

軟 X 線発光による水溶液の電子状態の観測

— グリシンの pH 依存性 —

(理研 SPring-8¹、広島大院・理²、東大物性研³)○堀川裕加^{1,2}、徳島高¹、原田慈久¹、平谷篤也²、辛埴^{1,3}

【序】

生物の身体を形作っているタンパク質は 20 種類のアミノ酸から構成されている。アミノ酸とは分子内にアミノ基とカルボキシル基をもつ化合物であり、体内ではアミノ酸を用いてタンパクを合成するなど様々な化学反応が起きている。生体内でどんな化学反応が起こるかということは昔からよく調べられているが、反応の進行をアミノ酸の電子状態の変化から議論できるようになれば各種アミノ酸の合成ステップや酵素との反応の様子などの説明に新たな視点をもたらすことができ、なぜそういう反応が起こりやすいかという生化学反応のさらなる理解に役立つと考える。

グリシンは 20 種類のアミノ酸の中で最もシンプルな構造を持つアミノ酸である。軟 X 線を用いたグリシンの研究としては、気体や固体、表面吸着分子での吸収スペクトル、発光スペクトルが測定されているが、生体中の環境に近い水溶液中での発光分光を行ったものはまだない。アミノ酸は水溶液中ではイオンの形が安定となり、pKa 値の異なるアミノ基とカルボキシル基を持つことからイオンの形は溶液の pH によって陽イオン、両性イオン、陰イオンと変化するのが特徴である(図 1 右を参照)。このイオンの変化を価電子状態の変化から観測することはアミノ酸やタンパク質の化学反応の pH 依存性などを考えるときに重要となる。そこで軟 X 線発光分光法を用いて代表的なアミノ酸であるグリシンの pH 依存性の測定を行った。

軟 X 線発光分光とはあらゆる物質の占有電子状態を観測するのに有効な手段の一つである。励起光・発光がともに光であり電場や磁場の影響を受けないため、絶縁体や粉末の測定を行うことができる。また、軟 X 線を通過する窓材を使用することで大気圧下にある溶液や生物系試料の測定も行うことが可能である。我々が独自に開発した液体試料用の装置を用い測定を行った。これは高性能軟 X 線発光分光器と軟 X 線分光用溶液セルを組み合わせることにより、今まで困難であった軟 X 線照射による液体試料の測定を高分解能かつ容易に行うことのできるようにしたものである。

【実験】

溶液試料は、粉末グリシンを超純水に溶かし、HCl、NaOH を用いて pH 調整を行い、2mol/l の水溶液を作成した。pH 測定は確認のため発光分光測定の前と後に 2 度測定した。軟 X 線発光分光測定は SPring-8 BL17 a-branch にて行い、O1s 領域の測

定を行った。O 領域での吸収スペクトル測定から、水溶液中のグリシンの共鳴ピークが水の吸収端より低エネルギー側に出ていることが分かり、このエネルギーを励起光に用いることにより、水溶液中のグリシンの酸素周りの電子状態測定を行った。

【結果と考察】

測定したグリシンの発光スペクトルを図1に示す。上の3つのスペクトルは特徴的な3本のピークを示しており、形もほぼ等しい。pH1.68 でスペクトルは高エネルギー側の1本ピークだけを残し他は減少し始め、pH-0.57 では 523.6eV、524.6eV に新たなピークが現れている。グリシンの等電点 (Isoelectric point) は pH5.97 であり、溶液の pH が低いときには陽イオン、等電点付近では両性イオン、pH が高いときには陰イオンの形をとっている分子が多数を占めるようになる。このとき、酸素原子を含むカルボキシル基の形はそれぞれ normal form、ionized form、ionized form が多数となる(図1右参照)が、その変化とともに発光スペクトルも変化していることが分かる。

カルボキシル基を持ち、グリシンに構造が近い酢酸の水溶液中での発光スペクトルも pH 変化に対して同じような変化を示した(図2)ことから、図1、図2のスペクトルはカルボキシル基の変化を観測していることが示された。この実験で我々は、溶液中でのグリシン、酢酸の構造変化を電子状態の変化から初めて観測することに成功した。

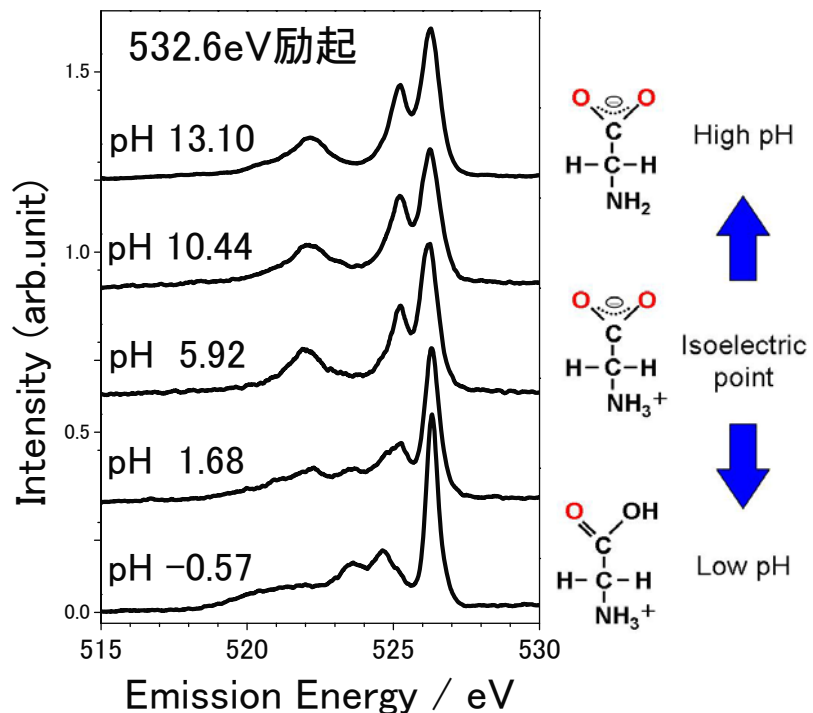


図1 グリシン水溶液の発光スペクトル

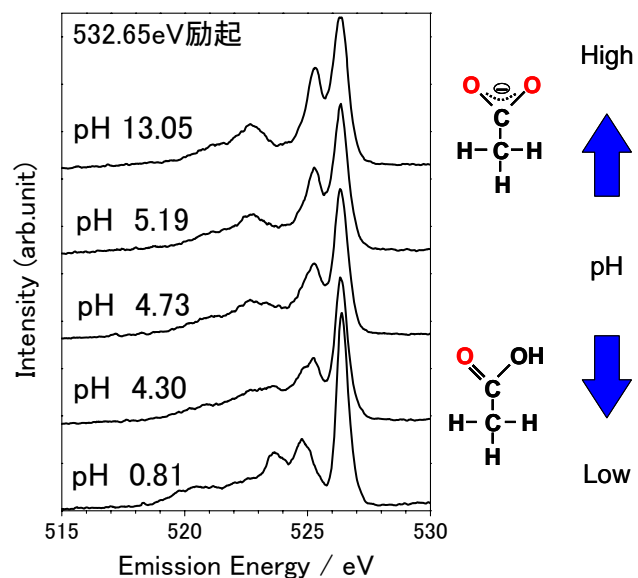


図2 酢酸水溶液の発光スペクトル