

令和 5 年 6 月 17 日現在

機関番号：32606

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K15509

研究課題名(和文) 深紫外可視光励起・高分解能気相共鳴ラマン分光を用いた巨大生体分子の精密構造解析

研究課題名(英文) High-resolution structural analysis of huge biomolecule based on gas phase resonance Raman spectroscopy using deep ultraviolet - visible laser excitation

研究代表者

浅見 祐也 (Asami, Hiroya)

学習院大学・理学部・助教

研究者番号：00726078

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、最近開発した液滴分子線赤外レーザー蒸発気相共鳴ラマン分光装置に改良を加え、深紫外から可視光励起での高分解能のスペクトルを短時間で測定することを目指した。まずポリクロメータとCCD検出器を導入してミオグロビンヘムの気相共鳴ラマンスペクトルの高速測定を試みたが、実験条件を最適化しても顕著な信号は観測できなかった。そこで、分光器をモノクロメータに戻して、検出器のみ光電子増倍管からCCDに変更することでこのミオグロビンヘムだけでなく、シトクロムcの気相共鳴スペクトルを迅速に測定することにも成功した。しかし依然として信号強度が弱いため、励起波長の最適化など今後更なる条件検討が必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究でCCD検出器を導入して、気相共鳴スペクトルの測定時間を従来の1/10程度に削減できた。この成果はタンパク質構造を高速に測定できる新たなアプローチを開発した点で一つのブレイクスルーであると考えられる。またシトクロムcの共鳴条件を模索するために測定した光解離スペクトルの測定から、室温でのシトクロムcヘム鉄の電子スピン状態がこれまで一般的に知られてきた低スピン状態ではなく、中間状態であることが明らかになった。このことは、金属タンパク質の電子スピン状態を室温条件で決定するためには、従来の極低温条件でのESR測定では不十分であること意味しており、本手法の有効性を示唆する結果と考えられる。

研究成果の概要(英文)：Gas phase spectroscopy is a powerful tool for structural identification of isolated biomolecules, free the aqueous environment. However, the conventional gas-phase IR spectroscopy combined with supersonic-jet techniques has a difficulty towards the structural analyses of huge biomolecules like protein and DNA. This problem results from their extremely large vibrational degrees of freedom, which gives low resolution (broad) peaks in the IR spectroscopy. Therefore, we developed a gas-phase resonance Raman (GRR) spectroscopy apparatus based on the IR-laser ablation of droplet beam. This spectroscopic technique has a great advantage for the structural analyses of huge biomolecules because it focuses on the local site of a target molecule. In this work, we introduced a highly sensitive CCD detector and successfully measured the GRR spectra of myoglobin and cytochrome c with high-speed, wide-range wavelength scanning.

研究分野：物理化学

キーワード：気相 共鳴ラマン散乱 ヘムタンパク質 紫外-可視 赤外レーザー蒸発 液滴 分子線 量子化学計算

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

近年の生体分子の気相分光は、レーザー脱離法や ESI 法の確立に伴い、比較的分子量の核酸やペプチドについては構造解析手法が確立しつつある。研究代表者もこれまでの研究で独自のレーザー脱離装置を開発し、分子量が 1000 未満の核酸分子の気相分光を可能にした。この過程で研究代表者は、従来通りの実験値と理論計算値との比較に止まらず、化学合成法や非調和振動計算といった高度な理論計算手法を複合的に駆使して、生体分子高次複雑系を標的とした新たな構造解析手法を積極的に構築してきた。しかしながら、タンパク質や DNA のような分子量が 10000 を超える巨大生体分子の気相分光の実現は大変難しく、主に 3 つの問題が障害となっていた。一つは、気相では溶液や固相に比べて分光測定における試料濃度が極めて薄く、信号強度が弱い点である。二点目は、巨大生体分子には膨大な振動自由度が存在するため、従来の気相分光でよく用いられてきた赤外分光法ではスペクトルが煩雑化し、構造の帰属が困難になる点である。三つ目は、巨大生体分子を気相単離する場合、生体分子に結合しやすい水分子を完全に除去することが難しく、水分子の吸収が振動スペクトルに強く影響を与える赤外分光法は有効な構造解析手法にならない点である。

研究代表者はこれら 3 つの問題点を克服するため、図 1 に示す液滴分子線赤外レーザー蒸発法を用いた気相共鳴ラマン分光法を開発した。この手法では、高濃度の試料溶液を直接真空中に導入できる点で、極めて強いイオン信号を容易に得ることが可能である。またトラップしたイオンに対して、赤外吸収ではなく、共鳴ラマン散乱光を利用することで、励起される発色団周囲の振動情報のみを選択的に抽出することができる。これにより、巨大分子系で懸念される振動スペクトルの複雑化を回避できる。さらに、ラマン散乱光を利用している点で水分子が振動スペクトルに与える影響も同時に軽減することが可能となる。研究代表者は実際にこの手法をヘムタンパク質の一つとして知られるミオグロビン(Mb,分子量: 17858, 等電点: 6.9)の構造解析に適用し、巨大分子系では初めて気相共鳴ラマンスペクトルの測定に成功した。ヘム構造内にある Fe^{2+} イオンの d 電子には $S=0$ (ls 状態)と、 $S=2$ (hs 状態)の 2 種のスピン状態があり、それぞれが異なる振動バンドをもつ。そのため、これら 2 種のスピン状態を考慮して量子化学計算を行い、観測された気相 Mb^{2+} イオンの構造の帰属を行った。その結果、1000~1800 cm^{-1} の領域にある 4 つのバンドは全てヘム構造のマーカーバンドとして知られる $C_{\alpha}-N$, $C_{\alpha}-C_m$, $C_{\beta}-C_{\beta}$ に帰属でき、1952 cm^{-1} はカルボン酸基の COO 対称伸縮振動に帰属できることが明らかになった。得られたスペクトルでは、1600~2000 cm^{-1} の領域で強いピークが観測されているため、観測した Mb^{2+} イオン中の鉄原子のスピン状態は hs 状態が支配的であると考えられる。通常、ls 状態はポルフィリン以外の配位子(Mb の場合は His)が鉄原子に強く配位した際に安定化し、hs 状態は逆にこの配位子の影響が弱い状態で安定化する傾向がある。またこの ls 状態から hs 状態への構造変化は、ヘムタンパク質が pH 変性を起こし、天然体から変性状態に変化する構造変化とよく一致する。そのため本研究で測定した気相 Mb^{2+} イオンでは、配位子である His が解離状態となる pH 変性を生じた構造が顕著に観測されていると結論した。

2. 研究の目的

上記の研究で、巨大生体分子の気相共鳴ラマンスペクトルの測定は可能になったが、得られるスペクトルはブロードであり、タンパク質の微細構造を議論する上で十分なものでない。これは使用している分光器がモノクロメーター(MC-10N, リッシー応用(株))であるため、測定に膨大な時間がかかることや、分解能が悪い(400 nm 付近で ~ 30 cm^{-1} 程度)である点に由来する。またタンパク質の微細構造を議論する上で、 α ヘリックス構造や β シート構造のような二次構造を議論することが必要不可欠である。しかし、これを行うには 200 nm 付近の深紫外領域で共鳴ラマンスペクトルの測定を行う必要があり、現状の分光器ではこの領域の波数分解能が ~ 130 cm^{-1} 程度と極めて悪い点で測定が困難である。

そこで本研究では上記の課題を克服するため、深紫外領域での波数分解能が 10 cm^{-1} を下回る高分解能の CCD 分光器を導入し、高精度な気相共鳴ラマンスペクトルの測定を目指す。また励起レーザー光の波長を適宜変化させることで、タンパク質の二次構造や芳香族アミノ酸(トリプ

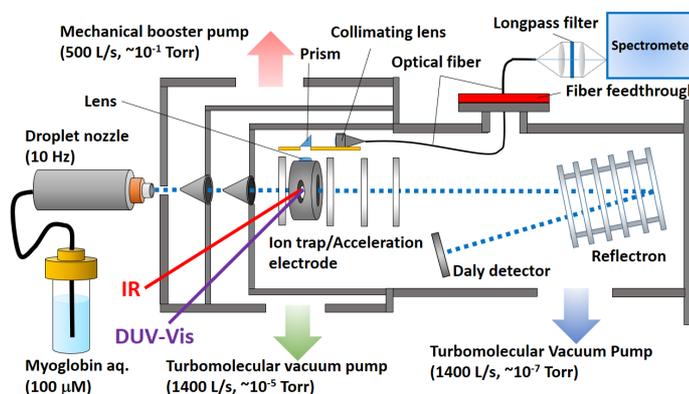


図 1. 液滴分子線赤外レーザー蒸発法を利用した気相共鳴ラマン分光装置図。

トファンやチロシンなど)に由来する共鳴ラマン信号を分離して測定する。これにより、巨大生体分子の部分構造を一分子レベルで解明する基盤技術を確立する。

3. 研究の方法

図1に示すように、100 μM に調製した Mb 水溶液を 10 Hz でパルス駆動させた液滴ノズルより射出した。生成した液滴は真空チャンバーに空けられた直径 0.5 mm のオリフィスより真空中に導入され、三段階で差動排気された真空槽を通過しながら加速電極部に誘導した。この加速電極部に赤外レーザー光(3590 cm^{-1} , 6 mJ/pulse)を照射することで溶解させた試料を気相単離した。この時、加速電極部に設置されたリング電極に高周波(RF)電圧を印加することで、気相単離させたイオンを質量選択的にトラップできた。またトラップしたイオンに深紫外から可視光の励起レーザー光を照射することで、共鳴ラマン散乱光が発生する。これをレンズ、プリズム、コリメータレンズ、光ファイバー、フィードスルー、ロングパスフィルターを介して分光器に導入し、共鳴ラマンスペクトルの測定を行った。また励起レーザーの波長を適宜変化させ、二次構造、ヘム構造、芳香族アミノ酸周囲の振動情報を分離して測定することを目指した。

本研究では、高分解能の CCD 分光器を導入し、以下の計画で研究を進めた。

Step1. 高分解能の CCD 分光器を導入とヘム構造を励起した高分解能気相共鳴ラマンスペクトルの測定

高分解能の分光器(iHR550, HORIBA)と深紫外領域でも高感度な CCD 検出器(DU420A-BU2-SM, Andor Technology)を導入して、既に測定したヘム構造励起の気相共鳴ラマンスペクトルと比較するため、同条件で高分解能なスペクトルを測定し、ヘム周囲の微細構造についての詳細な議論が可能であるかを評価する。

Step2. 二次構造や芳香族アミノ酸励起の気相共鳴ラマンスペクトルの測定

ヘム構造以外の強い電子吸収帯を持つ二次構造や芳香族アミノ酸について、気相共鳴ラマンスペクトルを測定し、水溶液レベルの文献値との比較を試みる。

Step3. 量子化学計算との比較

ヘム構造、二次構造、芳香族アミノ酸に由来するそれぞれの気相共鳴ラマンスペクトルと Gaussian09 を用いた理論計算との比較を行い、得られた実験値がどの程度の大きさの部分構造を反映しているのかを明らかにする。

4. 研究成果

液滴分子線赤外レーザー蒸発法を用いて、Mb イオンを気相単離し、イオントラップ電極を用いて Mb^{2+} イオンを選択的にトラップした。この Mb イオンに紫外レーザー光(395 nm)を照射して、 Mb^{2+} イオンから生じる共鳴ラマン散乱光を観測した。従来、分光器にモノクロメータ、検出器に光電子増倍管(PMT)を使用して共鳴ラマンスペクトルを測定していたが、分光器の波長分解能が良くないことや、測定時間が長時間に及ぶことから、分光器に焦点距離が 55 cm のポリクロメータ(iHR550, HORIBA)、検出器に CCD(DU420A-BU2-SM, Andor)を使用してスペクトルの測定を目指した。この CCD 検出器は、深紫外領域まで十分な感度のあるものを初年度に本研究費で新たに購入した。しかし、実際に測定を行ったところ、顕著な信号は観測できなかった。また試料濃度、分光器のスリット幅、光ファイバーの長さなどを調整してみたが、それでも再現性のある十分な信号を得るには至らなかった。また、イオントラップの電極部からの光が正しく検出器まで到達していることを確認するため、電極部分で散乱したレーザー光を検出器で観測することを行った。これは感度良く信号が得られていることから、レーザーのアライメントやイオントラップ電極部から検出器までのアライメントに致命的な問題は無いと考えられる。従って、信号が観測できない主な原因としては、分光器を通して検出器で観測する際の感度が低いことが考えられる。これまで用いていたモノクロメータの焦点距離は 12cm と非常に短いことや、PMT の検出感度が高いことを踏まえると、CCD 検出器を用いて気相での微弱な共鳴ラマン散乱光を観測するためには、分光器の分解能は低下しても、焦点距離が短いものに変更する必要があると考えた。

そこで2年度は、使用する分光器をポリクロメータへ移行する前に使用していたモノクロメータに戻してスペクトルの測定を目指すことにした。このモノクロメータは焦点距離が 12 cm と短いことから、分解能は落ちるものの、微弱なラマン信号を高感度に観測できると期待される。実際にこのモノクロメータを用いてミオグロビ

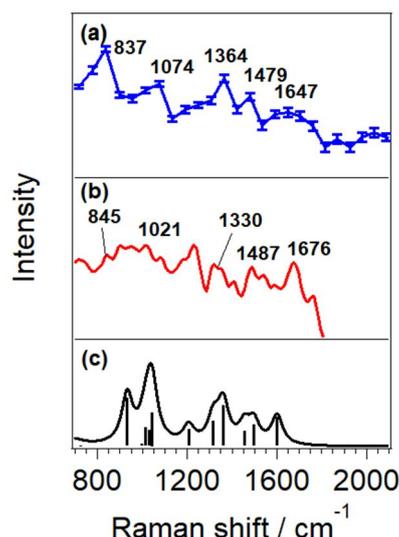


図2. Mb^{2+} イオンの気相共鳴ラマンスペクトル(700-2100 cm^{-1} 領域). (a) PMT 使用時, (b)新規 CCD 検出器使用時, (c) 計算値. 共鳴ラマンスペクトル計算は B3LYP/cc-pVTZ レベルで行った。

ンの Soret 帯に由来する 395nm 励起で気相共鳴ラマン散乱光を観測したところ、700-1800 cm^{-1} 領域において PMT を用いて測定した気相共鳴ラマンスペクトル(図 1a)と同等レベルのスペクトル(図 1b)を測定することに成功した。この測定では CCD 検出器を使用してスペクトルを得たことで、測定時間を従来の 1/10 程度に削減することができた。これは従来では測定時間が膨大になることから着手できなかったタンパク質の構造変化に関するダイナミクスを測定することを可能にするブレイクスルーであると考えられる。また OH や NH、CH 伸縮振動が観測されると予想される高波数側(2600-3800 cm^{-1} 領域)についても測定を行った。PMT を使用して測定していた際には、長時間測定による Mb^{2+} イオン信号の減衰によって、1 日の測定で 3000-3800 cm^{-1} 領域の測定を行うことが限界であったが、CCD 検出器を導入したことにより短時間に 2600 cm^{-1} から 3800 cm^{-1} の領域で再現性の高いスペクトルを測定することに成功した。この結果、PMT 使用時に測定されていた 3577 cm^{-1} および 3290 cm^{-1} に観測されていたブロードなピークを分離して観測することに成功した。また 2806 cm^{-1} 付近に新たなピークを観測することに成功した。量子化学計算によってピークを帰属したところ、図 3c に示す Water structure1 中にある水の水素結合を形成した OH 伸縮振動であることが分かった。これまで、図 2a や図 3a に観測されたスペクトルは全て水のプロトンがヒスチジン残基側に移動した Water structure2(図 4d)で説明できると考えていた。しかし、2806 cm^{-1} 付近に観測されるこのピークは、Water structure2 の存在だけでは説明ができない。また Water structure1 中で水素結合を形成した水の OH 伸縮振動は、量子化学計算の結果、非常に強い共鳴ラマン強度を持って観測されることが分かった。このことは、観測されたスペクトル中に僅かに Water structure1 の構造が混ざっているだけでもこの水の OH 伸縮振動バンドが観測される可能性を示唆している。

上記の改良によって、標的とする Mb ヘム構造の共鳴ラマンスペクトルを迅速に測定することが可能になった。しかし依然として信号強度が弱く、より高感度に観測する工夫が必要であることが分かった。そこで 3 年度は、標的とするタンパク質をシトクロム c(cyt c)に変更した。cyt c では電子スペクトルを気相中で綺麗に測定できるため、励起レーザー光の波長を最適化しやすい。また観測されるヘム構造が 1 種であるため、シャープな振動構造を観測できる可能性が高い。一般的に cyt c は生体中で電子伝達系に多く分布し、生命活動に必要な電子の授受の役割を担っている。この時、cyt c 中の鉄原子の酸化還元が機能発現に深く関与しているため、この鉄原子の価数や電子スピン状態には古くから関心が持たれている。通常、市販の cyt c で調整した水溶液では、観測される cyt c ヘムの鉄原子の価数は 3 価であり、その安定な電子スピン状態として低スピン状態(LS, $S=1/2$)、中間状態(IS, $S=3/2$)、高スピン状態(HS, $S=5/2$)が知られている。またこれまでの電子スピン共鳴(ESR)分光法を用いた観測により、天然状態の cyt c では LS が顕著に観測されることが分かっている。しかし cyt c のような金属タンパク質を標的とした ESR 分光ではタンパク質を極低温に冷却して測定することが多く、その観測結果が室温レベルで機能する金属タンパク質の電子スピン状態と一致するものであるかどうか十分には確認されてこなかった。そこで本研究では、気相単離した 1 価の cyt c 正イオン(cyt c^+ イオン)をトラップして室温レベルへの冷却を行った後、可視 - 紫外レーザー光を照射して光解離(PD)スペクトルを測定した。本研究では、cyt c 水溶液(100 μM)を用い、液滴ノズルから 10 Hz で試料液滴を射出した。生成された直径 $\sim 80 \mu\text{m}$ の液滴は、真空チャンパーに空けられた小さな穴と二つのスキマーを通過し、イオントラップ/加速電極部まで誘導した。この電極に設置されたリング電極部に液滴が到達した瞬間に赤外レーザー光(3590 cm^{-1} , 5.5 mJ/pulse)を照射し、液滴中の cyt c イオンを気相単離した。生成したイオンは飛行時間型質量分析を経て検出した。またこの時、リング電極内で生成された気相イオンに高周波電圧(RF,

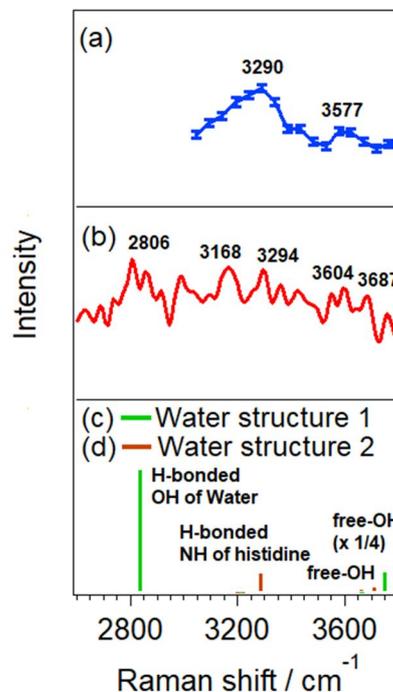


図 3. Mb^{2+} イオンの気相共鳴ラマンスペクトル(2600-3800 cm^{-1} 領域). (a) PMT 使用時, (b)新規 CCD 検出器使用時, (c) 計算値(Water structure1), (d) 計算値(Water structure2). 共鳴ラマンスペクトル計算は B3LYP/cc-pVTZ レベルで行った。

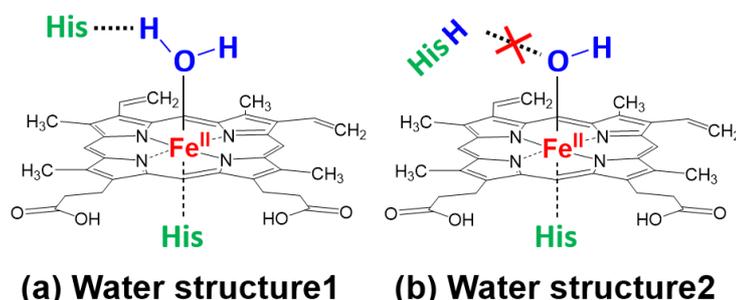


図 4. Mb^{2+} イオンのヘム構造図. (a) Water structure1, (b) Water structure2.

116.1 kHz, 940 V_{p-p})を印加することで、cyt c⁺イオンを価数選択的に 70 ms 間トラップした。その後、紫外 - 可視レーザー光(370-440 nm, 1.3-6.8 mJ/pulse)を照射し、解離信号として観測されるヘムイオン(m/z = 546)を利用した PD スペクトルを測定した。また観測された cyt c⁺ヘム構造を決定するため、量子化学計算を行い、ヘム構造の安定性および TD-DFT レベル(B3LYP/cc-pVDZ レベル)の垂直励起エネルギーとその振動子強度を見積もった。図 5 に気相 cyt c⁺イオンで測定した PD スペクトルを示した。励起レーザー光強度依存性の測定からこの PD 信号は 2 光子吸収過程に従うことが分かったため、図 5 に示す PD スペクトルの強度には、レーザー強度の 2 乗で割ったものを用いた。また水溶液中で測定される天然状態の cyt c の吸収極大は 409 nm であるが、本研究で測定した気相中での PD スペクトルのピークは 401 nm に観測された。この気相と水溶液間でみられるスペクトルのピークシフトは、水和状態では電子励起状態が安定化して観測されるという一般的な解釈とよく一致している。PD スペクトル中に観測された cyt c⁺ヘム鉄の価数と電子スピン状態を決定するために量子化学計算を用いて電子スピン状態の安定性を見積もった。本研究では還元剤などを用いた測定は行っていないため、鉄原子の価数は 3 価に固定して 3 種の電子スピン状態(LS, IS, HS)の安定性を見積もった。その結果、図 5 に示すように IS が最安定なスピン状態であることが分かった。また 3 種の電子スピン状態に対して TD-DFT レベルで計算した垂直遷移エネルギーのパターンを比較したところ、402 nm から短波長側の領域で IS が最も実験値をよく再現していることが分かった。一方、410 nm 付近では計算値に存在するピークが実験的に観測できていない。このことは、この波長領域では 2 光子のエネルギーではヘムの解離エネルギーに到達しないためだと考えられる。以上のことから、室温レベルに冷却された気相 cyt c⁺イオンで観測される 3 価のヘム鉄の電子スピン状態は、LS ではなく IS であると帰属できる。また量子化学計算で評価した LS と IS の電子スピン状態の安定性は、気相条件と水溶液条件で同様の傾向を示すものの、77 K(極低温)条件と室温条件を比較すると、水溶液中の極低温条件では LS が IS と同レベルまで安定化することが明らかになった。これらの結果は、我々の帰属とこれまでの ESR 分光法で考えられてきた帰属の違いをよく説明しており、室温状態の cyt c⁺イオンでは気相と水溶液のいずれにおいても IS が実験的に観測されるべき電子スピン状態であると言える。

上記の改良によって、cyt c⁺イオンで気相共鳴ラマンスペクトルを測定するためには、励起波長を 401 nm に固定するのが良いことが分かった。またこの気相共鳴ラマンスペクトルが測定できれば、IS 状態を示す cyt c⁺ヘムの微細構造が議論できると予想された。本研究では分光器の手前にダブリズムを導入することで、レーザービームライン上で線状に光る共鳴ラマン散乱光の像を 90 度回転させて高感度に気相 cyt c⁺イオンの共鳴ラマンスペクトルを得る工夫を行った。その結果、図 6 に示すスペクトル(緑)を測定することに初めて成功した。このスペクトルはベースラインであるスペクトル(オレンジ)とは異なる形状のスペクトルを示していることから、共鳴ラマン信号が明確に観測されていると予想される。また 1600 cm⁻¹ 付近に顕著なピークが観測されているが、この特徴は図 2b に示した Mb²⁺イオンではみられないことから、図 6 の結果は cyt c 固有のスペクトルの特徴が反映されていると考えられる。しかし、予想に反してスペクトルが非常にブロードであり、Mb²⁺イオンでみられたような複数の振動バンドを観測できていない。これは本研究で用いた励起波長(401 nm)は共鳴条件としては不十分で、より明確な共鳴ラマン信号を得るためには、401 nm 付近で励起波長の最適化が必要であると推測している。本研究は研究代表者の異動もあり当初の目標まで到達できなかったが、Mb²⁺イオンおよび cyt c⁺イオンの気相共鳴ラマンスペクトルを CCD 検出器を用いて高速で測定することに成功していることから、励起波長を正しく設定できれば、紫外領域での測定も十分可能であると予想される。

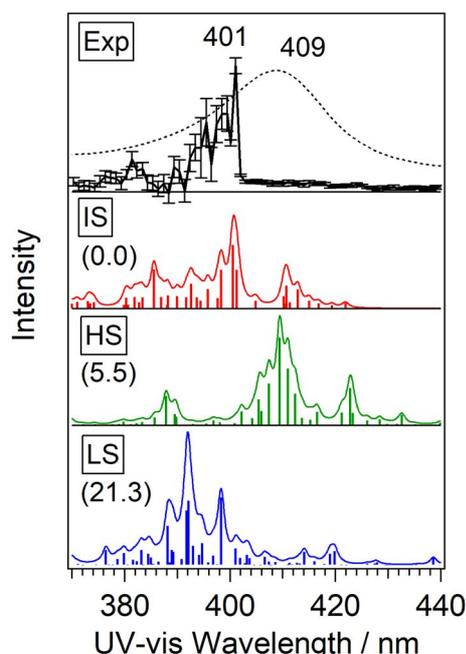


図 5. 気相 cyt c⁺イオンの PD スペクトルと計算値の比較. 破線は cyt c 水溶液(pH 6.9)の紫外-可視吸収スペクトルを示した. また 3 種の電子スピン状態(LS, IS, HS)の安定性を評価するため、相対エネルギー(kJ/mol)をカッコ内に示した.

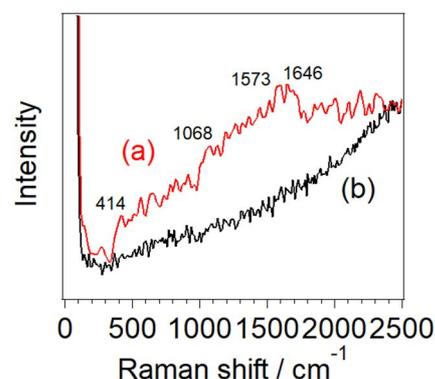


図 6. cyt c⁺イオンの気相共鳴ラマンスペクトル. (a) cyt c⁺イオンの共鳴ラマン信号, (b) ベースライン.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hiroya Asami, Chihiro Suzuki, Akihiro Kitazaki, Jun-ya Kohno	4. 巻 781
2. 論文標題 Gas-phase heme structure of the singly charged cytochrome c anion produced by IR-laser ablation of a droplet beam	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemical Physics Letters	6. 最初と最後の頁 138999
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cplett.2021.138999	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 浅見祐也, 河野淳也	4. 巻 70
2. 論文標題 巨大生体分子の微細構造解析を標的とした気相蛍光/共鳴ラマン分光装置の開発	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 分光研究	6. 最初と最後の頁 123-126
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Asami Hiroya, Saigusa Hiroyuki, Kohno Jun-ya	4. 巻 756
2. 論文標題 Conformation of protonated guanine nucleotides via infrared multiphoton dissociation spectroscopy: Observation of rotamers in the anti-conformation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemical Physics Letters	6. 最初と最後の頁 137828 ~ 137828
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cplett.2020.137828	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Asami Hiroya, Kawauchi Norishi, Kohno Jun ya	4. 巻 56
2. 論文標題 Gas phase hydration of the lysozyme ion produced by infrared laser ablation of a droplet beam studied by photodissociation and fluorescence spectroscopy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Mass Spectrometry	6. 最初と最後の頁 e4620
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jms.4620	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Asami Hiroya, Kitazaki Akihiro, Kawauchi Norishi, Kohno Jun-ya	4. 巻 124
2. 論文標題 Gas-Phase Resonance Raman Spectroscopy Combined with IR-Laser Ablation of a Droplet Beam: Local Structural Analysis of Myoglobin	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry A	6. 最初と最後の頁 9464 ~ 9469
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpca.0c08058	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kitazaki Akihiro, Hasegawa Tomoko, Asami Hiroya, Kohno Jun-ya	4. 巻 771
2. 論文標題 Chemical denaturation of gas-phase albumin ions studied by photoelectron detachment yield spectroscopy and infrared laser ablation of droplet beams	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemical Physics Letters	6. 最初と最後の頁 138512 ~ 138512
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cpllett.2021.138512	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 浅見祐也, 水村華子, 河野淳也
2. 発表標題 液滴分子線赤外レーザー蒸発法で観測される気相1価シクロムc正/負イオンのヘム構造
3. 学会等名 日本化学会第102春季年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 北崎陽寛, 浅見祐也, 河野淳也
2. 発表標題 熱/化学変性した気相アルブミンイオンの光電子脱離収量スペクトル
3. 学会等名 第14回分子科学討論会(オンライン)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 浅見祐也, 鈴木千裕, 北崎陽寛, 河野淳也
2. 発表標題 液滴分子線赤外レーザー蒸発法を用いたシトクロムcの気相分光
3. 学会等名 日本化学会第101春季年会(オンライン)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hiroya Asami, Akihiro Kitazaki, Norishi Kawauchi, Jun-ya Kohno
2. 発表標題 Gas phase resonance Raman spectroscopy of huge biomolecule by IR-ablation of droplet beam: local structure in isolated heme protein
3. 学会等名 the 28th edition of the International Symposium on Molecular Beams (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 浅見祐也, 北崎陽寛, 河内宜志, 河野淳也
2. 発表標題 気相共鳴ラマン分光法を用いたミオグロビンの局所水和構造の解明
3. 学会等名 第13回分子科学討論会2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroya Asami, Akihiro Kitazaki, Norishi Kawauchi, Jun-ya Kohno
2. 発表標題 Structural analysis of isolated heme protein based on gas-phase resonance Raman spectroscopy: Identification of the oxidation state, spin state, and coordination
3. 学会等名 The Great Scientific Exchange 2020 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroya Asami
2. 発表標題 Gas phase resonance Raman spectroscopy by IR-laser ablation of droplet beam: Stable heme structure in isolated myoglobin
3. 学会等名 Gakushuin-NCTU Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関