

## 2P010

### 液滴分子線赤外レーザー蒸発法によって気相単離した リゾチームに付着する対イオン効果

(学習院大学)○葦澤 拓哉、河端 里奈、浅見 祐也、河野 淳也

### Counter-ion attachment to lysozyme ion isolated in the gas phase by IR-laser ablation of droplet beam

(Gakushuin Univ.)○Takuya Nirasawa, Rina Kawabata,  
Hiroya Asami, Jun-ya Kohno

[序] タンパク質は生体中で周囲に存在する水分子や様々な化学種と相互作用し、分子クラウディング状態として機能している。しかしながら、タンパク質本来の性質を理解するためには、このようなクラウディング効果を排除した条件で分子の性質を調べる必要がある。本研究では、液滴分子線法を用いてタンパク質リゾチーム(Lz)の水溶液を液滴として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。また様々な濃度の HCl および NaCl を予め水溶液中に添加することで、気相イオンの価数が低下することがわかった。この価数の低下はナノ液滴モデルを用いて説明することができた。

今後様々な価数の気相単離イオンの紫外光解離スペクトル測定を計画している。その際 Lz の価数を制御する上で、本研究の結果は極めて重要な知見となる。またこの紫外光解離スペクトルの測定のため、イオントラップ装置を導入した[1]。トラップ条件を最適化することで、信号強度の弱い低価数の Lz も選択的にトラップできることがわかった。

[実験] 20  $\mu\text{M}$  の Lz 水溶液に 20  $\mu\text{M}$ ~50 mM の HCl または NaCl を加え、これをピエゾ素子駆動のノズルから直径約 70  $\mu\text{m}$  の液滴として大気中に射出した。生成した液滴を 3 段階の差動排気を通して高真空下中( $\sim 2 \times 10^{-7}$  Torr)に導入し、液滴分子線とした。飛行時間型質量分析計の平行電極かからなる加速領域に到達した液滴に、水の OH 結合の伸縮振動に共鳴する赤外レーザー光 ( $3586\text{cm}^{-1}$ ,  $2\sim 15\text{ mJ pulse}^{-1}$ ) を集光して照射し、溶液中の Lz イオンを気相単離した。一方、気相単離イオンのトラップにおいては、円筒状のリング電極とそれを挟むエンドキャップ電極からなるトラップ電極を加速領域に設置し、リング電極内部で液滴赤外レーザー蒸発を行った。気相単離されたイオンはリング電極に印加した 200 kHz~300 kHz, 1.5 kV<sub>pp</sub> の高周波電圧によって 5  $\mu\text{s}$ ~5 ms トラップした後、パルス電圧を印加したエンドキャップ電極によって加速し質量スペクトルを測定した。

[結果] Lz 20  $\mu\text{M}$  水溶液から得られた正イオンの質量スペクトル(a:トラップ導入前 b:1 ms トラップ)を図 1 に示す。質量スペクトル中のピークは  $\text{Lz}^{n+}$ ( $n=1\sim 5$ )に帰属でき

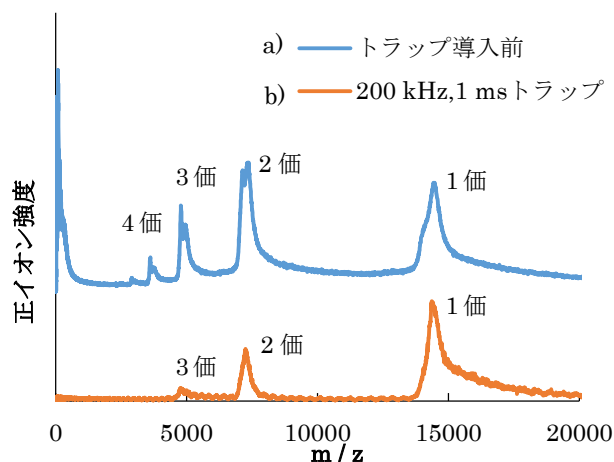


図 1. トラップ質量スペクトル比較.

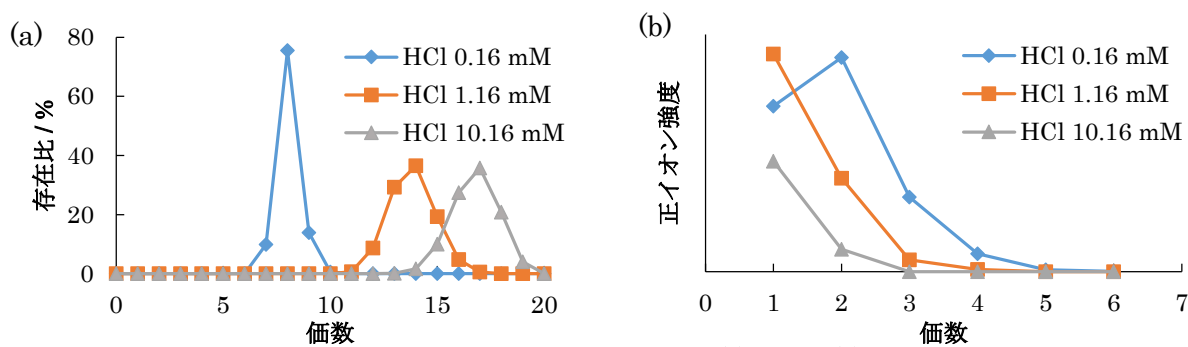


図 2. HCl 添加による荷電状態の変化. (a)溶液中, (b)気相中.

た。またトラップした場合、主に 1 価の Lz が検出された。図 2(a)に Lz 水溶液に HCl を加えた際の Lz の溶液中の荷電状態を、(b)に気相単離イオンの荷電状態を示す。(a)は Lz 側鎖の pKa から見積もった値である。溶液中では Lz がプロトン化され高価数にシフトすることがわかる。一方気相においては逆にイオンの価数が低い方にシフトしていく様子が観測された。この原因として、気相単離時に Lz へ対イオン( $\text{Cl}^-$ )が付着する可能性が考えられる。HCl 添加による Lz の価数変化の影響を調べるため、NaCl 添加時における Lz 正イオン強度の  $\text{Cl}^-$  濃度依存性を調べ、HCl の場合と比較した。HCl、NaCl 添加時の気相 Lz イオン強度の総和(全イオン強度)の  $\text{Cl}^-$  濃度依存性をそれぞれ図 3(a)、(b)に示す。いずれの場合も  $\text{Cl}^-$  の増加に伴い正イオン強度が減少した。このことは後述のナノ液滴モデルによって説明できる。このモデルによって見積もった Lz の正イオン存在比の計算値を赤線で示した。

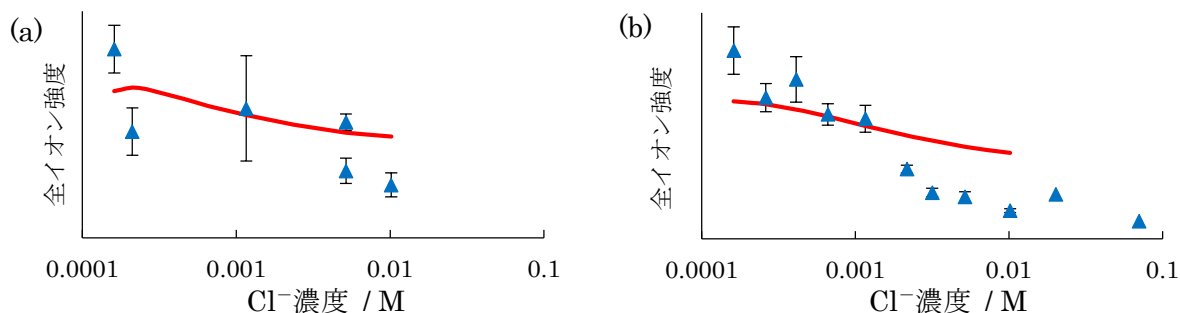


図 3. Lz 正イオン強度の  $\text{Cl}^-$  濃度依存性. (a) HCl 添加, (b) NaCl 添加.

[考察] 先行研究から、イオンの生成過程はナノ液滴モデルで説明できる[2]。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いうモデルである。タンパク質イオンが 1 つ含まれるナノ液滴を考えると、そこには多数の対イオンが含まれていると考えられる。気相 Lz の荷電状態は溶液中の対イオンがナノ液滴中に統計的に分布すると考えることで定量的に計算することができる。赤線で示した計算結果は実験値と定性的に一致した(図 3)。

トラップ実験においては、トラップ電極に高周波電圧を印加することによって Lz を最大 5 ms トラップすることができた(図 1b)。今後はトラップと気相レーザー分光を組み合わせ、気相タンパク質イオンの考察を進めていく予定である。

[文献]

[1] J. Kohno, T. Kondow. *Chem. Lett.* **39**, 1220-1221 (2010).

[2] J. Kohno et al, *J. Phys. Chem. A*, **117**, 9-14 (2013).