

**[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および気相反応の研究を進めている。

**[1,2]** 一方、気相単離した分子の性質を調べるためには、タンパク質イオンを質量選別し、プローブとなる反応によるイオンの変化を長時間観測する必要がある。これまでの研究で、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イオンを気相単離した。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気相中にトラップし、SWIFT (Stored Waveform Inverse Fourier Transform)法を用いて質量選別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。ピエゾ素子駆動のノズルを用いて、直径 70  $\mu\text{m}$  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 ( $1.2 \times 10^{-6}$  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  $3400 \text{ cm}^{-1}$ 、 $\sim 12 \text{ mJ/pulse}$ ) を照射し、液滴分子線からプロトン化タンパク質イオンを気相単離した。イオントラップの電極には、直流 1 kV の電圧を与えた。また、リング電極には 300 kHz、1.5 kV<sub>pp</sub> の RF 電場を与え、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。既報[3]に従って SWIFT パルス波形を計算し、信号発生器 (NF 回路設計ブロック、WF1973) により 20 V<sub>pp</sub> の電圧波形を生成した。SWIFT パルスは、特定の周波数 (ノッチ周波数) を除く広範囲 (5-1100 kHz) の周波数成分を持つ。ノッチ周波数でイオントラップ内を運動するイオン以外は、このパルスによりトラップ外へと排除される。トラップ時間の間に、SWIFT パルスをイオントラップの引き出し側エンドキャップ電極に与え、イオントラップ中のイオンのうち、特定の質量電荷比を持つもの以外を排除した。その後、RF 電場を切ると同時に加速側エンドキャップ電極に 600V のパルス電圧を与え、生成イオンを飛行時間型質量分析装置により分析した。試料として 10  $\mu\text{M}$  のリゾチーム (Lys、分子量 14,400) 水溶液を用いた。

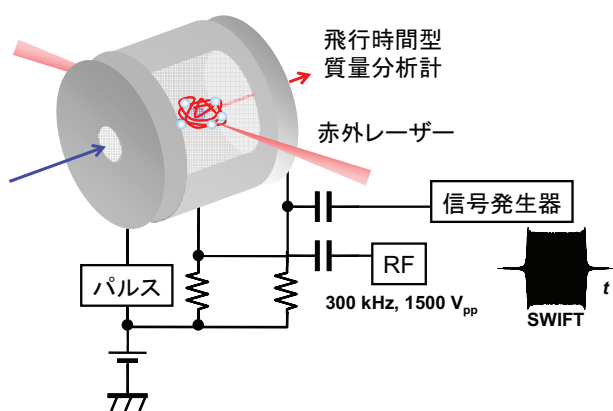


図1 液滴分子線レーザー蒸発・イオントラップ SWIFT 質量分析装置の概略図

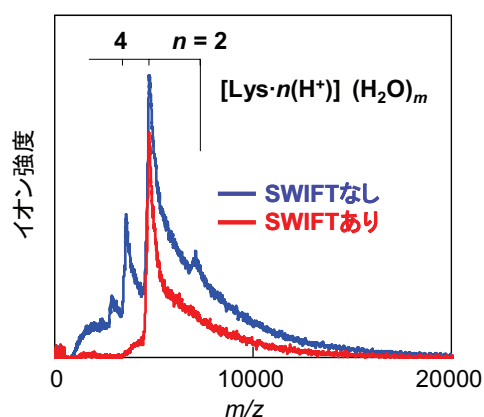


図2 10  $\mu\text{M}$  の Lys 水溶液液滴分子線より得られた質量スペクトルの SWIFT パルスの有無による変化。トラップ時間は 30 ms。

**[結果]** 図2に、トラップ時間を30 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、およびそこにノッチ周波数15 kHz(幅5 kHz)のSWIFTパルスを与えた場合の質量スペクトルを示す。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。図2から、SWIFTパルス印加により、3価のイオン、 $[\text{Lys}\cdot 3(\text{H}^+)](\text{H}_2\text{O})_m$ のみが選別されてイオントラップ内に残っていることがわかる。質量スペクトルのノッチ周波数依存性を図3に示す。図3から、ノッチ周波数の増加に伴って、より質量電荷比の小さなイオンが選別されていることがわかる。また、もっとも大きな強度を持つ $[\text{Lys}\cdot 3(\text{H}^+)](\text{H}_2\text{O})_m$ のピークは、他のイオンを選別する条件においても排除しきれなかった。

**[考察]** イオントラップ内での赤外レーザー蒸発によって、液滴分子線からプロトン化リゾチーム分子イオンが生成する。生成したイオンは、リング電極に印加されているRF電場によりトラップされる。トラップ内においてイオンはRF電場により振動している。円筒対称であるトラップの動径方向を $r$ 、軸方向を $z$ とする。このとき、 $z$ 方向のイオンの振動の角周波数 $\omega_z$ は(1)式で与えられる。[4]

$$\omega_z = \frac{\sqrt{2} e V_{pp}}{m(r_0^2 + 2z_0^2)\Omega} \quad (1)$$

ここで、 $m/e$ は質量電荷比、 $V_{pp}$ はRF電圧、 $r_0$ 、 $z_0$ はそれぞれ $r$ 、 $z$ 方向のイオントラップ中心から電極までの距離、 $\Omega$ はRFの角周波数である。SWIFT法においては、ノッチ周波数と等しい $\omega_z$ となる質量電荷比をもつイオンのみがトラップされる。図3から、SWIFTパルスの有無によるイオンの強度比を求め、SWIFTパルスによって選別される平均の質量数を求めた。その結果を図に示す。図4中の計算値は、(1)式により与えられたものである。図4で計算値と実験値が近い値をとることから、円筒電極を用いた本装置においても、理想的双曲面の計算が適用可能であることがわかる。したがって、目的とするイオン種のみをイオントラップ内にトラップする条件が設定可能となった。

[1] J. Kohno et al, Chem. Phys. Lett. 420, 18 (2006).、[2] J. Kohno et al, Chem. Phys. Lett. 463, 206 (2008).  
[3] L. Chen et al, Anal. Chem. 59, 449 (1987).、 [4] R.E. March, J. Mass Spectrom. 32, 351 (1997).

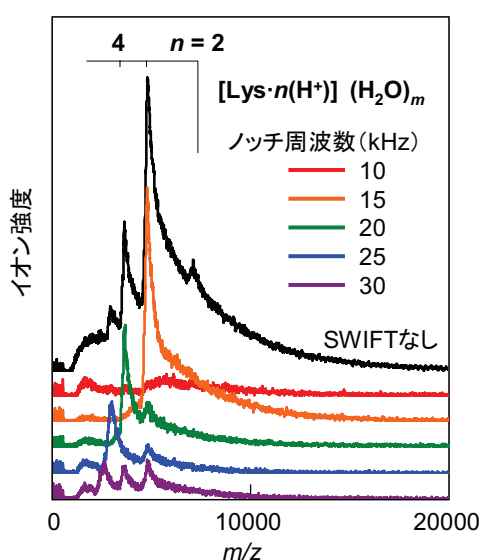


図3 液滴分子線レーザー蒸発・イオントラップ SWIFT 質量分析により得られた質量スペクトルのノッチ周波数依存性。

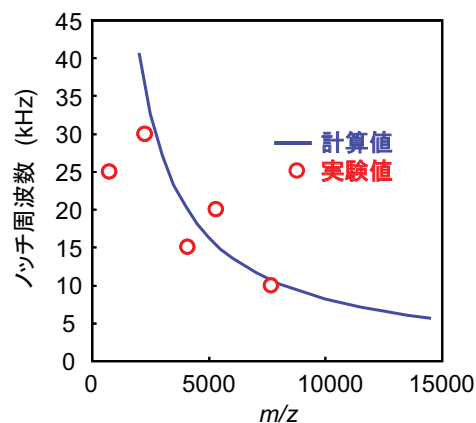


図4 質量選別されるイオンの質量電荷比と SWIFT 法のノッチ周波数の関係。