最近のマスペクトロメトリー

神 原 秀 記*

Recent Development in Mass Spectrometry.

Hideki KANBARA*

During the past several years, mass spectrometry has made great progress in the analytical field of biological molecules. The progress has been mainly achieved with the development of new soft ionization techniques, such as plasma desorption, laser desorption, molecular secondary ion mass spectrometry, and fast atom bombardment mass spectrometry, and with the development of a big mass spectrometer. It has been demonstrated that polar nonvolatile big bioorganic molecules can be ionized without dissociation by soft ionization methods, which are called desorption ionization. The soft ionization methods and recent applications are overviewed. Newly developed thermospray ionization seems to be obtaining a reputation as a suitable ionization method for LC/MS and several applications have been achieved more recently. The application of tandem mass spectrometry (MS/MS) to structure analysis or mixture analysis of bioorganic samples has started recently, while it was widely used as a method for analyzing the ion structure of small molecules. These combination techniques of using a mass spectrometer with a liquid chromatograph or another mass spectrometer are promising methods for mixture analysis and they are also reviewed here.

1. はじめに

1900年代初頭に誕生した質量分析計は、性能の向上と共に1940年代には単に元素の同定だけでなく、複雑な有機物の分析にも用いられるようになった¹⁾。このような有機物分析への応用の発展に伴ない、1960年代には直接試料導入装置が開発され、多くの固体天然物の電子衝撃スペクトルが得られるようになった。更にイオンと分子の反応研究など質量分析計を用いた基礎研究も盛んに行われるようになった。これらの技術は有機物分析へも応用され、化学イオン化(CI; Chemical Ionization)として発展している²⁾。CIによりこれまで電子衝撃イオン化(EI; electron impact)では分子イオンの得られなかった分解しやすい化合物についても擬似分子イオンが得られるようになり、質量分析法は更にその応用範囲を広げることとなった。しかし、これらの方法も試料を加熱気

化した後にイオン化するので、熱分解しやすい物質や不揮発性化合物には適用できず、測定対象を揮発性の誘導体にするなどの必要があった³⁾。

1970年代に入るとライフサイエンス分野の急速な発展に伴ない、難揮発性で熱や光に弱い生体に関連した物質の分子量や分子構造を知りたいという要求が一層強くなってきた。質量分析法もこの要求に答える形で大きく発展することになる。特に1970年代後半から1980年代にかけての10年間は質量分析分野の飛躍の時期であったと言える。この発展の様子はこれまでに出版された報文の解説記事などに見ることができる⁴⁻¹⁰⁾。ここでは特に最近の進歩と今後の発展方向などを中心に紹介したい。

最近の質量分析分野の進歩には大きく分けて3つが挙げられる。第1は難揮発性で熱に弱い化合物でも分子のままイオン化できるソフトイオン化法の発展である。このきっかけとなったのは1969年Beckeyにより開発された電界脱離(FD; field desorption)法である^{11,12)}。FD法は後に述べるmolecular SIMS (secondary ion mass spectrometry)やFAB (fast atom bombardment)が開発されるまでの十年余にわたって通常の磁場型装置に装着しえる唯一の方法として活用されてきた¹³⁾。

* (株)日立製作所基礎研究所 ()

* Advanced Research Laboratory, Hitachi Ltd. ()

また、現在でも極性が小さく、FAB や molecular SIMS では分子イオン種を観測しにくい化合物のイオン化法として用いられている。FD法に続いて、PD (plasma desorption)¹⁴⁻¹⁷、LD (laser desorption)¹⁸⁻²⁰、molecular SIMS²¹⁻²⁵、FAB²⁶⁻²⁹といった粒子線や光子線を用いて物質をスパッタすると同時にイオン化する新イオン化法が開発され実用化されてきた。これらによりこれまで分子量測定が不可能だったバリトキシンなど分解しやすく不揮発性の天然物やインシュリンなど大きなペプチドあるいは糖ポリマーなど大きな物質を直接イオン化し、擬似分子イオンを観察できるようになった^{16,17,30-35}。

第2の大きな進歩は生体に関連した大きな物質の測定を可能にする高性能質量分析装置の発展である。測定質量範囲に制限のない飛行時間 (TOF; time of flight) 型質量分析計の分解能向上は新しいイオン化法と組み合わせられ、大きな質量を持った天然物分析に質量分析計が有効であることを示した^{36,37}。また、阪大・松尾らによる質量数1万を超えるポリマーの測定³⁸は磁場型装置を用いた高分子量物質測定の道を開いた仕事として注目された。そして、これまで実用質量分析範囲は1~1,000程度が標準であった。最近では広い質量分析範囲 (測定上限が5,000~10,000 amu) を持った磁場半径が大きく (30~40 cm 以上)、磁場強度の大きな装置が市販されるに到っている。磁場型装置の高性能化にはイオン光学系の高次の収差まで考慮してイオン軌道を解析できるTRIOプログラム開発などイオン光学面での発展に負う所が多く、これについては松田による総説を参照されたい³⁹。また、新しい装置としてFTMS (Fourier transform mass spectrometer) が開発されてきた。現在、3,000~5,000の質量範囲の測定ができており、近い将来10,000~15,000の質量数までFTMSで測定可能と言われており、これからの高質量物質分析の一翼を担うことが期待されている^{40,41}。

高質量化の傾向は今後も続くと思われるが、大きな質量数の較正法、同位体により生じる微細構造の処理法、高分子質量に適した効率の良いイオン化法の開発など実用には今後に残された課題も多い。当面求められている装置は質量範囲1~5,000で高感度でルーチンで使えるものであろう。

第3の進歩は薄層クロマトグラフィー (TLC; thin layer chromatography) や液体クロマトグラフィー (LC; liquid chromatography) と質量分析計 (MS; mass spectrometer) の結合装置 (TLC/MS, LC/MS)、あるいは二台の質量分析計を用いるMS/MSなど混合物に適用できる分析方法の開発である。特に不揮発性化合物に適合できる

LC/MSの開発はここ十年余の間に世界各地で行われ、種々の方法が提案されている⁴²。試料をベルトでイオン源内に導入し、EI や CI をする方法⁴³ や SIMS と組み合わせること⁴⁴ がなされている。また、最近では霧状で試料をイオン源に導入し、CI⁴⁵、や API (atmospheric ionization)⁴⁶ を行う方法や、サーモスプレー⁴⁷⁻⁴⁹ と呼ばれる方法などが提案され、実用に近いものも現われ始めている。また、LC ほど一般的でないが、SIMS や FAB と簡単に結びつけることができる点が注目され TLC/MS が利用されはじめている^{50,51}。二台の質量分析計をつなげたタンデム質量分析計あるいは MS/MS はイオンの構造分析に用いられてきた⁵²。これは最初の MS で特定イオンを選別し、そのイオンを衝突などで開裂させて2台目の MS で分解物を観測するものである。最近では単にイオンの構造解析ばかりでなく、混合物分析の一手段として用いられ始めており注目を集めている⁵³。

以下、本総説ではソフトイオン化法および混合物分析法を中心に、質量分析の最近の進歩について解説すると共に、今後発展が予想される高感度分析へのアプローチについてふれることにする。

2 難揮発性化合物のソフトイオン化法

フィールドイオン化法 (FI; field ionization) から発展した FD 法の詳細については Beckey の成書¹² や解説記事⁵⁴ を参照されたい。FD 法では加熱電流の調節が可能な活性化タングステンエミッターを用いて、この表面に塗布された試料を高電界によりイオン化脱離するものである (図1)。FD にも使用されるエミッターは10 μm ϕ のタングステン線上に炭素のマイクロニードルを無数に生長させたもので、試料はこの林の中に保持される。エミッターの前方1~2 mm の場所にスリット付きの対向電極を設け、5~10 kV の電位差を加えると炭素針の先端には $10^7 \sim 10^8 \text{ V/cm}$ もの高電界が生じる。針の先端近傍にある分子はこの電界下でイオン化され、真空中に飛び出してゆく。FD ではエミッターに電流を流し、加熱するが、

Fig. 1 Schematic diagram of FD ion source.

これにより表面に付着した試料は流動性を増し、エミッ

タ表面を移動できるようになる。これにより針の林の中に保持された試料を連続的に針の先端部に供給することができる。試料の移動を考えると針の長さはあまり長くない方が良く、10~20 μm が妥当ようである。試料分子は強電界下で隠やかにイオン化されるため、分子イオン強度が大きく、分解物の少ないスペクトルが得られる。炭素針を持ったエミッタが広く用いられているが、製作に長時間を要するなどの難点があり、短時間で製作できるシリコンエミッタも開発されている⁵⁵⁾。

FD におけるイオン化の機構に関連した研究は Röllgen らにより精力的になされている⁵⁶⁾。彼らはエミッター上の試料の温度上昇に伴う状態変化を観察し、イオンは試料が半融解状態になった後に引き出されることを観察し、イオン化および脱離機構について貴重な知見を得ている。FD における分子イオン検出感度として 10^{-1} ~ 10^{-3} クローン/mol の値が報告されている⁵⁷⁾。FD は SIMS や FAB の開発された現在でも種々物質の分子量測定に使用されている。特に極性の小さい難揮発性物質の測定には FD がより重要である。

FD を用いた最近の興味ある応用の 1 例は異常ヘモグロビンの解明である⁵⁸⁾。グロビン鎖をトリプシンなどの酵素で消化すると特定のアミノ酸で切断された小ペプチド混合物が得られる。この FD スペクトルから各小ペプチドの分子量を決めることができる。グロビン鎖中のアミノ酸配列が 1 箇所でも違っていると分子病になるが、グロビンのトリプシン消化物の FD マススペクトルを正常と異常のものについて測定すると異常部に対応するスペクトル線がずれるので異常箇所とアミノ酸の種類を知

Fig. 2 Comparison of mass spectrum for normal Hemoglobin (β chain) (a) with that for abnormal Hemoglobin (b). The position of spectrum line 1 is different from each other. (ref 58)

ることができる。図2は鎌形赤血球貧血症のグロビン β 鎖 (Hb-S) のスペクトルの一部である。質量数 952 のピークが 922 に移動していることからグロビン β 鎖 6 番目のアミノ酸 Glu が Val に置きかわっていることがわかった。

PD, LD, molecular SIMS および FAB には共にスパッタリング脱離イオン化機構が考えられている。PD法はニッケル薄膜上に塗布された試料を ^{252}Cf の核分裂生成物 100 MeV Tc で反対側から衝撃し、ニッケル原子と共に試料を分子イオンとして脱離して TOF 型質量分析計で測定しようというものである。100 MeV の Tc は薄膜を貫通するが、その際径路に沿った金属原子の電子状態を励起する。この結果、径路に沿った金属原子はガタガタにゆすられ表面近傍の粒子が外へ飛び出してゆく。molecular SIMS の場合には原子あるいは分子間の衝突によりスパッタが起こるが、PD 法の場合には電子励起をきっかけにスパッタが起こる。このように初期のエネルギーの与え方は非常に異なるが類似のスペクトルパターンを与えることが知られている。両手法とも非常に短時間に狭い領域にエネルギーを注入して粒子をスパッタさせる点が次に述べる LD と共に同じ点である。

PD 法は特殊な装置を必要とし一般的でないが、登場以来、それまで分子イオン種の得られなかったテトロドトキシン、プレオマイシン、パリトキシンなどの分子イオン測定に成功して話題を集めた。

LD は固体の分析法として 1963 年に登場した⁵⁹⁾。その後、Kistemaker らにより炭酸ガスレーザーと種々のイオンを同時記録可能な磁場型質量分析計を用いて糖など不揮発性化合物の擬似分子イオンが観測され¹⁸⁾、PD、SIMS、FAB と並んで脱離イオン化 (desorption ionization) の新手法として注目を集めた。最近ではルビーレーザーや YAG レーザーを用い、スポット径を 0.5 μm に絞り、試料を観察しながら微小部の組成分析をする手法が開発された。分析計には TOF 質量分析計が用いられ LAMMA (laser microprobe mass analysis) と呼ばれ装置が市販されるに至っている¹⁹⁾。図3は装置の概念図である。パルスレーザーには 15 ns の YAG レーザー (10^9 ~ 10^{11} W/cm²) を用いている。LD ではレーザーパルス入射後のイオンの放出持続時間は数十 μsec にもおよび、熱的效果でイオン化と脱離がおこっていることがわかってきた^{60,61)}。LD 法を用いた高分子物質の測定例はあまり多くないが、脱離時間との関係も含めた報告が Cotter らによりなされている⁶²⁾。

1979~1982 年にかけて質量分析分野で大きな話題となったイオン化法に molecular SIMS と FAB がある⁸⁾。

Fig. 3 Schematic diagram of LAMMA.

⁶³⁾。両者は共に高速の粒子を試料に当てて、飛び出してくる二次イオンを測定するものである。

SIMS は従来、固体の元素分析法として広く使用されてきた⁶⁴⁾。ここでは高い一次電流密度 (数 μA ~ 数 mA/cm^2) と大きな衝撃エネルギー (10~20 keV) での粒子線照射が行われていた。Benninghoven は低い電流密度と低い衝撃エネルギーを用いて固体表面に吸着されたアミノ酸などの分析が可能であることを示した²¹⁾。その後多くの研究者により molecular SIMS の生化学物質の分子量測定への応用が試みられた^{22-25, 65-69)}。その結果、種々の難揮発性化合物、特に FD 法でも分子イオン種の測定が困難な物質にも適用できることが示され、新イオン化法として注目されるに至った。中でも Barber らによるグリセリンマトリックスの利用は質量数 1,000 を超える物質の分子イオン測定を可能にした画期的なものであった⁷⁰⁻⁷⁵⁾。彼らはイオン衝撃に代わって高速中性粒子衝撃を用いたためこれを FAB と呼んだが、グリセリンマトリックスを使用することによりイオン衝撃でもほぼ同じスペクトルが得られており、SIMS と FAB を区別する本質的な理由はない^{24, 26)}。最近では液体マトリックスを使用する方法を特に liquid SIMS と呼ぶこともある。

次に molecular SIMS の概要を説明する。1~2 μg の試料を 1~2 μl のグリセリンと混合して金属板上に塗布し、0.1~5 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ 程度のイオンあるいは中性粒子を照射してスペクトルを得る。図 4 はイオン源の 1 例である。試料を含んだグリセリンを保持したターゲットが真空中

Fig. 4 SIMS ion source.

に入ると蒸発速度の早いグリセリンは表面から揮発するが試料は残るので表面に試料濃度の高い層が形成される。そこにイオンが照射されると、イオンは表面層を通過し、グリセリン分子と衝突をくりかえす。グリセリンは分解したりしながらはじき飛ばされて衝突の連鎖がおき、表面から粒子がはじき出されていく。表面近傍に試料分子があるとこれらも一緒に はじき飛ばされてゆく。これはスパッタリングと呼ばれている。表面試料層はスパッタリングで失われて行くが、グリセリンが流動性を持つことや蒸発スピードが早いことにより再形成されながら測定が行われる。試料量がグリセリンに比べて非常に少ないにもかかわらず、グリセリンのイオンがほとんど観測されないことがあるが、これは表面に試料層が形成されたためと考えられる。これら試料層の形成はスパッタ速度とグリセリンの蒸発スピードとの兼ね合いで決まっており、スパッタ速度を早くすると観測されなかったグリセリンイオンが出現することが知られている⁷⁶⁾。

大きな分子をこわさずにそのままイオン化するには、1 個の入射粒子でできるだけ多くの粒子をはじき飛ばせるほどよい。即ち大きなスパッタ率を持つことが望ましい。このためにはターゲットと入射ビームの角度を 20° 位と小さくすることや Ar よりも Xe や Cs といった重粒子あるいはクラスターイオンで衝撃することが有利である^{25, 77, 78)}。マトリックスは感度にも影響を与える重要な因子で、これまでにグリセリンに加えてチオグリセリン⁷⁹⁾、トリトン X²⁸⁾、ジエタノールアミン^{80, 81)}、ポリエ

チレングリコール⁷³⁾, など多くの素材が提案されている。マトリックスとして望まれることにはスパッタ率が高いことと試料をよりイオン化しやすいことなど化学的性質に関することがある。例えば大きなペプチドの測定に用いられるチオグリセリンはグリセリンに比べてスパッタ率が数倍大きいことが良いと考えられている。また, 化学的性質を改変するためにマトリックス中に塩酸やトリクロロ酢酸などを加えることがあるが, 物質によっては2~10倍の分子イオン強度の増加が認められる。マトリックス組成の調製により大きな分子イオン強度を得ようとする試みはイオン化や脱離の機構解明とからんで多くの研究がされ始めており今後の発展が期待されている。イオン化機構についての考察はBenninghovenの論文が参考になろう⁸²⁾。マトリックス素材について相互の比較や絶対感度やスペクトルパターンの変化など詳細な検討はなされておらず, 今後の課題である。

molecular SIMSやFABの感度はFDとほぼ同等の $10^{-1} \sim 10^{-3}$ クーロン/mol と考えられる⁸³⁾。しかし, 後にふれるようにイオン源や分析計の最適化を行うことにより約2桁近い絶対感度の増加が実現できる⁸⁴⁾。例えば, Bradykinin では0.1 クーロン/mol, Tylosin(m.w.915)では0.8 クーロン/mol もの値が得られている。

SIMSやFABによりこれまで測定が困難であったグルカゴン, インシュリンなど数多くの生体関連物質の分子イオンの観測が可能になり, 測定対象も質量数3,000~5,000あるいはそれ以上に広がってきた。測定例についてはBurlingameの総説⁸⁵⁾あるいは質量分析計販売各社のデータ集を参照されたい。molecular SIMSや

FABではマトリックスや照射粒子の種類と量を調整することにより分子イオン強度やその持続時間をコントロールできるので後に述べるMS/MSなどの測定が容易になり, MS/MSを用いた構造解析研究を活性化する結果となった^{86, 87)}。もちろん, SIMスペクトル自身にも構造情報を含んだ多くのフラグメントが観測され, SIMSやFABスペクトルを用いた構造解析研究が精力的に行われ始めている。例えば, 数多くのペプチドのSIMスペクトルが測定され(図5参照), フラグメントの現われ方には一定の規則があることが示された^{88, 89)}。これら質量スペクトルを活用したアミノ酸シーケンシング法が文献(90, 91)にまとめられている。糖についても20前後の糖単位からなる糖鎖の測定が可能になり, DellらによるFABを用いた構造解析戦略が報告されている。糖鎖の解析にはメチル化やアセチル化が大きなイオン強度を得る上でもまた構造を反映したフラグメントを得る上でも有効であることが指摘されている^{92, 93)}。なお, 糖のMSによる構造解析についてはRinehartらの総説⁹⁴⁾を参照されたい。また, これまでFD法ではあまり良い結果の得られなかった糖脂質などの分析にSIMSやFABが精力的に用いられ始めており, 榊らによる総説⁹⁾がある。

以上, 最近発展してきたソフトイオン化の概要と応用について紹介してきたが, 幅広い応用研究が世界各地でなされ続けており, 今後の発展が楽しみである。なお, インビーム法, エミッタCI法などを紙面の都合で割愛させていただいた。ご容赦願いたい。

3. 混合物分析へのアプローチ

Fig. 5 SIM spectrum for Bradykinin.

ガスクロマトグラフィー(GC; gas chromatography)とMSの結合により(GC/MS)により質量分析の応用分野が広がりGC/MSとして定着したが、LCの使用が増加するにつれ、LCとMSを結合しようとする試みが盛んに行われるようになった。LC/MSでは多量の溶媒をいかに除去し、不揮発性試料をイオン化するかが大きな課題である。これまでに種々の提案がなされているが次の2つに大別できる。第1はLCの溶出液をベルト上に保持し、溶媒を乾燥除去して真空中に導入する。試料を加熱気化してEIやCIをしたり、SIMSあるいはFABでイオン化する方法である。SIMSやFABを用いることにより不揮発性化合物の分子イオンを観測できるが、一般に測定に μg オーダーの試料が必要なことが多く、まだ実用には遠い。第2は溶出液を霧状にしてイオン源に導入しイオン化する方法である。不揮発性化合物についてもCIやAPIを用いて分子イオン観測できることが示されているが、現在の所、サーモスプレーによる方法がデーターも多く、大きな物質に適用可能で応用範囲が広いようである。図6にサーモスプレーイオン源の例を示した。LCからの溶出液は加熱パイプを通過し霧状になると同時にイオン化されて真空中に放出される。イオン化の機構についてはまだ不明の点が多いが、質量数1,000を超える大きな化合物のイオンが観測されている。検出感度は数ng以下と高く、実用に近い所にあると言える。最近、薬品とその代謝物の分析あるいは色素の分析に用いられたりしている。本法ではグルカゴンなど質量数が3,000以上のペプチドの分子イオン観測が報告されているが、多価イオンも同時に観測されており未知物質分析の際には問題となろう。

生体に関連した物質の混合物を分析するにはLCに代

わってTLCやMSを用いる方法がある。ここではMSを分離器および分析器として用いる、いわゆるMS/MSについて紹介する。

質量スペクトル中には通常、数多くのフラグメントイオンが観測され、それらの多くは分子構造を反映していることが多い。しかし、分子構造と直接結びつかないフラグメントや試料が混合物である場合、イオン種の同定はかなりやっかいである。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。生成したイオンの中には励起されている物も多い。イオンが生成する過程で得るエネルギーが大きいと、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。後者は通常準安定イオンと呼ばれている。更に、注目するイオンを加速した後にHeなどと衝突させて励起し、強制的に分解することも可能である。このように特定のイオン種(親イオンと呼ぶ)からイオン源外で開裂して生成したイオンを娘イオンと呼んでいる。

娘イオンを観測するために種々の手法が開発されてきている。第1は質量分析計を二つ連結し、第1の質量分析計で分子イオンを選別し、次いで分子イオンをヘリウムガスと衝突させて分解させ、第2の質量分析計で分解して生成したイオンを分析するものである。これはタンデム型質量分析計あるいはMS/MSと呼ばれており、GCやLCの代わりにMSを用いて目的成分を分離したものと考えることができる。分析時間が短く、感度の高いことから混合物分析に威力を発揮しつつある。用いる装置には二重収束質量分析計を二台、後段を四重極質量分析計(QMS; quadrupole mass spectrometer)あるいはQMSを二台または三台使う場合がある。MS/MSの装置および応用についてはMcLaffertyによる成書を参照されたい⁵²⁾。

一方、通常の二重収束質量分析計を用いる手法もある。これは磁場(B)と電場(E)を同時にスキャンするものでB/Eリンクドスキャン法と呼ばれている⁹⁵⁾。B/Eリンクドスキャン法ではイオンを加速した後では親イオンと娘イオンの速度が等しいことを利用して同じ速度のイオンだけを観測するように工夫している。

いま、任意の質量 m_0 を有するイオンが電場 E_0 および磁場 B_0 を通過してコレクターに到達するには $m_0 = a \cdot B_0^2 / E_0$ (a は装置に関する係数)の関係が成立する必要がある。そこで図7のようなB-E平面を考えると、質量数で定まる二次曲線上にあるBとEとの値を保つ場合

Fig. 6 Thermospray ion source.

Fig. 7 Schematic diagram of B/E linked scan.

だけイオンはコレクターに到達できることがわかる。今、 $m_0^+ \rightarrow m_1^+ + (m_0 - m_1)$ の解離を考えると、娘イオンの運動のエネルギーはVをイオン加速エネルギーとして、近似的に $V \cdot m_1/m_0$ で与えられる。このイオンが電場を通過するには $E_1 = E_0 \cdot m_1/m_0$ の関係が必要になる。これらの関係式を整理すると、親イオンと娘イオンが電場、

磁場を通過するBとEの関係は $(B_0/E_0 = B_1/E_1)$ として示される。従って、与えられた電場と磁場の強度比を一定にしてスキャンすることにより、親イオン (m_0^+ ; 多くの場合分子イオン種) から生じるすべての娘イオンを検出することができる。この B/E リンクドスキャンの測定装置は現在市販の二重収束質量分析計に組み込めるようになっており、FD, SIMS, FAB で生じた分子イオン種や特定のフラグメントイオンについて B/E リンクドスキャンによる娘イオンの測定や衝突解離(CID; collision induced dissociation)の測定ができるようになった。

質量分析法は同種類のいくつかの化合物のうち一種類の分子構造が知られている場合、他の化合物の構造決定に威力を発揮する。即ち、質量スペクトルパターンの比較から未知化合物の構造を容易に決定できることが多い。しかし、生体抽出試料中には不純物の含まれていることも多く、構造決定の障害となることがある。この場合には娘イオンの測定が有力な構造情報を提供する。

アントリマイシンは抗結核菌性の抗生物質で NMR などをを用いた構造決定がなされたが、その後いくつかの同

Fig. 8 Secondary ion and daughter ion mass spectra for antrimycin B_v: (a) SIMS, (b) DIMS from MH⁺, (c) DIMS from m/z 720.

族体が存在することがわかり、SIMS により構造決定が行われた⁸⁷⁾。SIM スペクトルの測定では試料によって分子イオン領域に目的物質以外のピークが現われ、分子構造情報が十分に得られないことがあった。図 8 はアントリマイシン B_y の SIM および CID スペクトルである。SIM スペクトル中には目的とする分子イオン種に加えて不純物イオンが観測され、低質量部に現われるフラグメントイオンの帰属を不確定にしている。CID スペクトルから分子構造情報が得られ構造を確定できた。更に不純物はアントリマイシンのアミノ末端が化学修飾を受けたものであることがわかった。

娘イオンスペクトルの利用法には混合物スペクトルから必要な情報を抜き出す以外に、新しい分子構造情報を得る場合にも用いられる。例えば、糖類のFDスペクトル中にはアルカリ金属の付加した分子イオン以外に構造情報を含んだフラグメントがほとんど観測されない。

しかし、CID スペクトル中にはグリコシド結合位置に関する貴重な情報を含んだフラグメントが観測されている⁹⁶⁾。これら CID 技術は生理活性ペプチド⁹⁷⁾や医薬品アセタミノフェンの代謝物の構造研究⁹⁸⁾にも用いられている。

SIMS や FAB などのソフトイオン化法ではグリセリンやアルカリ金属の付加した分子イオンクラスターがしばしば観測される。これらクラスターイオンから生じる娘イオンスペクトルからは H^+ 付加分子イオンとは異なった分子構造情報が得られる⁹⁹⁾。図9はアマスタチンの SIM および娘イオンスペクトルである。 $(M+Na)^+$ から生じる娘イオン種は MH^+ から生じるものと同種イオンの他にも観測されている。この娘イオンスペクトルパターンは付加金属イオンの種類によっても変化し、イオンの安定度や付加位置に関する情報が得られると期待される。

最近の興味ある MS/MS の応用として Hunt らによる環境分析などが挙げられる^{53, 54, 100-102)}。しかし、これらも比較的質量の小さい化合物に限られており、質量数 1,000 を超える大きな化合物ではあまり有効とは言えない。質量が大きくなると速度が遅くなるので衝突解離に十分なエネルギーを供給できない、分解イオンが多種生成し、強度が分散して弱くなること、などのため十分な娘イオン強度が得られないためで今後の改良が待たれる。

4. 高感度質量分析へのアプローチ

前章までに述べたように種々の手法の発展により、質量分析計の対象とする物質の範囲は格段に広がってきた。しかし、生体関連物質の多くは多量の組織からわずかな量が抽出されるに過ぎず、高感度な検出法の開発が望まれるようになってきた。質量分析計高感度化の試みには装置に関するものと測定法に関するものの二つがある。

従来の磁場走査型質量分析計では生成イオンの殆んどを浪費している。そこで生成イオンの殆んどすべてを利用できる TOF や FTMS, あるいはチャンネルプレート利用の装置などが開発されている。Benninghoven らは TOF を用いて 0.05 ng のブラジキニン (m.w. 1059) の SIM スペクトルの測定を実現している¹⁰³⁾。Mattauch-Herzog 型質量分析計にチャンネルプレートを組み合わせてイオン信号を増幅し、光に変換してビデオカメラで測定し電氣的にデータ処理する方法が提案されている^{104, 105)}。この手法では全イオン種にわたって SID (selected ion detection) と同じ高感度が得られるため将来非常に有望である。チャンネルプレートと言うのは図 10 に

Fig. 9 Secondary ion and daughter ion mass spectra for amastatin: (a) SIMS, (b) DIMS from MH^+ , and (c) DIMS from $(M+Na)^+$.

Fig. 10 Channel plate.

示したように、口径 $10\sim 20\ \mu\text{m}$ のチャンネルトロンを無数に束ねたもので直径 $7\ \text{cm}$ 程度の大きいものまで市販されている。現在、この方式の問題点は測定質量範囲がチャンネルプレートサイズで決められ、あまり広く採れないこと、チャンネルトロンの口径で分解能がおさえられるため高い分解能が得られないことである。このタイプの質量分析装置にはエドマン分解で得られる PTH アミノ酸の高感度 (f mol オーダー) 検出に活用されている¹⁰⁶⁾。

一方、通常の走査型質量分析計においても高分解能、高感度、広い測定質量範囲を同時に達成しようとする試みがなされている^{41, 107)}。即ち、できるだけ広いイオン源スリットを用いると共に立体収束性を持たせて高感度を得、コレクター上に小さな像を結ばせることにより高分解能を得ようとするものであり、今後の発展が期待されている。

質量分析計の感度を議論する場合、使用した試料量に対して何クーロンの電気量の分子イオンが得られたかで表わす絶対感度とスペクトル測定に必要な最少試料量を用いるのが都合が良い。試料の種類にもよるが、多くの場合磁場走査型 MS を用いて FD, FAB, SIMS では $0.1\sim 0.01$ クーロン/mol の値が報告されている。スペクトル測定に必要な最少試料量は多くの場合 $10\sim 100\ \text{ng}$ である。しかし、上述の新しいイオン光学に基づく装置と SIMS モードにおける試料導入の最適化により、従来より 2 桁近い高感度が達成され、 $0.1\sim 10\ \text{ng}$ の試料量でスペクトル測定が可能であることが示された¹⁰⁸⁾。

今後高感度化には上述の装置面での一層の発展に加えてイオン化機構解明によるイオン化効率の向上などが必要になると思われる。

5. おわりに

以上述べてきたように、ここ十年余の間に質量分析分野は目覚しく発展した。この発展はライフサイエンス分野で常に新しい物質に遭遇し、これらを分析したいという強い要求を持った研究者と分析手法開発に携わる研究者とが一体となって勝ち得たものである。今後、更に多

くの種々の性質を持った物質について、迅速に、微量でも多くの情報を与えるような分析手法の開発が求められるであろう。質量分析法がその高感度特性を生かし、これらの要求に応えるべく更に発展することを願う次第である。

(昭和 60 年 6 月 24 日受理)

文 献

- 1) K. Biemann, "Mass Spectrometry", McGraw-Hill (1962)
- 2) M. B. Munson, F. H. Field, *J. Am. Chem. Soc.*, **88**, 2621 (1966)
- 3) 立松 晃, 宮崎 洗, 鈴木真言, 医学と薬学のためのマスマススペクトロメトリー, 講談社 (1975)
- 4) 鈴木真言, 化学の領域, **35**, 875 (1981)
- 5) 松田 久, 科学, **52**, 772 (1982)
- 6) 大橋 守, 応用物理, **51**, 1026 (1982)
- 7) 大橋 守, ぶんせき, **3**, 184 (1983)
- 8) 神原秀記, 油化学, **32**, 524 (1983)
- 9) 櫛 泰典, 飯田静夫, 油化学, **32**, 533 (1983)
- 10) 松田 久, 質量分析, **33**, 1 (1985)
- 11) H. D. Beckey, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, **2**, 500 (1969)
- 12) H. D. Beckey, "Principles of Field Ionization and Field Desorption Mass Spectrometry", Pergamon, Oxford (1977)
- 13) H. R. Shulten, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, **32**, 97 (1979)
- 14) D. F. Torgerson, R. P. Skowronski, R. D. Macfarlane, *Biophys. Res. Commun.*, **197A**, 616
- 15) R. D. Macfarlane, *Anal. Chem.*, **55**, 1247 A (1983)
- 16) R. D. Macfarlane, D. Uemura, K. Ueda, Y. Hirata, *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 876 (1980)
- 17) P. Hakansson, I. Kamensky, B. Sundqvist, J. Fohlman, P. Peterson, C. J. McNeal, R. D. Macfarlane, *ibid.*, **104**, 2948 (1982)
- 18) M. A. Posthumus, P. G. Kistemaker, H. L. C. Meuzelaar, M. C. TenNoever de Brauw, *Anal. Chem.*, **50**, 985 (1978)
- 19) D. H. Hercules, R. J. Day, K. Balasanmugan, T. A. Dang, C. P. Li, *ibid.*, **54**, 280 A (1982)
- 20) F. Hillenkamp, "Ion Formation from Organic Solids" (A. Benninghoven, ed.) Springer-Verlag, Berlin, p. 190 (1982)
- 21) A. Benninghoven, D. Jaspers, W. Sichtermann, *Appl. Phys.*, **11**, 35 (1976)
- 22) H. Kambara, S. Hishida, *Org. Mass Spectrom.*, **16**, 167 (1981); *Anal. Chem.*, **53**, 2340 (1981)
- 23) K. L. Busch, R. G. Cooks, *Science*, **218**, 247 (1982)

- 24) H. Kambara, Y. Ogawa, K. Mochizuki, S. Hishida, 質量分析, **30**, 169 (1982)
- 25) W. Aberth, K. M. Straub, A. L. Burlingame, *Anal. Chem.*, **54**, 2029 (1982)
- 26) D. J. Surman, J. C. Vicherman, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1981**, 324
- 27) M. Barber, R. S. Bordoli, R. Donald Sedgwick, A. N. Tyler, *ibid.*, **1981**, 325
- 28) M. Barber, R. S. Bordoli, G. J. Elliott, R. D. Sedgwick, A. N. Tyler, *Anal. Chem.*, **54**, 645 A (1982)
- 29) K. L. Rinehart, Jr., *Science*, **218**, 254 (1982)
- 30) A. Dell, H. R. Morris, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **106**, 1456 (1982)
- 31) P. Hakansson, I. Kamensky, J. Kjellberg, B. Sundqvist, *ibid.*, **110**, 519 (1983)
- 32) M. Barber, R. S. Bordoli, G. J. Elliot, N. J. Horock, *ibid.*, **110**, 753 (1983)
- 33) I. Kamensky, P. Hakansson, J. Kjellberg, B. Sundqvist, J. Fohlman, P. A. Peterson, *FEBS Letts.*, **155**, 113 (1983)
- 34) B. Sundqvist, A. Hedin, P. Hakansson, I. Kamensky, J. Kjellberg, M. Salephom, G. Sawe, S. Widdiyasckera, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, **53**, 167 (1983)
- 35) L. S. Forsberg, A. Dell, D. J. Walton, C. E. Ballou, *J. Biol. Chem.*, **257**, 3355 (1982)
- 36) R. D. Macfarlane, *Acc. Chem. Res.*, **15**, 268 (1982)
- 37) C. Fenselau, *Anal. Chem.*, **54**, 105 A (1982)
- 38) T. Matsuo, H. Matsuda, I. Katakuse, *ibid.*, **51**, 1329 (1979)
- 39) H. Matsuda, *Mass Spectrom. Review*, **2**, 299 (1983)
- 40) R. D. Macfarlane, *Anal. Chem.*, **55**, 1247 A (1983)
- 41) D. A. McCrery, E. B. Ledford, M. L. Gross, *ibid.*, **54**, 1435 (1982)
- 42) P. J. Arpino, G. Guiochon, *ibid.*, **51**, 682 A (1979)
- 43) S. Tsuge, Y. Hirata, T. Takeuchi, *ibid.*, **51**, 167 (1979)
- 44) T. P. Fan, E. D. Hardin, M. L. Vestal, *ibid.*, **56**, 1870 (1984)
- 45) 水野恵夫, 東 光土, 貫名義裕, 質量分析, **32**, 285 (1984)
- 46) H. Kambara, *Anal. Chem.*, **54**, 143 (1982)
- 47) C. R. Blakely, M. L. Vestal, *ibid.*, **55**, 750 (1983)
- 48) D. Pilosof, H. Y. Kim, D. F. Dyckes, M. L. Vestal, *ibid.*, **56**, 1236 (1984)
- 49) T. R. Covey, J. B. Crowther, E. A. Dewey, D. J. Henion, *ibid.*, **57**, 474 (1985)
- 50) S. E. Unger, A. Vincze, R. G. Cooks, R. Chrisman, L. D. Rothman, *ibid.*, **53**, 976 (1981)
- 51) T. T. Chang, J. O. Lay, Jr., R. J. Francel, *ibid.*, **56**, 109 (1984)
- 52) F. W. McLafferty, "Tandem Mass Spectrometry", J. Wiley and Sons, New York, 1983
- 53) D. F. Hunt, J. Shabanowitz, T. M. Harvey, M. L. Coates, *J. Chromatog.*, **271**, 93 (1983)
- 54) 松尾武清, 板垣又丕, 交久瀬五雄, 質量分析, **29**, 1 (1981)
- 55) T. Matsuo, I. Katakuse, Y. Tatsumi, M. Hirata, H. Matsuda, 質量分析, **26**, 205 (1978)
- 56) F. W. Röllgen, *Trends in Anal. Chem.*, **1**, 304 (1982)
- 57) K. L. Olson, J. C. Cook, Jr., K. L. Rinehart, Jr., *Biomed. Mass Spectrom.*, **1**, 358 (1981)
- 58) Y. Wada, A. Hayashi, T. Fujita, T. Matsuo, I. Katakuse, H. Matsuda, *Biomed. Biophys. Acta*, **667**, 233 (1981)
- 59) R. E. Honig, J. R. Woolston, *Appl. Phys. Lett.*, **2**, 138 (1963)
- 60) G. J. Q. Van der Peyl, K. Isa, J. Haverkamp, P. G. Kistemaker, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, **47**, 11 (1983)
- 61) R. J. Cotter, J. C. Tabet, *ibid.*, **53**, 151 (1983)
- 62) J. C. Tabet, R. J. Cotter, *Anal. Chem.*, **56**, 1662 (1984)
- 63) 松尾武清, ぶんせき, **1983**, 166
- 64) 梁野 檀, 安盛岩雄編, "表面分析", 講談社サイエンティフィック (1976)
- 65) L. K. Liu, K. L. Busch, R. G. Cooks, *Anal. Chem.*, **53**, 109 (1981)
- 66) W. Ens, K. G. Standing, J. B. Westmore, K. K. Ogilvie, M. J. Nemer, *ibid.*, **54**, 960 (1982)
- 67) K. Morimoto, N. Shimada, H. Naganawa, T. Takita, H. Umezawa, H. Kambara, *J. Antibiotics*, **35**, 378 (1982)
- 68) K. Harada, M. Suzuki, H. Kambara, *Tetrahedron Lett.*, **23**, 2481 (1982)
- 69) M. Shimamura, T. Endo, Y. Inoue, S. Inoue, H. Kambara, *Biochemistry*, **23**, 317 (1984)
- 70) M. Barber, R. S. Bordoli, R. D. Sedgwick, A. N. Tyler, E. T. Whalley, *Biomed. Mass Spectrom.*, **8**, 337 (1981)
- 71) M. Barber, R. S. Bordoli, R. D. Sedgwick, A. N. Tyler, G. V. Garner, D. B. Gordon, L. W. Tetler, R. C. Hider, *ibid.*, **9**, 265 (1982)
- 72) G. R. Fenwick, J. Eagles, R. Self, *Org. Mass Spectrom.*, **17**, 544 (1982)
- 73) D. H. Williams, C. Bradley, G. Bojesen, S. Santikarn, L. C. E. Taylor, *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 5700 (1981)
- 74) S. A. Martin, C. E. Costello, K. Biemann, *Anal. Chem.*, **54**, 2362 (1982)

- 75) R. Self, A. Perente, *Biomed. Mass Spectrom.*, **10**, 78 (1983)
- 76) H. Kambara, "Ion Formation from Organic Solids" (A. Benninghoven ed.) Springer, p. 101-106 (1983)
- 77) H. Kambara, *Org. Mass Spectrom.*, **17**, 29 (1982)
- 78) D. F. Barofsky, U. Giessmann, A. E. Bell, L. W. Swanson, *Anal. Chem.*, **55**, 1318 (1983)
- 79) A. Dell, J. E. Oates, H. R. Morris, H. Egge, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, **46**, 415 (1983)
- 80) K. Harada, M. Suzuki, H. Kambara, *Org. Mass Spectrom.*, **17**, 386 (1982)
- 81) K. Harada, F. Ochiai, M. Suzuki, H. Kambara, *ibid.*, **18**, 448 (1983)
- 82) A. Benninghoven, ed. "Ion Formation from Organic Solids" Springer Series in Chemical Physics **25**, Springer-Verlag, Berlin, 1983
- 83) M. E. Hemling, J. C. Cook, Jr., K. L. Rinehart, Jr., K. Olson, 30th Ann. Conf. Mass Spectrom. and Allied Topics, Honolulu, HI, June, 564 (1982)
- 84) H. Kambara, Proceedings of Int. Symp. Mass Spectrom. in Health and Life Sciences. (1984) (to be published)
- 85) A. L. Burlingame, J. O. Whitney, D. H. Russell, *Anal. Chem.*, **56**, 417 R (1984)
- 86) K. B. Tomer, F. W. Crow, M. L. Gross, K. D. Kopple, *ibid.*, **56**, 880 (1984)
- 87) F. W. Grow, K. B. Tomer, M. L. Gross, *Mass Spectrom. Res.*, **2**, 47 (1983)
- 88) S. Seki, H. Kambara, H. Naoki, *Org. Mass Spectrom.*, **20**, 18 (1985)
- 89) D. H. Williams, C. Bradley, S. Santikarn, G. Bojesen, *Biomed. J.*, **201**, 105 (1982)
- 90) H. R. Morris, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, **45**, 331 (1982)
- 91) K. Biemann, *ibid.*, **45**, 183 (1982)
- 92) A. Dell, H. R. Morris, H. Egge, H. von Nicolai, G. Strecker, *Carbohydr. Res.*, **115**, 41 (1983)
- 93) A. Dell, J. E. Oates, C. E. Ballon, "Glycoconjugates" (M. A. Chester, D. Heinegard, A. Lundblad, S. Svenson eds.) Proc. 7th Internat. Symposium on Glycoconjugates, Lund-Ronneby, Sweden, pp 137-138 (1983)
- 94) V. N. Rinehart, S. A. Carr, *Mass Spectrom. Revs.*, **2**, 153 (1983)
- 95) 神原秀記, 質量分析, **27**, 212 R (1979)
- 96) H. Kambara, *The Hitachi Scientific News*, No 3/4, **14** (1980)
- 97) T. Matsuo, H. Matsuda, I. Katakuse, *Anal. Chem.*, **53**, 416 (1981)
- 98) S. D. Nelson, Y. Vaishnav, H. Kambara, T. A. Baillie, *Biomed. Mass Spectrom.*, **8**, 244 (1981)
- 99) H. Kambara, Y. Ogawa, S. Seki, *Springer Ser. Chem. Phys.*, Vol. 36, Ed. A. Benninghoven, pp 383 (1984)
- 100) R. Weber, K. Leusen, G. J. Louter, A. J. Henk, A. J. H. Boerboom, J. Haverkamp, *Anal. Chem.*, **54**, 1458 (1982)
- 101) H. T. Chens, G. H. Kruppa, F. W. McLafferty, D. A. Cooper, *ibid.*, **54**, 2204 (1982)
- 102) D. F. Hunt, A. B. Giordani, G. Rhodes, D. A. Herold, *Clinical Chem.*, **28**, 2387 (1982)
- 103) A. Benninghoven, E. Niehuis, T. Fries, D. Graifendorf, P. Steffens, *Org. Mass Spectrom.*, **19**, 346 (1984)
- 104) H. F. Boettger, C. E. Giffin, D. D. Norris, "Multichannel Image Detectors" (Y. Talmi ed.) *A. C. S. Symp. Ser.*, No. 102, American Chemical Society, Washington D. C., 291 (1979)
- 105) H. H. Tuithof, A. J. H. Boerboom, H. L. C. Meuzelaar, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, **17**, 299 (1975)
- 106) M. Hunkapiller, S. Kent, M. Caruthers, W. Dreyer, J. Firca, C. Giffin, S. Horvath, T. Hunkapiller, P. Tempst, L. Hood, *Nature*, **310**, 105 (1984)
- 107) H. Matsuda, *Jpn., J. Appl. Phys.*, **20**, L 825 (1981)
- 108) H. Kambara, Proceedings of International Symposium on Mass Spectrometry for Health and Life Sciences, in press (1985)

API : atmospheric pressure ionization

B : magnetic sector

CI : chemical ionization

CID : collision-induced dissociation

D/CI : desorption chemical ionization

E : electric sector

EI : electron ionization

: 大気圧イオン化

: 扇形磁場

: 化学イオン化

: 衝突解離

: 脱離化学イオン化

: 扇形電場

: 電子衝撃イオン化

FAB : fast atom bombardment	: 高速原子衝撃
FD : field desorption	: 電界脱離
FI : field ionization	: フィールドイオン化
FTMS : Fourier transform mass spectrometry	: フーリエ変換質量分析法
GC/MS : gas chromatograph/mass spectrometer	: ガスクロマトグラフ質量分析計
HRMS : high resolution mass spectrometry	: 高分解能質量分析法
LC/MS : liquid chromatograph/mass spectrometer	: 液体クロマトグラフ質量分析計
LD : laser desorption	: レーザー脱離
LS : linked scan	: リンク走査
MS/MS : mass spectrometer/mass spectrometer	: タンデム型質量分析計
PD : plasma desorption	: プラズマ脱離
QMS : quadrupole mass spectrometer	: 四重極質量分析計
SID : selected ion detection	: 選択イオン検出
SIMS : secondary ion mass spectrometry	: 二次イオン質量分析法
TLC/MS : thin-layer chromatograph/mass spectrometer	: 薄層クロマトグラフ質量分析計
TOF : time of flight mass spectrometry	: 飛行時間型質量分析法

次 号 予 定

巻 頭 言

雑感 [あたらしく企業の化学研究にたずさわろうとする人へ]	前 田 繁 雄
総説および総合論文	

研究生活 50 有余年、その些細な成果	小 田 良 平
スクレオシドおよびヘキソピラノシドの位置選択的炭素鎖延長反応	光 延 旺 洋 木 村 純 二
ステロイド合成の新展開	高 橋 孝 志
抗生物質全合成における Symmetrization-asymmerization Concept	大 野 雅 二 小 林 正 進 栗 原 明
シクロデキストリンを用いた選択性の高い合成反応	小宮山 真史 平 井 英 史
低級オレフィンからガソリンの高選択的合成	乾 智 行

新しい試薬

スズ (II) = トリフラート	岩 澤 伸 治 向 山 光 昭
------------------------	--------------------

ケミカルス覚え書き

ヒドラジン	後 藤 幸 文
ソルビン酸	土 屋 寛 明

十 字 路

励起子キラリティー法 }	高 橋 孝 志
Felkin モデル	
σ -Symmetry と C_1 -Symmetry	大 野 雅 二
Schulz-Flory 重合確率則	乾 智 行
REVINDEX, 新しい合成ほか	