



## ミオグロビン吸着メソポーラスシリカの小角 X 線散乱測定

木島 惇<sup>1</sup>, 山口 央<sup>2</sup>

<sup>1</sup>茨城大学大学院理学研究科, <sup>2</sup>茨城大学理学部

### 1. 背景と研究目的

メソポーラスシリカ (MPS) は、界面活性剤ミセルを鋳型として合成される均一メソ多孔体であり、細孔構造・サイズの均一性から機能性タンパク質の機能を長期利用するためのホスト材として期待されている。これまでに、MPS 細孔内に閉じ込められた様々なタンパク質について、水溶液系と比べて飛躍的なタンパク質機能の長期安定化が報告されているが、細孔内タンパク質の高次構造は分かっているために長期安定化機構は不明であった。タンパク質と MPS の複合体は、バイオセンサーやドラッグデリバリーシステム、燃料電池、光エネルギー変換システムへの展開が期待されており、安定化機構の解明が望まれている。

このような中、著者らはミオグロビン (Mb) をモデルタンパク質として、Mb を MPS 細孔内に閉じ込めた複合体 (Mb-MPS) の SANS 測定から Mb の球状構造と配列状態の観察を進めている。SANS の特徴としては、コントラストマッチング法を利用して MPS の散乱を抑え、細孔内 Mb からの SANS プロファイルを選択的に取得することにこれまで成功している。本研究では、実験に用いている Mb の球状構造を希薄水溶液系で確認すること、および Mb-MPS の SAXS, SANS プロファイルの比較検討を目的として実験を行った。

### 2. 実験内容

鋳型重合法により MPS 粒子を作製し、窒素吸着測定などから構造評価を行った。作製した MPS はヘキサゴナルに配列した円筒状細孔を有し、その細孔径は 4.0 nm である。この MPS 粒子を Mb 水溶液に添加して、攪拌することで細孔内に Mb を吸着させた。今回準備した試料では、細孔内体積の 28% を Mb が占めている。あいちシクロトロン光センターの BL8S3 では、以下の試料について SAXS 測定を行った。なお、全ての試料は hilgenberg 社製のリンデンマンガラスキャピラリーチューブ (内径 2 mm) に封入して測定に供した。

- ① Mb 水溶液 (Mb 濃度が 1.0 mg/mL, 溶媒は重水)
- ② Mb 水溶液 (Mb 濃度が 4.27 mg/mL, 溶媒は重水)
- ③ MPS (重水に懸濁)
- ④ Mb-MPS (重水に懸濁)

### 3. 結果および考察

Fig. 1 に重水に分散させた Mb (試料①, ②) の SAXS プロファイルを示す。プロファイルはバックグラウンド、透過率などの補正をしたものである。得られたプロファイルは球状 Mb の構造を反映したものであり、基本的に分子間相互作用 (構造因子) の寄与が無視でき、球状構造 (形状因子) のみで記述することができた。球状を仮定した解析から得られた半径は 2.1 nm であり、この値は文献値 (2.06 nm) と良く一致していた [1]。著者らは、Mb 濃度が高い (10 mg/mL 以上) 試料の SANS プロファイルでは、構造因子の寄与が大きいことを確かめている。そこで、SAXS 測定で得られた Mb の形状因子を用いて、SANS 測定結果の解析

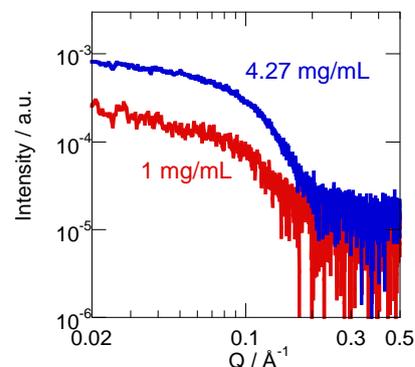


Fig. 1 重水に分散させた Mb の SAXS プロファイル

を進める予定である。

今回用いた MPS は、細孔径が 4.0 nm であり (Fig. 2 (A)), ヘキサゴナル細孔構造由来する Bragg 回折ピークが  $0.1 \sim 0.4 \text{ \AA}^{-1}$  の範囲に観測された (Fig. 3)。この MPS 由来の X 線散乱強度は Mb に比べて極めて強く, Mb を高濃度に吸着させた Mb-MPS (Fig. 2(B)) の SAXS プロファイルは未吸着のものほとんど変わらなかった。一方, 同様の試料で SANS 測定を行っているが, SANS では重水素の散乱長密度が比較的大きいため, Mb の散乱長密度が大きく, MPS の散乱と Mb の散乱の和として記述される。また, 重水と軽水の比率を調整して溶媒とシリカのコントラストを等しくしたコントラストマッチング条件においては, Mb のみの SANS プロファイルが得られた。

一般のメソポーラスシリカではシリカ細孔壁にマイクロ孔 (2 nm 以下の極微小な空隙) が存在し, このマイクロ孔への物質吸着は SAXS プロファイルを変化させる。今回の測定において Mb 吸着の有無により SAXS プロファイルおよび強度がほとんど変化していないことから, Mb の大部分がメソ細孔に存在し, Mb サイズ (直径 4.2 nm) より小さなマイクロ孔には吸着していないことが示唆された。

#### 4. 今後の課題

今回測定した SAXS 測定結果と SANS 結果を踏まえて, Fig. 1 に示す SAXS プロファイルから測定に使用した Mb の形状因子を算出し, コントラストマッチング条件での SANS プロファイルから MPS 細孔内 Mb の構造と配列状態を解析していく予定である。

#### 5. 参考文献

[1] S. Longeville, W. Doster, G. Kali, *Chem. Phys.*, **292**, 413 (2003).

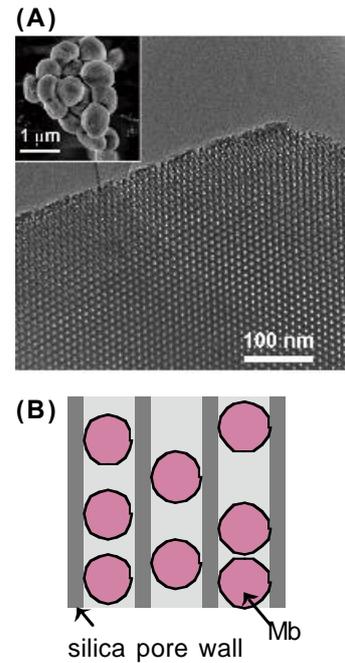


Fig.2 (A)用いた MPS の TEM および SEM 像, (B)MPS 細孔に吸着した Mb の模式図

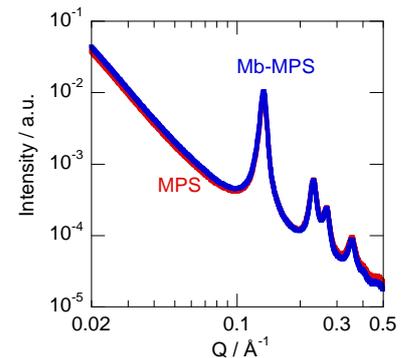


Fig. 3 重水に分散させた MPS および Mb-MPS の SAXS プロファイル