

総合論文

ポラスシリコンを用いるレーザー脱離イオン化質量分析の合成 高分子への応用

奥野 昌二¹, 下前 幸康², 和田 芳直^{1,3}, 荒川 隆一^{®1,2}

Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry on Porous Silicon and Its Application to Synthetic Polymers

Shoji OKUNO¹, Yukiyasu SHIMOMAE², Yoshinao WADA³ and Ryuichi ARAKAWA^{1,2}

¹ Japan Science and Technology Agency, Wada Proteomics Project, 3-1-10, Technostage, Izumi-shi, Osaka 594-1144

² Department of Applied Chemistry, Kansai University, 3-3-35, Yamatecho, Suita-shi, Osaka 564-8680

³ Osaka Medical Center and Research Institute for Material and Child Health, 840, Murodo-cho, Izumi-shi, Osaka 594-1101

(Received 17 December 2004, Accepted 4 March 2005)

Desorption ionization on silicon (DIOS) is a novel matrix-free variant of laser desorption/ionization (LDI) techniques for mass spectrometry. DIOS sample targets or DIOS chips are produced by the electrochemical etching of silicon wafers under light exposure. In the present report, the optimal conditions regarding the resistivity of a silicon wafer, the etching current density and the etching time, for making DIOS chips with good ionization performance are described. The DIOS mass spectra of various kinds of synthetic polymers are compared with the matrix-assisted LDI (MALDI) mass spectra. In the quantitative analysis of mixtures of diol and triol types of polypropyleneglycol (PPG), DIOS provides more reliable data than MALDI under the optimized conditions. The ionization process in DIOS was studied in terms of the redox reaction of the analytes. Copper(II) chloride, some organic dyes and riboflavin, were reduced and some ferrocene derivatives were oxidized as well as MALDI. These results indicated that electron transfer between the analytes and the chip surface occurred in DIOS. The reduction of riboflavin was accelerated using water as a solvent.

Keywords : desorption ionization on silicon; laser desorption mass spectrometry; synthetic polymer; redox.

1 はじめに

田中ら¹⁾及び Hillenkamp ら^{2)~4)}が開発した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、熱に不安定な物質や高分子量物質のソフトイオン化が可能であり、生体高分子・

合成高分子・金属錯体などの物質の分子量測定に用いられてきた^{5)~12)}。MALDI-質量分析 (MS) の測定では、紫外 (UV) レーザー光を吸収する低分子量の有機分子と目的の試料の混合結晶をプレート上に作製する必要がある。そのため、マトリックス分子及びそのクラスターイオンがスペクトル中の低分子量領域に強い強度で観測され、低分子量の試料測定では、これらのイオンが妨害になって解析が困難になる場合がある。また、マトリックス/試料結晶の均一性がスペクトルの再現性に大きく影響する。

このような MALDI における欠点を回避するために、マトリックス分子の固定化が試みられた。Hutchen らは、

¹ 科学技術振興機構和田プロテオミクスプロジェクト: 594-1144 大阪府和泉市テクノステージ3-1-10

² 関西大学工学部応用化学科: 564-8680 大阪府吹田市山手町3-3-35

³ 大阪府立母子保健総合医療センター: 594-1101 大阪府和泉市室堂町840

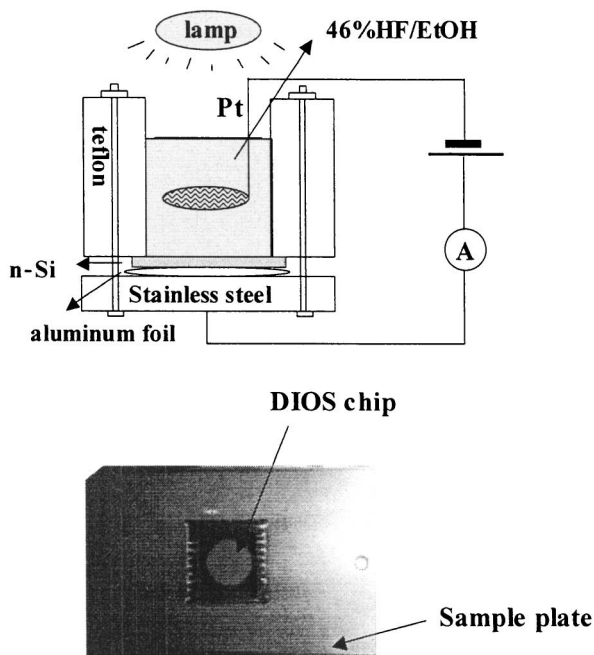


Fig. 1 Schematic representation of electrochemical etching device for preparing DIOS chips (upper)
A DIOS chip is taped on a stainless sample stage which was prepared in-house to offset the chip thickness (lower).

α -cyano-4-hydroxycinnamic acid (CHCA) や cinnamamide など化学マトリックスとして用いられる分子をセファロースビーズに固定した¹³⁾。また, Smith らは金の表面にレーザー光を吸収する methyl-*N*-(4-mercaptophenyl-carbamate) の自己組織化単分子膜 (self-assembled monolayer, SAM) を作製した¹⁴⁾。Chen らは, ゴルゲル法によってマトリックス 2,5-dihydroxybenzoic acid をシリコンポリマーシート中に固定することで, 低分子量領域にマトリックス関連イオンを発生させることなく, 低分子量の有機物, アミノ酸, ペプチドを高感度で測定できることを報告した¹⁵⁾。しかし, これらマトリックス分子を固定する方法は, 検出感度や耐久性に問題があり, また, フラグメントイオンによるノイズを回避できなかったため, その後の発展は見られなかった。

Siuzdak らは, 電解エッチング法によりナノメートルサイズの大きさの孔を持つポーラスシリコン板を作製し, その上で試料にレーザー光を当てると, マトリックスがなくても試料のソフトイオン化ができることを見いだした¹⁶⁾。彼らは, このイオン化法を desorption/ionization on silicon (DIOS) と名付けた。DIOS スペクトルでは, 低分子量領域にマトリックス由来のイオンは検出されないため, 主に試料イオンが感度よく観測されるのが特徴である。DIOS 法は, 分子量 3000 以下程度の試料の測定に有効である。しかしながら, DIOS のイオン化の原理は, まだ明

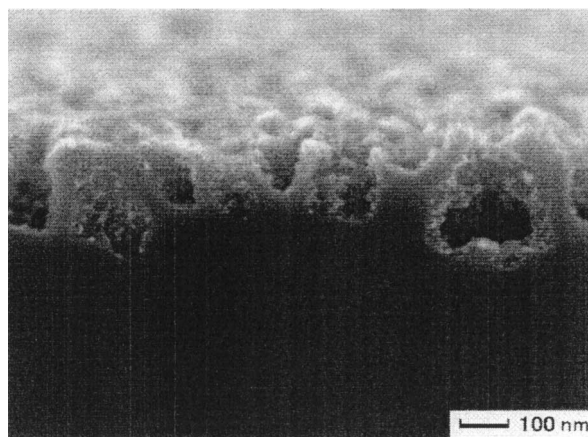


Fig. 2 SEM image of a porous silicon

確になっていない。これまでに DIOS 法を用いて有機化合物, ペプチド, 水溶性の合成高分子のイオン化が検討され, 良好なマススペクトルが数多く報告され, DIOS の応用面が拡大しているのが現状である^{16)~29)}。

著者らは, DIOS チップ作製のための電解装置を製作し, シリコンウェハの抵抗率, 電流密度及び電解時間のエッチング条件の最適化を図った。また, 多種の合成高分子の定性並びに定量分析に DIOS 法を適用し, その有効性を検討した。更に, DIOS によるイオン化過程の知見を得るために, 酸化還元電位の小さい試料を用いてイオン化における酸化還元挙動について調べたので, 報告する。

2 DIOS チップの作製

DIOS チップは, Siuzdak らの報告¹⁷⁾²⁵⁾を参考にし, 電解法により作製した³⁰⁾。チップ作製のための電解装置の概略図を Fig. 1 に示す。電解セルはテフロン製 (内径 20 mm × 外径 30 mm × 高さ 50 mm) で, その下部にシリコンウェハを固定する。電解液は 46% フッ化水素酸とエタノールの等量混合液である。電解液 6 ml が入ったセルに, 100 W の白熱灯を 15 cm の距離から照射しながらエッチングを行った。エッチング後, DIOS チップはエタノールで洗浄, 保存した。シリコンウェハは, n 型で結晶の配向が (100), 抵抗率が 0.04~0.08, 1~3, 3.5~7 Ω cm の 3 種類を用いた。エッチングの電流密度を 4~66 mA cm^{-2} ・エッチング時間を 0.5~30 分で最適化した。ウェハ上に直径 20 mm のポーラスシリコン部が作製された (Fig. 1)。ポーラスシリコンの断面の走査型電子顕微鏡写真を Fig. 2 に示した。ポーラスシリコン表面は, 2 nm 以下の micro, 2~50 nm の meso, 50 nm 以上の macro porous 構造の多数の孔から形成されている³¹⁾³²⁾。

シリコンウェハの厚さ分 (0.5 mm) を削った専用のステンレスプレートを自作し, その上に導電性の両面テープで DIOS チップを固定して質量分析装置内に導入した

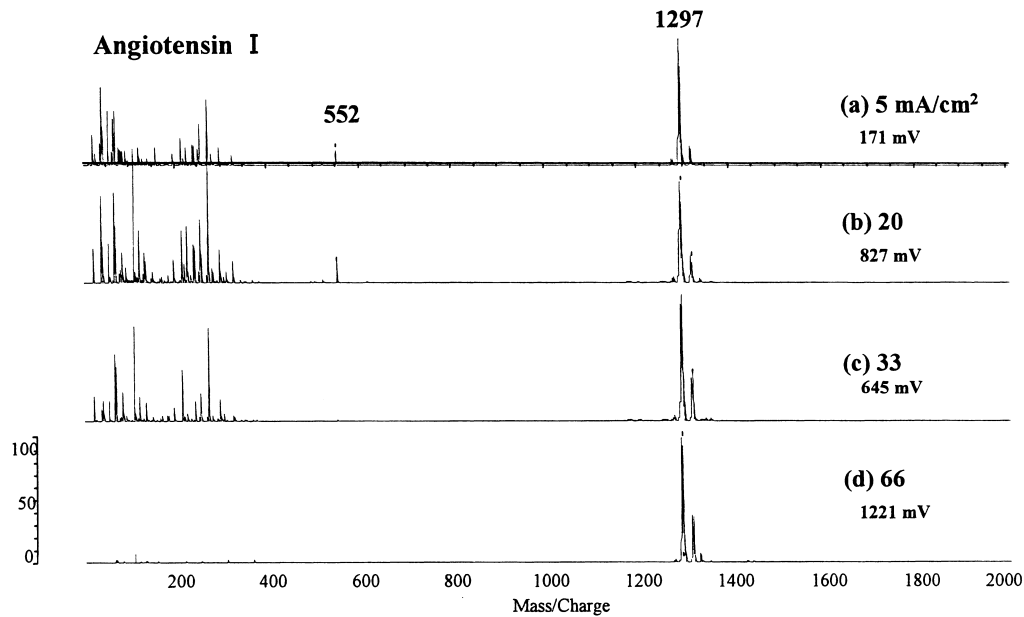


Fig. 3 Effect of etching current density on the positive ion DIOS mass spectra of angiotensin I (a) 5, (b) 20, (c) 33, and (d) 66 mA cm⁻²; The mV values represent the peak intensity of a base peak.

(Fig. 1).

電解法により作製した DIOS チップの性能は、シリコンウェハの種類、光の強度、電解液の組成、電流密度、エッチング時間などに影響を受けることが報告されている²⁰⁾²⁷⁾。著者らは、DIOS チップ作製におけるシリコンウェハの抵抗率、エッチング時間、電流密度に注目して最適化を行った。抵抗率が 3.5~7 Ω cm の n 型シリコンウェハを用い、エッチング時間を 1 分に固定し、電流密度の影響を調べた。アンギオテンシン I のマススペクトルを Fig. 3 に示す。m/z 1297 の強い [M + H]⁺ イオンと、m/z 1319 と 1335 に [M + Na]⁺ と [M + K]⁺ イオンが検出できた。m/z 552 以下のイオンは同定できなかった。電流密度を大きくするに従ってアンギオテンシン I のイオン強度は強くなった。更に、エッチング時間の影響を調べたアンギオテンシン I のマススペクトルを Fig. 4 に示す。エッチング時間が長くなると m/z 243 付近の低分子量領域に多くの夾雑物ピークを検出した。これらの夾雑物は、ポーラスシリコンが吸着した有機物であると考えられている¹⁷⁾。エッチング時間が短くなるに従って夾雑物のイオン強度は小さくなり、しかもそのピークの数も少なくなった。エッチング時間が 1 分の場合、夾雑物のピークはほとんど検出されなかった。エッチング時間が 1 分より短くなるとアンギオテンシンのイオン強度が小さくなった。もちろん、未エッチングのシリコンウェハを用いてイオン化することはできなかった。

抵抗率が異なる 3 種類の n 型シリコンウェハを用い、同様にエッチング時間と電流密度の最適化を行った。抵抗

率 3.5~7 Ω cm のシリコンウェハを用いたとき、夾雑物の影響が少なくイオン強度も大きかった。Siuzdak らが最近報告した DIOS チップ作製の最適条件²⁵⁾と著者らが得た条件とは、電流密度やエッチング時間において異なっていた。これは、光の強度の違い、エッチング装置の構造など DIOS の作製条件の違いによる影響が考えられる。また、著者らは、マトリックスフリーレーザー脱離イオン化には、サブマイクロメートルオーダーの孔とレーザー光の関係が影響することを見いだした(未発表)。質量分析計によってレーザーの照射角度が異なることが DIOS チップの作製条件に影響している可能性も考えられる。p 型シリコンウェハの場合、光照射なしでポーラスシリコンを作製することができる。しかし、p 型シリコンから得られた DIOS チップの性能は、n 型シリコンに比べて劣っていた。

3 DIOS 法による合成高分子の質量分析

3.1 定性分析

MALDI と DIOS 法によるポリエチレングリコール (PEG) のマススペクトル³⁰⁾の比較を Fig. 5 に示す。MALDI スペクトルでは、PEG の Na⁺付加イオン以外に、マトリックスの分子イオン、クラスターイオン、フラグメントイオンが検出され、スペクトルが複雑になる (Fig. 5 a)。それに対して、DIOS スペクトルでは、m/z 173 の [Na₂I]⁺ イオン以外は、PEG の分子イオンだけが感度よく検出され、低分子量成分の解析に有効であることが分かる (Fig. 5 b)。非イオン型界面活性剤であるノニルフェノー

Angiotensin I

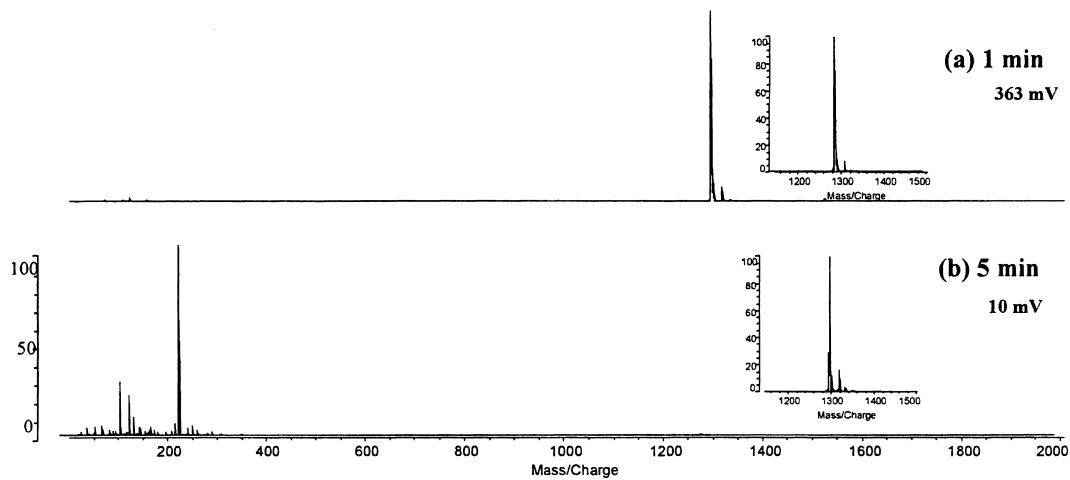


Fig. 4 Effect of etching time on the DIOS mass spectra of angiotensin I
(a) 1 min and (b) 5 min

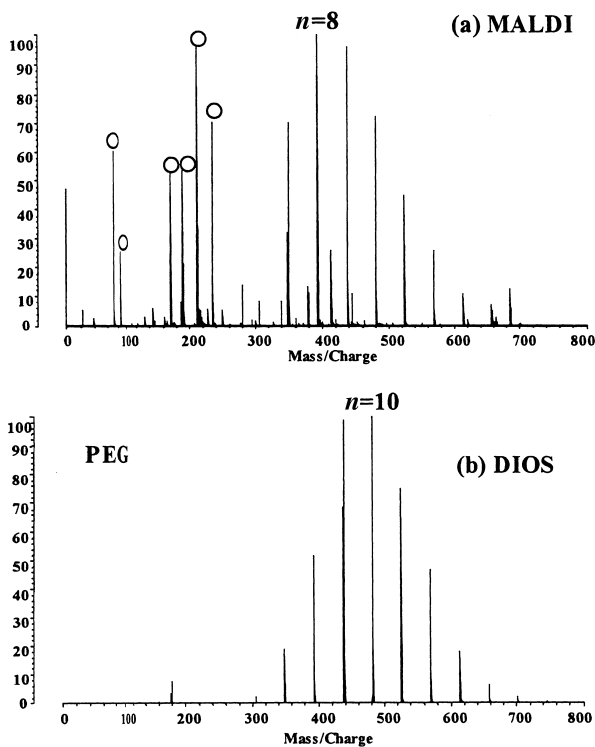


Fig. 5 Positive ion mass spectra of polyethyleneglycol
(a) MALDI and (b) DIOS

ルポリエトキシレートの DIOS マススペクトルでは、 Na^+ 付加イオンだけが検出できた。更に、試料中に不純物として少量含まれるオクチルやデシルフェノールポリエトキシレートのイオンも明確に検出することができた。親水性の合成高分子の正イオンモード測定において¹⁷⁾²⁵⁾²⁹⁾、DIOS

法が有効であることが確認できた。

陰イオン型界面活性剤であるノニルフェノールポリエトキシレート硫酸エステル塩の負イオンモードのマススペクトルを Fig. 6 に示す。MALDI スペクトルでは、負イオンモードの測定においてもマトリックス由来のスペクトルが多く見られるが (Fig. 6 a)、DIOS スペクトルではイオン強度が大きく、夾雑物によるイオンがないスペクトルが得られた (Fig. 6 b)。DIOS が負イオンモードの測定においても有効であることが分かった。

疎水性の合成高分子であるポリメチルメタクリレート (PMMA) の DIOS スペクトルでは、 m/z 413 に環境中の不純物ジオクチルフタレートの Na^+ 付加イオン及び m/z 164, 180 に不明のピークが見られるが、PMMA イオンを明瞭に検出できた (Fig. 7 b)。疎水性ポリマーの質量分析においても DIOS イオン化が有効であることが分かった。

Ayorinde らは、分子量が大きいマトリックス 10,15,20-tetrakis(pentafluorophenyl)porphyrin (F20TPP) (MW 975) を用いて、MALDI スペクトルの低質量領域において、マトリックスピークの影響を回避できることを報告した³³⁾。著者らは、マトリックス CHCA, F20TPP を用いた MALDI と DIOS 法によるポリエステル分析を行った³⁴⁾。CHCA の MALDI スペクトルにおいて、ポリエステルイオン (○印) が強いイオン強度で検出された。しかし、マトリックス関連イオン (△印) のイオン強度も大きいため、ポリエステルの低分子量部分の解析が困難である (Fig. 8 a)。F20TPP を用いた場合は、F20TPP のラジカルカチオンとフラグメントイオンがそれぞれ m/z 975 と 822 に検出されただけで、それ以下の領域には F20TPP のフラグ

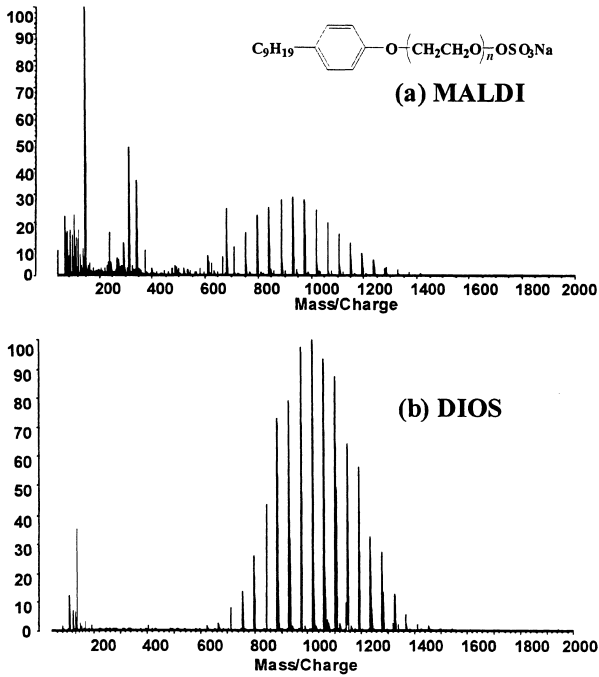


Fig. 6 Negative ion mass spectra of nonylphenolpolyethoxylatesulfate sodium salt
(a) MALDI and (b) DIOS

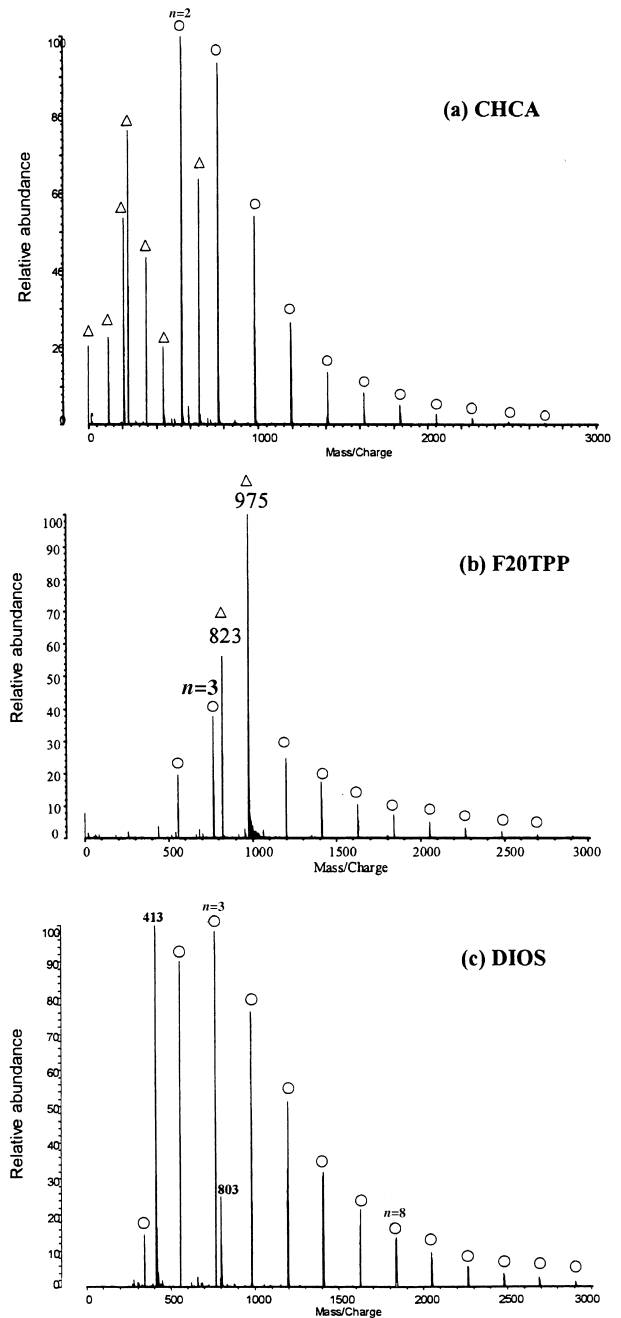


Fig. 8 Mass spectra of a low molecular weight polyester (NPG-AA)_nNPG (M_n = 600)

(a) MALDI spectrum using CHCA, (b) MALDI spectrum using F20TPP and (c) DIOS spectrum with a cationizing agent of NaI. O and Δ represent the polyester ions and the matrix-related ions, respectively. The *m/z* 413 and 803 ions in the DIOS spectrum result from sodium adduct ions of dioctylphthalate (DOP). *Used with permission from R. Arakawa et al., *J. Mass Spectrom.*, **18**, 961-965 (2004), John Wiley & Sons Limited.

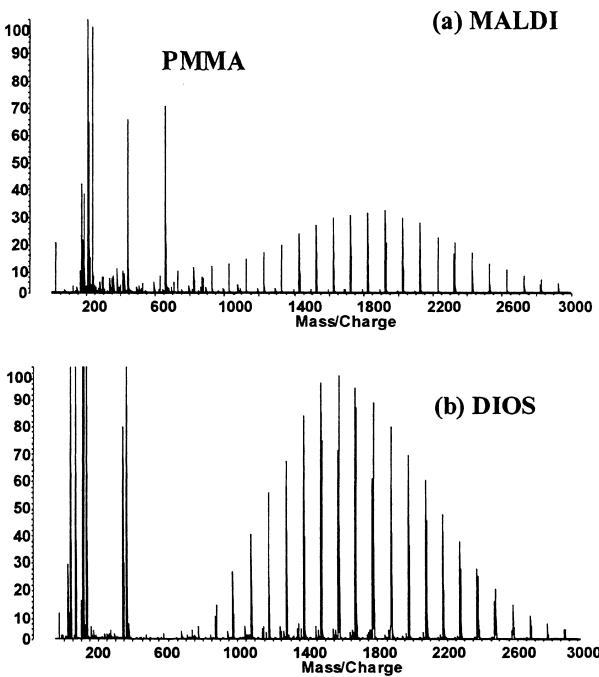


Fig. 7 Positive ion mass spectra of polymethylmethacrylate
(a) MALDI and (b) DIOS

メントイオンは観測されず、試料イオンが強く検出できた (Fig. 8 b). したがって、ポリエステルを低分子量部分の解析に F20TPP は有効であった。しかしながら、F20TPP

はテトラヒドロフラン (THF) やクロロホルム以外の一般的な有機溶媒に溶けにくいために、サンプル調製の際に有機溶媒の選択が制限される。また、クロロホルムを用い

た場合にはイオン強度が小さかった。一方、DIOS スペクトルには妨害するイオンがほとんどなく、ポリマーのイオンが大きいイオン強度で検出できた (Fig. 8 c)。更に溶媒に THF 以外にアセトニトリルやメタノールなどの有機溶媒を用いることができる。MALDI におけるフラグメントイオンの解析に post source-decay (PSD) 法が用いられる。PSD 法ではプリカーサーイオンの m/z 値の選択範囲を十分には狭められないために、夾雑物イオンの影響を受けやすい。DIOS では、夾雑物イオンの影響が少ないので、目的のイオンだけをプリカーサーイオンとして選択できるので、より正確な PSD スペクトルが得られる利点を持っている。

3・2 定量分析

MALDI では、マトリックスと試料の混合結晶における

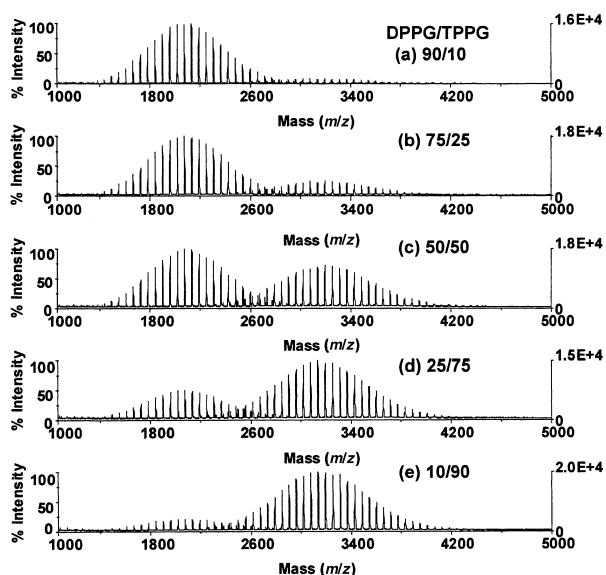


Fig. 9 DIOS-MS spectra of PPG mixtures (a) TPPG3000 10 wt%, (b) 25, (c) 50, (d) 75, (e) 90, at TPC 1 mg ml^{-1} , using THF/ $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ as the solvent. Used with permission from S. Okuno et al., *Int. J. Mass Spectrom.*, **241**, 43-48 (2005), Elsevier.

試料成分の均一性がスペクトルの再現性や定量性に大きく影響する³⁵⁾。DIOS では、イオン化にマトリックスを必要としないので、MALDI と比較して定量分析に適していると考えられる。著者らは、末端基と平均分子量が異なるポリプロピレングリコール (PPG) の混合物を用いて DIOS の定量性を検討した³⁶⁾。平均分子量 2000 のジオールタイプ PPG (DPPG2000) と平均分子量 3000 のトリオールタイプ PPG (TPPG3000) を 10/90~90/10 (wt 比) で混合した。溶媒には水/アセトニトリル及び THF/エタノール、カチオン化剤には NaI を用いた。

MALDI, DIOS いずれの場合も、主として Na^+ 付加イオンとして検出され、プロトン付加イオンも弱く検出された。DIOS スペクトルを Fig. 9 に示す。マススペクトルから得られる DPPG2000 と TPPG3000 ポリマーのイオン強度比 P は 7 つのイオンピークを用いて評価した³⁷⁾。TPPG の割合が 50 wt% の試料において、 P 値の標準偏差 (σ_{50}) を Table 1 にまとめた。水/アセトニトリル 1/1 (v/v) を溶媒に用いると、MALDI, DIOS いずれの場合も σ_{50} 値が大きくスペクトルの再現性が悪い。そのときの光学顕微鏡観察によりマトリックスと試料の結晶が不均一であることが分かった。THF/エタノール 1/1 (v/v) を用いることで、結晶の均一性が増し、 σ_{50} の値が小さくなった。DIOS チップ表面での試料の存在状態は光学顕微鏡では確認できなかったが、THF/エタノールは水/アセトニトリルより均一性の良い試料状態を形成するものと考えられる。近似的にイオンのピーク強度は試料の個数に比例するので、 P 値は TPPG3000 の重量% に相当する。TPPG3000 の重量% に対して P 値をプロットした結果、その検量線の直線性と再現性は、溶媒だけでなく、MALDI では用いたマトリックスの種類、試料とマトリックスの混合比に依存し、DIOS では試料の濃度に依存することが分かった。最適な条件下において、DIOS のほうが MALDI より良好な検量線が得られ、PPG 混合物の定量分析に適していることが分かった。

Table 1 Standard deviation (σ_{50}) of P values at TPPG 3000 50 wt%

Concentration ^{a)} mg/ml^{-1}	$\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$			$\text{THF}/\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$		
	DHB	CHCA	DIOS	DHB	CHCA	DIOS
10	—	—	4.31 ^{b)}	—	—	2.44
5	— ^{c)}	4.28	3.22	3.33	3.23	3.00
1	4.51	5.02	3.93	2.28	1.84	0.37
0.5	5.43	5.31	3.73	2.58	3.19	1.31
0.1	20.52	5.34	—	3.89	6.47	3.38

a) Total PPG concentration; b) Data points were obtained in five replicate experiments; c) Intense molecular ions of PPGs were not obtained.

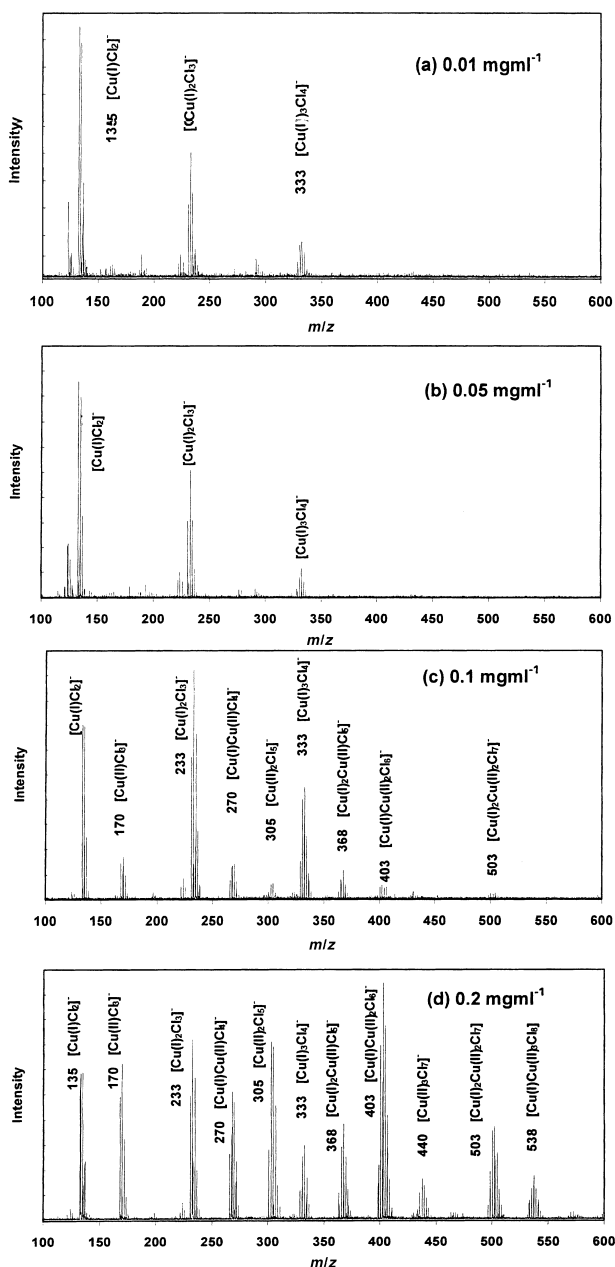


Fig. 10 DIOS TOF mass spectra of CuCl_2 in negative ion mode at various concentrations of CuCl_2 , (a) 0.01 mg ml^{-1} , (b) 0.05 mg ml^{-1} , (c) 0.1 mg ml^{-1} , and (d) 0.2 mg ml^{-1}

4 DIOSにおける試料の酸化還元

MALDIでは、多量のマトリックスと試料が混合された結晶にレーザー光を照射することでイオン化を行う。MALDIのイオン化過程の詳細はまだ明確にされていないが、次のような現象が起こっていると考えられている^{38)~40)}。マトリックスは、レーザー光を吸収し、熱エネルギーに変換する、このとき、マトリックスのごく一部が急速に加熱され試料とともにブルーム状に気化される。このブルーム中で、マトリックスと試料の間でプロトン、カ

チオンや電子の移動が起こり試料がイオン化する。MALDIスペクトルにおいて多くの試料が還元されることが報告されている^{41)~46)}。ニトロソ化ペプチドの測定では、-SNO基が還元され-SH基となり試料本来の分子量測定ができない⁴⁵⁾⁴⁶⁾。したがって、正確な質量分析のためには、レーザー脱離イオン化における試料の酸化還元挙動を明確にする必要がある。

MALDIにおける試料の還元は、ブルーム内におけるマトリックスと試料の電子移動反応が重要であると考えられてきた⁴⁷⁾⁴⁸⁾。金属製の試料プレート表面の仕事関数はレーザー光のエネルギーよりも大きいので、照射により光電子を放出することはできない。しかし、マトリックスや試料が存在するとき金属表面の仕事関数が小さくなり試料プレートから自由電子が放出されることが報告されている^{41)49)~52)}。ブルーム内におけるマトリックスと試料の間の電子移動反応だけでなく、この自由電子によりブルーム内で試料が還元される可能性がある。すなわち、イオン化時にプレートから試料への電子移動が起こる。

DIOSでは、マトリックスが用いられないことやDIOSチップが自由電子を放出しにくい半導体のシリコンからできていることから、DIOSにおけるイオン化時の試料の酸化還元について調べることに興味もたれた。 CuCl_2 のDIOSスペクトルにおいて、還元されたCu(I)を含むクラスターイオンが検出され (Fig. 10)⁵³⁾、DIOSにおいても試料が還元されることが分かった。このことから、プレートから試料に電子移動が起こっているものと考えられた。また、DIOSチップに滴下する試料濃度が濃くなるに従って、Cu(II)を含んだクラスターイオンのイオン強度が大きくなった。これは、MALDIと同様に試料結晶が厚くなることで、プレートから試料への電子移動が起こりにくくなるためと考えられる³⁹⁾。

Limbachらは、イオン化ポテンシャルが異なる様々なマトリックス分子と試料を用いて、MALDIにおけるマトリックス分子と試料の間の電子移動について調べた⁵⁴⁾⁵⁵⁾。著者らは、フェロセンの誘導体であるジメチルアミノメチルフェロセンや1,2-ジフェロセニルエタンを用いて、DIOSイオン化における試料の酸化について研究した⁵⁶⁾。その結果、フェロセン誘導体はイオン化時に酸化され、試料からプレートへの電子移動が起こっていることが分かった。Sunnerらは、DIOSのイオン化機構はsurface-assisted laser desorption ionization (SALDI)と類似しており、試料結晶やDIOS表面の鋭利などがった表面において試料がイオン化しているのではないかと提案している⁵⁷⁾⁵⁸⁾。DIOSのイオン化は、MALDIと異なる機構で起こるのではないかと考えられる。

メチレンブルーはMALDIとDIOSのイオン化において還元される。メチレンブルーより還元されやすいCu(II)

イオンを試料中に添加することにより、メチレンブルーのMALDIにおける還元を抑えることができた⁵⁹⁾。しかし、DIOSではCu(II)イオンの添加効果は見られなかった。MALDIではマトリックスと試料の間の電子移動が試料の還元に必要な役割を果たしており、Cu(II)イオンを添加することでマトリックスからの電子移動を抑制できるが、DIOSでは試料はプレートに直接接しており、プレートからの無尽蔵の電子移動をCu(II)イオンの添加で抑制できないためと考えた。

DIOSの還元における溶媒の影響を調べた⁵³⁾。メタノール/水1/1(v/v)のリボフラビンのDIOSスペクトルでは、プロトン付加イオンの理論的な同位体分布に比べて $[M+2]^+$ 及び $[M+3]^+$ の相対イオン強度がかなり大きいので、リボフラビン分子への水素付加、すなわちリボフラビンが還元されていることが分かった。この水素源を同定するために、試料調製に用いた水、メタノール、トリフルオロ酢酸の重水素化合物を用いて測定を行った。その結果、ポーラス構造体に吸着された水が水素源になっていることが分かった。溶媒にメタノールだけを用いることによりリボフラビンの還元をかなり抑えることができた。

5 おわりに

著者らは、DIOSチップ作製のための電解装置を製作し、シリコンウェハの抵抗率、電流密度、エッチング時間などの条件を最適化した。その結果、低質量域において夾雑物イオンの影響がほとんどないマススペクトルを得ることのできるDIOSチップを作製することができた。そして、DIOS法がいろいろな合成高分子のイオン化及び定量分析に有効であることが分かった。

DIOS法は、マトリックスを使用しない利点があるにもかかわらず、まだ一般に利用されるに至っていない。MALDIに比べてDIOSの弱点は、感度が低いこととイオン化可能な分子の質量が小さいことである。DIOSのイオン化の原理は、明らかにされていないのが現状であり、DIOS性能の向上のためにはイオン化機構の解明が重要である。著者らは、DIOSの過程における試料の酸化還元について調べた。DIOSではMALDIと同様に試料が酸化還元され、プレートと試料の間での電子移動が原因であることを示した。現在、著者らはサブマイクロメートルオーダーの構造を持つプレートにおける“マトリックスフリーレーザー脱離イオン化”という現象を解明するために、プレートの材質、構造の違い、作製法など様々な観点からの研究を行っている。イオン化機構を明らかにすることで、DIOSを中心としたマトリックスフリーレーザー脱離イオン化が、生体高分子、合成高分子、低分子量の有機物、金属錯体など様々な物質の分析において、大きな役割を果たすことを確信している。

DIOSチップの走査型電子顕微鏡写真は、日本電子(株)に測定していただいた。図の転載を許可していただいた日本質量分析学会に感謝します。

文 献

- 1) K. Tanaka, H. Waki, Y. Ido, S. Akita, Y. Yoshida, T. Yoshida: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2**, 151 (1988).
- 2) M. Karas, D. Bachmann, F. Hillenkamp: *Anal. Chem.*, **57**, 2935 (1985).
- 3) M. Karas, D. Bachmann, U. Bahr, F. Hillenkamp: *Int. J. Mass. Spectrom.*, **78**, 53 (1987).
- 4) M. Karas, F. Hillenkamp: *Anal. Chem.*, **60**, 2299 (1988).
- 5) C. Fenselau: *Anal. Chem.*, **69**, 661A (1997).
- 6) R. Aebersold, D. R. Goodlett: *Chem. Rev.*, **101**, 269 (2001).
- 7) G. F. Swiegers, T. T. Malefetse: *Chem. Rev.*, **100**, 3483 (2000). J. Rappsilber, M. Moniatte, M. I. L. Nielsen, A. V. Podtelejnikov, M. Mann: *Int. J. Mass. Spectrom.*, **226**, 223 (2003).
- 8) S. D. Hanton: *Chem. Rev.*, **101**, 527 (2001).
- 9) G. Montaudo, R. P. Lattimer (eds.): “*Mass Spectrometry of Polymers*”, (2001), (CRC, Boca Raton).
- 10) 佐藤浩昭, 大谷 肇: *ぶんせき (Bunseki)*, **2002**, 502.
- 11) S. F. Macha, P. A. Limbach: *Curr. Opin. Solid State and Material Science*, **6**, 213 (2002).
- 12) R. M. Murgasova, D. M. Hercules: *Int. J. Mass. Spectrom.*, **226**, 151 (2003).
- 13) T. W. Hutchens, T. T. Yip: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **7**, 576 (1993).
- 14) S. Mouradian, C. M. Nelson, L. M. Smith: *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 8639 (1996).
- 15) Y. S. Lin, Y. C. Chen: *Anal. Chem.*, **74**, 5793 (2002).
- 16) J. Wei, J. M. Buriak, G. Siuzdak: *Nature*, **399**, 243 (1999).
- 17) Z. Shen, J. J. Thomas, C. Averbuj, K. M. Broo, M. Engelhard, J. E. Crowell, M. G. Finn, G. Siuzdak: *Anal. Chem.*, **73**, 612 (2001).
- 18) J. J. Thomas, D. Blackledge, G. Siuzdak: *Anal. Chim. Acta*, **442**, 183 (2001).
- 19) J. J. Thomas, Z. Shen, J. E. Crowell, M. G. Finn, G. Siuzdak: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 4932 (2001).
- 20) R. A. Kruse, S. S. Rubankhin, E. V. Romanova, P. W. Bohn, J. V. Sweedler: *J. Mass Spectrom.*, **36**, 1317 (2001).
- 21) Z. Shen, S. Yao, J. Crowell, G. Siuzdak, M. G. Finn: *Israel J. Chem.*, **41**, 313 (2002).
- 22) W. G. Lewis, L. G. Green, F. Grynszpan, Z. Radic, P. Carrier, P. Taylor, M. G. Finn, K. B. Sharpless: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **41**, 646 (2002).
- 23) V. V. Laiko, N. I. Taranenko, V. D. Berkout, B. D. Musselman, V. M. Doroshenko: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **16**, 1737 (2002).
- 24) G. Siuzdak: 日本質量分析学会創立50周年記念若手講演会要旨集, p. 17 (2002).
- 25) W. G. Lewis, Z. Shen, M. G. Finn, G. Siuzdak: *Int. J. Mass Spectrom.*, **226**, 107 (2003).
- 26) K. Huikko, P. Ostman, C. Sauber, F. Mandel, K. Rigorous, S. Franssila, T. Kotiaho, R. Kostianen: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **17**, 1339 (2003).

- 27) E. P. Go, Z. Shen, K. Harris, G. Siuzdak: *Anal. Chem.*, **75**, 5475 (2003).
- 28) Z. Shen, E. P. Go, A. Gamez, J. V. Apon, V. Fokin, M. Greig, M. Ventura, J. E. Crowell, O. Blixt, J. C. Paulson, R. Stevens, M. G. Finn, G. Siuzdak: *Chem. Bio. Chem.*, **5**, 921 (2004).
- 29) Z. Shen, J. J. Thomas, G. Siuzdak, R. D. Blackledge: *J. Forensic Sci.*, **49**, 1 (2004).
- 30) S. Okuno, Y. Shimomae, K. Ohara, H. Fujiwara, J. Ohyama, M. Ohmoto, Y. Wada, R. Arakawa: *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **52**, 142 (2004).
- 31) O. Bisi, S. Ossicini, L. Pavesi: *Surf. Sci. Rep.*, **38**, 1 (2000).
- 32) H. Foll, M. Christophersen, J. Carstensen, G. Hasse: *Mater. Sci. Eng. Reports*, **39**, 93 (2002).
- 33) F. O. Ayorinde, P. Hambright, T. N. Porter, Q. L. Keith: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **13**, 2474 (1999).
- 34) R. Arakawa, Y. Shimomae, H. Morikawa, K. Ohara, S. Okuno: *J. Mass Spectrom.*, **18**, 961 (2004).
- 35) (a) O. Vorm, R. Roepstorff, M. Mann: *Anal. Chem.*, **66**, 3281 (1994); (b) Y. Dai, R. M. Whittall, L. Li: *Anal. Chem.*, **68**, 2494 (1996).
- 36) S. Okuno, Y. Wada, R. Arakawa: *Int. J. Mass Spectrom.*, **241**, 43 (2005).
- 37) DPPG2000 と TPPG3000 のイオン強度比 P を下式に従って評価した。DPPG2000 スペクトル中のピーク強度の大きい7つのイオン m/z 1900, 1958, 2016, 2074, 2132, 2190, 2248 と TPPG3000 のイオン m/z 3019, 3077, 3135, 3193, 3251, 3309, 3367 を代表に選り P 値を求めた。同じ条件で5回測定し、データの再現性を確認した。

$$P = \frac{\sum I_{3000} M_{3000}}{(\sum I_{3000} M_{3000} + \sum I_{2000} M_{2000})}$$
 I_{3000}, M_{3000} : TPPG3000 の Na^+ 付加イオンのピーク強度及び m/z 値。
 I_{2000}, M_{2000} : DPPG2000 の Na^+ 付加イオンのピーク強度及び m/z 値。
- 38) R. Knochenmuss, R. Zenobi: *Chem. Rev.*, **103**, 441 (2003).
- 39) M. Karas, R. Kruger: *Chem. Rev.*, **103**, 427 (2003).
- 40) K. Dreisewerd: *Chem. Rev.*, **103**, 395 (2003).
- 41) J. Zhang, V. Frankevich, R. Knochenmuss, S. D. Friess, R. Zenobi: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **14**, 42 (2003).
- 42) Y. Itoh, Y. Ohashi, T. Shibue, A. Hayashi, S. Maki, T. Hirano, H. Niwa: *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **50**, 52 (2002).
- 43) A. Sarver, N. K. Scheffler, M. D. Shetlar, B. W. Gibson: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **12**, 439 (2001).
- 44) A. S. Petersson, H. Steen, D. E. Kalume, K. Caidahl, P. Roepstorff: *J. Mass Spectrom.*, **36**, 616 (2001).
- 45) R. Kaneko, Y. Wada: *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **50**, 223 (2002).
- 46) R. Kaneko, Y. Wada: *J. Mass Spectrom.*, **38**, 526 (2003).
- 47) R. Zenobi, R. Knochenmuss: *Mass Spectrom. Rev.*, **17**, 337 (1998).
- 48) R. Knochenmuss, A. Stortelder, K. Breuker, R. Zenobi: *J. Mass Spectrom.*, **35**, 1237 (2000).
- 49) V. Frankevich, R. Knochenmuss, R. Zenobi: *Eur. J. Mass Spectrom.*, **8**, 67 (2002).
- 50) M. V. Gorshkov, V. E. Frankevich, R. Zenobi: *Int. J. Mass Spectrom.*, **220**, 11 (2002).
- 51) V. E. Frankevich, J. Zhang, M. Dashtiev, R. Zenobi: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **17**, 2343 (2003).
- 52) V. E. Frankevich, J. Zhang, S. D. Friess, M. Dashtiev, R. Zenobi: *Anal. Chem.*, **75**, 6063 (2003).
- 53) S. Okuno, R. Arakawa, Y. Wada: *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **52**, 13 (2004).
- 54) T. D. McCarley, R. L. McCarley, P. A. Limbach: *Anal. Chem.*, **70**, 4376 (1998).
- 55) S. F. Macha, T. D. McCarley, P. A. Limbach: *Anal. Chim. Acta*, **397**, 235 (1999).
- 56) S. Okuno, K. Oka, Y. Wada, R. Arakawa, to be submitted.
- 57) P. Kraft, S. Alimpiev, E. Dratz, J. Sunner: *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **9**, 912 (1998).
- 58) S. Alimpiev, V. Nikiforov, T. Minton, J. Sunner: *J. Chem. Phys.*, **115**, 1891 (2001).
- 59) S. Okuno, M. Nakano, G. Matsubayashi, R. Arakawa, Y. Wada: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **18**, 2811 (2004).

要 旨

マトリックス支援レーザー脱離イオン化 (matrix-assisted laser desorption ionization, MALDI) は、低分子から高分子に至る様々な化合物のイオン化に有効である。しかしながら、マトリックス関連イオンが強く検出されるためにマススペクトルが複雑になり、目的イオンの解析が困難な場合がある。また、スペクトルの再現性や定量性に欠け、イオン化の際に試料の酸化還元による分解が起こりやすいという欠点がある。ポーラスシリコンを用いたレーザー脱離イオン化 (desorption ionization on silicon, DIOS) は、マトリックスなしでイオン化が可能であるので、ノイズイオンの少ない単純なスペクトルが得られることが期待される。著者らは、DIOS チップ用の電解装置を製作し、DIOS 作製の最適条件を決定し、低質量域において夾雑物イオンの影響がほとんどないマススペクトルを得た。そして、DIOS 法がいろいろな種類の合成高分子の定量並びに定性分析で有効であることを示した。更に、銅(II)塩、有機色素、フェロセン誘導体、リボフラビンを用いて MALDI と DIOS のイオン化機構を調べるために、それらの酸化還元の挙動を検討した。