

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 26 日現在

機関番号：24403

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24655067

研究課題名(和文)非解離型高感度表面電離負イオン化法の開発

研究課題名(英文)Development of ion source which forms non-dissociated negative ions with high sensitivity

研究代表者

早川 滋雄(Hayakawa, Shigeo)

大阪府立大学・理学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：00156423

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：質量分析法でのイオン化法の開発は非常に重要である。申請者は、アルカリ金属からの電子移動を用いた表面電離負イオン化法が、従来にないソフトなイオン源として利用できる可能性を見出した。本現象を利用したイオン源を開発し質量分析装置への取り付けを行い、負イオンの測定を行った。高沸点化合物を用いた測定で、従来の化学イオン化法での m/z 800以下でのイオンが観測に対して、今回開発した表面電離負イオン化法では、 m/z 1000以上でも強い負イオンを観測し、解離がかなり抑えられていることが分かった。開発した負イオン化法は、解離が非常に起こりにくいソフトなイオン化法であることが明確となった。

研究成果の概要(英文)：Nobel Prize in Chemistry in 2012 indicates that the development of the ionization method in the mass spectrometry is very important. Under the investigation for high-energy electron transfer dissociation using alkali metal targets, we have accidentally found a phenomenon that intense negative ions are formed from a surface which is covered by alkali metal. New ionization method using this phenomenon was developed.

Negative ion spectra were measured for perfluorokerosene (C_nF_{2n+2}). While negative ions whose m/z are lower than 1000u were major ions observed by negative chemical ionization method, intense negative ions whose m/z are higher than 1000 u were observed by the newly developed ion source. From this comparison, it is demonstrated that the newly developed ion source using electron transfer from alkali metal on the surface is very soft ionization method for chemical whose mass are higher than 1000 u.

研究分野：分析化学

キーワード：質量分析法 負イオン生成 表面電離 アルカリ金属 電子移動 生体分子 タンデム質量分析法

1. 研究開始当初の背景

(1) 質量分析法では、電子イオン化法、化学イオン化法、高速原子衝撃法(FAB)、電界脱離イオン化法など多くのイオン化法が、それぞれの化学種に適応できるように工夫され利用されてきた。エレクトロスプレーイオン化法(ESI)とマトリックス支援レーザー脱離イオン化法(MALDI)が2012年にノーベル化学賞を受賞したことで分かるように、質量分析法の高感度化と適応範囲の拡大のためには生体分子に関するイオン化法の開発は分析化学における最重要課題の一つである。しかしながら、種々なイオン化法が用いられているがどのイオン化法でも万能ではなく、特に、糖、脂質、界面活性剤とのイオン化法の開発が必要である。

(2) 申請者は、質量分析法においてアルカリ金属ターゲットを用いる電子移動解離の実験を行い温度計分子と言われる分子を含め種々な化学種での実験を行い、その反応の物理化学的な反応機構を明確にし、最近ではリン酸化ペプチドの構造解析など、生体分子へも適応が可能であることを示して来た。その初期の研究の中で、アルカリ金属がついた表面では非常に効率の良い負イオン生成が起こることを見出し、その現象を負イオン源として利用できる可能性を見出した。

2. 研究の目的

(1) 申請者は、アルカリ金属を用いた電子移動解離実験の中で、そのイオン生成の機構は不明ながら、アルカリ金属が付着した表面で負イオンが非常に効率よく生成する事を偶然見出した。これを負イオン源として利用できるような装置開発を行う。

(2) 種々な化学種への適応

種々なイオン源は開発されているが、糖、脂質、界面活性剤などは、現在でもイオン化が難しい科学種であることが知られている。これらの化学種は、その化学的性質から考えると、正イオンとしてよりも負イオンとしての生成が有利であると考えられる。この新規なイオン化反応の機構を明確にし、高感度負イオン生成技法として確立することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) アルカリ金属からの電子移動を可能とする反応セルの試作

アルカリ金属は、イオン化エネルギーが低くイオンや分子と電子移動を起こすことは知られている。アルカリ金属が付着した表面では、効率よく負イオンが生成することを見出している。イオン源として利用できる装置でこの現象が起こることを再現する。

(2) アルカリ金属導入セルの質量分析装置への取り付け

負イオンの生成を見出すだけでは、イオン源として利用できない。アルカリ金属の浸み出しによる高電圧のリークなどが起こり得るので、それらを防ぐ工夫をして、質量分析装置のイオン源に取り付け、負イオン源としての性能を調べる。

4. 研究成果

(1) 負イオン測定用の質量分析装置の導入

負イオン源の開発にはその性能を確認するために、質量分析器の導入は欠かせない。最新の装置ではないが、図1に示す高分解能のセクタータイプのタンデム質量分析装置を導入することができた。この装置に設置可能な形での電子移動負イオン源を試作し、負イオン測定が可能となった。



図1 負イオン測定がタンデム質量分析装置

本装置は、プレカーサイオンの質量分解能は20000でプロダクトイオンの分解能が4000であり、ある程度大きな生体分子まで、単一同位体を分離しての測定が可能である。

(2) 質量分析装置に取り付け可能なアルカリ金属導入部の作成

上記質量分析装置のイオン源を図2示した。本イオン源に、取り付け可能なアルカリ金属導入セルの試作を行った。高圧に浮いた状態でも、イオン源のヒー



図2 質量分析装置のイオン源

ターラインを用いることにより加熱が可能とするなどに関して種々検討を行い、化学イオン化のアタッチメント部分にアルカリ金属を導入できる図3に示す金属封入セルを作成した。本装置開発では、電子移動で負イオンを生成できるイオン化エネルギー

の低い金属の存在が不可欠であるが、イオン源



図3 開発したアルカリ金属封入セル

は8kVの高電圧に浮いているためアルカリ金属が多く漏れ出すと高圧がリークすることにより実験できなくなる。実際に初期の段階において、高電圧のリークが発生した。

(3) アルカリ金属の漏れを防ぐセルの作成
従来のアルカリ金属を用いた実験で、合金で熱伝導のよい真鍮にアルカリ金属が染み込むことを現象として見出ししていた。原理的に確認できた訳ではないが、アルカリ金属は原子としてはかなりの大きさを持つが、電子と離れた一価イオンとしての原子半径は極端に小さくなり、金属中を移動する可能性があると考えている。この挙動を利用することにより、イオン源内の特定表面部分だけにアルカリ金属を存在させると同時に、多くのアルカリ金属が放出されないような、アルカリ金属導入セルの開発を検討した。この問題を解決すべく、0.1mm厚の真鍮の薄板を用いた図4に断面図を示すアルカリ金属封入セルに改良した。

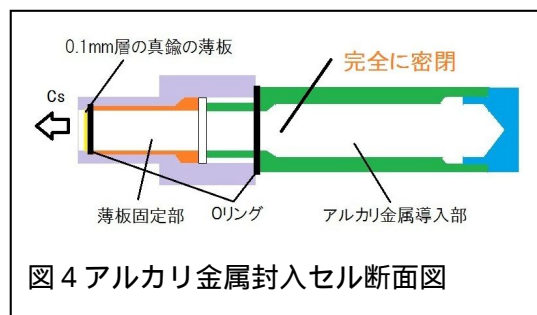


図4 アルカリ金属封入セル断面図

(4) Csの漏れ出しの確認
イオン源内へのアルカリ金属の導入を検討

し、100 で2日ほど待つことにより、高電圧が放電することなく、アルカリ金属をイオン源内に導入できることが可能となった。

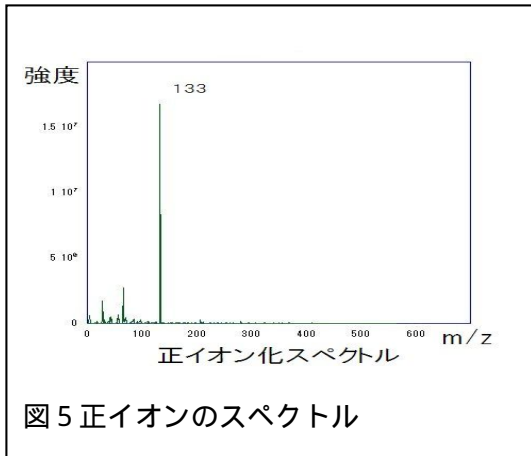


図5 正イオンのスペクトル

この時の図5に示すように Cs⁺イオンが観測されていることが確認できた。

(5) 負イオンの検出

上記の条件の下で、以前に負イオンの観測実績のあるジプロモベンゼンを試料として用いた時に、図6に示すように m/z 79 と81にBrの同位体負イオンが観測された。



図6 Brの同位体負イオンの観察

(6) 高質量領域での負イオンの検出

高質量領域でのイオンを観測するために、パーフルオロケロセン(PFK)をイオン源に導入し負イオンの測定を行った。電子移動負イオン化の特徴を確認するために、化学イオン化法で測定したPFKと比較した。図7(a)に示すように、化学イオン化法でのスペクトルでは、m/z 800以下に強い強度でのイオンが観測されている。これに対して

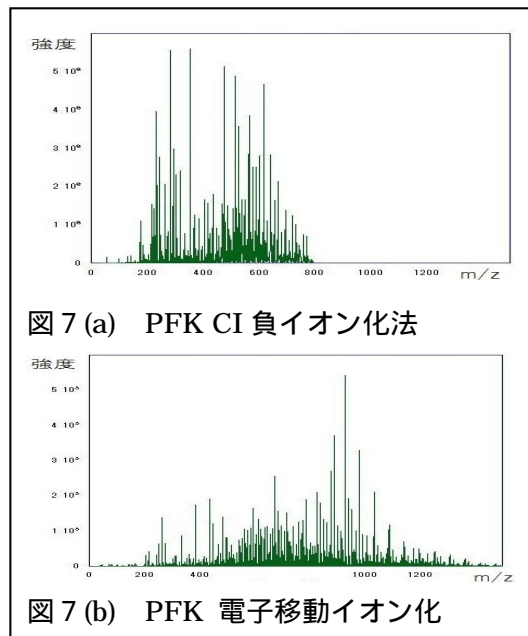


図7(a) PFK CI 負イオン化法

図7(b) PFK 電子移動イオン化

図7(b)に示すように、今回開発した表面電離負イオン化法では、m/z 1000以上でも強い負イオンが観測され、CIでは解離生成した負イオンが観測されるのに対して、表面電離型負イオン化では、解離がかなり抑えられていることが分かる。PFKの分子量分布が明確ではないために、完全に非解離でイオンが生成しているかを明確にはできていない。

このスペクトルに見られるように、アルカリ金属を用いた電子移動による表面電離負イオン化は、新規な負イオン生成法であるとともに、解離が非常に起こりにくいソフトなイオン化法であることが明確となった。

サンプルの導入条件などの問題もあり、生体分子についての負イオンスペクトルの観測は現時点ではできていないが、装置としては、ほぼ完成しているので引き続き実験をすすめ、生体分子への適応を試みていく予定である。萌芽研究という未知な現象を用いた装置開発であったために、目標を完全に達した訳ではないが、本方法が有用な質量分析法の新規なイオン源になりうる可能性を示した。

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 1 件)

- (1) S.Hayakawa, T.Tsujinaka, A.Fujihara:
Dissociation mechanisms of excited CH₃X
(X = Cl, Br, and I) formed via high-energy
electron transfer using alkali metal targets,
J.Chem.Phys., 137 (2012) 184308 1-8.(査読
有)

〔学会発表〕(計 7 件)

- (1) S.Hayakawa, R.Fujimoto, M.Sogi, H.Nagao,
N.Imaoka, M.Toyoda, Y.Shigeri,
Development of High Mass Resolution
Tandem Time-of-Fight (TOF) Mass
Spectrometry Applicable to High-Energy
Electron Transfer Dissociation (HE-ETD)
20th International Mass Spectrometry
Conference, CICG, Geneva, Switzerland,
2014, 08, 24-29.
- (2) 早川滋雄, 藤本竜二、曾木政伸、長尾博
文、豊田岐聡 高エネルギー電子移動
解離(HE-ETD)が可能な高質量分解能
TOF/TOFの開発、第62回質量分析総合
討論会、ホテル阪急エキスポパーク、2014
年5月14日~16日
- (3) 藤本竜二、松尾壮、曾木政伸、豊田岐聡、
長尾博文、今岡成章、早川滋雄、高エ
ネルギー電子移動解離が可能な高質量分
解能タンデム飛行時間質量分析装置の開
発、分析化学会第63年回、広島大学東広
島キャンパス、2014年9月17日~18日
- (4) 早川滋雄 気相イオンの構造解析技法に
関する化学反応からの考察(招待講演)
第61回質量分析総合討論会、つくば国
際会議場エポカル、2013年9月10日~
12日
- (5) 藤本竜二、豊田岐聡、茂里康、和田芳直、
田尻道子、早川滋雄、ジスルフィド結合
含有プロトン化ペプチドおよびジスルフ
イド結合を持たないプロトン化ペプチド
における高エネルギー電子移動解離
(HE-ETD)と低エネルギー電子移動解離
(LE-ETD)の比較第61回質量分析総合
討論会、つくば国際会議場エポカル、2013
年9月10日~12日
- (6) 藤本竜二、豊田岐聡、長尾博文、茂里康、
和田芳直、田尻道子、早川滋雄、電子移
動解離によるジスルフィド結合を含むペ
プチドとジスルフィド結合還元体ペプチ
ドの解離機構の比較 日本化学会春季年
会、名古屋大学東山キャンパス、2014年
3月27日~30日
- (7) S.Hayakawa, S.Matsumoto, M.Toyoda,
Y.Shigeri, M.Tajiri, Y.Wada
Electron
Transfer Dissociation of Protonated

Disulfide Linked Peptides and analogs
without S-S bond. 19th International Mass
Spectrometry Conference, Kyoto
International Conference Center, Kyoto,
2012, 09, 15-21.

〔図書〕(計 2 件)

- (1) S.Hayakawa: Fundamentals of Mass
Spectrometry Chapter 1 Collision theory
in, Ed. by K.Hiraoka, Springer
Science+Business Media New York. 2013,
ISBN 978-1-4614-7232-2, ISBN
978-1-4614-7233-9(eBook)
- (2) 早川滋雄、現代質量分析学、12 章 イオン
反応論、編者:高山光男、早川滋雄、瀧浪
欣彦、和田芳直、化学同人 2013 年
514 (167-181)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕

ホ - ム ペ - ジ 等
<http://www.c.s.osakafu-u.ac.jp/~hayakawa/index.htm>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

早川 滋雄 (Hayakawa, Shigeo)
大阪府立大学・理学(系)研究科(研究院)・
教授
研究者番号: 00156423

(2) 研究分担者 無し

()

研究者番号：

(3)連携研究者 無し
()

研究者番号：