



## 溶液中での鎖状硫黄結合分子の XAFS 測定

佐伯 盛久<sup>1</sup>, 中林 孝和<sup>2</sup>, 中西 隆造<sup>1</sup>, 岡崎 宏之<sup>1</sup>

1 量子科学技術研究開発機構, 2 東北大学

キーワード：硫黄原子結合, Sulfur K-edge, 大気圧 XAFS, 生体分子溶液試料

### 1. 背景と研究目的

近年、硫黄原子が直鎖状に多数連結した構造、 $-(S)_n-$ 、が細胞内で見出され、エネルギー代謝やシグナル伝達、抗酸化作用などの生理機能との関連性が指摘されている[1]。特に硫黄原子の連結数  $n$  は重要な因子であり、それと生理機能の間には何かしらの相関関係があることが期待されるが、これまで実験的に連結数を特定する手法がなかった。しかし最近、固体ゴムの Sulfur K-edge 付近 (2.47 keV) で測定した X 線吸収スペクトルをカーブフィッティング解析することにより、その中に含まれる  $-(S)_n-$  の結合数を特定できる手法が考案された[2]。本研究では、生体分子が活性を示す溶液中において、硫黄原子を含む多硫化物 ( $Na_2S_3$ ,  $Na_2S_4$ ) やアミノ酸 (Cysteine, Glutathione)、そして Lysozyme や SOD1 (Superoxide dismutase 1, 筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の原因物質) などのタンパク質の S K-edge XAFS を測定し、どの程度まで希薄な溶液が測定できるか、また NEXAFS 形状が S 結合数によりどのように変化するか調べた。

### 2. 実験内容

0.2-10 mM で調整した多硫化物やアミノ酸、タンパク質水溶液をポリプロピレンフィルムで作成したセル内に封入し、サンプルプレートにカーボンテープで固定した。次に、大気圧 XAFS 用チャンバーにサンプルプレートを導入し、He ガスで内部を置換した後、溶液試料に 2465–2485 eV の領域でエネルギーを変えた X 線を照射して、S 原子からの蛍光 (2160–2440 eV) を silicon drift detector (SHI 社製) で検出することにより吸収スペクトルを測定した。なお分光結晶は InSb(111) を使用し、試料と SDD 検出器間の距離は 25 mm、X 線入射角は 20° に設定した。また、スペクトルのエネルギー軸はスペクトルの横軸は、 $K_2SO_4$  (固体標準試料) により校正した。

### 3. 結果および考察

Fig.1 に 10 mM  $Na_2S_3$ ,  $Na_2S_4$  水溶液の NEXAFS を示す。 $Na_2S_3$  では 2470 および 2472 eV 付近に重なった 2 つのバンドが観測されたのに対し、 $Na_2S_4$  では低エネルギー側のバンドが弱くなり、2472 eV がメインピークとして観測された。この結果は、NEXAFS 形状の変化に基づき、固体ゴムだけでなく、溶液試料でも S 結合数の変化が議論できることを示唆している。また、SOD1 では試料濃度を 0.2 mM まで低くし、リン酸バッファー環境での測定も試みた。その結果、P 原子からの蛍光 (1750–2160 eV) が、S 原子からの蛍光よりも 10 倍以上の強度で観測されたが、この条件でも S 原子からの蛍光を選択して積算時間を十分に長くすることにより、高 S/N 比の NEXAFS スペクトルを測定できることがわかった。

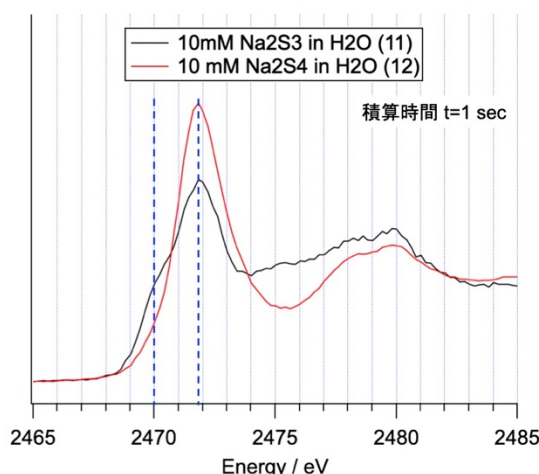


Fig. 1 10 mM  $Na_2S_3$ ,  $Na_2S_4$  水溶液の NEXAFS 比較

### 4. 参考文献

[1] 影山、中林、生化学、**2021**, 93, p621

[2] K. Shirode et al., e-J. Surf. Sci. Nanotechnol. **2020**, 18, p262