

タッピングモード走査型プローブエレクトロスプレーイオン化法を用いたペプチドの迅速誘導体化反応

Accelerated Derivatization of Peptide by Tapping-mode Scanning Probe Electro-spray Ionization

阪大理¹, 京大農² 竹内 彩¹, 〇大塚 洋一¹, 上堀内 武尉¹, 宮下 正弘², 松本 卓也¹

Osaka Univ.¹, Kyoto Univ.², Aya Takeuchi¹, Yoichi Otsuka¹, Bui Kamihoriuchi¹, Masahiro

Miyashita², Takuya Matsumoto¹

E-mail: otsuka@chem.sci.osaka-u.ac.jp

タンパク質は生体の構成要素や生理活性物質としての役割を担うことから、その構造と機能の相関解明は生命現象の理解の上で重要である。タンパク質の化学構造の同定には質量分析法が用いられるが、ペプチドの誘導体化によってさらに促進できる。しかしながら、誘導体化は反応効率や操作の煩雑さに問題がある。一方で、帯電液滴を活用した迅速誘導体化反応が注目されている。この機構解明は気液界面の化学反応の追究と、ハイスループット分析への展開の両面から重要である。

本研究では、タッピングモード走査型プローブエレクトロスプレーイオン化法(t-SPESI)を用いて、ペプチドの迅速誘導体化反応を検討した。図1に概要図を示す。振動するキャピラリープローブを介して高電圧が印加されたペプチド溶液を流し、プローブ先端部分を断続的に誘導体化試薬と接触させることで、ペプチド溶液と誘導体化試薬の混合とイオン化を繰り返す。その期間のマスペクトルとプローブ振動の時間変化を計測した。ペプチド溶液は、ジペプチド(Ala-Leu)をアセトニトリル/水=1/1(500 μ M NaOHaq)に溶解した。誘導体化試薬は TMPP-ac-O 水溶液(1%(v/v)酢酸)をガラス基板上に滴下、風乾した。溶媒流量と印加電圧は 150nL/min と 6kV で、正イオンモードで計測した。

図2に計測結果を示す。プローブが誘導体化試薬と断続的に接触している期間(t_1 , (a), 約 2 秒)において、振幅(b)および位相(c)が変化し、生成物のナトリウム付加イオン(d)が速やかに検出された。本結果は、ペプチドの瞬時誘導体化反応(図3)を示唆する。また、誘導体化試薬を用いない対照実験では、ペプチドイオンは検出されなかった。 t_1 で消費されるペプチド量は約 500fmol であり、本方法がペプチドの高感度検出に利用できることが分かった。

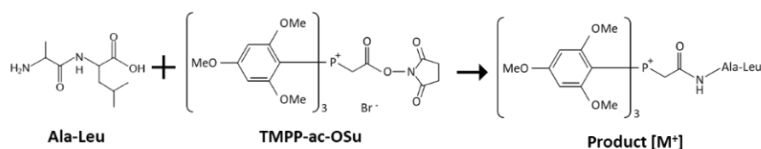


図3 ペプチドの誘導体化反応

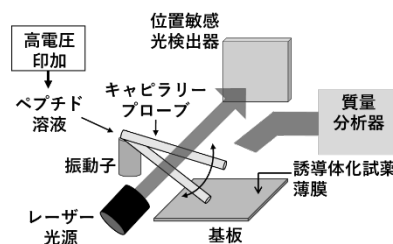


図1 測定の概要図

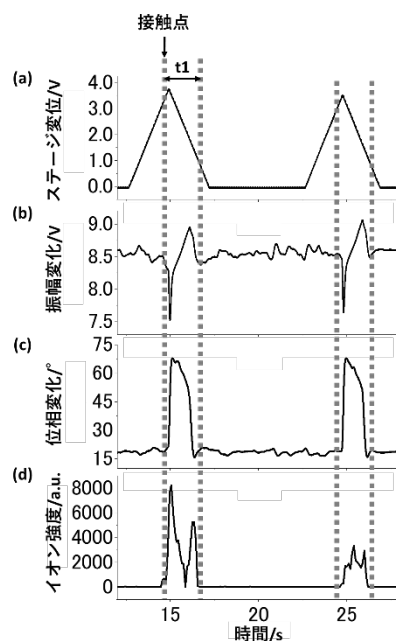


図2 計測データの比較