

質量分析装置による金ナノ粒子免疫プローブ

鹿児島大院理工

向 大輝, 西 朋紀, 新原旺志, ○新留康郎

Gold Nanoparticles as an Immunohistochemical Mass Probe Detected by a Conventional Mass Spectrometer

Daiki Muko, Tomoki Nishi, Oji Niihara, ○Yasuro Niidome

Department of Chemistry and Bioscience, Kagoshima University, Japan

【Abstract】 For analysis of minor peptides in a tissue section, immunohistochemical staining through antibody-antigen interaction is a usual technique. Gold nanoparticles, which show excellent chemical stability and variation of surface modifications, are expected to act as a sensitive mass probe to desorb gold ions that are distinguishable from organic ion fragments. Here, green fluorescent proteins (GFP) in a tissue section of a transgenic zebrafish was detected by the gold mass probe conjugated with antibodies. Due to the efficient ionization and desorption of gold ions, imaging mass spectrometry of Au_2^+ ions indicated the distribution of gold nanoparticles stained in a tissue section, and the mass signal distribution was consistent with the area where the GFP-expressing cells were distributed. Conventional immunofluorescence techniques showed intense autofluorescence that come from intrinsic fluorophores in the tissue section. In contrast, the gold nanoparticles acted as an immunostaining mass probe that displayed significantly lower background signals.

【序】 金ナノ粒子は金ナノ粒子は、波長 500 nm 以下にバンド間遷移に伴う吸収を有するため、紫外レーザー光照射による金イオン (Au^+ , Au_2^+ , Au_3^+) の脱離イオン化が高効率に起こる。質量分析装置の検出感度が極めて高いことと、さらに生体内において金のバックグラウンドは非常に低いことから、金ナノ粒子はバックグラウンドシグナルの妨害を受けにくい超高感度なマスプローブとして機能することが期待されている。これまでに、マウスに投与した金ナノ粒子が肝臓や腫瘍に集積する様子を明らかにした[1, 2]。Imaging Mass Spectrometry(IMS)による組織切片の2次元分析は 1 mm 以下の空間分解能を有しており、臓器内に金ナノ粒子がどのように分布するかを明らかにできた。また、ドットブロッキング (メンブレン上にキャストした抗原を評価する) の検出方法としても金ナノ粒子マスプローブが利用可能であることも報告した[3]。一方で、金ナノ粒子のイオン化効率には切片の厚みやナノ粒子の形状や凝集状態にも依存することも明らかになっている[4, 5]。金ナノ粒子をマスプローブとして用いて定量的な分析を行うには、現状ではまだ多くの要素に配慮する必要がある。本研究では GFP を発現した遺伝子改変ゼブラフィッシュの組織切片を抗体修飾金ナノ粒子を用いて染色した。IMS によって得られたナノ粒子の分布と蛍光像による GFP の発現位置を照合し、金ナノ粒子のマスプローブとしての機能性を評価した。さらに、金ナノ粒子を均一に分散したゼラチン切片を作製し、ナノ粒子の形状やサイズが金イオンの脱離イオン化に与える影響を評価することを試みた。

【方法 (実験・理論)】

クエン酸還元法で作製した球状粒子溶液(0.9 mL, 粒径 28 ± 3 nm, 金原子濃度 12.5 mM)に KH_2PO_4 溶液 (pH = 8, 50 mM, 0.1 mL) と Cy3 ラベル Donkey anti-rat IgG (H+L) 溶液 (30 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 0.5 mL) を加えた。10 分後 PEG 溶液 (Mw 20,000, 1 wt.%, 50 μL) と BSA 溶液 (10 wt.%, 0.1 mL) を加え、遠心分離によって精製し抗体修飾金ナノ粒子とした。網膜に GFP を発現する遺伝子改変ゼブラフィッシュ (Tg(isl2b: GFP)^{z7}) の眼球の組織切片を作製し、Rat anti-GFP IgG で染色した。さらにその後、抗体修飾金ナノ粒子溶液に浸漬した。質量分析には汎用の MALDI-MS 装置 (Autoflex Speed, Bruker) をイメージングモードで用いた。

【結果・考察】

図 1 に眼球組織切片の蛍光像(A)と、光学像とマスシグナル強度分布(Au^+)を重ねた像(B)を示す。蛍光像(A)の真ん中付近で折れ曲がって点々と光っている部分が網膜である。野生種でも網膜に加えて最外層の強膜に強い蛍光が観察された。眼球は自家蛍光が強く、蛍光像だけから GFP の発現位置を特定することは難しいことがわかる。一方、IMS 像(B)では金ナノ粒子の分布が網膜部分から脈絡膜の方 (眼球の外側) へ広がっていることがわかる。強膜部分を含め眼球の周辺部分にはほとんどマスシグナルは見られない。質量分析では 10^{-18} mol/ mm^2 程度の極めて少量の金ナノ粒子を検出可能であることを考えると、図 1 の試料では非特異的に吸着した金ナノ粒子は極めて少ないことがわかる。ゼラチン切片に分散した金ナノ粒子から得られるシグナル強度と濃度との相関は良い直線性を示すことも明らかになった。すなわち、少なくとも網膜の部分についてはマスシグナル強度分布は金ナノ粒子の密度分布、すなわち GFP の発現密度を示していると考えられる。

金ナノ粒子は免疫染色に利用可能なマスマスプローブとして機能し、蛍光イメージングよりも高感度かつ選択的に網膜に発現した GFP の存在を明らかにすることができた[6]。

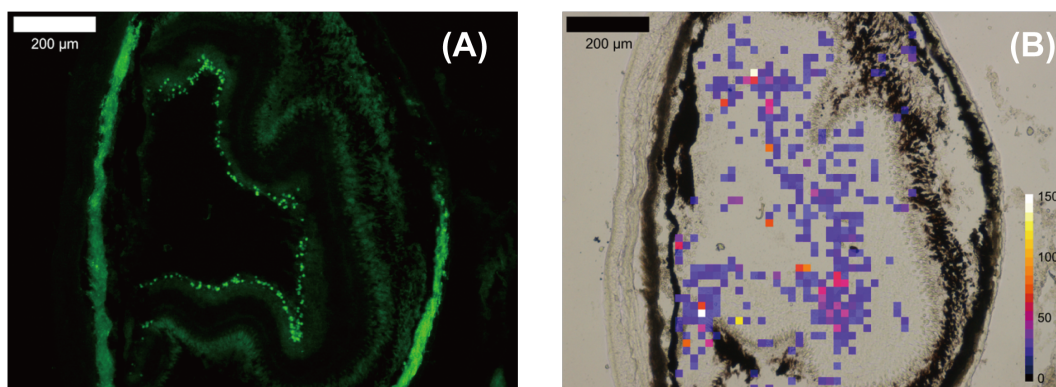


Fig. 1. Fluorescence (A) and an overlap of the optical and the mass image images (B).

【参考文献】

- [1] T. Niidome, M. Fujii, N. Nakashima, Y. katayama, Y. Niidome, Chem. Lett., 44, 931, (2015).
- [2] M. Fujii, N. Nakashima, T. Niidome, Y. Niidome, Chem. Lett., 43, 131, (2014).
- [3] D. Muko, Y. Niidome, Chem. Lett., in press.
- [4] Y. Niidome, M. Fujii, N. Nakashima and T. Niidome, *MRS Proceedings*, 1719 (2015).
- [5] D. Muko, Y. Inoue, A. Nishitani, Y. Niidome, Analytical Methods, 9, 1177, (2017).
- [6] D. Muko, T. Ikenagara, M. Kasai, J. B. Rabor, A. Nishitani, Y. Niidome, J. Mass Spectrom., submitted.

気相熱脱離法によるAuクラスターアニオンとNOの反応の検証

東大院・総合

○山口雅人, 真船文隆

Reactivity of Au Anion Clusters with NO Studied by Thermal Desorption Spectrometry

○Masato Yamaguchi, Fumitaka Mafuné

School of Arts and Sciences, The University of Tokyo, Japan

【Abstract】

Coinage metals including gold are regarded as playing substitutional role of the platinum group. In the bulk surface, coinage metals react with NO showing disproportionation. Especially for gold, reaction path would be changed by changing of the reaction site[1, 2].

Anionic gold clusters were produced by the laser ablation of a gold rod in the He carrier gas, and anionic gold nitride monoxide clusters ($Au_nN_mO_k^-$: $1 \leq n \leq 7$; $1 \leq m \leq 4$; $1 \leq k \leq 4$) were also produced subsequently by reaction with reactant gas containing NO. The produced clusters were found to release NO and NO₂ when they were heated. Activation energy of the NO desorption from $Au_4N_mO_k^-$ were also estimated by the temperature dependence of the cluster intensities. Comparing those experimental values with the results of quantum calculations, NO was found to be molecularly attached on Au_4^- .

【序】

触媒反応で NO や CO の無害化は不均一触媒の中でも最も需要の高い部類にはいる。貨幣金属を基軸にした合金は白金族の代替触媒になることが期待されている。NO との反応でバルクの貨幣金属は N:O = 1:1 以外の分子を生成する不均化反応を引き起こす。特に Au は反応サイトによって不均化反応の経路が異なることが知られている [1, 2]。本研究では気相における金クラスターアニオン(以下 Au^-)の NO 反応性に着目した。気相クラスターを用いた解析は、基板との相互作用などを除外でき、またクラスターの組成ごとに反応を追跡できるため、反応における明瞭な洞察を与えることが期待される。気相クラスターの NO 結合エネルギーを加熱実験と量子化学計算を組み合わせることにより、NO の吸着形態と脱離の活性化エネルギーを調べた。

【実験方法】

真空チャンバー内で Au ロッドをレーザーアブレーションし、He キャリアガス中で冷却することで Au_n^- クラスターを生成した。更に生成したクラスターに対し、He に

より希釈された NO ガスを反応ガスとして用いることで、 $Au_nN_mO_k^-$ クラスターを生成した。使用した NO は NO ガスシリンダー中の不均化ガスの影響を取り除くためにアスカライトと液体窒素のトラップを用いて供給し、NO の濃度はマスフローコントローラで 0.0~40.0%の範囲に調整した。生成したクラスターを加熱管に通した後、飛行

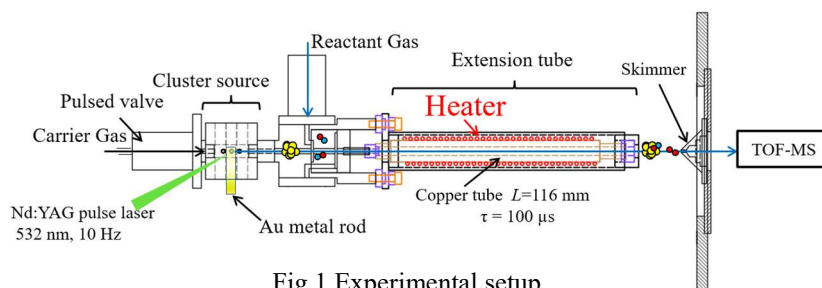


Fig.1 Experimental setup

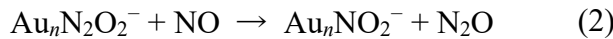
時間型質量分析計(TOF-MS)によって分析した. クラスターを加熱する加熱管はヒーターによって 300~1000K の温度に設定可能である. クラスターは加熱管内で He との多数回衝突を経ることで熱平衡に達する. 各クラスターの強度を計測し温度依存性を解析した. これは表面科学における昇温脱離法(Temperature Programmed Desorption, TPD)に相当する. 加熱管内で起こる反応に対してアレニウスの式

$$k(T) = A \exp(-E_a/k_B T) \quad (1)$$

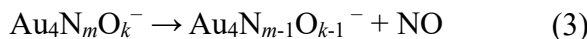
(k : 反応速度定数, A : 前指数因子, E_a : 活性化エネルギー, k_B : ボルツマン定数, T : 温度)を用いる事で活性化エネルギーを求めた. また, 量子化学計算には Gaussian 09 を使用し $Au_n N_m O_k^-$ クラスターの安定構造を求めた. ランダム配置及び手動で生成した初期構造を B3LYP で最適化し, MP2 で再度最適化した.

【結果・考察】

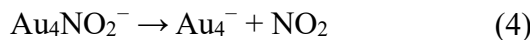
Au アニオンクラスターと NO を反応させることで $Au_n N_m O_k^-$ ($1 \leq n \leq 7$; $1 \leq m \leq 4$; $1 \leq k \leq 4$) クラスターを生成した. 以下では $n=4$ の場合について記述する. NO 濃度の変化に伴い, NO が 1:1 で付着した $Au_4(NO)_{1,2}^-$ クラスターのほかに $Au_4NO_2^-$ の生成が見られる (Fig. 1). これは $Au_4N_2O_2^-$ が生成されたのちに増加することから



の反応と考えられる. この結果は Au_6^- について行われた先行研究と同じ挙動であり, Au_4^- についても同様の反応が起こっていると考えられる [3]. これらのクラスターを加熱したところ NO の逐次脱離



が観測された. 前述した TPD を適用することで NO 脱離の活性化エネルギー E_a を求めた. 実験により得られた NO 脱離の E_a と理論計算の結果を比較したところ, 分子的に吸着していることが示唆された. また, 加熱の過程で $Au_4NO_2^-$ からの NO_2 脱離, すなわち



が 900-1000 K で観測された. NO_2 を Au_4^- に付着させ加熱した場合, ほぼ同じ温度域で脱離が進行する. そのため, この NO_2 の吸着形態も分子的であると考えられる. 発表ではこの構造についても議論を行う.

【参考文献】

- [1] V. I. Bukhtiyarov et al., *Surf. Sci.*, **606**, 559–563 (2012).
- [2] N. Kruse et al., *Catal. Lett.*, **98**, 85–87 (2004).
- [3] X. Wang et al., *J. Phys. Chem. A*, **120**, 9131–9137 (2016).

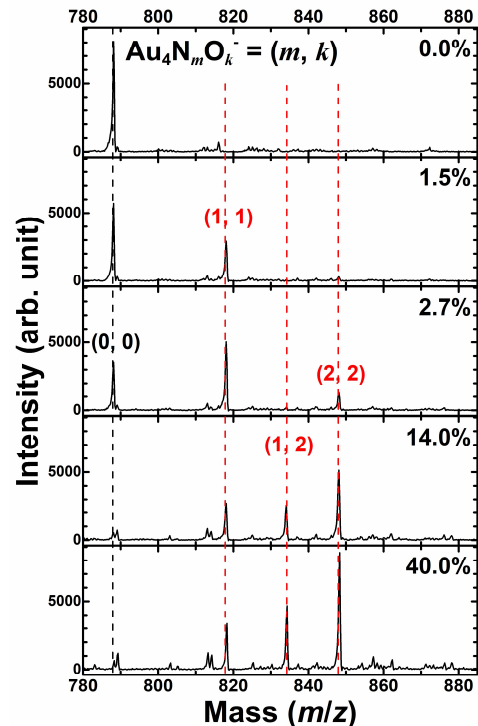


Fig. 2 Changing of the mass spectra of $Au_4N_mO_k^-$ along with increasing the NO concentration.

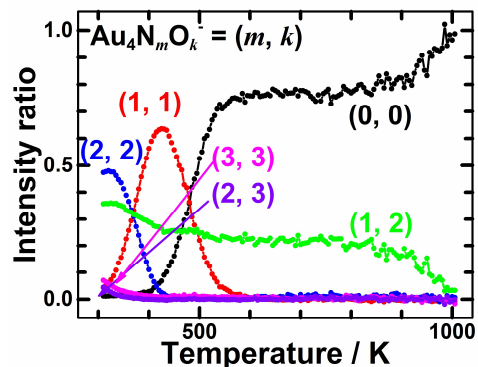


Fig. 3 Relative intensity of $Au_4N_mO_k^-$ as a function of temperature.

一酸化炭素によるロジウム酸化物クラスターの還元反応

東大院総合

○川島奈子, 工藤聡, 宮島謙, 真船文隆

Reduction of Rh Oxide Clusters by CO

○Nako Kawashima, Satoshi Kudoh, Ken Miyajima, and Fumitaka Mafuné

Department of Basic Science, School of Arts and Sciences, The University of Tokyo, Japan

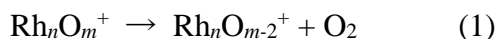
【Abstract】 Rh cluster cations were prepared by laser ablation of a Rh metal rod. Produced clusters were heated in an extension tube and mass-analyzed. In the presence of O₂ diluted in He, oxidized Rh clusters, Rh_nO_m⁺ (*n* = 4–8), were generated. O₂ desorption was observed by just heating Rh_nO_m⁺ in the extension tube. In addition, Rh_nO_m⁺ were reacted with CO and then heated. With the contribution of CO, reduction of Rh_nO_m⁺ was observed. For Rh₆O_m⁺ (*m* = 8, 9), reduction started to occur at a lower temperature when CO was introduced. The similar trend was observed for *n* = 7, 8. For Rh₆O_m⁺ (*m* = 6, 5), reduction was observed as increasing CO concentration at 400, 500 and 600 K. The rate of reduction reached maximum at 500 K in those conditions. This finding suggests that Rh was reduced by CO. Based on this trend, mechanism of reduction of Rh by CO was discussed.

【序】 自動車の排気ガス触媒として Pt, Pd, Rh を含んだ三元触媒が用いられており、Rh は NO を N₂ に還元する役割を担っている。Rh は希少で高価であるので、安価な金属での代替が求められており、そのため Rh についての基礎研究が広くなされてきた。Rh 上での NO と CO の反応については、表面化学の分野でよく研究されており、Rh 上で解離した NO の O 原子と CO が反応し、CO₂ として脱離することが報告されている[1]。当研究室では、Rh と NO の反応について調べた結果、6 量体より大きなサイズのクラスターについて、付着した NO が高温で還元されることが分かっている[2]。

本研究では、先行研究を踏まえ、Rh クラスターと O₂、CO を反応させ、加熱することで、Rh クラスター上での O 原子と CO の反応について詳細に調査した。

【実験】 レーザー蒸発法およびリフレクトロン型飛行時間型質量分析計を用いた。Nd³⁺:YAG レーザーの第二高調波(532 nm, 10 Hz)を真空チャンバー内の Rh 金属棒に集光して蒸発させ、O₂を混合した 8 気圧の He キャリアガスを吹き付けて冷却し、Rh_nO_m⁺ クラスターを生成した。更に反応管に He で希釈した CO ガスを導入し、Rh_nO_m(CO)_k⁺ を生成した。これらのクラスターを加熱延長管に通した後、高真空槽内へ放出し質量分析した。延長管の温度、または CO 濃度に対する質量スペクトルの変化を観測することで、CO による Rh_nO_m⁺ クラスターの還元反応について検討した。また、同様にし、Rh_n(CO)_k⁺ を生成した上で、O₂ と反応させ、その結果についても検討した。

【結果・考察】 Rh_nO_m⁺ を CO と反応させ、生成した Rh_nO_m(CO)_k⁺ を加熱する実験を行った。Rh_nO_m⁺ は、CO を導入しない場合でも、加熱により、Rh_nO_m⁺ から O₂ が逐次的に脱離する様子が観測できる。



COを導入しない場合と導入した場合で、各クラスターが還元され、減少し始める温度を詳しく見ていくと、Rh 6量体では、 Rh_6O_m^+ ($m = 8, 9$)のクラスターの減少がCO導入時の方が比較的低温(CO導入; $m = 8$ では400 K、 $m = 9$ では600 K/CO導入なし; $m = 8$ では700 K、 $m = 9$ では750 K)で起こることが分かった(Fig. 1)。これは、RhがCOによって還元されたことを意味する。Rh 7, 8量体でも同様に Rh_nO_m^+ ($1 < m/n \leq 1.5$)がCOによって還元される様子が観測された。

また、生成した Rh_nO_m^+ に対し、加熱延長管の温度を500 Kで固定し、導入するCOの濃度を変化させた。Rh 6量体では、COの濃度が増加するに従って、 Rh_6O_m^+ ($m = 5, 6$)が減少し、 Rh_6O_2^+ まで還元される様子が観測された(Fig. 2)。同様の実験を各温度(400, 600 K)について行い、COによる還元反応を観察したところ、500 Kで還元反応が最も速くなった。 Rh_nO_m^+ にCOを付着させ、加熱すると、COが付着したクラスターは500–600 Kで急激に減少する。したがって、600 K以上では、CO脱離反応が速く進行し、還元反応が起こる前にCOが脱離すると考えられる。

講演では、RhクラスターにCOを付着させた後、 O_2 と反応させ、加熱した結果についても考察し、COの還元能について更に詳しく検討する。

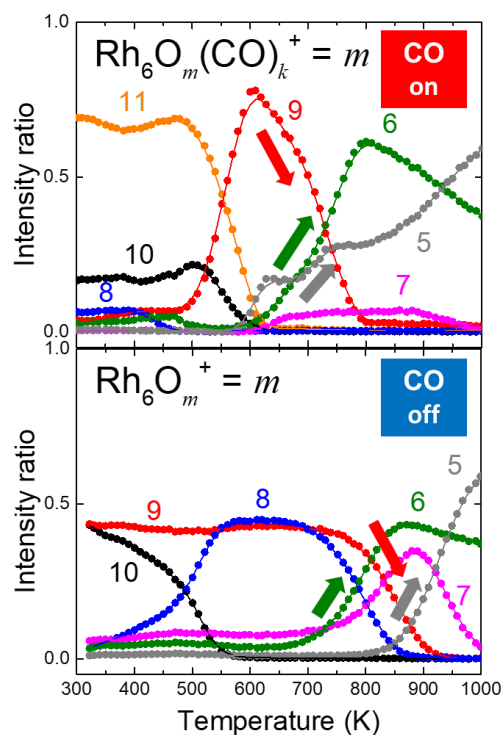


Fig. 1. Relative intensities of $\text{Rh}_6\text{O}_m(\text{CO})_k^+$ ($m = 5-11$) as a function of temperature. For each intensity, $I_m = \sum_k I(\text{Rh}_6\text{O}_m(\text{CO})_k^+)$ is used in the upper graph.

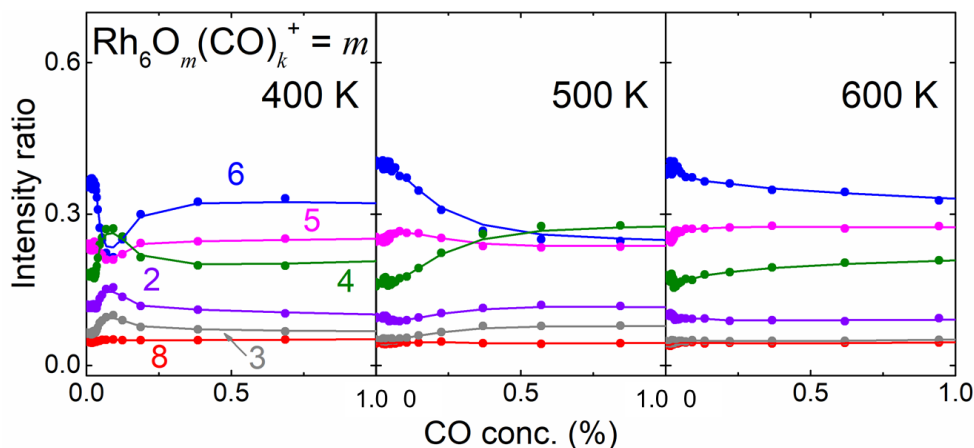


Fig. 2. Relative intensities of $\text{Rh}_6\text{O}_m(\text{CO})_k^+$ ($m = 2-7$) as a function of CO concentration at 400, 500 and 600 K. For each intensity, $I_m = \sum_k I(\text{Rh}_6\text{O}_m(\text{CO})_k^+)$ is used in the graphs.

【参考文献】

- [1] V.P. Zhdanov, B. Kasemo, *Surf. Sci. Rep.*, **29**, 31 (1997).
 [2] Y. Tawarayama, S. Kudoh, K. Miyajima, F. Mafuné, *J. Chem. Phys. A*, **119**, 8461 (2015).

一酸化炭素による鉄族元素クラスターと水素分子との反応の促進

九大院理

○荒川雅, 岡田大知, 藤本周平, 寺寄亨

Carbon monoxide-induced reaction of iron-group-metal cluster cations with hydrogen

○Masashi Arakawa, Daichi Okada, Shuhei Fujimoto, Akira Terasaki
Department of Chemistry, Kyushu University, Japan

【Abstract】 We present coadsorption of CO and H₂ molecules on size-selected free iron-group-metal cluster cations, i.e., Fe_n⁺, Co_n⁺, and Ni_n⁺, to investigate formation of organic molecules on the cluster. A H₂ molecule was adsorbed on bare Co_n⁺ and Ni_n⁺, whereas Fe_n⁺ is inert. We further examined coadsorption of a H₂ molecule on Co_nCO⁺, and revealed that the reactivity of H₂ adsorption was enhanced by the pre-adsorption of a CO molecule on Co_n⁺ for 8 ≤ n ≤ 10, whereas adsorption of H₂ on Fe_nCO⁺ and Ni_nCO⁺ was always accompanied by dissociation of CO. The increase in reactivity was inferred to be due to donation of electron density from CO to the cluster. Furthermore, we performed collision induced dissociation (CID) experiments of Co_n(CO)_mH₂⁺ with Ar atoms to identify the products formed on the cluster.

【序】 Fischer-Tropsch 反応は鉄やコバルトによる触媒反応であり、一酸化炭素と水素を原料とした長鎖炭化水素の生成法として知られる。この触媒反応は工業的に重要である一方、宇宙での有機分子生成にも関与していると考えられている。惑星形成の初期段階である原始惑星系円盤には、炭化水素、アルコールやアルデヒドなど、様々な有機分子が存在することが知られており、宇宙空間に存在する金属や鉱物の微粒子、クラスターを触媒とした Fischer-Tropsch 反応は、有機分子生成の有力な説の一つである。しかしながら、その反応のメカニズムは明らかにされていない。この問題に対し、気相クラスターの研究手法で反応に関与する原子・分子数を制御し、反応を一段階ずつ追跡することに着目した[1,2]。これまでに、Fe, Mg, Si, O から成る鉱物組成のクラスターと一酸化炭素、水分子との反応を観測して、反応サイトや反応のメカニズムを報告してきた[3,4]。特に、クラスターへの一酸化炭素分子の吸着は有機分子生成の第一段階となり得る[3]。そこで、反応の次のステップ、つまりクラスター上での有機分子生成を観測するために、クラスターへの一酸化炭素と水素分子の共吸着反応を調べた。本研究では Fischer-Tropsch 反応の触媒として知られる鉄族元素(鉄、ニッケル、コバルト)が宇宙空間に豊富に存在することに着目し、鉄族元素クラスター正イオンと一酸化炭素および水素分子との反応実験を行った。

【方法】 マグネトロンスパッタ型クラスターイオン源で鉄族元素クラスター正イオン (M_n⁺; M = Fe, Co, Ni) を生成し、下流に位置する衝突セルで一酸化炭素分子を吸着させた。生成した M_n(CO)_m⁺を四重極質量フィルターでサイズ選別した後、水素分子を定常的に導入した反応セルに導いた。反応セルを通過する間に H₂ 分子との反応で生じたイオン種を第 2 の四重極質量分析計で同定し、その収量を測定した。さらに、得られた反応生成物の構造情報を得るために、これら生成物に対して Ar ガスによる

衝突誘起解離実験を行い、解離イオン種を分析した。

【結果・考察】 一酸化炭素を吸着していない Co_n^+ と H_2 との反応は、 $n \leq 9$ では不活性だったのに対し、 $n \geq 10$ で H_2 の吸着が観測され、過去に報告された結果と概ね一致した[5]。次いで、予め一酸化炭素分子を吸着した $\text{Co}_n(\text{CO})_m^+$ と H_2 との反応を調べた。図1に Co_9^+ および Co_9CO^+ と H_2 との反応で生成したイオン種の質量スペクトルを示す。横軸は反応物 Co_n^+ との質量数の差 (ΔM) を示している。図1aには反応物のピークのみが見られるが、図1bには $\Delta M = +2$ に H_2 吸着物に由来するピークが観測された。このように、予め吸着した CO によって H_2 吸着反応が誘起されることが分かった。ここで、 $n = 3-11$, $m = 0-2$ の範囲で行った実験結果に基づき、擬一次反応を仮定して求めた吸着反応の速度定数を図2に示す。予め CO を吸着することにより、 $8 \leq n \leq 10$ の範囲で H_2 吸着反応が促進することが分かった。また、一酸化炭素分子を二分子以上吸着しても、更なる反応性の増大は起こらなかった。

共吸着で生じた化合物を同定するため、 CO , H_2 が吸着した Co_n^+ と Ar 原子との衝突誘起解離実験を行った。図3に $\text{Co}_8\text{COH}_2^+$ についての結果を示す。衝突エネルギー (E_{col}) を 1.0, 1.6, 2.0, 2.3 eV と変化させたいずれの場合でも、 $\Delta M = -2$ および -30 にピークが観測された。 $\Delta M = -2$ のピークは H_2 脱離を示す。一方、 $\Delta M = -30$ のピークからは、

(1) H_2 と CO が同時に脱離、もしくは (2) クラスター上で生じた H_2CO 分子の脱離の2通りが考えられる。 $E_{\text{col}} = 1.0$ eV では観測されない $\Delta M = -28$ のピークが $E_{\text{col}} \geq 1.6$ eV で現れることから、 $\text{Co}_n(\text{H}_2\text{CO})^+$ と $\text{Co}_n\text{H}_2(\text{CO})^+$ の両方が共存していると推測した。以上のように、 Co_n^+ 上で CO と H_2 が反応し、有機分子が生成した可能性が示された。

鉄、ニッケルについても同様の実験を行った。 Fe_n^+ は H_2 に対して不活性だったのに対し、 Ni_n^+ には H_2 が吸着した。予め CO を吸着した Fe_nCO^+ および Ni_nCO^+ と H_2 との反応では H_2 吸着が観測されたが、 H_2 吸着には必ず CO の脱離を伴い、 Fe_nH_2^+ , Ni_nH_2^+ が生成して CO と H_2 は共吸着しなかった。

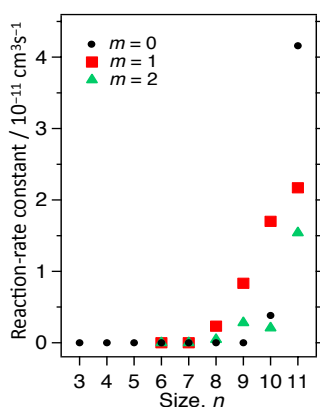


Fig. 2. Reaction rate constant of $\text{Co}_n(\text{CO})_m^+$ with H_2 .

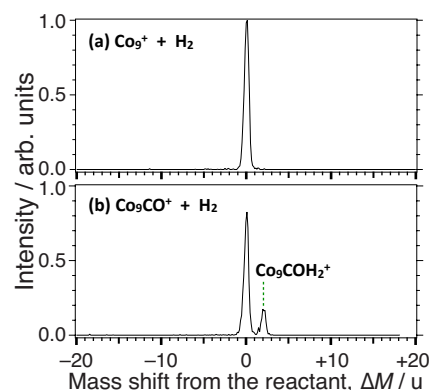


Fig. 1. Mass spectra of product ions upon reaction of (a) Co_9^+ and (b) Co_9CO^+ with a H_2 molecule.

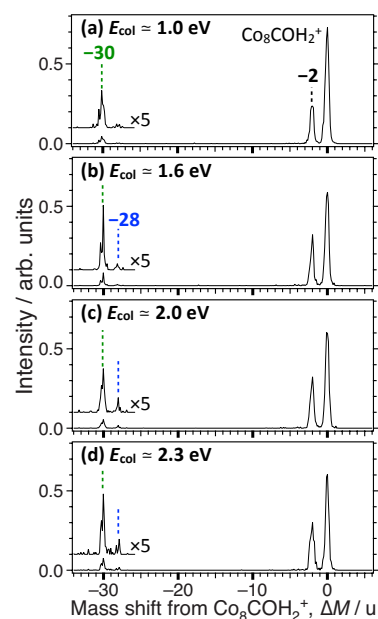


Fig. 3. Mass spectra of CID product ions from Co_8COH_2 .

【参考文献】

- [1] M. Arakawa, K. Kohara, and A. Terasaki, *J. Phys. Chem. C* **119**, 10981 (2015).
- [2] M. Arakawa, K. Ando, S. Fujimoto, S. Mishra, G. Naresh Patwari, and A. Terasaki, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **20**, 13974 (2018).
- [3] M. Arakawa, R. Yamane, and A. Terasaki, *J. Phys. Chem. A* **120**, 139 (2016).
- [4] M. Arakawa, T. Omoda, and A. Terasaki, *J. Phys. Chem. C* **121**, 10790 (2017).
- [5] A. Nakajima, T. Kishi, Y. Sone, S. Nonose, and K. Kaya, *Z. Phys. D: At., Mol. Clusters* **19**, 385 (1991).