

液滴分子線イオントラップ質量分析による 生体分子の気相反応過程

(コンボン研¹・豊田工大²) 河野 淳也¹, 近藤 保²

[序] 生体関連分子の気相中における構造、反応性などを調べることを目的とし、液滴分子線赤外レーザー蒸発法による溶液からのタンパク質分子の気相単離研究を進めている。一方、気相単離した分子の性質を調べるためには、手法により数ミリ秒以上の時間が必要となる。これまで、液滴分子線法を開発し、高真空下に直接導入した液滴に赤外レーザーを照射、蒸発させ、水溶液からタンパク質分子を気相単離した。本研究では、このようにして生成した気相中のタンパク質イオンを所定の時間気相中にトラップする装置を開発した。

[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。円筒形のリング電極とそれをはさむ円板型エンドキャップ電極からなるイオントラップ^[1]の中に液滴分子線を導き、水の OH 伸縮振動に共鳴するナノ秒中赤外レーザー (波数 3400 cm^{-1} 、 $\sim 12 \text{ mJ/pulse}$) を照射した。150 - 1200 kHz の RF 電場をリング電極に与えることにより、気相中に生成したイオンを所定の時間 (トラップ時間、0 - 400 ms) トラップした。その後、RF 電場を切ると同時にエンドキャップ電極にパルス電圧を与え、生成イオンを飛行時間型質量分析装置により分析した。中赤外レーザーは 10 Hz の繰り返し周波数に最適化されている。そのため、トラップ時間を 100 ms 以上にする場合にはソレノイド駆動のチョッパーを用い、レーザーのパルスを間引いて使用した。試料として 10 μM のリゾチーム (Lys、分子量 14,400) 水溶液を用いた。

[結果] トラップ時間を 1 ms、RF 周波数を 300 kHz としたときに得られた質量スペクトルを図2に示す。質量スペクトル中のピークは、水和プロトン化リゾチームイオン、 $[\text{Lys} \cdot n(\text{H}^+)](\text{H}_2\text{O})_m$ ($n = 2-7$) に帰属することができた。質量スペクトルの分解能が十分高くないため、水和数の異なる生成イオンを分離して観測することはできなかった。RF 電場の周波数を上げると、より質量数の小さなイオンのみがトラップされた。図に示すようなリゾチームイオンを観測するためには、150 - 300 kHz の周波数が適していた。

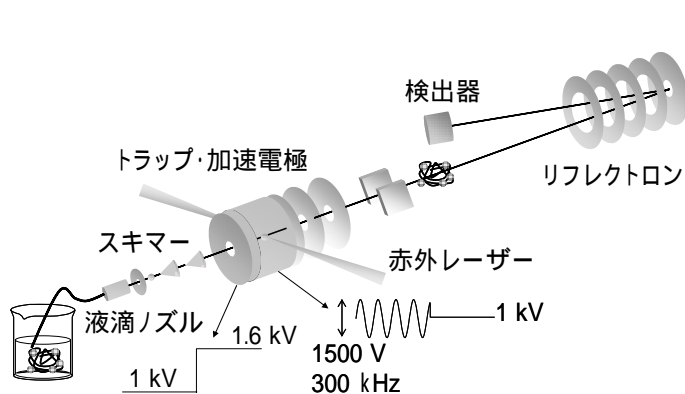


図1 イオントラップ型液滴分子線レーザー蒸発質量分析装置の概略図

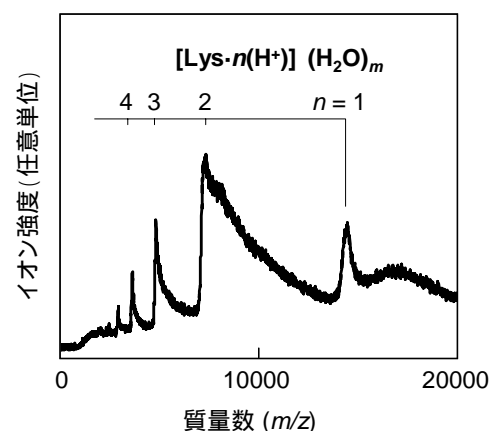


図2 10 μM の Lys 水溶液液滴分子線より得られた質量スペクトル。トラップ時間は 1 ms。

RF周波数を300 kHzとし、トラップ時間を0から50 msに変化させたときに得られた質量スペクトルを図3に、そこから得られた各ピークの強度を図4に示す。トラップ時間が0.1 ms以下のときはイオン強度が弱く、質量スペクトル上にピークが得られなかった。トラップ時間の増加とともにイオン強度が増加し、ピークの分離した質量スペクトルが得られた。イオン強度はトラップ時間0.5 ms程度まで増加し、その後ほぼ一定値を示した。図5には、RF周波数を150 kHzとしたときのイオン強度のトラップ時間依存性を示す。400 msのイオントラップができたが、強度はトラップ時間の増加とともに減少した。

[考察] リゾチーム分子の等電点は11であり、水溶液中でプロトン化している。イオンが存在する溶液からは赤外レーザーアブレーションによって溶液中のイオンが観測される[2]ことから、観測されたイオンは、溶液中のプロトン化リゾチームが気相単離されたものであると考えられる。一方、トラップ時間が0.5 ms以下のとき、トラップ時間の増加とともにイオン強度が増加した。このことは、赤外レーザー照射後に生成したプロトン化リゾチームは並進エネルギーが大きく、検出器に入るまでに時間、空間的に広がるのに対して、0.5 ms以上トラップした場合には、周囲の気体(液滴分子線より生成した水蒸気)との熱化によって並進エネルギーを失い、同広がりが小さくなるとして説明することができる。一方、図5でトラップ時間100 ms以上においてイオンの減少が観測された。イオントラップ効率の改良がさらに必要である。

[1] K. Kumondai et al, J. Mass Spectrom. Soc. Jpn. 50, 217 (2002).

[2] J. Kohno et al, Chem. Phys. Lett. 420, 18-23 (2006).

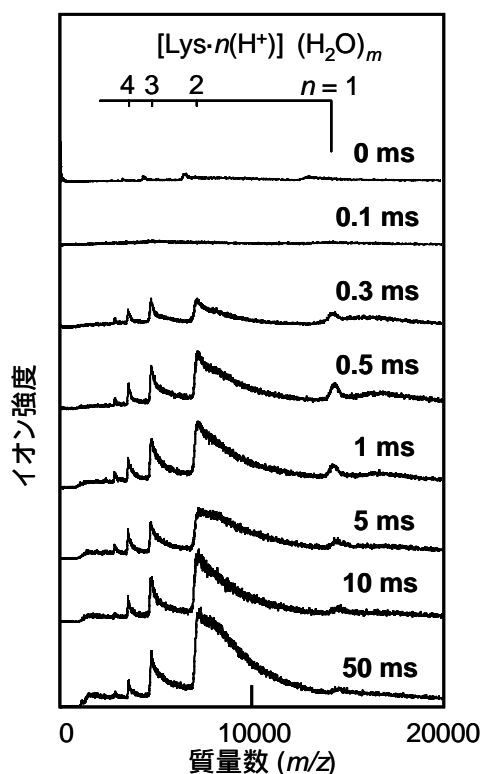


図3 質量スペクトルのトラップ時間依存性。

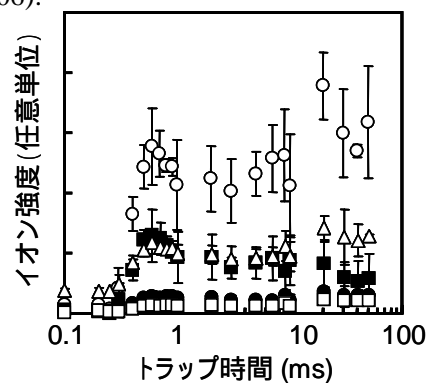


図4 $[Lys \cdot n(H^+)](H_2O)_m$ のイオン強度のトラップ時間依存性。(RF: 300 kHz)
 : $n=1$, : $n=2$, : $n=3$,
 : $n=4$, : $n=5$

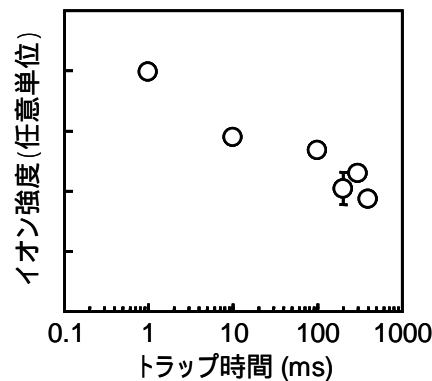


図5 $[Lys \cdot n(H^+)](H_2O)_m$ のイオン強度のトラップ時間依存性。(RF: 150 kHz)