

論文内容の要旨

論文題名 バイオ分子分析に向けた RF イオントラップ質量分析装置に関する研究

Research on RF ion trap mass spectrometer for bio-molecule analysis

氏名 橋本 雄一郎

1 序

この 10 年間、質量分析の最も目立ったアプリケーションとして発展したのものとして、タンパク質の網羅的解析、いわゆる「プロテオミクス」が挙げられる。プロテオミクスはタンパク質の構造や機能に着目した包括的なタンパク質研究と位置づけることができ、この単語は、ゲノミクスから想起されたものである。ゲノムが殆ど不変であるのに対して、プロテオームは環境により絶えず変化しており、組織により発現が大きく異なる。プロテオミクスの研究により、将来的に様々な疾病のメカニズムが解明されることが期待されている。プロテオームは希少量しか存在しない上、ゲノムのように化学的増幅が不可能であること、また、翻訳後修飾に起因して種類が多い（ゲノム 30,000 種に対し、タンパク質は 2,000,000 種と見積もられている）ことから分析が難しいことが知られている。従来、エドマン法などの化学反応を利用した配列解析が主流であったが、解析速度が遅く（1 配列/1 時間）、タンパクの網羅的な解析は不可能と考えられていた。これに対し、1995 年に質量分析でタンパク質の配列を決定する手法が提案された。ここでは 10 残基配列程度のペプチドが 1 秒程度で配列決定ができるため、約 10,000 倍の高速化が可能との見通しが示された。しかし、当時の質量分析技術では、分析できるタンパク質は量的に多いものや翻訳後修飾を受けていない単純な構造のものに限られていたため、この後、様々な質量分析技術の開発が進行した。

一方、このような応用に先立って 1980 年代後半、ソフトイオン化方法（エレクトロスプレーイオン化（ESI）、マトリックス支援レーザーイオン化（MALDI）など）が開発された。これにより、今まで困難とされていた生体内の高分子のイオン化が可能となった。更にプロテオ

ーム解析に適用するため、質量分析部での同定には今まで以上に高い質量精度（分解能）や高度な解離物分析（MS/MS 分析）が必須となった。著者は、プロテオーム解析に必要な質量分析部の諸課題を解決するため、RF イオントラップ質量分析技術に関する下記の研究を行った。

2 四重極 RF イオントラップ内での赤外多光子解離の研究

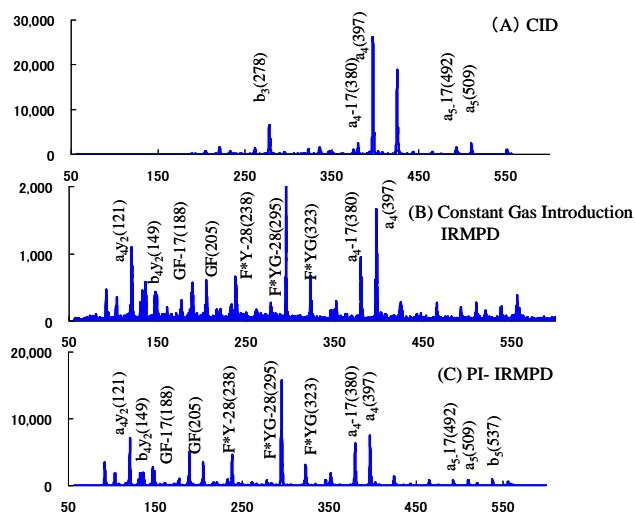
2. 1 四重極 RF イオントラップにおける衝突励起赤外多光子解離

四重極 RF イオントラップ内部での赤外多光子解離は衝突誘起解離に比較し、低質量のフラグメントイオンが検出されるメリットがある反面、感度の著しい低下というデメリットを招いていた。レーザー光のフォーカスと衝突励起を併用することにより、0.1 mTorr 以下でしか報告例が無かった多光子解離が、RF イオントラップの標準的圧力である 2-8 mTorr でも進行することが分かった。これを利用することにより、従来方式より数倍高感度な赤外多光子解離が可能となった。

2. 2 四重極 RF イオントラップにおける高感度、高ダイナミックレンジをもつ赤外多光子解離

高速スイッチングが可能なソレノイドバルブを利用し、トラップ時と解離時のトラップ内部の圧力を高速（約 5 ms）で切り替えることにより、従来方式より 10 倍程度、感度を向上することができた（図 1）。また、共鳴励起を利用して特定質量範囲のイオン軌道を操作することにより、一度解離したイオンの追分解が抑制できることも確認した。

図 1 マススペクトル 親イオン[YGGFL+H]⁺、(A) 衝突誘起解離 (B) 従来の赤外多光子解離 (C) 2. 2 の方式による赤外多光子解離

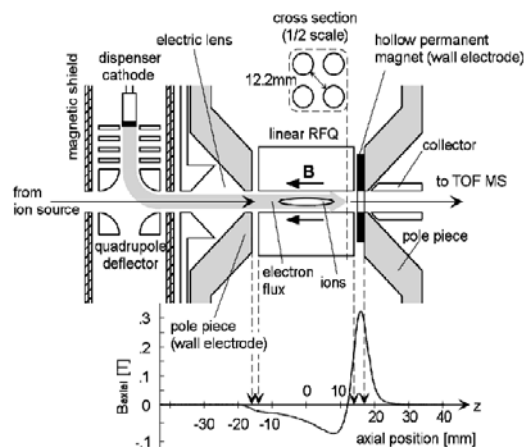


3 RF リニアイオントラップでの電子捕獲解離の研究

電子捕獲解離は一般的な解離手法である衝突誘起解離に対し相補的なフラグメントパターンが得られる。しかし、RF イオントラップ内では電子のヒーティングにより、イオンへの電子

捕獲効率が低い問題があった。リニアイオントラップの軸方向に 50 mT 程度の磁場を印加し、軸方向から電子を入射すること（図 2 参照）により、低エネルギー（<1 eV）の電子入射を効率的に実現することにより、リニアイオントラップ内での電子捕獲解離が進行することが分かった。

図 2 電子捕獲解離を実現する RF リニアイオントラップの装置構成図



4 RF イオントラップと飛行時間型質量分析計との結合方式の研究

4. 1 衝突ダンピング室を用いた直交トラップ飛行時間質量分析計

従来、MS/MS 分析可能な RF イオントラップと高質量分解能が可能な直交飛行時間型質量分析計の結合には多くのイオンロスが生じ、感度低下を招いていた。両者の間に 50-100 mTorr 程度のヘリウム圧力下に RF イオンガイドを配した衝突ダンピング室を設置することにより、イオンが衝突ダンピング室内で位置的にもエネルギー的にも収束する効果を見出し、高感度かつ高ダイナミックレンジを得ることができた。この結果、高感度、高質量分解能な MS/MS 分析が可能となった。

4. 2 高質量選択性を有する 2 連リニアイオントラップ直交飛行時間型質量分析計

四重極 RF イオントラップをリニアイオントラップに置き換えることにより、10 倍の感度向上に成功した。また、この装置構成において、リニアイオントラップの圧力を低下させることによりダンピングの影響を抑制し、前駆体イオンの高い質量選択性が得られることを併せて実証した。また、衝突ダンピング室の終端レンズの電圧を制御することにより、数倍の感度向上効果が得られることが分かった。

4. 3 軸方向共鳴励起を用いた質量選択的排出

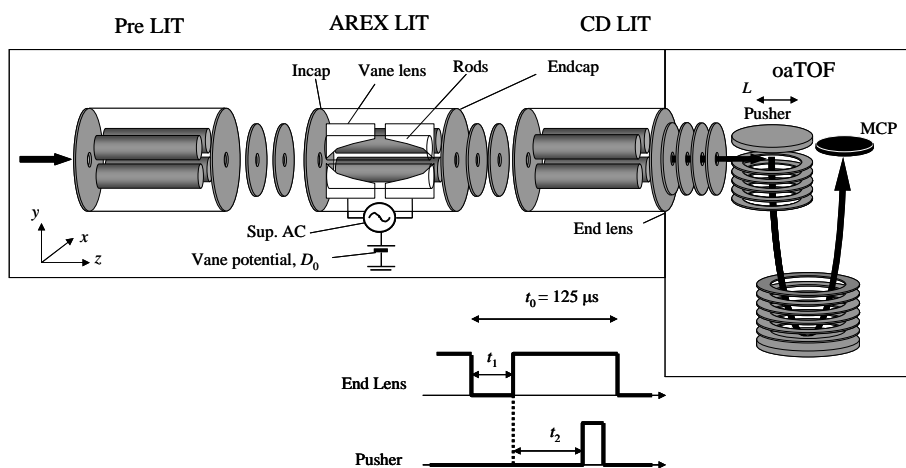
リニアイオントラップに羽根電極を挿入することにより軸方向に調和 DC ポテンシャルを形成することができることを電場シミュレーションにより示した。このポテンシャルを利用することにより、従来のリニアイオントラップからの質量選択的排出方式の 3 倍以上である 60 %

の高い排出効率が得られた。また、本方式の排出メカニズムについて考察した。

4. 4 軸方向共鳴励起リニアイオントラップを用いた直交飛行時間質量分析計の感度向上

従来、直交飛行時間質量分析計では、高い感度が得られる質量範囲が制限されていた。先に述べた軸方向共鳴励起リニアイオントラップを直交飛行時間質量分析計に結合し、これと飛行時間型質量分析計の加速タイミングと同期した制御を行うことにより（図3参照）、広い質量範囲（ m/z 150 から m/z 2000）において高感度な測定（検出効率 60 %以上）が可能となった。

図3：本手法の装置構成図



5 まとめ

本研究では、RF イオントラップ質量分析装置を用いたバイオ分析手法の開発を行った。RF イオントラップ内部で不可能であった高度な MS/MS 分析（赤外多光子解離、電子捕獲解離）を高効率に実現した。また、効率的な反応デバイスである RF イオントラップと高い質量分解能が得られる飛行時間型質量分析計を極めて効率良く結合する独自手法を開発した。今後、これらの手法が、プロテオームを始めとした生体分子の解析に広く利用されていくものと確信している。