

2P004

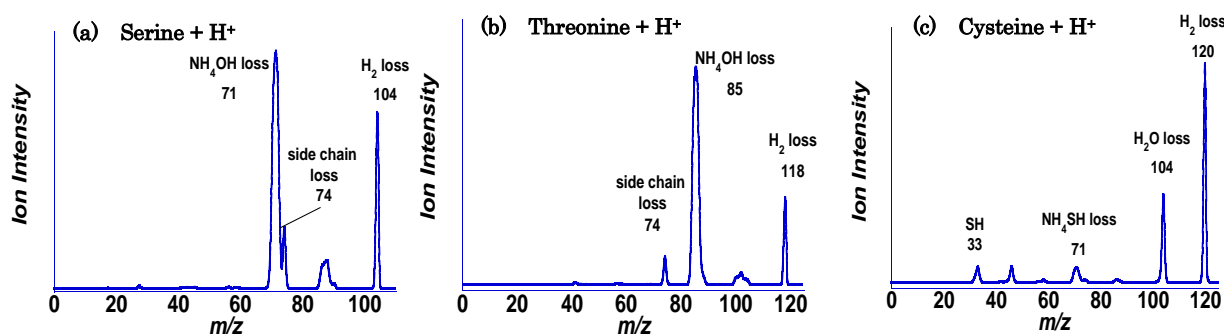
プロトン化アミノ酸とペプチドの高エネルギー電子移動での解離

(阪府大院理) ○請園 和也, 松本 真哉, 藤原 亮正, 早川 滋雄

【序】生物に存在する調節機構であるタンパク質の可逆的リン酸付加は、一般的にタンパク質のOH基で起こる。リン酸化ペプチドの電子移動解離、電子捕獲解離では、リン酸基脱離より骨格開裂が優先し、リン酸基が脱離せず位置決定できることが知られている¹⁾。また、ペプチドの二次構造を特定する上で、含硫アミノ酸 Cysteine 間に存在するジスルフィド結合を理解することは重要である。我々は励起中性種の解離機構について、当研究室で開発した電荷逆転質量分析法 (Charge inversion mass spectrometry)²⁾を用いて研究しており、生体高分子を構成するアミノ酸の解離機構を特定することは重要だと考えている。今回、OHまたはSHを含むアミノ酸やGly-Ser、Ser-Gly、ジスルフィド結合を含む Cystine の、電子移動による解離機構について検討した。

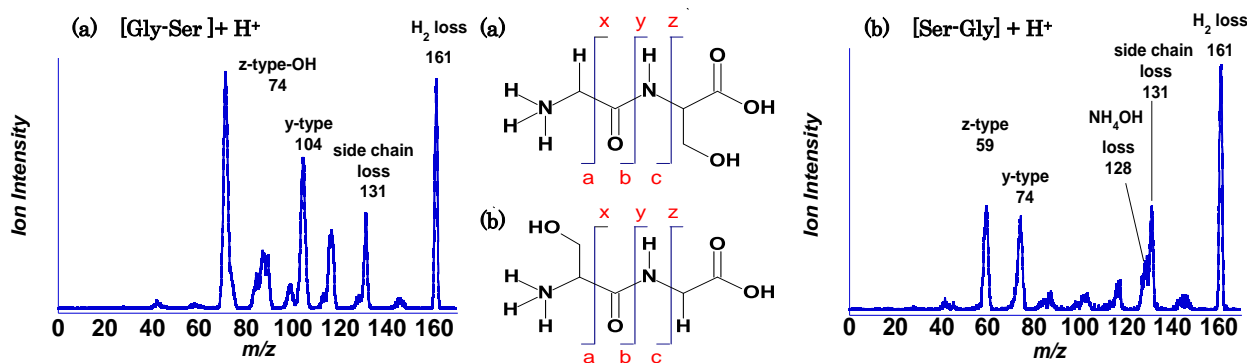
【実験】アミノ酸を化学イオン化(CI)法、Gly-Ser、Ser-Gly を二次イオン質量分析(SIMS)法、Cysteine をエレクトロスプレーイオン化(ESD)法によりプロトン化した。第一電場、磁場でプレカーサーイオンを質量選択後、反応室でアルカリ金属ターゲット(今回はCs)と衝突させた。第二電場と検出器の極性を正にして従来の衝突活性化分解離(Collisional Activated Dissociation: CAD)、負にして Charge inversion スペクトルを得た。電荷逆転質量分析法はプレカーサーイオンがアルカリ金属ターゲットと2回衝突連続1電子移動を起こして負イオンを生成することで、励起中性種の解離が観測できる。

【結果と考察】Fig.1に Serine+H⁺、Threonine+H⁺と Cysteine+H⁺の Charge inversion スペクトルを示す。全てのプロトン化アミノ酸から H₂脱離が観測され、末端の NH₂に付加したプロトンが電子捕獲後、水素原子を引き抜く形で H₂が脱離していると考えられる。これは、多くのアミノ酸で見られるフラグメントである³⁾。また、Serine+H⁺では m/z 71に、Threonine+H⁺では m/z 85に幅の広く強いピークが観測される。NH₃+H₂O脱離と NH₄OH脱離の2種類の解離過程が挙げられるが、このピーク幅の広さは運動エネルギー放出が大きいため、NH₄OH脱離が起きていると考えられる。Serine+H⁺と Threonine+H⁺で観測された m/z 74は側鎖が脱離した生成物である。Cysteine+H⁺では側鎖の脱離が観測されず、m/z 33にSH基の解離生成物が観測された。これにより Cysteine+H⁺の電子移動解離では側鎖は脱離せず、C-S結合が開裂することが明らかになった。



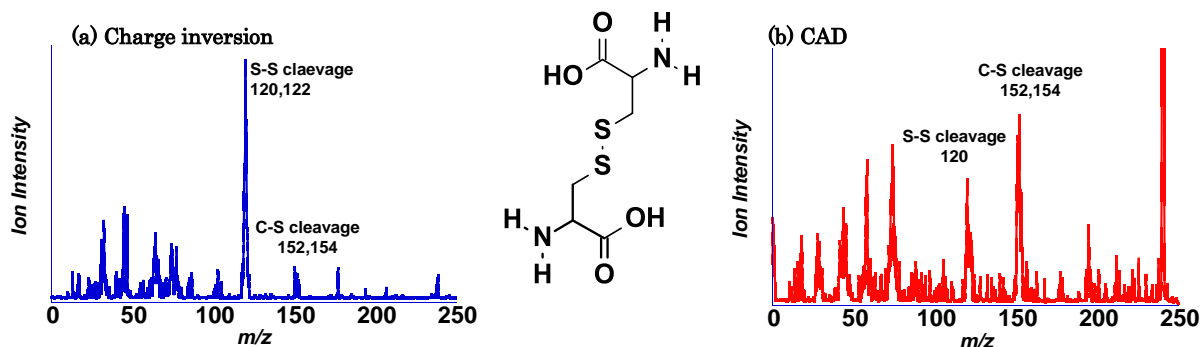
[Fig.1 (a) Serine+H⁺, (b)Threonine+H⁺, (c)Cysteine+H⁺の Charge inversion スペクトル]

Fig. 2 に、Serine を含むプロトン化ジペプチド[Gly-Ser]+H⁺、[Ser-Gly]+H⁺の Charge inversion スペクトルを示す。どちらからも H₂脱離 (m/z 162)、y-type イオン ((a)m/z 104, (b)m/z 74)、Serine 残基から側鎖が脱離した生成物 (m/z 131) が観測された。[Ser-Gly]+H⁺では z-type イオンと N 末端 Serine からの NH₄OH 脱離 (m/z 128) も観測された。しかし、[Gly-Ser]+H⁺では C 末端側に Serine を持つため、z-type イオンから側鎖の OH 基が脱離する(m/z 71)。Serine を含むジペプチドでは骨格開裂が支配的ではなく、OH 基を含むアミノ酸の特徴を示すことが明らかになった。



[Fig.2 (a)[Gly-Ser] + H⁺,(b)[Ser-Gly] + H⁺の Charge inversion スペクトル]

Fig. 3 に Cystine+H⁺の(a) Charge inversions スペクトルと(b) CAD スペクトルを示す。Cystine+H⁺の衝突活性化分解では C-S 開裂(m/z 152, 154)と S-S 開裂(m/z 122, 120)の強度比が大きく変わらないのに対して、Charge Inversion スペクトルでは S-S 開裂(m/z 120)が主に観測される。Cysteine+H⁺とは異なり C-S 結合開裂や低分子中性種の脱離が少ない。これより、含硫アミノ酸の電子移動による励起中性種の解離において S-S 結合が選択的に開裂することが明確になった。



[Fig.3 Cystine + H⁺ の(a)Charge inversion、(b)CAD スペクトル]

参考文献

- 1) S. Hayakawa, M. Hashimoto, H. Nagao, K. Awazu, M. Toyoda, T. Ichihara and Y. Shigeri, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **22** (2008) 567-572.
- 2) S. Hayakawa, K. Harada, K. Arakawa and N. Morishita, *J. Chem. Phys.*, **112** (2000) 8432-8435.
- 3) S. Hayakawa, H. Matsubara, S. Panja, S. Nielsen, P. Hvelplund, X. Chen, and F. Turecek, *J. Am. Chem. Soc.*, **130** (2008)7645-7654.