

1P084

2, 2, 2-トリフルオロエタノール水溶液のゆらぎと タンパク質の二次構造への効果

(千葉大院・融合) ○大木 裕代, 今村 比呂志, 森田 剛, 西川 恵子

Fluctuation in 2,2,2-trifluoroethanol aqueous solution and its effects on proteins' secondary structures

(Chiba Univ.) ○Hiroyo Ohgi, Hiroshi Imamura, Takeshi Morita, Keiko Nishikawa

【序】アルコールは、タンパク質の α -ヘリックス形成を誘導する。特にトリフルオロエタノール (TFE)はこの効果が大きく、メタノールやエタノールよりも低濃度で α -ヘリックスの形成を誘導することが知られている¹⁾。従って TFE の効果については、溶媒の極性低下のみで説明がつかず、TFE 水溶液の微細構造が注目された。過去の小角 X 線散乱 (Small-angle X-ray Scattering, SAXS) 実験において TFE 水溶液による強い散乱が観測され、溶液中に TFE のミセル様のクラスターが形成すると解釈された^{1,2)}。TFE のタンパク質への効果が大いことは、このクラスターがタンパク質に局所的な非極性環境を与えるためと考えられている^{1,2)}。我々は TFE 水溶液の混合状態や各分子種間の相互作用について、より定量的に議論するために、SAXS の更なる実験・解析を行い、ゆらぎ³⁾を決めた。ゆらぎは溶液の混合状態の不均一さを定量的に表現する物理量である。そして、TFE 水溶液のゆらぎとタンパク質の構造変化の関連性について考察した。

【実験】TFE のモル分率 (c_A) が 0-0.37 の TFE 水溶液の SAXS を測定した。装置は Anton Paar 社製の Kratky 型光学系を用いた SAXSess を使用した。X 線は、波長 1.54 Å の Cu K α 線を使用した。検出器はイメージングプレートを使用した。セルは、直径 1 mm の石英キャピラリーセルを使用した。温度は 25.0 °C に設定し、15 分間露光した。

また、 c_A が 0-0.50 の TFE 水溶液中のリゾチームの円偏光二色性 (CD) 分光測定を、JASCO 製 J-805 と光路長 1 cm の石英セルを用いて室温にて行い、波長 222 nm における平均残基モル楕円率 ($[\theta]_{222}$) を得た。これは、タンパク質の α -ヘリックス形成量を反映する。

【結果と考察】得られた散乱プロファイルから、散乱強度の散乱角 0 度への外挿値 $I(0)$ を関数フィッティングにより求めた。 $I(0)$ の c_A 依存性を図 1 に示す。 $I(0)$ は $c_A \sim 0.14$ で最大になった。これは既報の SAXS 実験¹⁾の結果と同様の傾向である。

$I(0)$ は、密度ゆらぎ $S_{NV}(0)$ 、濃度ゆらぎ $S_{CC}(0)$ 、相関項 $S_{NC}(0)$ の情報を含み、次式で表される。

$$I(0)/N = (c_\alpha Z_\alpha + c_\beta Z_\beta)^2 S_{NV}(0) + (Z_\alpha - Z_\beta)^2 S_{CC}(0) + 2(c_\alpha Z_\alpha + c_\beta Z_\beta)(Z_\alpha - Z_\beta) S_{NC}(0)$$

(N :系中の分子数, c :モル分率, Z :一分子中の電子数)
(下付きの α, β :分子種)

$S_{NV}(0)$ と $S_{NC}(0)$ は、 $S_{CC}(0)$ と熱力学量 (部分モル体積・等温圧縮率) の関数となっているため、 $I(0)$ とこれら熱力学量がわかれば $S_{NV}(0)$ 、 $S_{CC}(0)$ 、 $S_{NC}(0)$ を計算できる^{3,4)}。これらの c_A 依存性を図 2 に示す。 $S_{NV}(0)$ は $c_A \sim 0.14$ にピークを持つ。 $S_{CC}(0)$ は $c_A \sim 0.2$ にピークを持つ。 $S_{NV}(0)$ は $S_{CC}(0)$ に対して

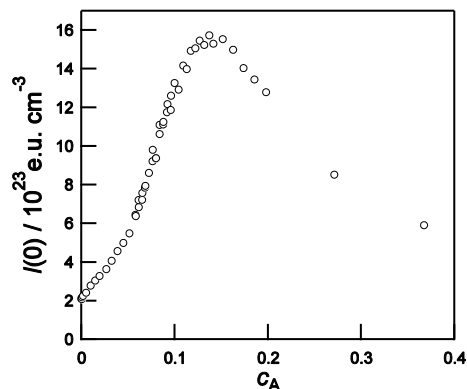


図 1: $I(0)$ の c_A 依存性

値が大きいことから、 $I(0)$ の値に大きく寄与していると考えられる。

Kirkwood-Buff のパラメータは $G_{\alpha\beta} = \int [g_{\alpha\beta}(r) - 1] 4\pi r^2 dr$ と定義されており、成分 α の 1 個の分子の周りに存在する成分 β の分子の分布について、均一な分子分布と比較した過剰量を表す $^5)g_{\alpha\beta}(r)$ は動径分布関数である。 G_{AA}, G_{WW}, G_{AW} を、 $S_{NN}(0), S_{CC}(0), S_{NC}(0)$ を用いて計算した $^6)$ (下付きの A は TFE, W は水を表す)。これらの c_A 依存性を図 3 に示す。図 3 から TFE 分子の周りには TFE 分子が、水分子の周りには水分子が存在しやすくなっていることがわかる。 G_{AA}, G_{WW} のピーク位置はそれぞれ $c_A \sim 0.11, c_A \sim 0.20$ となっており、TFE 分子同士、水分子同士で特に親和性の高い濃度領域が異なった。

$\rho_\alpha G_{\alpha\beta}$ を計算すると、各成分の密度ゆらぎが得られる $^7)$ 。 ρ_α は成分 α の数密度である。 $\rho_\alpha G_{\alpha\beta}$ の c_A 依存性を図 4 に示す。 $c_A = 0.14$ の周辺で TFE 分子の分布も水分子の分布も不均一さを持つ。この位置は、 $I(0)$ や $S_{NN}(0)$ のピーク位置とも一致する。水分子の密度ゆらぎは TFE 分子のそれの約 3 倍大きい。 $c_A \sim 0.14$ では TFE 分子のダイナミッククラスターが形成しているとされていたが、我々はこれによる不均一さを、TFE 分子と水分子それぞれのゆらぎとして定量化して捉えた。

図 4 に、CD で測定したタンパク質の α -ヘリックス形成量 ($[\theta]_{222}$) の c_A 依存性を重ねた。これらは、実測したリゾチームのデータと文献中の β -ラクトグロブリンのデータである。リゾチームの $[\theta]_{222}$ は TFE の密度ゆらぎが大きい濃度領域で増加する。 β -ラクトグロブリンの $[\theta]_{222}$ はより低濃度領域で増加する。低濃度領域では、ゆらぎ以外の効果がタンパク質に及んでいると考えられ、この濃度領域は注目に値する。低濃度における TFE の効果について検討することが今後の課題である。

【参考文献】

- 1) Hong *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **121**, 8427 (1999).
- 2) Kuprin *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **217**, 1151 (1995).
- 3) Bhatia and Thornton, *Phys. Rev. B.* **2**, 3004 (1970).
- 4) Nishikawa *et al.*, *J. Phys. Chem.* **91**, 3694 (1987).
- 5) Kirkwood and Buff, *J. Chem. Phys.* **19**, 774 (1951).
- 6) Nishikawa, *Chem. Phys. Lett.* **132**, 50 (1986).
- 7) Nishikawa *et al.*, *J. Phys. Chem.* **93**, 6559 (1989).

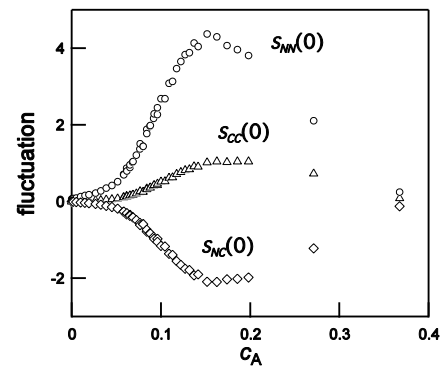


図 2：ゆらぎの c_A 依存性

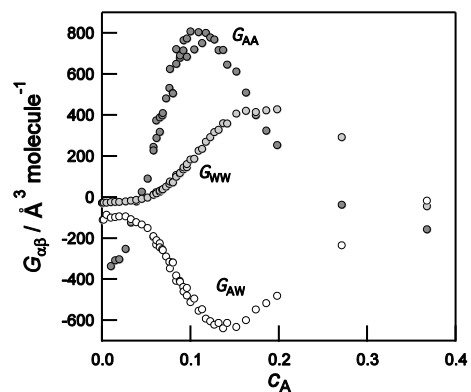


図 3：Kirkwood-Buff のパラメータの c_A 依存性

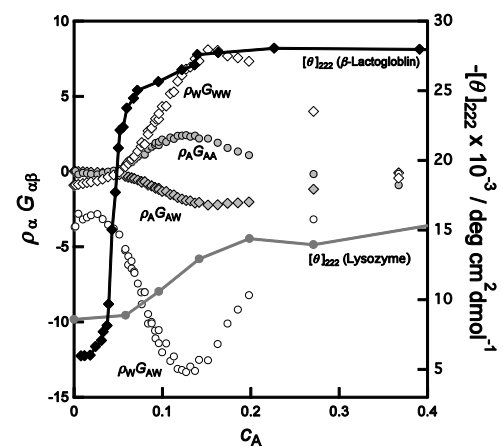


図 4：各成分の密度ゆらぎとタンパク質の $[\theta]_{222}$ の c_A 依存性