

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「物質現象の解明と応用に資する新しい
計測・分析基盤技術」
研究課題「超高分解能高速イメージング質量分析
技術(質量顕微鏡)の構築」

研究終了報告書

研究期間 平成17年10月～平成23年3月

研究代表者:内藤 康秀
(光産業創成大学院大学光産業創成
研究科、准教授)

§ 1 研究実施の概要

生命科学の研究や新規機能材料の開発では、試料に含まれる原子や分子を同定する化学分析に加えて、各原子・分子毎の空間分布を同時に、かつ高空間分解能で測定する技術の確立が切望されている。例えば、生命科学の分野では、タンパク質などの生体分子や生体内に投与された薬剤とその代謝産物などの空間分布を細胞スケールで測定することができれば、がん転移過程の解明や新薬の開発に大きく貢献することができる。また、電子デバイス分野では微小電子デバイスにおける新奇現象の深い理解によって電子デバイスの設計に大きな自由度を与え、産業界にも大きなインパクトを与えることができると期待される。

このような測定を可能とする手法として最も有望であるのが質量分析による化学分析に空間分布の測定を組み合わせたイメージング質量分析法である。特に、生命科学の分野ではマトリックス支援レーザー脱離イオン化 (MALDI) と飛行時間型質量分析法を用いたイメージング質量分析の研究が各国で活発に進められており、国際的に競争の激しい領域となっている。しかし、一般に MALDI によるイメージング質量分析は試料上でレーザーの集光位置を走査しながら各集光点での質量スペクトルを順次測定していき、全ての点における質量スペクトルを測定した後に各原子・分子毎の空間分布を画像化する走査型イメージング質量分析法を用いている。これは、従来から用いられていた MALDI 質量分析装置をそのまま利用できるためである。しかし、走査型イメージング質量分析法ではレーザーの集光径によって空間分解能が $10\sim 100\ \mu\text{m}$ 程度に制限されており、試料観察のスケールは組織レベルまでに限られている。また、レーザー集光点を走査して測定するために数～数十時間を要するという問題もある。

これに対して、我々は、試料全面にレーザーを照射してイオン化させ、試料表面におけるイオンの空間分布を静電イオンレンズを用いてイオンの位置と飛行時間の両者を同時に測定可能な検出器に結像させる、投影型イメージング質量分析法を提案した。投影型イメージング質量分析法では空間分解能がレーザー集光径に制限されず、集光点を走査する必要がないため、走査型と比べて高空間分解能で高速な測定が期待できる。しかし、投影型イメージング質量分析法は世界的に見ても開発例がほとんど無く、実現するための開発要素が多い。そこで、我々は細胞スケールでの観察が可能な投影型イメージング質量分析装置の実現を目標として以下の研究項目を実施した。

- ① 試料全面に均一な強度分布でレーザーを照射するための光学系、および通常用いられる紫外レーザーと比べてソフトなイオン化が期待できる中赤外レーザーの製作
- ② マトリックスを用いずにレーザー照射のみで生体高分子を脱離イオン化させる手法の開発
- ③ 投影型でのイメージングを可能とするための、高指向性・低分散イオン抽出法の確立
- ④ イオンの空間分布を保持したまま質量分解能を向上させることができ、生体試料のような複雑な混合物でも分析を可能とする、マルチターン飛行時間型質量分析計の設計・製作
- ⑤ 試料表面でのイオンの空間分布を検出器に拡大投影する静電イオンレンズ系の設計・製作
- ⑥ イオンの位置と飛行時間の両者を同時に測定可能な位置・飛行時間測定型イオン検出システムの開発

以上の項目を実施した結果、 $160\ \mu\text{m}\times 160\ \mu\text{m}$ の視野において空間分解能 $1\ \mu\text{m}$ 、質量分解能 ($m/\Delta m$) 10,000、測定時間数 10 分で測定可能な、超高分解能高速イメージング質量分析技術の実現に成功した。

§ 2. 研究構想

(1) 当初の研究構想

提案時の目標性能は、空間分解能 $0.1\ \mu\text{m}$ 、質量分解能 ($m/\Delta m$) 10000、測定時間 (1 サンプル当たり) 数 10 分以内であった。

1～2年目に、イメージング解析に適したフラットなビームプロファイルと、波長限界近傍までの集光を実現するレーザー光学系を設計・製作する。1～3年目にかけて脱離イオン抽出電極の形状と電圧印加法を検討し、脱離イオン群光学像を保持できる高指向性・低分散抽出法を確立する。その際、簡易的な試験装置を作成して脱離イオン群の光学像を確認しながら作業を進める。1年目からマルチターン飛行時間型質量分析計をイメージング質量分析に適した形への再構築を開始し、2～3年目にマルチターン飛行時間型質量分析計の周回部からイオンの射出および選別を行うためのイオンパルス制御アルゴリズムを構築し、3～4年目にかけてイオン射出部分の拡大投影レンズを軌道平面及び垂直面それぞれに最適化して、4年目までにマルチターン飛行時間型質量分析計の再構築を完了する。また、2～4年目に、個々のイオンの検出器入射位置と入射時間を高分解能同時計測できる検出器でイオン群光学像を取得する位置・飛行時間測定型イオン検出システムを開発するとともに、間充物質や分子プローブ等に固有の振動モードを選択的に励起する中赤外波長を特定し、この波長選択性を利用したマトリックスフリーな高効率レーザー脱離イオン化法を確立する。4～5年目にハードウェア上のマッチングを考慮して各部を統合して、各部の制御とイメージング解析を担うソフトウェアを開発しイメージング質量分析システムを構築し、5年目に分析システムの評価・検証を行なう。

計画の実施内容を大きく分けて4つのサブテーマとし、イオン群光学像をイメージング解析する技術の構築を内藤研究グループ、イオン群光学像を質量分離する技術の構築を豊田・藤井研究グループ、イオン群光学像を生成するレーザー脱離イオン化技術の構築を栗津研究グループ、イメージング質量分析を評価・検証する技術の構築を益田研究グループが分担する。

(2) 新たに追加・修正など変更した研究構想

プロジェクトの中間評価時点までに、マルチターン飛行時間型質量分設計で像を得るための周回許容範囲特性や装置製作上の問題点を把握できたが、それまでの開発進捗状況と未解決の開発課題 (マトリックスによらないレーザー脱離イオン化の開発、高分解能の位置・飛行時間測定型イオン検出システムの開発) から総合的に判断し、中間評価の時点で空間分解能の目標値を $0.1\ \mu\text{m}$ から $1\ \mu\text{m}$ に変更した。

空間分解能の目標値の変更にともない、マトリックスフリーレーザー脱離イオン化法の開発に優先して、開発した投影型イメージング質量分析装置の生体サンプルへの応用をマトリックスの利用も含めて検討する実施計画に変更した。

また、細胞試料を用いて極限の空間分解能で投影型イメージング質量分析を評価する技術開発を行うサブテーマは、装置の空間分解能 $0.1\ \mu\text{m}$ が前提となるため、目標値の変更により、これを担当する益田研究グループを栗津研究グループに編入して生体サンプルへの応用を検討するチーム体制に変更した。

豊田研究グループが設計・製作した1号機 (MULTUM-IMG) は、レーザー脱離イオン化用高出力レーザーのある栗津研究グループで、質量分析計としての評価、調整、イオン像保持能力の検証を行った。

豊田研究グループは半導体試料作製に関するグループ内の固有技術を活用して、投影型イメージング質量分析評価用の標準試料を作製する技術の構築も実施した。

§ 3 研究実施体制

(1) 内藤研究グループ

① 研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
内藤 康秀	光産業創成大学院大学 光産業創成研究科	准教授	H17.10～
部谷 学	同上	准教授	H17.10～H19.3

② 研究項目

- ・レーザー光学系の設計・製作
- ・高指向性・低分散脱離イオン抽出法の確立
- ・拡大投影静電レンズ系の最適化
- ・マトリックスフリー高効率レーザー脱離イオン化法の確立
- ・ディレイライン検出器による位置・飛行時間測定型イオン検出システムの構築
- ・ディレイライン検出器の高解像度化
- ・周回後の質量分離イオン像による位置・飛行時間測定型イオン検出システムの性能検証と改良
- ・ソフトウェアを含めたイメージング解析システムの操作性向上

(2) 豊田研究グループ

① 研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
豊田 岐聡	大阪大学理学研究科	准教授	H17.10～
藤井 研一	大阪工業大学 情報科学部	教授	H17.10～
岩本 賢一	大阪府立大学 理学研究科	助教	H18.4～
青木 順	大阪大学大理学研究科	特任研究員	H19.4～
新聞 秀一	大阪大学先端科学イノベーションセンター	特任助教	H22.8～
市原 敏雄	大阪大学理学研究科	技術専門員	H19.4～
菅原 彩子	大阪大学理学研究科	研究員	H17.10～H19.3
長尾 博文	大阪府立大学 理学研究科	研究員	H18.4～H19.3
田嶋 敏男	日本たばこ産業(株)医薬総合研究所	研究員	H19.5～

② 研究項目

- ・マルチターン飛行時間型質量分析計の製作と評価
- ・マルチターン飛行時間型質量分析計の収差の影響の実験的評価
- ・高精度・高速イオン軌道シミュレーション手法の確立
- ・アラインメントのずれを根本的に解決するための2号機(MULTUM-IMG2)の設計／製作
- ・2号機の評価と周回後に歪みのない像の取得
- ・拡大光学系の最適化
- ・マルチターン飛行時間型質量分析計とディレイライン検出器を組み合わせた装置を完成させる
- ・空間分解能評価用モデル試料となる色素ドットならびに半導体微細構造の作製と評価
- ・制御／解析システムの構築
- ・微小半導体構造の輸送特性への不純物などの不均一性の影響の調査

(3) 栗津研究グループ

① 研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
栗津 邦男	大阪大学工学研究科	教授	H17.10～
益田 勝吉	(財)サントリー生物有機 科学研究所	主席研究員	H21.4～
鈴木 幸子	大阪大学工学研究科	助教	H17.10～H21.3
間 久直	大阪大学工学研究科	特任研究員	H18.6～H21.6
間 久直	大阪大学工学研究科付 属高度人材育成センター	助教	H21.6～
長尾 博文	大阪大学工学研究科	D3	H19.4～H21.3
佐藤 出	大阪大学工学研究科	M2	H19.4～H20.3
鈴木 れん	大阪大学工学研究科	M2	H19.4～H21.3
藤田 珠美	大阪大学工学研究科	M2	H19.4～H21.3
木村 彰紀	大阪大学工学研究科	M2	H20.4～H21.3
吉村 英敏	大阪大学工学研究科	M2	H21.4～

② 研究項目

- ・レーザー光学系の設計・製作
- ・フラットビーム集光用光学系を用いたレーザー脱離イオン化
- ・マトリックスフリー高効率レーザー脱離イオン化法の確立
- ・マルチターン飛行時間型質量分析計の収差の影響を実験的に評価する
- ・マルチターン飛行時間型質量分析計によって質量分離したイオン群イメージを取得する
- ・投影型イメージング質量分析に適したサンプル調製法の開発
- ・中赤外レーザーおよび紫外レーザーの2波長照射効果の検討
- ・病理組織試料における生体高分子のイメージング
- ・DFG レーザーと1号機(MULTUM-IMG)を組み合わせ、生体試料のイメージング像を取得する

(4) 益田研究グループ

① 研究参加者

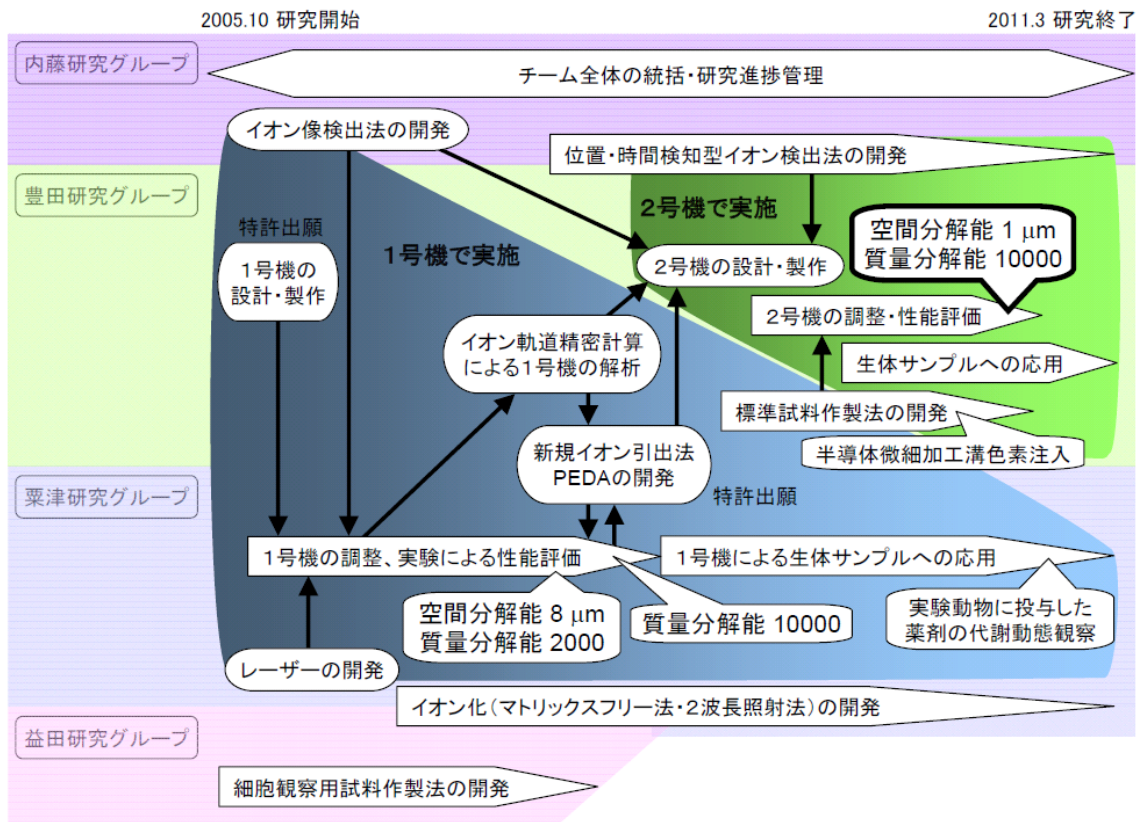
氏名	所属	役職	参加時期
益田 勝吉	(財)サントリー生物有機 科学研究所	主席研究員	H17.10～H21.3
中谷 恵美	(財)サントリー生物有機 科学研究所	研究補助員	H18.4～H19.3
小島 良二	名城大学薬学部	助教	H18.4～H21.3
金井 好克	杏林大学医学部	教授	H18.4～H21.3
阿部 啓子	東京大学農学生命科学 研究科	教授	H19.4～H21.3
小林 拓也	京都大学医学研究科	講師	H20.4～H21.3
村上 聡	大阪大学産業科学研究 所	准教授	H20.4～H21.3
橋本 誠	帯広畜産大学畜産学部	准教授	H20.4～H21.3

② 研究項目

- ・細胞表層における膜タンパク質の調製および MALDI 試料調製法の検討
- ・マトリックスフリー高効率レーザー脱離イオン化法の確立

§ 4 研究実施内容及び成果

下図に示すような体制ならびに時間軸で研究を実施した。各研究グループの詳細について以下に述べる。



研究の時系列説明図

4.1 イオン群光学像をイメージング解析する技術の構築(光産業創成大学院大学 内藤研究グループ)

(1)研究実施内容及び成果

本サブテーマでは、投影型の原理で脱離イオン群をイメージング検出するための基本技術の確立を目的として、① 装置本体の開発に利用できる投影イオン像観測技術の構築、② 質量分離された個々のイオンの検出器入射位置と入射時間を同時に高分解能で計測する検出器技術の構築、③ 検出器出力信号を高速に処理して画像データ化する位置・飛行時間測定型イオン検出システムの構築を実施した。

① 装置本体の開発に利用できる投影イオン像観測技術の構築

レーザー脱離イオン化で生成させたイオンの像を観測する必要がある、その最初の段階として質量分離を行う前にイオンの像が実際に観測できることを確認する必要がある。この作業に用いるイオン検出器として、マイクロチャンネルプレート(MCP)と蛍光スクリーンを組み合わせた蛍光変換型イオン検出器を準備した。蛍光画像は検出器を搭載した真空フランジに取り付けた真空シール窓を通して、目視での観察またはカメラによる撮像が行える。解像度とイオン検出感度は相反してMCPのチャンネル径とプレート段数に依存する。最初のイオン像確認用には解像度よりもイオン検出感度を重視し、チャンネル径 $12\mu\text{m}$ 、プレート段数2段(Chevron型)のMCPを使用した。設計値からこの蛍光変換型イオン検出器の解像度は $100\mu\text{m}$ と概算された。

イオン像を生成し観測できることを確認するため、豊田研究グループが設計・製作した1号機のイオン源に蛍光変換型イオン検出器を直接取り付け、脱離イオンの像を観測することを試みた。紫外レーザー照射で効率よく脱離イオン化する色素(rhodamine 6G 等)を試料とし、これにサンプルプレート上で金属メッシュをマスキングパターンとして被せて、紫外パルスレーザー光照射で金属メッシュを通して得られる色素の脱離イオンの像を観測した。イオン源の電極形状や結像させるための電圧条件の検討を重ねた結果、レーザー照射面から脱離したイオンを引き出す際に空間分布を保ち、静電レンズ作用によって結像できる電極の形状と印加電圧範囲を見出し、正しい像が得られるようになった(図4-1-1)。これにより、投影型イメージング質量分析装置のイオン源設計を固めることができた。

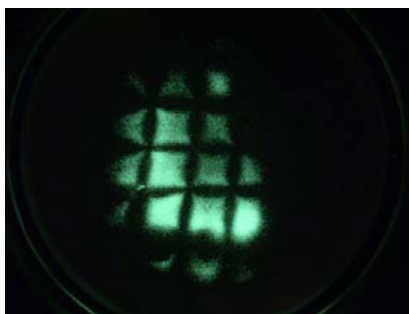


図 4-1-1. MULTUM-IMG のイオン源に直接取り付けした蛍光変換型イオン検出器で最初に確認できたイオン像。金属メッシュ(周期 $254\mu\text{m}$ 、線幅 $20\mu\text{m}$)を被せた色素に紫外パルスレーザー照射して脱離イオンを観測した。デジタルカメラで撮影。

投影型イメージング質量分析装置のイオン検出器およびイオン検出システムの開発を、装置本体の開発から独立して進めるために、レーザー脱離イオン化(LDI)イオン源、リニア飛行時間型(TOF)イオン光学系、イオン検出器からなる、検出器評価用イメージング質量分析装置を製作した(図4-1-2)。イオン源はMULTUM-IMGのイオン源と共通の構造とした。

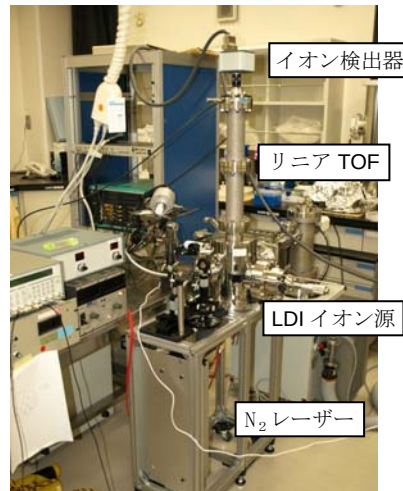


図 4-1-2. 検出器評価用イメージング質量分析装置の外観

この装置を用いて蛍光変換型イオン検出器の高解像度化の検討を行った。高解像度化には MCP のプレート段数を1段にするのが最も効果的であるが、感度が不足するため、プレート段数は2段のままとし、チャンネル径を $12\mu\text{m}$ から $6\mu\text{m}$ に変更した。また、検出器アッセンブリで解像度に影響しそうな箇所 (MCP 蒸着入り込み深さ、MCP-蛍光スクリーン間隔、蛍光スクリーン材質、蛍光体特性値など) も変更して、蛍光変換型イオン検出器を製作し、評価機で評価した(図 4-1-3)。解像度の向上を確認できたので、この蛍光変換型イオン検出器を1号機に移設し、装置本体の開発に利用した。

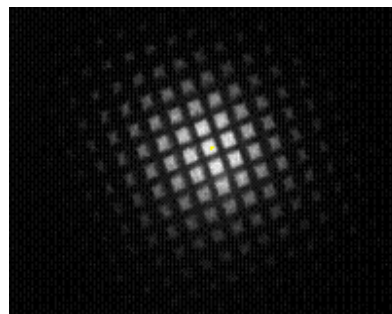


図 4-1-3. 高解像度化した蛍光変換型イオン検出器で得られた脱離イオン像。金属メッシュ(周期 $25.4\mu\text{m}$ 、線幅 $6\mu\text{m}$)を被せた色素を試料として簡易的な投影型イメージング質量分析装置で評価した。像倍率は約30倍。高感度 CCD カメラ(浜松ホトニクス製 ORCA-ER)で撮影。

② 質量分離された個々のイオンの検出器入射位置と入射時間を同時に高分解能で計測する検出器技術の構築

位置・飛行時間測定型イオン検出システムを実現するのに不可欠な、質量分離された個々のイオンの検出器入射位置と入射時間を同時計測する検出器として、ディレイライン検出器(RoentDek 製, 図 4-1-4)を選定した。ディレイライン検出器の問題点はイオン入射頻度の許容値が低いことであり、特に、同時に多数のイオンが入射する状況(マルチヒット)では正常に検出できなくなる(誤った情報を出力する)。レーザー脱離イオン化では、パルスレーザーによって時間的に密集して生成するイオンが検出器に入射するので、その場合にディレイライン検出器が正常に働くか検証をした。

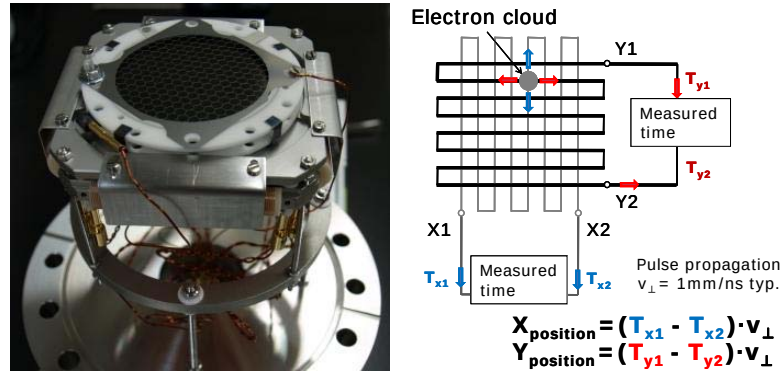


図 4-1-4. ディレイライン検出器の外観(左)と動作原理の模式図(右)。コイル状のワイヤで作られたアノードと MCP で構成される。MCP から射出された2次電子をアノードが受信すると、2次電子雲の重心位置に該当する受信位置を起点にして電気的パルスがワイヤの両端に向かって伝播し、パルスの伝播速度と各末端に到達する時刻の差から位置情報を得る。高時間分解能のパルス計測回路により信号読み出しが行われる。2次元の位置情報を得るためワイヤを直交させて2層にするが、同時入射(マルチヒット)の識別能力を高めるため3層にしたタイプ(Hexanode)もある。

ディレイライン検出器の信号読み出し回路には、標準的な機器構成である時間デジタル変換器(TDC)を使用した(図 4-1-5)。

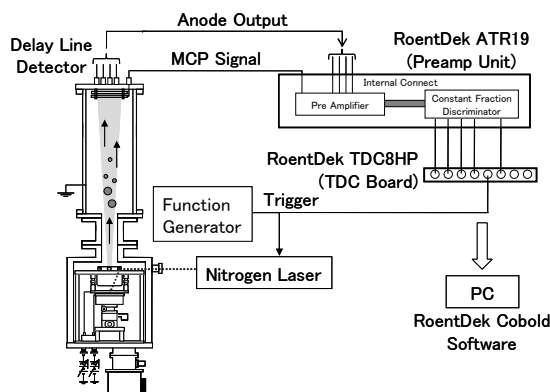


図 4-1-5. ディレイライン検出器の信号読み出しに時間デジタル変換器(TDC)を用いた標準的な構成

検証の結果、現状の構成では検出器への許容イオン入射頻度を制限する要因は信号読み出し回路の許容トリガ頻度(1MHz)であり、この条件に収まるようにレーザー照射強度を制御して脱離イオン生成量を抑える必要があった(読み出し回路のトリガがかかると、イオンの数え落としが発生した)。この条件ではマルチヒットはほとんど発生しなかったが、イオン像を描画できるだけのイオン数までデータを獲得するのに、パルス繰返し 10Hz のレーザーではかなりの長時間(1時間以上)を要した。測定時間が長いことを除けば、個々のイオンの検出器入射位置と入射時間を同時計測できており、描画したイオン像は蛍光変換型イオン検出器での観測結果に対応していた(図 4-1-6)。

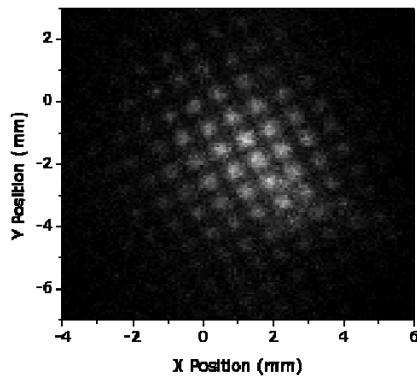


図 4-1-6. ディレイライン検出器で得られた脱離イオン像。図 4-1-3 と同じ金属メッシュ (周期 $25.4\ \mu\text{m}$ 、線幅 $6\ \mu\text{m}$) を被せた色素を試料とした。軸ラベルはパルス伝播速度と到達時間差から概算した検出面上でのスケールを表示しており、メッシュの実物のサイズと像倍率 (約 30 倍) から概算される値とほぼ一致している。

TDC を用いた系ではイオン入射頻度が制限されてしまうため、アナログデジタル変換器 (ADC) を用いた信号読み出し回路による、ディレイライン検出器の高解像度化と許容トリガ頻度の向上を試みた。高速の ADC を用いた機器構成 (図 4-1-7) と、ADC を効率的に制御するデータ獲得ソフトウェアの開発により、許容トリガ頻度は TDC による構成の 3 倍に改善し、測定時間 30 分程でイオン像が描画できるだけのデータを獲得できるようになった。また、ADC で記録した信号ピーク波形のサンプリングポイントを補間する処理により、TDC よりも高い時間分解能が得られる結果、ディレイライン検出器で得られる解像度について TDC を用いた場合と比べて約 12% の向上が確認された (図 4-1-8)。

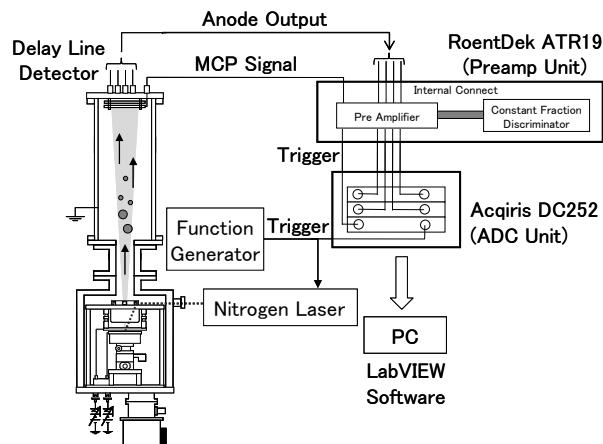


図 4-1-7. ディレイライン検出器の信号読み出しにアナログデジタル変換器 (ADC) を用いた機器構成

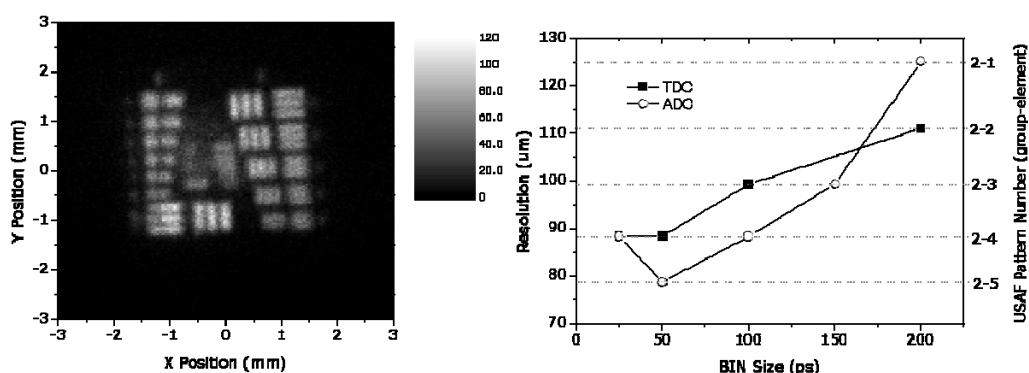


図 4-1-8. ディレイライン検出器で得られた USAF 解像度テストチャート透過像(左)およびテストチャートから判定された解像度の TDC、ADC の違いとビンサイズによる変化(右)。右側のグラフの横軸は、ディレイライン検出器で得られたデータを2次元ヒストグラム表示して画像化する際のビンサイズである。

③ 検出器出力信号を高速に処理して画像データ化する位置・飛行時間測定型イオン検出システムの構築

ADC によるデータ獲得ソフトウェアに信号ピーク波形のサンプリングポイントを補間処理して位置演算までリアルタイムで行うプログラムを組み込み、測定と同時に進行して個々のイオンの入射位置座標と飛行時間のデータリストを作成するシステムを実現した。また、測定後に位置・飛行時間データリストから瞬時(30 秒以内)にイオン像を描画する画像データ化ソフトウェアを作成した。ディレイライン検出器の出力信号をリアルタイムで処理できるようになった結果、データの記録に必要なディスク容量を大幅(1/5000)に節減できた。(J. Mass Spectrom. Soc. Jpn., 59, 2011, in press)

紫外パルスレーザー照射で効率よくイオン化する3種類の色素を試料として用いた微小な色素ドットを配列して、レーザービーム径に全体が収まる微小な「森」のパターンを作製し、その脱離イオン像を開発した位置・飛行時間測定型イオン検出システムを用いて取得した(図 4-1-9)。

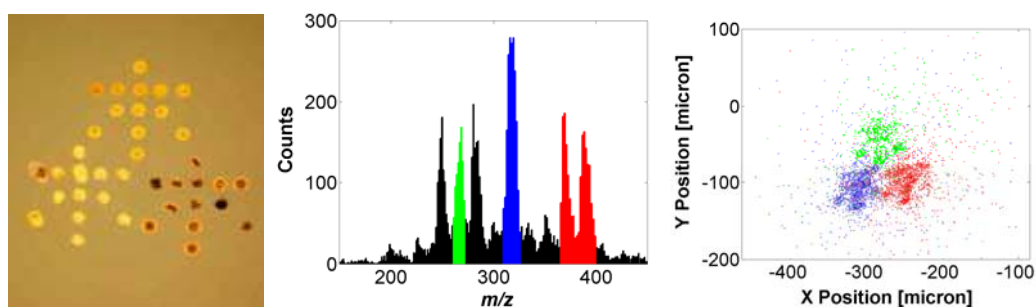


図 4-1-9. 3種類の色素(toluidine blue O, new methylene blue, crystal violet)を試料に用いた微小ドット(直径 $10 \mu\text{m}$ 、中心間隔 $15 \mu\text{m}$)によって作製した微小文字パターンの光学顕微鏡像(左)、位置・飛行時間測定型イオン検出システムによってこのパターンの脱離イオンを測定して得られたマスペクトル(中央)とイオン像(右)。測定時間は約 17 分。画像データ化ソフトウェアは、マスペクトル上の任意の範囲をカーソルで指定することで、その質量のイオン像を瞬時(10 秒以内)に描画する。右端の像では、質量ごとのイオン像を色分けして重ねて表示しており、各色素の微小ドットの配置に対応していることが確認された。

(2)研究成果の今後期待される効果

本研究を通して、質量分析におけるイオン検出用デバイスとしてのディレイライン検出器が備えなくてはならない性能や構造上の工夫可能な箇所が明確になったので、その成果を投影型イメージング質量分析用に特化した次世代のディレイライン検出器の開発に役立てることができると期待される。近い将来、投影型イメージング質量分析が標準的な分析技法として一般化していく際に、専用の検出器の実現は重要な課題になることが想定され、より良い検出器の供給が普及の鍵になる可能性もある。

4.2 イオン群光学像を質量分離する技術の構築(大阪大学大学院理学研究科 豊田研究グループ)

(1)研究実施内容及び成果

投影型イメージング質量分析装置では、イオンの生成・質量分離・イオンの検出の各過程で、計測対象の表面の物質分布を反映したイオンの分布をイオン光学的に保持しなければならない。これまで、このような要求を満たしつつ、十分な質量分解能を有する質量分析部の実現は困難であった。

大阪大学で開発されたマルチターン飛行時間型質量分析計(MULTUM)は、イオンを扇形電場で形成された同一飛行空間を多重周回させることで、高い質量分解能を実現できる。イオンが空間的・時間的に広がるのを防ぐために、時間的・空間的に完全収束するような光学系を有している。本プロジェクトではこの MULTUM の持つ完全収束性に着目した。完全収束を満たすことはすなわち、イオン光学的には MULTUM を透過的に扱うことが可能であり、これはイオン分布をイオン光学的に保持するという条件を完全に満たすことになる。さらに MULTUM は質量分析計としての性能についても十分に実証されており、投影型イメージング質量分析装置への応用が期待できる。

本サブテーマは、このような MULTUM の特性を利用し、投影型イメージング質量分析装置の質量分離部を実現することを目的として、① 質量分析計としての MULTUM の評価(投影型イメージング質量分析装置1号機の製作と検証)、② 投影型イメージング質量分析に適した新しいイオン引き出し方法(PEDA)の開発、③ イオン軌道の高精度・高速シミュレーションによる装置特性の解析を実施した。

① 質量分析計としての MULTUM の評価(投影型イメージング質量分析装置1号機の製作と検証)

[設計・製作およびデータ解析:豊田グループ、実験:栗津グループ]

投影型イメージング質量分析装置の設計・製作にあたり、既存の MULTUM の直線部に像保持用の四重極トリプレットを組み込んだ1号機(MULTUM-IMG、図 4-2-1)を製作し、レーザー脱離イオン化によって得られるイオンの像を蛍光変換型イオン検出器で観測することにより、投影型イメージングに用いた際の装置特性や技術課題を評価した。

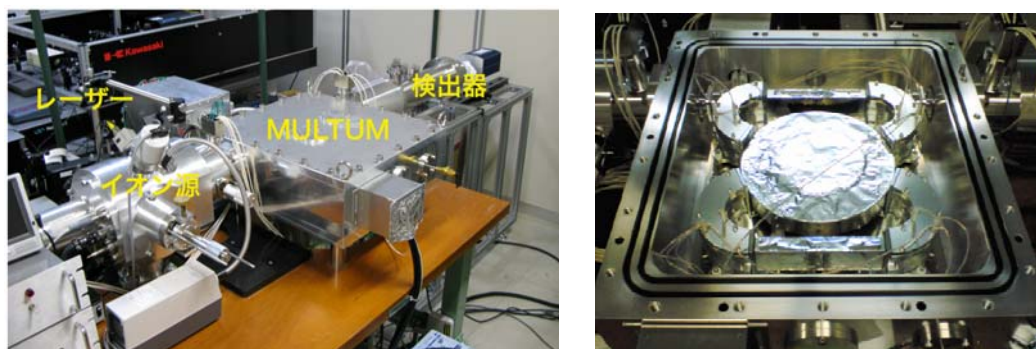


図 4-2-1. 製作した1号機(MULTUM-IMG)の外観と多重周回部の写真

まず、MULTUM を通常の質量分析計として評価した。MALDI で angiotensin II を測定し、質量分解能 13 万を達成した(詳細は、栗津研究グループ研究実施内容:「③ 本研究用に製作した MULTUM-IMG 1号機の質量分析装置としての性能評価」を参照)(*Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **22** (2008), 1461-1466.)。

製作した装置のイオン像保持能力を検証するため、レーザー照射領域内(約 $100\ \mu\text{m}$ 角)に色素ドット(直径約 $20\ \mu\text{m}$ 、間隔約 $20\ \mu\text{m}$)のパターンを当プロジェクトで開発した微細ドット作製機で生成し、評価を行った。1号機で10周回後に空間分解能は $7.6 \pm 1.0\ \mu\text{m}$ のイ

オン像を取得することができた(図 4-2-2)。(Appl. Surf. Sci., 255 (2008), 1257-1263)

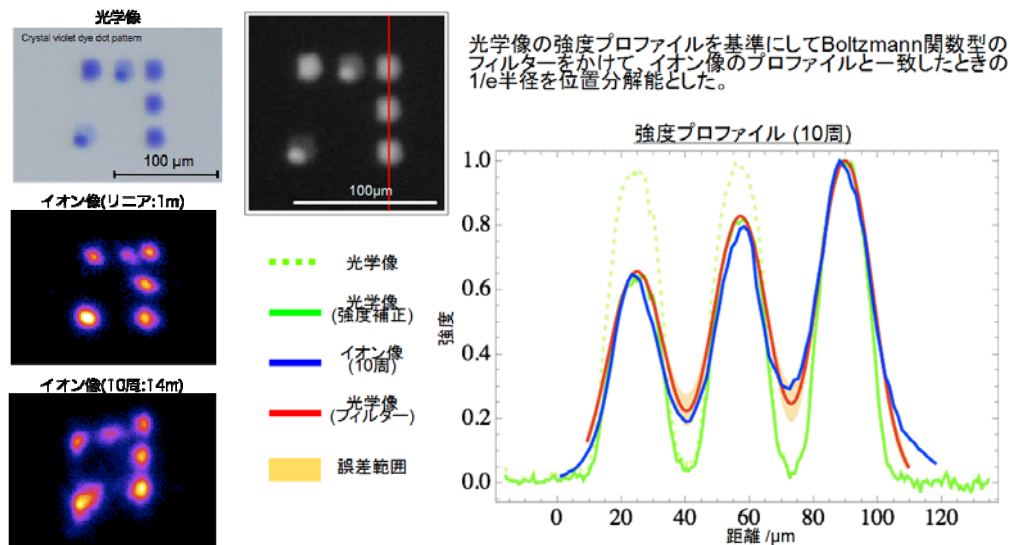


図 4-2-2. 1号機で得られた色素ドットパターンのイオン像と10周回後の空間分解能。赤いラインに沿って強度プロファイルのプロットし、これにドットパターン上の同じラインに沿った光学像の強度プロファイルのプロットを重ね合わせて、Boltzmann フィルター関数をかけた光学像とイオン像の強度プロファイルが一致したときのフィルター関数の $1/e$ 値を空間分解能として導出している。

図 4-2-2 のイオン像は、周回部の扇形電場に印加する電圧を、各電極について個別に調整することによって得られた(調整幅は約 $\pm 5\%$)。この電圧調整は、シミュレーションとの比較により(後述)、イオン源と MULTUM 本体のアラインメントのずれを電氣的に吸収していると判断し、この結果を踏まえて2号機の製作を行った(後述)。

② 投影型イメージング質量分析に適した新しいイオン引き出し方法 (PEDA) の開発

[原理考案:豊田グループ、実証実験:栗津グループ]

通常の飛行時間型質量分析計では質量分解能を高めるために、イオン生成時にサンプルプレートと引き出し電極に同電位を与え(図 4-2-3 の左端の状態)、初速度でしばらく自由飛行させた後に、引き出し電極電位を下げてイオン引き出し用の電位勾配を発生させている(図 4-2-3 の左から2番目の状態)。このときに初速度の小さいイオンほど大きな引き出し電位を感受するので、獲得する運動エネルギーの違いにより初速度の分散による検出面への到達時間の差が相殺され(遅延引き出し法)、その結果として短い飛行距離でも高い質量分解能が得られる。しかし、この手法は脱離イオンの初速度に角度分布があるため自由飛行中にイオンの空間的分布形状を保持できず、投影型イメージング質量分析にこの手法を適用すると像が消失する。そこで、イオン像を保持しながら速度分散を相殺できる新しい脱離イオン引き出し方法(引き出し後差動加速法、Post Extraction Differential Acceleration; PEDA)を考案した。この手法では、イオン像がより良く保たれるようにイオン生成時にもサンプルプレートと引き出し電極の間に電位差を与えてイオンを直線的に引き出し(図 4-2-3 の右から2番目の状態)、引き出し電極を通過して接地電位にある静電レンズ電極に向かって加速している間に、引き出し電極電位をステップ状に上げてイオン加速用の電位勾配を大きくする(図 4-2-3 の右端の状態)。このとき初速度の小さいイオンほど大きな加速電位を感受するので、獲得する運動エネルギーの違いにより初速度の分散が相殺されるとともに、像も保持される。(特願 2009-100686, J. Mass Spectrom. Soc. Jpn., 59, 2011, in press)

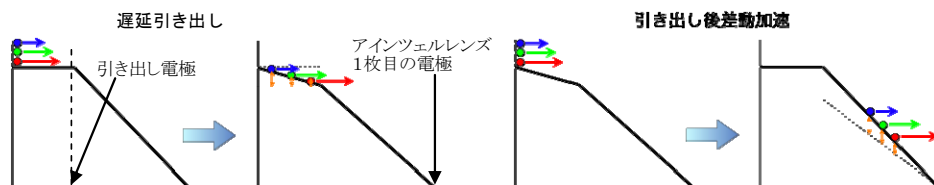


図 4-2-3. 脱離イオンの初速度の分散を相殺する従来の手法(遅延引き出し法)と新しく考案した手法(PEDA)の動作概念。初速度の異なるイオンの挙動を色違いの点で模式的に示している。グラフの縦軸は電位、横軸は飛行軸方向の位置(左端はサンプルプレートの位置)。

③ イオン軌道の高精度・高速シミュレーションによる装置特性の解析

周回後にイオン像が歪む原因解析や、測定条件の最適化のためには、イオン軌道の特性を正確に把握する必要がある。MULTUM のイオン光学系の設計・解析については、これまで近軸光線近似に基づいた軌道計算法が利用されてきた。しかし、投影型イメージング質量分析では通常の質量分析に比べて大口径のイオンビームを扱うため、近軸近似に基づいた従来の軌道計算プログラムでは対応しきれない。このため、近軸近似ではなく装置形状を正確に反映した電場の導出が可能な表面電荷法に基づく電場計算手法を取り入れたイオン軌道計算手法を開発した。一般に表面電荷法は複雑な電極形状にも対応でき高精度の電場が導出可能である反面、計算時間が長くなるデメリットがあるが、計算の主要部分について専用計算機(MDGRAPE-3)を使って高速処理することで、計算の高速化を同時に実現した。(Nucl. Instr. and Meth. A, **600** (2009), 466-470)

新しい手法を用いて装置でのイオン軌道の特性を検討した結果、周回部の中心軸の近傍では従来の近軸近似計算と一致する特性が得られ、中心軸から離れた領域では安定周回可能な許容範囲を明らかにした(図 4-2-4)。これにより MULTUM 部に入射するべきエリアが $\pm 1\text{mm}$ 四方であることが分かった。

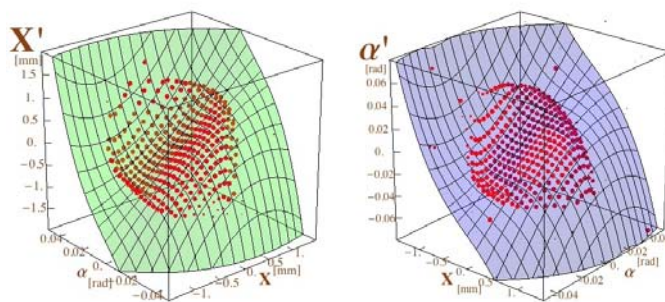


図 4-2-4. 周回部において1周回した後のイオン軌道の位置と角度の変換関数(左側が位置変換関数、右側が角度変換関数)。Xと α はそれぞれ入射時の位置と角度(中心軸からの変位)、X'と α' は周回後の位置と角度である。曲面は近軸近似による解析解をプロットしたもので、赤いドットは装置形状を3次元で精確に再現するように新しく開発したイオン軌道シミュレーションによる結果を示している。中心部の平坦な斜面部分($X=-X'$ と $\alpha=-\alpha'$)では、1周回後にイオン軌道が元の位置と角度を保持可能であり、安定周回条件となる。新しいイオン軌道シミュレーションの結果から、安定周回条件は近軸近似計算での結果よりも狭い範囲であり、条件をはずれるとイオン軌道は急激に不安定になると推測される。

イオン軌道シミュレーションを用いて、実験で印加している電圧とイオン像の変動の対応関係を検証した結果、実験で見られる現象をシミュレーションで再現することができ、イオン

源を組み込んでいるチャンバーが接続部からぶら下がることにより、イオン源の軸がMULTUMの光軸から 0.2° 傾いていることが判明した(図 4-2-5)。

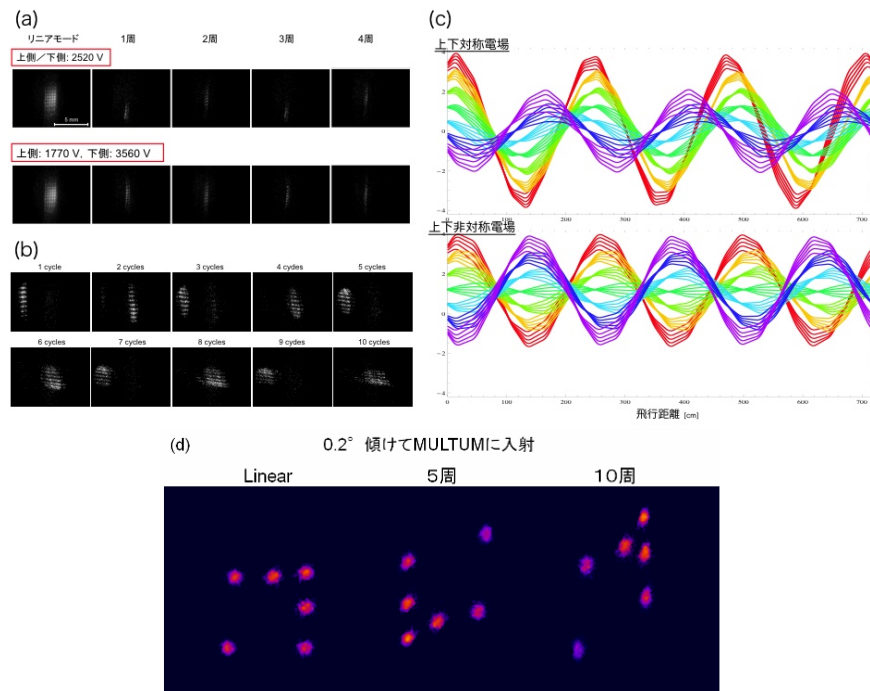


図 4-2-5. アラインメントのずれを示唆する実験結果とシミュレーション解析結果。(a)は縦方向、(b)は横方向のアラインメントずれを示唆する実験結果。(c)は縦方向についての実験結果を再現するシミュレーションによるイオン軌道図。(d)は周回部への入射角度のずれを 0.2° にして再現された、色素ドットパターンのイオン像の歪みのシミュレーション結果。

④総括

高空間分解能を目指した投影型イメージング質量分析技術の開発は、本研究以外では唯一オランダのグループが成功しているが、そこで報告されている空間分解能は $4\mu\text{m}$ が最高であり、一般的な走査型イメージング質量分析を含めて、レーザー脱離イオン化を用いた場合の空間分解能 $1\mu\text{m}$ は世界最高性能に位置付けられる。しかも、オランダのグループでは約 1m の飛行距離でイオン像を得ているのに対し、本研究では 6m 以上の飛行距離でイオン像を得ていながら、さらに高い空間分解能を達成しており、マルチターン飛行時間型質量分析計 MULTUM の完全収束性が実証された。その結果、オランダのグループで達成された質量分解能約300に対して、本研究では質量分解能約10000を達成している。この高空間分解能と高質量分解能の組合せはMULTUMを応用した構成によってのみ実現できた性能であり、本研究以外に達成し得ない。

また、生体サンプルに対するレーザー脱離イオン化を用いた投影型イメージング質量分析例は極めて乏しく、しかも、質量分離されていない全イオンを投影して得られた像や、単一質量だけを選んでイオンゲートで切り出して得られた像が報告されているのみである。本研究では世界で初めて、生体サンプルからレーザー脱離イオン化を用いて得られたイオン像を質量分離した後、ディレイライン検出器によって質量ごとのイオン像として時系列的に取得することに成功し、生体サンプルにレーザー脱離イオン化の投影型イメージング質量分析が応用できる可能性を世界に先駆けて完全な形で実証している。

投影型イメージング質量分析の性能を評価する際に、高精度の規則的パターンを持った評価用試料が必要になるが、既存のものでレーザー脱離イオン化での評価に適した試料がないため、本研究では評価用試料の作製法の開発も精力的に行った。半導体の表面に形成した微細構造に色素を流し込む独自の技術を構築して作製した試料は、空間分解能

や収差の厳密な評価を可能にし、また装置性能の段階に合わせて評価用パターンの寸法に自在性があり、本研究に留まらずイメージング質量分析計の性能評価用標準試料としても期待される。

(2)研究成果の今後期待される効果

本研究において、マルチターン飛行時間型質量分析計(MULTUM)の完全空間・時間収束性が実験的に実証されるとともに、高精度かつ高速なシミュレーションによる評価方法も確立することができた。投影型イメージング質量分析装置としての今後の発展は、生体組織切片のイメージングや1細胞のイメージングなど様々な応用が考えられる。

また、本研究で確立した完全収束を満足するような条件設定は、イメージング装置のみならず、通常の質量分析計としての MULTUM の性能向上にも多いに貢献すると考えられる。さらに高速・高精度なシミュレーション技術は、これまで試行錯誤でもの作りをしていた現場に大きな変革をもたらすと考えられる。これまでも荷電粒子光学の世界では、シミュレーションは用いられてきていたが、近似計算をする以外は、速度やメモリーなどの制限があり、実用になっていなかった。本研究で開発した手法は、今後質量分析計の設計や評価への貢献が考えられ、また電顕、加速器などの荷電粒子を扱う他分野で活用されるべき技術である。

また、本研究で、イメージング像の空間分解能の標準試料として用いる色素ドットや色素を流した半導体微細構造の製作技術については、今後イメージング質量分析の評価用標準試料として活用されることが期待される。

4.3 イオン群光学像を生成するレーザー脱離イオン化技術の構築(大阪大学大学院工学研究科 栗津研究グループ)

(1)研究実施内容及び成果

投影型イメージング質量分析では、試料のレーザー照射面における分析対象物質の分布を保持した状態でイオンを生成しなければならない。通常の質量分析は試料の化学的な組成のみを対象にしており、これまでレーザー脱離イオン化の開発は、いかにソフトに(分子を壊さず)、いかに効率よくイオンを試料表面から生成するかに重点が置かれてきたため、既存のレーザー脱離イオン化の技術をそのまま投影型イメージング質量分析に適用することはできない。本サブテーマでは、投影型イメージング質量分析に適したレーザー脱離イオン化技術を確立するため、① 中赤外波長可変レーザー(DFG レーザー)と紫外レーザーの同時発振システムの製作、② レーザー照射強度プロファイルの平坦化、③ 本研究用に製作した MULTUM-IMG 1号機の質量分析装置としての性能評価、④ レーザー脱離イオン化によるイオン像の生成と検出、⑤ 投影型イメージング質量分析に適した新しいイオン引き出し方法(PEDA)の開発、⑥ 投影型イメージング質量分析に適した生体サンプル調製法の開発、⑦ 染色した生体組織から生成した色素イオンのイメージング、⑧ 薬剤を投与した実験動物内における薬剤関連分子のイメージング、⑨ マトリックスフリー高効率レーザー脱離イオン化法の開発を実施した。

① 中赤外波長可変レーザー(DFG レーザー)と紫外レーザーの同時発振システムの製作

図 4-3-1 のように中赤外波長可変レーザー(difference-frequency generation laser; DFG レーザー)で使用している波長 $1.064\ \mu\text{m}$ の Nd:YAG レーザーの一部を分岐させ、その第3高調波を発生させることで波長 $355\ \text{nm}$ の紫外レーザー光を得た。これにより、レーザー脱離イオン化の光源として使用する DFG レーザーと紫外レーザーの同時発振システムの構築を行い、DFG レーザー、紫外レーザーともにレーザー脱離イオン化に十分な出力を得られることを確認した(図 4-3-2)。サンプルプレート上での DFG レーザーパルスと紫外レーザーパルスのタイミングは Nd:YAG レーザーを分岐させた点からサンプルプレートまでの光路長のみによって決まり、両パルス間のタイミングのばらつきを無視できるほど小さくできた。

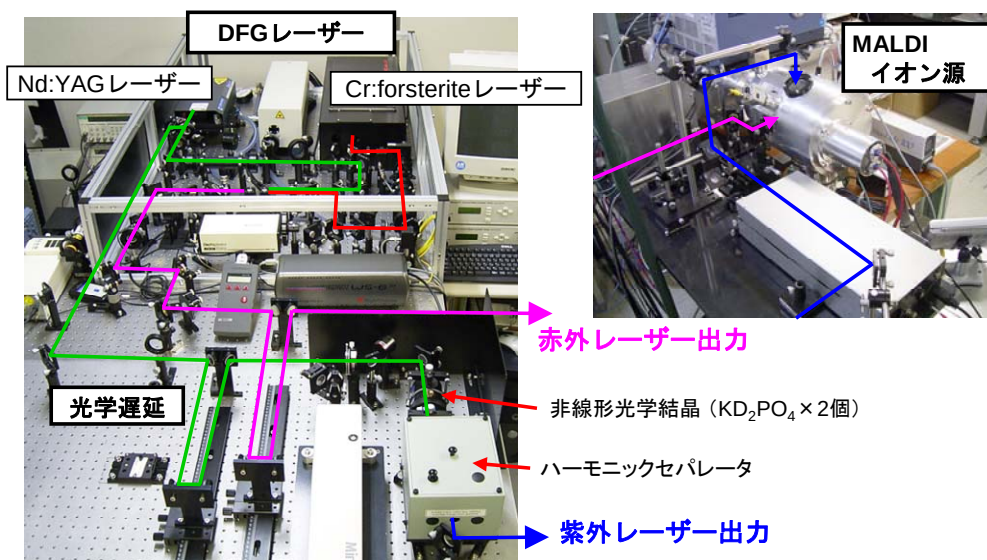


図 4-3-1. 中赤外・紫外レーザー同時発振システム

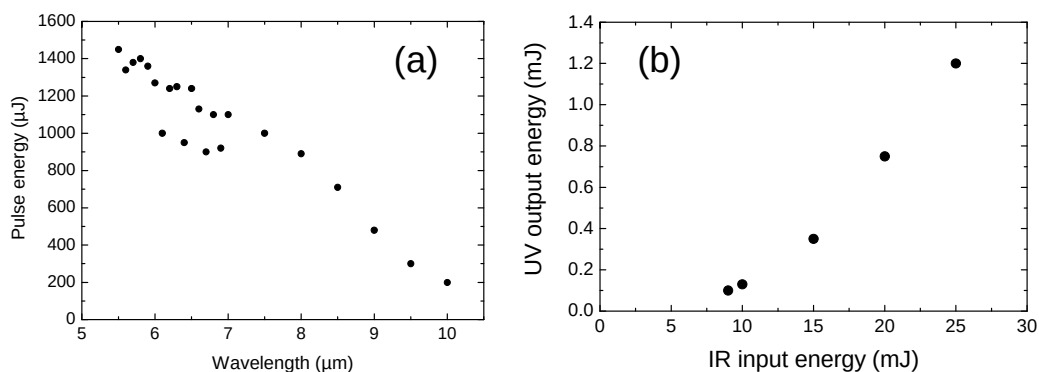
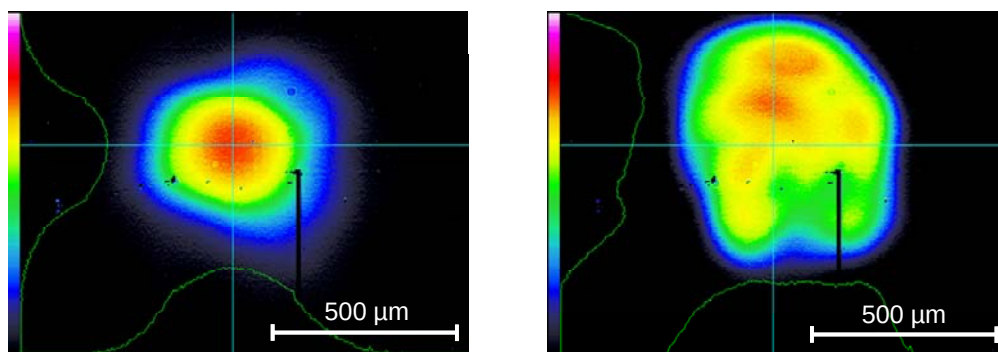


図 4-3-2. (a)DFG レーザーおよび(b)紫外レーザーの出力特性

② レーザー照射強度プロファイルの平坦化

投影型イメージング質量分析では、レーザー照射面全体にわたって分析対象物質の空間分布を得るため、サンプルに均一な強度分布でレーザー光を照射する必要がある。通常は焦点におけるレーザー光の強度プロファイルが正規分布状になり、レーザー強度は空間的に不均一であるため、そのままでは投影型イメージング質量分析には適さない。そのため、レーザーの集光用光学系に強度分布を均一化する補正作用を持たせる必要があるが、波長可変レーザーに対してはレーザー波長ごとに光学素子の特性を変更しなければならない。そこで DFG レーザーについても各波長に対して集光強度分布を即座に均一化できるように、デフォーマブルミラー（可変形鏡）を用いた強度プロファイルの制御系を構築した。その結果、直径数 100 μm の照射面内におけるレーザー光の強度プロファイルを平坦化したフラットビームを実現することができた（図 4-3-3）。



(a) 通常の集光強度分布

(b) 均一化した集光強度分布

図 4-3-3. DFG レーザー強度分布を均一化した結果の例（波長 6.3 μm）

③ 本研究用に製作した MULTUM-IMG 1号機の質量分析装置としての性能評価

[設計・製作: 豊田グループ、実験・データ解析: 栗津グループ]

豊田研究グループによって本研究のために設計・製作された MULTUM-IMG 1号機の性能評価を行った。ここでは、まず、イメージング装置としてではなく、通常の質量分析装置としての性能評価を行った。分子量 1046 のペプチド (angiotensin II) と MALDI マトリックス (液体マトリックス) を混合した試料に紫外パルスレーザーを照射して生成したイオンを周回部で周回させた後のマススペクトルを測定した例を図 4-3-4 に示す。周回部を 500 周させると総飛行距離は 654.8m にも達するが、500 周後もマススペクトルをはっきりと検出で

きていることがわかる。また、10 周後と比べて 500 周後の質量分解能が高くなっており、約 130000 が得られていることがわかる。これらの結果から、MULTUM-IMG 1号機が質量分析装置としては正常に動作していることが確認できた。

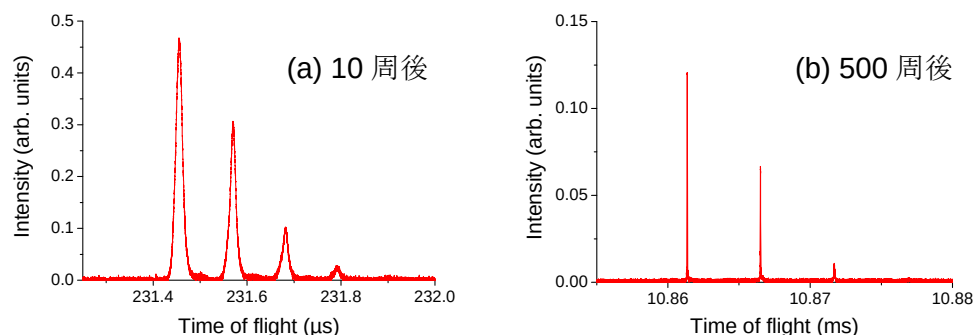


図 4-3-4. 本研究用に製作した MULTUM-IMG 1号機で周回部を周回させた後に測定した分子量 1046 のペプチド(angiotensin II)のマススペクトルの例。500 周後では約 130000 の質量分解能が得られた。

上記の実験を通して周回部における周回数の増加に伴って質量分解能が向上する反面、特に高分子量の試料に対してはイオン信号量が大きく低下することがわかった。そこで、周回部における周回数と信号量との関係、およびそのマトリックスによる違いを評価した。その結果、図 4-3-5 のように分子量 1046 の angiotensin II と比べて分子量が 5730 と高い insulin の方が周回数の増加に伴う信号量の低下が大きいことがわかった。周回数の増加に伴うイオン信号量の低下は飛行中における電極等への衝突、または真空中に残留した中性分子などとの衝突によるイオンの解離によると考えられる。分子量の高い分子の方が周回数の増加に伴うイオン信号量の低下が大きいのは、高分子量のイオンの方が中性分子との衝突による解離が起りやすいためと考えている。また、マトリックスに CHCA (α -cyano-4-hydroxycinnamic acid) を用いると他のマトリックスと比べて周回数の増加に伴う信号量の低下が著しく大きいことがわかった。この原因を探るためにイオン化後のイオンの初速度を測定した結果、マトリックスに CHCA (α -cyano-4-hydroxycinnamic acid) を用いると他のマトリックスを用いた場合と比べてイオンの初速度が低いことがわかった。この結果から、マトリックスに CHCA (α -cyano-4-hydroxycinnamic acid) を用いると他のマトリックスを用いた場合と比べてイオンの内部エネルギーが高く、中性分子との衝突による解離が起りやすくなっていると推測された (*Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **22** (2008), 1461-1466.)。

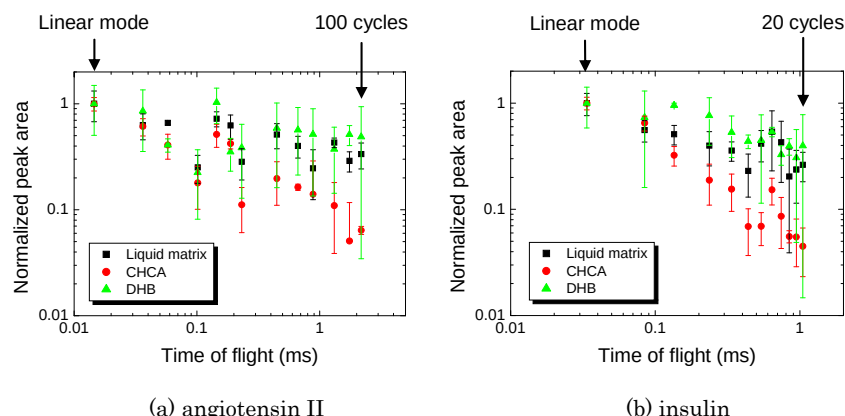


図 4-3-5. 周回部における周回数とイオン信号量との関係、およびその試料、マトリックスによる違い。分子量 1046 の angiotensin II と比べて分子量が 5730 と高い insulin の方が周回数の増加に伴う信号量の低下が大きいことがわかる。また、マトリックスに CHCA (α -cyano-4-hydroxycinnamic acid) を用いると他のマトリックスと比べて周回数の増加に伴う信号量の低下が著しく大きいことがわかる。

④ レーザー脱離イオン化によるイオン像の生成と検出

分析対象物質の空間分布を保持できるレーザー脱離イオン化の技術を早期に確立するために、紫外レーザー照射で効率よく脱離イオン化する色素 (rhodamine 6G 等) を試料とし、これにサンプルプレート上で金属メッシュをマスキングパターンとして被せて、紫外パルスレーザー照射で金属メッシュを通して得られる色素の脱離イオンの像をイオン源に隣接した蛍光変換型イオン検出器で観測した。この観測を頼りにして、レーザー照射面から脱離したイオンを引き出す際に空間分布が保たれるようにイオン源の電極形状を決定するとともに、イオン源の電極部の静電レンズ作用による脱離イオンの結像特性を確認した。こうして構築したイオン源の基本設計を利用した投影型イメージング質量分析装置の1号機 (MULTUM-IMG) を用いて、色素ドット等で作製した微小パターンの脱離イオン像を蛍光変換型イオン検出器で観測することにより、投影型イメージング質量分析に適したレーザー脱離イオン化技術の構築を進めるとともに、1号機の調整ならびに質量分解能および空間分解能の評価を行った。

直径 $5\mu\text{m}$ の色素ドットを $10\mu\text{m}$ 間隔で配列して、サンプルプレート上のレーザービーム径に相当する領域内に収まる微小な文字パターンを作製し、これに紫外パルスレーザーを照射して生成した脱離イオンを1号機で直線飛行させた後に観測した結果、明瞭なイオン像を得ることに成功した (図 4-3-6)。

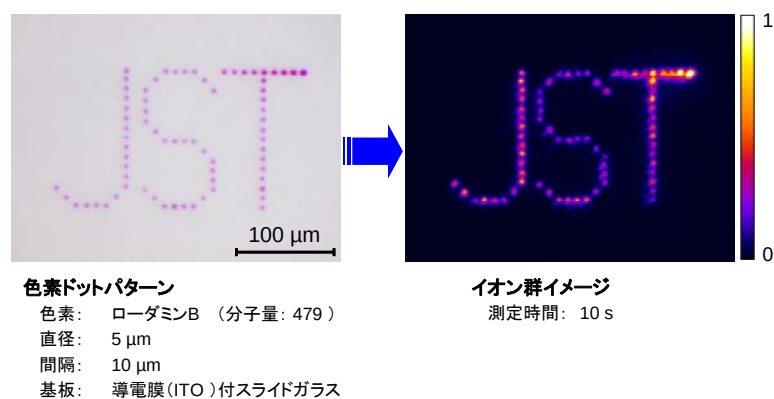


図 4-3-6. 微小色素ドットで作成した文字パターンおよびその脱離イオン像の観測結果

2種類の色素を用いてドットパターンを作製し、紫外パルスレーザー照射による脱離イオンを1号機で直線飛行させた後、周回部入射側の偏向電極および周回部のセクター電極（セクターI）にパルス電圧を印加するタイミングを調整することで、特定のイオンのみが通過できるようにすることで、色素毎のイオン像を選択して得ることに成功した（図 4-3-7）。

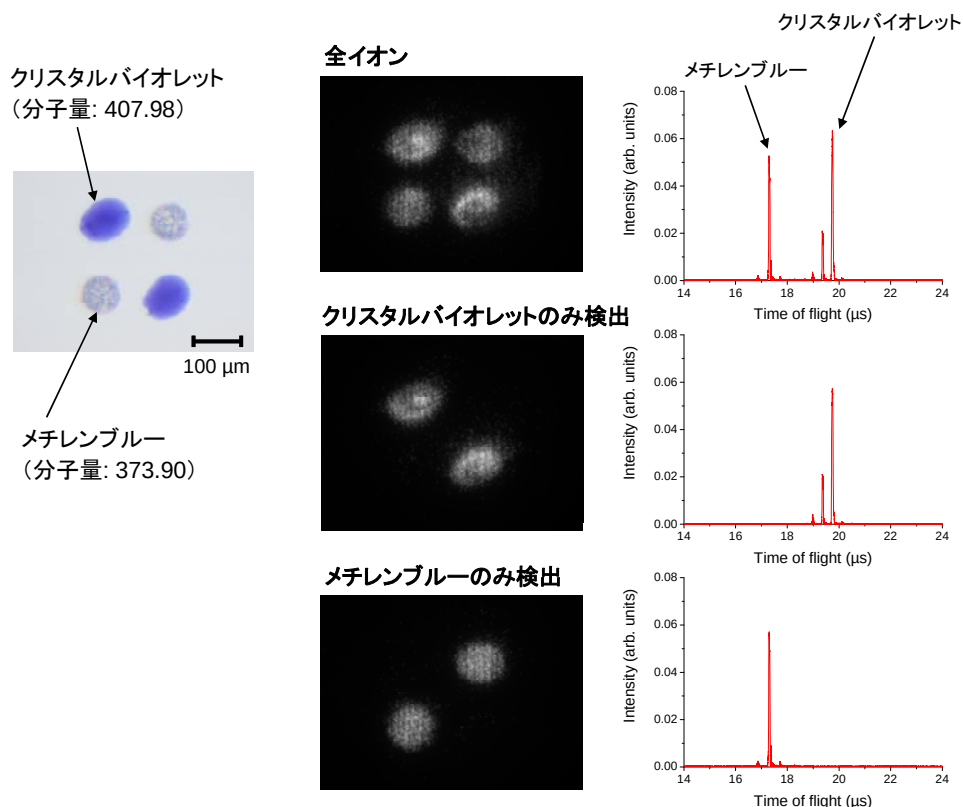


図 4-3-7. 2種類の色素で作製したドットパターンと、その色素ごとの選択イオン像および飛行時間スペクトルの測定結果

色素ドットパターンの紫外パルスレーザー照射による脱離イオンを1号機で周回飛行させた後、イオン像を観測することを試みた。電極電圧を理論上の値に設定した場合には周回後のイオン像を全く観測できなかったが、本来は一定値に設定される周回部の電極電圧を、各電極について理論値から最大で約 10%ずれた値で個別に調整した結果、10 周回後もイオン像を観測することに成功した（図 4-3-8）。10 周回後の空間分解能は $7.6 \pm 1.0 \mu\text{m}$ と推定された。このときの電圧調整条件とイオン像の観測結果は、1号機の詳細な特性解析に利用され、2号機の設計に反映された。

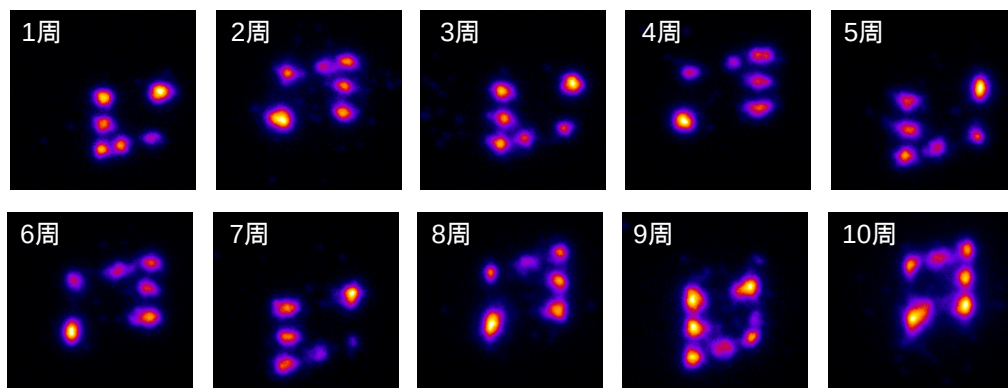
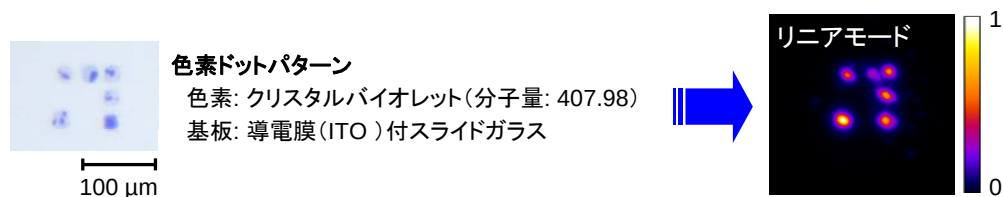


図 4-3-8. 色素ドットパターンの脱離イオンを1号機で周回させた後に観測したイオン像

分子量 1046 のペプチド(angiotensin II)と MALDI マトリックスを混合した試料に金属メッシュを被せて MALDI によりペプチドの脱離イオンを生成し、1号機で10周回させた後のイオン像の観測に成功した。このとき、イオン像の観測と同時に取得したペプチドの飛行時間スペクトルから、質量分解能は約 2300 であることが確認された(図 4-3-9)。

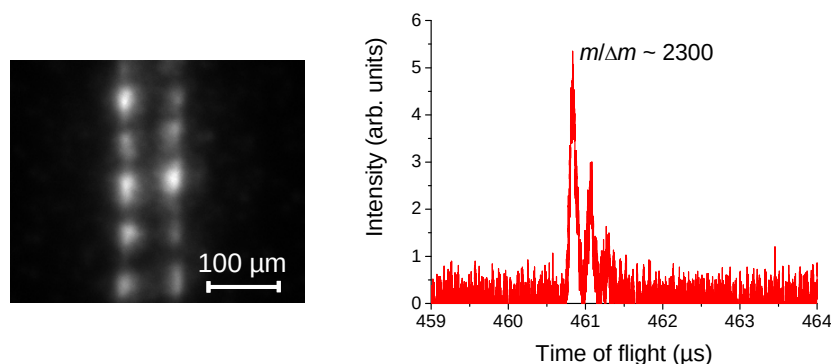


図 4-3-9. 金属メッシュ(周期 $63.5 \mu\text{m}$ 、線幅 $20 \mu\text{m}$)を被せた MALDI サンプルより生成したペプチドのイオンを、1号機で10周回させた後に取得したイオン像および飛行時間スペクトル(サンプル:angiotensin II(分子量 1046)、マトリックス: α -cyano-4-hydroxycinnamic acid)

⑤ 投影型イメージング質量分析に適した新しいイオン引き出し方法(PEDA)の開発

[原理考案:豊田グループ、実証実験:栗津グループ]

図 4-3-9 の飛行時間スペクトルでは、イオンの飛行距離が 10m 以上に達しているにもかかわらず、最近の市販の飛行時間型質量分析計よりも質量分解能が低い。そこで、豊田研究グループによってイオン像を保持しながら速度分散を相殺できる新しい脱離イオン引き出し方法(引き出し後差動加速法)が考案された。本手法の検証を栗津研究グループにおいて1号機を用いて行った結果を図 4-3-10 に示す。引き出し後差動加速法を用いた場合、イオンを直線飛行させた後にイオン像と同時に取得した飛行時間スペクトルにおいて、質量分解能約 1200 を達成した。そして、周回部において 10 周させた後ではイオン像と同

時に取得した飛行時間スペクトルにおいて、質量分解能約 14000 を達成することができた。ここで、周回後のイオン像において直線飛行させた場合と比べて視野が制限されているのは、周回時に安定軌道から外れたイオンを遮るためのスリットを用いているためである。

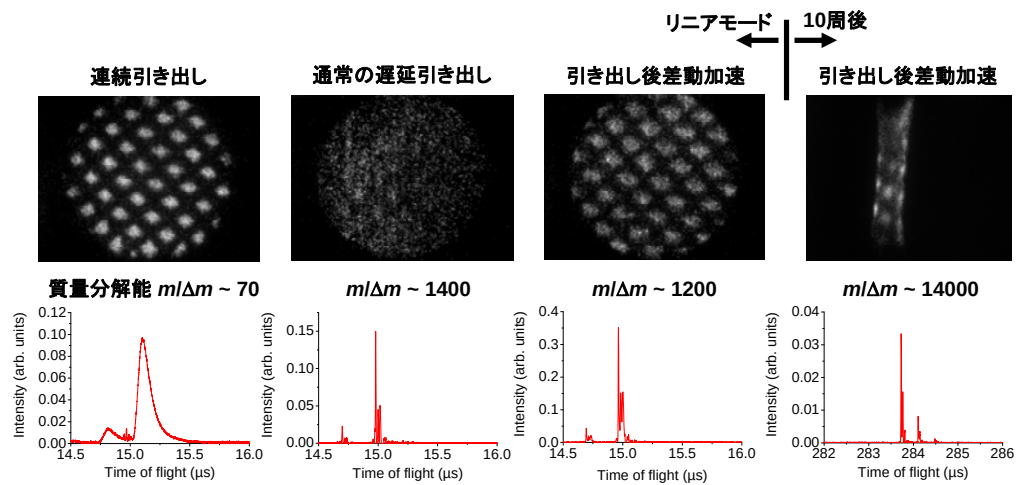


図 4-3-10. イオン引き出し方法および周回の有無によるイオン像と飛行時間スペクトル（質量分解能）の比較。金属メッシュ（周期 $63.5 \mu\text{m}$ 、線幅 $20 \mu\text{m}$ ）を被せた色素の脱離イオンを使用。

⑥ 投影型イメージング質量分析に適した生体サンプル調製法の開発

生体サンプルについての投影型イメージング質量分析による測定技術を蓄積するため、色素染色した組織切片を試料にして1号機で色素イオン像の取得を試みた。主に細胞の核を染める色素 (methylene blue) と細胞質などを染める色素 (crystal violet) による2重染色法を用いて、マウスの組織切片を染色し、紫外パルスレーザー照射による脱離イオンを1号機で直線飛行させた後、蛍光変換型イオン検出器で観測した。これらの色素は紫外パルスレーザー照射で効率よく脱離イオン化するが、染色した組織切片からは明瞭な色素イオン像を得ることができなかった。検討の結果、組織切片から明瞭な脱離イオン像を得るには、サンプル表面に約 8nm の厚さで金をコーティングすることが必要であることを明らかにした。これは、金コートによってサンプル表面への電荷の蓄積を避けることができているためであると考えられる。

⑦ 染色した生体組織から生成した色素イオンのイメージング

上記の手順を用いて作成したサンプルの位置を一定の間隔 ($250 \mu\text{m}$) で移動させながら取得した複数のイオン像を結合するソフトウェアを開発し、色素染色したマウスの脳組織切片における海馬全体 ($3.25\text{mm} \times 1.5\text{mm}$) の色素イオンの像を1号機で得ることに成功した (図 4-3-11) (*J. Biomed. Opt.*, **16**, 2011, in press.)。

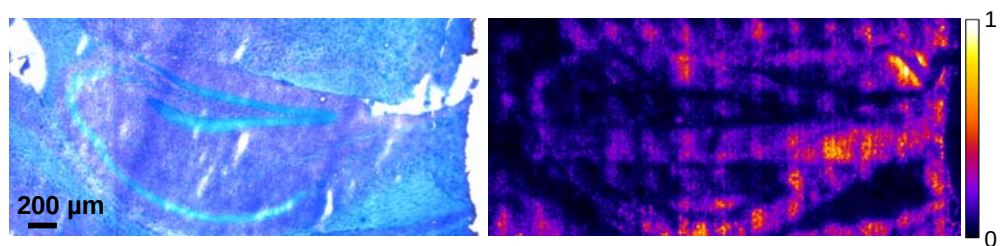


図 4-3-11. 2重染色法で染色したマウスの脳組織切片における海馬部分の光学顕微鏡像(左)、および同切片から得られた色素イオン像(右)

⑧ 薬剤を投与した実験動物内における薬剤関連分子のイメージング

投影型イメージング質量分析の具体的な応用例として生体内における薬物動態の観察について検討した。MALDI による薬物動態観察は走査型イメージング質量分析で研究例があり、オートラジオグラフィを用いる一般的な薬物動態観察に比べて放射性同位体による薬剤分子の標識を必要とせず、薬剤分子の未変化体と代謝産物とを識別可能な方法として期待されているが、測定に長時間を要することが問題となっていた。そこで、薬剤を投与した実験動物の組織切片を試料にして、1号機で薬剤代謝産物の脱離イオン像の取得を試みた。抗精神病薬(olanzapine、分子量312.4)を尾静脈より投与したマウスの脳組織切片にマトリックス(α -cyano-4-hydroxycinnamic acid)溶液をエアブラシでスプレー塗布し、金で厚さ 8nm のコーティングを行った。MALDI による生成イオンを1号機で直線飛行させた後、抗精神病薬の代謝産物(2-hydroxymethyl 体)に該当する m/z 329 のイオンが検出面に到達したタイミングで蛍光変換型イオン検出器のマイクロチャンネルプレート(MCP)にパルス状の高電圧を印加することにより、代謝産物のイオン像を選択的に観測した。染色組織切片の場合と同様にサンプル位置を一定の間隔で移動しながら取得した複数のイオン像を結合して、マウスの脳組織切片における海馬部分について薬剤代謝産物のイオン像を得ることに成功した(図 4-3-12)。

MALDI による生体サンプルの投影型イメージング質量分析で、このような具体的な結果が得られたのは世界で初めてである。投影型イメージング質量分析により、薬物動態観察における測定時間を従来のイメージング質量分析の1/10以下に短縮することに成功した。

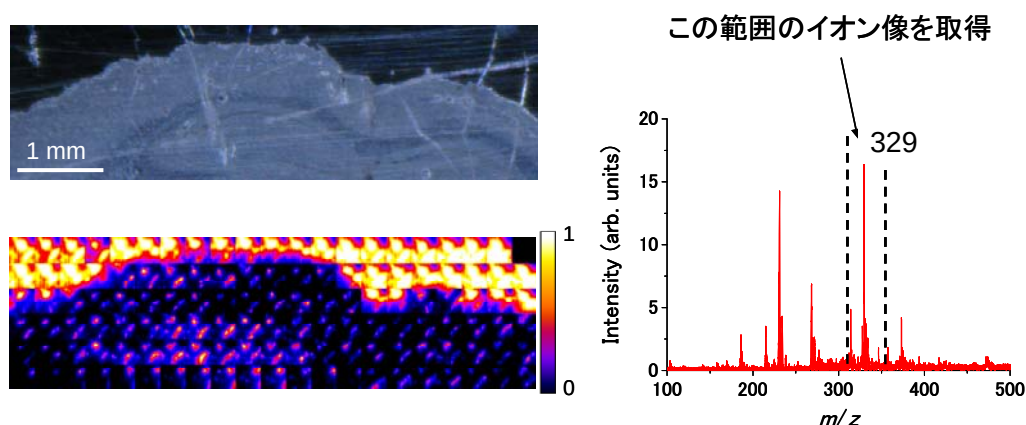


図 4-3-12. 抗精神病薬を投与したマウスの脳組織切片(マトリックス塗布後、金コートしたもの)における海馬部分の光学顕微鏡像(左上)、同切片から得られた MALDI マススペクトル(右)、および抗精神病薬代謝産物のイオン像(左下)

⑨ マトリックスフリー高効率レーザー脱離イオン化法の開発

レーザー照射による高分子のイオン化はマトリックス支援レーザー脱離イオン化(MALDI)が一般的な方法であるが、添加したマトリックス化合物が有限のサイズで結晶化するため、 $1\mu\text{m}$ 以下の位置情報を保ちながらイオン像を生成するのは困難である。投影型イメージング質量分析でタンパク質などの高分子を脱離イオン化するための手段の一つとして、マトリックスを使用せず表面に微細加工を施した半導体をサンプルプレートとして用いるレーザー脱離イオン化法の開発を行った。この手法は DIOS (Desorption Ionization on Silicon) などの名称で盛んに研究されているが、イメージング質量分析への応用はほとんど例がない。

微細加工を施したシリコンチップを作製し、マトリックスを用いずにタンパク質(insulin および cytochrome c)の混合溶液を滴下して、紫外パルスレーザーの照射によりマススペクトル

の取得を試みた結果、両者のイオンを検出することに成功した(図 4-3-13)。投影型イメージング質量分析に用いるにはさらに改良を要したが、投影型イメージング質量分析装置本体の開発状況から空間分解能の目標値を $1\mu\text{m}$ に変更したため、技術的課題の多さも考慮して開発の優先度を下げることにした。

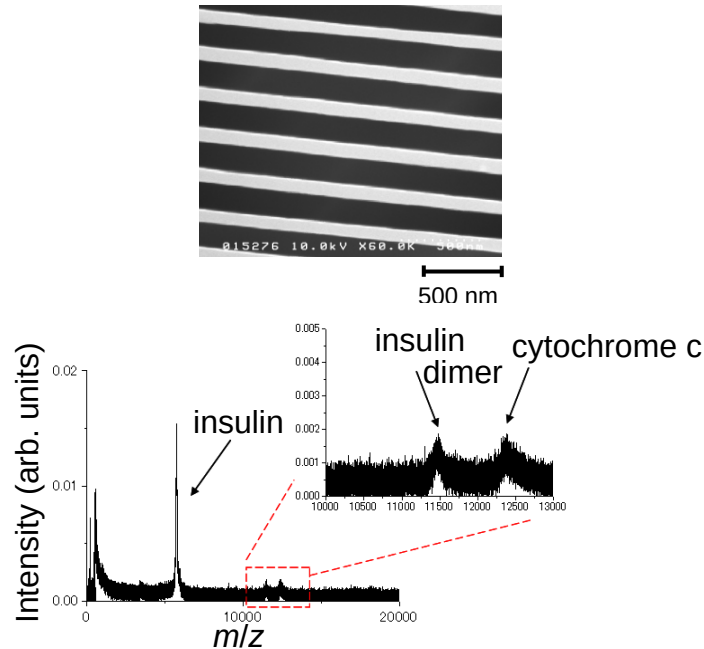


図 4-3-13. 表面に微細加工を施したシリコンチップをサンプルプレートに用いてマトリックスフリーでタンパク質の質量分析を試みた結果の例

(2)研究成果の今後期待される効果

研究成果は生命科学分野において、今後以下の二つの方向性が期待される。①ミクロには、「がん」等の確定診断に用いる従来の光学顕微鏡を用いた形態画像に加えて、 $1\mu\text{m}$ (細胞の大きさは約 $10\sim 20\mu\text{m}$) 程度の空間分解能を有する質量イメージング画像を重ねることによる、機能、すなわち疾患特有の発現物質 (がんであれば、たとえば p53 遺伝子により特異的に発現するタンパク質やペプチド) を画像化する新しいモダリティとしての展開。②マクロには (数十 μm の空間分解能でも適応可能)、製薬企業の創薬プロセスにおいて、新しい薬剤候補物質の HTS (High Throughput Screening: 高速で薬効を調べる) 法、すなわち、候補物質をマウスなどの実験動物に投与し、安全性、有効性を評価するための臓器別取り込み濃度・代謝過程の高速イメージング法としての展開が考えられる。

豊田らが開発した MULTUM は、既に世界で類を見ない初のワゴントップサイズ質量分析装置を国産技術で実現した。MULTUM をベースにした本質量イメージング技術は、狭隘な環境に多くの分析装置が立ち並ぶ実験室や、将来的には病院内といった医療の現場に、「蛍光色素を用いた抗原抗体法」を超える高品位な分析技術＝診断技術の提供を可能とする。

さらに、質量分析法が得意とする、自然現象の「あるがまま」を「即時」に「厳密な正確」さを以て捕らえるという分析法が、「見える化」へ展開し、近い将来において (5 年程度) バイオ医療のみならず、環境を始め「見える化分析」が必要な多くの場面に広く波及することが想定される。

4. 4 イメージング質量分析を評価・検証する技術の構築(サントリー生物有機科学研究所 益田研究グループ)

(1)研究実施内容及び成果

本サブテーマでは、プロジェクトで開発する投影型イメージング質量分析技術が実用的見地から有用であることを実証するための評価技術の構築を目的として、① 投影型イメージング質量分析装置の検証に使用する色素ドットパターン試料の作製、② 投影型イメージング質量分析技術の評価において標準試料になり得る細胞試料もしくはバイオミメティック試料の選定と試料調製方法の検討、③ マトリックスフリー高効率レーザー脱離イオン化法の開発を実施した。

① 投影型イメージング質量分析装置の検証に使用する色素ドットパターン試料の作製

投影型イメージング質量分析装置の開発段階では、イオンを効率よく生成する物質による精緻なテストパターンが必要になる。そこで、紫外パルスレーザー照射によって容易にイオン化する色素を選定し、微量液滴形成装置を用いてシリコン基板またはガラス基板上に決められたパターンで微小な色素ドットを配列させる技術を構築した。この技術によりレーザービーム径に全体が収まる微小な文字パターンの試料を作製し、MULTUM-IMG でイオン像を取得する検証試験を栗津研究グループと協同で実施した(栗津研究グループ研究実施内容の図 4-3-6 参照)。

② 投影型イメージング質量分析技術の評価において標準試料になり得る細胞試料もしくはバイオミメティック試料の選定と試料調製方法の検討

最終的な評価試験において標準試料になり得るような細胞試料を選定し、投影型イメージング質量分析による測定結果の正しさを実証する対照実験が行えるように、蛍光顕微鏡によるタンパク質局在観察の技法を整備した。数種類の受容体や輸送体などの膜タンパク質に着目し、蛍光プローブ導入などの細胞表層における膜タンパク質の調製法を検討した。複数の蛍光プローブを導入した膜タンパク質を細胞表層に発現させる最適な調製条件を見出した。また、全反射照明蛍光顕微鏡(TIRF)を用いて細胞表層における膜タンパク質の局在性を明瞭に観察する技術を構築した(図 4-4-1)。これにより、この細胞試料を用いて投影型イメージング質量分析技術の評価試験を実施する際に、投影型イメージング質量分析で取得する膜タンパク質の分布データの正しさを蛍光顕微鏡観察によって検証することを可能にした。

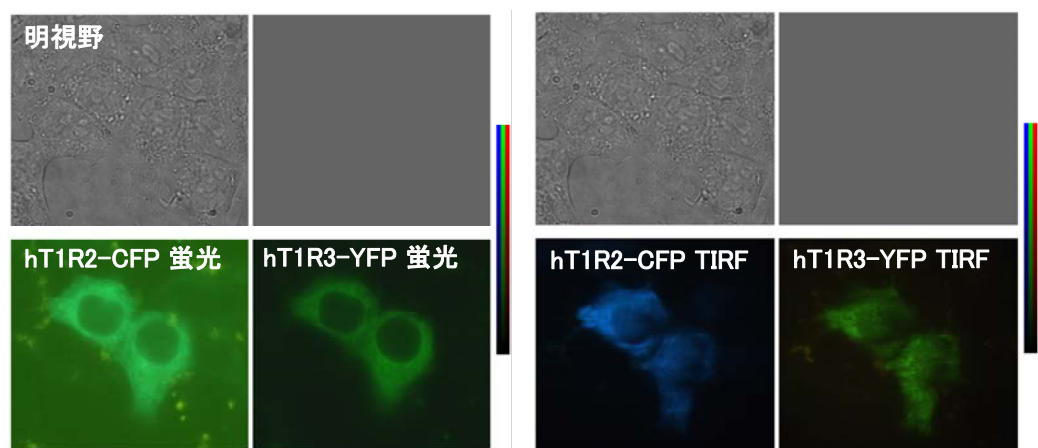


図 4-4-1. 細胞表層における膜タンパク質(蛍光ラベル化受容体)の発現と局在性観察の例

③ マトリックスフリー高効率レーザー脱離イオン化法の開発

蛍光顕微鏡観察による対照実験の技法を確立した細胞試料について、投影型イメージング質量分析での高空間分解能の観測が行えるようにするため、マトリックスフリーでイオン化する技法の構築を目指した。その予備実験として、マトリックスフリーレーザー脱離イオン化法として一般に行われている多孔質シリコンのサンプルプレートを用いる技法(DIOS)をペプチドの溶液試料で評価し、さらにイオン化効率を上げるため、表面に様々なスケールの微細溝加工を施したシリコンチップを作製した。これをサンプルプレートに用いたときの効果を栗津研究グループと協同で検証した(栗津研究グループ研究実施内容の図4-3-13 参照)。

なお、中間評価における空間分解能の目標値の修正にともない、益田研究グループを栗津研究グループに編入し、以後は栗津研究グループ内で投影型イメージング質量分析の生体サンプルへの応用について検討を実施した。

(2)研究成果の今後期待される効果

本研究で構築した細胞試料作製技術は、目標とする空間分解能が修正された結果、本プロジェクトで活用する機会を失ったが、今後、イメージング質量分析でサブ μm オーダーの空間分解能が実現した際は、細胞試料のイメージング質量分析データを対照用データと共に得ることができる。またその際には、膜タンパク質に代表される機能性タンパク質群の詳細な機能解明に極めて有用であると期待される。

§ 5 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内(和文)誌 4件、国際(欧文)誌 6件)

1. 豊田岐聡, 西口克, マルチターン飛行時間型質量分析計のイオン像のシミュレーション, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **55**, 17-24, 2007.
2. 佐藤出, 鈴木-吉橋幸子, 間久直, 栗津邦男, 中赤外波長可変固体レーザーを用いた新規質量分析装置によるタンパク質のイオン化, レーザー研究, **35**, 382-387, 2007.
3. Hisanao Hazama, Hirofumi Nagao, Ren Suzuki, Michisato Toyoda, Katsuyoshi Masuda, Yasuhide Naito, Kunio Awazu, Comparison of mass spectra of peptides in different matrices using matrix-assisted laser desorption/ionization and a multi-turn time-of-flight mass spectrometer, MULTUM-IMG, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **22**, 1461-1466, 2008.
4. Hisanao Hazama, Jun Aoki, Hirofumi Nagao, Ren Suzuki, Toshio Tashima, Kenichi Fujii, Katsuyoshi Masuda, Kunio Awazu, Michisato Toyoda, Yasuhide Naito, Construction of a Novel Stigmatic MALDI Imaging Mass Spectrometer, *Appl. Surf. Sci.*, **255**, 1257-1263, 2008.
5. Jun Aoki, Ayumi Kubo, Morio Ishihara, Michisato Toyoda, Simulation of ion trajectories using the surface-charge method on a special purpose computer, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res., Sect. A.*, **600**, 466-470, 2008.
6. Michisato Toyoda, Development of multi-turn time-of-flight mass spectrometers and their applications, *Eur. J. Mass Spectrom.*, **16**, 397-406, 2010.
7. Hisanao Hazama, Hidetoshi Yoshimura, Jun Aoki, Hirofumi Nagao, Michisato Toyoda, Katsuyoshi Masuda, Kenichi Fujii, Toshio Tashima, Yasuhide Naito, and Kunio Awazu, Development of a stigmatic mass microscope using laser desorption/ionization and a multi-turn time-of-flight mass spectrometer, *J. Biomed. Opt.*, **16**, 2011, in press.
8. Hidetoshi Yoshimura, Hisanao Hazama, Jun Aoki, Michisato Toyoda, Yasuhide Naito, and Kunio Awazu, Evaluation of a delay-line detector combined with analog-to-digital converters as an ion detection system for stigmatic imaging mass spectrometry, *Jpn. J. Appl. Phys.*, **50**, 2011, in press.
9. Jun Aoki, Hisanao Hazama and Michisato Toyoda, Novel Ion Extraction Method for Imaging Mass Spectrometry, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **59**, 2011, in press.
10. 林雅宏, 内藤康秀, ディレイライン検出器を用いた投影型イメージング質量分析における有効な信号処理技術の開発, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **59**, 2011, in press

(2)その他の著作物(総説、書籍など)

1. 内藤康秀, イメージング質量分析とは, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **55**, 39, 2007 (解説)
2. Hisanao Hazama, Yoshiaki Takatani, Kunio Awazu, Integrated ultraviolet and tunable mid-infrared laser source for analyses of proteins, *Proceedings of SPIE*, **6455**, 645507, 2007 (プロシーディング)
3. 内藤康秀, 光の医療・健康分野への応用 —産業展開を視野に入れた質量顕微鏡の開発—, *OPTRONICS*, **309**, 115-119, 2007 (解説)
4. Yasuhide Naito, Manabu Heya, Hirofumi Nagao, Katsuyoshi Masuda, Hisanao Hazama, Ren Suzuki, Kunio Awazu, Kenichi Fujii, Michisato Toyoda, Building a novel imaging mass spectrometer based on a multi-turn TOF geometry, *Proceedings of the 55th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics*, Indianapolis, IN, June 3 – 7, 2007, 349 (プロシーディング)
5. Hisanao Hazama, Yasuhide Naito, Kenichi Fujii, Michisato Toyoda, Katsuyoshi Masuda, Hirofumi Nagao, Ren Suzuki, Kunio Awazu, Lifetimes of biomolecule ions depending on MALDI matrices measured by a multi-turn time-of-flight mass spectrometer, MULTUM II, *Proceedings of the 55th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics*,

- Indianapolis, IN, June 3 – 7, 2007, 350 (プロシーディング)
6. Hisanao Hazama, Jun Aoki, Hirofumi Nagao, Ren Suzuki, Yasuhide Naito, Michisato Toyoda, Katsuyoshi Masuda, Kenichi Fujii, Toshio Tashima, Kunio Awazu, Development of a stigmatic mass microscope using a multi-turn time-of-flight mass spectrometer, MULTUM-IMG, *Proceedings of the 56th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics*, Denver, CO, June 1 – 5, 2008, 1378 (プロシーディング)
 7. Jun Aoki, Michisato Toyoda, Ayumi Kubo, Hisanao Hazama, Kunio Awazu, Yasuhide Naito, Ion trajectory simulation of multi-turn TOF using surface charge method accelerated by a special purpose computer, *Proceedings of the 56th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics*, Denver, CO, June 1 – 5, 2008, 1379 (プロシーディング)
 8. 間久直, 栗津邦男, レーザー脱離イオン化技術を用いた顕微イメージング質量分析, 応用物理, **77**, 1425–1430, 2008 (解説)
 9. Hisanao Hazama, Masaki Yumoto, Takayo Ogawa, Satoshi Wada, Kunio Awazu, Mid-infrared tunable optical parametric oscillator pumped by a Q-switched Tm:Ho:YAG ceramic laser, *Proceedings of SPIE*, **7197**, 71970J, 2009 (プロシーディング)
 10. Masahiro Hayashi, Yasuhide Naito, Development of a prototype mass spectrometer for MS imaging using a high spatial/temporal resolution ion detector, *Proceedings of the 57th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics*, Philadelphia, PA, May 31 – June 4, 2009, 900 (プロシーディング)
 11. Hisanao Hazama, Jun Aoki, Hirofumi Nagao, Ren Suzuki, Hidetoshi Yoshimura, Yasuhide Naito, Michisato Toyoda, Katsuyoshi Masuda, Kenichi Fujii, Toshio Tashima, Kunio Awazu, A stigmatic mass microscope with a high mass resolving power using a multi-turn time-of-flight mass spectrometer, *Proceedings of the 57th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics*, Philadelphia, PA, May 31 – June 4, 2009, 2299 (プロシーディング)
 12. Jun Aoki, Hisanao Hazama, Michisato Toyoda, Kunio Awazu, Katsuyoshi Masuda, Kenichi Fujii, Toshio Tashima, Yasuhide Naito, Determination of the stability phase space of multi-turn TOF using for imaging mass spectrometry, *Proceedings of the 57th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics*, Philadelphia, PA, May 31 – June 4, 2009, 2303 (プロシーディング)
 13. Kunio Awazu, Hirofumi Nagao, Hidetoshi Yoshimura, Hisanao Hazama, Jun Aoki, Michisato Toyoda, Katsuyoshi Masuda, Kenichi Fujii, Toshio Tashima, Yasuhide Naito, Stigmatic and microscopic imaging mass spectrometry using a multi-turn time-of-flight mass spectrometer, *International Symposium on Optical Engineering and Photonic Technology (OEPT 2009)*, Orlando, FL, July 10 – 13, 2009, O514QR (プロシーディング)
 14. Hisanao Hazama, Jun Aoki, Hirofumi Nagao, Hidetoshi Yoshimura, Yasuhide Naito, Michisato Toyoda, Katsuyoshi Masuda, Kenichi Fujii, Toshio Tashima, Kunio Awazu, Stigmatic imaging mass spectrometry using a multi-turn time-of-flight mass spectrometer, *Conference on Lasers and Electro-Optics/Pacific Rim 2009*, (Optical Society of America, 2009), paper ThF4_2 (プロシーディング)
 15. 吉村英敏, 間久直, 益田勝吉, 青木順, 長尾博文, 田嶋敏男, 藤井研一, 豊田岐聡, 内藤康秀, 栗津邦男, 生体組織内分子のイメージングに向けたレーザーイオン化質量顕微鏡の開発, 電気学会光・量子デバイス研究会, 2010, OQD-1-023 (プロシーディング)
 16. Hisanao Hazama, Hidetoshi Yoshimura, Jun Aoki, Hirofumi Nagao, Yasuhide Naito, Michisato Toyoda, Katsuyoshi Masuda, Kenichi Fujii, Toshio Tashima, Kunio Awazu, Observation of tissue sections stained with dyes using a stigmatic imaging mass spectrometer, *Proceedings of the 58th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics*, Salt Lake City, UT, May 23 – 27, 2010, 850 (プロシーディング)
 17. Hidetoshi Yoshimura, Hisanao Hazama, Jun Aoki, Michisato Toyoda, Yasuhide Naito, Kunio Awazu, Development of a fast position- and time-sensitive ion detector for

- stigmatic mass microscopy, *Proceedings of the 58th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics*, Salt Lake City, UT, May 23 – 27, 2010, 860 (プロシーディング)
18. Masahiro Hayashi, Yasuhide Naito, Constructing a practical mass microscope enabling sub-cellular scale image measurements, *Proceedings of the 58th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics*, Salt Lake City, UT, May 23 – 27, 2010, 867 (プロシーディング)
 19. Jun Aoki, Hisanao Hazama, Michisato Toyoda, Kunio Awazu, Katsuyoshi Masuda, Kenichi Fujii, Yasuhide Naito, Development of a stigmatic mass microscope with high mass and spatial resolving power using a multi-turn time-of-flight mass spectrometer, *Proceedings of the 58th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics*, Salt Lake City, UT, May 23 – 27, 2010, 1618 (プロシーディング)
 20. Kunio Awazu, Hisanao Hazama, Hidetoshi Yoshimura, Jun Aoki, Hirofumi Nagao, Michisato Toyoda, Katsuyoshi Masuda, Kenichi Fujii, Toshio Tashima, and Yasuhide Naito, “Development of a novel stigmatic imaging mass spectrometer using laser ionization and a multi-turn time-of-flight mass spectrometer,” *Proc. SPIE* **7376**, 73760Y, 2010.
 21. 間久直, 吉村英敏, 青木順, 長尾博文, 田嶋敏男, 藤井研一, 益田勝吉, 豊田岐聡, 内藤康秀, 栗津邦男, “生体内分子の観察に向けたレーザーイオン化イメージング質量分析装置の開発,” 電気学会 光・量子デバイス研究会資料 (バイオメディカルフォトンクス応用), OQD-11-16, 23–28, 2011.
 22. Kunio Awazu, Hisanao Hazama, Hirofumi Nagao, Hidetoshi Yoshimura, Jun Aoki, Kenichi Fujii, Katsuyoshi Masuda, Toshio Tashima, Michisato Toyoda, and Yasuhide Naito, “Development of a stigmatic imaging mass spectrometer using laser desorption/ionization,” *Proc. SPIE* **7902**, 790225, 2011.

(3)国際学会発表及び主要な国内学会発表

① 招待講演 (国内会議 20件、国際会議 7件)

1. ○内藤康秀^{1,2} (¹光産業創成大学院大学, ²JST CREST), 質量分析カメラの開発構想と自動化への課題, 理研シンポジウム, 和光, 2006年2月3日
2. ○内藤康秀^{1,2} (¹光産業創成大学院大学, ²JST CREST), 実用的バイオイメージングを目指した MS イメージングカメラの開発, 浜松医科大学 COE 企画特別講演会, 浜松, 2006年3月14日
3. ○栗津邦男¹, 鈴木幸子¹ (¹大阪大学), 赤外自由電子レーザーの生命科学への応用, 日本化学会第 86 春季年会シンポジウム「赤外自由電子レーザー (IR-FEL) の拓く科学の世界」, 船橋, 2006年3月28日
4. ○内藤康秀¹, 栗津邦男², 豊田岐聡², 藤井研一², 益田勝吉³ (¹光産業創成大学院大学, ²大阪大学, ³サントリー生物有機科学研究所), 質量分析カメラの開発構想, 日本質量分析学会第 54 回質量分析総合討論会, 豊中, 2006年5月19日
5. ○内藤康秀 (光産業創成大学院大学), 医療に向けた光技術と質量分析法の開発, 第 8 回分子ダイナミック分光ワークショップ, 浜松, 2006年7月6日
6. ○Y.Naito¹, H.Hazama², H.Nagao², R.Suzuki², K.Awazu², K.Masuda³, K.Fujii⁴, M.Toyoda⁵ (¹The Graduate School for the Creation of New Photonics Industries, ²Graduate School of Engineering, Osaka University, ³Suntory Institute for Bioorganic Research, ⁴Graduate School of Science, Osaka University), Towards developing a mass spectrometric camera, 第 55 回質量分析総合討論会, 広島, 2007年5月16日
7. ○内藤康秀 (光産業創成大学院大学), 超高分解能高速イメージング質量分析技術 (質量顕微鏡) 開発の状況, 第 32 回日本医用マススペクトル学会年会, 京都, 2007年9月27日

8. ○Y.Naito (The Graduate School for the Creation of New Photonics Industries), Construction of a novel stigmatic MALDI imaging mass spectrometer, The 16th International Conference on Secondary Ion Mass Spectrometry (SIMS XVI), Kanazawa, 2007 年 11 月 1 日
9. ○内藤康秀 (光産業創成大学院大学), 質量顕微鏡の将来, 第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会合同大会 (BMB2007), 横浜, 2007 年 12 月 12 日
10. ○内藤康秀^{1,6}, 間久直^{2,6}, 長尾博文^{2,6}, 鈴木れん^{2,6}, 栗津邦男^{2,6}, 益田勝吉^{3,6}, 青木順^{4,6}, 田嶋敏男⁶, 藤井研一^{5,6}, 豊田岐聡^{4,6} (¹光産業創成大学院大学, ²大阪大学大学院工学研究科, ³サントリー生物有機科学研究所, ⁴大阪大学大学院理学研究科, ⁵大阪工業大学, ⁶JST CREST), 夢の投影型イメージング質量分析計, 第 56 回質量分析総合討論会, つくば, 2008 年 5 月 14 日
11. ○青木順^{1,6}, 豊田岐聡^{1,6}, 間久直^{2,6}, 栗津邦男^{2,6}, 益田勝吉^{4,6}, 藤井研一^{5,6}, 内藤康秀^{3,6} (¹大阪大学大学院理学研究科, ²大阪大学大学院工学研究科, ³光産業創成大学院大学, ⁴サントリー生物有機科学研究所, ⁵大阪工業大学, ⁶JST CREST), 質量分析イメージングのためのイオン軌道計算による光学系の評価, 第 56 回質量分析総合討論会, つくば, 2008 年 5 月 16 日
12. ○間久直^{1,6}, 青木順^{2,6}, 長尾博文^{1,6}, 鈴木れん^{1,6}, 田嶋敏男⁶, 豊田岐聡^{2,6}, 益田勝吉^{3,6}, 藤井研一^{4,6}, 内藤康秀^{5,6}, 栗津邦男^{1,6} (¹大阪大学大学院工学研究科, ²大阪大学大学院理学研究科, ³サントリー生物有機科学研究所, ⁴大阪工業大学, ⁵光産業創成大学院大学, ⁶JST CREST), 多重周回飛行時間型質量分析計を用いた投影型質量分析顕微鏡の開発, 第 56 回質量分析総合討論会, つくば, 2008 年 5 月 16 日
13. ○Y.Naito^{1,5}, H.Hazama^{2,5}, J.Aoki^{2,5}, H.Nagao^{2,5}, R.Suzuki^{2,5}, T.Tashima⁵, K.Fujii^{3,5}, K.Masuda^{4,5}, K.Awazu^{2,5}, M.Toyoda^{2,5} (¹The Graduate School for the Creation of New Photonics Industries, ²Osaka University, ³Osaka Institute of Technology, ⁴Suntory Institute for Bioorganic Research, ⁵JST CREST), Stigmatic-mode MALDI imaging mass spectrometer using multi-turn time-of-flight ion optics: Its features and progress of development, The 10th International Symposium on SIMS and Related Techniques Based on Ion-Solid Interactions at Seikei University (SISS-10), Tokyo, 2008 年 7 月 17 日
14. ○間久直^{1,6}, 青木順^{2,6}, 長尾博文^{1,6}, 鈴木れん^{1,6}, 田嶋敏男⁶, 豊田岐聡^{2,6}, 益田勝吉^{3,6}, 藤井研一^{4,6}, 内藤康秀^{5,6}, 栗津邦男^{1,6} (¹大阪大学大学院工学研究科, ²大阪大学大学院理学研究科, ³サントリー生物有機科学研究所, ⁴大阪工業大学, ⁵光産業創成大学院大学, ⁶JST CREST), 顕微イメージング質量分析装置の開発, 第 3 回原子力関係科学技術の基礎的研究の動向調査委員会, 大阪, 2008 年 11 月 17 日
15. ○間久直^{1,6}, 青木順^{2,6}, 長尾博文^{1,6}, 鈴木れん^{1,6}, 田嶋敏男⁶, 豊田岐聡^{2,6}, 益田勝吉^{3,6}, 藤井研一^{4,6}, 内藤康秀^{5,6}, 栗津邦男^{1,6} (¹大阪大学大学院工学研究科, ²大阪大学大学院理学研究科, ³サントリー生物有機科学研究所, ⁴大阪工業大学, ⁵光産業創成大学院大学, ⁶JST CREST), 投影型顕微イメージング質量分析装置の開発, レーザー学会第 10 回医療・バイオデバイス応用レーザー専門委員会, 名古屋, 2008 年 11 月 21 日
16. ○間久直^{1,2} (¹大阪大学大学院工学研究科, ²JST CREST), 多重周回飛行時間型質量分析計を用いた投影型顕微イメージング質量分析装置の開発, 第 116 回質量分析学会関西談話会, 京都, 2009 年 2 月 7 日
17. ○青木順^{1,6}, 豊田岐聡^{1,6}, 間久直^{2,6}, 栗津邦男^{2,6}, 益田勝吉^{4,6}, 藤井研一^{5,6}, 内藤康秀^{3,6} (¹大阪大学大学院理学研究科, ²大阪大学大学院工学研究科, ³光産業創成大学院大学, ⁴サントリー生物有機科学研究所, ⁵大阪工業大学, ⁶JST CREST), 投影型イメージング質量分析におけるイオン光学系について,

第 57 回質量分析総合討論会, 大阪, 2009 年 5 月 14 日

18. ○間久直^{1,6}, 青木順^{2,6}, 長尾博文^{1,6}, 吉村英敏^{1,6}, 田嶋敏男⁶, 豊田岐聡^{2,6}, 益田勝吉^{3,6}, 藤井研一^{4,6}, 内藤康秀^{5,6}, 栗津邦男^{1,5,6} (¹大阪大学大学院工学研究科, ²大阪大学大学院理学研究科, ³サントリー生物有機科学研究所, ⁴大阪工業大学, ⁵光産業創成大学院大学, ⁶JST CREST), 投影型顕微イメージング質量分析装置の開発状況と課題, 第 57 回質量分析総合討論会, 大阪, 2009 年 5 月 14 日
19. ○内藤康秀¹, 益田勝吉² (¹光産業創成大学院大学, ²サントリー生物有機科学研究所), 膜タンパク質分析に向けた UV/FEL-MALDI 法の開発, 第 57 回質量分析総合討論会, 大阪, 2009 年 5 月 15 日
20. ○H.Hazama (Graduate School of Engineering, Osaka University), A stigmatic mass microscope using a multi-turn time-of-flight mass spectrometer, The 11th International Symposium on SIMS and Related Techniques Based on Ion-Solid Interactions at Seikei University (SISS-11), Tokyo, 2009 年 6 月 11 日
21. ○M.Toyoda (Graduate School of Science, Osaka University), Development of multi-turn time-of-flight mass spectrometers and their applications, 18th International Mass Spectrometry Conference (18th IMSC), Bremen, 2009 年 9 月 2 日
22. ○間久直¹, 栗津邦男¹ (¹大阪大学大学院工学研究科), レーザーイオン化による新しいイメージング質量分析法の開発, 大阪大学蛋白質研究所セミナー「蛋白質修飾: 新たな癌の診断・治療標的」, 吹田, 2009 年 9 月 17 日
23. ○H.Hazama^{1,6}, J.Aoki^{2,6}, H.Nagao^{1,6}, H.Yoshimura^{1,6}, Y.Naito^{3,6}, M.Toyoda^{2,6}, K.Masuda^{4,6}, K.Fujii^{5,6}, T.Tashima⁶, K.Awazu^{1,6} (¹Graduate School of Engineering, Osaka University, ²Graduate School of Science, Osaka University, ³The Graduate School for the Creation of New Photonics Industries, ⁴Suntory Institute for Bioorganic Research, ⁵Osaka Institute of Technology, ⁶JST CREST), Stigmatic mass microscopy using a multi-turn time-of-flight mass spectrometer, 7th International Symposium on Atomic Level Characterizations for New Materials and Devices '09 (ALC '09), Maui, Hawaii, 2009 年 12 月 10 日
24. ○林雅宏¹, 内藤康秀^{1,2} (¹光産業創成大学院大学, ²JST CREST), 投影型質量顕微鏡の実現に向けた飛行時間型イオンイメージング検出技術の構築, 第 58 回質量分析総合討論会, つくば, 2010 年 6 月 16 日
25. ○内藤康秀^{1,6}, 青木順^{2,6}, 豊田岐聡^{2,6}, 間久直^{3,6}, 吉村英敏^{3,6}, 長尾博文^{3,6}, 栗津邦男^{3,6}, 益田勝吉^{4,6}, 藤井研一^{5,6}, 田嶋敏男⁶ (¹光産業創成大学院大学, ²大阪大学大学院理学研究科, ³大阪大学大学院工学研究科, ⁴サントリー生物有機科学研究所, ⁵大阪工業大学, ⁶JST CREST), MALDI 投影型質量顕微鏡, 第 58 回質量分析総合討論会, つくば, 2010 年 6 月 18 日
26. ○H.Hazama^{1,7}, H.Yoshimura^{1,7}, J.Aoki^{2,7}, H.Nagao^{3,7}, Y.Naito^{4,7}, M.Toyoda^{2,7}, K.Masuda^{5,7}, K.Fujii^{6,7}, T.Tashima⁷, K.Awazu^{1,7} (¹Graduate School of Engineering, Osaka University, ²Graduate School of Science, Osaka University, ³Renovation Center of Instruments for Science Education and Technology, Osaka University, ⁴The Graduate School for the Creation of New Photonics Industries, ⁵Suntory Institute for Bioorganic Research, ⁶Osaka Institute of Technology, ⁷JST CREST), Development of a stigmatic mass microscope with laser ionization and a multi-turn time-of-flight mass spectrometer, XIV International School for Young Scientists and Students on Optics, Laser Physics & Biophotonics (SFM '10), Saratov, Russia, 2010 年 10 月 6 日
27. ○Y.Naito (The Graduate School for the Creation of New Photonics Industries), Development of a novel MALDI mass microscope using a multi-turn TOF analyzer, Korea Basic Science Institute (KBSI) MS Imaging Workshop, Ochang, Korea, 2010 年 10 月 26 日

② 口頭発表 (国内会議 13件、国際会議 5件)

1. ○内藤康秀 (光産業創成大学院大学), 新規レーザー脱離イオン化法と質量分析カメラの開発, 光エネルギー産業創成研究会, 浜松, 2006 年 1 月 16 日
2. ○佐藤出¹, 鈴木-吉橋幸子¹, 栗津邦男¹, 間久直², 高谷芳明² (¹大阪大学, ²川崎重工), 中赤外波長可変小型固体レーザーの特性と医療応用への可能性, レーザー学会学術講演会第 26 回年次大会, さいたま, 2006 年 2 月 9 日
3. ○S.Yoshihashi-Suzuki¹, S.Yamada¹, I.Sato¹, K.Awazu¹ (¹Osaka University), A novel laser angioplasty using hollow fiber-guided mid infrared laser, Biomedical Optics 2006, Photonics WEST, San Jose, CA, USA, 2006 年 1 月 21 日
4. ○鈴木-吉橋幸子¹, 佐藤出¹, 間久直¹, 栗津邦男¹ (¹大阪大学大学院工学研究科), 新規タンパク質質量分析システムの開発, 第 27 回日本レーザー医学会総会, 千葉, 2006 年 11 月 2 日
5. ○H.Hazama¹, Y.Takatani², K.Awazu¹ (¹Graduate School of Engineering, Osaka University, ²Kawasaki Heavy Industries, Ltd.), Integrated ultraviolet and tunable mid-infrared laser source for analyses of proteins, SPIE Photonics WEST LASE 2007, San Jose, CA, USA, 2007 年 1 月 23 日
6. ○青木順¹, 豊田岐聡¹, 間久直², 栗津邦男², 内藤康秀³ (¹大阪大学大学院理学研究科, ²大阪大学大学院工学研究科, ³光産業創成大学院大学), 多重周回飛行時間型質量分析計 MULTUM をベースとしたイメージング質量分析装置の開発 —シミュレーションによる検討—, 大阪大学イノベーションセミナー 2007 —アクティビティの発信—, 大阪, 2007 年 10 月 22 日
7. ○内藤康秀 (光産業創成大学院大学), 高解像度を指向した投影型イメージング質量分析計の開発, イメージング質量分析産業応用シンポジウム, 浜松, 2007 年 11 月 9 日
8. ○鈴木れん¹, 間久直¹, 長尾博文¹, 青木順², 内藤康秀³, 豊田岐聡², 益田勝吉⁴, 藤井研一⁵, 栗津邦男¹ (¹大阪大学大学院工学研究科, ²大阪大学大学院理学研究科, ³光産業創成大学院大学, ⁴サントリー生物有機科学研究所, ⁵大阪工業大学), 投影型イメージング質量分析に向けた中赤外波長可変レーザーのフラットビーム化, レーザー学会学術講演会第 28 回年次大会, 名古屋, 2008 年 1 月 31 日
9. ○青木順¹, 豊田岐聡¹, 間久直², 栗津邦男², 内藤康秀³ (¹大阪大学大学院理学研究科, ²大阪大学大学院工学研究科, ³光産業創成大学院大学), 超高分解能高速イメージング質量分析装置の開発, 日本物理学会第 63 回年次大会, 大阪, 2008 年 3 月 24 日
10. ○間久直^{1,6}, 長尾博文^{1,6}, 鈴木れん^{1,6}, 青木順^{2,6}, 豊田岐聡^{2,6}, 益田勝吉^{3,6}, 藤井研一^{4,6}, 内藤康秀^{5,6}, 栗津邦男^{1,6} (¹大阪大学大学院工学研究科, ²大阪大学大学院理学研究科, ³サントリー生物有機科学研究所, ⁴大阪工業大学, ⁵光産業創成大学院大学, ⁶JST CREST), 投影型顕微イメージング質量分析装置の開発, 第 47 回日本生体医工学大会, 神戸, 2008 年 5 月 8 日
11. ○鈴木れん^{1,6}, 間久直^{1,6}, 長尾博文^{1,6}, 内藤康秀^{2,6}, 青木順^{3,6}, 豊田岐聡^{3,6}, 藤井研一^{4,6}, 益田勝吉^{5,6}, 栗津邦男^{1,6} (¹大阪大学大学院工学研究科, ²光産業創成大学院大学, ³大阪大学大学院理学研究科, ⁴大阪工業大学, ⁵サントリー生物有機科学研究所, ⁶JST CREST), 投影型イメージング質量分析に向けたマトリックスフリーレーザー脱離イオン化法の開発, レーザー学会学術講演会第 29 回年次大会, 徳島, 2009 年 1 月 11 日
12. ○吉村英敏¹, 内藤康秀^{2,4}, 青木順^{3,4}, 間久直^{1,4}, 豊田岐聡^{3,4}, 栗津邦男^{1,4} (¹大阪大学大学院工学研究科, ²光産業創成大学院大学, ³大阪大学大学院理学研究科, ⁴JST CREST), 投影型イメージング質量分析に向けた位置・時間感知型イオン検出器の開発, 第 56 回応用物理学関係連合講演会, つくば, 2009

年 4 月 1 日

13. ○H.Hazama^{1,4}, H.Yoshimura¹, J.Aoki^{2,4}, M.Toyoda^{2,4}, Y.Naito^{3,4}, K.Awazu^{1,3,4}
(¹Graduate School of Engineering, Osaka University, ²Graduate School of Science, Osaka University, ³The Graduate School for the Creation of New Photonics Industries, ⁴JST CREST), Development of a position and time sensitive ion detector for stigmatic imaging mass spectrometry, The 4th Asian and Pacific Rim Symposium on Biophotonics (APBP 2009), Jeju, Korea, 2009 年 5 月 28 日
14. ○K.Awazu¹, H.Nagao¹, H.Yoshimura¹, H.Hazama¹, J.Aoki², M.Toyoda², K.Masuda³, K.Fujii⁴, T.Tashima⁵, Y.Naito⁶ (¹Graduate School of Engineering, Osaka University, ²Graduate School of Science, Osaka University, ³Suntory Institute for Bioorganic Research, ⁴Osaka Institute of Technology, ⁵JST CREST, ⁶The Graduate School for the Creation of New Photonics Industries), Stigmatic and microscopic imaging mass spectrometry using a multi-turn time-of-flight mass spectrometer, International Symposium on Optical Engineering and Photonic Technology (OEPT 2009), Orlando, FL, 2009 年 7 月 12 日
15. ○H.Hazama^{1,6}, J.Aoki^{2,6}, H.Nagao^{1,6}, H.Yoshimura^{1,6}, Y.Naito^{3,6}, M.Toyoda^{2,6}, K.Masuda^{4,6}, K.Fujii^{5,6}, T.Tashima⁶, K.Awazu^{1,3,6} (¹Graduate School of Engineering, Osaka University, ²Graduate School of Science, Osaka University, ³The Graduate School for the Creation of New Photonics Industries, ⁴Suntory Institute for Bioorganic Research, ⁵Osaka Institute of Technology, ⁶JST CREST), Stigmatic imaging mass spectrometry using a multi-turn time-of-flight mass spectrometer, The 8th Pacific Rim Conference on Lasers and Electro-Optics (CLEO/Pacific Rim 2009), Shanghai, 2009 年 9 月 1 日
16. ○吉村英敏^{1,7}, 間久直^{1,7}, 益田勝吉^{2,7}, 青木順^{3,7}, 長尾博文^{1,6}, 田嶋敏男⁷, 藤井研一^{4,7}, 豊田岐聡^{3,7}, 内藤康秀^{5,7}, 栗津邦男^{1,6,7} (¹大阪大学大学院工学研究科, ²サントリー生物有機科学研究所, ³大阪大学大学院理学研究科, ⁴大阪工業大学, ⁵光産業創成大学院大学, ⁶福井大学国際原子力工学研究所, ⁷JST CREST), 投影型イメージング質量分析による色素染色組織の観察, レーザー学会学術講演会第 30 回年次大会, 豊中, 2010 年 2 月 2 日
17. ○吉村英敏^{1,7}, 間久直^{1,7}, 益田勝吉^{2,7}, 青木順^{3,7}, 長尾博文^{1,6}, 田嶋敏男⁷, 藤井研一^{4,7}, 豊田岐聡^{3,7}, 内藤康秀^{5,7}, 栗津邦男^{1,6,7} (¹大阪大学大学院工学研究科, ²サントリー生物有機科学研究所, ³大阪大学大学院理学研究科, ⁴大阪工業大学, ⁵光産業創成大学院大学, ⁶福井大学国際原子力工学研究所, ⁷JST CREST), 生体組織内分子のイメージングに向けたレーザーイオン化質量顕微鏡の開発, 電気学会光・量子デバイス研究会, 豊中, 2010 年 3 月 24 日
18. 間久直^{1,7}, 吉村英敏^{1,7}, 青木順^{2,7}, 長尾博文^{3,7}, 田嶋敏男⁷, 藤井研一^{4,7}, 益田勝吉^{5,7}, 豊田岐聡^{2,3,7}, 内藤康秀^{6,7}, 栗津邦男^{1,7} (¹大阪大学大学院工学研究科, ²大阪大学大学院理学研究科, ³大阪大学科学教育機器リノベーションセンター, ⁴大阪工業大学情報科学部, ⁵サントリー生物有機科学研究所, ⁶光産業創成大学院大学, ⁷JST CREST), “生体内分子の観察に向けたレーザーイオン化イメージング質量分析装置の開発,” 電気学会 光・量子デバイス研究会資料 (バイオメディカルフォトンクス応用), 東北大学 東京分室, 東京都千代田区, 2011 年 3 月 7 日.

③ ポスター発表 (国内会議 13件、国際会議 15 件)

1. ○益田勝吉¹, 内藤康秀², 平木研司¹, 栗津邦男³ (¹サントリー生物有機科学研究所, ²光産業創成大学院大学, ³大阪大学), UV/FEL-MALDI を用いた膜タンパク質の質量分析, 第 54 回質量分析総合討論会, 豊中, 2006 年 5 月 18 日
2. ○鈴木幸子¹, 佐藤出¹, 栗津邦男¹ (¹大阪大学大学院工学研究科), 波長可変小型固体レーザーを用いた MALDI-TOF 質量分析装置の開発, 第 54 回質量分析総合討論会, 豊中, 2006 年 5 月 19 日

3. ○S.Yoshihashi-Suzuki¹, I.Sato¹, H.Hazama¹, Y.Takatani², K.Awazu¹ (¹Graduate School of Engineering, Osaka University, ²Kawasaki Heavy Industries, Ltd.), Development of IR-MALDI TOFMS using a mid-infrared DFG laser, 54th ASMS Conference on Mass Spectrometry, Seattle, WA, USA, 2006 年 6 月 1 日
4. ○鈴木幸子¹, 佐藤出¹, 間久直¹, 栗津邦男¹ (¹大阪大学大学院工学研究科), 赤外 DFG レーザーによる新規質量分析法, 第 8 回分子ダイナミック分光ワークショップ, 浜松, 2006 年 7 月 6 日
5. ○益田勝吉¹, 塚本恵美¹, 豊田岐聡², 藤井研一², 栗津邦男², 内藤康秀³ (¹サントリー生物有機科学研究所, ²大阪大学, ³光産業創成大学院大学), 生体試料を対象としたイメージング質量分析の開発にむけて, 文科省科研費特定領域研究班会議, 仙台, 2006 年 9 月 28 日
6. ○間久直¹, 内藤康秀², 部谷学², 豊田岐聡³, 藤井研一³, 益田勝吉⁴, 長尾博文¹, 鈴木れん¹, 栗津邦男¹ (¹大阪大学大学院工学研究科, ²光産業創成大学院大学, ³大阪大学大学院理学研究科, ⁴サントリー生物有機科学研究所), タンパク質分布解析に向けた高空間分解イメージング質量分析装置の開発, 第 46 回日本生体医工学会大会, 仙台, 2007 年 3 月 27 日
7. ○鈴木れん¹, 間久直¹, 長尾博文¹, 内藤康秀², 豊田岐聡³, 藤井研一³, 益田勝吉⁴, 栗津邦男¹ (¹大阪大学大学院工学研究科, ²光産業創成大学院大学, ³大阪大学大学院理学研究科, ⁴サントリー生物有機科学研究所), IR および UV-MALDI 法を用いた多重周回飛行時間型質量分析計における質量スペクトルの周回数依存性, 第 55 回質量分析総合討論会, 広島, 2007 年 5 月 15 日
8. 豊田岐聡¹, ○西口克¹ (¹大阪大学大学院理学研究科), マルチターン飛行時間型質量分析計のイオン像のシミュレーション, 第 55 回質量分析総合討論会, 広島, 2007 年 5 月 16 日
9. ○Y.Naito¹, M.Heya¹, H.Nagao², K.Masuda³, H.Hazama², R.Suzuki², K.Awazu², K.Fujii², M.Toyoda⁴ (¹The Graduate School for the Creation of New Photonics Industries, ²Graduate School of Engineering, Osaka University, ³Suntory Institute for Bioorganic Research, ⁴Graduate School of Science, Osaka University), Building a Novel Imaging Mass Spectrometer Based on a Multi-turn TOF Geometry, The 55th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Indianapolis, 2007 年 6 月 4 日
10. ○H.Hazama¹, Y.Naito², K.Fujii³, M.Toyoda³, K.Masuda⁴, H.Nagao¹, R.Suzuki¹, K.Awazu¹ (¹Graduate School of Engineering, Osaka University, ²The Graduate School for the Creation of New Photonics Industries, ³Graduate School of Science, Osaka University, ⁴Suntory Institute for Bioorganic Research), Lifetimes of biomolecule ions depending on MALDI matrices measured by a multi-turn time-of-flight mass spectrometer, MULTUM II, The 55th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Indianapolis, 2007 年 6 月 4 日
11. ○鈴木れん^{1,6}, 間久直^{1,6}, 長尾博文^{1,6}, 内藤康秀^{2,6}, 青木順^{3,6}, 豊田岐聡^{3,6}, 藤井研一^{4,6}, 益田勝吉^{5,6}, 栗津邦男^{1,6} (¹大阪大学大学院工学研究科, ²光産業創成大学院大学, ³大阪大学大学院理学研究科, ⁴大阪工業大学, ⁵サントリー生物有機科学研究所, ⁶JST CREST), 超高分解能高速イメージング質量分析技術の評価に向けたポリメタクリル酸メチルのレーザー脱離イオン化, 第 56 回質量分析総合討論会, つくば, 2008 年 5 月 16 日
12. ○H.Hazama^{1,6}, J.Aoki^{2,6}, H.Nagao^{1,6}, R.Suzuki^{1,6}, Y.Naito^{3,6}, M.Toyoda^{2,6}, K.Masuda^{4,6}, K.Fujii^{5,6}, T.Tashima⁶, K.Awazu^{1,6} (¹Graduate School of Engineering, Osaka University, ²Graduate School of Science, Osaka University, ³The Graduate School for the Creation of New Photonics Industries, ⁴Suntory Institute for Bioorganic Research, ⁵Osaka Institute of Technology, ⁶JST CREST), Development of a stigmatic mass microscope using a multi-turn time-of-flight mass spectrometer, MULTUM-IMG, The 56th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied

- Topics, Denver, 2008 年 6 月 4 日
13. ○J.Aoki^{1,3}, M.Toyoda^{1,3}, H.Hazama^{1,3}, K.Awazu^{1,3}, Y.Naito^{2,3} (¹Osaka University, ²The Graduate School for the Creation of New Photonics Industries, ³JST CREST), Ion trajectory simulation of multi-turn TOF using surface charge method accelerated by a special purpose computer, The 56th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Denver, 2008 年 6 月 4 日
 14. ○青木順^{1,2} (¹大阪大学大学院理学研究科, ²JST CREST), 表面電荷法を用いた高速なイオン軌道計算法の開発, 「プラズマ科学のフロンティア 2008」研究会, 土岐, 2008 年 8 月 6 日
 15. ○田嶋敏男⁶, 豊田岐聡^{1,6}, 間久直^{2,6}, 藤井研一^{3,6}, 青木順^{1,6}, 益田勝吉^{5,6}, 栗津邦男^{2,6}, 内藤康秀^{4,6} (¹大阪大学大学院理学研究科, ³大阪大学大学院工学研究科, ³大阪工業大学情報科学部, ⁴光産業創成大学院大学, ⁵サントリー生物有機科学研究所, ⁶JST CREST), 投影型質量分析顕微鏡の空間分解能評価に用いる微小ドットパターンの作製方法, 第 57 回質量分析総合討論会, 大阪, 2009 年 5 月 13 日
 16. ○吉村英敏¹, 内藤康秀^{2,4}, 青木順^{3,4}, 間久直^{1,4}, 豊田岐聡^{3,4}, 栗津邦男^{1,4} (¹大阪大学大学院工学研究科, ²光産業創成大学院大学, ³大阪大学大学院理学研究科, ⁴JST CREST), 投影型イメージング質量分析に向けた位置・時間感知型イオン検出システムの開発, 第 57 回質量分析総合討論会, 大阪, 2009 年 5 月 13 日
 17. ○M.Hayashi^{1,2}, Y.Naito^{1,3} (¹The Graduate School for the Creation of New Photonics Industries, ²Hamamatsu Photonics K.K., ³JST CREST), Development of a prototype mass spectrometer for MS imaging using a high spatial/temporal resolution ion detector, The 57th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Philadelphia, 2009 年 6 月 2 日
 18. ○H.Hazama^{1,6}, J.Aoki^{2,6}, H.Nagao^{1,6}, R.Suzuki^{1,6}, H.Yoshimura^{1,6}, Y.Naito^{3,6}, M.Toyoda^{2,6}, K.Masuda^{4,6}, K.Fujii^{5,6}, T.Tashima⁶, K.Awazu^{1,6} (¹Graduate School of Engineering, Osaka University, ²Graduate School of Science, Osaka University, ³The Graduate School for the Creation of New Photonics Industries, ⁴Suntory Institute for Bioorganic Research, ⁵Osaka Institute of Technology, ⁶JST CREST), A stigmatic mass microscope with a high mass resolving power using a multi-turn time-of-flight mass spectrometer, The 57th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Philadelphia, 2009 年 6 月 4 日
 19. ○J.Aoki^{1,6}, H.Hazama^{2,6}, M.Toyoda^{1,6}, K.Awazu^{2,6}, K.Masuda^{3,6}, K.Fujii^{4,6}, T.Tashima⁶, Y.Naito^{5,6} (¹Graduate School of Science, Osaka University, ²Graduate School of Engineering, Osaka University, ³Suntory Institute for Bioorganic Research, ⁴Osaka Institute of Technology, ⁵The Graduate School for the Creation of New Photonics Industries, ⁶JST CREST), Determination of the stability phase space of multi-turn TOF using for imaging mass spectrometry, The 57th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Philadelphia, 2009 年 6 月 4 日
 20. ○J.Aoki^{1,6}, H.Hazama^{2,6}, M.Toyoda^{1,6}, K.Awazu^{2,6}, K.Masuda^{3,6}, K.Fujii^{4,6}, Y.Naito^{5,6} (¹Graduate School of Science, Osaka University, ²Graduate School of Engineering, Osaka University, ³Suntory Institute for Bioorganic Research, ⁴Osaka Institute of Technology, ⁵The Graduate School for the Creation of New Photonics Industries, ⁶JST CREST), Construction of a stigmatic imaging mass spectrometer with ion optical system using a multi-turn time-of-flight mass spectrometer, 18th International Mass Spectrometry Conference (18th IMSC), Bremen, 2009 年 8 月 31 日
 21. ○H.Hazama^{1,6}, H.Yoshimura^{1,6}, J.Aoki^{2,6}, H.Nagao^{1,6}, Y.Naito^{3,6}, M.Toyoda^{2,6}, K.Masuda^{4,6}, K.Fujii^{5,6}, T.Tashima⁶, K.Awazu^{1,6} (¹Graduate School of Engineering, Osaka University, ²Graduate School of Science, Osaka University, ³The Graduate School for the Creation of New Photonics Industries, ⁴Suntory Institute for Bioorganic Research, ⁵Osaka Institute of Technology, ⁶JST CREST), Observation of

tissue sections stained with dyes using a stigmatic imaging mass spectrometer, The 58th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Salt Lake City, 2010 年 5 月 24 日

22. ○H.Yoshimura^{1,4}, H.Hazama^{1,4}, J.Aoki^{2,4}, M.Toyoda^{2,4}, Y.Naito^{3,4}, K.Awazu^{1,4} (¹Graduate School of Engineering, Osaka University, ²Graduate School of Science, Osaka University, ³The Graduate School for the Creation of New Photonics Industries, ⁴JST CREST), Development of a fast position- and time-sensitive ion detector for stigmatic mass microscopy, The 58th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Salt Lake City, 2010 年 5 月 24 日
23. ○M.Hayashi^{1,2}, Y.Naito^{1,3} (¹The Graduate School for the Creation of New Photonics Industries, ²Hamamatsu Photonics K.K., ³JST CREST), Constructing a practical mass microscope enabling sub-cellular scale image measurements, The 58th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Salt Lake City, 2010 年 5 月 24 日
24. ○J.Aoki^{1,6}, H.Hazama^{2,6}, M.Toyoda^{1,6}, K.Awazu^{2,6}, K.Masuda^{4,6}, K.Fujii^{5,6}, Y.Naito^{3,6} (¹Graduate School of Science, Osaka University, ²Graduate School of Engineering, Osaka University, ³The Graduate School for the Creation of New Photonics Industries, ⁴Suntory Institute for Bioorganic Research, ⁵Osaka Institute of Technology, ⁶JST CREST), Development of a stigmatic mass microscope with high mass and spatial resolving power using a multi-turn time-of-flight mass spectrometer, The 58th ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Salt Lake City, 2010 年 5 月 25 日
25. ○K.Awazu^{1,7}, H.Hazama^{1,7}, H.Yoshimura^{1,7}, J.Aoki^{2,7}, H.Nagao^{3,7}, M.Toyoda^{2,7}, K.Masuda^{4,7}, K.Fujii^{5,7}, T.Tashima⁷, Y.Naito^{6,7} (¹Graduate School of Engineering, Osaka University, ²Graduate School of Science, Osaka University, ³Renovation Center of Instruments for Science Education and Technology, Osaka University, ⁴Suntory Institute for Bioorganic Research, ⁵Osaka Institute of Technology, ⁶The Graduate School for the Creation of New Photonics Industries, ⁷JST CREST), Development of a novel stigmatic imaging mass spectrometer using laser ionization and a multi-turn time-of-flight mass spectrometer, XII International Conference on Laser Applications in Life Sciences 2010 (LALS-2010), Oulu, Finland, 2010 年 6 月 9 日
26. ○吉村英敏^{1,8}, 間久直^{1,8}, 長尾博文^{2,8}, 青木順^{3,8}, 益田勝吉^{4,8}, 田嶋敏男⁸, 藤井研一^{5,8}, 豊田岐聡^{3,8}, 内藤康秀^{6,8}, 栗津邦男^{1,7,8} (¹大阪大学大学院工学研究科, ²大阪大学リノベーションセンター, ³大阪大学大学院理学研究科, ⁴サントリー生物有機科学研究所, ⁵大阪工業大学, ⁶光産業創成大学院大学, ⁷福井大学国際原子力工学研究所, ⁸JST CREST), 投影型イメージング質量分析装置を用いた生体組織の観察, 第 58 回質量分析総合討論会, つくば, 2010 年 6 月 18 日
27. ○青木順^{1,6}, 豊田岐聡^{1,6}, 間久直^{2,6}, 栗津邦男^{2,6}, 益田勝吉^{4,6}, 藤井研一^{5,6}, 内藤康秀^{3,6} (¹大阪大学大学院理学研究科, ²大阪大学大学院工学研究科, ³光産業創成大学院大学, ⁴サントリー生物有機科学研究所, ⁵大阪工業大学, ⁶JST CREST), 投影型イメージング質量分析装置の開発, 第 58 回質量分析総合討論会, つくば, 2010 年 6 月 18 日
28. K. Awazu^{1,7,8,9}, H. Hazama^{1,9}, H. Nagao^{2,9}, H. Yoshimura^{1,9}, J. Aoki^{3,9}, K. Fujii^{4,9}, K. Masuda^{5,9}, T. Tashima⁹, M. Toyoda^{2,3,9}, and Y. Naito^{4,9} (¹Graduate School of Engineering, Osaka University, ²Renovation Center of Instruments for Science Education and Technology, Osaka University, ³Graduate School of Science, Osaka University, ⁴The Graduate School for the Creation of New Photonics Industries, ⁵Osaka Institute of Technology, ⁶Suntory Institute for Bioorganic Research, ⁷Research Institute of Nuclear Engineering, University of Fukui,

⁸Institute for Chemical Research, Kyoto University ⁹JST CREST), “Development of a stigmatic imaging mass spectrometer using laser desorption/ionization,” SPIE Photonics West BiOS 2011, The Moscone Center, San Francisco, CA, USA, 2011 年 1 月 23 日.

(4)知財出願

国内出願 (2件)

1. 発明の名称：イメージング質量分析装置
発明者：豊田岐聡、石原盛男、栗津邦男、藤井研一、内藤康秀
出願人：国立大学法人大阪大学、学校法人光産業創成大学院大学
出願日：平成 17 年 11 月 30 日
出願番号：特願 2 0 0 5－3 4 6 8 7 2
2. 発明の名称：イオン源、質量分析装置、制御装置、制御方法、制御プログラムおよび記録媒体
発明者：青木順、間久直
出願人：国立大学法人大阪大学
出願日：平成 21 年 4 月 17 日
出願番号：特願 2 0 0 9－1 0 0 6 8 6

(5)受賞・報道等

①受賞

1. 内藤康秀(光産業創成大学院大学), 2007 年度日本質量分析学会誌賞, 「生体試料を対象にした質量顕微鏡」, 日本質量分析学会, 2007 年 5 月 15 日
2. 吉村英敏(大阪大学), 「生体組織内分子のイメージングに向けたレーザーイオン化顕微質量分析技術の開発」, 大阪大学工業会賞受賞, 2011 年 3 月 15 日

②その他

1. 内藤康秀 (光産業創成大学院大学), イノベーション・ジャパン 2006 —大学見本市, 展示／新技術説明会, 「質量分析カメラ」, 東京, 2006 年 9 月 15 日
2. 内藤康秀 (光産業創成大学院大学), イノベーション・ジャパン 2008 —大学見本市, 展示, 「質量顕微鏡」, 東京, 2008 年 9 月 16 日
3. 内藤康秀^{1,2} (¹光産業創成大学院大学, ²JST CREST), 有機・生体材料を対象にしたイメージング質量分析の現状と展望, 経産省基準認証研究開発事業プロジェクト「有機薄膜の高精度組成分析のための標準化」TOF-SIMS 標準化検討委員会, 東京, 2009 年 6 月 19 日

(6)成果展開事例

社会還元的な展開活動

マルチターン飛行時間型質量分析計のウェブサイト <http://multum.jp> において、装置概要や研究成果を一般に公開している。

§ 6 研究期間中の主なワークショップ、シンポジウム、アウトリーチ等の活動

年月日	名称	場所	参加人数	概要
2007 年 5 月 18 日	イメージング質量分析ワークショップ	大阪大学待 兼山会館	35	研究会(講師 4 名, 外国人 含)
2009 年 4 月 25 日	CREST 田中領域ワーク ショップ(非公開)	コクヨホー ル(品川)		口頭発表・ポスター発表
2009 年 9 月 2 日	分析展 CREST シンポジ ウム	幕張メッセ		口頭発表・ポスター発表
2010 年 3 月 11 日	「物質現象」第一回公開 シンポジウム	都市センタ ーホテル		ポスター発表
2011 年 3 月 9 日	「物質現象」第二回公開 シンポジウム	コクヨホー ル(品川)		口頭発表・ポスター発表

§ 7 結び

本研究は投影型イメージング質量分析で高質量分解能を達成するため、完全収束を満足するイオン光学系を有するマルチターン飛行時間型質量分析計(MULTUM)を利用した。MULTUM は本プロジェクト開始までに、超高分解能を達成できる質量分析計としての実績は十分にあった。しかしながら、実際に投影型イメージング質量分析計として用いるためには、周回部の像の保持の実証や、サンプルの位置情報を保持したままのイオン引き出し法の開発や、歪みのない像の拡大など、克服しなければならないチャレンジングな課題が多々あった。本研究では、これらの課題をひとつずつ解決することで、最終的に周回後に歪みのないイメージング質量分析像を得ることができるようになった。

開発した装置性能の世界的位置付けを図 7-1 に示す。投影型であるため、従来の MALDI 走査型イメージング質量分析計に比べて空間分解能と測定時間で約1桁優れている。本研究以外でレーザー脱離イオンに対して投影型イメージング質量分析を実現した例は、オランダの FOM-AMOLF だけであり、これと比較して報告されている空間分解能よりも優れ、質量分解能は卓越している。

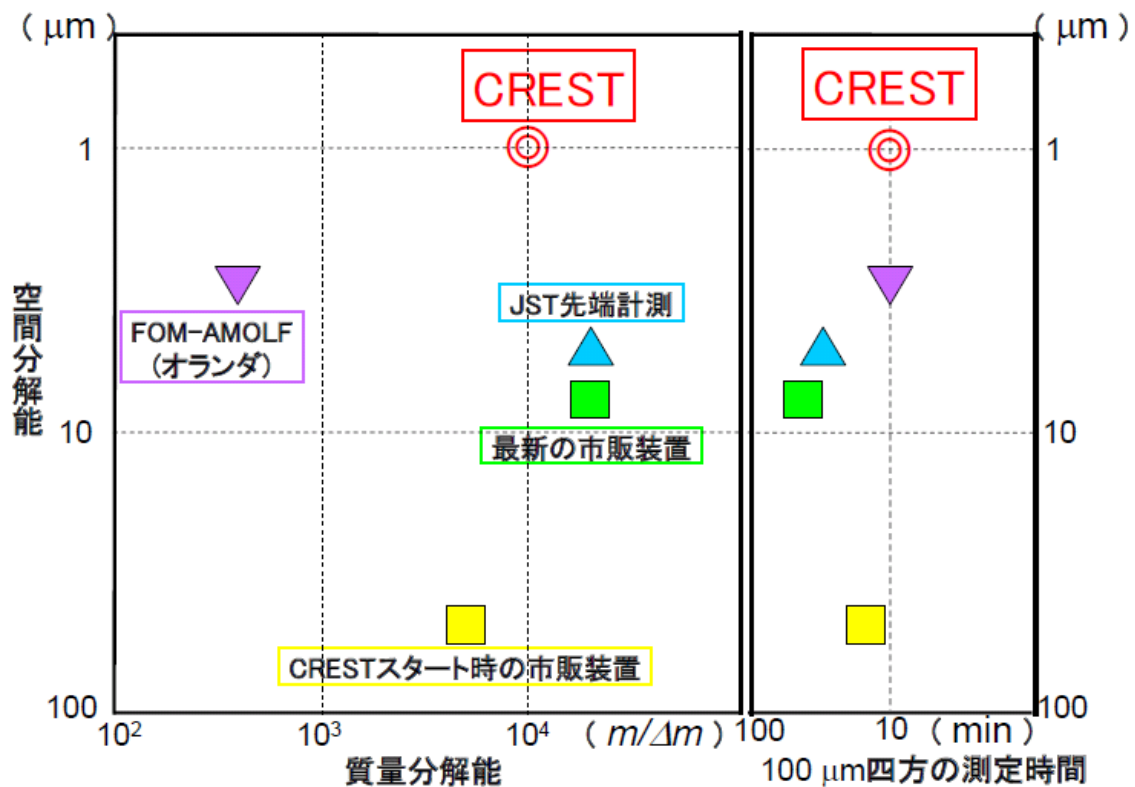


図 7-1. 開発した装置のベンチマーク

本研究のスタート後、イメージング質量分析の普及に伴い、市販装置を含めた従来の走査型イメージング質量分析計の性能も著しく向上し、走査型と投影型の間に空間分解能の顕著な差異はなくなりつつある。しかし、仮に同じ空間分解能で測定した場合であっても、投影型は測定時間で走査型よりも常に有利であり、空間分解能が高くなれば投影型の測定時間の優位性は一層高まる。また、走査型では測定時の膨大なデータサイズも高解像度イメージング実現の障壁になっているが、本研究はデータサイズの問題に対して信号処理技術の開発と併せて投影型により解決を与えている。したがって、投影型で最新の投影型に匹敵する高質量分解能を得る技術を構築したことは、測定スループットを重視するバイオイメージングでの実用上大きな意義があると考えている。