

MALDI における分子プロトン化過程の理論的研究

(横浜市大院国際総合科学 1、JST-CREST²) ○畠山允¹、立川仁典^{1,2}

【緒言】

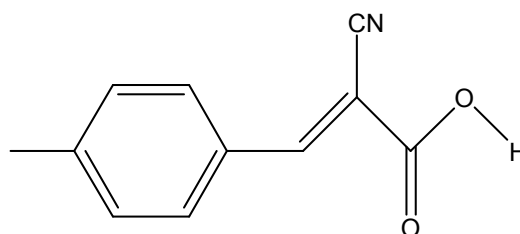
マトリックス支援レーザー脱離イオン化法 (MALDI) は、生体分子の質量分析などに用いられるイオン化法であり、プロトン化した分子を主要なイオン源として検出する。プロトン化分子のマススペクトル強度は、気相における分子のプロトン親和性 (PA) に依存するとされており、PA の大きな分子ほど強度の大きなピークを示す傾向がある。しかしながら、一部の分子においてはスペクトル強度の PA 依存性が見られないことも報告されている。例えば西風らは Lysine (PA=235kcal/mol) と Glycine (PA=210kcal/mol) を比較すると[1]、PA の大きな Lysine の方がスペクトル強度が弱くなることを見出している[2]。

マススペクトル強度における PA 非依存性の原因の一つとして、マトリックス分子の影響が考えられている。マトリックス分子は、気化過程の初期段階では密な凝集相を維持し、分極効果[3]や分子間水素結合[4]によってプロトン化反応のポテンシャルを変化させる。しかし MALDI における実際のプロトン化は、レーザーによって昇温された多数の分子がマトリックス表面から気化する短時間 (~1 μ s) で生じる[5]。そのため反応機構の実験的な解析の難しく、マトリックス分子が作る凝集相の効果に関する具体的な解析は成されてこなかった。

そこで本研究では、系の一部を量子的に扱う分子動力学計算 (QM/MM) を用いて、MALDI において分子が気化し始める過程のシミュレーションを行い、凝集相におけるプロトン化反応機構の理論的解析を行った。

【計算方法】

分子動力学計算にはGROMACSを用い、分子力場にはGeneralized Amber Forceを用いた。量子的に扱う領域には、HF/STO-3Gを用いた。レーザー照射後の分子の気化過程に対しては、1psの時間幅で昇温操作を施した後にNVE計算を行った。計算対象としては、Figure 1に示した

Figure 1. α -cyano-4-hydroxy-cinnamic acid

α -cyano-4-hydroxy-cinnamic acid(CHCA)をマトリックス分子とし、今回はマトリックス分子のみの結晶を扱った。

【結果と考察】

1psの昇温の後に1psのNVE計算を行ったところ、Figure 2のような構造変化が見られた。分子間水素結合の構造変化に注目すると、CHCA2量体のカルボキシル基が作る水素結合においてプロトン移動が起きていた。しかし、それらの移動したプロトンは全て10fs以内に元の分子に戻っており、安定なプロトン化分子は生成されなかった。

プロトン移動時の水素結合の構造変化を詳細に調べると、プロトン-プロトンドナー(O-H)、アクセプター間(O \cdots H)の距離の差と水素結合している2分子間の重心間距離が同期して変化していた。そこで、O-H距離と水素結合している2分子間の距離を変数として、水素結合部分の2次元ポテンシャルマップを作成した。その結果をFigure 3に示す。ポテンシャル面上で最安定な配置は、図

左下の水素結合したCHCA2量体である。右上に、最安定配置より700kJ/mol高い、プロトン化したCHCAと脱プロトン化したCHCAによる2量体の局所安定配置を見出した。Figure 3から、水素結合したCHCA2量体がプロトン化状態に達するためには、O-H距離と分子間距離が同時に伸長する必要があることが分かる。しかしQM/MM計算から得られたCHCA分子の軌跡においては、O-H距離は分子間距離に比べて速く変化していた。量子的に扱った分子のO-H距離と分子間距離の時間変化をポテンシャル面上に重ねたものを、Figure 4に示す。CHCA2量体の構造からO-H距離の方向へ横に伸びた軌跡はプロトン移動の起き軌跡に対応し、プロトン化状態として安定化する前にO-H距離の急速な短縮によって元のCHCA2量体に戻ることが分かる。以上の結果から、分子が気化し始める過程においてO-H距離と分子間距離の2つが同時に伸長する頻度は小さく、安定なプロトン化分子が生成される確率もまた小さいと予想される。

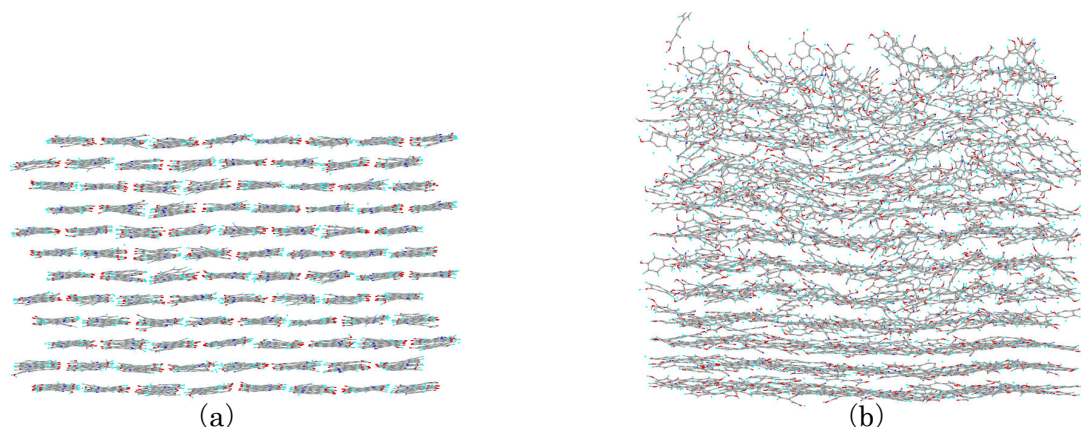


Figure 2. Snapshots for ablation steps of CHCA matrix, seen at $t = 0$ ps (a), $t = 2$ ps (b).

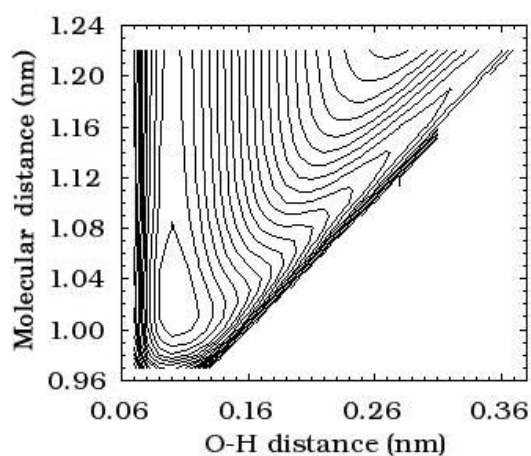


Figure 3. Electronic energy for $=O \cdots HO^-$ structure of CHCA pair, using HF/STO-3G. Contour interval is defined 50 kJ/mol.

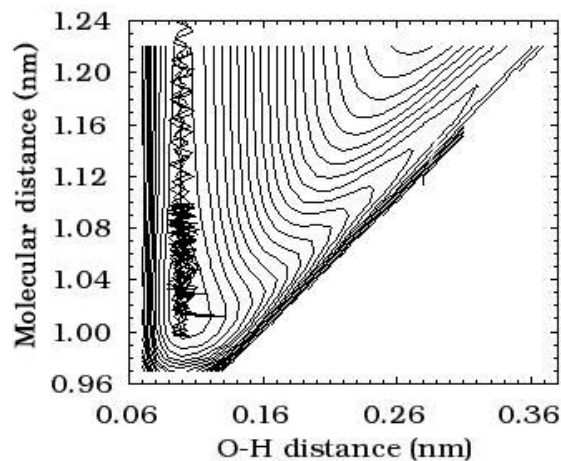


Figure 4. Schematic illustration for the projecting each QM molecule's trajectories to $=O \cdots HO^-$ electronic energy map (Fig. 3)

【参考文献】 [1]A. G. Harrison, *Mass Spectrom. Rev.*, **16**, 201~217 (1997) [2]T. Nishikaze and M. Takayama, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **20**, 376~382 (2006) [3]X. Chen, et al., *J. Am. Mass. Spectrom.*, **9**, 885~891 (1998) [4]R. Zenobi and R. Knozhenmuss, *Mass Spectrom. Rev.*, **17**, 337~366 (1998) [5]M. Takayama, *J. Vac. Soc. Jpn.*, **47**, 618~626 (2004)