

【序】気相中においては、多光子イオン化分光のような高感度、精密な実験法により分子の性質を調べることができる。このような気相中の手法によりタンパク質のような非揮発性溶液分子の気相中における構造、反応性などを調べることを目的として、液滴を液滴分子線として高真空下に導き、レーザー蒸発により微量の溶液分子を気相中に単離した。気相単離したタンパク質分子、あるいは分子イオンに紫外レーザー光を照射し、その気相中の反応過程を調べた。

【実験】実験装置の概略図を図1に示す。 piezo素子駆動のノズルを用いて、直径 70 μm の試料液滴を大気中に生成した。生成した液滴を、3段階の差動排気系を用いて高真空下 (1.2×10^{-6} Torr) に導き、液滴分子線とした。真空槽3に、飛行時間型質量分析装置を設置した。その加速領域に導いた液滴分子線に、水の OH 伸縮振動に共鳴する中赤外レーザー (波数 $3300\text{--}3700\text{ cm}^{-1}$ 、 $<17\text{ mJ/pulse}$) を照射した。中赤外レーザーに対して遅延時間をおいた紫外レーザー光 (波長 270 nm 、 $<130\text{ }\mu\text{J/pulse}$) をさらに照射する実験も行った。レーザー照射により液滴分子線より生成したイオンは、パルス電場により加速し、飛行時間型質量分析装置により分析した。

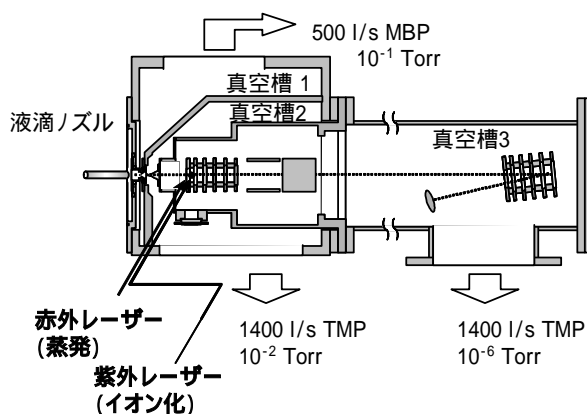


図1 液滴分子線装置の概略図

【結果】 $10\text{ }\mu\text{M}$ のリゾチーム(Lys、分子量 $14,400$)水溶液液滴分子線に赤外レーザーを照射して得られた質量スペクトルを図2に示す。得られたイオン種は、主に多価リゾチーム水和クラスターイオン、 $\text{Lys}^{n+}(\text{H}_2\text{O})_m$ ($1 \leq n \leq 7$)であった。一方、 $10\text{ }\mu\text{M}$ のウシ血清アルブミン(BSA、

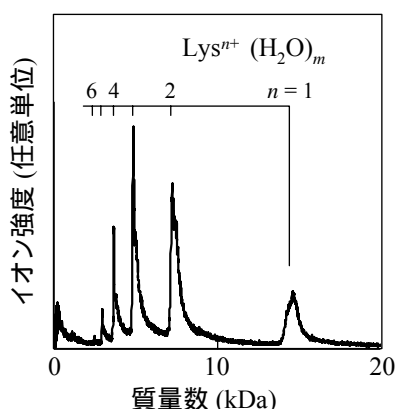


図2 $10\text{ }\mu\text{M}$ の Lys 水溶液液滴分子線に赤外レーザーを照射して得られた質量スペクトル

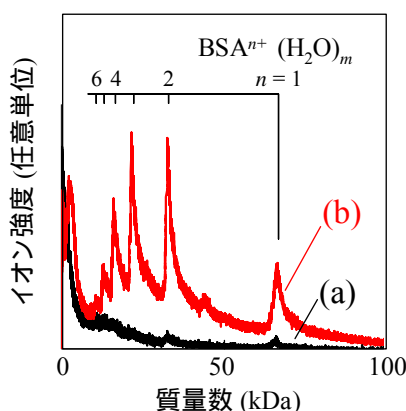


図3 $10\text{ }\mu\text{M}$ の BSA(a)、および BSA-Cl(b) 水溶液液滴分子線に赤外レーザーを照射して得られた質量スペクトル

分子量 66,000)およびその塩化物 (BSA-Cl) 水溶液液滴分子線への赤外レーザー照射により得られた質量スペクトルをそれぞれ図 3 a, b に示す。BSA 水溶液からはほとんどイオンが検出されなかったのに対し、BSA-Cl 水溶液からは多価 BSA 水和クラスターイオン、 $BSA^{n+} (H_2O)_m$ ($1 \leq n \leq 7$) が生成した。

10 μ M のリゾチーム水溶液液滴分子線に赤外および紫外レーザーを照射することにより得られた質量スペクトルを図 4 に示す。紫外レーザー照射により、 H^+ と H_3O^+ が生成した。高質量の領域には、紫外レーザー照射による違いは観測されなかった。 H_3O^+ には 3 つの成分 (a, b, c) があつた。この 3 成分の生成強度の紫外レーザー強度依存性を図 5 に示す。成分 b, c は直線的依存性を示したのに対し、成分 a および H^+ は高次の依存性を示した。

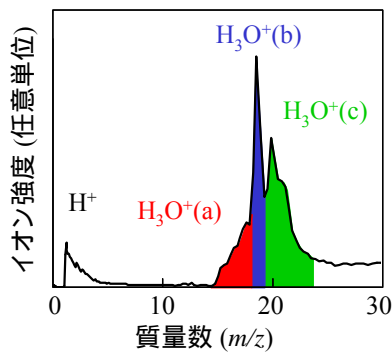


図 4 10 μ M の Lys 水溶液液滴分子線に赤外および紫外レーザーを照射して得られた質量スペクトル (部分)。赤外 - 紫外遅延時間は 7 μ s。

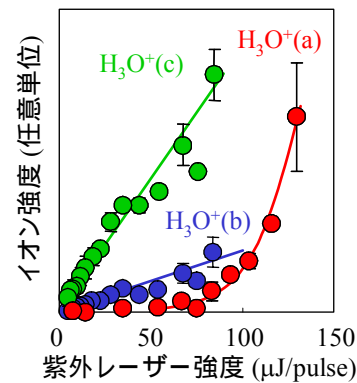
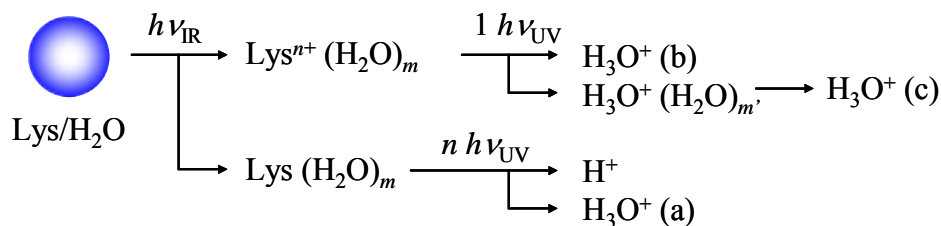


図 5 H_3O^+ として観測される 3 つの成分 a, b, c のイオン強度の紫外レーザー強度依存性。赤外 - 紫外遅延時間は 10 μ s。

【考察】液滴分子線への赤外レーザー照射により、タンパク質溶液から、1 - 7 価のタンパク質分子イオン (プロトン付加イオン) が生成することがわかつた。また、等電点が 4.7 である BSA の場合、塩化物からのみ正イオンが観測されることから、観測されているイオンは、溶液中に存在するイオンが気相中に放出されているものと考えられる。

一方、生成した分子あるいは分子イオンへの紫外レーザー照射により、 H^+ と $H_3O^+(a, b, c)$ が生成した。このうち $H_3O^+(b)$ および $H_3O^+(c)$ は、その生成量の紫外レーザー強度依存性が直線的であったことから、一光子過程で生成している。中性分子のイオン化においては、2 光子以上が必要と考えられるので、これらのイオンは、赤外レーザー照射により気相中に生成した $Lys^{n+} (H_2O)_m$ の紫外レーザーによる光解離により生成していると考えられる。 $H_3O^+(c)$ の示す幅の広い飛行時間スペクトルは、まず大きな水和クラスター、 $H_3O^+(H_2O)_m$ が生成し、飛行時間型質量分析計の加速領域において分解しているとして説明できる。一方、高次の依存性を示した $H_3O^+(a)$ および H^+ は、中性のリゾチーム水和クラスター、 $Lys (H_2O)_m$ の紫外レーザーイオン化の過程において生成していると考えられる。(スキーム 1)



スキーム 1