

2P030

プロトン化したペプチドイオンの光解離過程

(神戸大院自然) ○松本浩幸、藤原亮正、前川亜耶子、石川春樹、富宅喜代一

【序】 生体分子の多様な反応性に、構造変化やプロトン移動が重要な役割を果たしていることが知られているが、分子レベルでの情報は著しく限られている。これらの情報を得るためには、生体関連分子を気相中に取り出し、分光学的に研究することが重要となる。我々はこれまで水和過程に注目して、生体関連分子の水和クラスターイオンの光化学反応を検討してきた。今回、エレクトロスプレーイオン化法によってプロトン化した水和ペプチドイオンを生成し、室温と極低温で光解離質量スペクトルを測定することで、プロトン付加位置と反応性を検討した。

【実験】 試料には、それぞれ Trp, Trp-Gly, Ala-Trp の $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ (1/1, v/v) 溶液 (1×10^{-4} M) に酢酸を 1% 加えて用いた。プロトン化した水和ペプチドイオンは、エレクトロスプレーイオン化法によって生成し、八重極型イオンガイドに導入した。四重極型質量分析計 1 で親イオンを選別し、温度可変 22 極型イオントラップで一定時間捕捉した後、解離光を照射した。光解離生成物は四重極型質量分析計 2 で質量選別して検出した。

【結果と考察】 図 1 に TrpH^+ の光解離質量スペクトルを示す。イオントラップの温度は 30 K であり、解離光は TrpH^+ の S_1-S_0 遷移の 0-0 帯に相当する 285 nm レーザ光を用いた [1]。 TrpH^+ は S_1 励起後、主に内部転換により基底状態に戻り、高い振動状態を経て逐次的に種々のイオンを生成することが明らかになってきている。イオンの冷却により、イオンの反応が抑制されることが見出された。図

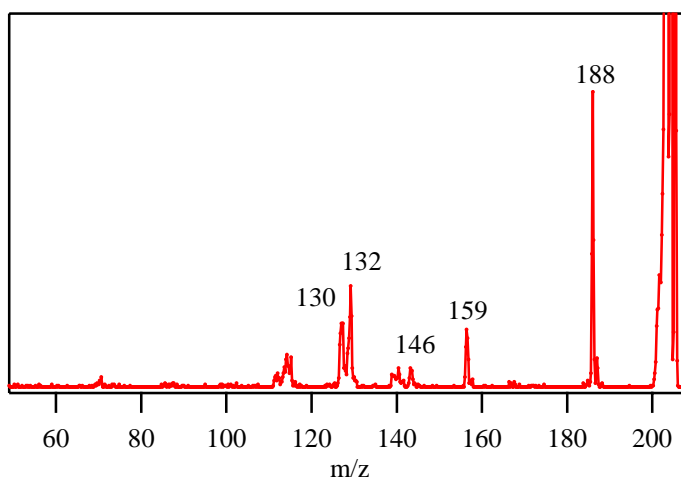


図1 TrpH^+ の光解離質量スペクトル(30 K, 解離光285 nm)

1 に示すように、30K ではアンモニア脱離生成物 ($m/z = 188$) が主に観測される。衝突誘起解離実験及び理論計算等との比較から [2]、 TrpH^+ はアミノ基の N 原子にプロトンが付加した図 2 のような構造であると考えられる。

図 3 (a) に 70K での Trp-GlyH^+ の光解離質量スペクトルを示す。 TrpH^+ と同様に、アンモニア脱離生成物 ($m/z = 245$) と $\text{C}_\alpha\text{-C}_\alpha$ 結合の解離生成物 ($m/z = 159$) が観測された。 Trp-Gly のプロトン付加位置としては末端アミノ基の N 原子、アミド基の N 原子または O 原子、インドール環の N 原子が挙げられる。光解離質量スペクトルが 図 1 の TrpH^+ の場合と類似することから、プロトン付加位置の可能性として Trp-Gly の末端アミノ基の N 原子が考えられる。

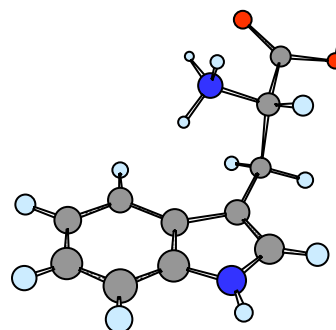


図 2 TrpH^+ の構造

300KにおけるAla-TrpH⁺の光解離質量スペクトル 図3(b)では、光解離生成物にペプチド結合の解裂で生じたTrpH⁺ (m/z = 205) が検出され、N末端のアンモニア脱離は見られなかった。この結合解裂の一因として、プロトンがAla-Trpのアミド基に付加し、解裂を促進することが考えられる。

図4にプロトン化した水和ジペプチドイオン(a) Trp-GlyH⁺(H₂O)₄, (b) Ala-TrpH⁺(H₂O)₄の光解離質量スペクトル(解離光 266 nm)を示す。水和イオンはフリーのイオンと比べてイオン量が少なかったため、室温の八重極型イオンガイドでトラップ、パルス化し、四重極型質量分析計2の分解能を下げて測定した。スペクトルではフリーのイオンに加えて、m/z = 73にH₃O⁺(H₂O)₃が観測された。この結果はジペプチドのプロトン付加位置に水クラスターが形成し、n = 4で溶媒分子側へのプロトン移動が起こることを示している。講演では、ペプチドのプロトン付加位置と構造、反応性の関係について議論する。

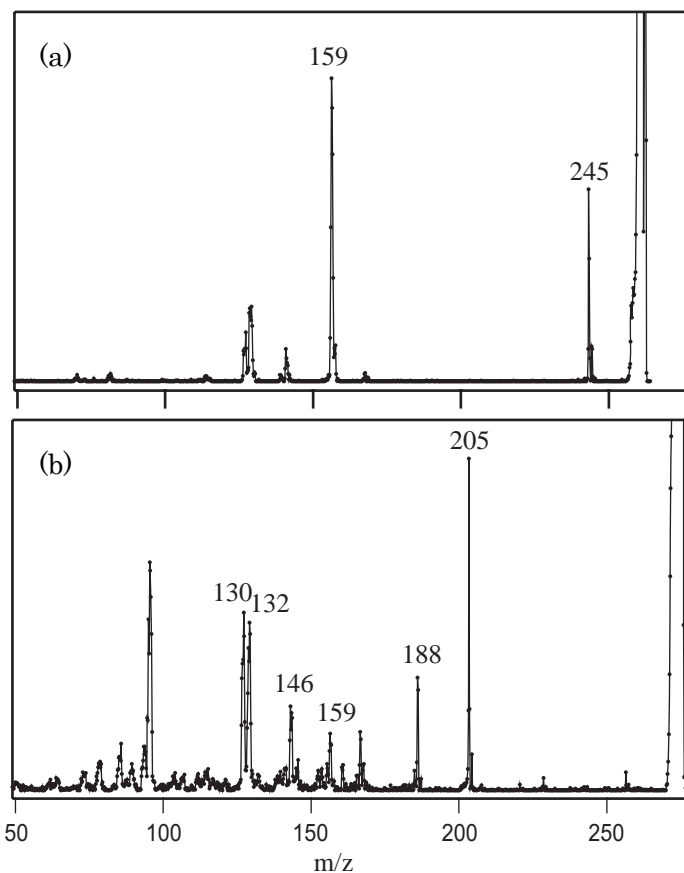


図3 ジペプチドイオンの光解離質量スペクトル
(解離光 285 nm)
(a) Trp-GlyH⁺ (70 K), (b) Ala-TrpH⁺ (300 K)

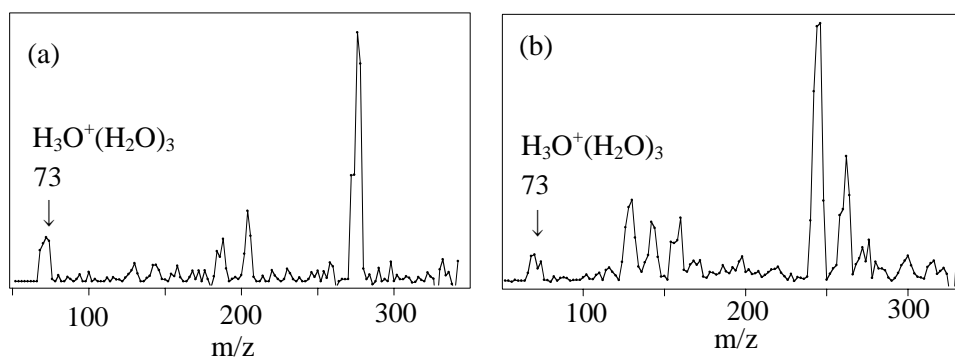


図4 水和ジペプチドイオンの光解離質量スペクトル (解離光 266nm, 室温)
(a) Trp-GlyH⁺(H₂O)₄, (b) Ala-TrpH⁺(H₂O)₄

[1] 藤原 他 本討論会 2B13.

[2] Lioe *et al.*, *J. Am. Soc. Mass Spectrom* **15**, 65 (2004).