

「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」
平成17年度採択研究代表者

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

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

1. 研究実施の概要

H19年度は投影型イメージング質量分析を原理実証するための脱離イオン群のイメージ検出を実施し、リニアモードでは光学的観察像に対応するイオン像を確認できたが、周回後のイオン像の歪みは著しく、製作した多重周回飛行時間型イオン光学系(MULTUM)に期待した完全収束性の動作を実現できなかった。そこで H20年度は**周回後のイオン像の保持**を最重点課題とした。MULTUM周回後のイオン像の歪みの原因について理論と実験の両面から解析し、イオン源から MULTUM への入射角度ずれの影響および軸外でのイオン光学的挙動を把握した。各イオン光学エレメントの位置ずれを電極電圧の調整で補うことにより、10周回後のイオン像の保持が確認できた。このときに達成された**位置分解能は $7.6 \pm 1.0 \mu\text{m}$** と推定された。また、脱離イオン群の時間分散によって質量分解能が低下していたため、**イオン像を保持できる質量分解能の改善**の方法を検討した。脱離イオンに対する新しい時間収束の方式(引き出し後差動加速)を考案し、10周回後のイオン像の取得と同時に記録した TOF スペクトルにおいて、**質量分解能 14000**の達成が確認された。位置分解能を改善するため拡大率 100 倍の拡大イオン光学系を製作したが、パーツ間の位置ずれを電氣的調整によって補正することは十分にはできなかったため、目標の性能は得られなかった。周回後のイオン像の歪みの主な原因はイオン源から MULTUM への入射角度のずれであると判明しているため、組み上げ段階でのアラインメントの精度を改善するとともに電極位置ずれを機械的に調整できるように再設計した 2 号機の製作に着手している。位置・時間同時検出可能なディレイライン検出器による脱離イオン群撮像をリニアモードで検証し、検出器自体の位置分解能、約 $50 \mu\text{m}$ を確認した。イオン像の高速度連続撮像を実現するため、ディレイライン検出器の信号読み出しをアナログ/デジタル変換器(ADC)で処理する**位置・時間同時検出系**の構築と評価を進めている。また、検出器の位置分解能 $10 \mu\text{m}$ を目標とした独自のディレイライン検出器を開発中である。これらを製作中の 2 号機と統合することで、投影型イメージング質量分析計の完全な動作が実現する見通しである。

2. 研究実施内容(文中にある参照番号は 4.(1)に対応する)

2-1. 周回後のイオン像の保持

周回後のイオン像を観測するためには、精密な実験条件の制御が必要である。そのためには装置内のイオン軌道の特性を精密に把握しなければならない。MULTUM の光学系の解析については、これまで近軸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とが明らかになった。このため、近軸近似ではなく装置形状を精密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。新しい手法を用いて MULTUM 内でのイオン軌道の特性を検討した結果、標準軌道近傍の近軸近似が成り立つ領域では従来の計算と一致する特性が得られ、さらに標準軌道から離れた領域では安定周回可能な限界領域が明らかになった(図1)。イオン軌道シミュレーションから求められる中心軸からの許容範囲は相空間における位置として表示すると 0.6mm である。明瞭なイオン像を取得するためには、この安定周回可能な条件を満たすようにイオン源から MULTUM へイオンを入射しなければならない。

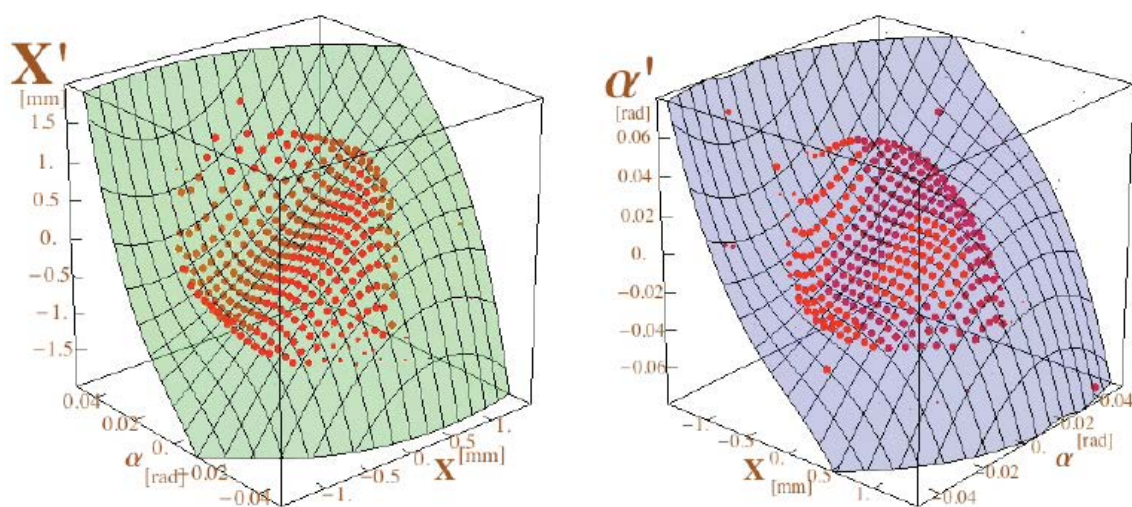


図1. MULTUM の1周回後の位置と角度の変換関数(左側が位置変換関数、右側が角度変換関数)。Xと α はそれぞれ入射時の位置と角度(中心軸からの変位)、X'と α' は周回後の位置と角度である。曲面は近軸近似による解析解をプロットしたもので、赤いドットは装置形状を3次元で精密に再現するように新しく開発したイオン軌道シミュレーションによる結果を示している。中心部の平坦な斜面部分($X=-X'$ と $\alpha=-\alpha'$)では、1周回後にイオン軌道が元の位置と角度を保持可能であり、安定周回条件となる。新しいイオン軌道シミュレーションの結果から、安定周回条件は近軸近似計算での結果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。

実験により、工作精度による微細なパーツ位置ずれを電圧調整で吸収できると考えられる結果が観測された。実験における補正の大きさを反映したシミュレーション解析から、周回後のイオン

像の歪みの主な原因はイオン源から MULTUM への入射角度のずれであると判明した(図2)。

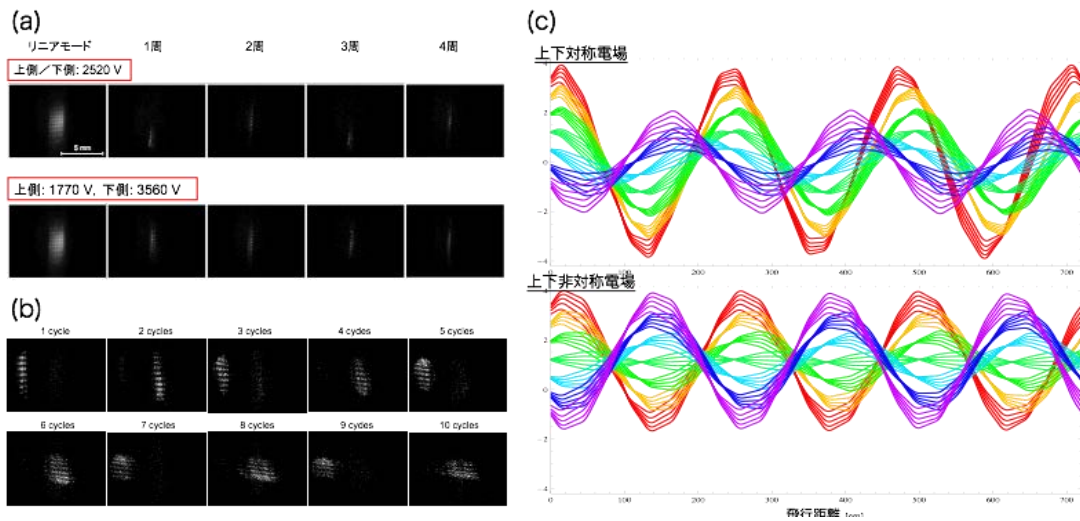


図2. アラインメントのずれを示唆する実験結果とシミュレーション解析結果。(a)縦方向、及び(b)横方向のアラインメントずれを示唆する実験結果。(c)縦方向についての実験結果を再現するシミュレーションによるイオン軌道図。

色素ドットパターン(直径約 $20 \mu\text{m}$ 、ドット間隔約 $20 \mu\text{m}$)から単一のレーザー照射スポット(直径約 $200 \mu\text{m}$)によりイオン像を生成し、調整を試みた結果、10周後のイオン像の保持を確認できた。このときの位置分解能は $7.6 \pm 1.0 \mu\text{m}$ と推定された(図3)。

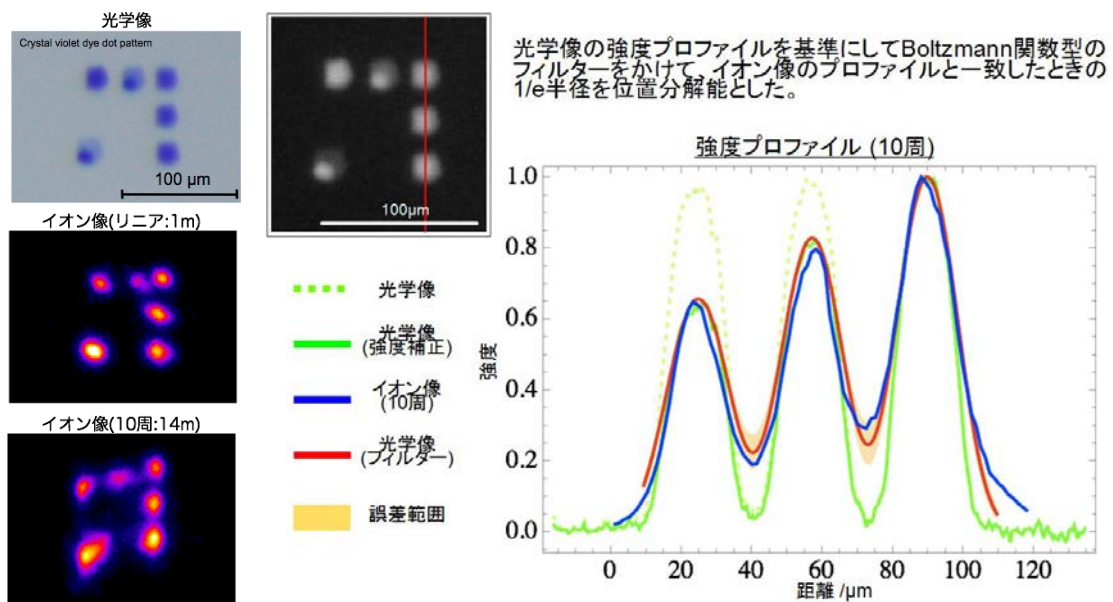


図3. 色素ドットパターンのイオン像と10周回後の位置分解能の導出。左側の3つの像はいずれも実験結果。イオン像は右肩上がりの歪みを補正している。赤いラインに沿って強度プロファイルのプロットし、これにドットパターン上の同じラインに沿った光学像の強度プロファイルのプロットを重ね合わせて、Boltzmann フィルター関数をかけた光学像とイオン像の強度プロファイルが一致したときのフィルター関数の $1/e$ 値を位置分解能として導出している。

イオン源からMULTUMへの入射角度のずれを根本的に解決するため、組み上げ段階でのアライメントの精度を改善し、かつ、電極位置ずれを機械的に調整できるように装置を再設計した。イオン源、MULTUM、拡大光学系を含む装置全体を1枚のベースプレート上に配置し、さらに各部品を位置決めしやすいブロック形状にするとともに、位置決め治具でアライメント精度を高める設計を考案した。これによりアライメントに関わる電極位置精度を $\pm 20 \mu\text{m}$ 程度にできると推定される。また、真空用モーター駆動微動ステージを取り入れて、引き出し電極のピンホール位置を 50 nm の精度で調整できるように設計した。この再設計に基づく2号機製作に着手している。

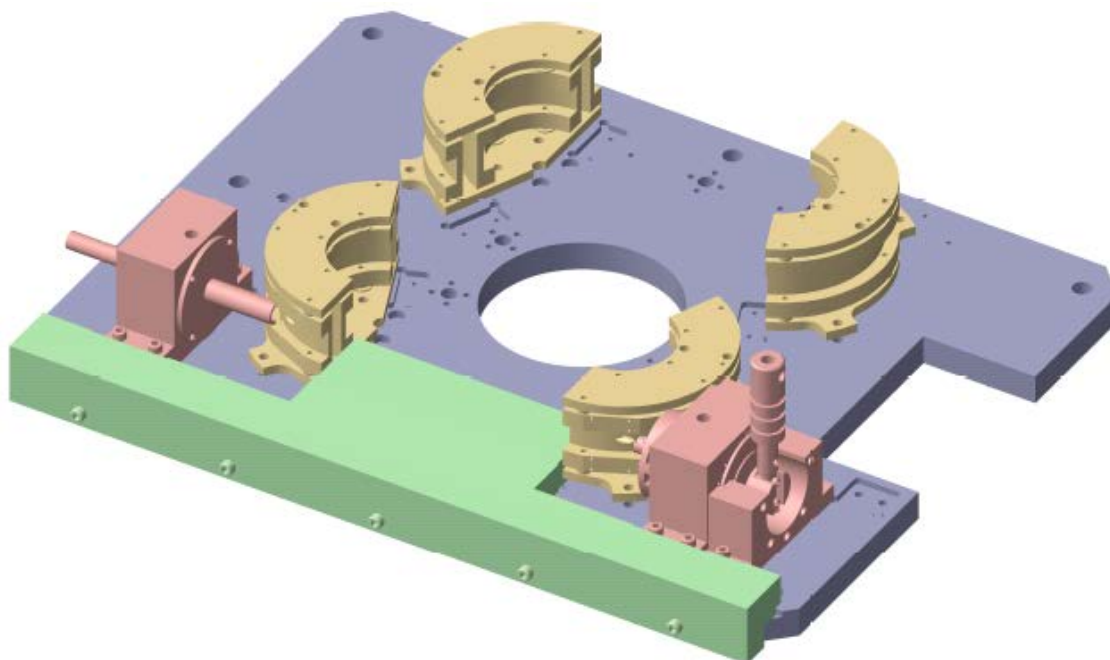


図4. 再設計した装置のベースプレート組み立て見取り図。手前右側がイオン源、左側が拡大光学系。ベースプレート手前の面に位置決め治具を装着した状態を表示している。

2-2. イオン像の質量分解能の改善

イオン像を保持しながら時間収束できる新しい脱離イオン引き出し方法を考案した。TOF-MSで時間収束のため行われる通常の方法(遅延引き出し)では、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5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ステップ状に下げてイオン引き出し用の電位勾配を発生させる(図5左から2番目の状態)。このとき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って初速度の分散が相殺され、その結果として時間収束を得るが、初速度に分散角があるため自由飛行中にイオン像を保持するのが難しく、像が消失するのが図からわかる。新しい方法(引き出し後差動加速)ではイオン生成時にもサンプルプレートと引き出し電極間に電位差を与えてイオンを直線的に引き出し、イオン像がより良く保たれるようにした(図5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1枚目のアインツェル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5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って初速度の分散が相殺され、その結果時間収束が得られるとともに、イオン像も保持され易くなる。リニアモードでイオン像の取得と同時に記録した TOF スペクトルにおいて、新しい方法を用いた場合に質量分解能 $m/\Delta m = 1200$ (質量 408 の試料) が確認された。また、MULTUM では10周回後で質量分解能 $m/\Delta m = 14000$ が確認した。ただし、10周回後の TOF スペクトルと同時に取得したイオン像は、これまでと同様に歪んでいる (図6)。

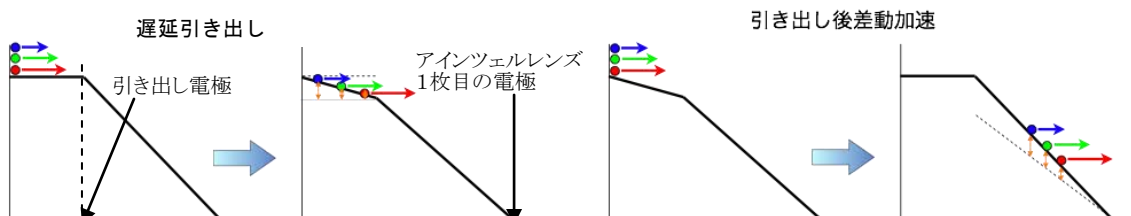


図5. 従来の時間収束法(遅延引き出し)と新しい時間収束法(引き出し後差動加速)。初速度の異なるイオンの挙動を色違いの点で模式的に示している。グラフの縦軸は電位、横軸は飛行軸方向の位置(左端はサンプルプレート)。

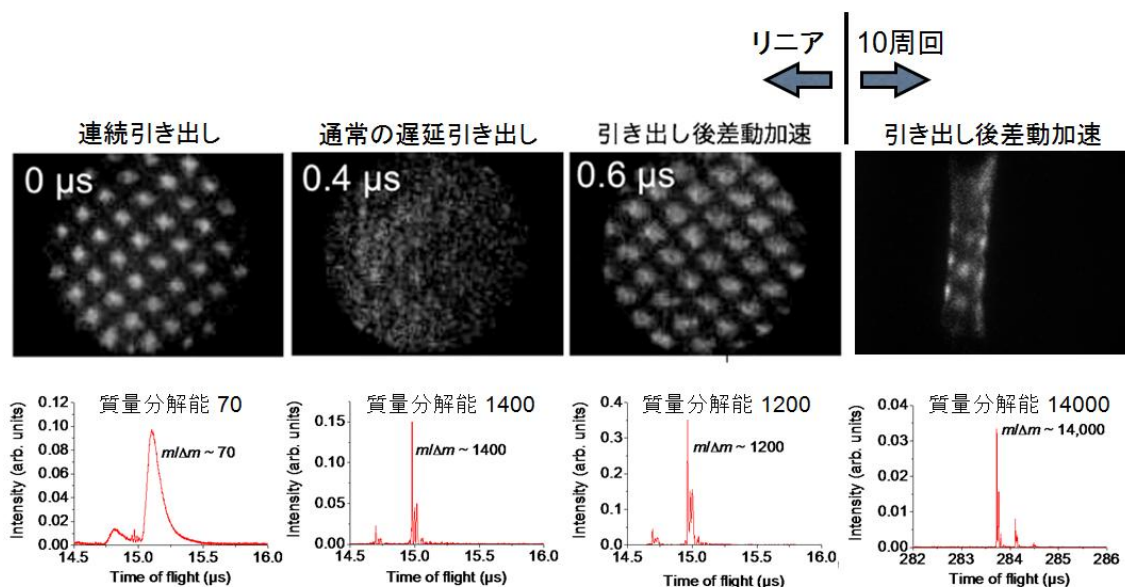


図6. イオン引き出し方法によるイオン像と TOF スペクトル(質量分解能)の比較。メッシュサンプル(400lines/inch、ピッチ $63.5 \mu\text{m}$)を使用。

2-3. 位置・時間同時検出系の構築

投影型イメージング質量分析装置を実現するためには、質量の異なるイオンの質量情報と位置情報を同時取得する検出系が必要である。高位置分解能の像検出と高時間分解能の飛行時間計測を同時に行えるデバイスとして、ディレイライン検出器(図7)を検討した。まず、レーザー脱離イオン化により多数のイオンがごく短時間に飛来する場合についても、ディレイライン検出器によるイオン像検出が可能であることを検証した。次に、電子イオン化で生成したイオンについてメッシュによってパターン化したイオン像を検出し、その結果から検出器自体の位置分解能を約 $50 \mu\text{m}$ と見積もった。また、イオン像の高速連続撮像を実現するため、アナログ/デジタル変換器(ADC)に基づくディレイライン検出器の信号読み出し系を構築し、これによって光学的観察像に

対応するイオン像を撮像できることを確認した(図8)。ADC で取得した時系列データをセグメントに分割して解析することにより、質量分離したイオン像の連続撮像を可能にするシステムの開発を進めている。

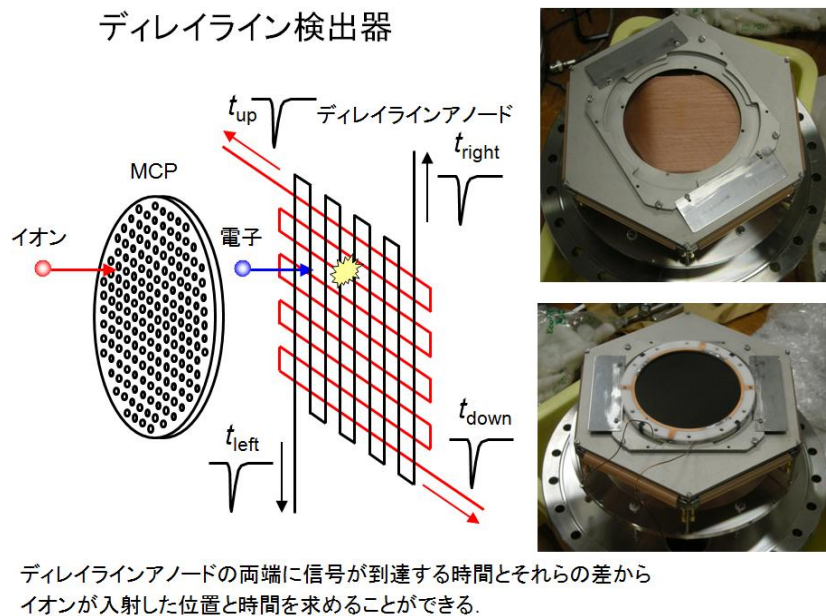


図7. ディレイライン検出器の検出原理

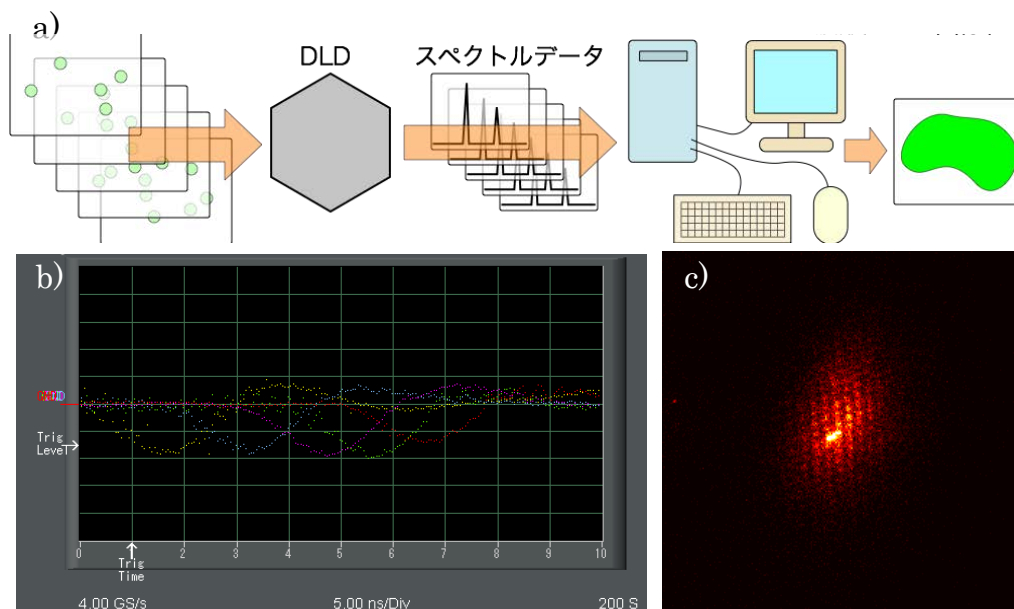


図8. a)ディレイライン信号処理系の動作概念。b)ADC で取得したディレイライン検出器出力の時間パルス波形(イオン像の1点分に相当)。c)ADC データから得られたレーザー脱離イオン像。

3. 研究実施体制

(1)「内藤」グループ

①研究分担グループ長:内藤 康秀(光産業創成大学院大学、准教授)

②研究項目

1. レーザー光学系の設計・製作
2. 高指向性・低分散脱離イオン抽出法の確立
3. 二次元荷電粒子撮像システムの開発
4. 拡大投影静電レンズ系の最適化
5. 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

(2)「豊田」グループ

①研究分担グループ長:豊田 岐聡(大阪大学大学院、准教授)

②研究項目

1. 多重周回飛行時間型質量分析計の製作と評価
2. 多重周回飛行時間型質量分析計の収差の影響の実験的評価
3. 内藤研究グループで試作するイオン引き出しレンズ群、拡大レンズ群光学系の理論面からのサポートを行うためのイオン軌道シミュレーション手法の確立
4. 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)「粟津」グループ

①研究分担グループ長:粟津 邦男(大阪大学大学院、教授)

②研究項目

1. レーザー光学系の設計・製作
2. DFG レーザーおよび紫外レーザーの2波長照射効果の確認
3. 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
4. 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)「益田」グループ

①研究分担グループ長:益田 勝吉((財)サントリー生物有機科学研究所、主席研究員)

②研究項目

1. 細胞表層における膜蛋白質の調製および MALDI 試料調製法の検討
2. 高指向性・低分散脱離イオン群抽出法の確立
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確立

4. 研究成果の発表等

(1) 論文発表 (原著論文)

1. Hisanao Hazama, Hirofumi Nagao, Ren Suzuki, Michisato Toyoda, Katsuyoshi Masuda, Yasuhide Naito and 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, 2008, pp.1461-1466.
2. Hisanao Hazama, Jun Aoki, Hirofumi Nagao, Ren Suzuki, Toshio Tashima, Ken-ichi Fujii, Katsuyoshi Masuda, Kunio Awazu, Michisato Toyoda and Yasuhide Naito, Construction of a novel stigmatic MALDI imaging mass spectrometer, *Appl. Surf. Sci.* 255, 2008, pp.1257-1263.
 3. Jun Aoki, Ayumi Kubo, Morio Ishihara and Michisato Toyoda, Simulation of ion trajectories using the surface-charge method on a special purpose computer, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res., Sect. A.* 600, 2008, pp.466-470.

(2) 特許出願

平成 20 年度 国内特許出願件数：0 件（CREST 研究期間累積件数：1 件）