4P032

対イオンの過剰付着により生成するタンパク質気相イオンの観測

(学習院大学) ○小松 憲介、長坂 茉莉子、河野 淳也

Observation of gas-phase protein ion produced by excess attachment of counter ions

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

[序] 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ている。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溶液中のタンパク質分子イオンを気相単離した。これまでの研究で、ウシ血清アルブミン(BSA)イオンの気相単離を行い、質量スペクトルを測定した(図 1)。得られた気相全イオン強度の pH 依存性を測定したところ、溶液中に BSA 負イオンが多く存在する条件において気相 BSA 負イオンの強度も強くなることがわかった(図 2)。しかし、溶液中のイオンが完全に負に帯電しており、反対電荷をもつ正イオンが存在しない pH 条件においても、気相単離イオンとして一定量の BSA 正イオンが検出されることが分かった(電荷反転イオン)。BSA 分子が反対極性の電荷をもつ場合も同様であった。このことは溶液中のイオンが気相単離により電荷反転していることを示す。本研究ではこの原因を考察する。

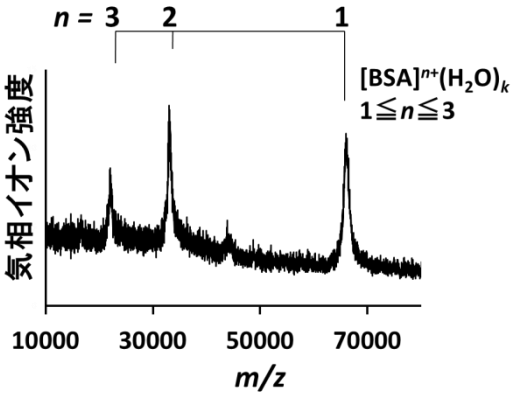

図 1　20μM BSA 水溶液から得られた正イオン質量スペクトル

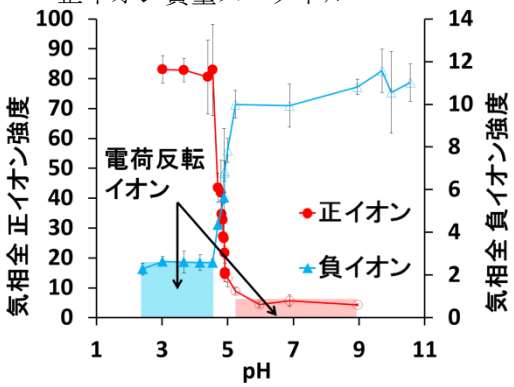

図 2 気相全イオン強度の pH 依存性

[実験] 試料として、20 μM の BSA 水溶液に(1) 500 μM HCl、(2) 200～250 μM NaOH、および(3) 250 μM NaOH と 100～1000 μM NaCl を加えた溶液を用いた。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 段階の差動排気を通して高真空下（~2×10^{-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 OH 結合の伸縮振動に共鳴する 3590 cm^{-1} の赤外レーザー光（2~15 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。

[結果] 図 3 は 20 μM の BSA 水溶液に(1) 500 μM HCl、(2) 200～250 μM NaOH を加えた溶液から得られたそれぞれ負、正イオンの強度の赤外レーザー強度依存性である。これらのイオンは電荷反転イオンである。図 3 は両対数プロットにおいて直線的な結果を示した。そこで、

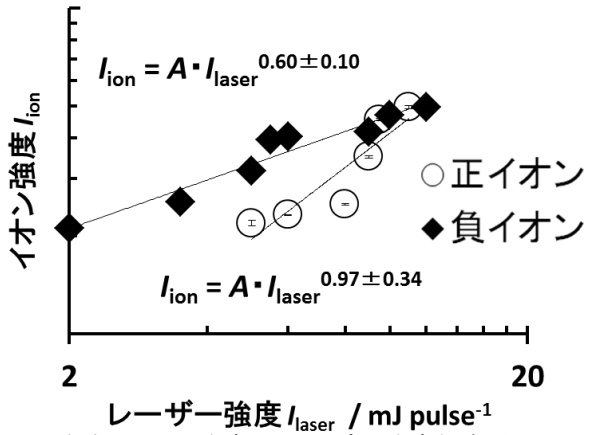

図 3 気相イオン強度のレーザー強度依存性
◆：HCl 添加溶液から生成した負イオン
○：NaOH 添加溶液から生成した正イオン

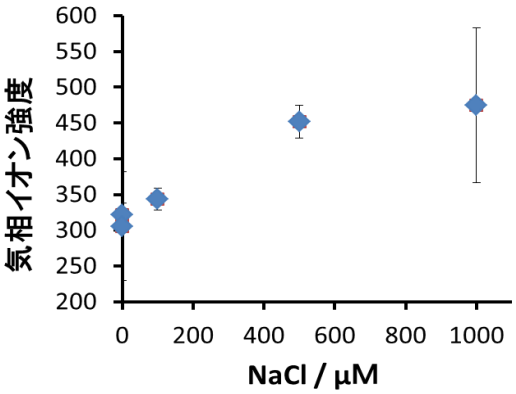

図 4 イオン強度の NaCl 濃度依存性

$I_{ion} = A \cdot I_{laser}^{n}$ (I_{ion}：気相イオン強度、I_{laser}：レーザー強度)・・・・・(1)

とおいて n を求めたところ、NaOH、HCl 添加溶液に対してそれぞれ、0.60±0.10、0.97±0.34 という値が得られた。これは電荷反転イオンの生成が 1 光子過程であることを示す。図 4 は 20 μM BSA + 250 μM NaOH + NaCl 溶液から得られた電荷反転イオンの強度の NaCl 濃度依存性である。NaCl 濃度の増加とともにイオン強度は増加した。

[考察] これまでの研究から、イオンの生成過程はナノ液滴モデルで説明できる。ナノ液滴モデルとは、赤外レーザー照射によってナノメーター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いうモデルである。

電荷反転イオンの生成過程のひとつの可能性として、水分子の赤外多光子吸収により生成する H^+または OH^-の BSA への吸着が考えられる。しかし、この過程は 4 光子以上を要する[1]。実験結果からイオン生成は 1 光子過程であることがわかり、本実験においては、溶液中に存在するイオンの会合によって電荷反転がおこっていることがわかる。

電荷反転について、図 5 に示すナノ液滴対イオン過剰モデルを考えた。250 μM NaOH 添加溶液中で BSA は平均-13 価の多価負イオンとなっている。溶液中の対イオン(Na^+)は BSA 多価負イオンの強い電場に引き付けられて吸着する。その結果、BSA 多価負イオンは中性に近くなる。気相単離の単位であるナノ液滴に、この中性 BSA 分子に加えてさらに対イオンを含む場合には、電荷が反転した気相イオンが観測されると考えられる。

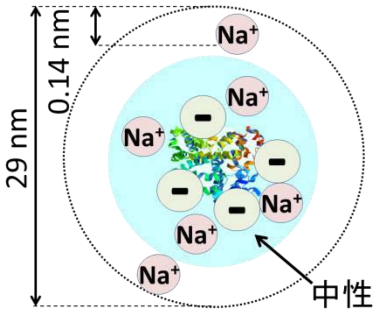

図 5 ナノ液滴対イオン過剰モデル

モデルを検証するため、溶液中に BSA 正イオンが存在しない BSA20 μM + NaOH250 μM 溶液に NaCl を添加して実験を行った(図 4)。その結果、NaCl の添加量を増やすにつれてイオン強度は大きくなった。NaCl の添加により中性 BSA の周囲の対イオン濃度は高くなる。対イオン濃度が高くなれば、ナノ液滴中に対イオンが入る確率は高くなるため、気相単離された電荷反転イオン強度は大きくなるはずである。よって、図 4 の結果から、ナノ液滴対イオン過剰モデルを確かめることが出来た。

[1] Jun-ya Kohno *et al*, Chem. Phys. Lett. 420 (2006) 18-23.