

4A14

テラヘルツ時間領域分光法によるリゾチーム水溶液中の水和水の観測

(筑波大数理), 青木 克仁, 吉川 弘樹, 白木 賢太郎, 服部 利明

Observation of hydration water in lysozyme aqueous solution by terahertz time domain spectroscopy

(Univ. of Tsukuba) Katsuyoshi Aoki, Hiroki Yoshikawa, Kentaro Shiraki and Toshiaki Hattori

【序】

タンパク質の水和は、タンパク質が機能を発揮する上で重要な役割を果たすと考えられている。タンパク質分子の周りの水和水は、中性子散乱や NMR、X 線回折によって調べられてきた。これらの手法ではナノ秒オーダーの水分子の運動をみることができる。これによって観測できる水和水はタンパク質表面でタンパク質と直接的に強く相互作用する水分子である。その外側に接する水分子は、タンパク質表面で強く水和する水分子を介してタンパク質と間接的に弱く相互作用する水分子である。このような弱く水和する水分子を観測するためには、テラヘルツ分光などの電磁的な手法を用いることが有効であると考えられる。

テラヘルツ分光は、テラヘルツ領域（振動数：0.03 THz - 12 THz）の電磁波を用いる分光法である。水は、Debye 緩和モードにより、ギガヘルツからテラヘルツ領域の電磁波を強く吸収する。テラヘルツ領域における水の吸収係数 α は、水の総双極子モーメント \mathbf{M} の時間自己相関関数のフーリエ変換に比例する：

$$\alpha(\omega) \propto \int_0^{\infty} dt e^{i\omega t} \langle \mathbf{M}(0)\mathbf{M}(t) \rangle. \quad (1)$$

水和水とバルク水では、水分子の回転運動の速さが異なることから、 \mathbf{M} の時間自己相関関数が異なり、それに伴って吸収係数も異なる。

テラヘルツスペクトルから分かるものは、水和水の吸収とタンパク質分子自身の吸収との和である。水和水の状態を知るためには、水和水の吸収がどの程度あるかを知る必要がある。タンパク質水溶液に塩を加えると、タンパク質の水和水の状態は変化すると考えられる。特に、硫酸アンモニウムは、タンパク質を沈殿させる作用があることで知られ、タンパク質と水との相互作用に影響を与えていると考えられている。そこで本研究では、純水および、それにタンパク質または硫酸アンモニウムを加えた水溶液のテラヘルツ分光測定を行い、タンパク質の周りの水和水の動的性質について新たな知見を得た。

【実験】

測定試料はニワトリ卵白リゾチーム(HEWL)水溶液と純水、および、それらに硫酸アンモニウムを加えた水溶液である。HEWL 水溶液は、純水に HEWL 粉末を精製せずに溶かし、280 nm の吸光係数により濃度校正を行って作製した。HEWL の濃度は 202 mg/mL (14.1 mmol/L) とした。硫酸アンモニウムは、HEWL の沈殿が起こらない濃度とした。作成した試料は、厚さ 0.1 mm の自作の合成石英セルに水溶液を封入し、透過型のテラヘルツ時間領域分光法で測定した。テラヘルツ波は、チタンサファイアレーザー（波長 790 nm）からのフェムト秒光パルスを InAs 結晶の(111)面に 45 度で入射して発生させ、ZnTe 結晶を用いた電気光学サンプリング法で検出した。また、

水溶液中に含まれる水の量を調べるため、密度計を用いて水溶液の密度測定を行った。

【結果と考察】

図 1 に純水、HEWL202 mg/mL 水溶液、硫酸アンモニウム 0.25 mol/L 水溶液、および、HEWL 200 mg/mL 硫酸アンモニウム 0.25 mol/L 混合水溶液の吸収係数を示す。はじめに、純水と HEWL202 mg/mL 水溶液の結果について述べる。吸収係数は特徴的なピークを持たないブロードなスペクトルとなった。そして、純水の吸収係数のほうが HEWL 水溶液の吸収係数よりも大きい結果となった。水溶液の吸収係数スペクトルから、水溶液中の水のベースラインを引いたスペクトルを図 2 に示す。これは、水溶液中に含まれる水が全てバルク水と同様に振舞っていると仮定して算出したものである。得られたスペクトルは負となった。タンパク質の周りの水和水は、バルク水よりも動きが遅いため、式(1)より、吸収が小さくなると考えられる。従ってこの結果は、タンパク質自身の吸収よりも、バルク水と水和水との吸収の差のほうが大きいことを示している。

次に、硫酸アンモニウム 0.25 mol/L 水溶液、および、HEWL 200 mg/mL 硫酸アンモニウム 0.25 mol/L 混合水溶液の結果について述べる。硫酸アンモニウム水溶液の吸収係数は、わずかに純水の吸収係数よりも大きくなった。純水に硫酸アンモニウムが溶けると、その分水分子の量が減少する。従って、水の吸収のベースラインは減少すると考えられる。それにもかかわらず硫酸アンモニウム水溶液の吸収係数が増加するのは、硫酸アンモニウム自身の吸収または、その周りの水和水の運動がバルク水よりも激しくなるためであると考えられる。実際に、硫酸アンモニウムのスペクトルから水のベースラインを引くと正のスペクトルとなった (図 2)。HEWL 硫酸アンモニウム混合水溶液の吸収係数は、HEWL 水溶液の吸収係数よりも明らかに大きい。その差は、硫酸アンモニウムのスペクトルから水のベースラインを引いた値よりも 2 倍程度大きかった。従って、HEWL 水溶液に硫酸アンモニウムを加えたときの吸収の増加は、硫酸アンモニウム自身の吸収のほかに、HEWL の周りの水和水の運動が激しくなったこと、または、HEWL と硫酸アンモニウムとの相互作用が原因であると考えられる。

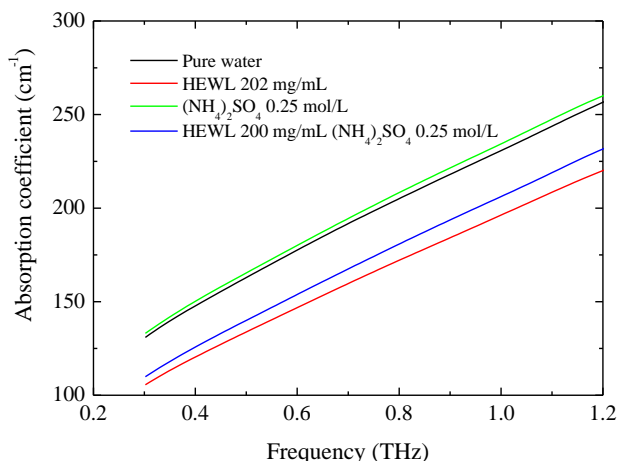


Fig. 1. Absorption coefficients of pure water (black), 202-mg/mL HEWL aqueous solution (red), 0.25-mol/L ammonium sulfate aqueous solution (green), and 200-mg/mL HEWL and 0.25-mol/L ammonium sulfate aqueous solution (blue).

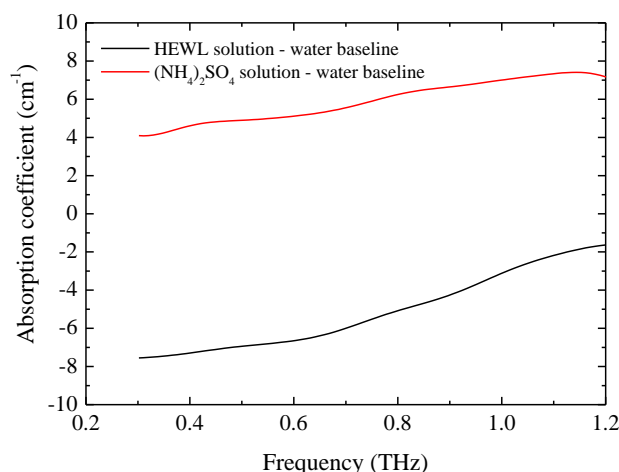


Fig. 2. Absorption spectra of 202-mg/mL HEWL aqueous solution (black) and 0.25-mol/L ammonium sulfate aqueous solution (red) subtracted by the baseline of water in each solution.