

MALDIとLI/LDの違いは何か？

マトリックス支援レーザー脱離イオン化法Matrix Assisted Laser Desorption / Ionization (MALDI)は、Electro-Spray Ionization (ESI)と並び 極めて広範囲の化合物をソフトにイオン化する手法であり、質量分析におけるイオン化法の2大手法として幅広く用いられていますが、その発明から20年以上経過した現在でも、そのメカニズムが十分に解明されていません。Matrixと呼ばれる化合物と試料・不純物が複雑に混合した中にレーザー光エネルギーが一瞬(数ns)の間だけ極所に注入され、多種多様な化学反応・物理現象が発生するため、最新の理論やシミュレーション技術を用いても全容を解明することが困難だからです。

本解説書では、理論面での詳細・厳密な説明は行いません。よりシンプルな(狭義の)レーザーイオン化から説き起こすことにより、**MALDIを活用していただくための基礎的なガイダンス**となるようにまとめました。

1. Laser Ionization (LI) レーザイオン化とは？

(狭義の)レーザーイオン化とは、試料にレーザー光を照射し 試料イオンを生成させる方法であり、光イオン化の一種です。1光子吸収でイオン化する場合を「1光子イオン化」、複数個吸収する場合を「多光子イオン化」と言います。光イオン化の場合は、気相でもイオン化が可能となります。通常、化合物から電子electronやプロトンprotonが取り去られることにより、イオンが生成されます。

MALDIと異なりLIは、基本的にレーザー光が照射されている時間のみのイオン化であるため、時間分解能が高くなります(本説図2、「Pulsed Extractionとは？」図2参照)。

レーザー光は波長が単一であり、複数の化合物の中から特定の化合物のみに光エネルギーを吸収させ(例:MALDIの場合のMatrix)イオン化することも可能です。

2. Laser Desorption (LD) レーザ脱離とは？

レーザー脱離とは、固体・液体試料にレーザー光を照射し、試料を気相に脱離(ガス化)させる方法です。狭義の脱離にはイオン化を含みませんが、広義では含みますので、曖昧さを避けるために LDI (Laser Desorption / Ionization)と表記する場合があります。なお、レーザー照射により固体試料を多量に加熱・溶解・蒸発させる方法 を、Laser Ablationとも呼んでいます。

図1は、LD(LI)による 固体・液体試料の脱離機構を模式化した図です。試料自身がレーザー光エネルギーを吸収するため 単純な機構であり、試料由来以外の不必要なイオン等の発生危険性が低い手法です。しかし、試料自身の内部エネルギーが高くなるため、試料分子が分解する危険性が高くなります。また、積極的に電荷を与える機構を含んでいないため、一般論としてイオン化効率が低い傾向があります。

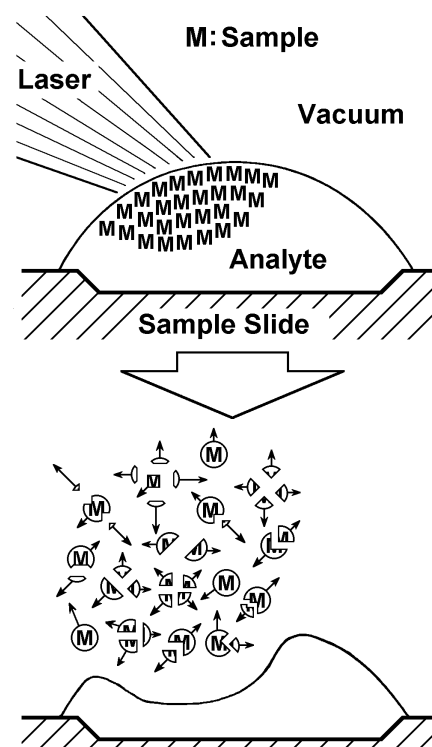
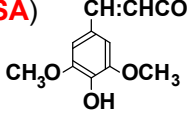
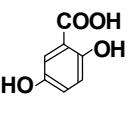



図1 LD法による気相への試料脱離

3. Matrix マトリックスとは？

表1 代表的な有機化合物系マトリックス 特徴比較表

MALDI用の代表的なMatrix	Sinapinic Acid (SA) CH:CHCOOH 	2,5-Dihydroxy Benzoic Acid (DHBA) COOH OH 	α-Cyano-4-Hydroxy Cinnamic Acid (CHCA) CH:C(CN)COOH OH 
Molar Absorptivity (337nm)	14,000	5,600 [吸光度低い]	28,000 [吸光度高い] [∴ 少ないレーザー光量で脱離]
等電点 Isoelectric Point	6.20 (ほぼ中性) [∴ 正負両イオン生成容易]	3.76 (酸性)[H ⁺ を供給] [∴ 主に試料正イオン生成促進]	4.08 (酸性)[H ⁺ を供給] [∴ 主に試料正イオン生成促進]
親水？疎水？	疎水性 (Hydrophobic)	親水性 (Hydrophilic)	疎水性 (Hydrophobic)

(MALDIにおける)マトリックスとは何か？ 厳密な定義は定まっていますが、実質的に「レーザー光を吸収し、試料のイオン化を促進する(有機)化合物」と表記できます。MALDIで多用されている窒素レーザー(λ=337nm)に適したMatrixの中で、代表的な3種類

の特徴を表1に示します。ベンゼン骨格がレーザー光を吸収し、-COOH (カルボキシル基)がH⁺ (proton) 供給体となります。-OH (水酸基)は親水性を高める役割を果たしています。これら官能基の相対位置や数によって、Isoelectric Point (等電点)やHydrophobicity(親水性)が影響されます。

4. Matrix Assisted Laser Desorption / Ionization (MALDI) マトリックス支援レーザー脱離イオン化とは？

MALDIとは、前記したMatrixを用い、レーザー光照射により試料を(分解させずに)イオン化する方法です。

図3に示されるように、試料とMatrixを(均一に)混合した(共晶)部位に凸レンズで集光した(パルス)レーザー光を照射*すると、主にMatrixがレーザー光を吸収し、急激に加熱され、試料はMatrixと共に強制的に(真空中に)脱離させられます。

このとき、試料に対し電子のやり取りがあればラジカル正/負イオンに(1)、Matrix等とプロトンH⁺ (proton)を受け/渡すればプロトン付加/脱離イオンに(2)、不純物として含まれていた(積極的に添加された)カチオン/アニオン(Cation/Anion)が付加すればカチオン/アニオン付加イオンに(3)(主に糖鎖やポリマーのイオン化に適応)、Matrix自身が付加すればマトリックス付加イオンに(4)なります。

MALDIは(ESIと異なり)大部分が1価イオンとして生成されますが、酸性度・アルカリ性度が高い場合(例:CHCAの使用)や、電荷が複数個付加し易くなる高分子化合物試料などは、多価イオン(n≠1)も生成し易くなります。

- (1) $M \rightarrow M^+ + e^-$ ----- ラジカル正イオン発生
 $M + e^- \rightarrow M^-$ ----- ラジカル負イオン発生
- (2) $M + nH^+ \rightarrow [M+nH]^n$ ----- **プロトン付加**した(多価)イオン発生
 $M - nH^+ \rightarrow [M-nH]^n$ ----- **プロトン脱離**した(多価)イオン発生
- (3) $M + nC^+ \rightarrow [M+nC]^n$ ----- **カチオン付加**した(多価)イオン発生
 $M + nA^- \rightarrow [M+nA]^n$ ----- アニオン付加した(多価)イオン発生
- (4) $M + mH^+/C^+ \rightarrow [M+mH/C]^+$ --マトリックス付加した 正イオン発生
 $M + m-H^- \rightarrow [M+m-H]^-$ ----- マトリックス付加した 負イオン発生
- C⁺: カチオン、A⁻: アニオン、M: サンプル分子、e⁻: エレクトロン
 m: マトリックス分子、H⁺: プロトン、n: 自然数

参) 試料に電離容易な官能基(例:-COOH, -PO₄H)がある場合、Cation (Na⁺, K⁺, ...) / Anion (Cl⁻, ...) の存在量とProton濃度との兼ね合いで、[M-nH+(n+1)C]⁺に類するイオンが生成される場合があります。

*: レーザ光は1~100μm程度に絞って照射されるため、生体試料等のMapping / Imagingにも活用できます。しかし、局所での混合具合・表面状態等にイオン化が影響されることや、全部をイオン化していないこと(定量性の低さ)に注意する必要があります。

MALDIは、(LI/LDと異なり)Matrixから試料へのエネルギー・電荷の受け渡しが不可欠であり、固体の場合は「試料とMatrixの均一な混合結晶」作成が必要条件となります。そのためには、例えば 親水/疎水性度や化合物形状等に関し、試料とMatrixの親和性が高いことが効率を高めることとなります。

通常MALDIはソフトなイオン化が求められます。すなわち 理想的には、少なくとも(イオン化に必要な部位以外の)共有結合を破壊せず(酸化・還元を行わず) 不必要な化合物の付加が発生せず、脱離した試料分子全てが(単一種類の)電荷を持つべきである、となります。

こぼれ話: MALDIとSoft Laser Desorption (SLD)の違いは？

MALDIはドイツのHillenkamp, Karas両博士によって1985年に発明されました。文字通り、添加した(有機)化合物の支援によってイオン化する手法です。発明当初は、ペプチド等の低・中分子量のイオン化促進効果が確認されていました。これに対しSoft Laser Desorption (SLD)とは、文字通り「レーザー光を用い 温和に脱離(イオン化)する概念・方法の総称」である、と考えられます。すなわち、MALDI, SELDI, DIOS等を含んでいる、と解釈できます。

参照) ノーベル賞公式Webサイト<<http://nobelprize.org/>> 2002年受賞理由説明

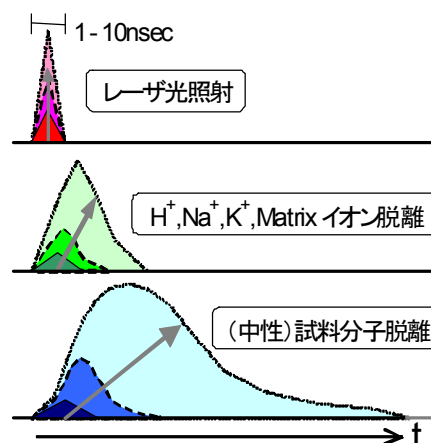


図2 MALDI法における脱離過程

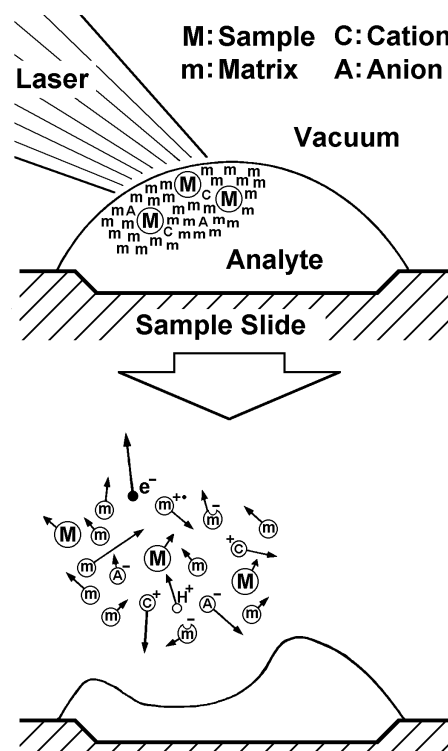


図3 MALDI法による固体または液体試料の気相への脱離