

図1 LD法およびMALDI法によるイオン化のモデル(田中氏による解説図³⁾を原文のまま再録。
 なお、この図を基にしたノーベル賞受賞内容の解説図が、ある全国紙の10月10日付朝刊に掲載されたが、受賞発表の当夜、筆者の一人(佐藤)は、当該新聞社からの依頼を受け、その内容の確認や校正の際の助言を行った }

クス分子が光エネルギーを共鳴吸収して、イオン化すると共に急速に加熱されて気化する。この際、レーザー照射による試料分子の直接的な励起および気化はほとんど起こらないが、試料分子を取り囲んでいたマトリックス剤が瞬時に気化することに伴って、試料分子もほぼ同時に気相に放出され、イオン化したマトリックス剤分子と一部の試料分子との間でプロトンや電子などの授受が起こることによって、プロトン化分子 $[M+H]^+$ や脱プロトン化分子 $[M-H]^-$ などのイオンや、アルカリ金属の陽イオンが付加したイオンなどが生じる。この手法の開発により、難揮発性で熱的に不安定なタンパク質などの生体関連物質をはじめとする様々な高分子化合物を容易にイオン化することができるようになり、原理的には測定質量範囲に上限がない飛行時間型質量分析計(TOF-MS)などと組み合わせることによって、試料高分子の正確な分子量やその分布の測定を行うことが可能になった。

ここで、まずMALDI-MS法が開発された経緯を振り返ってみることにしよう。この手法の基礎となるLD-TOF-MS法はすでに1960年代に開発が始められ、1970年代後半にはレーザー光の照射径を数十 μm 程度に絞って試料表面の局所分析を行うレーザーマイクロプローブ質量分析計(LAMMA)がLeybold Hereaus社(当時西ドイツ)から上市されていた。しかし、LD法

では、前述したように高分子量の化合物をそのままイオン化することは困難であり、TOF-MSの利点を活用できる「ソフトなイオン化法」の開発が望まれていた。

1988年に、田中氏らによって国内の専門誌に初めて発表された論文⁴⁾によれば、島津製作所の研究グループは、1980年代前半から、生体関連物質などのイオン化を達成できる新しいイオン化法を開発を始めていた。彼らは、まず、粒径300 \AA 程度の金属コバルト微粒子をタンパク質などの試料溶液に添加して乾燥し、そこへ紫外線レーザー光を照射することによって、コバルト微粒子を急速に加熱し、その際に間接的に試料分子を気化させることを試みた。しかし、この方法では、タンパク質などの分子量情報を与えるピークを辛うじて観測できたものの、イオン生成の持続時間が短く、信頼性に乏しい結果しか得られなかったという。そこで、田中氏は、すでに高速原子衝撃イオン化法(FAB)等で用いられていた液体マトリックス法を併用し、試料とコバルト粒子の混合物に、さらにグリセリンを添加することによって、信頼性のある高分子量化合物のマスペクトルを観測することに初めて成功した(実際には、「グリセリンを誤って試料に加えたことが大発見のきっかけであった」と、田中氏自身が語ったことが広く報道されている)。この研究成果は、1987年9月に宝塚市で開催された、第二回日中合同質量分析シンポジウム(The Sec-

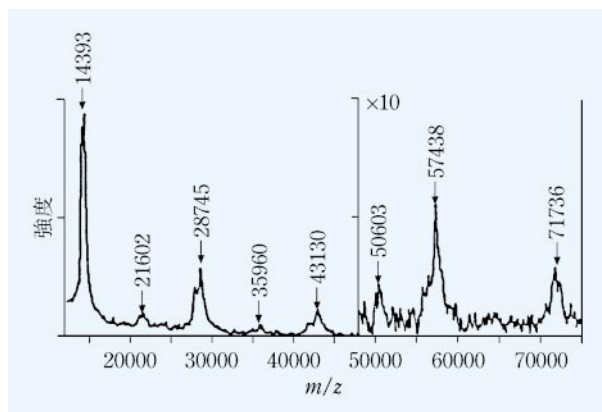


図2 田中氏らにより初めて観測された生体高分子のMALDI-マスマスペクトル{文献⁵⁾から許可を得て転載。リゾチーム(分子量14307)の5量体までのピーク(m/z 71736)がはっきりと観測されている}

ond Japan - China Joint Symposium on Mass Spectrometry)⁵⁾や、関連するいくつかの国内学会において発表され、翌1988年には、田中氏を含む島津製作所の5~6名の研究グループによる連名の論文として国内外の専門誌⁴⁾⁶⁾に相次いで掲載された。

図2に、田中氏らの方法によって初めて観測されたタンパク質のマスマスペクトルの一例を示す⁵⁾。ここでは、 m/z 7万を超えるリゾチーム(分子量14307)の5量体までのピークがはっきりと観測されている。また、1988年の論文⁶⁾においては、ポリエチレングリコール(PEG)などの合成高分子についても、マスマスペクトル上にその分子量分布を反映したピークがはっきりと観測されたことが報告されており、この方法により、生体高分子のみならず合成高分子の分子量をも精密に測定し得ることが明記されていることも、特筆すべきであろう。こうした研究成果は、国内外の質量分析の分野では高く評価され、論文報告の翌1989年には日本質量分析学会から、田中氏および同じ研究グループの吉田佳一氏に奨励賞が授与されている。

一方、田中氏らと並んでMALDI-MS法の開発において重要な役割を果たしたのが、ドイツMünster大学のHillenkamp教授らの研究グループである⁷⁾。Hillenkamp教授らは、比較的早くからLAMMAを用いた不揮発性の有機化合物のLD-MS測定に関する研究を進め、アミノ酸混合物に紫外線レーザー光を照射することによって、トリプトファンなどの紫外線に吸収帯をもつアミノ酸のみならず、紫外線エネルギーをほとんど吸収しない他のアミノ酸も同時にイオン化することを発見し、この結果を1985年の*Anal. Chem.*誌に報告している⁸⁾。この現象は、トリプトファンなどが紫外線レーザー光を吸収するマトリックス剤として作用することによって、他のアミノ酸のイオン化も達成されたためであると考えられ、“matrix-assisted laser desorption”という言葉がこの論文中で初めて登場した。また、田中氏により執筆された本誌の解説³⁾の中でも、この論文が

MALDI法の最初の報告として引用されている。続いてHillenkamp教授らは、紫外線レーザー光を吸収する低分子有機化合物をマトリックス剤として用いることによって、ビタミンB₁₂などのイオン化がさらに効率よく起こることを、1987年に発表した⁹⁾。この時点でも、タンパク質などの高分子化合物のイオン化には至っていなかったが、翌1988年になってようやく、有機マトリックスを使ってタンパク質のイオン化に成功したことが*Anal. Chem.*誌に報告された¹⁰⁾。1988年のこの論文は、前述の田中氏らの論文⁶⁾とほぼ同時期に投稿および受理されており、また現在では、Hillenkamp教授らの研究グループが開発した「有機マトリックス」を用いたMALDI-MS法が主流を占めていることや、本手法のその後の発展の経過などを考慮すると、今回のノーベル賞が田中氏とHillenkamp教授との共同受賞となってもなんら不思議ではなかった。田中氏本人も触れているように、関連分野の研究者の中には、両者の共同受賞とならなかったことについて首をかしげる人が少なからずいたはずであり、筆者らも田中氏受賞の第一報を耳にしたときは、てっきりHillenkamp教授との共同受賞であると思った。

しかし、1988年のHillenkamp教授らの論文¹⁰⁾において、前年の田中氏らによる国際会議でのプロシーディングス⁵⁾が引用されている事実などから、ノーベル賞の選考委員会では、MALDIという方法論そのものよりも、むしろこの方法により生体高分子化合物の質量分析を田中氏が初めて可能にしたことが重視され、今回の受賞はその先取性が認められたためであると考えられる。また、アジア地区の小さな国際シンポジウムのプロシーディングスを正当に評価・引用したHillenkamp教授らの真摯な態度は、研究者の倫理的な態度であると賞賛されるべきであろう。ノーベル賞の詳細な選考過程は50年間公開されないことになっているため、現時点では真相を知る由もないが、田中氏の受賞理由の中には、“MALDI”という用語が見当たらないことから、今回の選考過程の一端が垣間見えるような気がする。また、このことを裏付けるように、TOF-MSの分野では著名な研究者であり、田中氏らの功績を早くから高く評価してきたアメリカJohns Hopkins大学のCotter教授による興味深いコメントが、10月14日付けの*Chemical & Engineering News*誌に掲載されたので、原文のまま以下に引用しておく¹¹⁾。“It’s not being given for MALDI”, Cotter says. “It’s being given to someone who recognized the path for looking at macromolecules. I personally believe that Tanaka was the first person to see that we could actually go that high.”

3 田中氏の研究業績に対する国内外の評価

田中氏らおよびHillenkamp教授らによって相次いで開発されたMALDI-MS法は、新しい高分子構造解析法を渴望していた生化学および高分子化学の分野などでは大きな衝撃をもって受け止められ、直ちに幅広い応用

研究が始まった。ノーベル賞発表直後に ICI Web of Science¹²⁾ を用いて調べた田中氏らの先駆的な論文⁶⁾ の引用状況は、論文発表から現在まで、*Anal. Chem.* 誌での 55 回の引用をはじめとして、この間ほぼコンスタントに総計 386 回も引用されている。このことは、田中氏らの先駆的な業績が、生体高分子の MALDI-MS を創始したことにとどまらず、その後の広範な応用展開への端緒を開いたものとして国際的に高く評価されてきたことが、今回のノーベル賞受賞につながったことを示している。一方、日本国内の研究者による田中氏の業績を引用した論文は、上述の調査では、世界全体の割にも満たないわずか 25 報にとどまっており、しかもそれらは海外での評価がほぼ固まった 1995 年以降に集中している。近い将来、第二、第三の「田中氏」を輩出するためにも、本邦の研究者は、最先端の研究を迅速かつ的確に評価する目をさらに養うことが必要であろう。

4 MALDI-MS 法の発展

ノーベル化学賞の受賞理由にも挙げられているように、田中氏らによる MALDI-MS 法の開発は、同時受賞した Fenn 教授らによるエレクトロスプレーイオン化 (ESI)-MS 法とともに、それまで行われてきた生体高分子の構造解析のアプローチを根底から覆し、測定対象試料の量、解析に要する時間、および測定・解析に要求される研究者の熟練度を劇的に低減することによって、バイオ研究のハイスループット化において革命的な役割を果たした。その結果、タンパク質を対象とした「プロテオミクス」の分野では、MALDI-MS 法および ESI-MS 法は、今日ではタンパク質の同定を行うための「常套手段」として用いられている。最近では、ゲノム情報を基に生体内で合成されたタンパク質がさらにリン酸化などの修飾を受ける「翻訳後修飾」の部位の決定や、タンパク質の量的・質的変動を網羅的かつ迅速に解析する研究などにおいても中心的な役割を担っている。なお、プロテオミクス分野における MALDI-MS 法を用いた研究などについては、関連成書¹³⁾ に詳しく述べられている。

一方、田中氏自身の解説³⁾ の中でも紹介されているように、MALDI-MS 法は医学・臨床分野でも、タンパク質の異常構造の原因となる遺伝病などについて、従来の方法と比べて著しく迅速かつ簡便に的確な診断が下せる手法として実用化が進められている。さらに最近では、バクテリアの同定や細胞内での代謝機構の解析を目的とした MALDI-MS 法の応用研究も進められており、本法の測定対象は、開発からわずか 10 余年で、生体高分子から生命そのものの解析へと拡張している。

さらに現在までに、MALDI-MS の応用分野は、生化学や高分子化学などの研究分野から、本法が開発された当初には全く予想されていなかった、法科学や地球科学などの分野にまで際限なく拡大していく様相を呈している。本稿では、これらの一つ一つについて詳しく述べることはできないが、かなり大きな広がりを見せている

MALDI-MS による合成高分子の解析については、本誌に掲載された筆者らの総説¹⁾ を参照していただければ幸いである。

5 おわりに

本稿では、ノーベル化学賞受賞が決まった田中耕一氏による MALDI-MS 法の開発の経緯およびその生体高分子解析への展開を、国際的な評価などを交えながら解説した。ごく最近ヒトゲノム解析が一段落し、タンパク質解析の重要性が一層高まっている中で、MALDI-MS および ESI-MS が世界各国の関連する研究機関でプロテオーム解析における中心的な解析手段として位置づけられている状況^{かんが}に鑑みて、田中氏が Fenn 教授とともに今年のノーベル化学賞受賞の荣誉に浴したことは、まさにこれらの手法の開発が時代の要請に応えるブレークスルーそのものであったことを物語っている。また、今回田中氏に授与されるノーベル化学賞は、民間会社で分析機器開発に携わってきた生粋の若いエンジニアが、信念をもって成し遂げた成果が認められたものであることは特筆されるべきであろう。さらに、受賞決定後にマスコミなどで報じられた、全く著ることのない田中氏の談話やそれを伝える映像が、これまでのノーベル賞では経験したことのない、実にさわやかなものであったことも印象的であった。この若き分析技術者の快挙は、次世代の分析化学を担うべき多くの若手・中堅の研究者・技術者を大いに鼓舞激励し、明日への大きな活力を与えてくれた。これを励みに、若い世代を中心にした我が国の「分析化学」研究者が、様々な制約の中でも、ノーベル賞に値するような独創的な仕事を行い得るという信念と夢を抱いて、活動していくことの重要性を認識し、次の「田中耕一」を目指して、開発・研究に邁進していくことを願ってやまない。

文 献

- 1) 佐藤浩昭, 大谷 肇: *ぶんせき*, **2001**, 467.
- 2) URL = <http://www.nobel.se/>
- 3) 田中耕一: *ぶんせき*, **1996**, 253.
- 4) 吉田多見男, 田中耕一, 井戸 豊, 秋田智史, 吉田佳一: *質量分析*, **36**, 59 (1988).
- 5) K. Tanaka, Y. Ido, S. Akita, Y. Yoshida, T. Yoshida: *Proceedings of the Second Japan-China Joint Symposium on Mass Spectrometry*, pp. 185-188 (1987).
- 6) K. Tanaka, H. Waki, Y. Ido, S. Akita, Y. Yoshida, T. Yoshida: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2**, 151 (1988).
- 7) 早川滋雄: *質量分析*, **41**, 121 (1993).
- 8) M. Karas, D. Bachmann, F. Hillenkamp: *Anal. Chem.*, **57**, 2935 (1985).
- 9) M. Karas, D. Bachmann, U. Bahr, F. Hillenkamp: *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, **78**, 53 (1987).
- 10) M. Karas, F. Hillenkamp: *Anal. Chem.*, **60**, 2299 (1988).
- 11) *Chem. Eng. News*, Oct. 14. 2002, p. 11.
- 12) URL = <http://www.isinet.com/isi/products/citation/wos/index.html>
- 13) 原田健一, 田口 良, 橋本 豊編: “生命科学のための最新マスペクトロメトリー”, (2002), (講談社).