

気相 lysozyme イオンの立体構造と

プロトン移動反応に関する研究

(横浜市立大学) ○磯野英雄、川島みなみ、秋山寛貴、谷村大樹、
宮澤雅人、野々瀬真司

Structures and proton transfer reactions of lysozyme ions in the gas phase

(Yokohama City University) ○Hideo Isono, Minami Kawashima, Hiroki Akiyama,
Taiju Tanimura, Masato Miyazawa, Shinji Nonose,

(序論)

生体分子中のタンパク質は水分子などの溶媒分子に取り囲まれ水素結合などによって本来の物質としての構造とは異なる形で機能している。タンパク質の本来の構造や機能を解析するためには溶媒分子が存在しない真空中での反応を研究する必要がある。本研究ではエレクトロスプレーイオン化法(ESI 法)でイオン化することによって、よりソフトな状態で真空中に導入され孤立状態となったタンパク質多電荷イオンに、標的分子(タンパク質多電荷イオンから H^+ を奪う分子)を衝突させ、それに伴うプロトン移動反応の温度変化を観測した。そして、得られたマスペクトルからその生体分子の立体構造について考察を行った。

(実験概要)

本研究では自作の ESI 源を備えた四重極質量分析計(QMASS)と飛行時間型質量分析計(TOFMS)の ESI 源二重質量分析計を用いて実験を行った。実験装置を図 1 に示す。ESI 源でタンパク質多電荷イオンを生成し、1~4 の高真空に保たれた chamber に導入される。四重極質量分析計によって必要な特定の電荷数のイオンを選別し、オクタポールイオンガイドのある衝突反応セルでタンパク質多電荷イオンと標的分子との気相内衝突反応を誘起させた。最後に飛行時間型質量分析計を用いて衝突反応によって生成したイオン種の質量分析を行い、Daly 検出器で検出した。衝突反応セルの温度を変化させ、衝突反応の温度依存性について検討した。タンパク質試料には lysozyme を使用し、標的分子は 2,6-dimethylpyridine(Dmpy)と pyridine(Py)を使用した。また DTT によって lysozyme の S-S 結合を切断した状態での実験も行った。

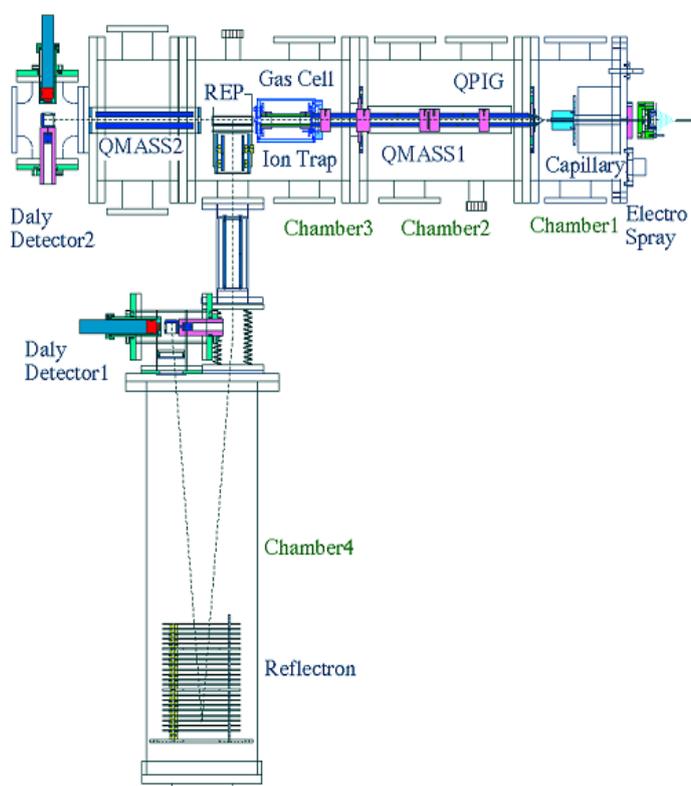


図 1 質量分析装置概略図

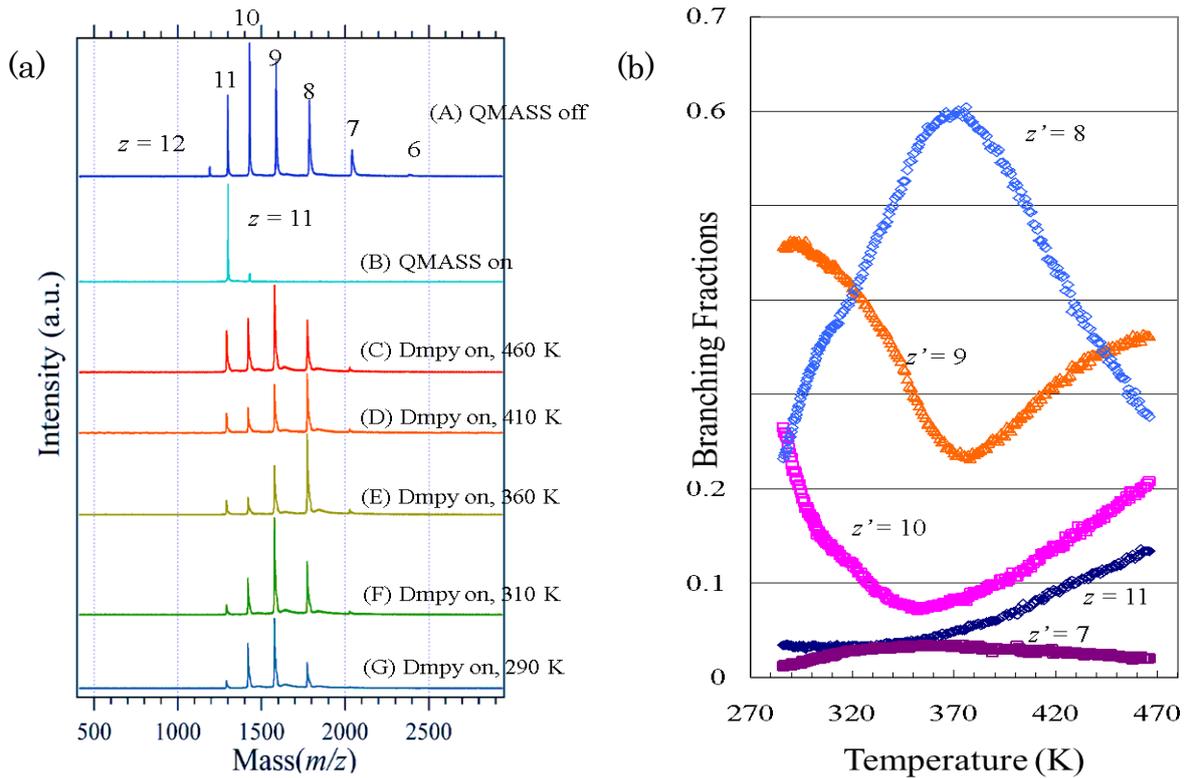


図 2 lysozyme イオンのスペクトルと分岐比

〈実験結果〉

以下に実験の一部を掲載する。上の図(a)は、ESIによってイオン化された lysozyme イオンのスペクトルである。(A)のスペクトルは QMASS によって電荷選別されていないもので観測されたすべての lysozyme イオンが見られる。QMASS によって電荷数 $z=11$ を選別したものが(B)のスペクトルとなりその後、衝突反応セル内で標的分子の 2,6-dimethylpyridine とプロトン衝突反応を行って温度を徐々に下げっていったそれぞれのイオンのスペクトルが(C)~(G)である。また、それぞれの価数のイオン強度をプロットした分岐比が図(b)である。親イオンである電荷数 $z=11$ のイオン強度は温度の低下に伴って減少している。生成物イオンである $z=10$ のイオン強度は 460K から 350K では温度の低下に伴って減少し、350K から 280K では増加した。電荷数 $z=9$ のイオン強度は 460K から 370K では温度の低下に伴って減少し、370K から 280K では増加した。電荷数 $z=8$ のイオン強度は 460K から 360K では温度の低下に伴って増加し、360K から 280K では減少した。電荷数 $z=7$ のイオン強度はあまり変化していないがわずかに増加していたのが減少に変化している。タンパク質の構造は温度が変化すると広がった構造(unfolding)からまとまった構造(folding)に変化する。図(b)の分岐比から、350K~370K の間でこうした立体構造の変化が起こっていると考えられる。こうした立体構造の変化や、側鎖の水素結合による自己溶媒和やクーロン反発によって標的分子との反応性が変わったと思われる。また、標的分子の立体構造やプロトン親和力の違いによってもタンパク質イオンとの反応性は変化してくることが分かっており、ポスター発表ではこれらのことについて議論していく。