レーザー分光法を用いた 気相プロトン化ヒスチジンの水素結合構造の研究

(北里大院理1·北里大理2) 〇近藤誠1·笠原康利2·石川春樹2

Laser spectroscopic study on the hydrogen-bonding structure of protonated histidine in the gas-phase

(Kitasato Univ.) OMakoto Kondo, Yasutoshi Kasahara, Haruki Ishikawa

【序】ヒスチジン(His)は、側鎖にイミダゾール環を有するアミノ酸で、しばしば酵素反応における活性中心となる。このことから、生物学的メカニズムにおいて His の分子間相互作用および分子構造が重要な役割を果たしていることが考えられる。我々は His の分子間相互作用および分子構造の詳細な知見を得ることを目的として、プロトン化ヒスチジンーメタノールクラスター、 $HisH^+$ -(MeOH) $_n$ (n=1,2)の赤外スペクトル測定と理論計算により構造決定を行ってきた[1]。

n=1 の赤外スペクトルおよび計算による 安定構造を Fig.1 に示した。n=1 は、MeOHが側鎖のイミダゾール環またはカルボキシ ル基(COOH) に水素結合する二種類の安定 構造が存在することが分かった。また、 $HisH^+$ 内のプロトン(H^+) 付加位置がそれぞ れイミダゾール環の N またはアミノ基とな ることが計算から確認されたことから、 MeOH 付加位置および H^+ 付加位置の間の相 関が示唆された。

この相関に対する考察のため、 $HisH^+$ に親和力が異なるプロトン受容分子を付加させた計算を行った。その結果、詳細は講演で述べるが、分子間水素結合位置によって H^+ 付

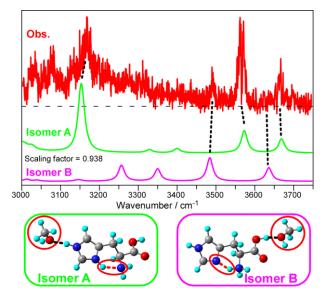


Fig. 1 HisH⁺-(MeOH)の赤外スペクトル および安定構造

加位置の安定性が決まることが明らかになった。この考察の過程でプロトン親和力の大きなイミダゾール(Im)やトリメチルアミンが HisH⁺に水素結合すると、それらの分子が HisH⁺から H⁺を引き抜くと共に、中性 His が双性イオンとなる安定な構造が得られた。これまで気相分子クラスターにおける双性イオン生成の報告は少ない。そこで本研究では、双性イオン形成が計算で予想される Im をプロトン受容分子として用いた His-H⁺-Im クラスターの赤外分光から双性イオン構造形成について研究を行った。以後、側鎖のイミダゾール環およびプロトン受容分子のイミダゾールを区別するためにそれぞれを ImHis、ImB とよぶ。

【実験】本研究ではヒスチジン塩酸塩/イミダゾール混合メタノール溶液を試料として、エレクトロスプレーイオン化法により His-H⁺-Im クラスターを生成した。実験には既報のイオント

ラップ分光装置[2,3]を用いた。キャピラリーを通して真空槽に導入されたイオンを、オクタポールイオンガイドでトラップした後、イオンベンダーで90°方向に誘導し、第一の四重極質量選別器で目的のクラスターを選別した。その後、赤外光を照射し、赤外光解離分光を行った。赤外吸収が起こるとクラスターが振動励起し、解離して $HisH^+$ を生成する。この $HisH^+$ を第二の四重極質量選別器で選別し検出した。また、量子化学計算による構造最適化および基準振動解析を行った。計算レベルはM05-2X/6-31++G(d,p)とした。実測の赤外スペクトルと計算による予測を比較し、構造決定を行った。

【結果と考察】まず、質量スペクトルの測定により His- H^+ -Im クラスターの生成を確認した。 次に、His- H^+ -Im について、3400 - 3650 cm-1 の領域の赤外スペクトルを測定し、Fig. 2 に示し

た。この領域には His の NH/OH 伸縮 および Im の NH 伸縮が現れる。その 結果, 3498 cm⁻¹ に明確なバンドを確 認した。これは, その波数から Im_{His} および Im_B に存在する free NH 伸縮 振動バンドが重なって現れたものと 容易に帰属できる。量子化学計算によ り得られた最安定構造を Isomer A と し, その構造と赤外スペクトルを Fig. 2 に示している。 Isomer A では, Im_B が His H⁺の COOH から H⁺を引き抜 き, His が中性になっている。そのた め, COOH の free OH 伸縮振動のバン ドは存在しない。中性 His は双性イオ

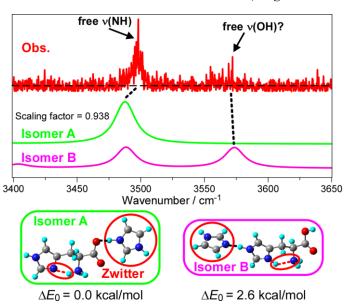


Fig. 2 His-H⁺-Im の赤外スペクトルおよび安定構造

ン構造をとっている。計算による 2 番目に安定な構造 Isomer B は, Im_{His} の NH に Im_B がプロトン受容体として分子間水素結合し,さらに Im_{His} の N に H^+ が付加し,アミノ基と分子内水素結合した構造である。この構造では COOH の free OH 伸縮振動バンドが現れる。しかし実測のスペクトルでは,その位置にはバックグラウンドの揺れに埋もれる程度の信号しか認められず,Isomer B は非常に少ないことがわかる。これは,計算によるエネルギー差(ΔE = 2.6 kcal/mol)と矛盾せず,我々の実験条件では双性イオン構造の Isomer A が優勢に存在していると結論できる。

本研究で得られた赤外スペクトルは気相における双性イオンの形成を強く示唆しており、 貴重な例である。講演では、 $HisH^{\dagger}$ 水素結合クラスターにおける水素結合位置と H^{\dagger} 付加位置 の相関に対する考察も併せて報告する。

【参考文献】

- [1] 近藤 誠, 笠原 康利, 石川 春樹 第8回分子科学討論会 2P013 (2014)
- [2] Fujiwara, et al., J. Phys. Chem. A, 113, 8169 (2009).
- [3] Ishikawa, et al., Chem. Phys. Lett. 514, 234 (2011).