

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：82118

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23600014

研究課題名(和文) 静電型イオン貯蔵リングによる生体分子-電子・光子衝突研究の新たな展開

研究課題名(英文) NEW DEVELOPMENT OF THE STUDIES ON ELECTRONIC AND PHOTONIC COLLISIONS WITH BIOMOLECULES USING AN ELECTROSTATIC STORAGE RING

研究代表者

田辺 徹美 (TANABE, TETSUMI)

大学共同利用機関法人高エネルギー加速器研究機構・その他部局等・名誉教授

研究者番号：20013394

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円、(間接経費) 1,260,000円

研究成果の概要(和文)：静電型イオン貯蔵リングを用いて様々な一価負イオン分子に関する真空中での光解離を研究した。フルオレッセンの場合は、波長スペクトルがレーザー照射前のイオン貯蔵時間によって大きく変わる。この変化はフルオレッセン分子の異なる異性体に起因する。これら異性体の相互転換はイオンを貯蔵している間に起こる。オレンジ I についても類似の結果が得られた。クロロフィル a と b の場合は、時間スペクトルが早い減衰成分と遅い減衰成分からなる。統計モデルはこれらのスペクトルを良く再現し、活性化エネルギーは両者とも約 0.6 eV である。測定した気相での波長スペクトルは溶液での吸収スペクトルと大きく異なる。

研究成果の概要(英文)：Photodissociations of various molecules in vacuo were studied by using an electrostatic storage ring. For fluorescein monoanions, wavelength spectra depend strongly on the storage time of ions before laser irradiation. It was deduced that the spectra originated from various tautomers of fluorescein monoanions. Interconversion of these tautomers occurs during storage in the storage ring. Similar results were obtained for orange I monoanions. For chlorophyll a and b monoanions, time spectra consist of fast and slow decay components. A statistical model well simulates these decay spectra and the activation energies were found to be approximately 0.6 eV for both. The measured wavelength spectra were markedly different from the photoabsorption spectra of the chlorophylls in the solution phase.

研究分野：時限

科研費の分科・細目：量子ビーム科学

キーワード：原子、分子物理 静電型イオン貯蔵リング 気相 超高真空 光吸収 互変異性体 相互変換 電子捕獲解離

1. 研究開始当初の背景

イオン貯蔵リングによる原子、分子の研究は1990年代初頭に遡る。1990年代では磁気型リングが主流で、リングに蓄えられた高温イオンビームと低温の電子ビームを合流させてイオンビームの熱を奪うことによって高精度のイオンビームが実現した(電子冷却)。電子冷却部はまた、電子とイオンが衝突する空間で、この部分で起る原子、分子の様々な反応の研究が精力的に行なわれた。KEKでは周長80mのリングTARN IIによって分子に関する新たな現象が発見された。磁気型リングの場合はイオンの質量の増加に伴って磁場を強くする必要がある。

一方、静電型リングの場合はイオンの質量に関係なくプロトンから生体分子まで同一の電場で貯蔵できるという大きな特徴がある。さらに、軽量、小型にできるという点も魅力的である。2000年代に入るとこのような静電型リングが登場する。最初はAarhus大学で建設されたが、貯蔵ビームの寿命が極めて短いという欠点があった。KEKではこの問題を克服し、長寿命で安定にビームを貯蔵できる周長8mのリングが建設された

(T. Tanabe *et al.*, Nucl. Instr. Meth. A **482** (2002) 595)。このリングは生体分子イオン発生用のelectrosprayイオン源(ESI)を備え、質量数万に及ぶ高強度の生体分子イオンビームを安定に貯蔵することに成功した(T. Tanabe *et al.*, Nucl. Instr. Meth. A **496** (2003) 233)。さらに電子冷却装置と同じ型で、厚み20cmの電子標的を建設し電子と生体分子イオンの衝突実験を世界に先駆けて開始した(T. Tanabe *et al.*, Nucl. Instr. Meth. A **532** (2004) 105)。

装置の建設後は生体分子イオンと電子の衝突研究が精力的に行われた。これまで、この種の研究はFTICR(Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance)装置によって研究されてきた。しかし、この装置は正確な衝突エネルギーがわからないという欠点があった。一方、静電リングでは本質的に「ビーム実験」であるために衝突エネルギーが正確にわかり、さらにFTICR法では検出できない中性の反応生成物を検出できるという大きな特徴がある。先ずペプチド正イオンと電子の衝突では6.5 eVという分子としてはかなり高いエネルギーで強い共鳴状電子捕獲が起る事実を発見した(T. Tanabe *et al.*, Phys. Rev. Lett. **90** (2003) 193201)。この種の共鳴は電子捕獲解離現象によるもので、ペプチド結合等特定の化学結合が切断されたことに起因すると推定される。ペプチドに関する共鳴の研究では金属付加イオンについても同様な共鳴がさらに強く起ることを発見した(T. Tanabe *et al.*, Chem. Phys. Lett. **449** (2007) 202)。また、DNAの正イオンの場合は4.5 eV付近で共鳴が起ることを発見した(T. Tanabe *et al.*, Chem. Phys. Lett. **430** (2006) 380)。この共鳴はDNAの構成要素で

ある塩基同士が接近した場合に強くなることを金属付加イオンを用いることによって明らかにした(T. Tanabe *et al.*, Chem. Phys. Lett. **467** (2008) 154)。一方、DNA負イオンと電子の衝突では特定の閾値で反応が起り、この閾値エネルギーがイオンの電荷量に比例して約10 eVのステップで増加する現象を発見した(T. Tanabe *et al.*, Phys. Rev. Lett. **93** (2004) 043201)。さらに、S-S結合を持つペプチド正イオンの電子捕獲解離では、S-Sボンドが解離を促進する傾向があり、システインに結合したアミノ酸の性質に依存すると考えられる(T. Tanabe *et al.*, Chem. Phys. Lett. **504** (2011) 83)。

一方、生体分子イオンの光吸収、解離の研究も手がけた。イオンを貯蔵した後にレーザーを照射すると、貯蔵時間に依存して吸収スペクトルが変化する事実を緑色蛍光タンパク質(GFP)の発色団負イオンについて発見した(Eur. Phys. J. D **62** (2011) 191)。

2. 研究の目的

貯蔵生体分子イオンによる光吸収は重要な研究テーマである。従来の研究はすべてパルスレーザー発光のサイクルに合わせて、イオンビームをリングに入射するサイクルを10 Hzにしていた。ところが、トラップに長時間(0.5~2 s)貯蔵すると吸収スペクトルの形状が変化し、幅が狭くなる現象を発見した。貯蔵によって振動回転励起状態が脱励起することに起因する。トラップに貯蔵する代わりに超高真空の静電リングに貯蔵することができればよりクリアな吸収が観測されることが考えられる。このように、これまで焦点があてられなかった貯蔵時間に着目して、さまざまな分子について光吸収解離の研究を行う。

一方、貯蔵時間という縦軸に加えて分子の種類という横軸にも焦点をあててさまざまな分子について光吸収解離の研究をすすめる。従来行われてきた光吸収の研究は溶液中にある分子についてであり、真空中で、周りからの影響のない分子単体の研究は極めて少ない。分子固有の性質を明らかにするためにも真空中での研究は大切である。

電子と正イオンの衝突で起る電子捕獲解離(ECD)は衝突エネルギーがゼロ付近で最も強く起る事が知られている。しかし、静電リングの周回イオンの速度は極めて遅く、同速度の電子エネルギーは0.1 eV付近である。従って衝突エネルギーをゼロにするためには電子エネルギーを0.1 eVまで下げなければならない。しかし、電子ビームの強度はエネルギーと共に低下する。一方、電子はソレノイド磁場に拘束されているので空間電荷による広がりはない。現在、電子制御に使用している電源を低電圧で安定度の高いものに変えればある程度の密度をもった低速電子ビームを発生させることは可能と考えられる。低速の限界まで電子エネルギーを下

げた研究を試みる。

3. 研究の方法

装置全体の概略を図1に示す。

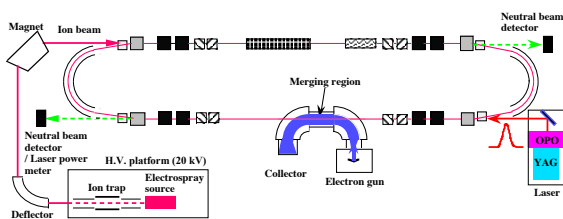


図1 静電型イオン貯蔵リング

分子イオンを ESI で生成し、一旦イオントラップに貯蔵して強度を増す。次に、蓄えられたイオンをパルスビームとして出射し、20 keV に加速する。イオン源から送られてくるイオンは質量分析器で電荷と質量を選別して目的とするイオンだけを周長 8 m の静電リングに入射する。入射されたイオンはリング内を周回し、残留ガスと衝突して徐々に強度が低下する。ある一定時間を経過した後周回ビームを捨てて新たなビームを入射する。このようなサイクルを繰り返す。リング内の真空度は 10^{-11} Torr の超高真空である。

イオン-光子の衝突実験は図1に示したように YAG+OPO (波長可変、10 Hz) レーザーを使用し、リングの直線部に光を導入し周回イオンに照射する。光吸収によって、電子脱離や分子解離が起り、中性粒子が放出される。中性粒子は、レーザー照射後ある一定の寿命で放出が続くので、レーザー入射の反対側の直線部に設置したマイクロチャンネルプレート (MCP) で検出する。

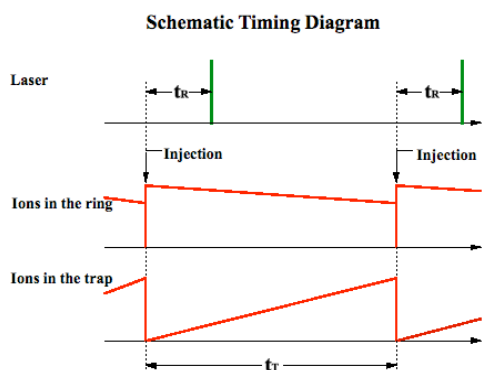


図2 イオン貯蔵とレーザー照射のタイミング模式図。

これまで報告されているこの種の実験はレーザーの発光周期に同期してイオンを 0.1 s 間イオントラップで貯蔵した後リングに入射していた。イオンを静電リングに蓄えて脱励起させる方式をとればより明確な脱励起になるはずである。そのためには 10 Hz のレーザー光を機械的なシャッターで遮って、ビーム貯蔵中はシャッターを閉じて光入射を遮断する。このような装置を設置した後、イオンをリングで貯蔵した場合とイオントラ

ップで貯蔵した場合との比較をする (図2)。

イオン-電子の衝突実験では、リングの直線部に設置した厚み 20 cm の電子標的で電子を発生させ、周回イオンビームと衝突させる。衝突の結果放出される中性粒子を電子標的の下流に設置した MCP からなる中性粒子検出器で検出する。電子のエネルギーを小さなステップで変え、中性粒子の衝突エネルギー依存性を測定する。電子エネルギーは 1-100 eV の範囲で変えることができる。これまで、もっぱらこの領域の共鳴現象を研究してきた。今回新たに、0.1-1 eV の低速領域を研究するために、電子標的で使われている電子加速電源、電子発生用のガンアノード電源に、より低電圧で安定性の良いものを付加し、交互に使用できるように改造した。この改造の後、正の分子イオンの電子捕獲解離の低速領域での実験を開始した。

4. 研究成果

(1) 静電リングに蓄えられた fluorescein 負イオンの分子構造の転換。

Fluorescein (FL) は独特な明るい蛍光色のために広く知られた染料である。中性およびイオン状態の FL の溶液中での光吸収は古くから研究されてきた。一価負イオンは図3に示すように MAC および MAF の2つの異性体がある。MAC は溶液中で安定であるのに対して MAF は溶液ではわずか 0.1% しか含まれていない。一方、真空中では MAF の方が安定であると理論は予言している。最近のイオントラップを用いた研究では MAF の存在を示唆するデータが得られている。本研究では、イオントラップとは異なるリングの超高真空環境下での FL および 5-Carboxy-Fluorescein (5-CF) (図3) の光吸収解離を研究した。

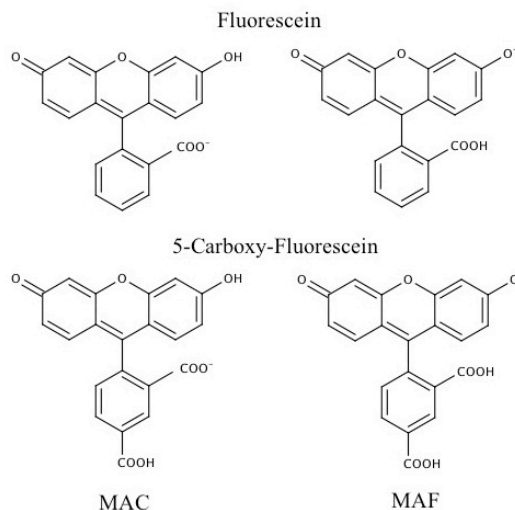


図3 Fluorescein および 5-Carboxy-Fluorescein の異性体 (MAC、MAF) 分子構造。

まず、貯蔵時間を変えて中性粒子の放出量を測定した。図4のように時間スペクトルは貯蔵時間によって大きく変わる。

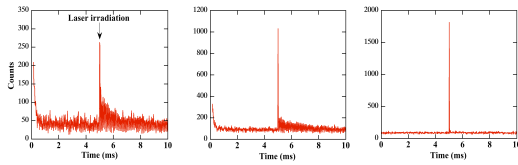


図4 5-CF 一価負イオンの光吸収の貯蔵時間依存性。左： $t_1:0.1$ s, $t_R:5$ ms、中： $t_1:2$ s, $t_R:5$ ms、右： $t_1:2$ s, $t_R:2$ s、レーザー波長：470 nm。

スペクトルは速い成分 (fast component) と遅い成分 (slow component) からなる。貯蔵時間が短い場合は比較的生命は長い。しかし、トラップでの貯蔵時間を長くすると長寿命成分の上に短寿命成分が重畳する。さらに、リングでの貯蔵時間を長くすると長寿命成分が消えて短寿命成分だけになる。

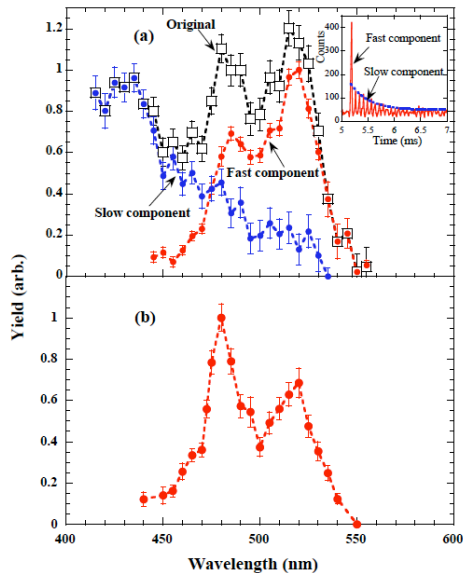


図5 FLの光解離スペクトル。(a) 貯蔵時間は、 $t_1:2$ s, $t_R:5$ ms。挿入図は波長 470 nm の時間スペクトルで、fast component は、点線で示した slow component の外挿部分を差し引いたもの。波長スペクトルは元の original スペクトルをこの手順で fast component と slow component に分解してある。(b) 貯蔵時間は、 $t_1:2$ s, $t_R:2$ s。

短時間の貯蔵の後レーザーを照射して測定した FL 一価負イオンの波長スペクトル (図5a) は溶液や気相での MAC および MAF のスペクトルと大きく異なる。一方、図のように fast と slow component に分解したスペクトルは、溶液相や気相における MAC および MAF の吸収スペクトルに相当する領域に極大が現れる。すなわち、slow component は短波長領域にあり、水溶液における MAC の吸収スペクトル ($\lambda_{\max}=420$ nm) に似ている。また、fast component はダブルピークで ($\lambda_{\max}^1=480$ nm, $\lambda_{\max}^2=520$ nm)、DMSO 溶液における MAF のスペクトルや気相での MAF のスペクトルに

近い。このことは、MAC と MAF の共存を示唆している。図5b は長時間リングに蓄えた後測定した波長スペクトルであるが、slow component がほとんどなくなり、fast component が支配的になる。これらの事実からスペクトルの変化を次のように説明することができる：ESI の直後では MAC と MAF が共存しているが、貯蔵時間とともに MAC が MAF に変換して行く。その結果、MAC の減衰とともに MAF が増加する。すなわち interconversion (内部転換) が起こる。同様な結果は、5-CF についても見られる。これらの結果は Eur. Phys. J. D 66 (2012) 163 に掲載された。

(2) 静電リングにおけるクロロフィル a および b 負イオンの光解離。

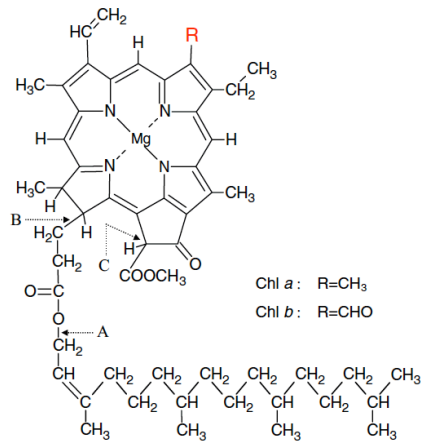


図6 クロロフィルの化学構造

クロロフィル a (Chl a) および b (Chl b) (図6) 負イオンをリングに貯蔵し、光吸収解離によって放出される中性粒子を測定した。図7は時間スペクトルで、FL の場合と異なり、異性体が無いために貯蔵時間によるスペクトルの変化はほとんど無い。

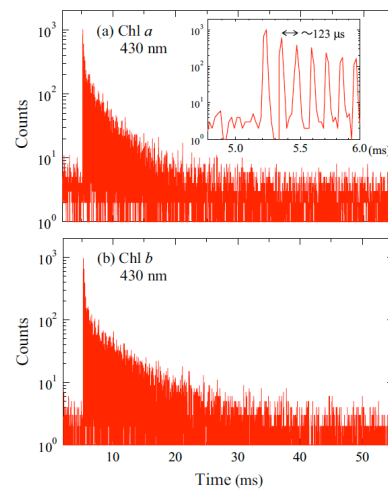


図7 Chl a および Chl b の中性粒子放出時間スペクトル。挿入図は 4.8 ms から 6 ms までの拡大図。ピークの間隔はイオンの周回時間に相当する。

FL の場合と同様にスペクトルは fast component と slow component からなるが、前者は 2 光子吸収、後者は 1 光子吸収によるもので、活性化エネルギー 0.6 eV を仮定した統計モデルで説明できる。波長スペクトルは溶液での吸収スペクトルと比較した。図 8 に示したようにエーテル溶液の結果とは異なり、ピリジン溶液の吸収に似ている。これらの結果は Phys. Rev. A 87 (2013) 033403 に掲載された。

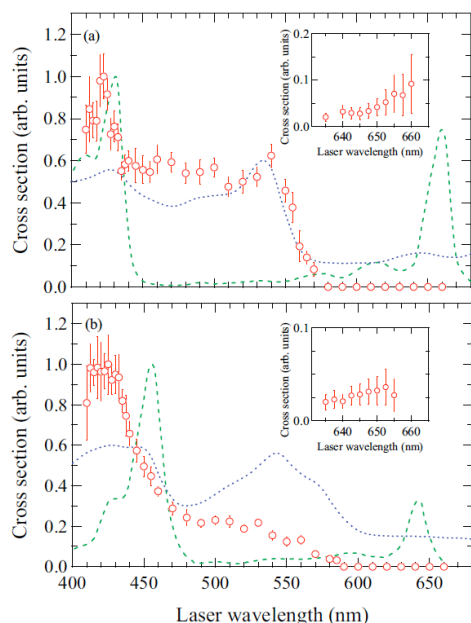


図 8 (a)Chl a および(b)Chl b の波長スペクトル。破線および点線は、それぞれエーテル溶液とピリジン溶液での吸収。

(3) 静電リングに蓄えられたオレンジ I 負イオンの光解離と構造転換。

色素 orange I には hydrazone と azo という 2 つの異性体がある。さらに、azo には trans と cis の異性体がある。orange I 負イオンの光吸収解離の実験を行った。得られたデータの時間スペクトルは FL の場合と同様に貯蔵時間に大きく依存する。短時間貯蔵の場合は速い成分と遅い成分からなるが、長時間貯蔵すると速い成分だけが残る。波長スペクトルも貯蔵時間に大きく依存する。さらに、レーザー強度依存性や貯蔵時間依存性なども測定した。また、溶液での吸収と比較するために異なる溶液での光吸収や、解離チャンネルを推定するために衝突誘起解離 (CID) などの測定も行った。データはすべて取り終えて、現在理論解析を行っているところで、まとめ次第学術誌に投稿する予定である。

(4) 極低速領域でのアンギオテンシン I 正イオンの電子捕獲解離。

これまででは電子の最低エネルギーを 1 eV までしか下げられなかった。今回、アンギオテンシン I 正イオンについて最低エネルギー：0.17 eV まで下げた測定を行った。図 9 のように低速領域のスペクトルはゼロに向かって大きく増加し、明らかに 6.5 eV のバンプ

を大きく上回っている。この傾向は電子捕獲解離がゼロエネルギー付近で大きく増加するという予想と一致する。実験的にはこれ以上エネルギーを下げると電子ビーム電流が極端に減少し測定にかからなくなる。電子源として熱電子を用いているので、そのエネルギーの広がりが約 0.1 eV であり、最低エネルギーを限定している。明らかに 6.5 eV 付近のバンプにくらべて 1 eV 以下の低エネルギーにおける断面積増加が顕著である。以前発表したデータ (Phys. Rev. Lett. 90 (2003) 193201) と比較するとその差は明らかである。

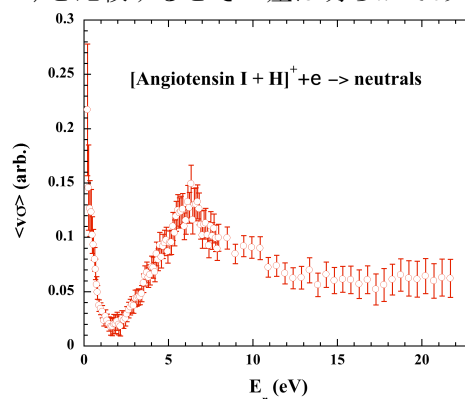


図 9 アンギオテンシン I 正イオンの電子捕獲解離。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

- ① Manabu Saito, Tetsumi Tanabe, Koji Noda, Masami Lintuluoto
Photodissociation of chlorophyll monoanions studied using an electrostatic storage ring
Journal of Physics: Conference series 488 (2014) 022004 査読無
DOI: 10.1088/1742-6596/488/2/022004
- ② Manabu Saito, Tetsumi Tanabe, Koji Noda, Masami Lintuluoto
Photodissociation of the monoanions of gas-phase chlorophylls a and b in an electrostatic storage ring
Physical Review A 87, 334031-334037 (2013) 査読有
DOI: 10.1103/PhysRevA.87.033403
- ③ Tetsumi Tanabe, Manabu Saito, Koji Noda
Photodissociation of cold fluorescein monoanions studied using an electrostatic storage ring
Journal of Physics: Conference series 388 (2012) 022106 査読無
DOI: 10.1088/1742-6596/388/2/022106
- ④ Tetsumi Tanabe, Manabu Saito, Koji Noda, Evgeni B. Starikov
Molecular structure conversion of fluorescein monoanions in an

electrostatic storage ring
The European Physical Journal D 66
(2012) 1631/8 - 1638/8 査読有
DOI: 10.1140/epjd/e2012-20763-7

[学会発表] (計 8 件)

- ① Manabu Saito, Tetsumi Tanabe, Koji Noda, Masami Lintuluoto
Photodissociation of chlorophyll monoanions studied using an electrostatic storage ring
XXVIII International Conference of Photonic, Electronic and Atomic Collisions (ICPEAC2013)
2013年7月24日-30日, Lanzhou, China
- ② Tetsumi Tanabe, Manabu Saito, Koji Noda, Evgeni B. Starikov
Molecular structure conversion of stored monoanions in electrostatic storage ring
5th International Workshop on Electrostatic Storage Devices
2013年6月17日-21日, Heidelberg Germany
- ③ 田辺徹美、斎藤 学、野田耕司
静電リングにおける分子イオンの光解離：貯蔵時間に依存したスペクトルの変化
日本物理学会 第68回年次大会
2013年3月26日-29日、広島大学東広島キャンパス
- ④ Tetsumi Tanabe, Manabu Saito, Koji Noda, Evgeni B. Starikov
Electronic and photonic collision experiments on molecular ions with an electrostatic storage ring at KEK
19th International Mass Spectrometry Conference (IMSC2012)
2012年9月17日-21日、国立京都国際会館
- ⑤ Tetsumi Tanabe, Manabu Saito, Koji Noda, Evgeni B. Starikov
Variation of photodissociation spectra of molecular anions with storage time in an electrostatic storage ring
44th Conference of the European Group on Atomic Systems (EGAS), 9-13 July, 2012, Gothenburg, Sweden
- ⑥ 田辺徹美、斎藤 学、野田耕司
静電型イオン貯蔵リングにおける分子イオンの構造転換
日本物理学会 第67回年次大会
2012年3月24日-27日、関西学院大学西宮上ヶ原キャンパス
- ⑦ 斎藤 学、田辺徹美、野田耕司
静電リングに貯えられたクロロフィルイオンの光吸収実験
日本物理学会 2011年秋期大会
2011年9月23日、富山大学五幅キャンパス

- ⑧ Tetsumi Tanabe, Manabu Saito, Koji Noda
Photodissociation of cold fluorescein monoanion studied using an electrostatic storage ring
XXVII International Conference of Photonic, Electronic and Atomic Collisions (ICPEAC2011)
2011年8月2日, Belfast, Northern Ireland, UK

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田辺 徹美 (TANABE TETSUMI)
大学共同利用機関法人高エネルギー加速器研究機構・その他部局等・名誉教授
研究者番号：20013394

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

野田 耕司 (NODA KOJI)
独立行政法人放射線医学総合研究所・重粒子医学センター、物理工学部・部長
研究者番号：80228329

斎藤 学 (SAITO MANABU)
京都府立大学・生命環境科学研究科・准教授
研究者番号：60235075