

エレクトロスプレーイオン化法と静電分級法を用いた高分子解析装置： マクロ IMS™

Macroion Mobility Spectrometer: MacroIMS™

濱 尚矢^a, 笛木 正人^a

Naoya Hama and Masato Fueki

1. はじめに

ナノ粒子計測技術の進歩により、最小 2.5 nm の粒子が測定可能になった。TSI 社 (米国) の SMPS3936 を含めた粒径分布装置は浮遊ナノ粒子計測のデファクトスタンダードになりつつある。大気中粒子などの環境測定にも役立っており、さらなる分野での活用も期待されている。本稿では、同様の技術を利用した TSI 社製モデル 3980C Macroion Mobility Spectrometer; MacroIMS™ (マクロ IMS™) を紹介する。マクロ IMS は 8 kDa~80 MDa の非常に広範囲な高分子質量分析を、最短 60 秒で素早く行う事が可能である。一般的な高分子量のタンパク質や、ウイルス検出などの分析を非常に素早く行うことが出来る。本装置は制御用 PC のほかに大きく 3 部分で構成されている。発生部にはエレクトロスプレーイオン化法を用いたエレクトロスプレー発生器が使用される。検出部には静電分級法を用いたイオンモビリティドリフトセル (通称 DMA) と分級後の試料をカウントするマクロイオンディテクター (通称 CPC) が含まれる。図 1 にマクロ IMS の概略図を示す。

2. 構造と原理

2.1 エレクトロスプレー発生器

エレクトロスプレーの原理を述べる。材料の液体は、バイアル瓶に入っており、バイアル瓶自体はサンプルチャンパーに設置される。チャンパーには微細管とプラチナ電極があり、これらはチャンパーを密閉にした際に液体に触れる。チャンパーは加圧され、液体は微細管内に押し出される。電極の高電圧を調整させることにより電界が生じる。微細管先端にて液体が電界により誘導され、微小液滴が発生する。高い荷電を帯びた粒子は α 線源 (日本国内は

Am-241) により荷電平衡状態にされ、Air/CO₂により輸送される。この際に溶剤は揮発される。チャンパーを出たサンプルは単一荷電で気相分散状態の粒子となっている。サンプルがタンパク質などの場合、約 2-5 $\mu\text{g ml}^{-1}$ が pH8 の 20 mM の酢酸アンモニウムに溶解される。この緩衝液が主に使用される理由としては、極めて安定した発生が可能 (cone-jet エレクトロスプレーモード) ということと pH やイオン強度を長時間保ちやすいためである¹。

2.2 イオンモビリティドリフトセルとマクロイオンディテクター

イオンモビリティドリフトセルの原型 (DMA) は Rohmann (1923) が開発し、それ以降 Liu and Pui (1974) などの尽力により商品化された²。

エレクトロスプレーのチャンパーから出た粒子はシースイアアが上から下へ流れているイオンドリフトセルへ輸送される。中央には、マイナスの電圧がかけられている高電圧ロッド (0~-10,000 VDC) があり、-荷電された粒子が存在する際は外壁側に反発し、+荷電された粒子は中央の高電圧ロッドに引き寄せられる。+荷電粒子は、それぞれの粒子が持つ電気移動度に従って中央に移動される。粒子の電気移動度は、粒子径に反比例しており、粒子径が小さい程電気移動度は大きく、逆に粒子径が小さい程電気移動度は大きくなる。これにより、電圧ロッドの設定電圧に応じた粒子径の単分散粒子のみが電圧ロッドの下部にあるスリットをすり抜けマクロイオンディテクターに流れる。

それぞれの粒子は継続的に加熱されたサチュレーター部を通過する。そこで凝縮液として利用しているアルコール分は気化され、サンプルエアに拡散される。直後に、粒子と気化されたアルコール分は冷やされたコンデンサーを通過し、アルコール分は飽和される。粒子が核となり、飽和されたアルコールと共に凝縮する。凝縮されたサンプルはレーザーで検出できる大きさとなるため、粒子数がカウント可能となる。

イオンモビリティドリフトセルの電圧ロッドの電圧は連続的に上昇し、マクロイオンディテクターへ運ばれる粒子の粒子径もそれに伴い、小さい粒子径から大きい粒子径へと変化する。小さい粒子から大きい粒子のカウントが終了すると X 軸が粒子径 (nm), Y 軸が個数濃度 (個/cm³) の粒径分布が得られる。X 軸が分子量 (kDa), Y 軸が個数濃度 (個/cm³) の質量分布も得ることが出来る。

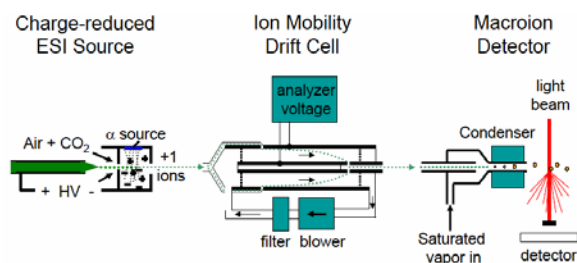


Figure 1. Simplified Schematic of macroIMS showing the Flow Path of ions (TSI Incorporated). From left to right, ESI, Ion Mobility Drift cell, and Macroion detector.

^a東京ダイレック株式会社 研究開発部
連絡先 〒160-0014 新宿区内藤町1内藤町ビルディング
電子メール hama@tokyo-dylec.co.jp

3. モビリティ径と分子量の相関

Kaufman et al (1996), Mouradial et al (1997), Kaufman et al (1997) などの研究で既に分子量が知られている標準的な

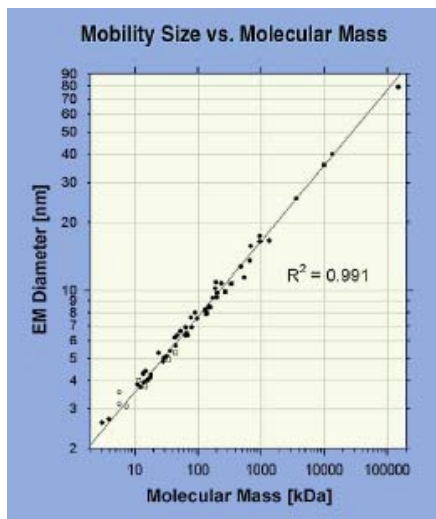


Figure 2. Correlation of electrophoretic-mobility diameter with molecular mass (TSI Incorporated).

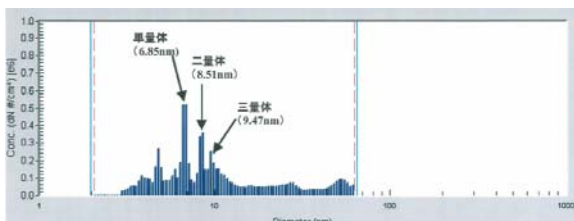


Figure 3. A measurement of Bovine serum albumin. The peaks are indicated with actual measured size.

タンパク質の電気移動度による粒子径と分子質量を計測・比較した結果、5 kDa~100 MDa の範囲において両者は $R^2 > 0.99$ という非常に高い相関関係にあることが分かっている。図2に TSI 社が公表しているモビリティ径と質量の相関を示す。サンプルは 21 種の球状タンパク質、5 種の DNA オリゴマー、フェリチン、ヘモグロビンなどを含んでいる³。

4. 測定例

弊社試験では Bovine Serum Albumin(BSA)を pH 8 の 20 mM 酢酸アンモニウム緩衝液に溶解し、マクロ IMS で質量解析を行った。図3に測定結果画面を示す。Bacher et al (2001) の研究結果¹と同様の場所に BSA の単量体

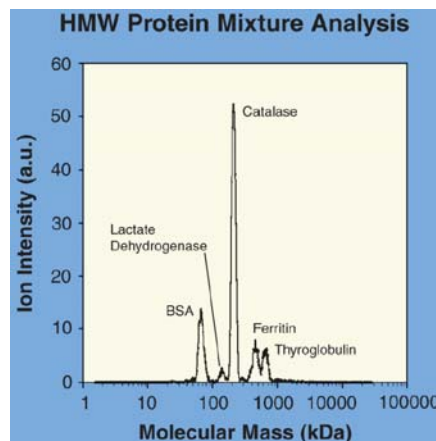


Figure 4. High Molecular Weight (HMW) protein mixture-macroIMS mass spectrum (TSI Incorporated).

(7.1nm)、二量体 (9.0 nm)、三量体 (10.4 nm) のピークが見ることが出来た。他のピークについては残渣などと考えられる。

図4は高分子タンパク質混合液の質量分析の結果を示している。分子量の異なる高分子タンパク質を1つの溶液に混合した際の各タンパク質同定を、電気泳動用高分子タンパク質校正キット (Amersham Biosciences 社製、製造コード; 17-0445-01) を用いて計測した結果である。混合液中には Bovine Serum Albumin (BSA) (66 kDa), Lactate Dehydrogenase (140 kDa), Catalase (232 kDa), Ferritin (440 kDa), Thyroglobulin (669 kDa) が含まれており、いずれのタンパク質もきれいに検出されている²。

5. おわりに

本稿では、TSI 社製のモデル 3980C マクロ IMS について紹介させていただいた。本製品の利点を多くの研究者に紹介し、少しでも研究のお役に立てるよう尽力したい。

引用文献

- (1) Bacher, G.; Szymanski, W. W.; Kaufman, S. L.; Zollner, P.; Blaas, D.; Allmaier, G. *J. Mass Spectrom.* **2001**, *36*, 1038-1052.
- (2) TSI Incorporated, unpublished results.
- (3) Kaufman, S. L. *J. Aerosol Sci.* **1998**, *29*, 537-532.

(受理日 2007年4月11日)