

軟 X 線発光によるポリグリシンの電子状態観測

(広大院理¹、理研 SPring-8²、東大新領域³、東大院工⁴、JST-CREST⁵、東大放射光
6、東大物性研⁷)

○堀川裕加^{1,2}、徳島高²、新井秀実³、原田慈久^{4,5,6}、小林正起^{2,4,6}、高田恭孝^{2,3}、
平谷篤也¹、辛埴^{2,7}

【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、このアミノ酸が鎖状に繋がることでタンパク質が形成されている。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、表面吸着分子についての軟 X 線吸収、軟 X 線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る。固体やガスでは起こらない現象として、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ことが知られている。この現象に注目して我々はこれまでに、イオン形の変化にともなうグリシンの価電子状態の変化の観測を行ってきた。酸素原子周りの電子状態測定から、pH が酸性から塩基性になるにつれてスペクトルは連続的な変化を示し、分子軌道計算結果との比較からグリシン分子中のカルボキシル基の変化を捉えていることが分かった。

ペプチドはアミノ酸のカルボキシル基とアミノ基との間で脱水し、ペプチド結合を形成してできる化合物であり、何万というアミノ酸が繋がったペプチド鎖が折りたたまれたものがタンパク質である。溶液中でのタンパク質の電子状態を調べていくうえでの最初のステップとして、アミノ酸が 2 つ、3 つ繋がったときの電子状態がどうなっているかを調べることを目的とし、軟 X 線発光分光法を用いてグリシンのペプチドであるグリシルグリシン(Gly-Gly)、グリシルグリシルグリシン(Gly-Gly-Gly)の測定を行った。

【試料・測定手法】

粉末グリシンペプチドを純水に溶かし、HCl、NaOH を用いて pH 調整を行い、最終的にグリシンペプチド濃度が同じになるように試料調整した。溶液の pH はそれぞれの分子が陰イオン、両性イオン、陽イオンが多数となる値に調整した。pH 測定は確認のため発光分光測定の前と後に 2 度行った。

実験は SPring-8 BL17 a-branch にて行った。O 領域での軟 X 線吸収スペクトル測定からグリシンペプチドの O 1s \rightarrow $\pi^*(C=O)$ 遷移のエネルギー値を調べ、このエネ

ルギーで励起することにより、水溶液中のグリシンペプチドの酸素原子周りの電子状態測定を行った。実験装置は我々が独自に開発したもので、高性能軟 X 線発光分光器¹⁾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 線による液体試料の測定を高分解能かつ容易に行うことができるようにしたものである。溶液セルには、軟 X 線を透過する薄膜を真空と大気を仕切る窓材として用い、大気圧下で循環させた溶液をそのまま軟 X 線を用いて観測することが可能となっている。

【結果と考察】

測定した発光スペクトルを図 1 に示す。一番上が Gly、次が Gly-Gly、一番下が Gly-Gly-Gly の pH 依存性である。pH13.5,6.5,-0.57 で Gly の形はそれぞれ COO^- 、 COO^- 、 COOH が多数となり、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。Gly 分子中に酸素原子はカルボキシル基にのみ存在するため、このスペクトルは主にカルボキシル基の変化を反映する。Gly-Gly、Gly-Gly-Gly の発光スペクトルでは電子状態の pH 依存性は見られてはいるが、Gly のときに比べると小さく、また分子が長くなるほど変化が穏やかになっている。これは、ペプチドの場合、ペプチド結合部分にも酸素原子が存在するため、カルボキシル基由来の信号に重なって pH によって変化しないペプチド結合部分の信号が観測されているためであると考えられる。発表ではグリシンペプチドの電子状態がカルボキシル基やカルボニル基の足し合わせで解釈できるかについて議論する。

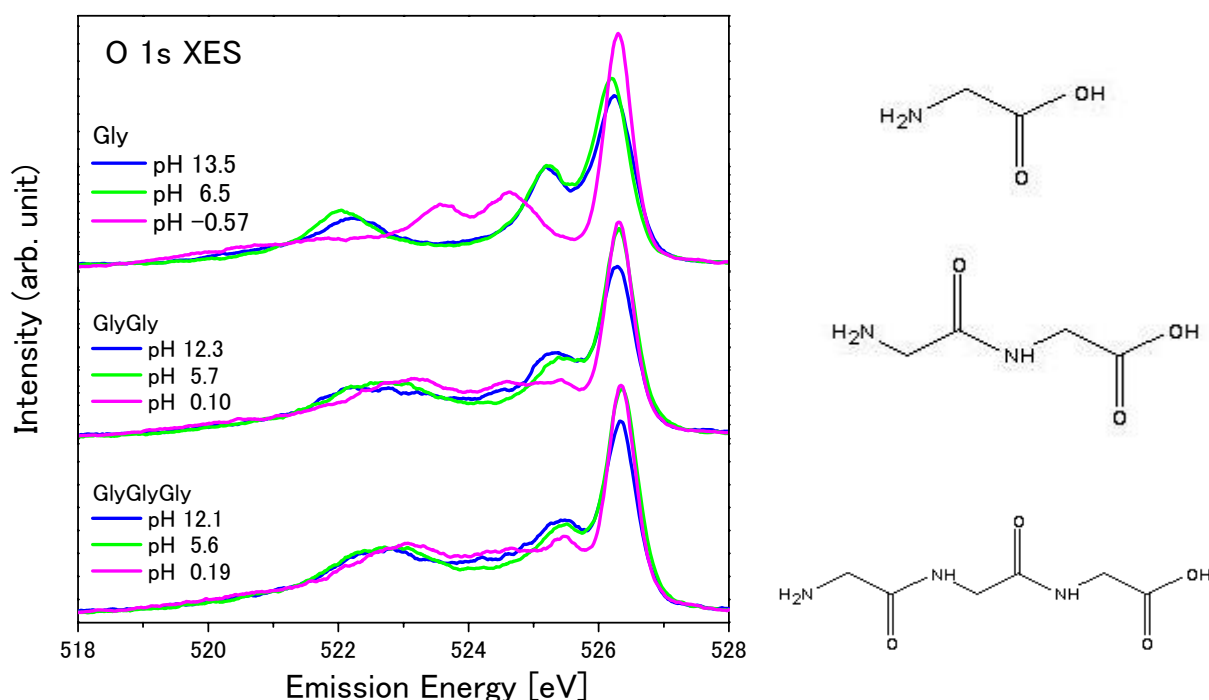


図 1 グリシン、グリシンペプチド水溶液の発光スペクトル

[1] T. Tokushima et al. Review of Scientific Instruments 77 (2006) 063107.