

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 城田 起郎
 学位 博士 (理学)
 学位記番号 新大院博 (理) 第 423 号
 学位授与の日付 平成 29 年 3 月 23 日
 学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当
 博士論文名 近赤外フェムト秒レーザーイオン化を用いた MALDI イオン生成機構に関する研究

論文審査委員 主査 教授・副島 浩一
 副査 教授・湯川 靖彦
 副査 教授・松岡 史郎
 副査 教授・彦坂 泰正 (富山大学)
 副査 教授・星名 賢之助 (新潟薬科大学)

博士論文の要旨

Matrix Assisted Laser Desorption Ionization (MALDI) 質量分析法 (MS) は、タンパク質を代表とする熱的不安定高分子に対する有力な質量分析法として、現在も活発に研究開発が進められている。しかし、マトリックス剤と試料剤の混合物がレーザー照射によって蒸発する際に生じる MALDI プルーム中における正、負イオンの生成反応素過程に関してはまったく理解されていない。解離生成物を含む正・負イオンの生成機構が解明できれば MALDI-MS による試料の定量分析へのパラダイムシフトが成し遂げられると期待されている。本研究の目的は、MALDI プルーム中でのプロトン移動反応に焦点をあて、プロトン付加正イオンの生成機構に迫ることである。そこで、以前から観測されていた MALDI-MS 信号強度の奇妙な振る舞い、すなわち、マトリックス (M) と試料 (A) の混合比 $[A]/[M]$ に比例すると予想されるプロトン付加信号強度比 AH^+/MH^+ が、高 $([A]/[M])$ の場合に比例関係から大きく外れる現象、の原因を解明することを試みた。熱力学的な考察から、この高 $([A]/[M])$ の時に現れる比例関係からの逸脱は、①レーザー蒸発時の MALDI プルーム中への M と A の脱離効率が異なる。②MALDI プルーム中のプロトン移動反応が熱平衡に達していない。③MALDI プルーム中の分子種分布が空間的に不均一である、の 3 つが原因であると予想した。この 3 つの予想を実験的に検証していくことが本論文の骨格となっている。

そこで本研究では、独自に MALDI プルーム中の中性分子種を、フェムト秒レーザーをつかってイオン化し検出することができる MALDI-fs-MS 法の開発をおこなった。フェムト秒レーザーによる多光子イオン化を利用することで、プルーム中の中性分子種由来の分子イオンを壊さずに検出することが大きな特徴で、本論文では以下の 2 つの試料・マトリックス混合物 (MALDI 試料) に関して、この MALDI-fs-MS を使っておこなった実験の結果および熱力学的な考察が詳細に報告されている。

①試料：phenylalanine (Phe), マトリックス：2,5-dihydroxybenzoic acid (DHB)

②試料：alanine (Ala), マトリックス：2,5-dihydroxybenzoic acid (DHB)

この2つのMALDI試料に対してMALDI-fs-MSを使って、MALDIプルーフ中の中性分子種由来のイオン強度比(Phe-74)⁺/DHB⁺および(Ala-COOH)⁺/(DHB-102)⁺の[A]/[M]依存の測定をおこなった。その結果、2つともほぼ比例関係にあることが判明し、MALDIプルーフ中へのMとAの脱離効率には差がないことが実験的に確認された。そこで、以前から観測されていたMALDI-MS信号強度の奇妙な振る舞いの原因が、MALDIプルーフ中のプロトン移動反応の準熱平衡状態が原因であると予想し、新たに、熱平衡時と準熱平衡時の[AH⁺]の比で定義される反応達成度を導入した準熱平衡状態モデルを独自に構築し、プロトン付加信号強度比(Phe)H⁺/(DHB)H⁺および(Ala)H⁺/(DHB)H⁺の[A]/[M]依存、特に高[A]/[M]での比例関係からの逸脱の再現を試みた。その結果、反応達成度がほぼ0.95で両MALDI試料とも、高[A]/[M]でのMALDI-MS信号強度の[A]/[M]に対する非線形性を非常によく再現することが判明した。反応達成度がMALDIプルーフ中でのプロトン移動反応素過程にどのような意味をもつかまでの議論には至らなかったが、今後のMALDIプルーフ中における正、負イオンの生成反応素過程の解明に向けた研究の方向性を示すことができたといえる。

審査結果の要旨

本論文審査は、博士論文草稿に対する書面審査および、1月26日(木)午後1時30分から約2時間、論文審査委員によって論文内容に関する集中的な質問がおこなわれた予備審査によって実施された。審査は分子科学分野に対する有意な新しい知見を含んでいるかに力点が置かれた。

本論文はMALDIプルーフ中でのプロトン移動反応に焦点をあて、プロトン付加正イオンの生成機構に迫ることを目的にした挑戦的な研究である。そのための足掛かりとして、以前からMALDI-MS信号中に観測されていたプロトン付加イオン強度の奇妙な[A]/[M]依存の原因を実験的に特定することを目指し、独自にMALDI-fs-MS法の開発をおこなった。フェムト秒レーザーによる多光子イオン化を利用したこの質量分析法を使うことにより、試料・マトリックス混合物のレーザー蒸発時のMALDIプルーフ中への脱離効率が、マトリックスと試料で有意な差がないことを実験的に確認することに成功した。さらに、準熱平衡状態モデルを提唱し、新たに反応達成度を導入することにより、高[A]/[M]でのプロトン付加イオン強度の振る舞いを見事に再現することに成功した。これらは、これまでまったく理解されていないMALDIプルーフ中における正、負イオンの生成反応素過程を解明するための研究の方向性を示す大きな成果といえる。すなわち、今後はこの反応達成度の意味を物理化学的に深く掘り下げていく必要があることを発見した意味は非常に大きいと言える。凝集相に対する多光子イオン化という視点から分子科学に対しても多岐にわたる新たな知見を含んでいる。また、本論文で得られた知見は、MALDI-MSの定量分析へつながる成果で、分子生物学をはじめとする広い分野への波及効果が期待される。

よって、本論文は博士(理学)の博士論文として十分であると認定した。