

ペプチドイオンのプロトン移動反応の温度依存性

(横浜市立大学大学院生命ナノシステム科学研究科)

○秋山寛貴, 磯野英雄, 谷村大樹, 宮澤雅人, 野々瀬真司

Temperature Dependence of Proton Transfer Reactions of Peptide Ions

(Graduate School in Nanobioscience, Yokohama City University)

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

【序論】 生体分子は生体中に水分子などの溶媒分子に取り囲まれた液相中で本来の物質としての構造とは異なる形で機能している。本研究では気相中におけるペプチドに関する研究を行った。エレクトロスプレーイオン化法 (ESI 法) でペプチドをイオン化することによって、非破壊的な状態で真空中に導入した。気相中で孤立状態となったペプチド多電荷イオンに、塩基性分子を衝突させた。それによって誘起したプロトン移動反応の温度依存性を観測した。ペプチド多電荷イオンにおける温度依存性の研究を報告する。

【実験方法】

本研究ではイオン化源に ESI 法を利用し、四重極質量分析計 (QMASS) と飛行時間型質量分析計 (TOF MS) の二つの質量分析器を備えたタンデム型質量分析装置を用いた。この装置を用いてペプチド多電荷イオンの質量分析を行い、マススペクトルを得た。ESI 法により生成した多電荷イオンを真空中に導入し、QMASS によって電荷数 2 を選別した。温度可変のセル内で He と塩基性の分子を導入し、選別した電荷数 2 のイオンと衝突させてプロトン移動反応を起こした。ガスセル内は約 450K~290K まで下げて温度を変化させた。衝突反応により生成した各イオンを TOF MS により質量分析し、温度ごとのマススペクトルを得た。得られたマススペクトルから各温度の絶対反応速度を見積もった。実験は生体分子試料に Bradykinin(BK)、Substance P、Somatostatin を用いた。これらのペプチド多電荷イオンを電荷数 2 に選別して実験を行った。

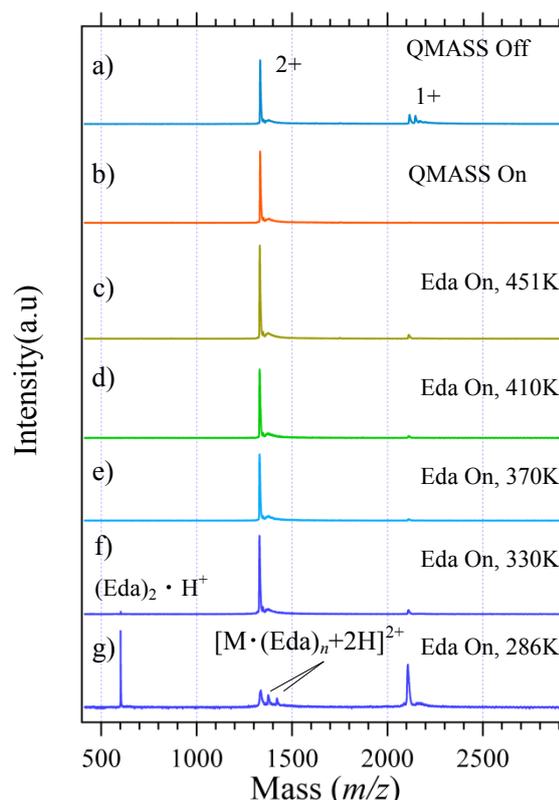


Figure.1 Time-of-flight mass spectra of Bradykinin ions, $[M+2H]^{2+}$, reacted with Eda at various temperature.

【結果と考察】BK 多電荷イオンと Ethylenediamine(Eda)の衝突反応の温度依存性に関する質量スペクトルを Figure.1 に示す。スペクトル a は QMASS を用いず、電荷数を選別していない BK 多電荷イオン $[M+zH]^{z+}$ ($z=1, 2$) のスペクトルである。スペクトル b は QMASS を用いて BK 多電荷イオン $[M+2H]^{2+}$ に選別したスペクトルである。スペクトル c~g は選別後のセル内に Eda を導入し $[M+2H]^{2+}$ とプロトン移動反応を起こし、温度を変化させたスペクトルである。同様に BK 多電荷イオンと 1,3-Propanediamine(Pda)の衝突反応の温度依存性に関する質量スペクトルを Figure.2 に示す。Figure.1 と Figure.2 のそれぞれのスペクトルからプロトン移動反応の速度定数を見積もり、横軸を絶対温度で比較したグラフが Figure.3 である。塩基性分子によって反応速度の挙動が大きく異なることが分かる。Eda とのプロトン移動反応における反応速度は 330K 付近で反応速度が急激に上昇するが、290K 付近で複合体の形成に伴い反応速度が変化した。Pda とのプロトン移動反応における反応速度は高温時から温度変化によって単調に反応速度が上昇しているが、315K 付近より低温では複合体が形成され、それに伴い反応速度が変化した。どちらも低温時で複合体が形成され、反応速度が変化している。これは温度変化に伴いペプチドイオンのコンホメーションが変化し電荷の非局在化が生じ、プロトンの反応性に影響を与えたものと考えられる。

上記のような実験と考察を Bradykinin の他に Substance P と Somatostatin で行った。プロトン移動反応を起こすために使用した塩基性分子も上記以外の分子も用いて、反応速度定数を見積もり比較した。

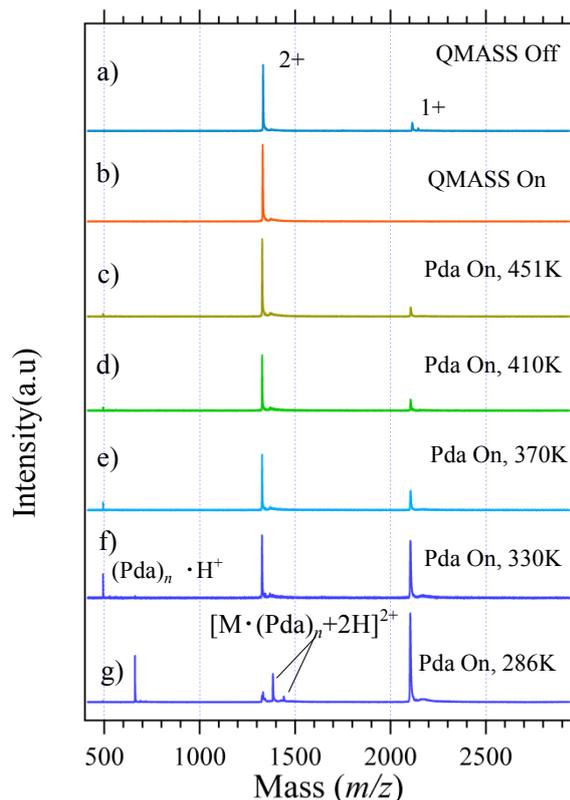


Figure.2 Time-of-flight mass spectra of Bradykinin ions, $[M+2H]^{2+}$, reacted with Pda at various temperature.

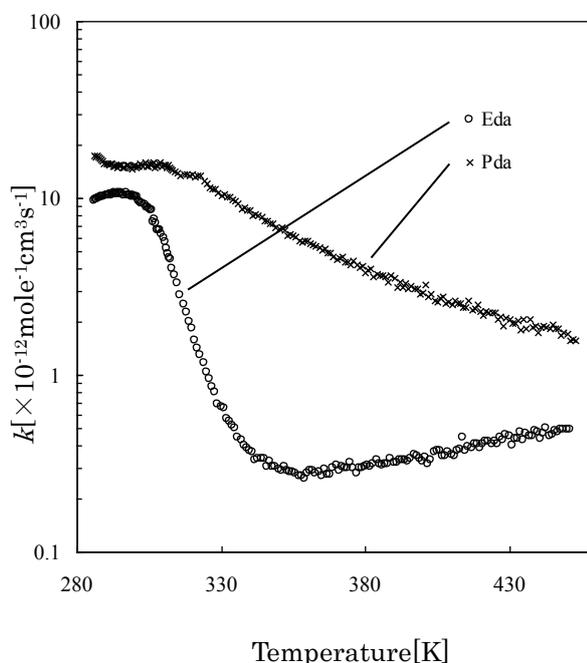


Figure.3 Reaction rates constant of Bradykinin ions $[M+2H]^{2+}$ with Eda and Pda at various temperature.