

【目的】 生体分子は一般的に生体環境に近い水溶液中で固有の構造と機能を持ち、適材適所でその役割を果たす。この性質はより高次の生体分子であるほど顕著であり、DNA/RNA やタンパク質レベルでは水和状態がその安定構造に強く影響を与える。このような生体分子の水和状態と安定構造の関係を解明する手段として、最近では孤立状態での気相分光法が脚光を集めている。我々も、孤立状態（1分子レベル）のタンパク質でその水和状態と安定構造の関係を調べるため、液滴分子線赤外レーザー蒸発法と孤立気相分光法を組み合わせた独自の装置開発を行い、ウシ血清アルブミン（BSA）にみられる3次構造変化の観測に成功した。しかしこれは、天然状態から変性状態へ化学変性する際に生じる3次構造の変化を観測したもので、水和状態がこの3次構造変化にどの程度影響しているのかについては十分に考察できていなかった。また観測したBSAイオンの価数は1価～4価が混在した条件となっており、タンパク質の構造変化における価数依存性については測定できていなかった。そこで本研究では新たにイオントラップ電極を作製し、価数選別を行ったタンパク質イオンを標的に脱溶媒和による構造変化を観測した。またタンパク質の変性において、脱溶媒和の効果が変性構造に与える影響をタンパク質イオンの価数ごとに分離して議論することを目指した。

【方法】 BSA およびシトクロム *c* (cyt *c*) 水溶液（50 および 100 μ M）を液滴ノズルより直径 $\sim 80 \mu$ m の液滴として 10 Hz で射出し、試料液滴をそれぞれ独自の気相分光装置（図）に導入した。加速電極部に到達した試料液滴に赤外レーザー光（3,590 cm^{-1} , 5.5 mJ/pulse）を照射して液滴中の試料を気相単離した。生成したイオンはパルス電場で加速し、飛行時間型質量分析計を用いて観測した。また本研究では新たに作製したイオントラップ電極を用いて、加速電極部内で 70 ms のイオントラップもを行い、価数選択的なイオン信号の観測を試みた。観測したタンパク質イオンの構造解析を行うため、紫外 - 可視レーザー光を照射して光電子脱離収量（PDY）分光法および光解離（PD）分光法を用いた気相スペクトルを測定し、脱溶媒和条件での価数選択的構造解析を行った。

【結果】 タンパク質での価数選択的な構造解析を実現させるため、新たなイオントラップ電極を作製して BSA 負イオンのイオントラップ条件を模索した。しかし BSA レベルの巨大生体分子の負イオンでは、赤外レーザー光で加熱された後の冷却過程で多量の熱電子が放出されるため、イオントラップ中で分子内電荷を失い、中性化が進行しやすいことが明らかになった。そこで BSA の代替として正イオンでも観測可能な cyt *c* を用いてイオントラップを行った。その結果、1 価の cyt *c* 正イオンを選択的にトラップすることに成功した。またトラップした cyt *c* から解離するヘムイオン ($m/z=546$) の信号を用いることで、1 価の cyt *c* 正イオンの PD スペクトルの測定に成功した。量子化学計算との比較を行ったところ、このスペクトルに観測された cyt *c* ヘム中の鉄原子の電子スピン状態はこれまで天然状態で報告されてきた低スピン状態とは異なり、中間状態が支配的であることが明らかになった。また cyt *c* では等電点が高いため、イオントラップ電極を用いずに負イオンを観測すると 1 価の cyt *c* 負イオンを選択的に観測できる。我々は、このイオンに対して PDY 分光法と量子化学計算を適用することで、観測された cyt *c* ヘム中の鉄原子の電子スピン状態は、低スピン状態、中間状態、高スピン状態が 0.3 : 1 : 1 の存在比で分布しており、正イオンとは異なることを明らかにした。

液滴分子線赤外レーザー蒸発法を用いた独自の気相分光装置

