

3P012

真空中に単離した気相イオンのLIF/DF観測：生体分子観測の可能性

兵庫県立大院・物質理

○本間 健二

LIF /DF measurements for gas-phase isolated ions: Possibility for observation of biomolecules

○Kenji Honma

Graduate School of Material Science, University of Hyogo, Japan

【Abstract】 Laser-induced fluorescence (LIF) and dispersed fluorescence (DF) spectra of rhodamine 590 cations (R590) were measured in gas-phase. Ions were formed by the ESI and stored in an RF ion trap. Three absorption bands were observed, i.e. one visible (vis) and two ultraviolet (uv) bands. All bands appeared at shorter wavelengths compared with those in methanol solution. DF spectra of the uv excitation were observed at similar wavelength region to the spectrum of the vis excitation and assigned to S_1 - S_0 transition. This result suggests that highly electronically excited states are converted to vibrationally excited levels of the S_1 state even in the gas-phase. The fluorescence from these levels appears because of the lack of the vibrational relaxation by collisions with solvents. In this research, fluorescence from protonated tryptophane (Trp) was also tried to measure, however no photon signal could be observed. Compared with R590, fluorescence quantum yield of Trp is supposed to be much smaller because of faster nonradiative relaxation such as photodissociation.

【序】 エレクトロスプレーイオン化(ESI)法は、生体高分子など加熱に対して不安定な化学種をそのまま気相中に取り出すことができるため、これらの分子種の気相における構造や反応を観測する手段として広く用いられている。近年はレーザー蒸発などの方法に比べて瞬間濃度が高るかに低いという弱点を克服して、発光を観測する分光法（レーザー誘起蛍光(LIF)、分散蛍光(DF)）も適用されるようになってきた。これによって、生体分子内のエネルギー移動反応やタンパク質のコンフォメーション変化などを気相生体高分子で観測することが可能になり、これまでの溶液・生体中の観測と直接比較し、それらの現象をより分子レベルから理解することへ道が拓かれつつある。本発表では、ESI法で生成しイオントラップに単離したローダミン 590(R590)イオンについて、LIF/DF観測から得られる知見について報告する。また、今後の展開にとって重要と思われる「レーザー色素分子イオン以外の気相における蛍光は観測されていない」ことについて検討をしたい。

【実験】 実験装置についてはすでに分子科学討論会で報告した[1]。試料溶液をエレクトロスプレーしてキャピラリーイオンファネルを通して溶媒分子を取り除き、8極子イオンガイドを経てRFイオントラップに導き数秒間保持する。エキシマーレーザー励起またはYAGレーザー励起色素レーザー(10Hz)をイオントラップ内のイオンに照射し、フィルターを通して蛍光を光電子増倍管で観測してLIFスペクトルを得た。また、蛍光を分光器で分散しICCD検出器で測定してDFスペクトルを得た。保持したイオンは、数秒ごとに飛行時間型質量分析計へ送り込まれ質量スペクトルを観測した。イオントラップ内におけるHeとの衝突頻度は $10^3 \sim 10^4 \text{ s}^{-1}$ と見積もられる。

【結果・考察】

R590 溶液から ESI によってイオントラップ(IT)に単離したイオンの LIF スペクトルとメタノール溶液の蛍光励起スペクトルを Fig.1 に示す。

可視光領域のバンドと共に、紫外光領域に2つ以上のバンドが観測された。可視光のバンドは S_1-S_0 遷移に対応する。

30000cm^{-1} 付近のバンドは理論計算との比較から S_3-S_0 遷移に同定される[2]。いずれも溶液中のスペクトルが長波長側にシフトしており、メタノール中で、励起状態の受ける安定化が基底状態のそれよりも大きいことを示している。 36000cm^{-1} 付近の吸収帯はさらに高い電子状態への遷移に対応すると考えられる。

Fig.2 には、Fig.1 で示した3つの吸収帯を励起して得られる DF スペクトルを示した。短波長励起でも紫外領域の発光は観測されず、 S_1-S_0 遷移と同定される発光のみが観測された。溶液中では、非常に速い内部転換の後に溶媒分子との衝突による振動緩和によって S_1 状態の最低振動状態が生成し発光するため、励起波長によらず全く同一の発光スペクトルを示すが、気相では振動緩和が起こらないために、振動励起した S_1 状態からの発光が観測されていると考えられる。振動励起に従ってピークが長波長へシフトしている。

S_3 あるいはそれ以上のエネルギーを持つ電子状態から内部転換によって S_1 の非常に高い振動励起状態が生成し、なお発光が観測されるのは、解離反応にはエネルギーが不足し、 S_1-S_0 の内部転換および S_1-T_1 の系間交差が共に効率悪いからであると考えられる。

生体分子の発光観測によく用いられるトリプトファンなどの発光性アミノ酸イオンについて、気相における発光観測を試みたが、ノイズレベルを超える蛍光は観測されなかった。R590 などのレーザー色素に比べて分子吸光係数は確かに小さいが、溶液中では発光の量子収率はそれほど小さくはなく、孤立分子状態でも蛍光が観測されてもよいと考えられる。しかし、質量スペクトルから、解離反応が効率よく起こっていることが示唆され、振動緩和の起こらない気相中では発光の量子収率が低く、発光は観測されないのではないかと考えられる。

【参考文献】

[1] 本間健二, 第11回分子科学討論会, 2P02(2017).

[2] J. Guthmuller and B. Champagns, *J. Phys. Chem. A*, 2008, **112** (14), 3215-3223.

Fig. 1. LIF spectra of gas-phase R590 cation

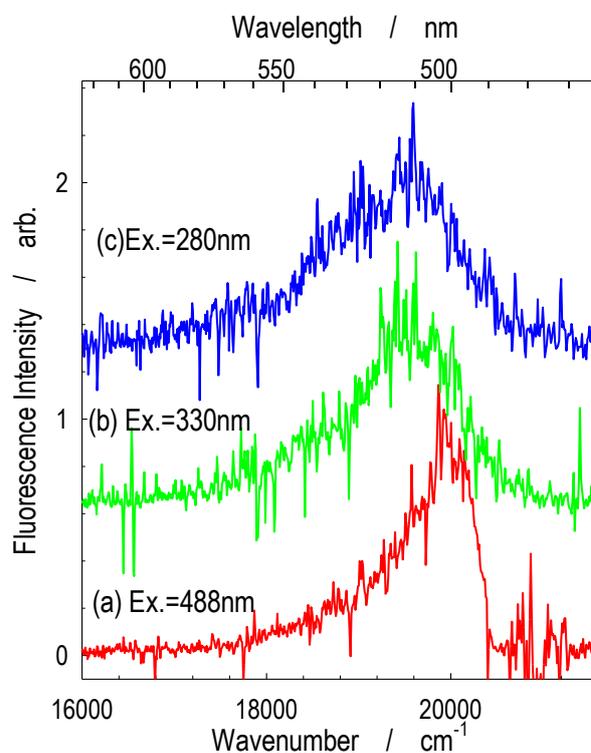
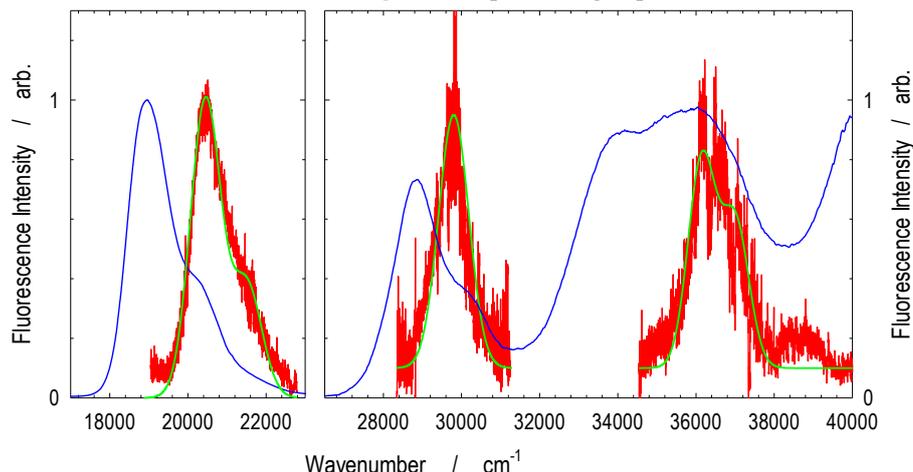


Fig. 2. DF spectra measured at three wavelengths.