

1P007

水素結合クラスターを利用したペプチド内プロトン移動反応の研究

(神戸大院理) ○藪口 紘基・石川 春樹・藤原 亮正・富宅 喜代一

【序】ペプチド分子は分子内にアミノ基や水酸基、カルボニル基など複数のプロトン受容基を持っており、どの部位にプロトン付加するかによって安定性も異なる。一般に塩基性側鎖を持たないプロトン化ペプチドではN末端のアミノ基にプロトン付加した構造が安定である。一方中性状態においては、ペプチド分子とフェノール(PhOH)のようなプロトン供与性の分子との水素結合クラスターではペプチド分子のC末端のカルボキシル基にフェノールが付加した構造が存在すると考えられる。このような中性水素結合クラスターをイオン化し、プロトン付加ペプチドを生成すると、準安定な配置からの安定な配置への分子内プロトン移動反応が起こることが期待される。本研究ではこのような反応の観測及び機構の解明を目指し、その第一段階としてフェノール-アミノ酸中性水素結合クラスターの生成方法の確立とイオン化に伴うプロトン付加位置の変化の有無についての検討を目的とした。

【実験】実験は共鳴2光子イオン化(R2PI)飛行時間型質量分析装置を用いて行った。本研究ではアミノ酸の中から、質量スペクトル中に強く現れるPhOH-H₂Oクラスターとの質量分離の良いバリン(Val)を選択した。試料のフェノール蒸気を含んだキャリアーガス(He 2.5 atm)をパルスノズルによって真空槽へ噴出した。バリンと粉末カーボンを質量比約8:2で混合し成形した試料ロッドに、Nd:YAGレーザー(Continuum Minilite)の第2高調波(532 nm)を照射し、レーザー蒸発法によってバリンを気化した。キャリアーガスとの衝突による冷却効果を高め、PhOH-Valクラスターの生成を促すため、ノズルの先端に円錐形のチャンネル(20 mm)を開けたアルミニウムブロックを取り付けた。生成したPhOH-Valクラスターは、飛行時間型質量分析計の加速領域において紫外光を用いた共鳴2光子イオン化法によってイオン化した。紫外光には、Nd:YAGレーザー(Continuum Surelite II)の第3高調波(355 nm)励起ポンプの色素レーザー(Lumonics HD-500)の第2高調波出力を用いた。

【結果と考察】図1に波長277.8 nmでR2PI法によって得られたクラスターの質量スペクトルを示す。質量スペクトルにはPhOH単量体の強いピークに加えて、PhOH-(H₂O)_n, (PhOH)₂-(H₂O)_nなどのクラスターが観測された。その間に、目的とするPhOH-Valクラスターの信号が質量電荷比(m/z) 211に現れた。さらに、プロトン化バリン(Val-H⁺)のピークも m/z = 118に現れていることがわかる。この質量スペクトルから、今回用いた方法によりPhOH-Valクラスターの生成に成功したことが確認された。

図2に[Phenol-Val]⁺のイオン信号をモニターしながら観測したR2PIスペクトルを示す。35600 cm⁻¹付近からブロードに信号が立ち上がっていることがわかり、特に構造のあるバンドは見られていない。PhOHの0-0バンド(36348 cm⁻¹[1])と比較すると、観測されたPhOH-ValクラスターのR2PIスペクトルは約700 cm⁻¹低波数シフトしていることがわかる。R2PIスペクトルがブロードになる理由としては、励起状態の寿命が短いこと、異性体のバンドが重なっていることなどが考えられる。Val-H⁺についても同様の測定を行ったところ、PhOH-Valのスペクトルとほぼ同じスペクトルが得られた。この結果は、Val-H⁺が中性PhOH-Valクラスターのイオン化によって

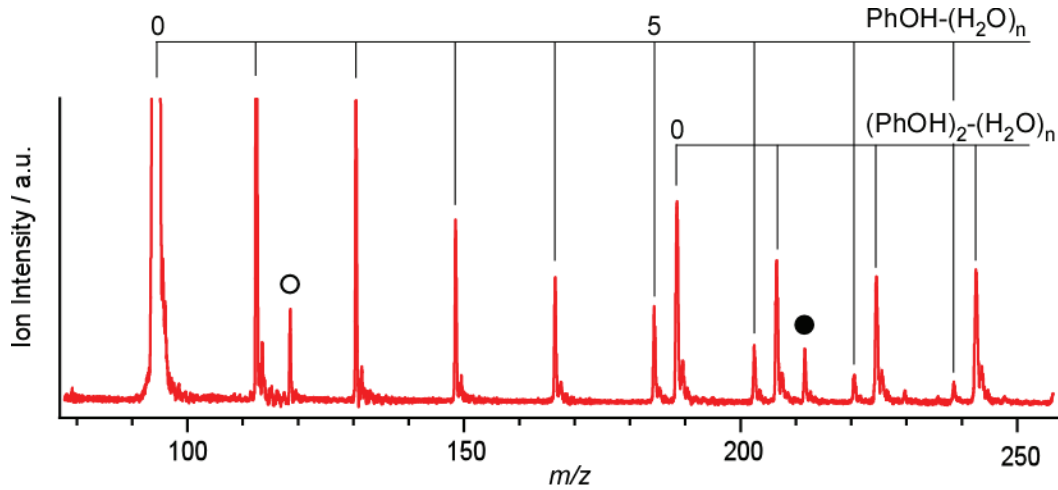


図1. フェノール-バリンクラスターの質量スペクトル ●[PhOH-Val]⁺, ○Val-H⁺

生じていることを示している。

PhOH-Valクラスターについての理論計算も進めているが、現在以下のような安定構造が中性、カチオン状態のそれぞれについて得られている。図3に示したように、中性の場合はバリンのカルボキシル基側にフェノールが水素結合した構造(n-1)が最安定であり、アミノ基側に水素結合した異性体(n-2)は1 kcal/mol程度のエネルギー差で存在する。カチオン状態ではアミノ基にプロトン付加したVal-H⁺にフェノキシラジカルが水素結合した構造(c-2)が中性(n-1)に対応するカチオン状態(c-1)に比べると10 kcal/mol以上も安定であることがわかった。我々の実験条件では(n-1), (n-2)のどちらも存在していると考えられる。(n-1)からのイオン化の場合にはイオン化に伴うプロトン移動反応が起こると期待される。今後、赤外分光法を用いた構造解析により、中性での異性体の存在の確認、Val-H⁺におけるプロトン付加位置の決定を行い、プロトン移動反応について議論する予定である。

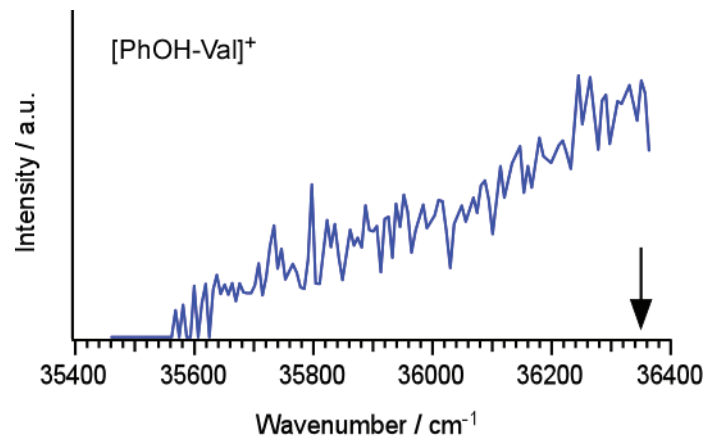


図2. フェノール-バリンクラスターのR2PIスペクトル 矢印はフェノール単体のS₁-S₀バンドオリジン

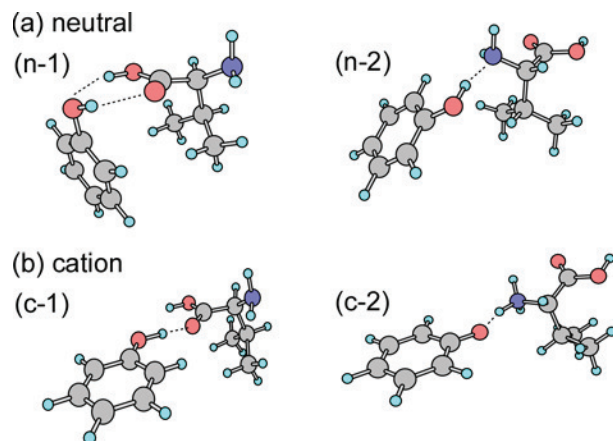


図3. フェノール-バリンクラスターの最適化構造

【文献】

[1] G. Berden, W. Leo Meerts, M. Schmitt and K. Kleinermanns, *J. Chem. Phys.* **104**, 972. (1996).