

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5013421号
(P5013421)

(45) 発行日 平成24年8月29日 (2012. 8. 29)

(24) 登録日 平成24年6月15日 (2012. 6. 15)

(51) Int. Cl. F I
 HO 1 J 49/14 (2006. 01) HO 1 J 49/14
 GO 1 N 27/62 (2006. 01) GO 1 N 27/62 F

請求項の数 4 (全 7 頁)

(21) 出願番号	特願2007-249680 (P2007-249680)	(73) 特許権者	305027401
(22) 出願日	平成19年9月26日 (2007. 9. 26)		公立大学法人首都大学東京
(65) 公開番号	特開2009-81054 (P2009-81054A)		東京都新宿区西新宿二丁目8番1号
(43) 公開日	平成21年4月16日 (2009. 4. 16)	(74) 代理人	100116517
審査請求日	平成22年9月2日 (2010. 9. 2)		弁理士 小林 邦雄
		(72) 発明者	芝本 幸平
			東京都八王子市南大沢1丁目1番
			公立大学法人首都大
			学東京南大沢キャンパス内
		(72) 発明者	伊永 隆史
			東京都八王子市南大沢1丁目1番
			公立大学法人首都大
			学東京南大沢キャンパス内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 グラファイト基板を利用した質量分析

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

レーザー脱離質量分析法において、グラファイト微結晶から構成されるグラファイト薄膜を作製し、該薄膜を基板に固着し、固着しなかった部分のグラファイトは洗浄により除去し、該グラファイトの固着した基板上に試料を付着させ、レーザー光を照射することにより試料をイオン化し質量分析することを特徴とするレーザー脱離質量分析法。

【請求項2】

上記グラファイト薄膜の作製は、液液界面を利用して行うことを特徴とする請求項1に記載のレーザー脱離質量分析法。

【請求項3】

上記固着は、熱固着であることを特徴とする請求項1に記載のレーザー脱離質量分析法。

【請求項4】

上記基板は、グラファイトより低い融点を有する部材であることを特徴とする請求項1に記載のレーザー脱離質量分析法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本願発明は、MALDI-MS(Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization-Mass Spectrometry:マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析法)などに代表されるレーザー脱離質量分析

法に関し、特に、イオン化手段として、グラファイト基板を利用するものである。

【背景技術】

【0002】

質量分析法は、分析化学において利用されるだけでなく、医学、生物学、生化学など多岐の分野において利用されている。その中でも、レーザー脱離 - 質量分析法 (Laser Desorption Mass Spectrometry : LD - MS) は、1980年代に注目され、主に金属や半導体などの表面分析に用いられてきた。レーザーを用いているため、レンズを用いて容易に集光することが可能であり、微小領域の分析が可能である。また、試料を容易にイオン化することが可能であり、広範囲の試料種に対応することが可能である。

10

【0003】

最近のLDI-MS法に関する研究では、いかに効率よく試料分子に照射するレーザーエネルギーを伝えるかが注目を浴びている。

【0004】

その代表的な手法の一つにはマトリックス支援LDI-MS法 (MALDI-MS法) が挙げられる。この手法では照射するレーザーエネルギーの大部分を吸収し、そのエネルギーを試料分子に効率的に供給する役割を持つマトリックス分子を大過剰に添加することにより、従来のLDI-MS法に比べて試料分子を高感度にかつ非解離 (ソフト) に検出することを可能とした。

【0005】

マトリックス分子には様々な分子が利用されているが、そのマトリックス分子の一つにグラファイトを用いた研究例が報告されている。グラファイトとは炭素のみで構成され、かつ非常に広い範囲の波長の光を吸収する素材であるため、可視光でも利用が可能となる。また熱耐性も強く照射するレーザーによる解離も抑制されると考えられるため、その可能性を追求する研究者も少なくない。

20

【0006】

しかし、実際にグラファイトをマトリックス剤として添加したMSスペクトルには多くのグラファイト由来と思われるピークが数多く検出され、他のマトリックス分子と比較しても優位性を示しているとは言い難い。

【0007】

なぜなら、グラファイトにはカーボンクラスターやフラーレンなどの様々な不純物を多く含むだけでなく、グラファイトとして存在する分子が常に一定の分子量をもつような素材でないことが大きな理由として挙げられるためである。

30

【0008】

しかし一方で、MALDI-MS法のように同時に観測されてしまうようなマトリックス分子をエネルギー供給体として利用するのではなく、イオン化基板表面にその役割を与え、マトリックス分子の弊害を除去しようとして開発された表面支援LDI-MS法 (SALDI-MS法) の研究が盛んになってきた (非特許文献1参照) 。

【0009】

この上述したグラファイトの特徴は、試料分子のイオン化を補助する物質としての可能性を秘めているため、このSALDI-MS法のイオン化基板としてグラファイトを用いる研究報告例もある (非特許文献2参照) 。

40

【0010】

しかしながら、報告されるグラファイト素材のイオン化基板は、他のSALDI-MS法で利用されるイオン化基板のようなエネルギーの増強効果やエネルギーの局所化がほとんど誘起されず、イオン化基板としては性能が悪い。

【0011】

具体的には、検出感度が悪く、またイオン化には高レーザーパワーが必要であり、さらに問題なのはグラファイト由来のピークが数多く観測されてしまうといった、致命的ともいえる欠点を多数有している。

50

【0012】

ここで、従来のグラファイト基板を説明する。まず、グラファイト箔（膜厚130 μm）をイオン化基板として用いた結果を示す（図1参照、）。図1から明らかなように、低レーザー強度においては信号がまったく観測されず、レーザーエネルギーを吸収するだけではイオン化基板としての性能は非常に悪いことがわかる。

【0013】

照射レーザーエネルギーを表面に局所化させるために、更に薄層化させたグラファイト薄膜（数μm以下の膜厚と推測される基板）をイオン化基板として用いた結果を示す（図2参照）。グラファイト箔基板に比べて信号が観測されたが、グラファイト由来のピークが非常に多く、試料分子を解析するには有効な基板とはいえない。

10

【0014】

しかし我々は、この結果を別の観点から捉えた。グラファイト薄膜基板の結果は、グラファイト表面に堆積したグラファイトが電荷の相互作用を受け、高感度に検出されたという見方ができる。つまり、グラファイト基板表面のグラファイト試料を除去すれば、非常に高い性能をもつイオン化基板として用いることが考えられる。

【非特許文献1】J. Wei, J. M. Buriak, G. Siuzdak: Nature, 399, 243 (1998)

【非特許文献2】J. Paek K, Kang W. Bull Korean Chem Soc 2002;23;315-9

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0015】

本願発明の課題は、上記の欠点を改善したグラファイト素材の新規なイオン化基板の開発である。

20

【課題を解決するための手段】

【0016】

我々は、グラファイト素材をただの高効率エネルギー吸収体として捉えるのではなく、電子雲を表面全体に持つ特性に着目し、高効率な電荷の相互作用を誘起する素材として捉えた。

【0017】

上述のグラファイト薄膜基板の結果を別の観点から考察すると、グラファイト表面に堆積したグラファイトが電荷の相互作用を受け、高感度に検出されたという見方ができる。

30

【0018】

つまり、グラファイト基板表面のグラファイト試料を除去すれば、非常に高い性能をもつイオン化基板として用いることが期待される。すなわち、グラファイト微結晶から構成されるグラファイト薄膜を基板上に固着させ、該固着している層の上に堆積しているグラファイト部分を除去することにより上記課題を解決した。

【0019】

そもそもグラファイトは、ベンゼン環がx y方向に連なった構造をもつため、その表面には電子雲が全体に広がっている（図3参照）。つまり照射レーザーにより基板表面には励起状態にある電子で構成される電子雲が広がっていると考えられる。表面に局在化した励起電子がイオン化に寄与することは、我々が他に開発した表面プラズモン励起による金ナノ微粒子を用いた超高感度SALDI-MS法から明らかである。

40

【0020】

従って、電荷の相互作用が期待されるグラファイト基板は、従来報告されてきたグラファイト素材のイオン化基板とは全く異なる性能を示すのである。

【発明の効果】

【0021】

本願発明に係る基板は、グラファイトの持つ特徴を最大限利用し、低レーザー強度の照射においても十分にイオン化を実現し、従来のイオン化基板としての性能を飛躍的に向上させた点にある。他のSALDI-MS法で用いられるイオン化基板に比べても、優位性を示した

50

。すなわち、照射するレーザーの波長領域が非常に広く、感度が十分であり、極微量の試料にも対応可能であり、試料分子の解離を抑制でき、基板由来のピークがほとんど観測されないという特徴が挙げられる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0022】

以下に、本願発明を実施するための最良の形態を示す。

【実施例1】

【0023】

< グラファイト薄膜の作製 >

グラファイト粒子(Wako社 ~200mesh)を乳鉢で磨り潰し、乳鉢壁面に付着した微結晶のみを水-エタノール溶液に分散させる。水及びエタノールのみでは分散度が低いため、混合液が望ましい。この溶液をサンプル管等に移し、水及びエタノールのいずれにも混和する有機溶媒を加える。その後、静置させると水溶液と有機溶媒に相分離し、その界面にグラファイト微結晶より形成された薄膜が生成する(図4参照)。有機溶媒にはシクロヘキサンが望ましい。

10

【0024】

< グラファイト薄膜の固着および堆積物の除去 >

次に、作製したグラファイト薄膜を基板上に載置させる。基板としては、OHPシートのように融点が低く、熱によって変形しやすい素材が望ましい。その後、重石をして炉などの装置を用いて加熱する(図5参照)。加熱温度は、基板に用いた素材の融点よりもやや高温に調節する。

20

【0025】

ポリエステルOHPシートの場合、ポリエステルの融点が250 であるので、150 から300 程度で試した結果、300 程度が最も好ましかった。これ以上高いと、ポリエステルが溶融してしまい、好ましくない。

【0026】

基板を取り出し超音波洗浄を行う。基板に固着しなかったグラファイト堆積部分を除去するために、洗浄に用いる溶媒は分散度が高い水 エタノール混合溶液を用い、溶液を取り替えて繰り返し超音波洗浄を行う必要がある。洗浄後、基板を乾燥させる。

30

【0027】

図6の左側に示すように、グラファイト薄膜を基板上に載置させたのみでは、レーザー照射によりグラファイト自体がイオン化してしまい、雑音の増加を来してしまう。図6の右側に示すように、グラファイト薄膜を熱固着すると、レーザー照射によっては、グラファイトがイオン化することはなくなり、イオン化基板として利用可能となる。

【0028】

上記グラファイトの基板への熱固着は、基板を熱で変形させ、グラファイト薄膜を埋め込む手法であることから、幅広い基板への応用が可能である。ただ、グラファイトの融点が3550 であり、この融点を超える素材を基板として利用することは難しい。

【0029】

この後、低濃度試料溶液に作製したイオン化基板を浸漬することにより、基板に試料を付着させた。しかし、付着方法としては、試料溶液の液滴を滴下しても行うことができる。

40

【0030】

< 質量分析測定 >

該試料を測定装置(図7参照)にセットし、マススペクトルを測定した。

励起光は、Nd/YAGレーザーであり、図7の測定装置の左下から、斜めに照射し、プリズムで反射させ中央部の試料台を照射する。その後、試料台から反射された光を、プリズムを通し外へ導く。試料は、励起光により励起され、イオン化され、リニア飛行時間型質量分析計により測定された。

50

【 0 0 3 1 】

< 測定条件 > 測定条件は、以下のとおりである。

試料台	グラファイト薄膜 + OHPフィルム
サンプル濃度	単分子層吸着程度
Nd : YAG	532 nm
加速電圧 :	4.0 kV (1段目)
	3.0 kV (2段目)
検出器 :	MCP
MCP電圧 :	1.90 kV
真空度	1×10^{-4} Pa order
delay	0.4 μ s

10

【 0 0 3 2 】

< 測定結果 >

図8には、この基板を用いて質量分析測定を行った結果を示す。その結果、試料分子は解離することなく、試料分子のみを高感度（フェムトモル以下）に検出することに成功した。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 3 3 】

【 図1 】 従来のグラファイト箔（膜厚 $130 \mu\text{m}$ ）基板をイオン化基板として用いた場合のLDIマススペクトル 20

【 図2 】 従来のグラファイト箔（膜厚数 μm ）基板をイオン化基板として用いた場合のLDIマススペクトル

【 図3 】 グラファイトの構造模型

【 図4 】 グラファイト薄膜の作製工程

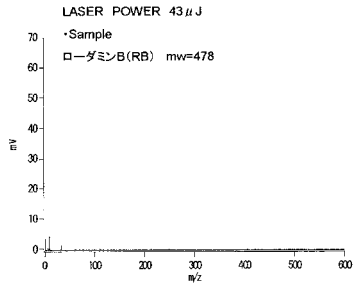
【 図5 】 グラファイト薄膜の基板への熱固着工程

【 図6 】 グラファイト薄膜の載置と固着の違いを説明する図

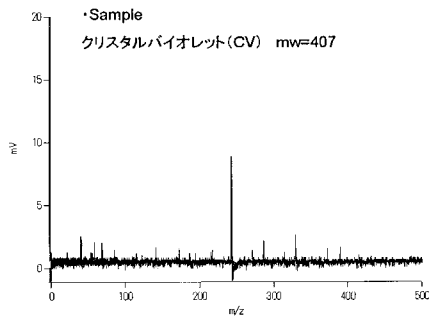
【 図7 】 質量分析装置の概略図

【 図8 】 本願発明に係るグラファイト薄膜基板をイオン化基板として用いた場合のLDIマススペクトル 30

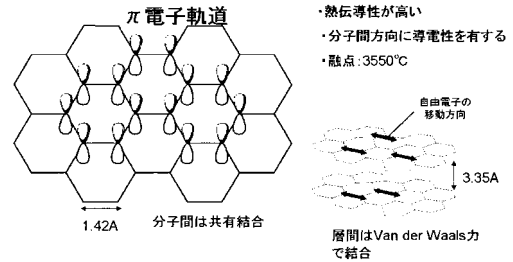
【図1】



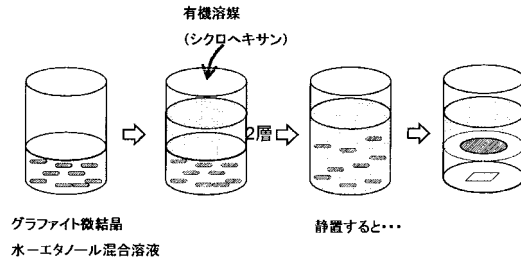
【図2】



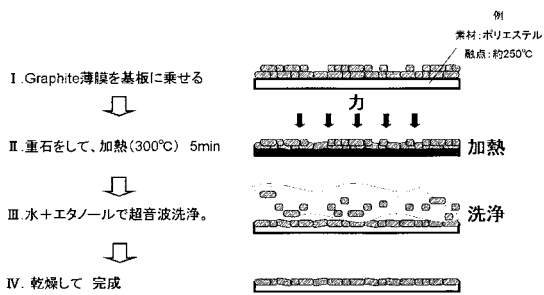
【図3】



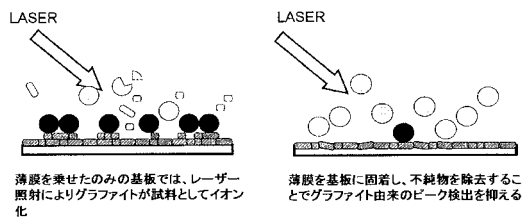
【図4】



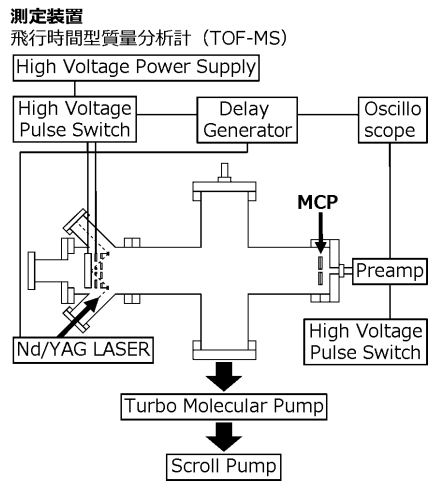
【図5】



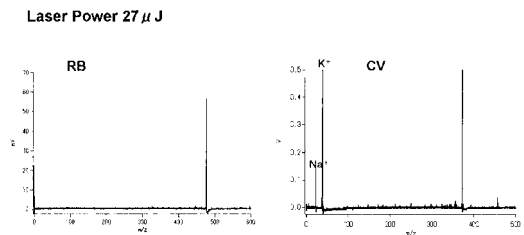
【図6】



【図7】



【図8】



フロントページの続き

- (72)発明者 清水 伸幸
東京都八王子市南大沢1丁目1番
キャンパス内 公立大学法人首都大学東京南大沢
- (72)発明者 谷 昌美
東京都八王子市南大沢1丁目1番
キャンパス内 公立大学法人首都大学東京南大沢
- (72)発明者 名越 慶士郎
東京都八王子市南大沢1丁目1番
キャンパス内 公立大学法人首都大学東京南大沢

審査官 遠藤 直恵

- (56)参考文献 特表2006-506641(JP,A)
特開2006-329977(JP,A)
特開2006-170857(JP,A)
国際公開第2005/074003(WO,A1)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
H01J 49/00 - 49/48
G01N 27/62