シリーズ：質量分析室紹介

Letter to the Editor

大阪大学大学院工学研究科
分析センター質量分析室の紹介Mass Analytical Division, Analytical Instrumentation Facility,
Graduate School of Engineering, Osaka University

守口 寛

Hiroshi MORIGUCHI

1. 分析センターについて

工学研究科分析センターは、1968年の工学部吹田地区への移転とともに分析機器を研究用、教育用に有効に共同利用する目的で設置されました。センターの運営は、工学部（のちの工学研究科）分析センター運営委員会の下で行われ、物質や分子の構造、物性、反応性を解析する大型分析機器を設置し、研究および教育を支援する共通施設として今日に至っています。現在、本センターでは、所属機器の運営・管理とともに、化学、材料、バイオなどを専門とする教職員・研究員や学生の自主測定の指導および依頼測定を通じて、工学研究科内外に広く貢献しています。また、年に1~2回程度、主な機器の作動原理や測定手法の講習会を開催するなど、多くの研究者や学生への機器分析に関する教育も実施しています。（分析センターHP〈https://www-aif.eng.osaka-u.ac.jp/about_us〉より）

分析センターの現在のメンバーは、林 高史センター長（兼）、井上匡子助教（兼）、田中宏明技術専門職員（兼）、大井博己工学技術主任（兼）、および招へい研究員である筆者です（写真1）。

2. 質量分析室と装置の歴史

質量分析室は、1968年8月装置の導入とともに分析センター棟（C8）の隣、学生実験棟（C6）1階に開設され、その後2006年の改修に伴いC7棟に移り現在3装置が稼働しています。

筆者は、1968年文部技官として採用され、2015年3月に定年、今年3月まで特任研究員として質量分析一筋に依頼分析、分析化学実験、装置の保守管理、分析センターの会計などを担当してきました。研究らしきことはほとんど行ってきませんでしたが、最先端の化学をリードする応用化学専攻の研究者の皆様から多種多様な測定依頼に応えることで、セン

写真1. 質量分析室スタッフ、右から大井、筆者、田中。

写真2. 40年前の日立質量分析計RMU-6Eと筆者。

連絡先：morigut@chem.eng.osaka-u.ac.jp

ターとしての知識や技術を伸ばすことができました。本稿では、質量分析室開設初期の頃から質量分析装置にかかわった筆者の経験を述べさせていただきます。

初めて質量分析を知ったのは、日立単収束質量分析計RMU-6Eの担当として採用されたときでした。何も予備知識がないうちに、採用面接に立ち会われた教授の研究室から有機試料を預かって日立的那珂工場の研究室に出向き、講習を受けたとき、質量分析装置との最初の出会でした。当時の記憶は曖昧ですが、試料の質量が明らかになったこと以外何がすごいことなのかは、そのときは理解できていなかったように思います。実際に依頼測定を始めてすぐに購入した「有機化合物の質量スペクトルの解析：カールジェラシーほか著、中川・大橋・鈴木訳」は、有機化合物の構造解析に非常に役立ちました。

日立単収束質量分析計RMU-6Eは、当時の単収束装置としてはいろいろ工夫され付属装置も優れていたように思われます（写真2）。磁場半径200 mm、偏向角90°、イオン化電圧0～100 V、分解能 $M/\Delta M$ 3500、質量範囲 m/z 1～2400、検出器はイオンマルチで、ファラデーカップも付属していました。気体試料導入、間接試料導入は、加熱部の1リットルのリザーバに気化した試料を溜め、オリフィスを通して一定量をイオン源に導入していました。この経路はすべてガラス製で金属接触による分解を防いでいました。直接試料導入では、全イオンモニタリングで試料が気化するとともにイオン化しているかを感知し、ビジグラフで測定チャートを得ました。マスマーカーは磁場強度を直接感知して質量を知るものでしたが、ペルフルオロケロセン（ $C_{10}F_{2n+2}$ ）を測定したビジグラフチャートを新たに測定したチャートの水、窒素、酸素のピークと重ね合わせて質量を記入するほうが早くて確実でした。装置の保守ですが、排気中にポンプ側からの逆拡散を防ぐコールドトラップが備えられており、毎日ドライアイスを入れて詰めました。装置の汚れは、分析管に直接電流を流してベーキング、両端のブロックはテープヒータによって加熱し吸着物を除去しました。電離真空管の交換、フィラメントの交換やイオン源のメンテナンスではガラス管の切断と溶接を行い、テスラコイルの火花放電を利用して真空漏れチェックを通じてガラス工作技術も向上しました。

数年後には、分析化学実験の質量分析法に関する指導を任されました。間接試料導入は、サンプル管装着、排気、加熱気化、試料ガス導入まで、加熱部内のガラスバルブの開閉を加熱部上部パネルのハンドルで操作して見える形で測定できたので、学生実験に適していました。学生には実際に装置を触れてもらい、未知試料（ベンゼンモノ置換体など）を測定して、チャートを得て、パターン係数を作り、棒グラフを作成することにより未知試料は何かを決める作業を指導しました。このように筆者が担当した分析化学実験では、学生一人ひとりが装置を操作する機器分析を体験できるように工夫していました。この装置での測定チャートは感光紙であり、現在現物は残っていませんが、応用化学専攻の三浦教授が当時、質量分析法の原稿を執筆するため、筆者が依頼を受けて測定したデータの写しが残っており、その一つを図1¹⁾に示します。

1986年2月には機能分子集団精密解析設備というプロジェクトによって、日本電子製高分解能質量分析システムJMS-DX 303HFがRMU-6Eの後継装置として導入されました（写真3）。分解能25000（10%谷）、質量範囲（ m/z ）1～6900、イオン化法は、電子イオン化（electron ionization: EI）、化学イオン化（chemical ionization: CI）、電界脱離（field desorption: FD）、電界イオン化（field ionization: FI）、高速原子衝撃（fast atom bombardment: FAB）法で、ガスクロマトグラフはパックドカラムとキャピラリーを併設、液体クロマトグラフ（フリットFAB）、キュリーポイントパイロライザーなどが付属していました。EI法では不可能であった化合物の測定や精密質量測定が可能となりました。図2は、FD法で多価イオンが現れた例で、それを利用してオリゴマーの分子量を推定したこともあり、また、当時の野村研究室（現 三

図1. 3種の検出感度でとった安息香酸のEIマスペクトル。

写真3. 日本電子JMS-DX 303HF。

図2. FDマスペクトル.

写真4. パーセプティブバイオシステム MALDI TOF/MS Voyager RP.

図3. イリノイ No. 6炭のキュリーポイント熱分解クロマトグラム（上：原炭，下：キノリン抽出物）（分解温度 670°C，分解時間3 sでのトータルイオンカレント）.

図4. BSAのMALDI-TOFマスペクトル.

浦研究室)では、キュリーポイントパイロライザーGC/MS測定により、石炭そのものや、石炭の溶剤抽出物の部分化学構造の推定に本機種が利用されました²⁾(図3)。一方、石炭は産地によって化学構造が大きく異なります。複雑な石炭の構造の特徴を明らかにするため、上記の分析を実施し、さらに、石炭の一部を分解後、溶剤への溶解度の差を利用して成分を分別し、フラグメントピークの出にくいFD法やFI法で成分分析のための測定も行いました。

1997年2月にパーセプティブバイオシステム製マトリックス支援レーザー脱離イオン化(matrix assisted laser desorption/ionization)飛行時間型(time-of-flight)質量分析計：MALDI TOF/MS Voyager RPが導入され、より高質量領域の分析が可能になりました(写真4)。この装置の特徴としてフライトチューブ中央にガイドワイヤーがありBSA(ウシ血清アルブミン)の2量体も感度よく測定できました(図4)。この装置は、初の自主測定装置として教職員や学生に開放し、多くの利用があり、分子研の大学研究設備共同利用の登録機種として活躍しました。

3. 現在稼働している装置

2003年2月にフロンティア研究機構から日本電子製高分解能二重収束型質量分析装置JMS-700が導入され、より高度で精密な測定が可能になりました(写真5)。建物改修工事によりC7-115室に移設された依頼分析装置です。2004年に日本経済新聞社がまとめた大学工学部研究力調査で、大阪大学工学部が一位になりました。その記事が写真6で、この装置の写真が掲載されました。現在本機種は、2015年4月から工学研究科技術部所属の田中技術専門職員が装置の保守管理、工学研究科の化学系を中心にEI, CI, FABの通常の測定と精密質量測定の依頼分析を行っています。

平成21年度補正予算で、林分析センター長が飛行時間質量分析装置として申請したBruker MALDI TOF/MS Autoflex IIIが2010年2月に導入されました(写真7)。C7-111室設置の自主測定装置の一つです。今年4月から工学研究科技術部所

写真5. 日本電子JMS-700 (現在稼働装置).

写真7. Bruker MALDI TOF/MS Autoflex III (現在稼働装置).

写真6. 2004年2月4日付け日本経済新聞の記事 (©株式会社日本経済新聞社, 許可を得て転載).

図5. MALDI-TOF MS (in-source decay mode) 測定のスベクトル.還元剤存在下における非天然補因子が挿入されたミオグロビンとヨウ化メチルの反応による質量変化を観測 (反応開始から0, 3, 6, 14および24時間後のスベクトル). Reproduced from ref. 3 with permission from the Royal Society of Chemistry.

属の大井工学技術主任が装置の保守管理, 講習, 分析化学実験の準備など担当しています. この装置には, ImagePrepが付属しています. 2015年7月第63回千里ライフサイエンス技術講習会質量分析による分子イメージングの技術実習BのImagePrepによるマトリックス塗布, イメージング質量分析に, 本センターの場所と装置を提供しました. 図5³⁾は, 林研究室から提供していただいた, 本装置を使ったin-source decay modeで測定したデータです. 強いレーザー強度で測定して, タンパク質のフラグメントパターンを見えています. 図の右の数字は反応開始からの時間経過を示し, 反応の進行とその反応箇所を確認するために測定を行ったデータです. この非天然補因子を有するミオグロビンはヨウ化メチルと還元剤の存在下でメチル化反応が進行します. 本測定からは, 反応時間が経過するにつれて, His64 (64番目のヒスチジン残基) にメチル基に相当する質量分だけ増えたことを示す結果が得られ, 配列特異的にメチル化反応がタンパク質の内で行われていることが確認されました.

2012年9月に, 島津製作所製ガスクロマトグラフ質量分析計GCMS-QP2010 Ultraが導入されました (写真8). EI法とCI法の測定が可能で, 本機種も自主測定装置としてC7-111室に設置しています. この装置も大井工学技術主任が装置の保守管理を行い, 学部生の分析化学実験での利用準備などを担当しています.

EI法しかなかったとき, 依頼試料の1割ほどは分子イオンが現れないか明確ではありませんでした. フラグメントイオ

写真8. 島津 GCMS-QP2010 Ultra (現在稼働装置).

ンから分子の質量を推測するか、気化しやすくするため誘導体に変えてもらって測定もしました。今は、イオン化法や、装置の高感度の進化に伴い、測定可能な化合物の範囲が広がり、 $[M+H]^+$ や $[M+Na]^+$ 、 $[M-H]^-$ などのイオン種が観測され、分子の質量情報が直接得られるようになりました。現在、依頼分析を担当している田中技術専門職員は、「依頼内容と異なった結果が現れたとき、検出器に到達するまでにサンプルが分解したか？ それとも測定するまでに壊れたか？あるいは最初から目的物が存在しなかったか？判断に悩むことがある。イオン化法を変更するとか、カチオン化剤を添加するとか、常に依頼者とコミュニケーションをとりながら分析を試みている。」と語っています。

4. おわりに

半世紀近く工学研究科分析センターの質量分析を担当し、微力ではありましたが、教育・研究支援に貢献し、無事勤めを終了できたのは、支えていただいた多くの方々のお蔭であり、感謝申し上げます。今後は、招へい研究員として籍がある工学研究科分析センターを通じて質量分析にかかわり協力していきたいと考えています。

本稿執筆にあたり測定データを提供していただいた工学研究科応用化学専攻の三浦教授、林教授、大洞助教に謝意を表します。

文 献

- 1) 野村正勝, 三浦雅博, 機器分析のてびき (増補改訂版) (1), p. 67 (1986).
- 2) S. Murata, E. Kawakami, and M. Nomura, *Energy & Fuels*, **10**, 220 (1996).
- 3) Y. Morita, K. Oohora, A. Sawada, K. Doitomi, J. Ohbayashi, T. Kamachi, K. Yoshizawa, Y. Hisaeda, and T. Hayashi, *Dalton Trans.*, **45**, 3277 (2016).