



小角散乱を用いたタンパク質担持材料の評価

紋川亮，木下真梨子
東京都立産業技術研究センター

キーワード：金属有機構造体，タンパク質

1. 背景と研究目的

金属有機構造体（Metal Organic Framework：MOF）は、金属と有機リガンドが相互作用することで、従来の多孔質体をはるかに超える高表面積を持つ物質であり、ガス吸着や分離技術、センサーや触媒などへの応用が期待されている三次元マイクロポーラス材料である。最近の研究により、MOF 内部にタンパク質を担持させることで耐熱性、耐薬品性を向上させる機能を有していることが報告されている。MOF 結晶内部にタンパク質が担持されているかを確認する手段として、蛍光標識したタンパク質の顕微鏡観察、タンパク質の活性評価等がある。しかし、これらの手法では MOF とタンパク質が混合した状態と、結晶内部にタンパク質が導入された複合体の状態とを区別することが困難である。結晶内部にタンパク質が複合化している状態を確認する方法として、結晶内部のタンパク質と結晶の密度差を利用した小角散乱（Small Angle X-ray Scattering：SAXS）が報告されている^[1]。今回の実験では、当センターで作製したタンパク質担持 MOF について詳細な構造を確認することを目的に、タンパク質担持 MOF の小角散乱測定をあいちシンクロトロン光センターで行った。

2. 実験内容

3 種類の MOF（ZIF-8、MIL-53、Zn(bpdc)）は、金属イオンと有機リンカーの水溶液を混合して作製した。また、タンパク質担持 MOF は、タンパク質を有機リンカーの水溶液に溶解し、金属イオン水溶液と混合することで作製した。作製したタンパク質担持 MOF は、界面活性剤で洗浄後、測定に供した。小角散乱測定の条件は、測定波長：1.5 Å、測定検出器：R-AXISIV++、測定時間：60 sec、測定カメラ長：3976.314 mm であった。

3. 結果および考察

Fig.1 に MIL-53 及びタンパク質担持 MIL-53 のギニエプロットを示す。ギニエプロットとは、タンパク質の大きさを測定する際に用いられる手法である^{[1]、[2]}。散乱ベクトル Q の 2 乗に対する $\ln\{I(Q)\}$ （強度の自然対数）のプロットの低角領域（ $Q < 1/R_g$ 、 R_g ：散乱体の慣性半径）における直線近似から慣性半径 R_g が求まる。タンパク質の大きさは 20 nm 以下であるため、 $Q^2 < 0.0025$ の範囲で直線近似を行った。傾きは $-R_g^2/3$ で定義されるが、結晶内部の散乱因子はタンパク質以外にも含まれるため、バックグラウンドとして MOF 単体の傾きを求め、タンパク質担持 MOF の傾きから差し引くことで、タンパク質由来の散乱を求めることとした。

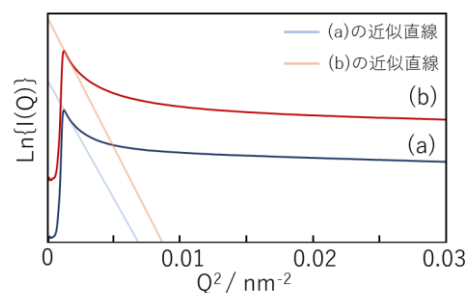


Fig.1 ギニエプロット
(a) MIL-53、(b)タンパク質担持 MIL-53

MIL-53 の場合は、タンパク質担持体に慣性半径 $R_g=18$ nm の散乱体による傾きの増加が確認できた。ZIF-8、Zn(bpdc)の場合では、タンパク質担持体の近似直線の傾きが減少した。これはタンパク質と MOF 間の密度差が小さくタンパク質が散乱に寄与しなかったこと、小さな結晶がタンパク質に凝集して結晶同士の隙間が埋まったこと、が考えられる。今後、他の分析も実施し、複合的に考察する必要がある。

4. 参考文献

- [1] Liang, K. *et al.*, *Nat. Commun.*, 6:7240 doi: 10.1038/ncomms8240 (2015).
[2] ビームライン BL8S3 実施例：モータータンパク質の構造、名古屋大学・杉本泰伸（2014年9月測定）