

イオントラップ液滴分子線赤外レーザー蒸発法を用いた 気相リゾチームイオンの深紫外分光

学習院大学院理

○河内宣志, 浅見祐也, 河野淳也

DUV-excitation spectroscopy of gas-phase divalent lysozyme ion by use of ion-trap droplet-beam IR-laser ablation

○Norishi Kawauchi, Hiroya Asami, Jun-ya Kohno

Department of Chemistry, Gakushuin University, Japan

【Abstract】 Proteins interacting with ambient water molecules usually has an intrinsic function in aqueous solution. Therefore, it is of importance to elucidate the hydration effect of the protein molecules. In this study, we aim to establish a method for the structural analysis of gas-phase proteins and reveal the interaction between a protein and a water molecules under a valence-selective condition using an electrodynamic ion trap technique. When the trapped lysozyme (Lys) ions were irradiated with a deep-UV (DUV) laser of two different focal condition, which are focusing and defocusing at the trapped ion plume, we observed a photodissociation fragment and a depletion of the trapped Lys ions, respectively. The DUV-photodissociation and depletion spectrum of Lys^{2+} at DUV region (192-290 nm) were measured. At focused condition, we observe the absorption of peptide bond and aromatic groups at <195, 210 nm and 230 nm. At defocused condition, on the other hands, the absorption of aromatic groups are observed at ~220 and 280 nm.

【序論】 タンパク質は生体中で周囲に存在する水分子や様々な化学種と相互作用している。このような周囲の環境がどの程度タンパク質の分子構造に影響を与えているかを解明するためには、孤立気相状態での構造と水溶液中での構造の違いを明らかにすることが重要となる。また、タンパク質は溶液中で様々な価数で存在するため、タンパク質機能の価数依存性の解明も重要である。本研究では、液滴分子線赤外レーザー蒸発法を用いてタンパク質(リゾチーム, Lys)イオンの気相単離を行い、四重極型イオントラップ装置[1]を用いて Lys イオンの価数選択的なトラップを行った。また、トラップした気相 Lys^{2+} イオンに紫外光(192-290 nm)を照射することで深紫外光解離スペクトルを測定した。特に、紫外光の照射条件を二種類用いることによって、光子過程の異なる気相スペクトルを得ることに成功した。

【実験方法】 200 μM の Lys 水溶液をノズルから直径約 70 μm の液滴として大気中に射出した。生成した液滴は3段階の差動排気を通して高真空下($\sim 2 \times 10^{-6}$ Torr)に導入し、円筒状のリング電極とそれを挟むエンドキャップ電極からなる質量分析装置の加速領域に到達させた。リング電極内部に到達した液滴に、水の OH 伸縮振動に共鳴する赤外レーザー光 (3591 cm^{-1} , $\sim 4.6 \text{ mJ pulse}^{-1}$) を集光し、溶液中の Lys イオンを気相単離した。リング電極に RF 電圧($\sim 120 \text{ kHz}$, $\sim 1.0 \text{ kV}_{\text{p-p}}$)を印加することにより、 Lys^{2+} イオンを選択的にトラップした。70 ms トラップ後にエンドキャップ電極にパルス電圧を与えて加速し、飛行時間型質量スペクトルを測定した。また、トラップされた気相 Lys^{2+} イオンに紫外レーザー光(192-275 nm, $0.1\text{-}2.4 \text{ mJ pulse}^{-1}$)を照射し、光解離信号を観測した。本研究では、紫外光をトラップした気相 Lys^{2+} イオンのブルームに対して集光し

た条件 (条件 A) とデフォーカスした条件 (条件 B) の二種類を用いた。

【結果・考察】 トラップした Lys^{2+} イオンに紫外光を照射していない場合と条件 A を用いて照射した場合の質量スペクトルをそれぞれ図 1a, b に示す。図 1 より Lys^{2+} イオンへの紫外光照射によって、光解離信号として H_3O^+ が観測された。この光解離信号はレーザー強度依存性の測定により、二光子過程で生じることがわかった。一方、条件 B を用いて、トラップした Lys^{2+} イオンに紫外光を照射していない場合、照射した場合の質量スペクトルおよびその差スペクトルを図 2 に示す。この条件では、図 2c に示すように親イオンであるトラップした Lys^{2+} イオンの減衰が観測された。この減衰はレーザー光を集光していないことから、一光子吸収が支配的だと予測される。条件 A を用いて、 H_3O^+ をモニターした気相 Lys^{2+} イオンの光解離スペクトル (195–290 nm) の測定を行った (図 3a)。また、条件 B を用いて、親イオンの減衰をモニターした気相 Lys^{2+} イオンの減衰スペクトル (192–290 nm) の測定を行った (図 3b)。Lys の吸収スペクトルの帰属 [2, 3] から、スペクトル 3a で観測されている 2 つのバンド (<195, 210 nm) はペプチド主鎖の吸収、230 nm は芳香族アミノ酸に由来する吸収に帰属できる。スペクトル 3b では ~225, 280 nm に芳香族アミノ酸に由来する吸収が観測される一方、210 nm 付近に観測される α -helix 構造由来の吸収が弱いことがわかる。この結果から、気相 Lys^{2+} イオンは水分子を豊富に保持し、 α -helix 構造が維持されているもの (図 3a で観測) と、水分子の欠乏によって α -helix 構造から random coil 構造への構造変化が生じているもの (図 3b で観測) の二種の存在が示唆される。

【参考文献】 [1] J. Kohno, T. Kondow. Chem. Lett., 39, 1220-1221 (2010). [2] K. Rosenheck, P. Dand, Biochemistry 1961, 47, 1775-1785. [3] D. Wetlaufer, Adv. Protein Chem. 1962, 17, 303-390.

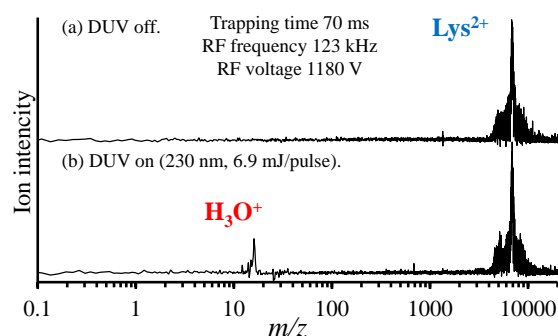


Fig. 1. Mass spectra of trapped Lys^{2+} ions without (a) and with (b) irradiation of a DUV laser (230 nm, $2.2 \text{ mJ pulse}^{-1}$) taken under a focused condition. Trapping time, RF frequency and RF voltage were set to 70 ms, 123 kHz and 1.18 $\text{kV}_{\text{p-p}}$, respectively.

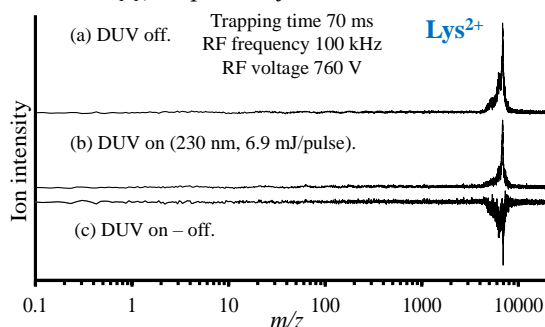


Fig. 2. Mass spectra of trapped Lys^{2+} ions without (a) and with (b) irradiation of a DUV laser (230 nm, $2.2 \text{ mJ pulse}^{-1}$) taken under a focused condition. And, the bottom (c) is difference spectrum of (a) and (b). Trapping time, RF frequency and RF voltage were set to 70 ms, 100 kHz and 0.76 $\text{kV}_{\text{p-p}}$, respectively.

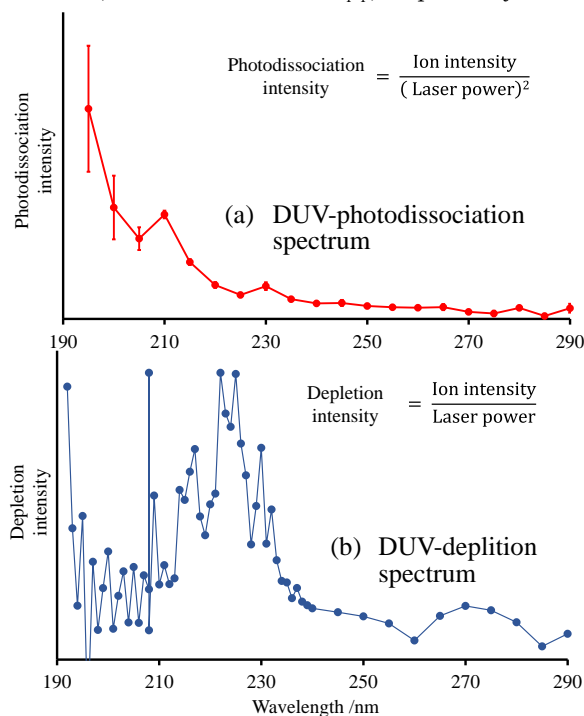


Fig. 3. (a) DUV-photodissociation spectrum of Lys^{2+} ions monitored by H_3O^+ intensity under a focused condition. (b) DUV-depletion spectrum of Lys^{2+} ions under a defocused condition.