

1P009

Insulin および Insulin chain B イオンのプロトン移動反応と立体構造変化

(横浜市立大学大学院生命ナノシステム科学研究科)

○宮澤雅人・磯野英雄・秋山寛貴・谷村大樹・野々瀬真司

Proton Transfer Reactions of Insulin and Insulin Chain B Ions in the Gas Phase

(Graduate School in Nanobioscience, Yokohama City University)

○Masato Miyazawa, Hideo Isono, Hiroki Akiyama, Taiju Tanimura, Shinji Nonose

[序論] タンパク質などの生体分子の機能・構造・メカニズムの解明は生命活動の理解において重要だと思われる。しかし、生体分子は構造の揺らぎや周囲に存在する分子との相互作用などにより上記の解明は困難である。そこで本研究では生体分子をイオン化して真空中に導入することで、周囲の分子との相互作用の無い孤立状態にした。本実験では孤立状態の生体分子の立体構造とプロトン移動の反応挙動の解明を目的とし、生体分子である Insulin の多電荷イオンと塩基性分子を温度可変のセル内で衝突させ、プロトン移動反応を誘起した。プロトン移動の絶対反応速度を見積もり、その温度依存性から Insulin 多電荷イオンの立体構造の変化を考察した。

[実験] エレクトロスプレーイオン化法 (ESI)を用いて Insulin 多電荷イオン $[M+zH]^{z+}$ を生成し、真空中に導入した。その後、四重極質量分析計(QMASS)で特定の電荷数のイオンを選別し反応セル内に誘導した。温度可変の反応セル内に He と共に塩基性の気体分子を導入し、選別したイオンと衝突させてプロトン移動反応を誘起した。反応セルを出たイオンは飛行時間型質量分析計 (TOFMS)で質量分離し、マススペクトルを得た。得られたマススペクトルから温度ごとの絶対反応速度を見積もり、絶対反応速度の温度依存性について調査した。また、絶対反応速度の温度依存性から Insulin 多電荷イオンの立体構造について考察した。同様の実験を Insulin chain B についても行い、Insulin の結果と比較した。

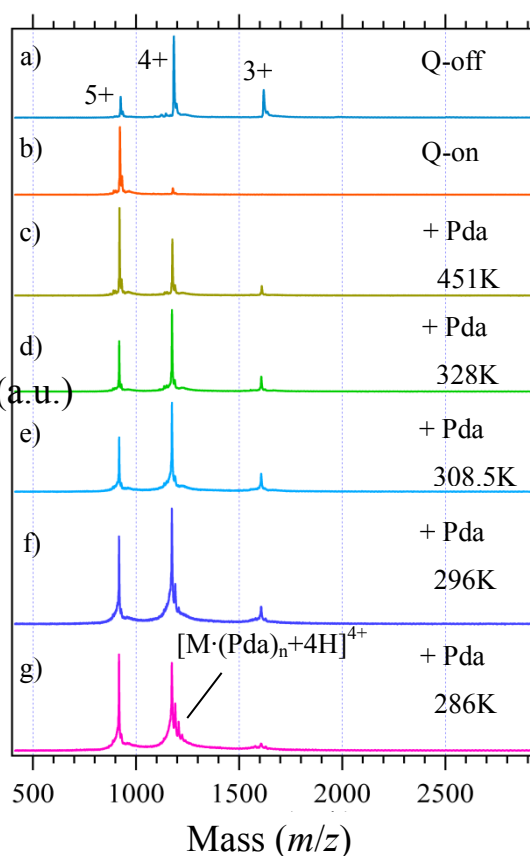


Figure.1 Time-of-flight mass spectra of Insulin ions, $[M+5H]^{5+}$, reacted with Pda at various temperature.

[結果と考察] Figure.1 は QMASS によって選別された電荷数 5 の Insulin イオン $[M+5H]^{5+}$ に 1,3-Propanediamine(Pda)を衝突させプロトン移動反応を起こし、温度を 452K から 286K まで変化させたときの各温度におけるマススペクトルである。a のスペクトルは QMASS を用いず、電荷選別をしていないときの Insulin 多電荷イオン $[M+zH]^{z+}$ ($z=3\sim 5$)のマススペクトルで、b のスペクトルは QMASS を用いて電荷数 5 の Insulin イオン $[M+5H]^{5+}$ を選別したときのスペクトルである。c~g のスペクトルはセル内に Pda を導入し、 $[M+5H]^{5+}$ とプロトン移動反応を誘起させ、温度を変化させたときのスペクトルである。温度を低下させると、親イオン $[M+5H]^{5+}$ と娘イオン $[M+4H]^{4+}$ 、 $[M+3H]^{3+}$ のピークの強度比が変化した。330K 付近までは $[M+5H]^{5+}$ の強度比が小さくなり、 $[M+4H]^{4+}$ と $[M+3H]^{3+}$ の強度比が大きくなる傾向が見られた。その後、約 308K までは強度比の変化が小さくなったが、約 308K 以下では $[M+5H]^{5+}$ の強度比が大きくなり、 $[M+4H]^{4+}$ と $[M+3H]^{3+}$ の強度比は小さくなる傾向が見られた。また、320K 付近からわずかに複合体 $[M\cdot(Pda)_n+zH]^{z+}$ ($z=4,5$) が現れることがわかった。その後、温度低下とともに複合体のピーク強度比は大きくなり、複合体ピークの本数も増えた。このように、温度低下とともに親イオン、娘イオン、複合体のピークの強度比は大きく変化した。

Figure.1 のスペクトルからプロトン移動の絶対反応速度を算出し、横軸を絶対温度でまとめたグラフが Figure.2 である。反応速度は約 320K まで増加傾向であったが、約 320K を境に減少傾向へと変化した。この反応速度の傾向の変化は複合体の出現とほぼ同じ温度から起こった。これは、付加しているプロトン同士のクーロン反発や温度低下によってイオンの立体構造が変化し、反応性に影響がでたのだと考えられる。

以上のような実験を各電荷数のイオンを親イオンとして行い、それぞれのプロトン移動反応の絶対反応速度を算

出し結果を比べた。また、プロトン移動反応の相手である気体分子の種類を変えて測定し、結果を比較した。さらに Insulin イオンの S-S 結合を切断することで Insulin chain B イオンについても同様の測定を行い、chain A の存在がプロトン移動反応にどのような影響を与えるのか調査した。これらの結果についてはポスター発表で議論したい。

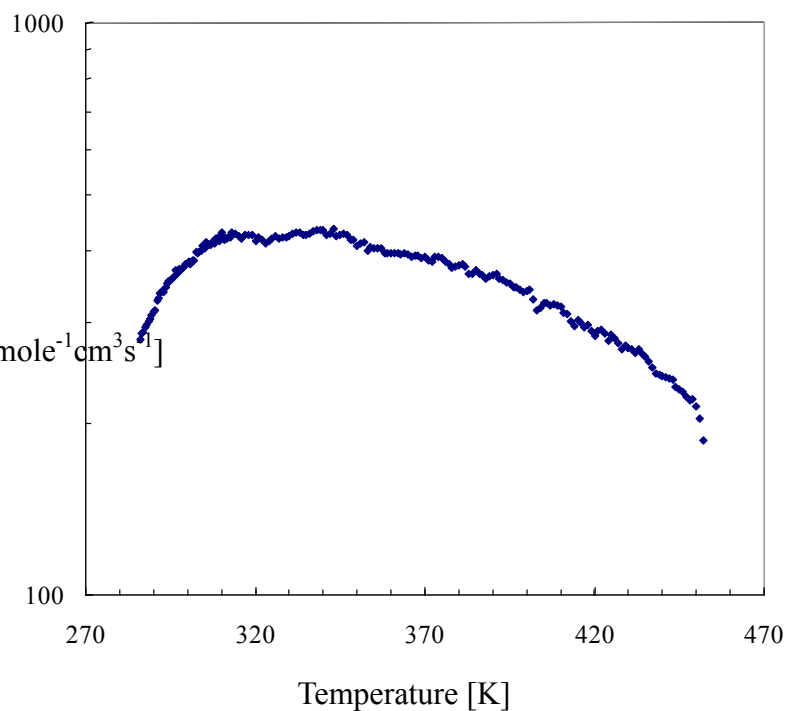


Figure.2 Reaction rate constant of $[M+5H]^{5+}$ with Pda at various temperature.