

Title	熱パルスイオン源を用いた質量分析チップの開発
Author(s)	杉山, 清隆
Citation	
Issue Date	2015-03
Type	Thesis or Dissertation
Text version	ETD
URL	http://hdl.handle.net/10119/12769
Rights	
Description	Supervisor:高村 禪, マテリアルサイエンス研究科, 博士

氏名	杉山清隆		
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368号		
学位授与年月日	平成27年3月20日		
論文題目	Development of on-chip mass spectrometer with pulse-heating ionization source (熱パルスイオン源を用いた質量分析チップの開発)		
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
		水田 博	同 教授
		藤本 健造	同 教授
		芳坂 貴弘	同 教授
		一木 隆範	東京大学 准教授

論文の内容の要旨

Mass spectrometry (MS) is one of the highly sensitive and highly selective analytical methods for biochemical samples including DNAs, peptides, and proteins. Presently, MS plays a key role in the health and life sciences research such as the drug discovery, biomarker measurements for medical diagnosis, and proteomics. On the other hand, miniaturized analytical devices based on the lab-on-a-chip technologies also contribute to the progress of the life science researches.

In this work, the key components for the on-chip mass spectrometry including a vacuum pump, an ionization source, and an ion lens for time-of-flight (TOF) mass analysis were miniaturized toward the highly sensitive detection of versatile biomarkers. Conventionally, MS requires a high vacuum at about 10^{-4} Pa. However, the conceptual step to significantly miniaturize the mass spectrometer into a microchip is to operate it in a low vacuum using microfluidic channel. First, the vacuum generation method using the gas-liquid phase transition on a chip was studied. Next, the pulse-heating ionization source developed herein enables the ionization of a peptide and a protein in the presence of 2,5-dihydroxybenzoic acid as a matrix without laser, high voltage, or ambient gases. TOF mass spectrometry was performed with the pulse-heating ionization chip and a relatively small TOF mass analyzer. To realize highly sensitive analysis without abundant fragment ions, the effects of matrix and solvent for sample formation on the pulse-heating ionization was investigated. The combination of highly volatile matrix like 2,5-dihydroxyacetophenone and thin-layer method with highly volatile solvent like acetone was effective to reduce fragment ions as compared conventional matrix assisted laser desorption/ionization

(MALDI) MS. Analyzed sample amount by the single pulse-heating ionization was briefly estimated about 750 amol. The miniaturized ion lens composed of a series of micro electrodes for on-chip TOF mass analyzer was integrated with the miniaturized ionization source. Ion motion in the miniaturized TOF mass analyzer was studied by numerical simulation of the ion trajectory controlled by the electric fields with micro electrodes. Finally, on-chip TOF mass spectrometry of bovine serum albumin as a protein analyte was firstly reported using the pulse-heating ionization and the 5 mm length of TOF mass analyzer with the electrostatic ion lens.

Keywords: Lab on a chip, Mass spectrometry, Miniaturized ionization source, On-chip ion lens, On-chip vacuum pump

論文審査の結果の要旨

本研究は、より低濃度帯の生体サンプル検査需要に備えて、タンパクなど生体分子の質量分析装置をチップ化するための諸要素の開発を試みるものである。特に質量分析器の微細化により、イオンの自由飛行距離が短くて良くなり、真空度への要求が下がることに着目し、ミリオーダーの飛行距離を持つ Time of flight 型の質量分析器を、チップ上に集積化可能な技術のみで構成する要素技術の研究を行ったものである。

第 1 章では、本研究の背景と共に、着眼点である微小化による低真空での質量分析の可能性について述べ、低真空かつ微細化に適した全体のチップの構成を述べ、本研究の目的を明らかにしている。

第 2 章では、チップ上で流体の移動と温度の上下のみで動作可能な新しい真空生成法について研究を行っている。真空にしたい空間に、蒸気圧の低い液体を導入することで空気を追い出し、加熱と冷却による相変態で、外部のポンプを持つことなく真空を生成する方法を開発した。また、水を作動流体に用いてチップ上で 8.5kPa の真空を生成することに成功した。

第 3 章では、チップ上にマトリックス材料と共に塗布した生体材料を、微小なヒータでパルス加熱するだけで、イオン化脱離が可能なことを示している。従来のイオン化法では、イオン化に必要なエネルギーを与えるために、光又は高電界が必須とされていたが、本研究では、熱のみでイオン化可能なことであることを世界で初めて示した。また、このイオン源を用いてたんぱく質 (BSA) 及びペプチド (アンジオテンシン) において実際の質量スペクトルを得ることに成功している。

第 4 章では、この熱パルスイオン化法に適したマトリックス材量と、その固定化方法について調べている。タンパク質等の材料において、本法により単電荷のイオンを効率よく生成し、バックグラウンドを下げるには、揮発性のマトリックスが適する傾向があること、塗布膜圧がある程度薄い事が重要であることを見出した。またこれらの最適化により、従来の MALDI 法よりも 2 桁ほど効率的なイオン化が可能なことを証明した。

第 5 章は、本イオン源で生成されたイオンをチップ内に形成された微小な空間内で効率良く飛行させるためのイオン光学系の開発に関するものである。イオンの通り道を構成する上下の平

面内にパターンニングされた 2 次元の電極のみで、イオン源からイオンを 90 度偏向し、約 40% のイオンを 5mm 自由飛行させることが可能なイオン光学系を開発した。また、チップ上のイオン源とマスフィルタを用いてタンパクの質量スペクトルを得ることに初めて成功した。

以上、本論文は、生体高分子が適切なマトリックスと熱パルスによりで高効率にイオン化できることを明らかにし、チップ上でたんぱく質の質量分析を可能としたものであり、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。