

溶液中の金微粒子へのナノ秒、フェムト秒レーザー照射によるタンパク質の分解

((株)コンポン研^{*}, 東大^{**}, 豊田工大^{***}) 武田佳宏^{*}, 真船文隆^{**}, 近藤 保^{***}

【序】溶液中の金微粒子へパルスレーザーを照射すると、金微粒子が多光子吸収し、電子励起される。この電子励起エネルギーは電子 - フォノン緩和により熱に変換され、金微粒子より金イオンや熱電子が放出される。さらに、この電子がシード電子となりプラズマ (ナノプラズマ) が生ずる。また熱エネルギーは金微粒子周囲の溶媒へと拡散し、金微粒子近傍に高温高压領域を生成する。一方、金微粒子とタンパク質の疎水的相互作用などを用いて、タンパク質を金微粒子近傍に配置することができるので、高温高压領域によりタンパク質を選択的に分解することができる [1]。本研究では、金微粒子へのナノ秒レーザー照射により生じた高温高压領域によってタンパク質が分解される領域の大きさの測定をおこなった。さらに、タンパク質の分解反応に対する照射レーザーのパルス幅の効果を調べた。

【実験】 10^{-2} M の SDS を含む水溶液中に直径 2 nm の金微粒子を作製した。光学セル中の溶液に含まれる金微粒子やリゾチームの濃度を変えながらナノ秒パルスレーザー (17mJ / pulse、10 Hz) を照射した。そして、この溶液を電気泳動にかけ、ゲル中のリゾチームのバンドの濃さ $I(t)$ からパルスレーザー照射時間に対するリゾチームの分解量を測定した。そして分解度 $\text{Deg}(t) = 1 - I(t)/I(0)$ を求め、これに $f(t) = 1 - \exp(-t/\tau)$ の関数をあてはめて、リゾチームの分解速度 $1/\tau$ を算出した。この分解速度が大きいほどタンパク質が分解される領域は大きいと考えられる。次にレーザーパルス幅の効果を調べるために、パルスエネルギー一定の条件で (0.1 ~ 1mJ / pulse) フェムト秒 (200 fs, 400 nm) とナノ秒 (10 ns, 532 nm) レーザー照射の場合についてタンパク質の分解反応を比較した。

【結果と考察】 ナノ秒パルスレーザー照射を繰り返しても、金微粒子は何回でも高温高压領域を生成し、リゾチームを分解することを確認した。次にリゾチームの分解速度はリゾチームの濃度に依らないことを確認した。これは、溶液中に溶解しているリゾチームのうち、高温高压領域内に存在するものだけが分解されたことを示す。また、金微粒子濃度が小さいときは、濃度に比例してリゾチームの分解速度は大きくなるが、金微粒子濃度が 6 nM より高いと、リゾチームの分解速度がほぼ一定値となった。これは金微粒子濃度が高いと照射パルスレーザーが金微粒子によって吸収されるため、有効にレーザー照射される金微粒子の割合が小さくなるためと考えられる。さらに金微粒子の濃度が 18 nM より高くなると、リゾチームの分解速度が低下した。これは高温高压領域が重なりあって、リゾチームの分解効率が落ちたためと考えられる。そこで、金微粒子濃度とリゾチームの分解速度が比例関係にある部分のデータ (図 1) を用いて、タンパク質が分解される領域の大きさを算出した。光学セル中の溶液を体積を V_1 (m^3)、溶液中のレーザーが照射されている領域の体積を V_2 (m^3)、1 個の金微粒子近傍でタンパク質が分解される領域の大きさを V_3 (m^3)、金微粒子の濃度に対

するリゾチームの分解速度の比例係数を A ($\text{min}^{-1} \cdot \text{m}^3$) とすると、 $600V_2V_3/V_1 = A$ の関係が成り立つ。これより、金微粒子近傍に生じるタンパク質が分解される領域の直径は約 100 nm であることが分かった。

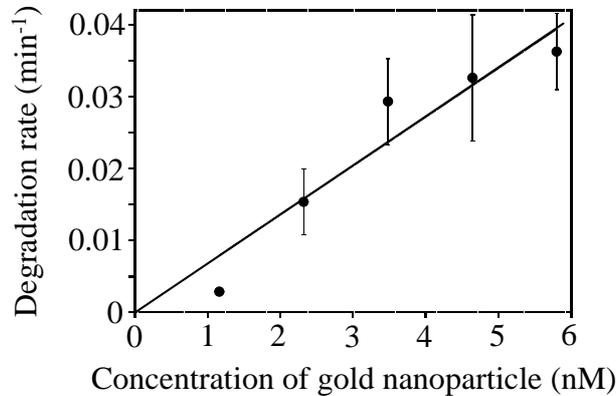


図1 金微粒子濃度とリゾチームの分解速度

フェムト秒とナノ秒のレーザー照射の場合のタンパク質の分解反応に関しては、 0.1 mJ / pulse の場合は両者ともリゾチームは分解されなかった。これは、両者ともリゾチームが分解されるほどの高温高圧領域が生じなかったためと考えられる。 1 mJ / pulse の場合はフェムト秒レーザー照射の方が、リゾチームが効率よく分解された (図2)。この原因の一つとして、熱拡散が考えられる。水の温度伝導率 (diffusivity of heat) は $3.7 \times 10^{-8} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$ であり、上記で求めたタンパク質が分解される領域の大きさを熱が金微粒子表面から拡散する時間は約 25 ns となる。したがって、ナノ秒レーザー照射の場合には、照射中にも熱拡散が起こってしまい、リゾチームの分解反応が起こる高温高圧領域が小さくなることが考えられる。

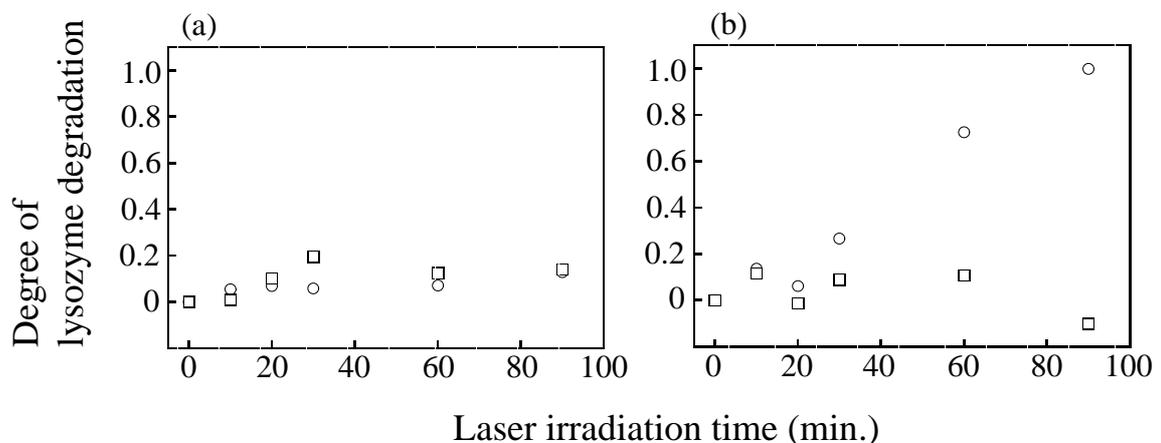


図2 フェムト秒 (○) とナノ秒 (□) のレーザー照射の場合のタンパク質の分解反応
(a) 0.1 mJ / pulse (b) 1.0 mJ / pulse