

1P039

水和ペプチドイオンの光解離過程

(神戸大理¹・横浜市大理²)

森啓輔¹, 藤原亮正¹, 柴田洋平¹, 岩岡咲枝¹, 野々瀬真司², 富宅喜代一¹

【序】蛋白質などの生体分子の構造転移や機能発現には水が重要な役割を果たしているが、未だ詳細な知見は得られていない。水分子の役割を微視的に理解するためには、生体分子の水和クラスターを気相中に取り出して、その構造や反応性を直接観測することが有効である。本研究では、エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法によって水和数を制御し、 $\text{TrpH}^+(\text{H}_2\text{O})_n$ ($n=0,1$) 及び $(\text{Trp-Gly})\text{H}^+(\text{H}_2\text{O})_n$ ($n=0,1$) を生成した。これらのクラスターについて、レーザー光解離分光法を用いて安定性や反応性を調べ、クラスターの構造や光化学反応に対する水和効果を分子レベルで検討した。

【実験】試料溶液は、市販のトリプトファン (Trp) 及びトリプトファングリシン (Trp-Gly) をメタノール：酢酸 = 99 : 1 の混合溶媒に溶かして、濃度 1×10^{-4} mol/l としたものを使用した。ESI 法により生成した荷電液滴を脱溶媒和室へ導入し、溶媒分子を蒸発させた。生成した孤立イオンは溶媒和室で水蒸気と窒素の混合気体中に通過させ、水和クラスターイオンを生成した。イオンは細管を通じて真空中に導入し、八重極イオンガイドと組み合わせたガスセルにトラップした。このイオンをレーザーと同期してパルス状に下流に噴出し、四重極質量分析計により特定のクラスターイオンを質量選別した後に、2 番目の八重極イオンガイドへ導いてレーザー光を照射した。光解離により生成したフラグメントイオンは四重極質量分析計で質量分離し、検出した。

【結果と考察】YAG レーザーの第四高調波(266 nm)を用いて TrpH^+ 及び $\text{TrpH}^+(\text{H}_2\text{O})$ の光解離質量スペクトルを測定した。この結果をそれぞれ図 1 (a),(b) に示す。両方のイオンの光解離過程で、 $m/z=117,131,144,159,188$ のフラグメントイオンが検出された。 TrpH^+ の光解離では $m/z=144$ のピークが最も顕著であるのに対し、 $\text{TrpH}^+(\text{H}_2\text{O})$ ではこのフラグメントイオンの分岐比が減少した。また、 $m/z=188$ のイオンが強く観測された。我々の以前の研究で、 $m/z=144$ のイオンは NH_3 の脱離で生成する $m/z=188$ のイオンを経由して生成することが明らかになっている。この点を考慮すると、 $\text{TrpH}^+(\text{H}_2\text{O})$ の光解離過程では、まず水分子の蒸発が起ること、残りの TrpH^+ の解離に使われる余剰エネルギーが減少するため、このような分岐比の違いが生じると考えられる。

図2に、(Trp-Gly)H⁺の光解離質量スペクトルを示す。TrpH⁺で観測されたフラグメントイオン(m/z=131,144,159)以外にも、数本の新しいピークが見出された。また、(Trp-Gly)H⁺の光解離過程では、C - C_a結合の解離で生成する m/z=159 のフラグメントイオンが最も強く検出された。この結果は、TrpH⁺と異なり、Trp の C 末端が Gly とのペプチド結合に置き換わったことが大きく影響していると考えられる。また (Trp-Gly)H⁺(H₂O)の光解離では、(Trp-Gly)H⁺では検出されなかった m/z=180 程度の生成物を新たに観測した。この水分子の付加による解離メカニズムの違いは、TrpH⁺ や TrpH⁺(H₂O)の光解離では観測されなかったものである。講演では、TrpH⁺ のプロトン付加位置の問題[1,2]も含め、これらの光解離過程の詳細な議論を行う。

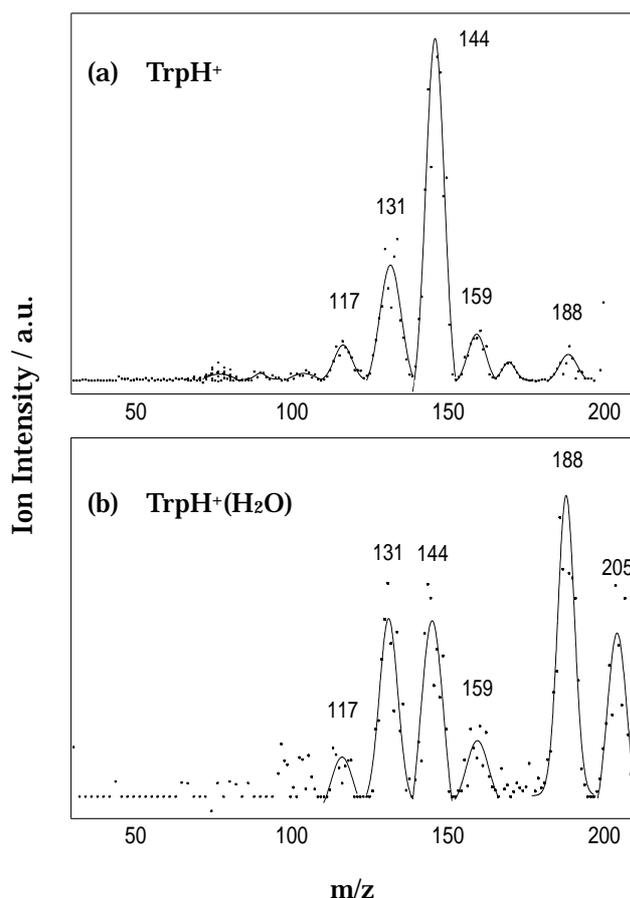


図1 (a) TrpH⁺ (m/z=205) 及び (b) TrpH⁺(H₂O) (m/z=223)の光解離質量スペクトル

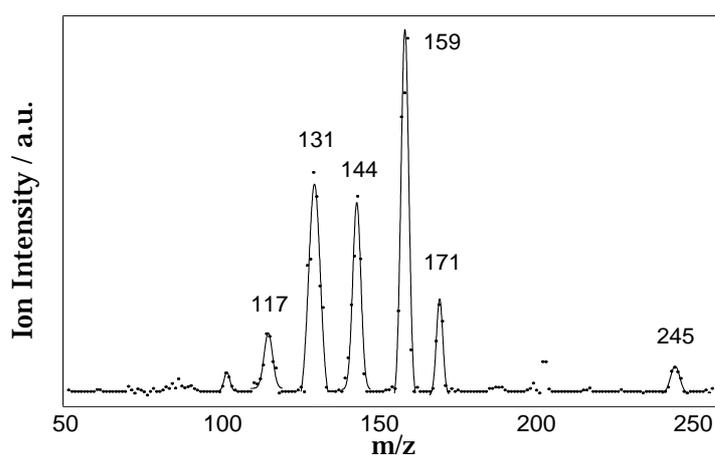
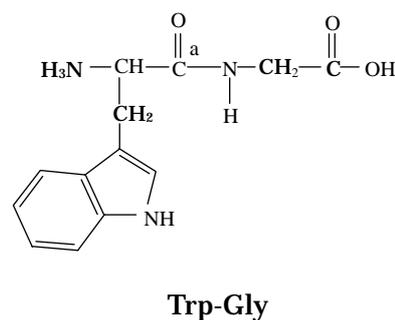


図2 (Trp-Gly)H⁺ (m/z=262) の光解離質量スペクトル



[1] H. Lioe, R. J. O'Hair, G. E. Reid, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 2004, 15, 65.

[2] M. Rozman, S. Kazazic, L. Klasinc, D. Srzic, *Rapid. Commun. Mass Spectrom.*, 2003, 17, 2769.