *Chem. Commun.*, **45**, 5659 (2005).
- 15) N. Tang, P. Tornatore, and S. R. Weinberger, *Mass Spectrom. Rev.*, **23**, 34 (2004).
- 16) T.-C. Chiu, L.-C. Chang, C.-K. Chiang, and H.-T. Chang, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **19**, 1343 (2008).
- 17) S. D. Sherrod, A. J. Diaz, W. K. Russell, P. S. Cremer, and D. H. Russell, *Anal. Chem.*, **80**, 6796 (2008).
- 18) “理化学辞典 第4版”, 岩波書店, 東京 (1987).

Keywords: Metal sulfide particles, SALDI-MS