

逆ミセル中蛋白質の超高速分光

(原子力機構関西^{*}、京工織大物工^{**}、阪市大電物工^{***})村上 洋^{*}、西 孝樹^{*,**}、豊田 祐司^{*,***}、小野 正人^{*,**}

1. 序論

本研究の目的は蛋白質を逆ミセルというナノメートルスケールの微小水液滴に入れ、その液滴サイズを変えることにより、蛋白質及びその水和水のダイナミクスがどのように変化するかを調べることである。蛋白質分子は細胞などで機能を果たす。細胞中の蛋白質の周りの環境は、希薄蛋白質水溶液中の環境と異なると考えられる。その環境の一部は、水和水を含む蛋白質の周りの水の環境である。逆ミセル(図1)は $[水濃度]/[界面活性剤濃度](=w_0)$ を変化させることによりそのサイズを変えることが可能であり、水環境に依存した蛋白質のダイナミクスを調べるために適した系である。蛋白質の中性子非弾性散乱測定やテラヘルツ分光により、蛋白質内の原子集団の協同的運動が広範に調べられているが、水に起因した背景信号を避けるために、凍結乾燥試料など非液体試料の研究がほとんどである。逆ミセル溶液は溶媒が無極性であり、テラヘルツ電磁波の吸収は水に比べて格段に小さいため、テラヘルツ分光適用可能である。一方で、疎水ポケットをもつ蛋白質に色素分子を導入し、その蛋白質を逆ミセル中に入れた系の時間分解蛍光分光により、溶媒和過程の逆ミセルサイズ依存性を調べることができる。そこで、蛋白質逆ミセルのサイズを変えてテラヘルツ分光及び時間分解蛍光分光を行った。

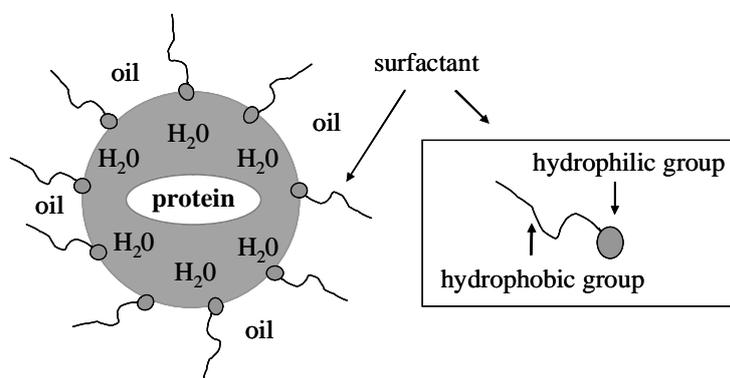


図1, 蛋白質逆ミセル模式図

2. 実験

逆ミセル試料の調製には、界面活性剤ジ-2-エチルヘキシルスルホコハク酸ナトリウム(AOT)、溶媒イソオクタンを用いた。テラヘルツ分光にはミオグロビン、時間分解蛍光分光にはクマリン色素を導入した牛血清アルブミン(BSA)を逆ミセル内に導入

した。テラヘルツ分光は、フェムト秒レーザーを用いた電気複屈折結晶 ZnTe 検出テラヘルツ時間領域分光法を用いた。一方、時間分解蛍光分光は、up-conversion 蛍光分光法と時間相関単一光子計数法を組み合わせフェムト秒からナノ秒にわたるダイナミックストークスシフトを観測した。

3. 結果と考察

図2は色素導入BSA逆ミセルの時間分解蛍光スペクトルのピーク位置の時間変化である。比較のために蛋白質を含まず色素分子のみを可溶化させた逆ミセルの同じ w_0 での結果を示す。すべての試料で、色素の溶媒和に起因した低エネルギー時間シフトが見られる。実線は5成分の指数関数フィットにより得られた。色素水溶液のエネルギー緩和は1ピコ秒以内にほぼ完了するのに対して、調べたすべての逆ミセル試料で緩和の時定数はサブピコ秒からナノ秒までに渡る。界面活性剤や界面活性剤に水和した水に起因するダイナミクスの時定数やエネルギー緩和量、蛋白質の効果や逆ミセルサイズ依存性についての知見が得られた。一方、逆ミセルを用いることにより、液体状態にある蛋白質のテラヘルツ吸収スペクトルがはじめて得られた。そして、スペクトル解析から w_0 と共に蛋白質及び水和水のテラヘルツ領域の運動が変化することが分かった。詳細は当日報告する。

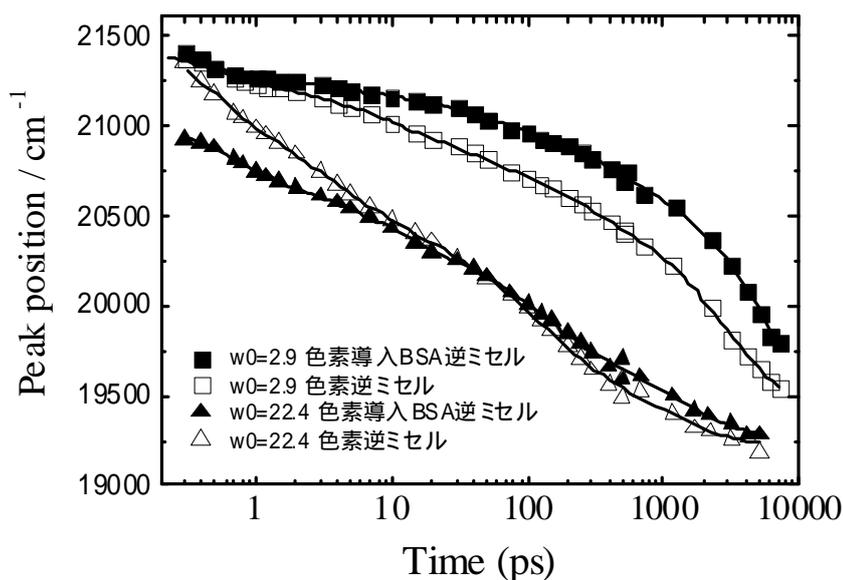


図2. 色素導入BSA逆ミセルの時間分解蛍光スペクトルのピーク位置の時間変化 (時間軸は対数表示)