

X線回折で観測される水和アクチンの動的転移

¹福岡大理, ²JASRI/SPring-8

○吉田亨次¹, 山口敏男¹, 内山裕士², 筒井智嗣²

Dynamic transition of hydrated actin filament investigated by X-ray scattering

○Koji Yoshida¹, Toshio Yamaguchi¹, Hiroshi Uchiyama², Satoshi Tsutsui²

¹Department of Chemistry, Fukuoka University, Japan

²Research and Utilization Division, Japan Synchrotron Radiation Research Institute, SPring-8, 1-1-1 Kouto, Sayo-cho, Sayo-gun, Hyogo, 679-5198, Japan

【Abstract】 Structure and dynamical properties of the hydrated actin filament (F-actin) were revealed by X-ray diffraction and inelastic X-ray scattering (IXS) in a temperature range of 180 – 298 K, respectively. The peaks in the radial distribution function of the hydrated F-actin were assigned by MD simulation for F-actin in water. Although hydration water of F-actin does not freeze, the tetrahedral-like structure of hydration water becomes enhanced with decreasing temperature, which is similar to the results of many hydrated proteins. By measuring the IXS spectra of hydrated F-actin, the intensity and the energy of the collective excitation were investigated as a function of temperature. The phonon energy softening and phonon population enhancement took place only at room temperature as found for hydrated lysozyme, which could be related to the conformational flexibility of the protein regarding the intraprotein short-time collective vibrational motions.

【序】 タンパク質の動的転移とはタンパク質の原子運動において約 230 K 以上で非調和性が生じ、振動運動の振幅が増大する現象である。この現象は水和タンパク質でのみ観測され、乾燥タンパク質では見られないことからタンパク質の運動や機能に対する水の役割との関連から興味深い現象である。タンパク質の動的転移はピコ秒程度の単一粒子運動で観測されたが、フェムト秒程度の集団ダイナミクスでも観測されている [1]。タンパク質の動的転移は多くの球状タンパク質で観測されているが、多量体タンパク質を対象にした研究は少ない。本研究ではアクチンフィラメント(F-アクチン)を対象にし、X線非弾性散乱により集団ダイナミクスの動的転移を調べた。また、水和構造との関連を議論するために、水和 F-アクチンの X線回折も測定した。

【実験方法】 ウサギ筋肉アセトンパウダーより抽出・精製した F-アクチンペレットを乾燥させ、乾燥 F-アクチン粉末を得た。そして、水の飽和蒸気圧下で放置することにより水和 F-アクチンを得た。水和率（乾燥 F-アクチン 1 g に対する水のグラム量）は 0.4 である。乾燥ならびに水和 F-アクチン粉末試料について、イメージングプレート X線回折装置（リガク）で X線散乱を測定した。動径分布関数法を本試料に適用することにより、298 K から 170 K の温度範囲で水和アクチンの動径分布関数を得た。得られた値には水と水と F-アクチン分子からの散乱の両方が寄与しているため、MD シミュレーションにより、動径分布関数の帰属を行い、水分子同士ならびに F-アクチン-水分子間の水素結合に関する情報を得た。

高分解能 X線非弾性散乱測定は BL35XU(SPring-8)で実施した。測定した波数ベクトル Q の範囲は 2 - 16 nm⁻¹ 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 298 K 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。PMMA アクリル樹脂からの散乱も測定し、装置の分解能関数とした。

【結果および考察】乾燥ならびに水和状態の F-アクチンの動径分布関数を Fig. 1 に示した。乾燥 F-アクチンの動径分布関数では、0.15 nm、0.24 nm、0.5 nm の位置にピークが見られた。0.5 nm のピークは F-アクチンの 2 次構造に相当する。水和状態では 0.32 nm のショルダーが見られ、0.4 nm と 0.5 nm の位置にピークが見られた。MD 計算の結果から、0.32 nm のショルダーは F-アクチンの O, N 原子と水和水分子の相互作用で、0.4 nm のピークは F-アクチンの C 原子と水和水分子の相互作用であることが明らかになった。また、0.5 nm のピークは F-アクチン O, N 原子と水和水第 2 配位圏あるいは水分子の第 2 配位圏等に相当する。これらのピークは温度が低下するに従い、鋭くなり、F-アクチンの水和構造が低温で強化されていることがわかった。しかし、氷形成による Bragg ピークが観測されず、水和水は不凍水であることが明らかになった。

水和状態の F-アクチン粉末の IXS スペクトル $S(Q, \omega)$ の解析には以下の Damped Harmonic Oscillator (DHO) モデルを使用した。

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

A_0 と Γ_0 は中心のローレンツ関数の強度と半値半幅で、 A_Q , Ω_Q , Γ_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 強度の Q 依存性を示した。298 K においてのみ、 $Q \sim 7 \text{ nm}^{-1}$ 以下において DHO 強度が大きくなった。これはリゾチームなどで見られる phonon population の増大(生理学的温度で水和タンパク質の振動運動が増大すること)と同一の現象である[3]。DHO 強度の増加は小さな Q の領域において見られることから、水和水分子の集団運動が関与していることが示唆された。

【参考文献】

- [1] W. Doster, et al., Nature 337, 754-756 (1989).
- [2] K. Yoshida, et al., J. Chem. Phys. 133, 134501-1-7 (2010).
- [3] Z. Wang, et al., J. Phys. Chem. B 117, 1186-1195 (2013).

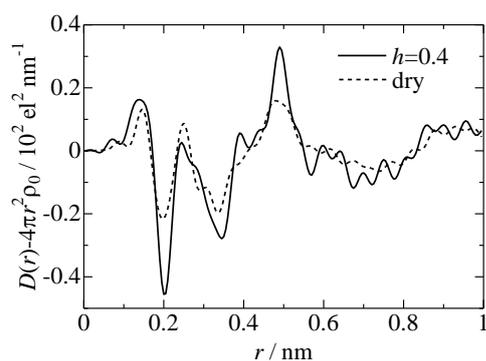


Fig. 1. Radial distribution functions for dry and hydrated F-actin ($h=0.4$) at 298 K.

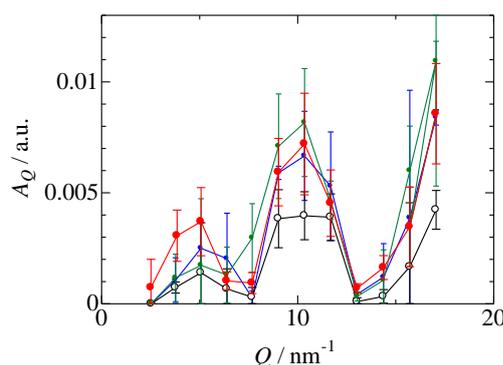


Fig. 2. Q dependence of DHO intensities for hydrated F-actin. Red, filled, open, and blue circles indicate the values at 298 K, 260 K, 220 K, and 180 K, respectively.