

## 生体高分子の部分構造の解析および可視化

青柳里果

### 目 的

タンパク質は機能と構造が深く結びついているため、タンパク質の性質を知る上で一次構造および立体構造は重要であり、分析方法は開発されている。しかし、既存の分析手法では環境によって変化するタンパク質の部分的な立体構造変化を測定することは困難である。そこで、超高感度に試料最表面の化学情報を計測できる飛行時間型二次イオン質量分析法 (TOF-SIMS) を用いた生体高分子測定スペクトルから生体高分子の部分構造を明らかにする解析システムの開発を目指した。

### 方 法

モデルタンパク質として、入手が容易で構造が明らかにされているウシ血清アルブミン (BSA) を用いた。タンパク質には、アミノ基やカルボキシル基が多く含まれる。インジウムスズ酸化膜 (ITO) ガラス基板に、アミノ基またはカルボキシル基で固定化した BSA 試料を作成した。これらの固定化位置の異なる BSA 固定化試料を凍結乾燥器で処理したのち、TOF-SIMS (TFS-2100, Physical Electronics) で測定した。TOF-SIMS の測定条件は、一次イオン源はガリウムイオンを用い、イオンドーズ量は  $10^{12}$  ions/cm<sup>2</sup> 以下とした。

得られた二次正イオンの TOF-SIMS スペクトルはそのままでは複雑で解釈が困難なため、2種類の試料で比較して、各ピークの相互情報量を計算した (S. Aoyagi et al. 2003, 青柳里果 2005)。

相互情報量が大きい程そのピークは重要であり、ゼロに近い程重要ではないことを表す。その計算結果から、重要な数個のピークについて、質量数からわかる化学組成式を求め、その組成式から、いずれのアミノ酸の組み合わせで発生したフラグメントイオンなのか調べた。

### 結果と考察

得られた TOF-SIMS 解析した結果、結合位置の違いによって異なるフラグメントイオンが検出された。相互情報量によって選ばれた、各試料に特異的と考えられるフラグメントイオンの化学組成式をもとに、いずれのアミノ酸の組み合わせによるものか調べた結果、表1のフラグメントイオンに関してアミノ酸の組み合わせが決定できた。

表1：各フラグメントイオンを構成するアミノ酸 (アミノ基を固定化した BSA に特定のなピーク)

質量数	アミノ酸組み合わせ
259	KWV
286	YF, FY, YY
372	MKW

カルボキシル基を固定化した BSA に特異的なピークとしては、質量数 129 のフラグメントイオンが検出されたが、可能なアミノ酸の組み合わせが非常に多く、位置が特定できなかった。表1に示したフラグメントイオンに関しては、BSA のアミノ酸配列と照らし合わせて、下記のように下線部であることが分かった。

```

MKWVTFISLL LLFSSAYSRG VFRDRTHKSE IAHRFKDLGE
EHFKGLVLIA FSQYLQPCPF DEHVKLVNEL TEFAKTCVAD
ESHAGCEKSL HTLFGDELCK VASLRETYGD MADCCEKQEP
ERNECFLSHK DDSDDLPLKLP PDPNTLCDEF KADEKKFWGK
YLYEIAARRHP YFYAPPELLYY ANKYNQVFQE CCQAEDKGAC
LLPKIETMRE KVLASSARQR LRCASIQKFG ERALKAWSVA
RLSQKFPKAE FVEVTKLVTD LTKVHKECCH GDLLECADDR
ADLAKYICDN QDTISSKLKE CCDKPLLEKS HCIAEVEKDA
IPENLPLTA DFAEDKDVCK NYQEAKDAFL GSFLYEYSRR
HPEYAVSVLL RLAKEYEATL EECCAADDPH ACYSTVFDKL
KHLVDEPQNL IKQNCDFEK LGEYGFQNAL IVRYTRKVPQ
VSTPTLVEVS RSLGKVGTRC CTKPESERMP CTEDYLSLIL
NRLCVLHEKT PVSEKVTKCC TESLVNRRPC FSALTPDETY
VPKAFDEKLF TFHADICTLP DTEKQIKKQT ALVELLKHKP
KATEEQLKTV MENFVAFVDK CCAADDKEAC FAVEGPKLVV
STQTALA (BSA のアミノ酸配列)
    
```

### 引用文献

- 青柳里果 (2005) TOF-SIMS による生体高分子の可視, 材料の科学と工学, Vol. 42(5), 244-249pp. 材料科学会.
- S. Aoyagi, M. Hayama, U. Hasegawa, K. Sakai, M. Tozu, T. Hoshi and M. Kudo (2003) TOF-SIMS Imaging of Protein Adsorption on Dialysis Membrane by means of Information Entropy, e-Journal of Surface Science and Nanotechnology, 1, 67-71pp.