

Cytochrome c多電荷イオンのプロトン移動反応の温度・時間依存性

(横浜市立大学)○王子星ゆり, 笹岡映也人, 臼井優, 石井亮, 野々瀬真司

Time- and temperature-resolved proton transfer reactions of multiply-charged cytochrome c Ions

(Yokohama City University)○Hoshiyuri Oji, Hayato Sasaoka, Yu Usui, Ryo Ishii, Shinji Nonose

【Abstract】

Cytochrome c is a protein which played role in electron transport. Proton transfer reactions of cytochrome c ions $[M+zH]^{z+}$ with basic molecules were examined in the gas phase. To know function or structure of protein had some difficulties because protein causes interaction with water molecules in liquid phase. Therefore, in this study, we investigated the properties of the protein itself in gas phase. We used home-made tandem mass spectrometer with ESI to change reaction temperature and reaction time and observed changing of mass spectra. Absolute reaction rate constants for proton transfer reaction were determined from intensities of parent and product ions in the mass spectra.

【序】.

生体内のミトコンドリアに存在する cytochrome c は、電子伝達系において電子運搬を担っているタンパク質である。生体分子の機能や構造の解明は生命現象を理解する上で重要である。しかし、生体内に存在する生体分子は水分子との相互作用により生体分子自体の機能や構造を知ることは困難である。そこで本研究では、タンパク質自体の性質を調べるために、cytochrome c をイオン化した後に真空中に導入し、溶媒分子との相互作用が存在しない気相中で塩基性分子とのプロトン移動反応及び構造変化について考察を行った。

【方法 (実験・理論)】

実験には研究室自作のエレクトロスプレーイオン化法(ESI)を用いた二重質量分析・衝突反応装置を用いた。エレクトロスプレーイオン化法により cytochrome c 多電荷イオン $[M+zH]^{z+}$ を生成させ、真空中に導入した。その後、イオンファネルによってイオンを収束しパルスの四重極イオンガイド(QPIG)に導入した。多電荷イオンが QPIG に到達した際に四重極質量分析計(Q-MS)により特定の電荷数のイオンのみが選別され、衝突反応セル(ガスセル)に導入された。

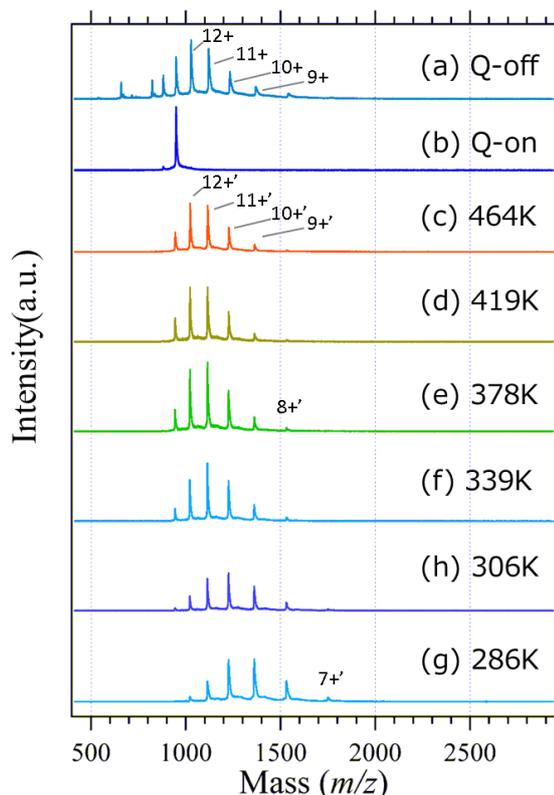


Fig. 1. Mass spectra of proton transfer on $[M + 13H]^{13+}$ reacted with Bda in various reaction temperature

ガスセル内でイオンと塩基性気体分子(1, 4-butandiamine, Bda)を衝突させてプロトン移動反応を誘起させ、生成物イオンを飛行時間型質量分析計(TOF-MS)で質量分離を行った。得られたマススペクトルの強度比から H^+ 移動反応の反応性を評価した。また、ガスセルの温度やイオンのガスセル滞在時間を変化させ、プロトン移動反応の反応性の温度・時間依存性から cytochrome c 多電荷イオンの立体構造について考察を行った。

【結果・考察】

図1に電荷数13の cytochrome c イオン $[M+13H]^{13+}$ の温度依存性に関するマススペクトルを示す。(a)は全てのイオンが QMASS を透過した場合、(b)は電荷数が 13+ のイオンのみを QMASS において選別した場合、(c)~(h)は衝突反応セルに Bda を入れて H^+ 移動反応を誘起させ、温度を変化させた場合のマススペクトルである。低温になるにつれて親イオンである $[M+13H]^{13+}$ イオンの強度が減少し、生成物イオンの強度が増加した。次に、cytochrome c イオン $[M+13H]^{13+}$ と Bda のプロトン移動反応性 $\ln(A_0/A)$ の時間依存性を各温度で観察したマススペクトルを図2に示す。高温では反応速度定数が擬一次的に増加したが、低温ではある点から反応速度に比例せず、ほぼ一定の値を取るようになった。これは $[M+13H]^{13+}$ イオンが、低温において反応性の異なる複数の構造異性体をとっていることが推測される。つまり、反応性の高い構造の $[M+13H]^{13+}$ イオンがすべて反応した後に、反応性の低い構造のイオンが残り、反応が起きにくくなるためではないかと考えられる。

図3に cytochrome c イオン $[M+8H]^{8+}$ の各温度における時間依存性のマススペクトルを示す。全ての温度において反応速度定数が反応時間に比例していない結果となった。これらの結果から、同じ温度の $[M+8H]^{8+}$ イオンでも反応性の異なる複数の構造異性体が存在していることが推測される。

【参考文献】

- [1]. S. Nonose, T. Okamura, K. Yamashita and A. Sudo, *Chem. Phys.*, **419** 237-245 (2013).
- [2]. S. Nonose, K. Yamashita, A. Sudo, and M. Kawashima, *Chem. Phys.*, **423** 182-191 (2013).
- [3]. S. Nonose, K. Yamashita, T. Okamura, S. Fukase, M. Kawashima, A. Sudo and H. Isono, *J. Phys. Chem. B*, **118** 9651-9661 (2014).

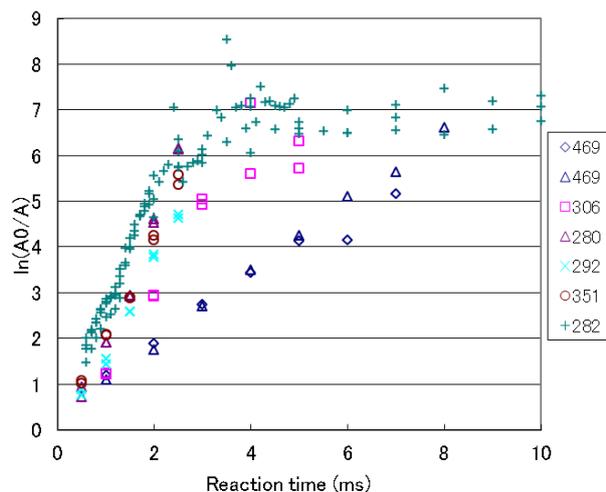


Fig. 2. Time dependency Reactivity of proton transfer on $[M + 13H]^{13+}$ reacted with Bda in various reaction temperature

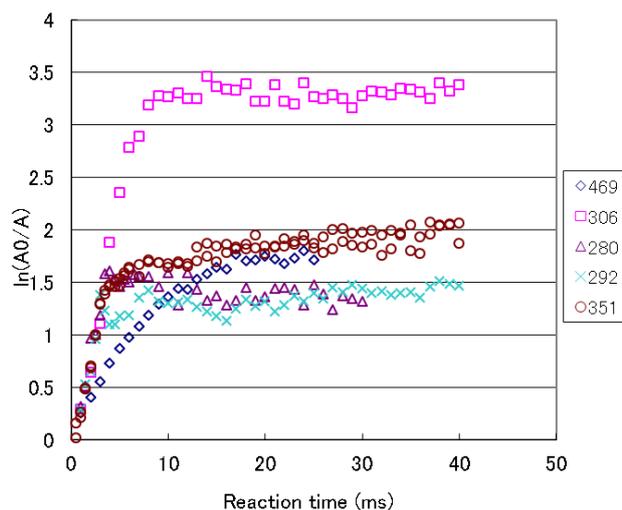


Fig. 3. Time dependency Reactivity of proton transfer on $[M + 8H]^{8+}$ reacted with Bda in various reaction temperature