

2P018

核酸塩基関連分子のレーザー脱離パフォーマンスの改善： サンプルとマトリクス粒子のサイズ調整

(横浜市大院・生命ナノ¹, 名大院・情報科学², 愛工大・工³)

○塚島史朗¹ 浅見祐也¹ 元田彩香² 塚本眞幸² 早川芳宏³ 三枝洋之¹

[序] 我々はこれまで、レーザー脱離-超音速分子線法を用いて、加熱気化では分解しやすい核酸塩基関連分子を非破壊的に気化し、その微細構造解析を行ってきた。従来、サンプルとマトリクスの混合均一性、脱離レーザー光の強度およびサンプル回転速度の3つの条件を最適化し、レーザー脱離効率の大幅な改善に成功した。**[1]** しかし尿酸においては、従来の手すりの混合では均一性が低く、脱離量が少ない点が問題であった。

そこで本研究では、サンプルとマトリクスの粒子サイズの違いに着目して、これらを微細化し、さらに均一化することで、更なる脱離効率の改善を試みた。またサンプル結晶中に含まれる塩を除くことで、非破壊的脱離能が向上する可能性を検討した。

[手法] マトリクス粒子の微細化：ミキサーミル (Retsch 社 MM400) を用い高速振動粉砕することで、市販のグラファイト(25 μ)を数 μ 程度まで粉砕した。また長時間手ですり潰したグラファイトと粒子サイズを比較するため、走査型電子顕微鏡 (SEM) による観察を行った。また、これらのグラファイトをマトリクスとして尿酸 (UA) とミルで混合し、ペレットを作成した。

脱塩処理：市販グアノシン (Gs) を水に溶かし、アセトニトリルで共沸・真空乾燥させ脱塩を行った。こ

の試料をグラファイトマトリクスと手すりで混合し、ペレットを作成した。

測定：図1に示すチャンネル型レーザー脱離装置**[2]**を用いてペレットを脱離気化し、超音速ジェット冷却法により分子を孤立気相化させた。得られた極低温分子を二光子共鳴イオン化 (R2PI) し、TOF-mass スペクトル、電子スペクトル、及び赤外振動スペクトルを測定した。

[結果] マトリクス粒子の微細化による S/N 比の改善：図2に、手すりとミルで粉砕したグラファイトをそれぞれ用いて測定した UA 単量体の R2PI スペクトルを示す。両者を比較すると、手すりのグラファイト(25 μ)を用いた場合には、一つのブロードなスペクトルが観測されたが、ミルで粉砕したグラファイト(2 μ)を用いた場合には、34000~34300 cm^{-1} の領域に再現性のあるシャープな振電バンドが観測された。また 34500 cm^{-1} 付近で、手すりの場合は信号強度が上がらなくなるが、ミルの場合は再現性のあるピークがみられた。このことは、マトリクス粒子の微細化がスペクトルの S/N 比に大きく寄与していることを示唆する。

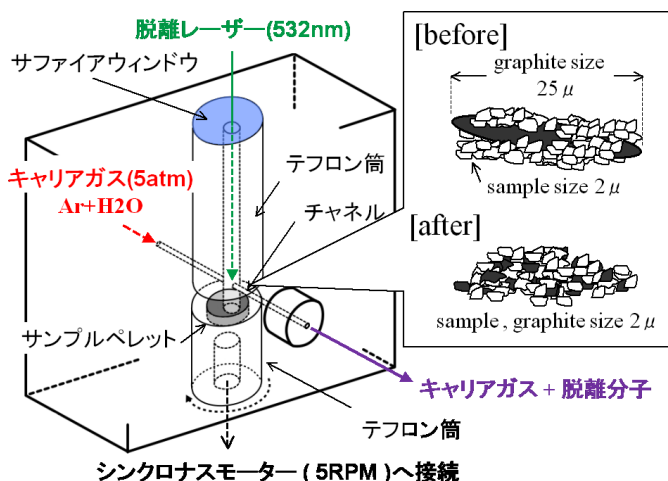


図1. チャンネル型レーザー脱離装置とマトリクス改良のモデル図。従来使用していたグラファイトマトリクスの粒子サイズは25 μ 程度。高速振動粉砕により、サンプルと同程度の2 μ まで微細化した。

従来の手すりによる粉碎では、市販のマトリクス粒子を十分に微細化することができなかったため、サンプル粒子サイズのみを小さくしていた。しかしながら、ミルによる粉碎では、マトリクスもサンプル粒子と同サイズまで微細化することが可能であった。このため、図1のモデルに示すように、従来よりもサンプルとマトリクスの均一性を大幅に向上させる

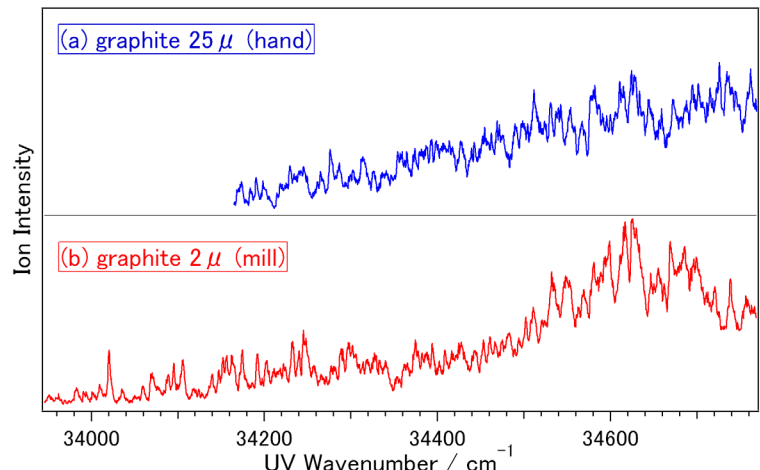


図2. UA単量体のR2PIスペクトル。(a)手すりのグラファイトを用いたサンプル、(b)ミルで粉碎グラファイトを用いたサンプル。

ことができ、脱離効率の大幅な改善に繋がったと考えられる。この改良により、赤外振動スペクトルの測定にも成功し、UA単量体及び一水和物の安定構造が明らかとなった。[3]

試料調整法：図3に市販と脱塩したGsのTOF-massスペクトルの比較を示す。両者を比較すると、脱塩したGsは市販のものに対し、脱離レーザー強度が半分程度で、同程度の単量体イオン(Gs⁺)の信号が観測され、高次クラスターや水和物の生成量も増加した。このことは、結晶中に含まれる塩がレーザー脱離過程に影響していることを示唆しており、この塩を除くことにより脱離効率が向上したと考えられる。

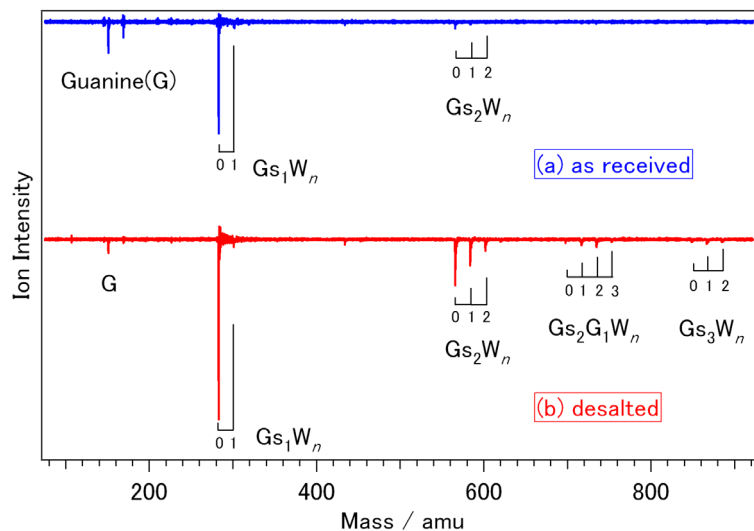


図3. GsのTOF-massスペクトル。(a)市販のGs、(b)水に溶かし共沸、真空乾燥により脱塩したGs。

また脱塩処理したGsは、市販のものに比べフラグメントイオン(guanine)の生成量が少なかった。これは、結晶中に含まれている塩が脱プリン化反応を促進しており、この塩を除くことで、非破壊的脱離能が向上した可能性を示唆している。

以上のことから、サンプルの脱塩とマトリクス粒子サイズの微細化がレーザー脱離パフォーマンスの向上に繋がることを初めて明らかにした。今後、この手法を応用した生体分子高次クラスター安定生成への展開が期待される。

【文献】

- [1] 水野、浅見、三枝、本討論会 2007, 2P039.
- [2] H. Saigusa, *J. Photochem. Photobiol. C: Photochem. Rev.*, 2006, 7, 197.
- [3] 浦島、浅見、三枝、本討論会 2011, 2A09.