

## 新規レーザー脱離分光法の開発と生体分子の気相分光

(東工大資源研) ○石内 俊一

Development of new laser desorption supersonic jet spectroscopy  
and its application to gas phase spectroscopy of biomolecules

(Chemical Resources Laboratory, Tokyo Institute of Technology) Shun-ichi Ishiuchi

極低温孤立気相状態を実現する超音速ジェット法は、精密な分子構造や励起状態ダイナミクスを分光学的に研究する上で理想的な環境を提供し、その出現以来、分子分光学の牽引役の一翼を担ってきた。これまでは、比較的剛直な分子やそれらを含む分子クラスターの研究が精力的に進められてきたが、生体分子の様な柔軟な分子への適用は限定的であった。それは、これらの分子が不揮発性・熱分解性であるため加熱による気化が困難だからである。本研究では独自のレーザー脱離超音速ジェット法を開発し、多数のコンフォメーションを取り得る柔軟な分子の精密な構造研究を可能にした。この方法をカテコールアミン神経伝達物質やペプチドに適用し、コンフォメーションの系統的理解や柔軟性に新たな概念を導いた。

## 1. 新規レーザー脱離超音速ジェット法の開発

レーザー脱離超音速ジェット法(図1)は2000年頃から複数の分光研究者によって利用されている。従来法では、試料分子とグラファイトの混合物に脱離レーザーを照射し、脱離・気化された試料分子にパルスバルブより噴射した数気圧の希ガス原子を衝突させ、極低温孤立状態を得る。複数のコンフォメーションを取る分子では、各コンフォマーに由来する多数のバンドが重畳して1つの電子スペクトル上に観測されるため、それらの正確な帰属のためには、S/N比の高い電子スペクトルの測定が不可欠である。しかし、従来法では十分なS/N比のスペクトルを得るのは困難で、誤った結論の報告例が多い。本研究では、金ナノ粒子やカーボンブラック等のナノ構造材料をマトリックスに用い、高圧のジェット噴射を用いる新規レーザー脱離超音速ジェット法を開発し、脱離・冷却効率の改善によりスペクトルのS/N比を格段に向上させ、実験手法の可能性に質的变化をもたらした(図2) [1]。

## 2. カテコールアミン神経伝達物質

カテコールアミン神経伝達物質はドーパミンやアドレナリンなどに代表的される神経伝達物質の一群であり(図5最下段)、それぞれ固有のレセプタータンパク質と選択的に結合する事により神経シグナルが伝達される。この過程はしばしば「鍵と鍵穴」に例えられ、DNA塩基対の様に特異的な水素結合が形成されると予想される。しかし、カテコールアミンはDNA塩基とは異なり複数の単結合をもつため、多数のコンフォメーションをとり得る。その中の特定のコンフォメーションのみがレセプターと結合できるはずで、分子認識過程ではコンフォメーションが柔軟に変化する必要がある。そのような柔軟性が分子固有の性質とどのように結びつくのかを明らかにするために、気相分光の手法を用いてカテコールアミ

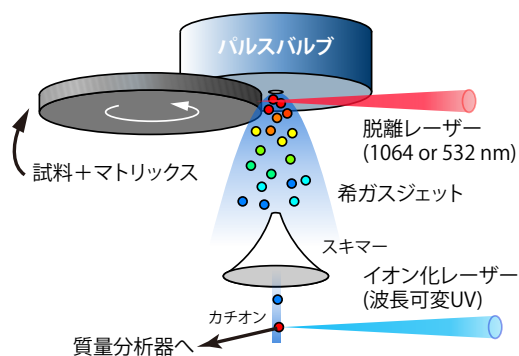


図1 レーザー脱離・超音速ジェット法

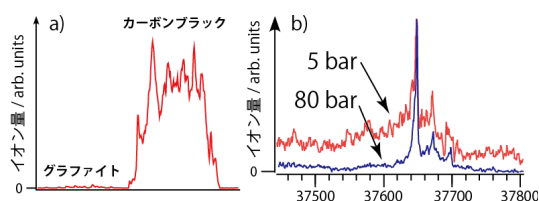


図2 a) チロシンの脱離効率のマトリックス依存性と、b) SIVSFペプチドの電子スペクトルの押し圧依存性

グラファイトだとほとんど脱離しない条件でもカーボンブラックでは強い信号が観測される(a)。また80 barでは5 barのときに観測されるブロードバックグラウンド(ホットバンド)が消滅する(b)。

ン及び関連分子のコンフォメーションを調べた。ドーパミンの前駆体であるドーパに対してレーザー脱離超音速ジェット法を適用し、共鳴多光子イオン化 (REMPI) スペクトルを測定した例を図3 aに示す[2]。複数のコンフォマーが共存する場合、REMPIス

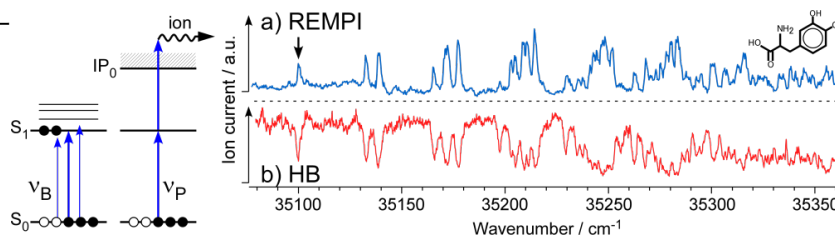


図3 UV-UVホールバーニング (HB) 分光法の原理 (左) とa) ドーパのREMPI及びb) HBスペクトル

ペクトルにはそれぞれの異なる電子遷移が観測されるが、このままではいくつのコンフォマーが共存するのか、どのバンドがどのコンフォマーに由来するのかは分からない。これらを区別するためにUV-UVホールバーニング (HB) 分光法が有効である (図3左)。この方法では、まず第1のUVレーザー $\nu_P$ をREMPIスペクトルに観測された特定のバンドに固定し、生成するイオン量をモニターする。このイオン量はそのバンドを与えるコンフォマーの基底状態の分子数に比例する。ここに第2のUVレーザー $\nu_B$ を照射し波長掃引する。 $\nu_B$ がモニターしているコンフォマーの電子遷移エネルギーに一致し電子励起が起こると、基底状態の分子数が減少するためイオン量も減少する。従って、特定のコンフォマーの電子遷移をイオン量の減少として観測でき、コンフォメーションを区別した電子スペクトルを測定できる。図3 aの矢印のバンドに $\nu_P$ を固定して測定したHBスペクトル (図3 b) はREMPIスペクトルとよく一致しており、REMPIスペクトル中の全てのバンドは共通のコンフォマーに由来する事が判明した。つまりドーパでは単一のコンフォマーしか観測されない。フェノールOH基が1つ

少ないチロシンでは12種のコンフォマーが観測される[3]事と比較すると、これは驚くべき結果である。他のカテコールアミン及び関連分子でも同様の測定を行い、各分子のコンフォマー数を調査した (図4) [4]。図中の各列はアミン鎖が共通、各行では芳香環部分が共通である。最上段にある数字は各アミン鎖のコンフォメーション数を示し、これは1行目のモノ置換ベンゼンのコンフォマー数に一致する。最左列の数字は各ヒドロキシベンゼンにおけるOH基の可能な配向の数を示している。カテコールアミン以外では、アミン鎖とOH基のコンフォマー数の積がその分子のコンフォマー数に等しいというpropensity ruleが成立している。一方、カテコールアミンではその規則は成立せず、予測される数より遥かに少ない。即ち、神経伝達物質カテコールアミンはとり得るコンフォマーが大きく限定される、という性質がある事を発見した。

	amino-acid 6	ethylamine 4	aminoethanol 2	methylaminoethanol 3
phenyl 1	 phenylalanine 6 (CPL, 32L, 49)	 PEA 4 (UACS, 11B, 5086)	 APE 2 (JPCA, 103, 9706)	 MAPE 3 (JPCA, 103, 1050)
4-hydroxy-phenyl (p-phenol) 2	 tyrosine 12	 tyramine 7	 octopamine 4	 synephrine 6
3-hydroxy-phenyl (m-phenol) 4	 m-tyrosine >14	 m-tyramine 14	 m-octopamine 8	 phenylephrine 12
3,4-dihydroxy-phenyl (catechol) 4	 dopa 1	 dopamine 4	 noradrenaline 3	 adrenaline 4

図4 カテコールアミン (最下段) 及び類似体の気相中でのコンフォマー数 (ref表示のないものは本研究による)

カテコールアミンでは特定のコンフォマーが際立って安定なのではないかと予想されるが、量子化学計算によると他の関連分子と比較してその様な事はなかった。つまり、カテコールアミンのコンフォマー数が少ない事は平衡論では説明できない。現時点では、カテコールアミンで観測されるコンフォマーが少ないのは、コンフォマー間の変換速度が速くジェット冷却過程でより安定なコンフォマーに変換される、言い換えると、カテコールアミンは速度論的に柔軟なためではないかと考えている。

参考文献 [1] CP, 419, 145. [2] JPCL, 1, 1130., PCCP, 13, 7812. [3] PCCP, 15, 5163. [4] JPCA, 112, 13463., JPCA, 115, 10363., CL, 42, 1166.