## 3C05

## X線非弾性散乱による水和ポリペプチドの集団ダイナミクス測定

(福岡大理<sup>1</sup>,熊本大院自然<sup>2</sup>,理研<sup>3</sup>)○吉田 亨次<sup>1</sup>,山口 敏男<sup>1</sup>,細川 伸也<sup>2</sup>,Baron Alfred Q.R.<sup>3</sup> Collective dynamics of hydrated polypeptides

## by inelastic X-ray scattering

(Fukuoka University<sup>1</sup>, Kumamoto University<sup>2</sup>, RIKEN<sup>3</sup>)

## Koji Yoshida<sup>1</sup>, Toshio Yamaguchi<sup>1</sup>, Shinya Hosokawa<sup>2</sup>, Alfred Q. R. Baron<sup>3</sup>

【はじめに】 タンパク質の運動は階層性を持つことが知られており、タンパク質の機能と直接関係があるドメイン運動(ナノ秒からマイクロ秒の時間スケール)から分子間相互作用に基づ くタンパク質の側鎖および水和水分子の振動、回転運動(ピコ、フェムト秒の時間スケール)ま で幅広い。これら両者のダイナミクスを結び付けるモデルが提唱されており[1]、タンパク質の機 能発現を分子科学的に説明するためには後者のダイナミクスの観測が重要であると考えられる。

近年、中性子散乱[2,3]、NMR[4]、テラヘルツ分光[5]などにより、水和タンパク質のダイナミ クスが測定され、タンパク質のガラス転移に代表される動的転移が見出されている。中性子散乱 では単一粒子運動の情報が得られ、そこには直接的な構造情報を含んでいない。水和タンパク質 の構造と運動に関するより詳細な議論のためには、干渉性散乱を測定して分子の集団ダイナミク スを明らかにすることが望まれる。

本研究では水和ポリペプチドの高分解能X線非弾性散乱測定を300K~180Kの範囲で行った。

これまでに、リゾチームなど水和タンパク質の 集団ダイナミクスが測定[6-8]されており、本研 究の結果と比較を行い、水和ポリペプチドの集 団ダイナミクスの動的転移について議論した。

【実験】試料はポリグリシンならびにポリリ シン粉末を用いた。ポリリシンは水溶液中でラ ンダム構造(中性溶液)、あるいはヘリックス構 造(塩基性溶液)をとる。ポリリシン粉末を純 水に溶解し、pH=12 に調整したのちに、凍結 乾燥させた試料をヘリックス状態のポリリシ ン粉末とした。一方、pH=7 で調製したポリリ シン粉末をランダム状態の試料とした。

水の飽和蒸気圧下で乾燥ポリペプチド粉末 を放置することにより水和ポリペプチドを得 た。水和率(乾燥ポリペプチド1gに対する水 のグラム量)は0.4である。

高分解能X線非弾性散乱測定は BL35XU(SPring-8)で実施した。測定した波数



Fig. 1. IXS spectra of wet and dry helical poly-L-lysine at Q = 24.1 nm<sup>-1</sup> and 300 K

ベクトル *Q*の範囲は 20 - 28 nm<sup>-1</sup>である。エネルギーの範囲は±30 meV で 2 から 3 回の掃引を 繰り返した。測定温度は室温から 180 K までである。セルは単結晶サファイアを用いた。同一試 料では個々のスキャンにおけるスペクトルの有意の変化はなく、X線照射による試料の損傷の可 能性は少ないと考えられる。plexiglas の散乱も測定し、装置の分解能関数とした。

【結果および考察】吸収補正後の試料の散乱から空セルの散乱を差し引いた。Fig. 1 に乾燥なら びに水和状態のポリリシン(ヘリックス)粉末の IXS スペクトル *S*(*Q*, *ω*)を示した。一番下は分 解能関数である。*S*(*Q*, *ω*)の解析には以下の Damped Harmonic Oscillator (DHO)モデルを使用し た。

$$S(Q,\omega) = \frac{\hbar\omega/k_BT}{1 - \exp(-\hbar\omega/k_BT)} \left[ \frac{A_0}{\pi} \frac{\Gamma_0}{\Gamma_0^2 + \omega^2} + \frac{A_Q}{\pi\hbar/k_BT} \frac{4\omega_Q\Gamma_Q}{(\omega^2 - \Omega_Q^2)^2 + 4\omega^2\Gamma_Q^2} \right]$$

ここで、 $\omega_{q} = \sqrt{\Omega_{q}^{2} - \Gamma_{q}^{2}}$ である。 $A_{0} \ge \Gamma_{0}$ は中心のローレンツ関数の強度と半値半幅で、 $A_{q}, \Omega_{q}, \Gamma_{q}$ はそれぞれ DHO 成分の強度、励起エネルギー、半値半幅である。

Fig. 2 に DHO エネルギーの分散関係を示した。180 K では、乾燥試料と水和試料の DHO エネ ルギーの差は小さいが、300 K では、ポリリシン(ランダム状態、ヘリックス状態とも)について、 水和試料のほうが乾燥試料よりも DHO エネルギーが小さい結果が得られた。これはリゾチーム などで見られる phonon energy softening(生理学的温度で水和タンパク質の柔軟性が増大するこ と)と同一の現象である[8]。一方、ポリグリシンでは、300 K において乾燥試料よりも水和試料の

ほうが DHO エネルギーが高くなった。このこ とから、phonon energy softening はタンパク 質の主鎖よりも側鎖が原因となっていること が示された。

また、DHO エネルギーに対する水和の効果 が180 Kよりも300 Kにおいて顕著になるこ とは、中性子準弾性散乱などで見られるタンパ ク質のガラス転移と同様に動的転移の一種で あると考えられる。

[1] H. Frauenfelder, et al., IUBMB Life **59**, 506-512
(2007). [2] W. Doster, et al., Nature **337**, 754-756
(1989). [3] H. Nakagawa et al., J. Phys. Soc. Jpn. **79** (8), 083801-1-4 (2010). [4] A. Mittermaier, et al., Sience, **312** 224-228 (2006). [5] S. Kawaguchi, et al., Phys. Chem. Chem. Phys. **12**, 10255-10262
(2010). [6] D. Liu, et al., Phys. Rev. Lett. **101**, 135501-1-4 (2008). [7] K. Yoshida, et al. J. Chem. Phys. **133**, 134501-1-7 (2010). [8] Z. Wang, et al., J. Phys. Chem. B **117**, 1186–1195 (2013).



Fig. 2. Q dependence of DHO energy for dry and hydrated polypeptides