

多重周回軌道を用いた 投影型イメージング質量分析装置の開発



研究ノート

青木 順*

Development of Stigmatic Imaging Mass Spectrometry
with Multi-turn Optics

Key Words : imaging mass spectrometry, surface analysis

1. はじめに

原子核の質量を計ることから始まった質量分析技術は、レーザー光を使ったソフトなイオン化技術の発見により生体高分子の計測が可能になったことによる生命科学分野での急速な普及をはじめとして、現在では多種多様な分野で基盤となる計測技術として定着している [1]。これまでの質量分析の計測は、測定物全体を均質に混合してから測定するいわゆる大域的な測定であったが、近年新しく登場したイメージング質量分析技術により、測定試料中の物質の質量ごとの二次元的な分布情報が得られるようになった (図1参照)。この新しい計測技術であるイメージング質量分析は生物学・医学薬学分野の研究で

活発に用いられるようになり、生体内での特定のタンパク質の分布の病理学的な傾向や薬物動態の測定で成果をあげている [2]。

イメージング質量分析の一般的な市販装置では走査型という方式を採用している。走査型では、レーザービームをプローブとして測定対象の領域内を順次測定し位置情報と合わせて分布画像を生成している。この方式はこれまでの質量分析装置の技術から容易に開発できるというメリットがある反面で、プローブであるレーザーの集光径による制限から空間分解能が $10 \mu\text{m}$ 程度までしか下げられず、また走査に伴う測定回数が多いために測定時間が長くなる (~10時間) というデメリットが存在する。イメージング質量分析による研究が進展するにしたがって研究現場からは細胞スケールでの観測が可能なサブミクロンレベルの空間分解能が求められるようになり、走査型の限界が顕在化してきている。そこで、こうした要求を満足するような性能向上が期待できる技術として、投影方式によるイメージング質量分析が研究されはじめた。投影方式では、大口径のレーザー光を計測試料の観測領域全体に照射して一遍にイオン化させて、その後でイオンレンズ光学系を用いてイオンの分布を検出面上に結像させて観測する。結像光学系を用いることで、空間分解能はプローブサイズで制限されなくなり、またスキャンの必要がないために測定時間が短くできる。しかし、投影方式は性能的に大きな可能性を持っているが、この方式を実現させることは既存の技術では難しく、これまで十分な性能を持った装置は開発できていなかった。投影方式イメージング質量分析ではイオンの分布像と質量を同時に計測するため、空間分解能と質量分解能のふたつの性能が要求されることが技術的な課題である。こうした課題を解決するために、我々の研究グループでは多重周回軌道を持つ飛行時

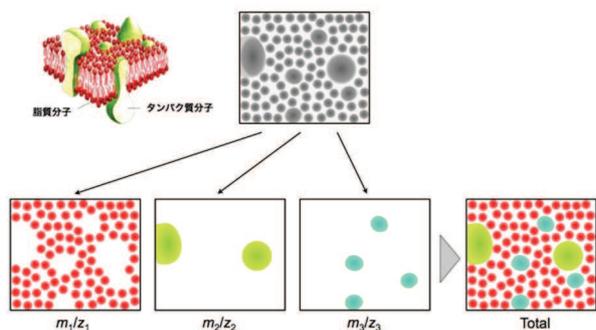


図1 イメージング質量分析の概要

* Jun AOKI

1978年12月生
京都大学大学院 人間・環境学研究科
相関環境学専攻博士課程 (2007年)
現在、大阪大学大学院 理学研究科 基礎
理学プロジェクト研究センター 助教
博士(人間・環境学) イメージング質量
分析、イオン制御物理学
TEL : 06-6850-5747
FAX : 06-6850-5762
E-mail : ajunmail@mass.phys.sci.osaka-u.ac.jp



間型質量分析計 (MULTUM) を採用した装置の開発を行った [3,4]。

2. MULTUM を用いた投影方式イメージング質量分析装置

飛行時間型の質量分析装置で質量分解能を向上させる手段として、イオンの飛行距離を長くすることが有効である。しかし、通常の装置ではサイズの制限から2メートル程度が限界である。また、イメージングで用いる場合には飛行距離を長くすると、その間にイオンが発散し空間分解能が低下する。これらの課題は MULTUM を使うことで克服することができる。MULTUM は、イオンを同一軌道で多重周回させることで、装置サイズを大きくすることなく飛行距離をのばすことが可能である [5,6]。また、その軌道は空間収束性を持っており、イオンが周回軌道に入射した時の位置と角度が出射する時に保存されるという特性を持つため、イオンの分布や光学系の結像特性に影響を与えることなく空間分解能を低下させない。MULTUM におけるイオン軌道を図2に示す [7]。青色の軌道は入射位置に変位を与えたもの、赤色の軌道は入射角度に変位を与えたもので、それぞれ中心軌道からの変位を10倍にして表示している。どちらの軌道も1周目で逆方向の変位で戻り、2周目には元の変位になっていることがわ

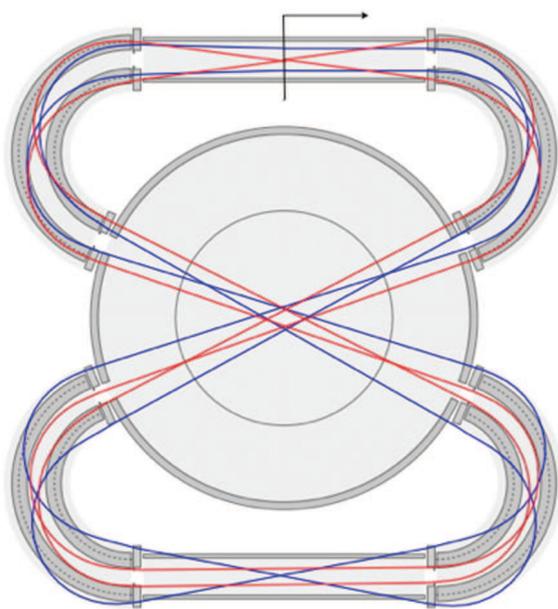


図2 MULTUM 周回軌道のシミュレーション結果

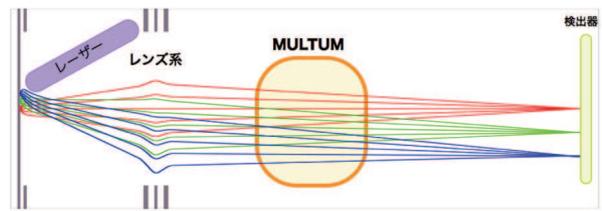


図3 投影方式飛行時間型イメージング質量分析装置のイオン軌道

かり、空間収束性が確認できる。図3に、MULTUM とイオンレンズ光学系を備えたイオン源を組み合わせた投影方式イメージング質量分析装置の概略図を示す。レーザー光の照射によりイオン化した計測試料は5kVで加速されて、レンズ光学系により検出面へと結像される。ここではアインツェルレンズを用いており、このレンズは通常の光学レンズと同様の特性を持ち、試料表面の分布像を検出面に投影する働きをする。試料分子の質量を知るためには、検出面までの飛行時間を測定すればよい。さらに、この検出器までの直線軌道に MULTUM の多重周回軌道を挿入することで飛行距離をのばし、質量分解能を高めることができる。図4は製作した装置の主要部分の写真である。



図4 装置の写真

3. 性能評価実験と応用研究

開発した装置の性能を評価するために、微細構造を持った評価用サンプルを作成して観測実験を行った。この装置の開発目標として空間分解能を $1\mu\text{m}$ と設定していたので、幅 $1\mu\text{m}$ の線が間隔 $1\mu\text{m}$ で並んでいる形状を観測し、これが判別できれば $1\mu\text{m}$ の

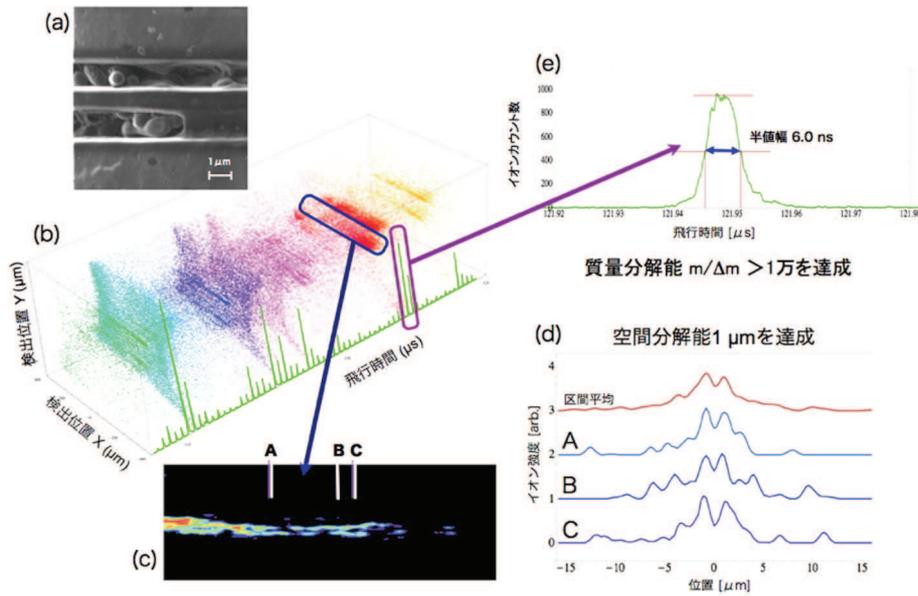


図5 評価実験の観測結果

空間分解能があると考えた。そのような微細構造を作るために集束イオンビームによるエッチングを利用した。作成手順は、まず、サンプルプレート上に色素を滴下して乾かした後に、アルミニウムの薄膜(1.5 μm厚)を貼り付ける。その上から集束イオンビームを照射してアルミニウムを削り取り、幅1 μmの線状の穴をあけて下部の色素を露出させ、このスリットを1 μmの間隔で2本並べた。図5(a)にこの微細構造の2次電子像を示す。アルミニウム薄膜上に設けられたスリットとその下にある色素が確認できる。この評価用サンプルをMULTUMで4周回させて観測した結果を図5(b)に示す。取得されたデータは検出位置のXY座標と検出時間の3次元で表される。観測対象である色素の飛行時間付近で検出されたイオンのデータを抽出して、X-Y平面のイオン分布量をイオン像として描画したものを図5(c)に示す。イオン像では評価用サンプルの微細な線状模様が2本として判別できている。また、図中の3カ所での縦方向の強度プロファイルをプロットしたグラフ(図5(d)参照)からも、線が2本に分かれていることが確認できる。この結果から、装置の性能として空間分解能1 μmを有することが実証された。図5(e)に観測対象である色素に該当する飛行時間スペクトルのピークの拡大図をプロットした。ピークの半値幅は6.0 nsであり、これと飛行時間121.95

μsより質量分解能 $m/\Delta m > 10000$ であることも確認された。この評価実験により、開発目標としていた装置性能を確認することができた。

この観測性能を用いて、現在、いくつかの応用研究を進めている。その中の一つとして、メダカに蓄積された金属イオン分布の観測結果を報告する。この実験では、SrCl₂を0.001 mol/LとCsIを0.05 mol/Lの濃度に調整した溶液中でメダカを2週間飼育し、凍結させた後に10 μm厚にスライスした切片を観測した。図6にメダカ頭部のイオン像を示す。ストロンチウム、カリウム、セシウムのイオン検出

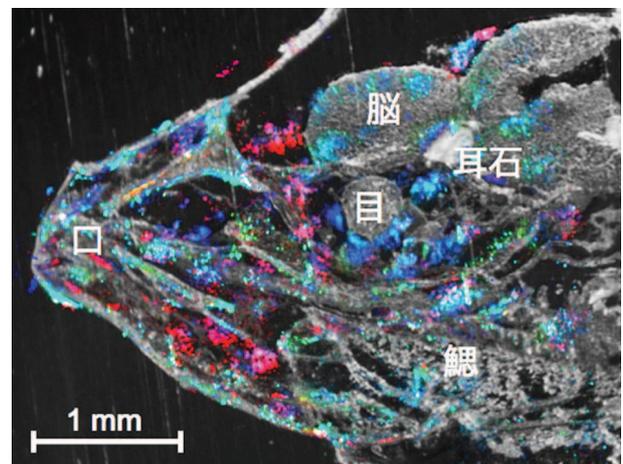


図6 メダカ切片のイオン像(赤: Sr/ 緑: K/ 青: Cs)

強度を、それぞれ赤緑青の色強度に割り当てて光学顕微鏡像に重ねて表示している。観測結果のイオン像で細かい組織の形状まで確認することができる。金属種によって生体内で蓄積している場所が異なっていることがわかり、生理学的作用との関係や蓄積メカニズムについての検討が今後の研究課題である。

4. おわりに

計測技術として成熟した技術である質量分析に、分布位置の情報を付け加えることでこれまで見えなかった現象を見えるようにするのがイメージング質量分析である。我々の研究グループでは、投影方式によるイメージング質量分析装置の開発という難しい課題にチャレンジし、製作した装置は世界最高性能を達成した。新しい計測手法であるため様々な分野での応用が期待でき、メダカを観測した報告例以外にも、生体内の物質分布の観測による薬物動態や病理学的な疾患の分析、また高機能有機デバイスの表面分析などの応用研究を進めている。

参考文献

- [1] F. Hillenkamp, M. Karas, R. C. Beavis and R. Nitsche, *Anal. Chem.* 63, 1193 (1991).
- [2] R. M. Caprioli, T. B. Farmer and J. Gile, *Anal. Chem.* 69, 4751 (1997).
- [3] H. Hazama, J. Aoki, H. Nagao, R. Suzuki, T. Tashima, K. Fujii, K. Masuda, K. Awazu, M. Toyoda and Y. Naito, *Appl. Surf. Sci.*, 255, 1257-1263 (2008).
- [4] H. Hazama, H. Yoshimura, J. Aoki, H. Nagao, M. Toyoda, K. Masuda, K. Fujii, T. Tashima, Y. Naito and K. Awazu, *J. Biomed. Opt.*, 16, 046007 (2011).
- [5] M. Toyoda, D. Okumura, M. Ishihara and I. Katakuse, *J. Mass Spectrom.*, 38, 1125 (2003).
- [6] M. Toyoda, *Eur. J. Mass Spectrom.*, 16, 397-406, (2010).
- [7] J. Aoki, A. Kubo, M. Ishihara and M. Toyoda, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res., Sect. A.* 600, 466 (2009).

