

Title	熱パルスイオン化法とその生体分子への応用に関する研究
Author(s)	羅, 希
Citation	
Issue Date	2017-12
Type	Thesis or Dissertation
Text version	ETD
URL	http://hdl.handle.net/10119/15080
Rights	
Description	Supervisor:高村 禪, マテリアルサイエンス研究科, 博士

氏 名	Luo, Xi
学 位 の 種 類	博士(マテリアルサイエンス)
学 位 記 番 号	博材第 442 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 29 年 12 月 22 日
論 文 題 目	Study on Pulse-heating Ion Source and Its Application for Bio-molecules
論 文 審 査 委 員	主査 高 村 禅 北陸先端科学技術大学院大学 教授
	下 田 達 也 同 教授
	平 塚 祐 一 同 准教授
	松 村 和 明 同 准教授
	宇理須 恒 雄 名古屋大学 客員教授

論文の内容の要旨

Mass spectrometry (MS) is one of the most powerful analytical tools which has been extensively used for bio-molecule analysis. It plays an important role in a wide-field, such as diagnosis, pharmaceutical research, and environment monitoring. Despite many advantages, the MS system is bulky and expensive which only can be operated inside a laboratory. Therefore, a miniaturized MS system is desired to meet the needs of on-site detection. Although there are several kinds of portable MS system have been reported, they are only capable with the small molecular weight samples. Hence, the aim of this study is to develop a miniaturized MS system which could be used to analysis a broad mass range of bio-molecules.

Recently, an on-chip pulse-heating desorption/ionization (PHDI) source has been developed for protein analysis in the positive ion detection mode. Without the need of laser or high voltage, the PHDI method shows the ability of protein ionization with matrix by only applying thermal energy. In the early stage of study, not only singly charged ion signal and multiply charged ion signals, but also many fragmentation ion signals were observed, resulting difficulties in explaining the mass spectra and identifying the ion signal.

To obtain a clear mass spectrum with less backgrounds and fragmentations, the performance of the MS system has been improved from mainly two ways. Firstly, the thickness and uniformity of the sample film was found to affect the generation of fragmentation ion signals. In order to reduce the thickness of sample film, the oxygen plasma treatment process was introduced to increase the wettability of the chip surface. The thickness of sample film was reduced to 20 nm. Secondly, the alignment of ion source and inlet of mass filter was found to affect the signal shift. To solve this problems, a chip-holder was designed to fix the chip position. Then a calibration method for the on-chip ion source mass spectrometry was established. As a result, a clear mass spectrum was able to be obtained with very less fragmentations and backgrounds under optimized conditions.

The negative ion detection mode was introduced to understand the ion formation mechanism. The initial data was obtained with the simple organic sample. By comparing the mass spectra in both positive and negative ion detection modes, we found that the positively charged and negatively charged ion signals are generated at same time under the same conditions. The ionization of protein mixed with matrix samples were investigated under different level of supplied thermal energy with both positive and negative ion detection modes. With a low thermal energy supplied, only desorption process was occurred. With a proper thermal energy supplied, the sample could be desorbed and ionized. Then, the singly charged ion signal could be observed with very less fragmentation. When increase the supplied energy, the fragmentation ion signals are observed due to decomposition and fragmentation.

In this study, a matrix-free ionization process is introduced to the on-chip PHDI source to avoid the matrix effects and simplify the sample preparation process. A wide range of bio-molecules have been tested by this MS system, including amino acids, carbohydrates, peptide, and proteins to prove this concept. As a results, the PHDI source shows excellent capability for matrix-free biomolecular ionization.

In conclusion, a miniaturized MS system has been developed with an on-chip PHDI source which is capable with a broad range of bio-molecules, including amino acids, carbohydrates, peptide, and proteins. Under the optimized conditions, a clear and reproducible mass spectrum is able to be obtained for all these samples with only singly charged ion signal and very less fragmentations and backgrounds. A matrix-free ionization process is established with this on-chip PHDI MS system. It is believed that this work offers a new technique for bio-molecule analysis which overcomes the limitations of the conventional MS system.

Keywords: Miniaturized mass spectrometry; on-chip ion source; pulse-heating ionization; matrix-free ionization; bio-molecule analysis.

論文審査の結果の要旨

本論文は、質量分析における生体分子等の新規なイオン化源である、熱パルス脱離イオン化源の研究に関するものである。質量分析法は高感度・高解像度な分析法であり、マトリックス支援レーザー脱離イオン化法(MALDI)やエレクトロスプレーイオン化法 (ESI)により、大きな生体分子の分析にも広く用いられているが、大型・高価な装置が必要であった。従来イオン化には数eVのイオン化エネルギーを一度に供給できる光、または高電界、または加速粒子等が必須とされていたが、本学ではマトリックス中に分散させたタンパク質をヒータ加熱による熱パルスだけで効率的にイオン化し、質量分析可能なことを見出し

ていた。この熱パルス脱離イオン化法を用いると小型、安価な質量分析器を実現できる可能性もある。しかし、そのメカニズムや特性はまだよくわかっていなかった。本論文は、この熱パルス脱離イオン化法の特性を詳細に調べ、メカニズムに関する知見を得、さらに従来のイオン化法では難しかった応用を開拓することを目的としている。

第1章では、小型質量分析器の必要性と現状、その問題点、熱パルス脱離イオン化源のこれまでの研究についてまとめ、本論文の課題を明確にしている。

第2章では、熱パルス脱離イオン化源を用いた質量分析器の再現性・および特性の大幅な向上を行っている。再現性に影響する要因を調べ、必要な装置的改良を行った。また、酸素プラズマを用いたサンプルの塗布面の改質により、サンプルを20nmという薄さで均一に塗布することを可能とし、脱離イオン化の効率と再現性を大幅に改善し、またこれが本質的に重要であることを明らかにした。

第3章では、熱パルス脱離イオン化源における、イオン化メカニズムを調べている。負イオン検出系を追加し、塩化ナトリウムでは熱パルスにより容易に Na^+ 、 Cl^- イオンのみが生成することを明らかにした。粒子同士が接触した状態から離れる場合は、Naの第1イオン化エネルギーよりも低いエネルギーでイオン化し、熱のみで十分イオン化することが示唆された。また、マトリックスと1種類のたんぱく質の系では、マトリックス、タンパク質の双方に正イオン、負イオンが得られ、分子内での部分的な親和力の差により、双方イオンが得られることが示唆された。また、タンパク質のみでも同様に正負イオンが得られ、マトリックスはイオン化に必須ではないことが分かった。

第4章では、熱パルス脱離イオン化源の応用例として、マトリックスフリーでの生体分子の解析について述べている。従来のイオン化では困難であった炭水化物・糖鎖類のイオン化が、本法によりマトリックスフリーで容易に可能であることを見出した。またアミノ酸のような低分子も、マトリックスピークの干渉なく、クリアーに質量分析可能であることを実証した。

以上、本論文は、熱パルス脱離イオン化源について、その特性を大きく改善させ、主要なメカニズムを解明し、生体分子分析への有用性を実証したものであり、学術的に貢献するところが大きい。よって博士（マテリアルサイエンス）の学位論文として十分価値あるものと認めた。