

2P068

X線回折法およびEPSR法によるジメチルスルホキシド - 水二成分溶液の構造解析

(福岡大理) ○甲斐 恭, 植木 佳奈子, 吉田 亨次, 山口 敏男

【序論】 ジメチルスルホキシド(DMSO)-水二成分溶液は β_2 -ミクログロブリンが形成するアミロイド線維を溶解することが報告されている[1]。Fig.1 に示すように、アミロイド線維は DMSO モル分率(x_{DMSO})0.2 付近から溶解し始め、0.5 付近でほぼ完全に溶解する。また、中性子小角散乱のデータから $x_{\text{DMSO}} = 0.5$ 付近に相関長の極大があらわれ、構造が変化することが示唆されている。これらの結果から、DMSO - 水二成分溶液の構造がアミロイド線維の溶解に深く関わっていると考えられる。本研究では、アミロイド線維の溶解における溶媒の役割、特に溶液構造の変化との関係を明らかにするために、純水から純 DMSO にわたり 0.1 モル分率毎の濃度の DMSO-水二成分溶液を調製し、その X 線回折実験を行った。そして、このデータを基に Empirical Potential Structure Refinement (EPSR)法を用いて、従来の解析法ではできなかった、部分動径分布関数を求め、それにより 3 次元構造、配位数、クラスターサイズ分布などの液体構造の詳細を明らかにした。得られた構造情報からアミロイド線維の溶解における溶媒構造の役割を考察した。

【測定】 試料は脱水処理した DMSO と二次蒸留水を用い、秤量により x_{DMSO} が 0 ~ 1(0.1 毎)の溶液を調製した。X 線回折測定は、298 K で行い、直径 2 mm ϕ 、厚さ 0.01 mm のガラスキャピラリーに試料を封入し、出力が 50 kV, 200 mA で、MoK α 線 ($\lambda=0.7107 \text{ \AA}$)を線源として、イメージングプレート迅速 X 線回折装置を用いて行った。コリメータは直径 0.5 mm で、露光時間は 3 時間である。散乱角 2θ は $0.2 \sim 140^\circ$ で、散乱ベクトルの大きさ $s (=4\pi\lambda^{-1}\sin\theta)$ は $0.03 \sim 14.4 \text{ \AA}^{-1}$ である。空気散乱と空キャピラリーの散乱を測定して、試料の散乱強度を補正した。

【結果と考察】 Fig. 2 に、EPSR 解析から得られた、各 x_{DMSO} での水分子の O 原子間 (Ow-Ow)の部分動径分布関数を示す。 $x_{\text{DMSO}} = 0.2$ までは、水素結合による水の氷様四面体類似ネットワークに因る第二ピーク (4.60 \AA 付近)は純水とほぼ等しいが、 x_{DMSO} が増加するにつれてピークが減少し、 $x_{\text{DMSO}} = 0.5$ 付近で消滅することが明らかとなった。この傾向は、アミロイド線維の溶解量が $x_{\text{DMSO}} = 0.2$ 付近から増加し始めて、0.5 付近で最大になる結果

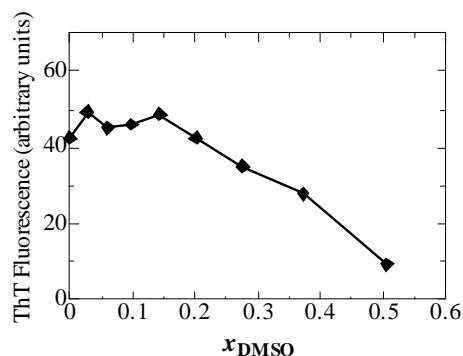


Fig.1 アミロイド線維と結合して蛍光を発するチオフラビン T(ThT)の蛍光量と x_{DMSO} との関係

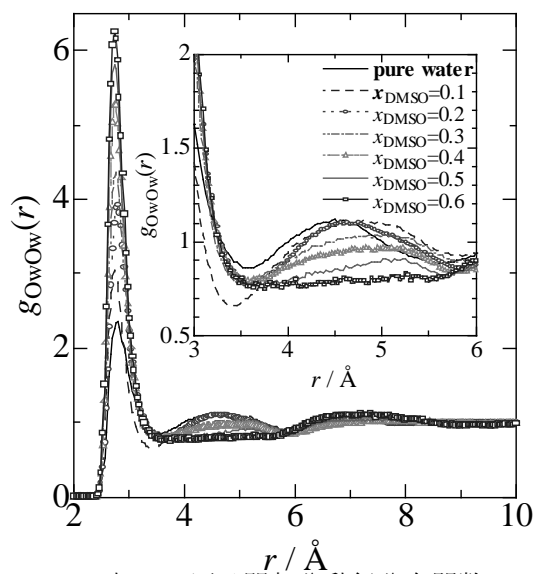


Fig. 2 水の O 原子間部分動径分布関数 ($x_{\text{DMSO}} = 0.6$ まで)

とよく一致しており、アミロイド線維の溶解に水の四面体類似構造が深く関与していることが明らかとなった。

また、Fig. 3 と Fig. 4 はそれぞれ各 x_{DMSO} での、中心水分子の周りの水分子の 3 次元分布図と、中心 DMSO 分子の周りの DMSO 分子の 3 次元分布図である。Fig. 3 から、水の第二配位圏(3.5~5.5 Å)の構造は、 $x_{\text{DMSO}} = 0.2 \sim 0.3$ で水の氷様正四面体構造が壊れる様子がわかる。また、 $x_{\text{DMSO}} = 0.3 \sim 0.6$ では大きな変化はなく、0.7~0.9 で変化する。一方、第一配位圏の構造は DMSO モル分率が変化しても大きく変化しない。Fig. 4 から、 $x_{\text{DMSO}} = 0.5$ 付近で DMSO の第一配位圏(3.0 ~ 5.2 Å)の分布が O 原子周りから S 原子周への分布に変化し始め、純 DMSO の構造に近づく様子が可視化されている。本研究結果は、 β シートが積層して形成されるアミロイド線維の安定化には、水の四面体類似構造の存在が不可欠であり、DMSO 添加により水の構造が壊れていくとアミロイド線維の積層構造が壊れていくことを示唆している。今後、DMSO・水二成分溶液中におけるアミロイド線維の MD シミュレーションを行い、アミロイド線維の溶解機構を分子レベルで明らかにすることが必要である。

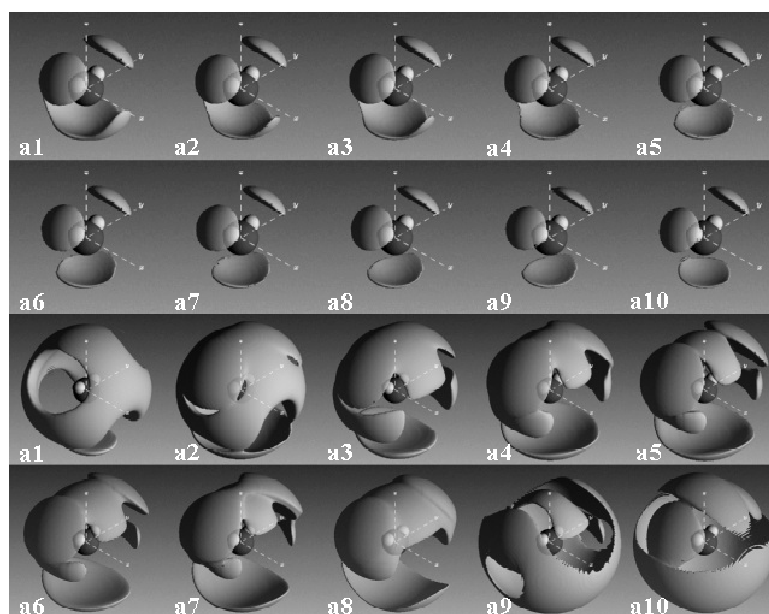


Fig.3 中心水分子まわりの隣接水分子の 3 次元分布図
上二段：第一配位圏(2.3 - 3.5 Å), 下二段：第二配位圏(3.5 - 5.5 Å)
a1: 純水, a2: $x_{\text{DMSO}}=0.1$, a3: $x_{\text{DMSO}}=0.2$, a4: $x_{\text{DMSO}}=0.3$,
a5: $x_{\text{DMSO}}=0.4$, a6: $x_{\text{DMSO}}=0.5$, a7: $x_{\text{DMSO}}=0.6$, a8: $x_{\text{DMSO}}=0.7$,
a9: $x_{\text{DMSO}}=0.8$, a10: $x_{\text{DMSO}}=0.9$

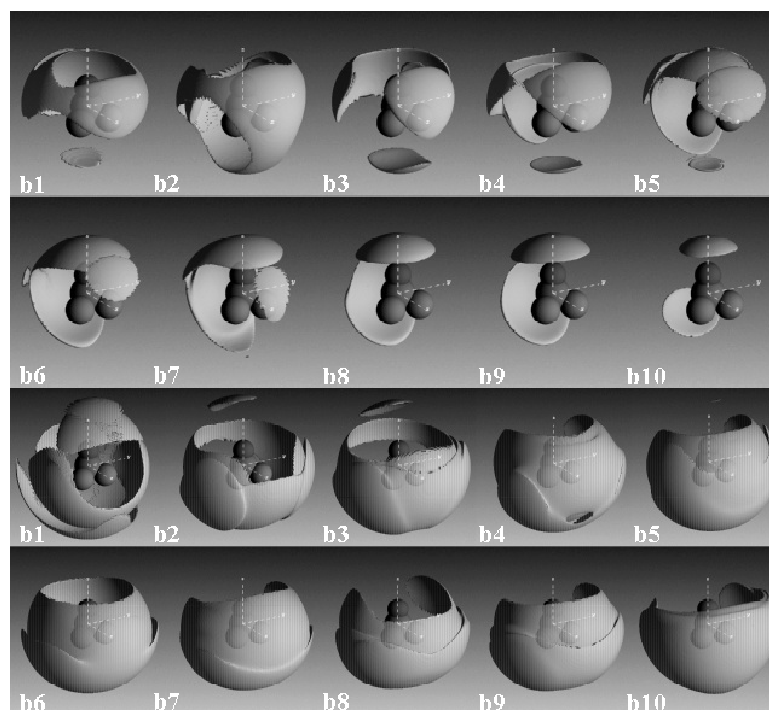


Fig.4 中心 DMSO 分子まわりの隣接 DMSO 分子の 3 次元分布図
上二段：第一配位圏(3.0 - 5.2 Å), 下二段：第二配位圏(5.2 - 7.0 Å)
b1: $x_{\text{DMSO}}=0.1$, b2: $x_{\text{DMSO}}=0.2$, b3: $x_{\text{DMSO}}=0.3$, b4: $x_{\text{DMSO}}=0.4$,
b5: $x_{\text{DMSO}}=0.5$, b6: $x_{\text{DMSO}}=0.6$, b7: $x_{\text{DMSO}}=0.7$, b8: $x_{\text{DMSO}}=0.8$,
b9: $x_{\text{DMSO}}=0.9$, b10: 純 DMSO

【文献】 [1] N, Hirota-Nakaoka, et al., *J. Biochem.* **134**, 159 (2003).