

研究課題別評価

1 研究課題名:超臨界流体ジェット法の開発による分子認識メカニズムの解明

2 研究者氏名:石内 俊一

3 研究のねらい

分子レベルの機能を活用することにより、飛躍的な高度集積化・高機能化を達成するということ、ナノテクノロジーの1つの目標である。生体分子は正にその1つの究極的な解答であり、生体分子を模倣することにより、或いは改造することにより新たな人工分子(「ナノテク分子」)が合成されている。ところが、このような研究において、そして、生体分子そのものの研究において、それらが分子レベルでどのような構造をとり、また機能発現においてどのような構造変化或いは化学反応を起こしているかという詳細な情報を得るための分析手段が欠如している。この問題に答えるために、超音速ジェット・レーザー分光法を用いることを着想した。

超音速ジェット法とは、気体試料を希ガスとともに直径数百 μm 程度の小孔より真空中に噴射し、断熱膨張効果により極低温まで冷却された非平衡分子流(超音速ジェット)を得る方法である。超音速ジェット中の気体試料分子は、並進速度が揃うため分子間衝突のない状態であるだけでなく、分子の回転・振動状態及び電子状態などの内部エネルギー状態が最低エネルギー状態となる。ジェット中で分光スペクトル測定を行うと、極めて先鋭化したスペクトルが得られるため、レーザー分光法と組み合わせることにより、分子の構造やダイナミクスに関する極めて詳細な情報が得られる。

従来の超音速ジェット・レーザー分光法の問題点は、気体分子或いは容易に気化できる分子にしか適用できないことである。この問題を克服しない限り、上記分子に対してこの方法を適用することはできない。そこで本研究では、不揮発性物質の超音速ジェットを得る新たな方法として、超臨界流体ジェット法を提案する。この方法は、不揮発性試料を超臨界流体に溶解し、その溶液をそのまま真空中にジェット噴射することによって、不揮発性試料の超音速ジェットを非加熱で得るという方法である。

本研究は、超臨界流体ジェット法を実現するための装置を開発し、ナノテク分子或いは生体分子の新たな分光学的研究手段を開拓することを目的としている。またその応用として分子認識メカニズム解明の一環として特に神経伝達物質の気相レーザー分光研究を試みることを目的とした。

4 研究成果:

図1に本研究で開発した超臨界流体ジェット法を実現するための装置の概略図を示す。装置は超臨界抽出部、超臨界ジェット発生部及び質量分析部よりなる。超臨界抽出部では、超臨界流体発生装置で生成した超臨界流体を試料ホルダーに導き温度・圧力をコントロールしながら試料を超臨界流体中に抽出する。得られた超臨界溶液を超臨界流体発生部に導入する。超臨界溶液は

100 気圧以上の高圧流体であり、これをジェット噴射しながら且つ高真空雰囲気を保つ必要がある。そのために開閉時間が非常に短い電磁パルスバルブを用いた。パルスバルブは高速に開かないと減圧作用を示すためジェット冷却効果が得られない。特に高圧下では開閉弁に大気圧下よりも数百倍の圧力が掛かっているため、高速に開くことが困難になる。本装置においてはソレノイドに数百アンペアの大電流パルス印加することにより、瞬間的に巨大な磁力を発生させ、100 気圧程度の高圧化での高速バルブ開閉を可能とした。

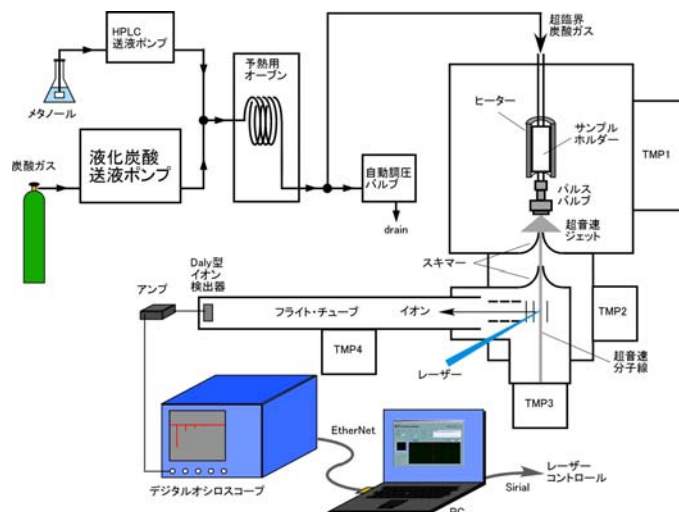


図 1 超臨界流体ジェット質量分析装置の模式図

ジェット噴射部はジェット噴射時に 10^{-5} – 10^{-4} Torr 程度の真空度となるため、より高真空度 (10^{-7} Torr 程度) を必要とする質量分析部と接続するために、超臨界流体ジェットをイオン化室に導入する前に差動排気室を設け、差動排気室及びイオン化室をそれぞれターボ分子ポンプで排気し、質量分析装置内の高真空度を維持できるようにした。質量分析部には、Wiley-McLaren 型飛行時間質量分析器を自作し、イオン検出器には一般的に用いられる MCP に比べて高感度な Daly 検出器 (ダイノード・コンバータ) を自作した (一般的な高感度検出では、ゲインを飽和させた MCP のスパイク信号をカウンティングするが、本研究ではレーザー分光測定を行う都合上通常のイオン電流強度計測方式を採用した)。Daly 検出器からの信号をデジタルオシロスコープ/パーソナルコンピュータを用いて捕捉し、質量スペクトル・レーザー分光スペクトルを測定するためのソフトウェアを自作した。

以上の装置を用いて超臨界流体ジェット法の検証実験を行った。試料として 1-ナフトール (図 2 参照) を用いた。1-ナフトールを 50°C 、100 気圧で超臨界 CO_2 に溶解し、

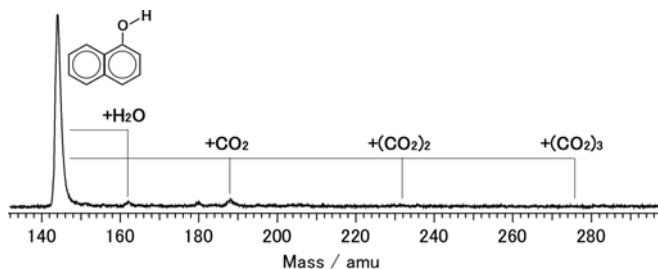


図 2 1-ナフトールの超臨界流体ジェット・レーザーイオン化質量スペクトル

これを紫外レーザーでイオン化し質量分析・検出した。得られた質量スペクトルを図 2 に示す。当初、1-ナフトールに多量の CO_2 が付着したクラスターの生成を懸念したが、質量スペクトルから明らかにそのようなクラスターは生成しておらず、1-ナフトール/ CO_2 1:1 クラスター及び 1-ナフトール/水 1:1 クラスターが僅かに観測されるのみであった。次に、1-ナフトールのピークをモニターしながらイオン化用の紫外レーザーを波長掃引し、イオン化効率の紫外レーザー波長依存性 (REMPI スペクトル) を測定した (図 3a)。この場合、紫外レーザーの波長が 1-ナフトールの電子遷移エネルギーに共鳴したときのみ急激にイオン量が増大するため、スペクトルのピークは 1-ナフトールの電子遷移に対応する。図 3 に示された最も低波数側のピークは 1-ナフトールの電子基底

状態零振動準位から第1電子励起
一ブなピークが観測され、十分なジ

純粋なCO₂だと抽出力が小さく、
より高濃度の超臨界抽出を行う
ために超臨界CO₂に微量のメタノ
ール(エントレーナー)を添加した。
その結果、REMPIスペクトルの
S/Nは大きく改善し(図3b)、また
エントレーナーがジェット冷却効
果に影響を及ぼさないことも確
認した。

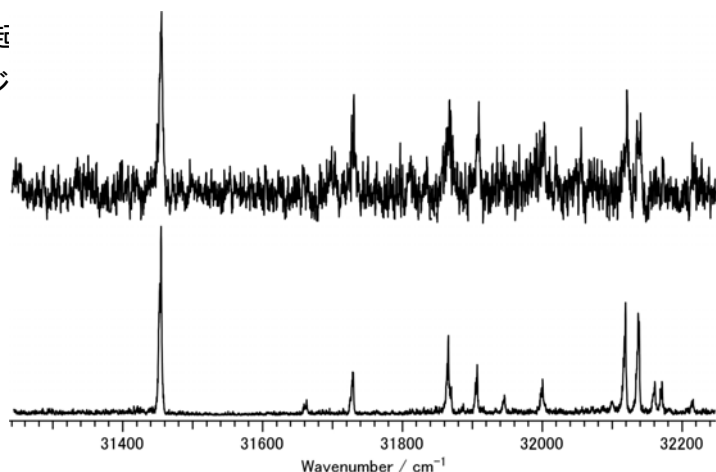


図3 1-ナフトールの超臨界流体ジェット・共鳴2光子イオン化励起スペクトル
a) 超臨界CO₂ b) エントレーナー(メタノール)を添加

パルスジェット法はパルスバ
ルブの使用限度圧力があるため、
より高圧での超臨界抽出を行うために、そのような制限のないピンホールノズルによる連続ジェ
ット法を試みた。この方法は文字通り、連続的に高圧ガスを高真空中に導入するため、高い排気速
度と微細なピンホールノズルが必要である。本研究では口径5 μm のピンホールノズルを製作し
た。この方法でも、十分なジェット冷却効果が得られることが分かったが、真空槽中の高真空を維
持するのが難しく、装置的には更に排気速度を上げる必要がある。

最後に、連続ジェット法を用いて神経伝達物質の1つであるカプサイシンのスペクトル測定を行
った。カプサイシンは、「痛み」に関連した物質であり、カプサイシンが受容体に結合することにより
代謝が促進されるため肥満解消への利用や、またカプサイシン様物質による新しい鎮痛剤への
応用などで注目されている。また、最近のテロ問題に関連して催涙ガスなどに含まれるカプサイシ
ンのリアルタイム微量分析技術の確立が課題となっている。図4にカプサイシンの連続超臨界ジェ
ット・レーザーイオン化質量スペクトルを示す(マス校正のためにヒドロキノンを添加した)。電子衝
撃イオン化ではフラグメンテーションが激しく親マスはほとんど観測されないが、本方法では親マ
スのピークが明瞭に観測さ
れた。分光研究のみならず、
質量分析の新たな方法とし
ても注目に値するものである
と思われる。今後、カプサイ
シンと水、アミノ酸等の錯合
体の分光研究を行う予定で
ある。

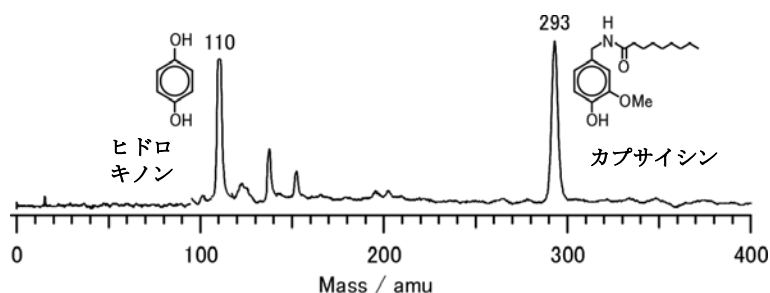


図4 カプサイシンの超臨界流体ジェット・レーザーイオン化質量スペクトル

5 自己評価

本研究の目標は、1) 超臨界流体ジェット法の確立、及び2) これを用いた生体分子、特に神経伝
達物質に関する分子分光学研究である。1) に関しては、超臨界発生装置以外は全て装置を自作

し、超臨界流体ジェット法の原理検証、及び最適化を行った。特許出願も行い、目標は十分に達成された。また、超臨界流体ジェット法におけるジェット冷却過程がこれまでの超音速ジェット法とは異なった様相を呈していることが分かり、超臨界流体そのものの研究においても興味深い側面をもつことが明らかとなった。一方2)に関しては、超臨界流体ジェット法の最適化にほとんどの時間を費やしてしまったために、研究期間の終盤でようやく入り口までたどり着いたところである。今後、こちらの研究に関しては継続して進めていきたい。本研究を通じて、超臨界流体ジェット法の新しい分析方法として重要性を示すことができ、新しい分析技術の確立を目的とした別のプロジェクトに発展しており、環境分析への貢献への第一歩となった。

6 研究総括の見解

最初の装置開発と、それを用いた通常分子の高分解能測定までは迅速だった。その後高圧高速ノズルの技術的問題に遭遇しながらも、問題を明確にして、未踏技術だった超臨界流体を用いた超音速ジェット法を立ち上げた。魅力的なターゲットの設定とそこに至るまでの課題およびマイルストーンを非常に明確にした研究開発を行い、ほぼ目標を達成したことが高く評価される。是非神経伝達物質の分光や分子認識メカニズムの研究に発展させ、また広く使われる装置となるように発展させることを期待する。さらに成果を論文として発表することが必要である。

7 主な論文等

特許出願

「超臨界流体ジェット法及び超臨界流体ジェット質量分析装置」

機構整理番号：N081P16

出願番号：特願 2004-053391

発明者：石内俊一

招待講演等

1)防衛医科大学校 医用電子工学講座オープンセミナー (2004/11/9)

「超臨界流体ジェット分光法の開発による生体関連分子へのアプローチ」

2)学振マイクロビームアナリシス第141委員会 第118回研究会 (2004/12/8)

「超臨界流体ジェット法の開発による生体関連分子の気相分光研究へのアプローチ」

3)横浜市立大学大学院総合理学研究科セミナー (2005/1/31)

「生体関連分子の気相分光のための超臨界流体ジェット法の開発」

4)先端的レーザー分光の若手シンポジウム(理化学研究所) (2005/11/11)

「超臨界流体ジェット・レーザー分光法の開発」

新聞報道

日経産業新聞 2004 年 4 月 8 日(木曜日)7 面

「生体分子の結合計測—科学技術振興機構、機器を開発」