

ESI 法による ubiquitin 多電荷イオンのプロトン移動反応と立体構造

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

Proton transfer reactions and conformation change

for multiply-charged ubiquitin ions with ESI

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

【序論】タンパク質や核酸などの生体分子は、水分子をはじめとする溶媒分子に取り囲まれた状態で機能する。溶媒分子に作用された状態での研究は、生体分子の“物質”としての本質を明らかにするという部分については、十分とは言えない部分もある。本研究では、孤立した生体分子の立体構造と反応挙動を明らかにすることを目的とし、ESI 法によって生成した ubiquitin 多電荷イオンと塩基性分子（標的分子）の衝突反応を観測した。

【実験】

本研究では、ESI イオン源を備えた自作のタンデム質量分析・衝突反応装置を用いた。実験の流れは、(1) ESI 法を用いて ubiquitin をイオン化、(2) Q-MASS によって特定電荷数のイオンを選別、(3) 衝突反応セルにて標的分子 (TM) と反応・温度変化、(4) TOF-MS を用いて分析、のようになっている。標的分子には、pyridine、2,6-dimethylpyridine、3,5-dimethylpyridin 等を用いた。得られたマスペクトルから温度変化に伴うピーク強度の変化をプロットした分岐比と反応速度定数を算出した。

| 一級アミン名称(略称) | プロトン親和力(kj/mol) |
|-----------------------|-----------------|
| 1-propylamine(1-pr) | 917.8 |
| 1-butylamine(1-bu) | 921.5 |
| 1-pentylamine(1-pe) | 932.5 |
| tert-butylamine(t-bu) | 934.1 |

| 二級アミン名称(略称) | プロトン親和力(kj/mol) |
|------------------------------|-----------------|
| pyridine(py) | 930 |
| 2-methylpyridine(mpy) | 949.1 |
| 2,6-dimethylpyridine(26dmpy) | 963 |
| 3,5-dimethylpyridine(35dmpy) | 955.4 |
| diethylamine(det) | 952.4 |
| dipropylamine(dpr) | 962.3 |
| dibutylamine(dbu) | 968.5 |

表 1. 標的分子(TM)一覧

【結果と考察】図 1 は、ubiquitin イオンの電荷数+7 の状態、 $[M+7H]^{7+}$ 、と 3,5-dimethylpyridine を衝突反応させた際のマスペクトルである。(1)は Q-MASS の直流電圧を off、(2)は $[M+7H]^{7+}$ を選別、(3)~(9)は 3,5-dmpy を衝突させセル内の温度を変化させた。(2)と(3)のスペクトルを比較すると、選別した親イオンである $[M+7H]^{7+}$ が減少し、価数の少ないイオンが増加していることから、以下のようなプロトン移動反応が起こっていると言える。



衝突反応セル内の温度を高温から低温に変化させると、親イオンである $[M+7H]^{7+}$ は徐々に減少した。一方で、生成物イオンである $[M+6H]^{6+}$ は370K 付近まで減少してその後増加し、 $[M+5H]^{5+}$ は340K 付近まで増加してその後減少し、 $[M+4H]^{4+}$ は430K まで増加しその後減少した。このように、マススペクトル分布は大きく変化した。他の電荷数の ubiquitin イオンや他の標的分子の組み合わせにおいても同様の測定を行い、温度依存性マススペクトルを得た。得られたマススペクトルの強度比から、反応速度定数を求めた。図2は、電荷数+7の ubiquitin イオン $[M+7H]^{7+}$ と、種々の標的分子の反応マススペクトルから得た反応速度定数である。

これらの挙動は、温度変化に伴い ubiquitin 分子の立体構造に変化があったことが要因と考えられる。立体構造変化の要因には、タンパク質の Folding/Unfolding 構造、塩基性アミノ酸に付加したプロトン H^+ と同士のクーロン反発、側鎖の水素結合による H^+ への自己溶媒和、標的分子のプロトン親和力の値と立体構造などがあると考察し、ポスター発表ではこれについて議論していく。

Reference

- (1) "Temperature dependence of gas-phase conformations for ubiquitin ions characterized by proton transfer reactions"
Shinji Nonose, Takuya Okamura, Kazuki Yamashita, Ayako Sudo
Chem. Phys. 419 (2013) 237-245

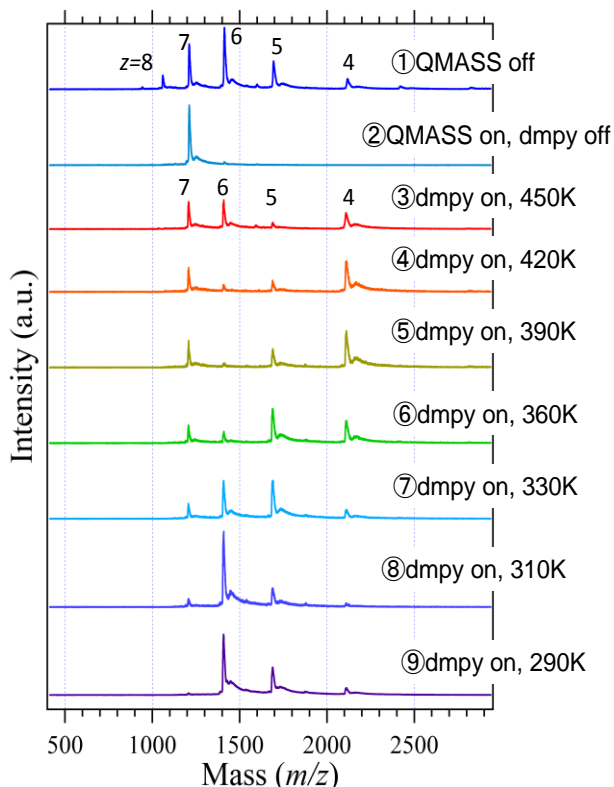


図1. ubiquitin ($z=7$) イオンと 3,5-dimethylpyrizine 衝突反応のスペクトルの温度依存性

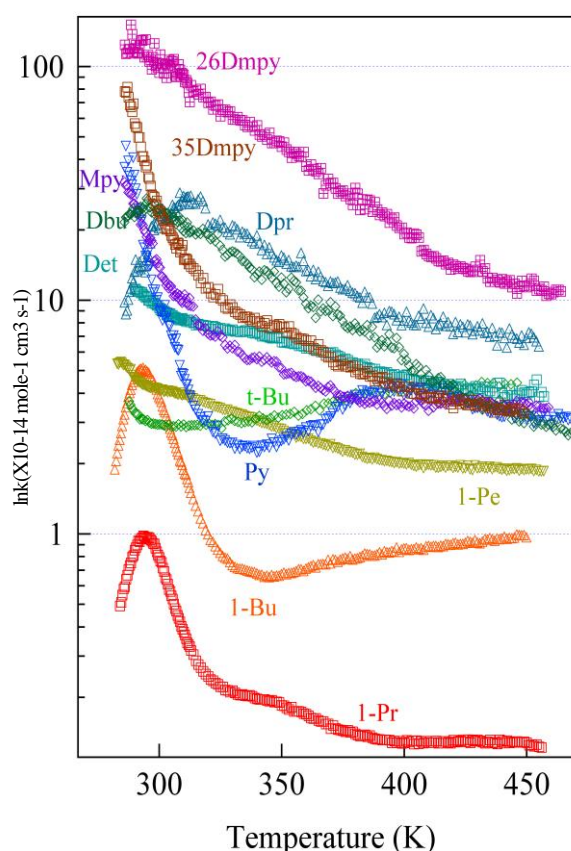


図2. ubiquitin ($z=7$) イオンと標的分子の衝突反応における反応速度定数の温度依存性