

【序】気相中においては、多光子イオン化分光のような高感度、精密な実験法により分子の性質を調べることができる。本研究は、このような気相中の手法によりタンパク質のような非揮発性溶液分子の気相中における構造、反応性などを調べることがを目的とする。液滴を高真空下に導いて液滴分子線とし、赤外レーザー蒸発により微量の溶液分子を気相中に単離した。試料としてタンパク質分子の一種であるリゾチーム分子を使用し、気相単離した分子、あるいは分子イオンに紫外レーザー光を照射し、生成イオンを分析した。イオン生成量の赤外 - 紫外レーザー照射遅延時間およびリゾチーム濃度に対する依存性を調べ、その気相中の反応過程について考察した。

【実験】実験装置の概略図を図1に示す。 piezo素子駆動のノズルを用いて、直径 70 μm の試料液滴を大気中に生成した。生成した液滴を、3段階の差動排気系を用いて高真空下 (1.2×10^{-6} Torr) に導き、液滴分子線とした。真空槽3に、飛行時間型質量分析装置を設置した。その加速領域に導いた液滴分子線に、水の OH 伸縮振動に共鳴するナノ秒中赤外レーザー (波数 $3300\text{-}3700\text{ cm}^{-1}$ 、 12 mJ/pulse) を照射した。中赤外レーザーに対して遅延時間をおいたナノ秒紫外レーザー光 (波長 270 nm 、 $<130\text{ }\mu\text{J/pulse}$) をさらに照射する実験も行った。レーザー照射により液滴分子線から生成したイオンは、パルス電場により加速し、飛行時間型質量分析装置により分析した。

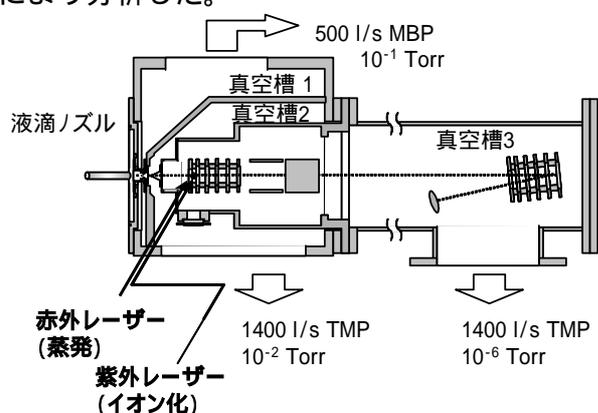


図1 液滴分子線装置の概略図

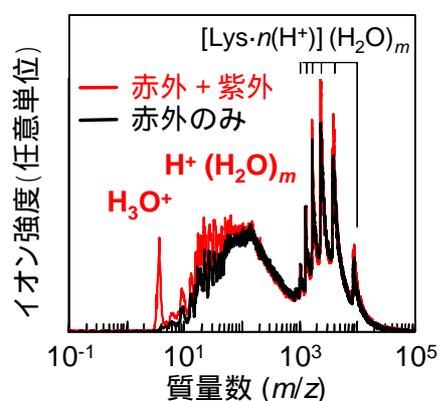


図2 10 μM のリゾチーム(Lys、分子量 14,400)水溶液液滴分子線に赤外レーザー、および赤外、紫外レーザーを照射して得られた質量スペクトル

【結果】10 μM のリゾチーム(Lys、分子量 14,400)水溶液液滴分子線に赤外レーザー、および赤外、紫外レーザーを照射して得られた質量スペクトルを図2に示す。赤外レーザー照射のみにより得られたイオン種は、主に多プロトン化リゾチーム水和クラスターイオン、 $[\text{Lys}\cdot(n\text{H}^+)](\text{H}_2\text{O})_m$ ($1 \leq n \leq 7$)であった。一方、紫外レーザー照射により、 H^+ 、 H_3O^+ が生成した。高質量の領域には、紫外レーザー照射による違いは観測されなかった。

純水を試料とした場合にも、 H^+ 、 H_3O^+ が生成した。10 μM の Lys 水溶液および純水から生成する H_3O^+ 強度の紫外レーザー強度依存性を図3、4に示す。赤外 - 紫外遅延時間は、図3、4についてそれぞれ2、10 μs である。ここから、紫外レーザー強度 50 $\mu\text{J/pulse}$ 以下、赤外 -

紫外遅延時間 2 μs 以下の場合には、Lys 水溶液が純水よりも多くの生成イオンを与えることがわかった。また、純水からのイオン生成量は、紫外レーザー強度に高次の依存性を示した。図 5 に、 H^+ 、 H_3O^+ のイオン強度の Lys 濃度依存性を示す。紫外レーザー強度は 50 $\mu\text{J}/\text{pulse}$ 、赤外 - 紫外遅延時間は 2 μs である。イオン強度は、Lys 濃度にほぼ比例した。一方、紫外レーザー強度は 50 $\mu\text{J}/\text{pulse}$ 以下のとき、イオン強度は紫外レーザー強度にも比例関係があった。

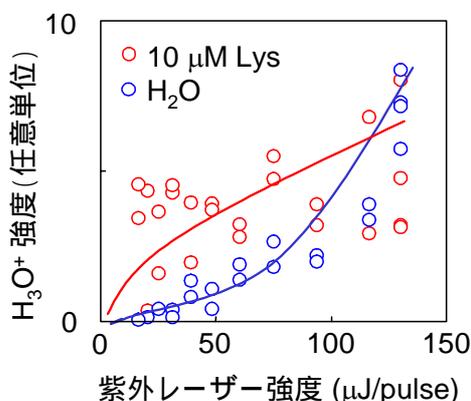


図 3 110 μM の Lys 水溶液および純水から生成する H_3O^+ 強度の紫外レーザー強度依存性。赤外 - 紫外遅延時間は 2 μs 。

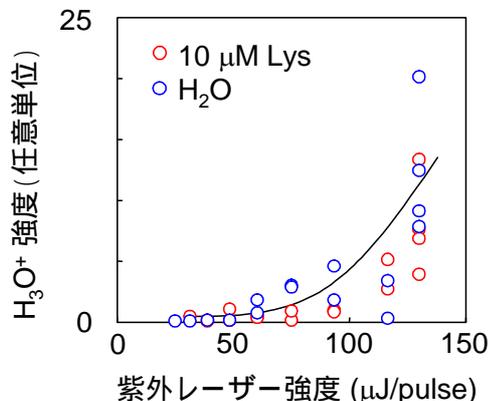


図 4 110 μM の Lys 水溶液および純水から生成する H_3O^+ 強度の紫外レーザー強度依存性。赤外 - 紫外遅延時間は 10 μs 。

【考察】液滴分子線への赤外レーザー照射により、タンパク質溶液から、1 - 7 価のタンパク質分子イオン、 $[\text{Lys}\cdot n(\text{H}^+)] (\text{H}_2\text{O})_m$ が生成する。この分子イオンへの紫外レーザー照射により、 H^+ と H_3O^+ が生成した。純水より観測されるイオンは、Lys 水溶液からも観測されると考えられる。紫外レーザー強度 50 $\mu\text{J}/\text{pulse}$ 以下、赤外 - 紫外遅延時間 2 μs 以下の場合には、Lys 水溶液が純水よりも多くイオンを生成しており (図 3)、この条件下では Lys 由来のイオンが生成している。このことは、同条件下で、イオン強度が Lys 濃度に比例していることから確かめられる。(図 5) このとき、イオン生成量の紫外レーザー強度依存性が直線的であったことから、これらのイオンは、 $[\text{Lys}\cdot n(\text{H}^+)] (\text{H}_2\text{O})_m$ の 1 光子光解離により生成している。一方、純水からのイオン生成は、紫外レーザーに対して高次の依存性を示すため、紫外 2 光子以上の過程であると考えられる。以上のイオン生成過程をスキーム 1 に示す。Lys 由来のイオンが赤外 - 紫外遅延時間 2 μs 以下において観測されるのは、赤外レーザー照射後の $[\text{Lys}\cdot n(\text{H}^+)] (\text{H}_2\text{O})_m$ の空間的な拡散と、 $(\text{H}_2\text{O})_m$ の断片化によるイオン生成量増加によるものと考えられる。

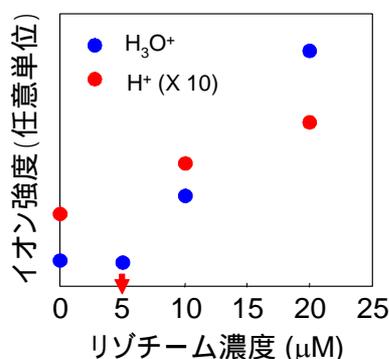
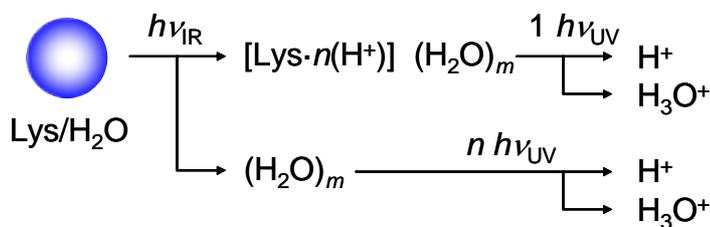


図 5 イオン強度の Lys 濃度依存性。赤外 - 紫外遅延時間は 2 μs 、紫外レーザー強度は 50 $\mu\text{J}/\text{pulse}$ 。



スキーム 1