

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 25 日現在

機関番号：82626

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2010～2013

課題番号：22246056

研究課題名(和文)超伝導ナノストリップライン分子検出器による巨大分子質量分析

研究課題名(英文) Mass spectrometry for high-mass molecules using superconducting nano-strip line detectors

研究代表者

大久保 雅隆 (Ohkubo, Masataka)

独立行政法人産業技術総合研究所・つくばイノベーションアリーナ推進本部・上席イノベーションコーディネータ

研究者番号：60356623

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 36,000,000円、(間接経費) 10,800,000円

研究成果の概要(和文)：超伝導ナノストリップイオン検出器(SSID)を開発し、単一イオンに対して、1 nsのパルス幅、1 cm有感面積での分子量に依存しないイオン検出を実現した。超伝導トンネル接合検出器が0.3 K動作であるのに対して、SSIDは、実装が容易な4 K(液体ヘリウムの供給を必要としない冷凍機)で動作する。

SSIDの出力パルスからイオンの飛行時間を計測するために、単一磁束量子を使った超伝導デジタル回路(SFQ)による時間-デジタル変換回路(TDC)の開発した。SSIDとSFQ-TDCを組み合わせて、4 Kにてアナログ信号を処理し飛行時間をデジタル信号に変換し、室温に取り出すことにはじめて成功した。

研究成果の概要(英文)： Ion detection at 1 ns pulse width for single ions and 1 cm sensitive area has been realized with superconducting nano-strip ion detector (SSID). Superconducting tunnel junction detectors operate at 0.3 K, whereas SSID operate at 4 K that can be reached by using a pulse tube cooler without liquid helium supply.

In order to measure time-of-flight of ions, we developed superconducting time-to-digital converter (TDC) using single flux quantum (SFQ). With a combination of SSID and SFQ-TDC, analog pulse signal can be converted to digital signal that is transmitted to room temperature.

研究分野：工学

科研費の分科・細目：電気電子工学・計測工学

キーワード：超伝導検出器 質量分析 単一磁束量子 先端計測 ペプチド タンパク質 生体分子 飛行時間

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 質量分析法は、マトリクス支援レーザー脱離イオン化(Matrix Assisted Laser Desorption Ionization: MALDI)やエレクトロスプレーイオン化(Electrospray Ionization: ESI)といった生体分子を壊すことなくイオン化できる手法が確立されてから、低分子イオンのみならず生体高分子へ質量分析を応用することが可能となった。これにより、プロテオミクス等のライフサイエンスの学問分野が飛躍的に発展した。質量分析装置の中でも、飛行時間型(TOF-MS)は、原理的に分析可能な分子量の制限がないという特徴を有するため、広い分子量域をカバーできる。

(2) しかしながら、イオンの飛行時間を測定するために必要な分子の到来を検出する分子検出器の性能によって、分析可能な分子量範囲に制限がある。広く普及しているマイクロチャンネルプレート(Microchannel Plate: MCP)は、4,000 Da 程度のペプチドまでは100%の検出感度であるが、それ以上では分子量の増加にしたがって検出感度が低下し、数 10 kDa のタンパク質に対しては数%の検出感度しかない。この感度低下は、イオンが検出器表面に衝突したときに2次電子が1個放出される確率(量子効率)が、イオンの速度にほぼ比例するためである。

(3) イオンを、一定の加速電圧  $V$  で加速した場合、電荷数  $z$  にイオン化されたイオンの速度は、 $v=(2zeV/m)^{1/2}$  である。このため、電荷数が同じイオンの量子効率は、 $m$  の平方根に反比例して低下する。

(4) 分子量に依存しない感度を有する、TOF MS 用イオン検出器は、理想的な質量分析用検出器となり、バイオマーカー検出や探索などに寄与し、新しい迅速臨床検査法としての可能性も拓くものである。

## 2. 研究の目的

(1) 超伝導は、電子間に格子振動の量子であるフォノンを介して、電子が2個ペアを作ることによって発現する。したがって、超伝導は、フォノンに高い感度を持っている。言い換えると、余分な格子振動が生成されれば超伝導状態が壊れる。

(2) イオンが超伝導体に衝突したときに、フォノンが生成されるが、その量はイオンの運動エネルギーに比例すると考えられる。質量分析におけるイオンの運動エネルギーは、 $zV$  [eV] であり、 $m$  に依存せず一定である。したがって、超伝導がイオン衝撃で壊れることを利用すると、 $m$  に依存せず 100%の検出効率を実現可能である。

(3) 分子量に依存しない検出感度は、我々が開発した超伝導トンネル接合型分子検出器(Superconducting Tunnel Junction: STJ)で実現できる。STJ 検出器は、 $N^+$ と  $N_2^{2+}$  というような  $m/z$  オーバーラップ( $m/z$  overlap)、中性フラグメントを分析できないという中性損失(neutral loss)といった、従来型質量分析の限界

を克服することができた。しかし、STJ 検出器の動作には、0.3 K という極低温が必要で、TOF-MS で飛行時間計測のために望ましいナノ秒の応答時間を達成することができないという問題があった。

(3) 本課題では、STJ より一桁以上高い 4 K 以上の動作温度と、単一イオンの衝突に対してナノ秒幅の出力パルスを生成可能な超伝導検出器を開発し、質量分析装置に容易に搭載できるようにすることを目的とする。

## (4) 達成項目

1. 単一イオンの衝突による抵抗発生を検出するために、超伝導体を  $1\mu\text{m}$  以下の線幅、厚み数 10 nm の超伝導ストリップに加工した超伝導ストリップイオン検出器(SSID)を開発し、4 K 以上の動作、ナノ秒幅の出力パルス、1 cm の検出器サイズを達成する。これにより実用レベルのハイスループット分析が可能になる。
2. 質量スペクトルのデジタルデータを得るために、イオンの飛行時間をデジタル値に変換する単一磁束量子(Single Flux Quantum: SFQ)を使った時間-デジタル変換回路(Time-to-Digital Converter: TDC)を開発する。TOF-MS に必要なマルチストップ型とし、4 K にてデジタル信号に変換し室温に転送する。これにより、従来必要とされた、4K と室温間に敷設する信号伝達のための同軸ケーブルを不要とする。
3. 液体ヘリウムの供給を必要としない寒剤フリー冷凍器を使用し、SSID と SFQ-TDC の動作に必要な 4K の温度環境を、電力の供給だけで維持できる分子検出システムを構築する。
4. MALDI-TOF-MS 装置に搭載して、ペプチドからタンパク質凝集体などの巨大タンパク質の検出を可能とする。

## 3. 研究の方法

(1) 超伝導体中の励起状態の緩和時間は、数 10 ps と高速である。しかし、SSID で実験的に観測されるパルス波形は、極薄超伝導薄膜の磁場浸入長を考慮した力学インダクタンスで決まることを、我々は明らかにしている。大面積をナノストリップでカバーしても力学インダクタンスが増大しない検出器を設計し、1 cm 角の有感面積を得る。超伝導薄膜としては、Nb あるいは NbN を用いる。

(2) 超伝導デジタル回路として、SFQ-TDC を設計製作する。SFQ-TDC を SSID のフロントエンドプロセッサとして同じ温度環境で動作させる。TOF-MS 用 SFQ-TDC 超伝導回路は、1つのスタートトリガ(MALDI のパルスレーザー照射のタイミング)に対して、複数のストップ信号(イオンが SSID に衝突したときの出力パルス信号)を受け付けるタイプのマルチストップ型の TDC とする。

(3) パルスチューブ冷凍器(ベース温度 4K)を使用し、検出器をマウントするコールドフ

インガー、配線的设计製作を行う。SFQの動作に必要な不可欠な地磁気シールドを設置する。

(4) 既存のMALDI-TOF-MSのリフレクトロンで反射されたイオンビーム位置にSSIDを配置できるように、フライトチューブ、質量分析装置の筐体の改造を行う。リフレクトロンは、静電場でイオンを反射することにより、同一の質量電荷比( $m/z$ )で僅かに異なる運動エネルギーをもったイオンを、時間軸上で収束させる。これにより、イオン化、加速の過程で生じた運動エネルギーの僅かなバラツキを補正し、質量分の劣化を避けることができる。通常、リフレクトロン後に配置したイオン検出器は、時間分解能を重視し、低分子にしか感度のないタイプが使用されるため、リフレクトロンモードで分析可能なのは低分子に限られ、巨大分子の検出が行われた例は見当たらない。本イオン検出系が実用化されれば、リフレクトロンモードで分析可能な分子量範囲を拡大できる。

#### 4. 研究成果

(1) 図1は、STJとSSIDの単一イオン検出時の出力パルス波形を比較したものである。STJ(0.3 Kで動作)のパルス幅は、 $2 \mu\text{s}$ 程度であるが、SSID(4 Kで動作)は、ナノ秒であることが分かる。最高  $1/1000$  以下の  $1 \text{ ns}$  より狭いパルス幅を記録した。

検出器面積の拡大については、幅  $1 \mu\text{m}$  の超伝導ストリップで  $\text{mm}$  から  $\text{cm}$  の広い面積を覆うと超伝導線の長さが、 $1 \text{ m}$  から  $100 \text{ m}$  にもなり、力学インダクタンス(電子の慣性によるインダクタンス)が大きくなる。このため、 $L/R$  で決まる回路時定数が大きくなり、出力パルス幅が広がってしまう。高速応答と大有感面積を両立させるために、ストリッ

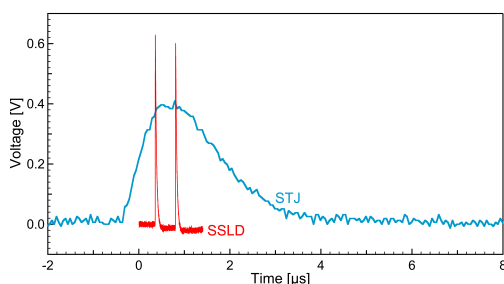


図1 STJとNbN製SSID( $0.2 \times 0.2 \text{ mm}^2$ )のリゾチームイオン検出時の出力パルス比較

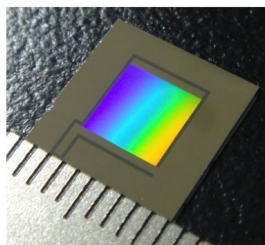


図2  $5 \times 5 \text{ mm}$  のNb製SSIDの外観

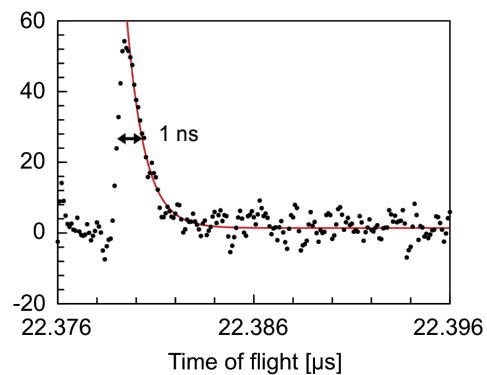
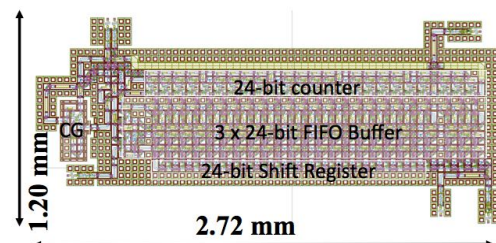


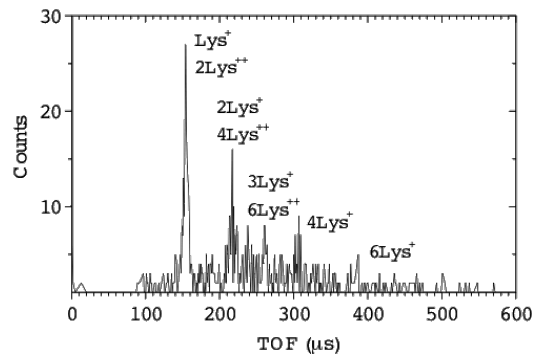
図3 超伝導ストリップを並列と直列接続を組み合わせ、有感面積  $1 \times 1 \text{ mm}^2$  のとしたSSIDの出力パルス波形。試料は、ペプチド(アンギオテンシンI)である。

プを直列と配列に配置する設計を採用した。図2には一例として、 $5 \times 5 \text{ mm}$  の検出器を示す。ストリップ  $1 \mu\text{m}$  幅、厚み  $40 \text{ nm}$  のナノ構造のために可視光が回折され、虹色に見えるこの検出器構造設計で作製した  $1 \times 1 \text{ mm}$  のSSIDにて、パルス幅  $1 \text{ ns}$  を実現した(図3)。さらに、目標の  $1 \times 1 \text{ cm}$  に検出器サイズを拡大しても単一イオンの検出に成功したが、パルス幅は、 $77 \text{ ns}$  に悪化した。出力パルスの形状は、ペプチドからタンパク質まで分子量が変わっても同じであった。

(2) SFQ-TDCは、24bitのカウンターで飛行時間を計測するデジタル回路の設計製作を行った。図4に、回路の例と、SSIDとSFQ-TDCを接続して取得したリゾチームの



(a)



(b)

図3 SFQ-TDC回路(a)と取得に成功したリゾチームの質量スペクトル(b)

質量スペクトルを示す。

(3) 上記データは、液体ヘリウムの供給を必要としないパルスチューブ冷凍機で取得可能とした。

(4) MALDI-TOF 装置に搭載し、超伝導検出器をリフレクトロンの位置に配置し、最高 11,544 の質量分解能を達成した。免疫グロブリンについては、IgG の 4 量体 (584 kDa) まで検出できたが、これが検出器の上限ではなくサンプルとイオン源による。

(5) 以上に加えて、SSID に流すバイアス電流を調整することにより、検出可能な運動エネルギーの下限を変更できることを見出した。この機能は、STJ と同様にイオンの電荷数識別に使用できる。また、検出器物理として、0.6-10 keV の運動エネルギーを持つイオンが超伝導ストリップに当たったときの検出可能下限バイアス電流から、ホットスポット形成によりイオンを検出していることを実証した。

(6) 結論として、SSID と SFQ-TDC を組み合わせ、超伝導検出器が動作する 4 K にて、アナログパルス処理し、飛行時間をデジタル信号に変換することに成功した。今後、従来の室温動作のイオン検出器と同程度の有感面積によるハイスループット質量分析を実現するとともに、 $m/z$  オーバーラップの解決やイオンイメージングを実現していきたい。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 15 件)

N. Zen, S. Shiki, M. Ukibe, M. Koike and M. Ohkubo, "Ion-induced dynamical change of supercurrent flow in superconducting strip ion detectors with parallel configuration," *Appl. Phys. Lett.* **104**, 012601 (2014); doi: 10.1063/1.4861225.

M. Ohkubo, S. Shiki, M. Ukibe, G. Fujii, N. Matsubayashi, "Superconducting Tunnel Junction Detectors for Analytical Sciences," *IEEE Trans. Appl. Super.*, **24**, 2400208 (2014); doi: 10.1109/TASC.2014.2318316, (invited).

K. Sano, et al., "Design and High-Speed Tests of a Single-Flux-Quantum Time-to-Digital Converter for Time-of-Flight Mass Spectrometry," *Superconductive Electronics Conference (ISEC)*, 2013 IEEE 14th International, 7-11 July 2013, pp. 1-3; 10.1109/ISEC.2013.6604259.

A. Casaburi, E. Esposito, M. Ejrnaes, K. Suzuki, M. Ohkubo, S. Pagano, R. Cristiano, "A 2 x 2 mm<sup>2</sup> superconducting strip-line detector for high-performance time-of-flight mass spectrometry," *Supercond. Sci. Tech.* **25**, 115004 (2012); doi: 10.1088/0953-2048/25/11/115004.

A. Casaburi, M. Ejrnaes, N. Zen, M. Ohkubo, S. Pagano, and R. Cristiano, "Thicker, more efficient superconducting strip-line detectors for high throughput macromolecules analysis," *Appl. Phys. Lett.* **98**, 023702 (2011); doi: 10.1063/1.3537808.

K. Suzuki, S. Shiki, M. Ukibe, M. Koike, S. Miki, Z. Wang, and M. Ohkubo, "Hot-spot detection model in superconducting nano-stripline detector for keV ions," *Appl. Phys. Express* **4**, 083101 (2011); doi: 10.1143/APEX.4.083101.

K. Suzuki, M. Ohkubo, M. Ukibe, K. Chiba-Kamoshida, S. Shiki, S. Miki, Z. Wang, "Charge-state-derivation ion detection using a superconducting nanostructure device for mass spectrometry," *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **24**, 3290 (2010); doi: 10.1002/rcm.4780.

[学会発表] (計 25 件)

全伸幸, 志岐成友, 藤井剛, 浮辺雅宏, 小池正記, 大久保雅隆, "超伝導ナノストリップイオン検出器 (SSID) の出力波高値分布の改善," 第 62 回質量分析総合討論会, (大阪, 2014)

K. Sano, A. Takahashi, Y. Yamanashi, N. Yoshikawa, N. Zen, K. Suzuki, M. Ohkubo, "Design and High-Speed Tests of a Single-Flux-Quantum Time-to-Digital Converter for Time-of-Flight Mass Spectrometry," 14<sup>th</sup> International Superconductive Electronics Conference (ISEC) (Cambridge, USA, 2013).

M. Ohkubo, N. Zen, M. Ukibe, S. Shiki, M. Koike, "Superconducting tunnel junction (STJ) detectors for ion-charge-number sensitive mass spectrometry," 14<sup>th</sup> International Superconductive Electronics Conference (ISEC-14), (Cambridge, USA, 2013, Invited).

M. Ohkubo, "Application of superconducting detectors to analytical instruments." 3<sup>rd</sup> International Workshop on Frontier Applications of Superconducting Devices (IWFASD2013), (Shanghai, China, 2013, invited).

全伸幸, 志岐成友, 鈴木宏治, 浮辺雅宏, 小池正記, R. Cristiano, 大久保雅隆, "価数分離を可能にする超伝導ナノストリップイオン検出器の開発," 第 61 回質量分析総合討論会, (つくば, 2013).

M. Ohkubo, K. Suzuki, N. Zen, S. Shiki, M. Ukibe, M. Koike, R. Cristiano, M. Ejrnaes, A. Casaburi, N. Yoshikawa, Y. Takahashi, "Nanostructure cryodetector for mass spectrometry," 60<sup>th</sup> ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, (Vancouver, Canada, 2012).

M. Ohkubo, N. Zen, T. Kitazume, M. Ukibe, S. Shiki, M. Koike, "Superconducting tunnel

junction detectors for mass spectrometry." 1st International Workshop on Superconducting Sensors and Detectors (IWSSD2012), (Daejeon, Korea, 2012, invited).

M. Ohkubo, et al., "Superconducting molecule detectors overcoming fundamental limits of conventional mass spectrometry," 14<sup>th</sup> International Workshop on Low Temperature Detectors (LTD-14), (Heidelberg, Germany 2011).

M. Ohkubo, et al., "True mass spectrometry realized by superconducting molecule detectors," 6th East Asia Symposium on Superconductor Electronics (EASSE2011), (Yamagata, Japan, 2011, invited).

M. Ohkubo, "Breakthrough by superconducting particle detector in mass spectrometry," 26<sup>th</sup> International Conference on Low Temperature Physics (LT-26), (Beijing, China, 2011, invited).

K. Suzuki, K. Chiba, S. Miki, S. Shiki, Z. Wang, M. Ohkubo, "Charge-State-Discrimination Ion Detection By Superconducting Stripline Detectors," International Symposium on Superconductivity (ISS2010), (Funabori, Tokyo, 2010).

〔図書〕(計2件)

大久保雅隆、「現代質量分析学」(化学同人、高山 光男、早川 滋雄、瀧浪 欣彦、和田 芳直 編、2013年1月)(分担執筆:7章 質量分析用検出器)。

大久保雅隆、「超伝導現象と高温超伝導体」(エヌティーエス、2013年3月)(分担執筆:第7章 計測診断機器への応用)。

〔産業財産権〕

出願状況(計1件)

名称:イオン価数弁別高速粒子検出器

発明者:大久保雅隆、鈴木宏治

権利者:産業技術総合研究所

種類:特許医

番号:PCT/JP2011/052407

出願年月日:2011年2月4日

国内外の別:外国

取得状況(計1件)

名称:クライオスタット

発明者:大久保雅隆、桐原英治

権利者:産業技術総合研究所、(有)バックフィールド

種類:特許番号未定

番号:特開 2011-060864

取得年月日:平成 26 年 5 月 30 日(予定)

国内外の別:国内

〔その他〕

<http://staff.aist.go.jp/m.ohkubo>

6. 研究組織

(1)研究代表者

大久保 雅隆 (Ohkubo, Masataka)

産業技術総合研究所・つくばイノベーションアリーナ推進本部・上席イノベーションコーディネータ

研究者番号:60356623

(2)研究分担者

吉川 信行 (Yoshikawa, Nobuyuki)

横浜国立大学・大学院工学研究院・教授

研究者番号:70202398

(3)連携研究者

浮辺 雅宏 (Ukibe, Masahiro)

産業技術総合研究所・計測フロンティア研究部門・主任研究員

研究者番号:00344226

志岐 成友 (Shiki, Shigetomo)

産業技術総合研究所・計測フロンティア研究部門・主任研究員

研究者番号:50342796

全 信行 (Zen, Nobuyuki)

産業技術総合研究所・計測フロンティア研究部門・研究員

研究者番号:20455439

鴨志田 薫 (Kaori, Kamoshida)

産業技術総合研究所・計測フロンティア研究部門・招聘研究員

研究者番号:50415775