

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2006-196190

(P2006-196190A)

(43) 公開日 平成18年7月27日(2006.7.27)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
HO 1 J 49/26 (2006.01)	HO 1 J 49/26	2 G O 4 1
GO 1 N 27/64 (2006.01)	GO 1 N 27/64	B 5 C O 3 8
HO 1 J 49/16 (2006.01)	HO 1 J 49/16	
HO 1 J 49/40 (2006.01)	HO 1 J 49/40	
GO 1 N 27/62 (2006.01)	GO 1 N 27/62	V
審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 8 頁)		

(21) 出願番号 特願2005-3279 (P2005-3279)
 (22) 出願日 平成17年1月11日 (2005.1.11)

(71) 出願人 000001993
 株式会社島津製作所
 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地
 (74) 代理人 100095670
 弁理士 小林 良平
 (72) 発明者 岩本 慎一
 京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会
 社島津製作所内
 Fターム(参考) 2G041 CA01 DA04 FA12 GA04 GA07
 GA08 GA09 GA10
 5C038 HH02 HH26

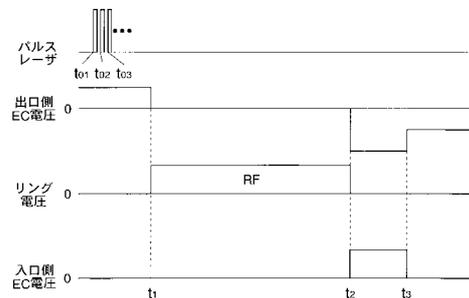
(54) 【発明の名称】 MALDI イオントラップ型質量分析装置及び分析方法

(57) 【要約】

【課題】 MALDIイオントラップ型質量分析装置において、1回の測定でより広い質量範囲をカバーすることができる方法及び装置構成を提供する。

【解決手段】 MALDI部におけるパルスレーザーの照射時刻 t_0 とイオントラップ部におけるリング電極へのRF電圧印加時刻 t_1 の間の時間を少しずつ変化させつつ、試料への複数回のパルスレーザー照射を行い、それらにより得られたマススペクトルを加算又は加算平均する。 t_0 と t_1 の間の時間が短いほど、より小さな質量電荷比を持つイオンがイオントラップ空間1 2 2にトラップされるようになるため、このように時間をずらせて多数回の測定を行うことにより、広い質量範囲をカバーしたマススペクトルを得ることができる。

【選択図】 図3



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

第 1 の動作パラメータに従って試料にパルスレーザを照射するMALDI部と、MALDI部において生成されたイオンをトラップし、第 2 の動作パラメータに従って質量分析部に放出するイオントラップ部と、

を備えるMALDIイオントラップ型質量分析装置において、

第 1 の動作パラメータと第 2 の動作パラメータの関係を変化させつつ複数回のパルスレーザ照射を行うようにMALDI部及びイオントラップ部を制御する制御部と、

を備えることを特徴とするMALDIイオントラップ型質量分析装置。

【請求項 2】

第 1 の動作パラメータがパルスレーザの照射時刻であり、第 2 の動作パラメータがイオントラップのリング電極に高周波電圧を印加する時刻であることを特徴とする請求項 1 に記載のMALDIイオントラップ型質量分析装置。

【請求項 3】

第 2 の動作パラメータを固定し、第 1 の動作パラメータのみを変化させることを特徴とする請求項 2 に記載のMALDIイオントラップ型質量分析装置。

【請求項 4】

第 1 の動作パラメータに従って試料にパルスレーザを照射するMALDI部と、MALDI部において生成されたイオンをトラップし、第 2 の動作パラメータに従って質量分析部に放出するイオントラップ部と、

を備えるMALDIイオントラップ型質量分析装置において、

第 1 の動作パラメータと第 2 の動作パラメータの関係を変化させつつ複数回のパルスレーザ照射を行うことを特徴とするMALDIイオントラップ型質量分析装置による質量分析方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、イオン源としてMALDI(Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization)を使用し、該イオン源で生成されたイオンを一旦 3 次元イオントラップ装置等のイオントラップ蓄積装置に蓄積した後、質量分析を行う、MALDIイオントラップ型質量分析装置、及びそれによる分析方法に関する。

【背景技術】

【0002】

MALDIイオントラップ型質量分析装置による質量分析の概略は次の通りである。MALDIのサンプルトレイ上に載置された試料にレーザビームを照射し、試料をイオン化する。イオン化された試料は、イオンレンズにより収束され、イオントラップに送り込まれる。イオントラップでは、その時点で電極に適切な電圧を印加することにより、入ってきたイオンを内部のイオントラップ空間に捕捉する。捕捉されたイオンは、そのままイオントラップから放出される場合もあれば、選択・開裂等の操作が行われた後、放出されることもある。イオントラップから放出されたイオンに対しては、TOFMS(Time Of Flight Mass Spectrometer)等の次段の質量分析装置により質量分析が行われる。

【0003】

イオントラップを用いた質量分析装置は一般に、一度に測定することのできる質量範囲が狭い。これは、MALDIで発生するイオンのほとんどが 1 価であり、かつ、イオントラップの低質量遮断(Lowmass Cutoff)という特徴のためである。すなわち、測定したいイオンの質量電荷比(m/z)の最大値を或る値に設定した場合、その約 1/2 ~ 1/3 以下の質量電荷比のイオンはイオントラップ内に形成される四重極電場によってトラップすることができず、イオントラップを通過してしまうためである(特許文献 1)。この下限となる質量電荷比の値は主にイオントラップにイオンを導入した直後にイオントラップのリング電極に印加

10

20

30

40

50

される高周波(RF)電圧の値(振幅)によって決まるが、RF電圧印加(RF立ち上げ)とレーザー照射の時間差を変化させることにより微調整を行うことができる。

【0004】

従来のMALDIイオントラップ型質量分析装置による質量分析では、あらかじめ用意された複数の質量範囲(例えば、超低質量、低質量、中質量、高質量、超高質量等)から任意の質量範囲を専用プログラム上で選択し、場合によってはさらにその設定パラメータ、特にレーザー照射時刻を微調整して、測定目的試料の推定質量に最適化して測定を行っている。

【0005】

【特許文献1】特開2004-303719号公報([0015])

【発明の開示】

10

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

多くの場合、試料の内容は未知であり、あらかじめ最適な質量範囲を設定することはできない。例えば、標準的には中質量範囲で測定すべき試料でも、実際にはやや低質量側に化合物が偏っていたり、逆に高質量側に偏っていたりすることがある。従って、分析条件を真に最適化するためには、検出されるイオンをまず確認してから、レーザー照射のタイミングを微調整し、再度測定を行わなければならない。

【0007】

また、例えば中質量範囲に広く化合物が分布している混合物試料の場合、いかなる設定を行ったとしても、その試料全体を感度良く測定することができない。そのため、ペプチドマスフィンガープリント法(PMF)などのMSデータによるデータベース検索によっては信頼性の高い同定を行うことができない場合、シーケンスカバレッジが低くなる場合がある。

20

【0008】

本発明が解決しようとする課題は、MALDIイオントラップ型質量分析装置において、1回の測定でより広い質量範囲をカバーすることのできる方法及び装置構成を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0009】

上記課題を解決するために成された本発明は、
第1の動作パラメータに従って試料にパルスレーザーを照射するMALDI部と、
MALDI部において生成されたイオンをトラップし、第2の動作パラメータに従って質量分析部に放出するイオントラップ部と、
を備えるMALDIイオントラップ型質量分析装置において、
第1の動作パラメータと第2の動作パラメータの関係を変化させつつ複数回のパルスレーザー照射を行うようにMALDI部及びイオントラップ部を制御する制御部と、
を備えることを特徴とする。

30

【0010】

ここで、第1の動作パラメータとしてパルスレーザーの照射時刻をとり、第2の動作パラメータとしてイオントラップのリング電極に高周波電圧を印加する時刻をとることができる。この場合、両者の関係としては両時刻の間隔(時間)をとり、制御部はその時間を変化させつつ複数回のパルスレーザー照射を行う。

40

【0011】

上記時間を変化させる場合、一般的には、イオントラップの電極に電圧を印加する時刻を変えるよりは、パルスレーザーの照射時刻を変える方が容易である。

【発明の効果】

【0012】

従来、MALDIイオントラップ型質量分析装置で1つの試料の分析を行う際は、MALDI部において試料にパルスレーザーを複数回照射し、各照射毎に質量分析された結果であるマススペクトルを構成するプロファイルデータを加算又は加算平均していた。ここで、1つの試

50

料が分析される間は、MALDI部における動作を規定するパラメータやイオントラップ部における動作を規定するパラメータは変わることがなかった。従って、同じ条件の下で測定された結果が加算又は加算平均されていた。

【0013】

それに対し本発明に係るMALDIイオントラップ型質量分析装置では、同一試料について複数回行われる質量分析の各々において、MALDI部における動作を規定する一つのパラメータである第1の動作パラメータと、イオントラップ部における動作を規定する一つのパラメータである第2の動作パラメータとの関係を変化させる。これにより、プロファイルデータの加算又は加算平均の中に多様な条件の下で測定された結果を含めることができるようになる。従って、両パラメータの関係を適切に変化させることにより、その試料の分析から得られる情報の幅を広げることが可能となる。

10

【0014】

例えば、第1の動作パラメータとしてパルスレーザの照射時刻を、第2の動作パラメータとしてイオントラップのリング電極に高周波電圧を印加する時刻を採用し、制御部が両時刻の間隔(時間)を変化させつつ複数回のパルスレーザ照射を行うことにより、イオントラップにおいてトラップされる質量電荷比の範囲を広げることができるようになる。すなわち、1回の質量分析でより広い質量範囲をカバーすることができるようになる。

【0015】

なお、この場合、イオントラップのリング電極に印加する電圧は高電圧であり、この印加時刻を変更するのは比較的困難であるのに対し、パルスレーザの照射時刻を変更するのは比較的容易である。従って、本方法を採用する場合は、リング電極に高周波高電圧を印加する時刻を固定して、パルスレーザの照射時刻を順次変化させてゆくという方法を採用することが望ましい。

20

【発明を実施するための最良の形態】

【0016】

本発明の一実施形態であるMALDIイオントラップ型質量分析装置を図1により説明する。本質量分析装置10は、イオン源であるMALDI部11、MALDI部で生成されたイオンを一時的に保持するイオントラップ部12、イオントラップ部から加速して放出されるイオンが飛行し、検出される飛行時間(TOF)型質量分析部13、及び、それら各部を制御する制御部14等から成る。制御部14はその他に、質量分析部13の検出器131から出力される検出データに基づきマススペクトルを生成し、必要に応じてその後のデータ解析を行う機能を有する。

30

【0017】

このようなMALDIイオントラップ型質量分析装置において、1つの試料の質量分析は図2に示すような手順で行われる。

MALDI部11において、マトリックスに混入された試料111がサンプル板上に載置され、そこにN₂レーザ光源112からパルス状のレーザビームが照射されることにより試料111がイオン化され、放出される。放出されたイオンは、イオンレンズ113によりイオントラップ部12の入口側エンドキャップ電極121の開口に集束され、イオントラップ空間122に投入される。イオントラップ空間122では後述のように四重極電場が形成され、これにより、順次投入されてくるイオンがイオントラップ空間122内に保持される。保持されたイオンに対しては、必要に応じて、クーリングや選択、開裂等の処理が行われる。

40

【0018】

イオントラップ空間122内に保持されたイオンは、後述の所定の電極への電圧印加により加速され、一挙に出口側エンドキャップ電極123の開口からTOF型質量分析部13に向けて放出される。この加速の際、イオンはその質量電荷比に応じた速度を与えられ、低質量電荷比のイオンほど高速に加速される。これにより、イオンはTOF型質量分析部13の電磁場の存在しない飛行空間を飛行する間にその質量電荷比により分離され、検出器131によって分離して検出される。

50

【0019】

こうして1回の質量分析が行われると、横軸を質量電荷比(mass/charge)、縦軸をイオン強度とする1つのマススペクトルが生成される。MALDI部11では、サンプル板上にセットされた試料111に対して多数回のレーザパルスの照射が行われ、各照射毎に上記のようなプロセスでマススペクトルが生成される。制御部14では、こうして生成された多数のマススペクトルを加算し、又は加算平均して、その試料に関するマススペクトルを生成する。

【0020】

以上のような一連の手順において、各動作は図2に示すようなタイミングで行われる。すなわち、まず、時刻 t_0 で試料111にパルスレーザを照射する。このとき、イオントラップ部12の入口側エンドキャップ(EC)電極121には電圧を印加せず(接地し)、出口側エンドキャップ(EC)電極123に正の直流電圧(正イオンの場合)を印加しておく。パルスレーザ照射により生成したイオンは、質量電荷比(m/z)の小さいものから順にイオントラップ空間122内に入るが、出口側エンドキャップ電極123に印加された電圧(Retard電圧)によりその開口から質量分析部13に抜け出ることなく、イオントラップ空間122内にとどまる。

10

【0021】

この状態を所定時間継続することにより、全てのイオンがイオントラップ空間122内に導入されるようにする。そして時刻 t_1 に出口側エンドキャップ電極123を接地するとともに、イオントラップ部12のリング電極124に高周波(RF)電圧を印加する。このRF電圧によりイオントラップ空間122内に擬似ポテンシャルが形成され、イオンがトラップされる。トラップされたイオンはイオントラップ空間122内に予め導入されたガス(H_eなどの希ガス)と衝突し、エネルギー収束されてイオントラップ空間122の中心に集まってゆく(クーリング)。

20

【0022】

MSモードの場合、このクーリング処理が終了した時刻 t_2 において、リング電極124へのRF電圧の印加を停止し、入口側エンドキャップ電極121と出口側エンドキャップ電極123に逆極性の電圧を印加する(正イオンの場合、入口側エンドキャップ電極121に正の、出口側エンドキャップ電極123に負の電圧を印加する)ことによりイオントラップ空間122に強い電圧勾配を形成し、イオンを質量分析部13に向けて加速する。これによりイオンはその質量電荷比に応じた初速を得、出口側エンドキャップ電極123の開口から一斉に飛び出して質量分析部13の飛行空間を等速飛行する。図1の装置の場合、イオンは質量分析部13の終端の反射部(リフレクトロン)で折り返してさらに長い距離を飛行して、検出器131により質量電荷比の小さいもの(初速の大きいもの)から順に検出される。制御部14では、入力したイオンの検出信号強度と飛行時間(Time of Flight)からマススペクトルを生成する。

30

【0023】

こうして1回のパルスレーザ照射による質量分析が終わった後、時刻 t_3 において入口側エンドキャップ電極121と出口側エンドキャップ電極123の電圧を待機状態の値(時刻 t_0 における値)に戻し、次のパルスレーザ照射を行う。このようなパルスレーザの照射を多数回(通常、数十から数百回)繰り返し、それにより得られた各マススペクトルを制御部14において加算又は加算平均することにより、この試料111の質量分析データを得る。

40

【0024】

なお、MS/MSモードやMSⁿモードでは、時刻 t_2 にイオンがイオントラップ部12から放出される前(かつ、クーリングの前)にプリカーサイオンの選択、及びガスによる衝突誘起解離処理が行われる。

【0025】

本発明に係るMALDIイオントラップ型質量分析装置10では、このパルスレーザ照射を繰り返す際に、図3に示すように、リング電極124にRF電圧を印加し、出口側エンドキ

50

ャップ電極 1 2 3 の電圧を接地する時刻 t_1 に対するパルスレーザの照射時刻 $t_{01}, t_{02}, t_{03}, \dots$ を少しずつずらせる。

【0026】

イオントラップ空間 1 2 2 内にトラップされるイオンの質量電荷比 m/z は、理論上、RF 電圧の大きさと周波数により定まるが、MALDI部 1 1 におけるイオン化、すなわちレーザ照射時刻 t_0 、とRF電圧印加 (RF立ち上げ) 時刻 t_1 の間の時間によっても有意な影響を受け、レーザ照射時刻 t_0 からRF立ち上げ時刻 t_1 までの時間が長いほど、より大きな質量電荷比を持つイオンがイオントラップ空間 1 2 2 にトラップされるようになる。

【0027】

図 3 に示すようにパルスレーザの照射時刻 $t_{01}, t_{02}, t_{03}, \dots$ を少しずつずらせることにより、各照射毎にイオントラップ部 1 2 にトラップされるイオンの質量電荷比の範囲を少しずつずらせることができる。従って、1つの試料 1 1 1 に対してこうしてパルスレーザ照射時刻をずらして質量分析を行い、それらにより得られたデータを集積する (加算又は加算平均する) ことにより、広い質量電荷比の範囲のイオンの質量分析を行うことができるようになる。

10

【0028】

パルスレーザ照射時刻とRF電圧印加時刻の間の時間を変えるためには、パルスレーザ照射時刻を固定してRF電圧印加時刻を変化させる方法も考えられるが、RF電圧は高電圧であるため、その印加時刻を変化させるよりもパルスレーザ照射時刻を変化させる方が実際上は容易である。

20

【実施例】

【0029】

本発明の一実施例である株式会社島津製作所製MALDIイオントラップ型質量分析装置AXIMA-QIT (AXIMAは登録商標) を用いてウシ血清アルブミニトリプシン消化物を測定したデータを示す。図 4 (b) は、パルスレーザの照射時刻 t_0 とRF電圧印加時刻 t_1 の間の時間を標準的な値である $23 \mu\text{sec}$ とした場合のマススペクトルであり、質量電荷比 m/z が 1200 以下の部分では検出されるイオンが非常に少ないことがわかる。それに対し、パルスレーザ照射の時刻 t_0 を $6 \mu\text{sec}$ だけ遅らせ、 $t_0 \sim t_1$ の時間を短くした場合には、図 4 (a) に示すようにマススペクトルが全体的に低質量側にシフトしており、 m/z が 1200 以下の範囲でも多くのイオンが検出されている。

30

【0030】

同じ試料について、照射時刻 t_0 を少しずつずらせて多数回のパルスレーザを照射し、得られた各プロファイルデータを加算平均すると、図 5 に示すように、広い質量範囲にわたるマススペクトルが得られた。

【図面の簡単な説明】

【0031】

【図 1】本発明の一実施形態であるMALDIイオントラップ型質量分析装置の概略構成図。

【図 2】上記実施形態のMALDIイオントラップ型質量分析装置において行われる 1 回のパルスレーザ照射毎の動作のタイミングチャート。

【図 3】上記実施形態のMALDIイオントラップ型質量分析装置において行われる多数回のパルスレーザ照射の場合の動作のタイミングチャート。

40

【図 4】本発明の実施例であるMALDIイオントラップ型質量分析装置を用いて採取したウシ血清アルブミニトリプシン消化物のマススペクトルであって、(b) はパルスレーザの照射とRF電圧印加の間の時間を標準的な値とした場合、(a) はパルスレーザの照射時刻を遅らせた場合のもの。

【図 5】本発明の実施例であるMALDIイオントラップ型質量分析装置を用いて採取したウシ血清アルブミニトリプシン消化物のマススペクトルであって、パルスレーザの照射時刻を少しずつ変化させて多数回採取したマススペクトルを加算平均したものの。

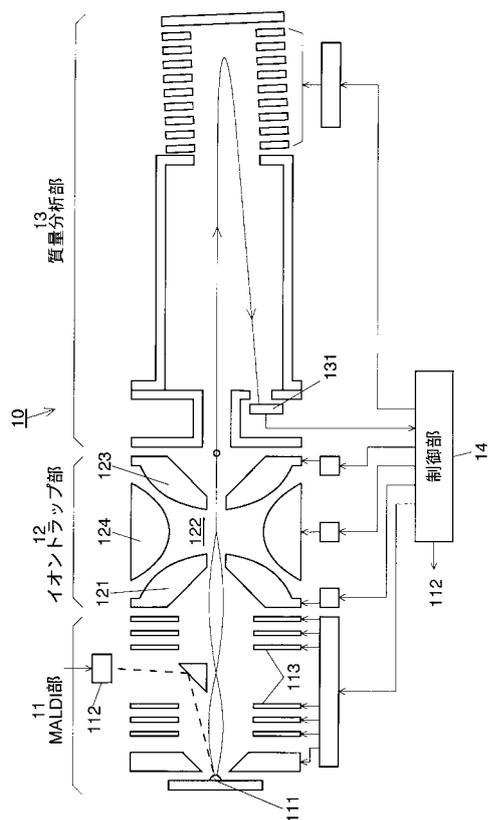
【符号の説明】

【0032】

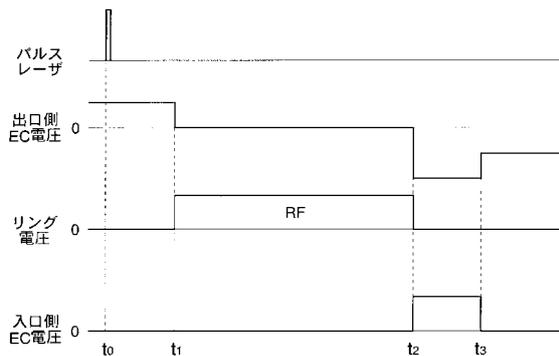
50

- 1 0 ...MALDIイオントラップ型質量分析装置
- 1 1 ...MALDI部
 - 1 1 1 ... 試料
 - 1 1 2 ... N2レーザー光源
 - 1 1 3 ... イオンレンズ
- 1 2 ... イオントラップ部
 - 1 2 1 ... 入口側エンドキャップ電極
 - 1 2 2 ... イオントラップ空間
 - 1 2 3 ... 出口側エンドキャップ電極
 - 1 2 4 ... リング電極
- 1 3 ... TOF型質量分析部
 - 1 3 1 ... 検出器
- 1 4 ... 制御部

【 図 1 】



【 図 2 】



【 図 3 】

