

3P026

液滴分子線赤外レーザー蒸発法を用いて気相単離したタンパク質分子の荷電状態分布

(学習院大学自然科学研究科) ○小松憲介, 長坂茉莉子, 河野淳也

Charge state of protein molecules in the gas phase produced by IR-laser ablation of droplet beam

(Gakushuin Univ.) ○Kensuke Komatsu, Mariko Nagasaka, Jun-ya Kohno

【序】タンパク質は水溶液中で機能する。タンパク質の機能に対する溶媒効果を明らかにするためには、タンパク質分子を気相単離し、溶媒効果を分離した分子本来の性質について調べる必要がある。そのため、液滴分子線法によりタンパク質溶液を直接高真空中に導入し、赤外レーザー蒸発法によりタンパク質分子を気相単離した。気相単離によるタンパク質分子への影響について明らかにするため、これまでの研究でリゾチーム分子の溶液中と気相単離中での荷電状態を調べた。本研究ではウシ血清アルブミン分子 (BSA) を試料として用いて、pH の異なる溶液から気相単離されたイオンの荷電状態を調べ、溶液中の荷電状態との関係を考察する。

【実験】20 μM BSA 水溶液に HCl (10-5000 μM)、および NaOH (10-1000 μM) を加えることにより水溶液中の BSA 分子の荷電状態を変化させて実験を行った。ピエゾ素子駆動のノズルによって、直径約 70 μm の試料液滴を大気中に生成した。生成した液滴を 3 段階の作動排気を用いて高真空下 ($\sim 2 \times 10^{-6}$ Torr) に導入し、液滴分子線とした。飛行時間型質量分析計の加速領域に到達した液滴に、溶媒である水の O-H 結合の伸縮振動に共鳴する 3590 cm^{-1} の赤外レーザー光 (~ 15 mJ pulse $^{-1}$) を集光して照射し、溶液中のイオンを気相単離した。パルス電場の極性を反転させ、正負両方の気相単離イオンの質量スペクトルを測定した。

【結果】図 1 に BSA 20 μM の溶液および、HCl 100 μM 、NaOH 100 μM を加えた混合溶液から得られた正イオン質量スペクトルを示す。質量スペクトルには、多価 BSA イオン ($[\text{BSA}^{n+}], 1 \leq n \leq 5$) が観測された。図 1 から、気相正イオン強度は溶液に HCl を添加すると

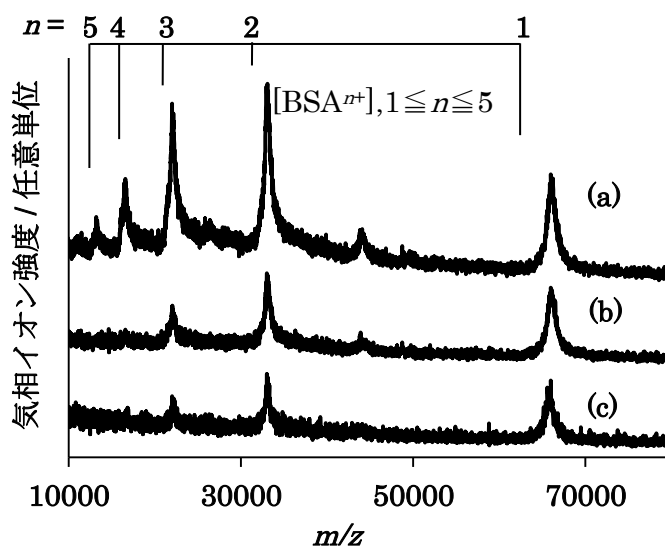


図 1 BSA 20 μM 水溶液から得られた正イオン質量スペクトル
(a) BSA 20 μM + HCl 100 μM
(b) BSA 20 μM
(c) BSA 20 μM + NaOH 100 μM

増加し、NaOH を添加すると減少することが分かる。一方、BSA 負イオンを同様に観測したところ、BSA 負イオンでは HCl を添加するとイオン強度は減少し、NaOH を添加すると増加することが分かった。これらのピークの面積を足し合わせ、全イオン強度とした。全イオン強度の溶液の pH 依存性を図 2 に示す。pH3~7 の領域で pH の増加とともに正イオンの強度は増加し、負イオンの強度は減少した。

【考察】 pH が低い溶液ではタンパク質の側鎖のプロトン化により溶液中の陽イオン濃度が増加する。一方、pH の高い溶液では陰イオンの濃度が増大する。本実験では赤外レーザー蒸発によってこれらの溶液中のイオンが気相単離されているために、それぞれの溶液から生成する正、負イオンの強度が増大するものと考えられる。

溶液中および気相中の BSAⁿ⁺イオン量の電荷数 n に対する依存性を図 3 に示す。溶液の pH が高くなるにつれ溶液の荷電状態分布は低価数へシフトする。気相においても同様の傾向があるが、電荷数は溶液中よりも少なかった。この事実は赤外レーザー照射によってナノメートルサイズの液滴が生成し、そこに含まれるイオン種が会合体として観測されると考えるナノ液滴モデルによって説明することが出来る。

発表では、ナノ液滴モデルを用いて荷電状態分布を定量的に解析し、イオンの気相単離過程を考察する。

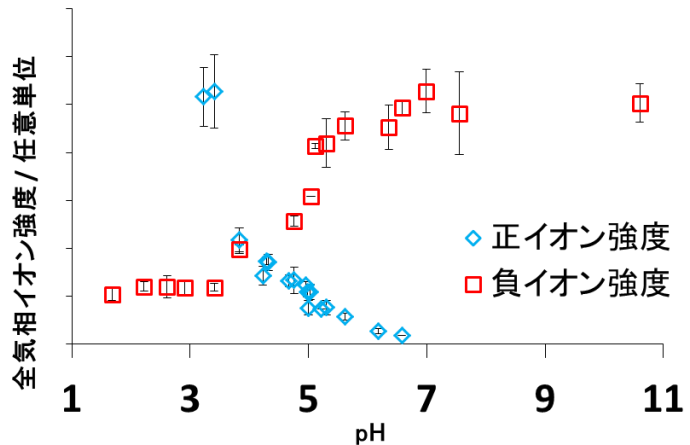


図 2 BSA20 μM 溶液から得られた、気相の正イオン負イオン強度の pH 依存性

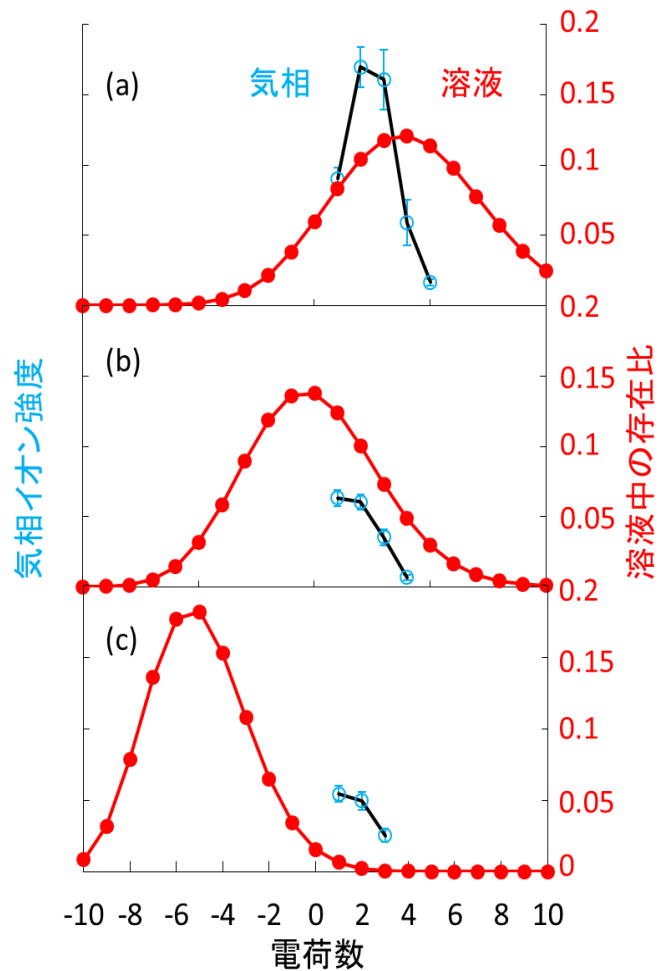


図 3 BSA20 μM + HCl / NaOH 溶液中のイオン(●)、気相単離した正イオン(○)の荷電状態分布
(a) BSA20 μM + HCl100 μM
(b) BSA20 μM
(c) BSA20 μM + NaOH100 μM