

ESI 法を用いた生体分子イオンの構造と反応

(横浜市大院・国際総合) 深瀬 智史、野々瀬 真司

【序】孤立状態におけるタンパク質の構造とその物性を解明することはプロテオミクス研究において、重要な意味をもつ。本研究では、エレクトロスプレーイオン化法 (ESI 法) で生成したタンパク質多電荷イオンについて、二重質量分析・衝突反応装置を用い、気相内衝突反応の実験を行った。実験には Myoglobin (16951.9[amu]) を用いて、Pyridine (Py) との H^+ 移動反応を行った。Myoglobin は脊椎動物の筋肉細胞にある酸素結合タンパクとして知られており、Hemoglobin の構造や機能を考える上で重要なものである。

また、高濃度の溶質でのクラスターの効率的な生成方法を開発するために、アルカリハライドクラスターの生成条件についても同様の実験装置で検討したので、報告する。

【実験】

(1) ESI 法によるタンパク質イオンの生成・衝突反応の観測

タンパク質試料溶液を 6~7[kV] の高電圧を印加したスプレーから噴霧し、試料イオンを含む液滴を生成した。そこへ乾燥窒素ガスをフローし、荷電液滴から溶媒を蒸発させた。このようにして孤立分子イオンを生成し、真空中へと導入した。ESI 法によってタンパク質をイオン化すると、複数の H^+ が付着した多電荷イオンが生成する。四重極質量分析計で特定の電荷数 z のタンパク質イオンを質量選別した。これを八極子イオントラップを用いた衝突反応セルに導き、Py 等の気体分子と衝突反応させた。反応による生成イオン種を反射型飛行時間型質量分析計で質量分析し、検出した。

(2) アルカリハライドクラスターの生成条件検討

アルカリハライドの高濃度試料溶液を用いて、ESI 法におけるアルカリハライドクラスターの生成条件について検討した。実験は、様々なアルカリ金属 M ($M = Li, Na, K, Cs$) とハロゲン X ($X = Cl, Br, I$) から構成される試料溶液 (CsI など) を用いて、生成したクラスターイオン $M(MX)_n^+$ の質量スペクトルを測定した。検討した生成条件のパラメータは「試料溶液の濃度」、「キャピラリー~スキマー間の電位差」、「キャピラリー~スキマー間の距離」である。

図 1 に実験装置の略図を示す。

「濃度」は 0.001~0.1[mol/l]、
「電位差」 V_{cap} は 20~300[V]、「距離」 L は 2.1~3.0[mm] の範囲で変化させて、生成したクラスターイオンの質量分析を行った。

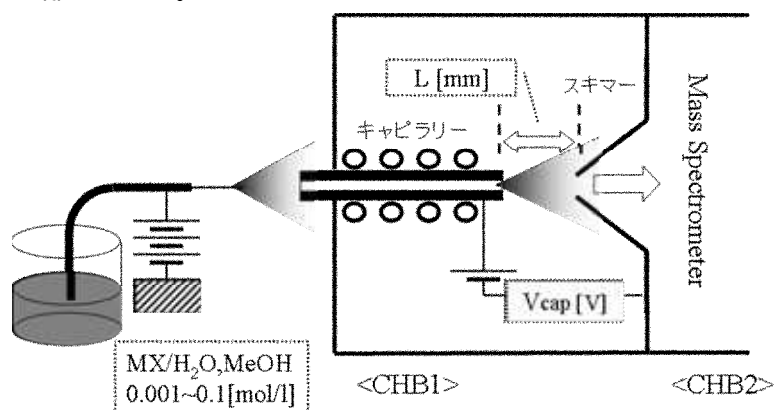


図 1 . 実験装置略図

【結果・考察】

図2 (a)はMyoglobinイオンの質量スペクトルである。電荷数 $z=9 \sim 20$ までのMyoglobinイオンが観測された。(b)は $z=14$ において、四重極質量分析計で質量選別を行った場合の質量スペクトルである。同様に(c)はPyとの衝突反応を行ったときの質量スペクトルである。MyoglobinとPyとの間でH⁺移動反応がおり、電荷数の減少したMyoglobinイオンが観測された。その他

の電荷数のイオンについても同様に比較したところ、電荷数の増加に伴って反応性が增大するといった傾向がみられた。この傾向は、我々が過去に実験したその他のタンパク質(Cytochrom C, Hemoglobin, Lysozyme)における実験結果でも見られた。

アルカリ金属MとハロゲンXから構成されるクラスターイオン、 $M(MX)_n^+$ の質量スペクトルを測定した。スペクトルには2価イオンである $M_2(MX)_n^{2+}$ も観測された。図3は電位差Vcapを変化させたときのCs(CsI)_n⁺クラスターの質量スペクトルである。Vcapの増加に伴って、2価イオンの強度が減少することがわかった。また、距離Lを変化させたCs(CsI)_n⁺クラスターの質量スペクトルを図4に示す。Lが近いほど、大きなサイズのクラスターが生成し、全体のイオン強度も増加することが分かった。これらの結果から、低真空領域における中性の気体分子と荷電液滴との衝突が、アルカリハライドクラスターの生成に大きく寄与していることが示唆された。

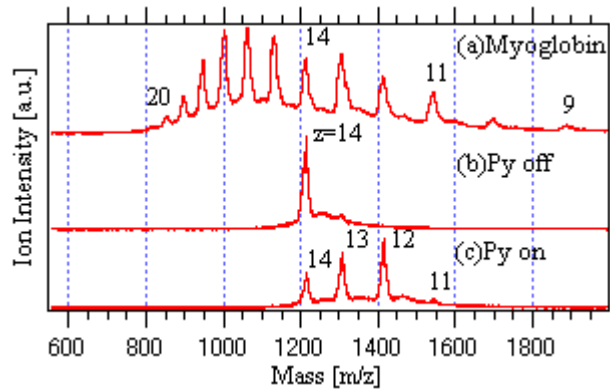


図2 . Myoglobin イオンの質量スペクトル

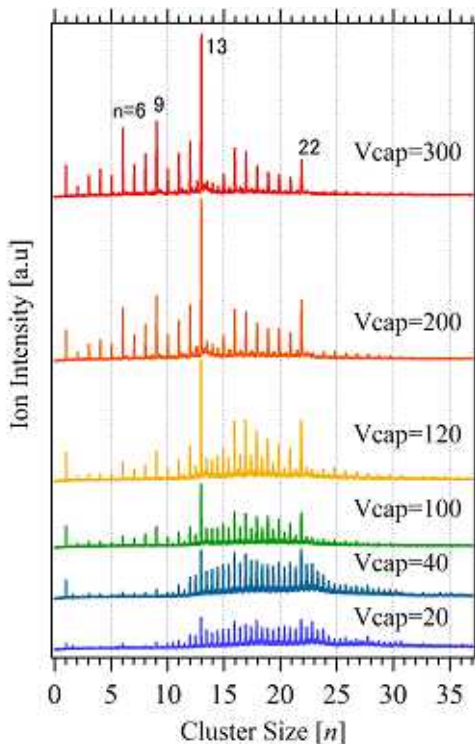


図3 . 電位差 Vcap を変化させた Cs[CsI]_n⁺の質量スペクトル

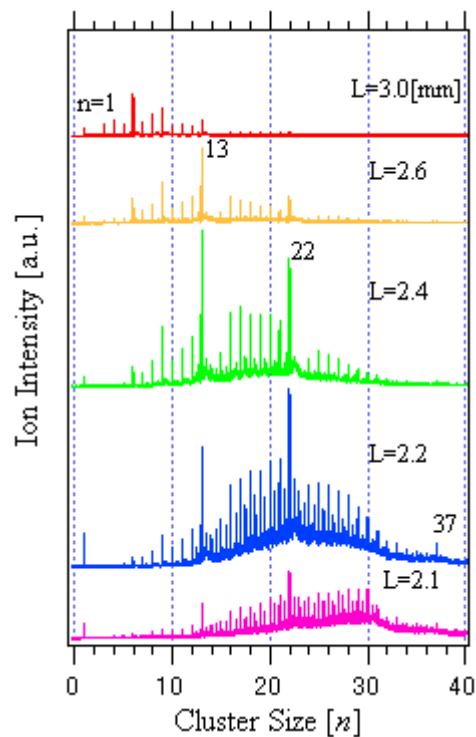


図4 . 距離 L を変化させた Cs[CsI]_n⁺の質量スペクトル