

生体分子多電荷イオンのプロトン移動反応の時間と温度依存性

¹横浜市大院生命ナノ

○野々瀬 真司¹, 笹岡映也人¹, 臼井優¹, 王子星ゆり¹, 石井亮¹

Time- and Temperature-Resolved Proton Transfer Reactions of Multiply-Charged Bimolecular Ions

○Shinji Nonose¹, Hayato Sasaoka¹, Yu Usui¹, Hoshiyuri Oji¹, Ryo Ishii¹

¹Graduate School of Nanobioscience, Yokohama City University, Japan

【Abstract】 Time- and temperature-resolved proton transfer reactions of multiply protonated disulfide-intact lysozyme ions, $[M_i + zH]^{z+}$, and disulfide-reduced lysozyme ions, $[M_r + zH]^{z+}$, to 1,4-butanediamine were examined in the gas phase. Absolute reaction rate constants for proton transfer were determined from intensities of precursor and product ions in the mass spectra. With changes of reaction time and temperature, remarkable change was observed for distribution of product ions and reaction rate constants. The results indicate that conformation changes on the ions at lower temperature range, which relate to disulfide bonds. An issue that is attracting considerable attention is their conformations might resemble structural evolution that originated from temperature in the gas phase.

【序】

気相中で孤立状態にある disulfide 結合切断前後の lysozyme (Lys) の多電荷イオンと 1,4-butanediamine (Bda) との H^+ 移動反応に関して研究した。気相中での気体分子との衝突による H^+ 移動の反応速度をひとつの指標として、反応の温度および時間を変化させることによって、Lys イオンの立体構造と反応に関して詳細に検討した。

【実験方法】

研究の遂行には、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。試料溶液に dithiothreitol を加えて湯浴し Lys 内にある disulfide 結合を切断した。ESI 法によって disulfide 結合切断前の Lys の多電荷イオン、 $[M_i + zH]^{z+}$ と disulfide 結合切断後のイオン、 $[M_r + zH]^{z+}$ を生成させた。イオンをイオンファネル中にトラップした後、パルス状に噴出させた。四重極質量分析計(QMASS)

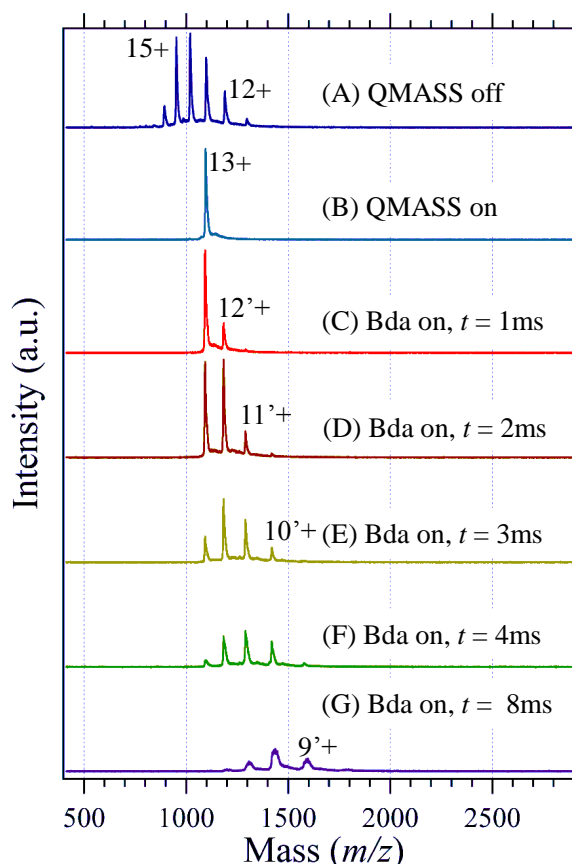


Figure 1. Mass spectra of $[M_r + 13H]^{13+}$ reacted with Bda in various reaction times.

において、特定の電荷数のイオンを選別した後、滞在時間および温度が可変の衝突反応セルに導いた。衝突反応セルに Bda を He とともに導入した。イオンと Bda とを衝突させ、 H^+ 移動反応を誘起した。飛行時間型質量分析計(TOF-MS)において、 H^+ 移動反応によって生成したイオン種を質量分析し、検出した。得られた質量スペクトルのイオン強度から、 H^+ 移動の絶対反応速度を算出した。反応時間を 1 - 90 ms の範囲で変化させながら、 H^+ 移動反応を観測し、反応の時間依存性について調べた。また、衝突反応セルの温度を 280 K から 460 K までの範囲で変化させ、反応の温度依存性を調べた。

【結果・考察】

図 1 に電荷数 13 の disulfide 結合切断後のイオン、 $[M_r + 13H]^{13+}$ 、と Bda との H^+ 移動反応の反応時間依存性に関する質量スペクトルを示す。(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) ~ (G) は衝突反応セルに Bda を導入

して、 H^+ 移動反応を誘起した場合をそれぞれ表す。(C) から (G) への順で、イオンの衝突反応セル中での滞在時間すなわち反応時間 t ($t = 1 - 8$ ms)が増加している。衝突反応セルの温度は 281 K、セル中での Bda の分子密度は 3×10^{11} (molecule cm^{-3})であった。反応時間の増加に伴って、親イオンである 13+ の強度は指数関数的に減少し、 $t = 8$ ms 付近では 0 に漸近した。13+ の強度減少に伴って H^+ 移動反応の生成物である 12^+ , 11^+ , 10^+ , 9^+ の強度が増加した。図 2 に $[M_r + 9H]^{9+}$ の反応における $\ln(A_0/A)$ を反応時間の関数として表す。衝突反応セル中の Bda の密度 $[Bda]$ は親イオンよりも圧倒的に高いので、 H^+ 移動反応は擬 1 次反応と見なされる。反応前と後での親イオンの強度をそれぞれ A_0 と A とすると、

$$\ln\left(\frac{A_0}{A}\right) = kt[Bda]$$

であるから、 $\ln(A_0/A)$ は反応時間 t に比例する直線となるはずである。ところが、いずれの温度においても直線とはならなかった。よって、反応速度 k の異なる複数の conformer の存在が予想される。温度低下に伴って $\ln(A_0/A)$ の値が大きくなったことから、温度低下に伴って k が増加したことが分かった。講演では、反応による生成物イオンの分布に加えて $\ln(A_0/A)$ の値を指標として、 $[M_i + zH]^{z+}$ と $[M_r + zH]^{z+}$ における disulfide 結合切断による Lys イオンの立体構造変化について議論する。

【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).

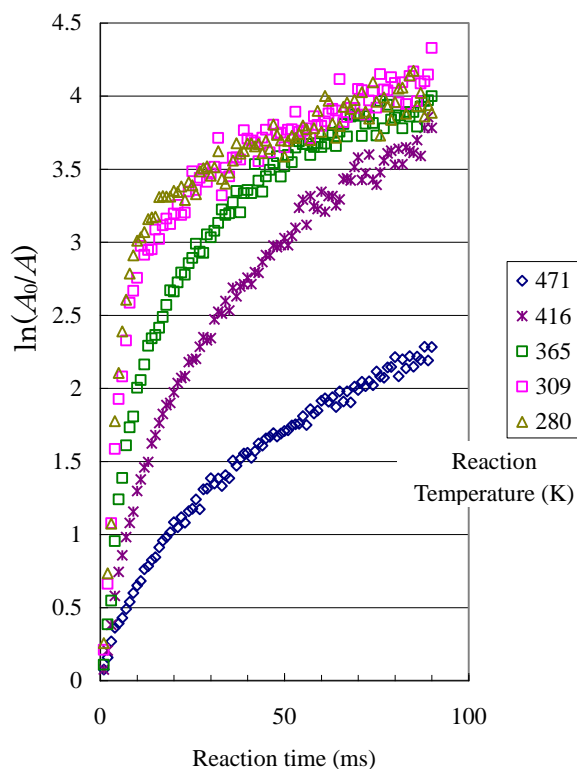


Figure 2. Time profiles on $\ln(A_0/A)$ for $[M_r + 9H]^{9+}$ reacted with Bda in various reaction temperature plotted as a function of reaction time.