

○小寺 慶・小林俊則・関谷禎規・狭間一・岩本慎一・田中耕一 株式会社島津製作所 田中最先端研究所

○Kei Kodera, Toshinori Kobayashi, Sadanori Sekiya, Makoto Hazama, Shinichi Iwamoto, Koichi Tanaka

Koichi Tanaka Laboratory of Advanced Science and Technology, Shimadzu Corporation

1. 序論

MALDI イオン源を用いた飛行時間型質量分析装置において、遅延パルス引出し法は分解能を向上させるために一般的に用いられる手法である。この手法は、レーザー照射後の一定時間、イオンを自由飛行させて空間分布を広げ、その後パルス電圧を印加して初速のばらつきを補償する手法である。MALDI において、このような手法が用いられるのはイオン化が狭い領域で起こり、かつイオン化されたイオンの初速のばらつきが大きいというMALDI の特徴によるものである。しかしながら、イオンの初速の平均は質量によらず一定であるというMALDI のもう一つの特徴から、遅延パルス引出し法によって分解能が向上する質量範囲は狭い領域に限られる。これは、初速のばらつきを補償する運動エネルギーが質量とともに増加するために、パルス電圧から最適なエネルギー補償を受けられるのが一部の質量に限られるためである。そこで分解能が向上する質量範囲を広げるために遅延パルス引出し法の改良を行った。

2. 遅延引出し法

2-1. Pre-extraction method

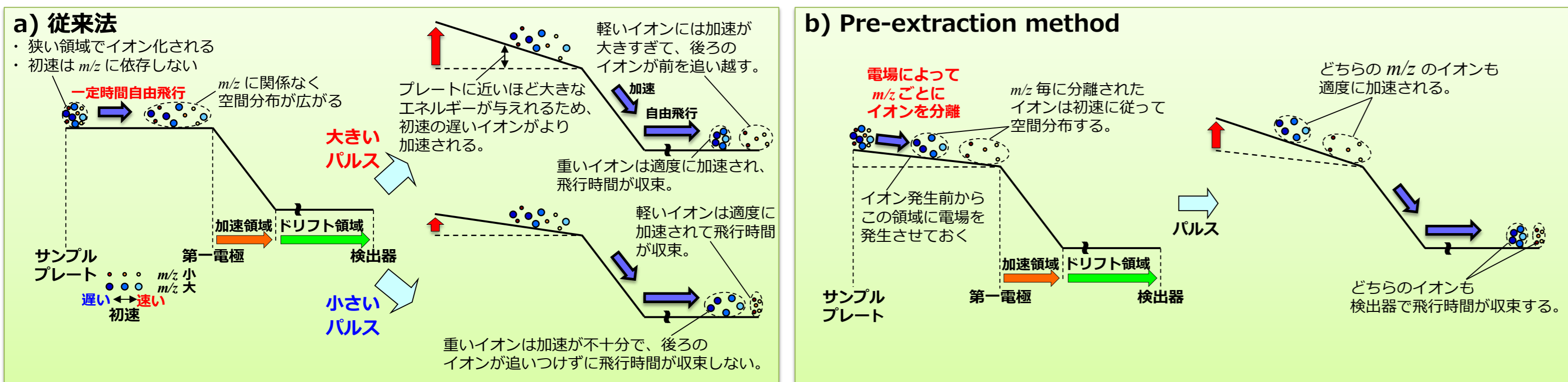


図1. 引出し方法

図1はそれぞれ、a) 従来法 および b) pre-extraction delayed pulse methodを示している。MALDIによるイオン化はイオン初速が質量に依存しないことを特徴としている。そのため、遅延パルスを印加するまでは電場の無い、図1.aではパルス印加時のイオンの空間分布はどの質量のイオンも同じように広がる。しかしながら、検出器入射に飛行時間が収束するために必要はエネルギーは質量に応じて増加する。そのため、適切な加速による高い分解能を得られる質量範囲は狭くなる。一方、図1.bではイオン発生時から電場が存在し、この電場によってイオンは質量毎に分離される。そのため、その後印加されるパルス電圧によって、それぞれの質量毎に適切なエネルギー補償を受けることが出来、高い分解能を得られる質量範囲は広がる。

2-2. 最適な電位分布

パルス電圧印加までにサンプルプレートと第一電極(引出し電極)の間には一様な電場 E_0 が存在するとする。このとき、サンプルプレートから距離 x での電位 $V_0(x)$ はサンプルプレートの電位を V_s とすると、

$$V_0(x) = V_s - E_0 x \quad (1)$$

と表すことができる。

また、初速の平均が v_0 とする時、 $v_0 - \Delta v_0$ と $v_0 + \Delta v_0$ の初速を持つ質量 m のイオンの運動エネルギーの差 ΔK は、

$$\Delta K = \frac{1}{2} m (v_0 + \Delta v_0)^2 - \frac{1}{2} m (v_0 - \Delta v_0)^2 = 2m v_0 \Delta v_0 \quad (2)$$

となる。

このとき、イオン発生時から時間 t_0 経過し、パルス電圧時のイオンの位置 x と速度 v は、

$$x = v_0 t_0 + \frac{1}{2} \frac{q E_0}{m} t_0^2 \quad (3)$$

$$v = v_0 + \frac{q E_0}{m} t_0 \quad (4)$$

と表すことができる。さらに式(3)から質量電荷比 m/q は、

$$\frac{m}{q} = \frac{E_0 t_0^2}{2(x - v_0 t_0)} \quad (5)$$

と表すことができる。

ここで初速 v_0 と $v_0 \pm \Delta v_0$ のイオンの間の距離 $\pm \Delta x$ について考えると、式(3)より $\pm \Delta v_0 t_0$ となる事が分かる。したがって、パルス電圧 $V_p(x)$ が印加された時に得られるポテンシャルエネルギーについて、初速 $v_0 \pm \Delta v_0$ のイオンの間での差 ΔU は、

$$\Delta U = -2\Delta x \times q \frac{d}{dx} V_p(x) = -2q \Delta v_0 t_0 \frac{d}{dx} V_p(x) \quad (6)$$

となる。従って、初速による運動エネルギー差 ΔK を ΔU によって補償する場合、式(2)、(6)から、

$$\frac{d}{dx} V_p(x) = -\frac{m v_0}{q t_0} \quad (7)$$

となる。さらに式(7)に式(5)を代入することにより、

$$\frac{d}{dx} V_p(x) = -\frac{E_0 v_0 t_0}{2} \frac{1}{x - v_0 t_0} \quad (8)$$

が得られる。この式(8)を積分することにより、

$$V_p(x) = -\frac{E_0 v_0 t_0}{2} \ln(x - v_0 t_0) + V_c \quad (9)$$

と $V_p(x)$ を求めることが出来る。従って、パルス電圧印加後の電位は、

$$V_1(x) = V_0(x) + V_p(x) = V_s - E_0 \left\{ x + \frac{v_0 t_0}{2} \ln(x - v_0 t_0) \right\} \quad (10)$$

となる。 V_s' は $V_s' = V_s + V_c$ である。

式(10)は質量電荷比 m/q を含まない。すなわち、式(10)を満たす電位をパルス電圧印加によって与えることが出来る時、全ての質量のイオンに対して初速のばらつきに対する補償を行うことが出来る。

ただし、この場合、同じ質量のイオンはドリフト領域を初速の違いに関係なく、同じ速度で飛行するため、検出器入射時の飛行時間収束は出来ない。しかしながら、時間収束する理想的な電位分布が式(10)を含むことは明らかである。

そのため、より広い質量範囲で高い分解能を得るには式(10)のような非線形な電位分布が必要となる。

そこで、図2に示すように第二引出し電極を設け、より広い範囲で理想的な電位分布を近似出来るようにした。これにより、MALDIを用いた飛行時間型質量分析装置においてより広い質量範囲で高い分解能を得ることが期待される。

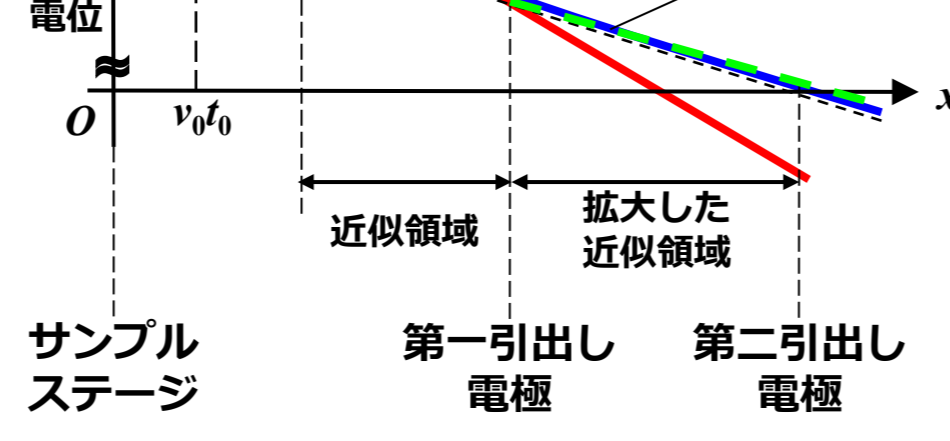


図2. 理想的な電位分布とその近似

3. 実験結果

図3は従来法と新規法の比較を行った実験系を示しており、約1.2 mのリニアTOF-MSである。この装置で印加電圧を表1に示すように変えることで、従来法および新規法(Method 1, 2)の分解能が高くなる質量範囲を比較した。測定は7-mix peptidesとPMMAを用いて行い、図5,6はそのMSスペクトルを示している。図4, 7はその測定結果を示している。また、図8はMethod 2の較正質量の精度を示している。

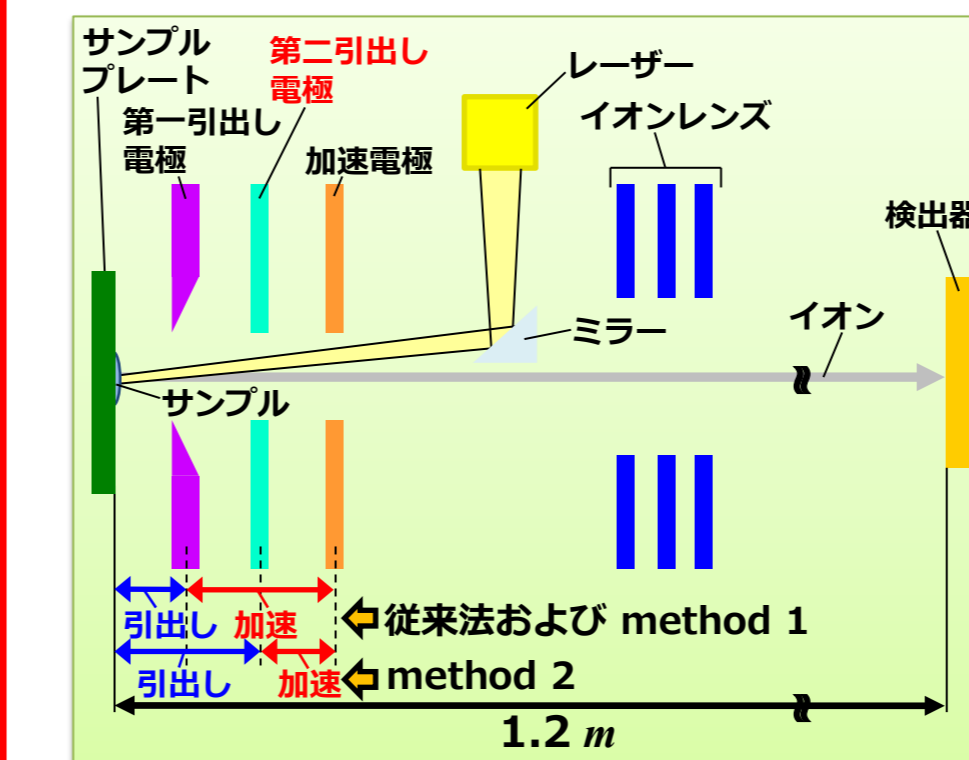


図3. 装置概略図

表1. それぞれの引き出し方法における電圧設定

	サンプルプレート			第一引出し電極			第二引出し電極 (kV)	加速電極 (kV)
	初期 (kV)	パルス (V)	遅延 (ns)	初期 (kV)	パルス (V)	遅延 (ns)		
従来法	18.0	1430	730	18.66	-	-	4.7	0
Method 1	18.0	1050	400	17.5	-	-	6.0	0
Method 2	17.9	1750	790	17.0	1000	790	16.5	0

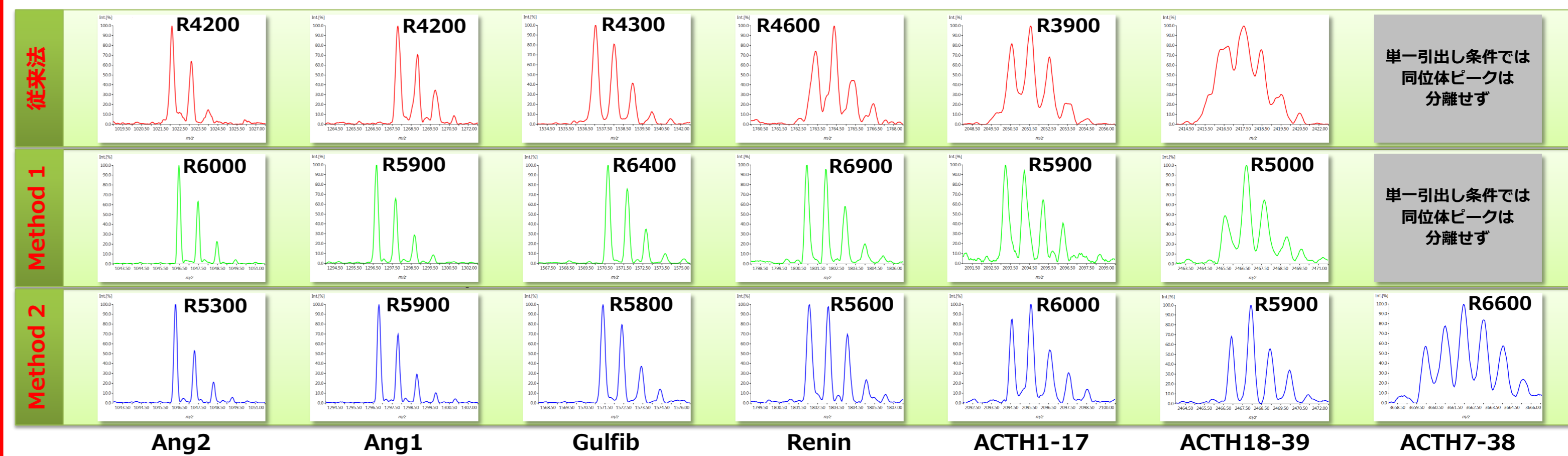


図4. それぞれの引出し方法における各ピーク

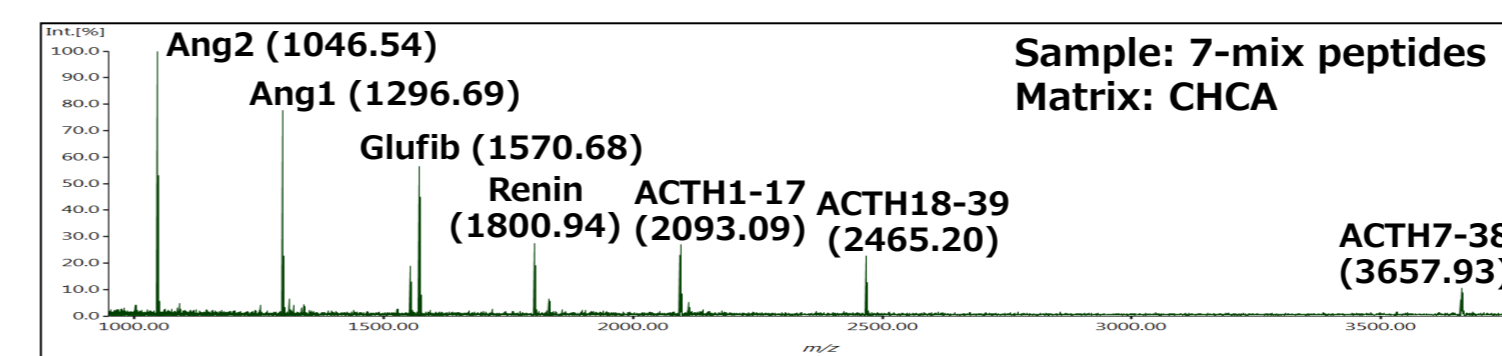


図5. 7-mix peptidesのMSスペクトル

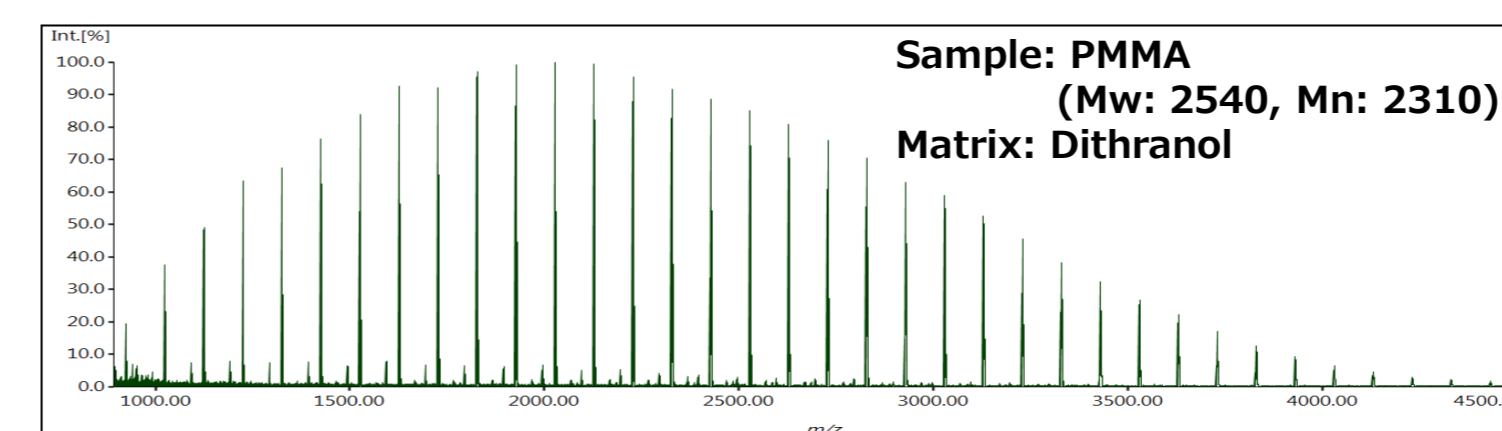


図6. Poly(methyl methacrylate) (PMMA) のMSスペクトル

図4にあるように従来法ではAng2~ACTH1-17の間でしか分解能 4000以上を得られていないのに対して、Method 1ではACTH18-39まで分解能 5000を超えた。さらにMethod 2では他の方法では分離が得られなかったACTH7-38でも同位体ピークが分離した。

また、PMMAの測定では、図7にあるように分解能 3000を超える範囲は従来法と比べてMethod 1, 2でそれぞれ1.5倍、2.5倍となった。しかも、従来法では分解能は5000に達していないのに対して、新規法では広い範囲で5000を超えた。

質量精度については、図8に示すように2点での較正では真値とのずれが大きかった。しかしながら、較正点を5点に増やして較正範囲を細かく区切ることでずれを50 ppm程度にすることが出来た。なお、図8のデータを取得するのにあたって、表1に示したパラメータを若干調整した。

4. 結論

- MALDI-TOF MSにおいて分解能が高くなる質量範囲を広げるため、非線形な電位分布のパルス電圧を印加する新規遅延引出法を開発した。
- 実験により、新規開発法を用いた場合に分解能が高くなる質量範囲は従来法の2.5倍になることを確認出来た。
- 2点で較正を行うと真値とのずれが非常に大きくなった。しかし、較正点を5点にすることでこのずれは50 ppm程度に抑えることが出来た。

謝辞

本研究は、日本学術振興会の最先端研究開発支援プログラムより助成を受けて行われたものである。

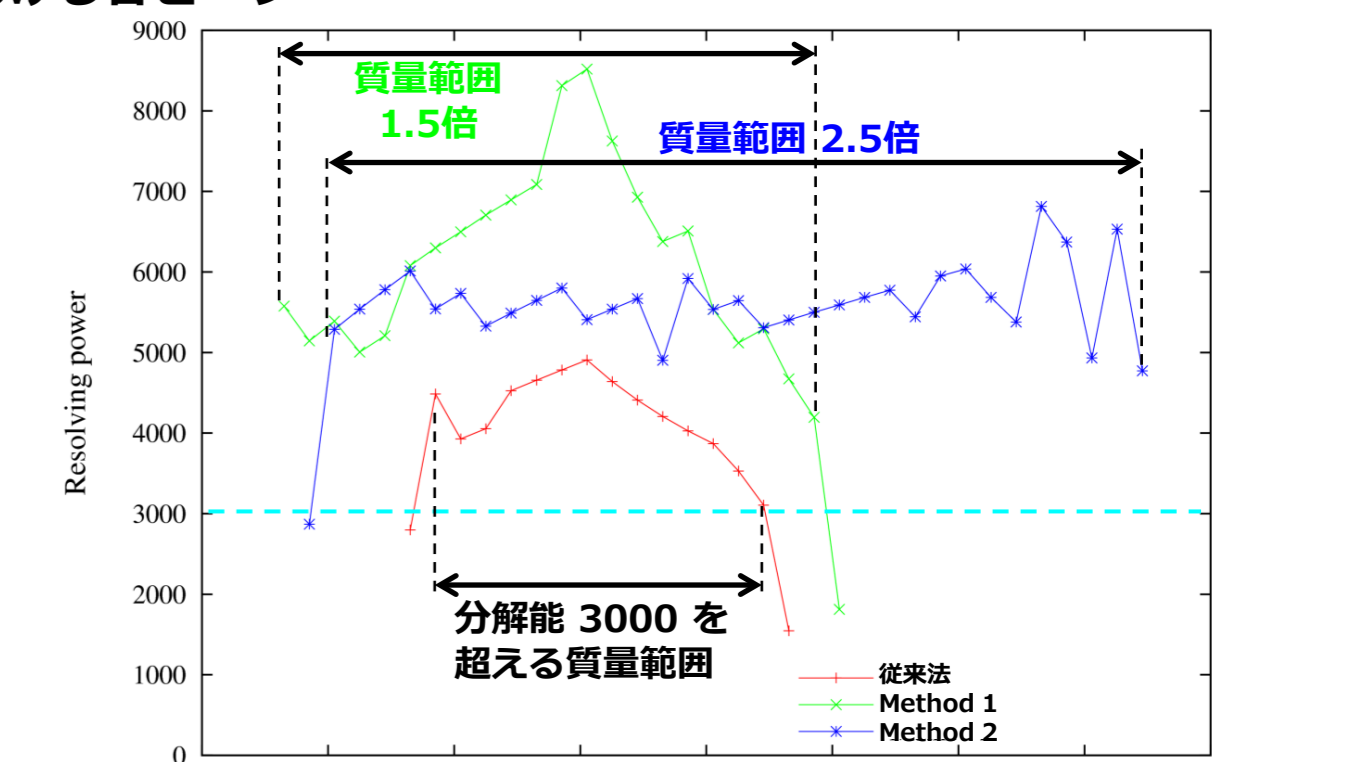


図7. それぞれの引出し方法での各PMMAのピークの分解能

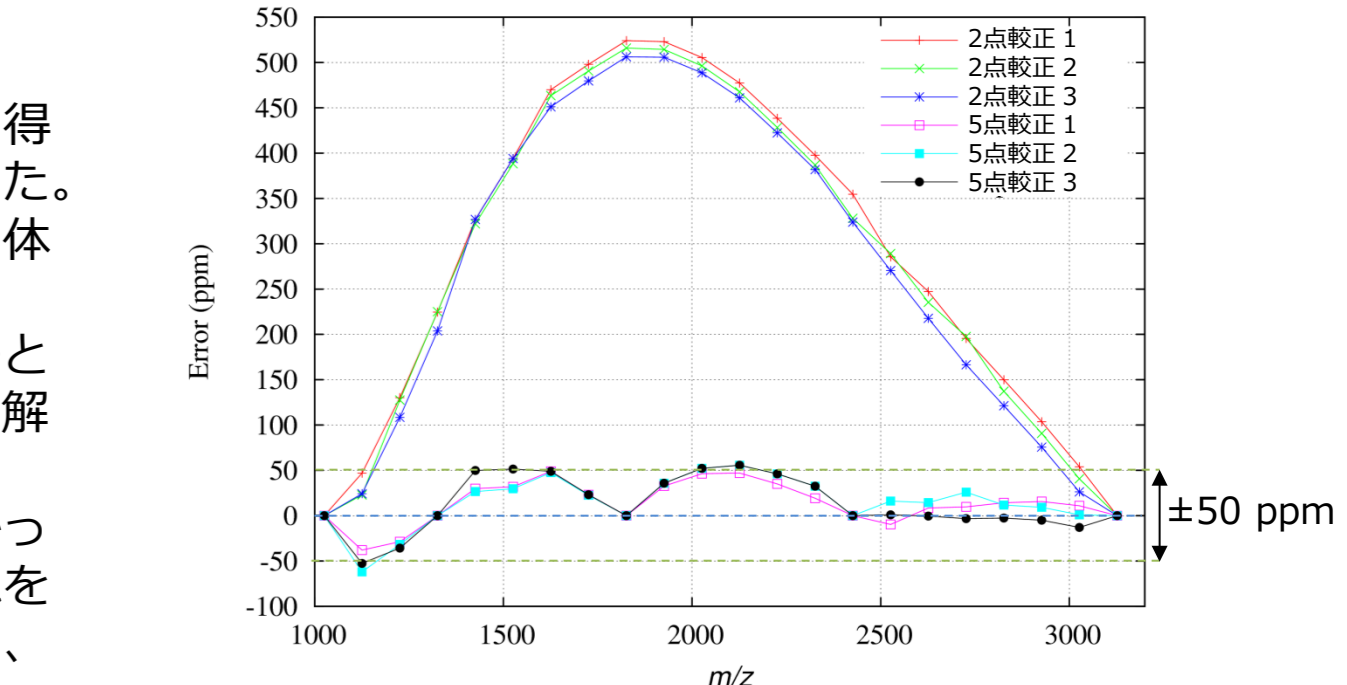


図8. Method 2における各PMMAのピークの誤差