

気相生体分子イオンのプロトン移動反応に関する研究

(横浜市大院生命ナノシステム科学) 野々瀬真司, 川島みなみ, 磯野英雄, 秋山寛貴, 谷村大樹, 宮澤雅人

Proton Transfer Reactions of Biomolecular Ions in the Gas Phase

(Yokohama City University) Shinji Nonose, Minami Kawashima, Hideo Isono, Hiroki Akiyama, Taiju

Tanimura and Masato Miyazawa

【序】 Insulin (Ins) とは分子量が約 5700 Da のペプチドホルモンであり、生体機能としては、血糖を抑制する作用を有する。Ins は、21 アミノ酸残基の A 鎖と 30 アミノ酸残基の B 鎖 (InsB) が 2 つのジスルフィド結合を介してつながったものである。本研究では、孤立状態にある Ins および InsB の多電荷イオンと、種々のアミン等の H^+ 親和力の大きな気体分子との衝突反応に関して研究した。気相中の衝突反応による、 H^+ 移動の反応速度をひとつの指標として、生体分子の集団的な挙動を素過程に分解することによって、孤立状態にある Ins および InsB イオンの立体構造と反応に関して詳細に検討した。

【実験方法】 研究の遂行には、自作のエレクトロスプレーイオン化法 (ESI) を用いた二重質量分析・衝突反応装置を用いた。Ins 水溶液に dithiothreitol を加えて湯浴し、S-S 結合を切断して InsB を生成させた。ESI 法によって孤立状態にある Ins の多電荷イオン、 $[Ins + zH]^{z+}$ 、および InsB の多電荷イオン、 $[InsB + zH]^{z+}$ 、を生成させた。

四重極質量分析計 (QMASS) において、特定の電荷数のイオンを選別した後、温度可変の衝突反応セルに導いた。衝突反応セルに一級アミン、二級アミン、ピリジン類等の気体分子を He とともに導入した。イオンと気体分子とを衝突させ、 H^+ 移動反応を誘起した。飛行時間型質量分析計 (TOF-MS) において、 H^+ 移動反応によって生成したイオン種を質量分析し、検出した。得られた質量スペクトルのイオン強度から、 H^+ 移動の絶対反応速度を算出した。特に衝突反応セルの温度を 280K から 460K までの範囲で変化させながら、 H^+ 移動反応を観測し、反応速度の温度依存性について調べた。

【結果と考察】 図 1 に電荷数 4 の Ins イオン、 $[Ins + 4H]^{4+}$ 、と dibutylamine (Dbu) との H^+ 移動反応の温度依存性に関する質量スペクトルを示す。(A) は全てのイオンが QMASS を透過した場合、(B) は電荷数 z が 4 のイオンのみを QMASS において選別した場合、(C) ~ (J) は衝突反応セルに Dbu を導入して、 H^+ 移動反応を誘起した場合をそれぞれ表す。(C) から

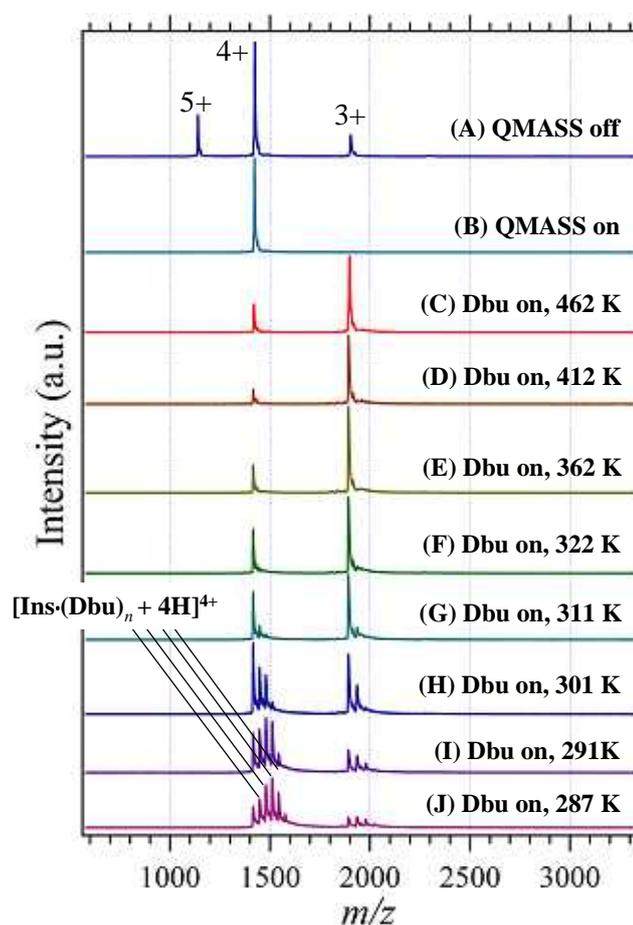


Figure 1. Proton transfer of $[Ins + 4H]^{4+}$ reacted with Dbu at various temperature.

(J)への順で、衝突反応セルの温度が低下している。温度が 460K から 310K の領域では、温度低下に伴って、 H^+ 移動反応の生成物である $[Ins + 3H]^{3+}$ の割合が緩やかに減少した。ところが、310K から 286K の領域では、温度低下に伴って $[Ins + 3H]^{3+}$ の生成する割合が急激に減少した。それと同時に、親イオンと標的分子との複合体である $[Ins \cdot (Dbu)_n + 4H]^{4+}$ 、($n = 1 - 4$)の生成する割合が急激に増加した。このように衝突反応セルの温度変化に伴って、親イオン・生成物イオンの強度が大きく変化した。親イオン・生成物イオンの強度比から H^+ 移動の絶対反応速度を算出すると、310K 付近を境にして劇的に変化した。以上の結果から、 $[Ins + 4H]^{4+}$ の立体構造が 310K 付近を境にして大きく変化する、および H^+ 移動の反応過程が複合体形成によって抑制されることが分かった。

図 2 に電荷数 3 の $InsB$ イオン、 $[InsB + 3H]^{3+}$ 、と dibutylamine (Dbu) との H^+ 移動反応の温度依存性に関する質量スペクトルを示す。図 1 と同様に、(A)は全てのイオンが QMASS を透過した場合、(B)は電荷数 z が 3 のイオンのみを QMASS において選別した場合、(C) ~ (I) は衝突反応セルに Dbu を導入して、 H^+ 移動反応を誘起した場合をそれぞれ表す。(C)から (I)への順で、衝突反応セルの温度が低下している。温度が 460K から 350K の領域では、 H^+ 移動反応の生成物である $[InsB + 2H]^{2+}$ の割合はほぼ一定であった。ところが、350K から 305K の領域では、温度低下に伴って $[InsB + 2H]^{2+}$ の生成する割合が急激に増加した。それと同時に、標的分子との複合体である $[InsB \cdot (Dbu)_n + 3H]^{3+}$ 、($n = 1 - 4$)の生成する割合も急激に増加した。さらに、305K から 286K の領域では、温度低下に伴って $[InsB \cdot (Dbu)_n + 3H]^{3+}$ の生成する割合は引き続き増加したが、 $[InsB + 2H]^{2+}$ の生成する割合が急激に減少した。親イオン・生成物イオンの強度比から H^+ 移動の絶対反応速度を算出すると、350K 付近と 305K 付近とを境にして 2 回も劇的に変化した。以上の結果から、 $[InsB + 3H]^{3+}$ の立体構造が 350K 付近と 305K 付近を境にして大きく変化する、および H^+ 移動の反応過程が複合体形成によって促進される場合と抑制される場合があることが分かった。

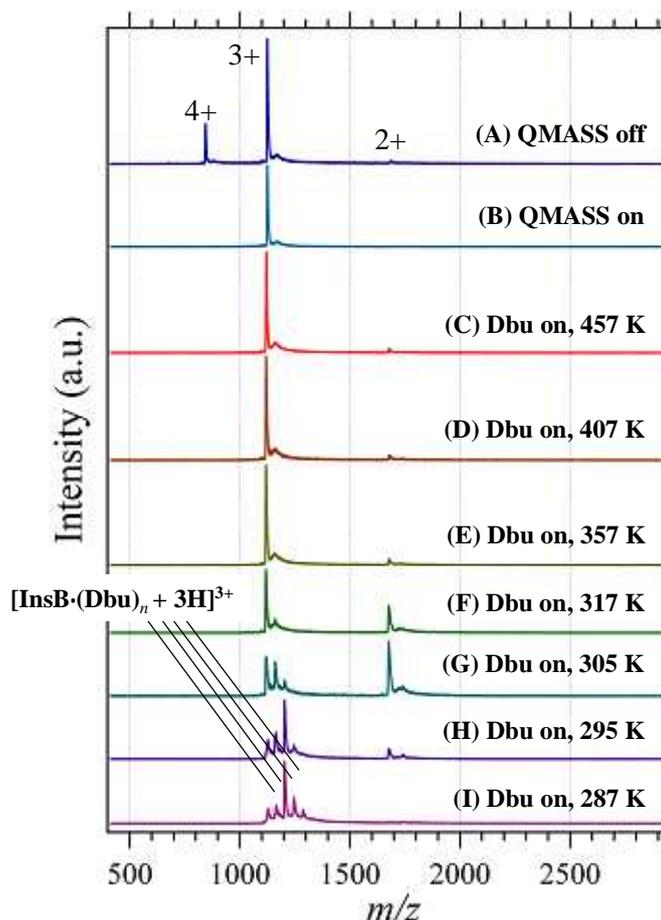


Figure 2. Proton transfer of $[InsB + 3H]^{3+}$ reacted with Dbu at various temperature.

References

- [1]. S. Nonose, T. Okamura, K. Yamashita and A. Sudo, *Chem. Phys.*, **419** 237-245 (2013).
- [2]. S. Nonose, K. Yamashita, A. Sudo, and M. Kawashima, *Chem. Phys.*, **423** 182-191 (2013).
- [3]. S. Nonose, K. Yamashita, T. Okamura, S. Fukase, M. Kawashima, A. Sudo and H. Isono, *J. Phys. Chem. B*, in press, (2014).