

4B17 X線反射率法によるタンパク質の界面吸着ダイナミクスの観測 V: ミリ秒計測を目指した測定系の飛躍的迅速化

(近畿大¹, 東京学芸大², 高工研-PF³, JASRI SPring-8⁴)

○矢野陽子¹, 荒川悦雄², Voegeli Wolfgang³, 松下正³, 宇留賀朋哉⁴

生体が物質を認識する、ということは、物質表面にタンパク質が吸着することによって起こる。また、人工組織や生体物質を使った新しい機能性材料の開発など、医学的および技術的応用の両面においても生体物質と界面の相互作用を知ることは非常に重要である。我々はこれまで X 線反射率法をもちいてタンパク質の界面吸着過程を分オーダーの時間分解能で観測し、界面変性のメカニズムについて考察してきた。しかしながら、分オーダーの時間分解能では、測定対象が限られていた。今回は、新しい測定系を使って 1 秒の時間分解能を達成したので報告する。

1. 序論

タンパク質が気液界面に吸着平衡に到達するまでの時間は、タンパク質によって様々であり、数秒から数日に渡ることが知られている。一般に、タンパク質の表面疎水性が高く、構造安定性の低いものほど吸着速度が速い。図 1 は同じ濃度（混合後の濃度は 0.07mM）の球状の 3 つのタンパク質 (LSZ: lysozyme, BSA: bovine serum albumin, β -LG: β -lactoglobulin) の表面圧の変化を示したものであるが、リゾチームは数時間かかるのに対し、BSA や β -ラクトグロブリンでは数分で吸着平衡に達してしまう [1]。

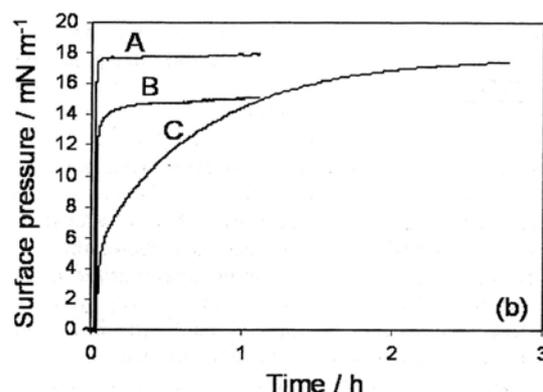


図 1 表面圧の時間変化 [1]
 β -LG (A), BSA (B), LSZ (C)

X 線反射率法は、X 線の全反射現象を利用した界面の構造解析手法である。界面深さ方向の電子密度分布をサブナノメートルオーダーの分解能で観測できることから、表面に吸着したタンパク質の 3 次構造に関する構造を得ることができ、2 次構造を観測する振動分光法とは相補的な実験手法である。これまで我々は SPring-8 の溶液界面反射率計を用いてリゾチーム (LSZ) の気液界面吸着過程を 3 分の時間分解能で観測してきた [2]。一方、もっと吸着速度の速いタンパク質について観測するためには、時間分解能を上げる必要がある。そこで今回は、現在開発中の『波長・角度同時分散型時分割 X 線反射率計 [3]』を用いて、様々なタンパク質の気液界面吸着過程を 1 秒の時間分解能で計測することに成功したので報告する。

2. 実験装置

X 線反射率測定では界面での鏡面反射強度の散乱ベクトル $q (= 4\pi \sin \alpha / \lambda, \lambda$ は X 線の波長)

依存性を測定することにより、表面深さ方向の密度分布を得ることができる。X線の波長を固定し入射角度を走査する角度走査法が一般的であるが、角度走査型の回折計では、たとえ放射光を光源に用いたとしても、メカニカルな動作時間が律速となって、少なくとも3分程度の測定時間を要してしまう。本研究で新たに用いた『波長・角度同時分散型時分割X線反射率計[3]』は、測定中にメカニカルな動作を伴わないため、迅速な測定を行うことができる。図2に測定系の概略図を示す。広い散乱ベクトル q の範囲にわたる反射率曲線プロファイルと同時に迅速に測定することを可能とするために、Siの薄板結晶を水平方向には彎曲させ鉛直方向には捻ったポリクロメータを用いて λ と α を同時に変化させている。

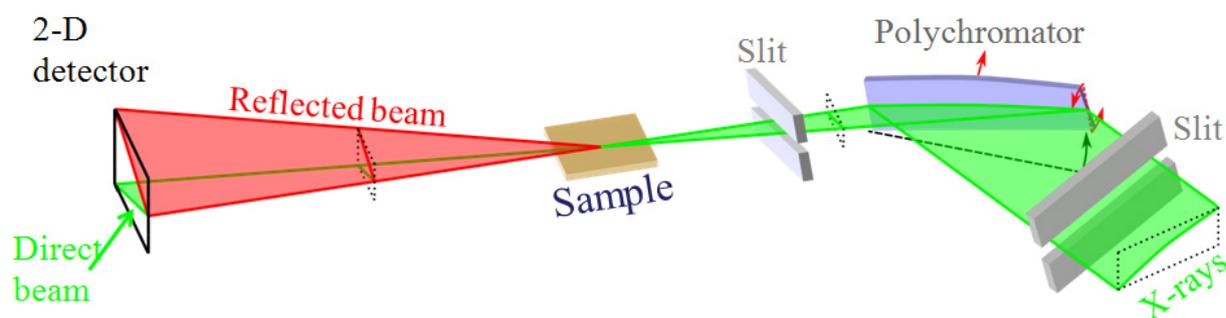


図2 波長・角度同時分散型時分割X線反射率計

この装置を高エネルギー加速器研究機構の放射光科学研究施設 PF-AR に設置して 15.4nm の金薄膜の測定を行ったところ、その厚さの効果による干渉パターン (Kiessig フリンジ) が観察された。測定時間 0.1 秒のものでも、Kiessig フリンジは十分な S/N で観測されていることが確認できている (図3、[4])。タンパク質の気液界面吸着過程についての結果は、当日報告する。

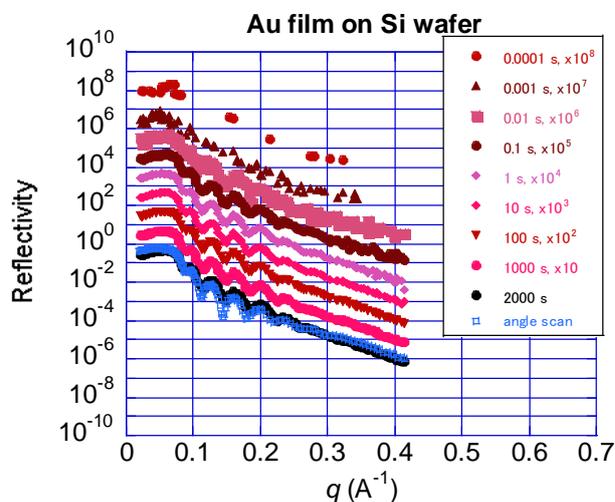


図3 15.4nm の金薄膜のX線反射率曲線

参考文献

- [1] M. D. Lad, *et al.*, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **8**, 2179-2186 (2006)
- [2] Y. F. Yano, *et al.*, *Langmuir*, **25**, 32-35 (2009); *J. Phys. Chem. Lett.*, **2**, 995-999 (2011)
- [3] 松下 正、JST 先端計測分析技術・機器開発プログラム「波長角度同時分散型時分割X線反射率計の開発」(開発期間 H22-25)
- [4] 荒川悦雄ら、日本放射光学会第25回年会発表(2012年1月)