

FTIRによるタンパク質二次構造の分析

Analysis of Protein secondary structure by FTIR

タンパク質の構造解析ではX線回折法やNMR法などがよく用いられていますが、赤外分光法もヘリックスやシートなどの二次構造に関する解析に利用されています。赤外分光法は固体/液体、結晶/非結晶など試料状態を

問わず簡単に測定可能なことなどから、上記分析法を補完する方法等として利用されています。今回は赤外スペクトルの持つタンパク質の二次構造に関する情報についてご紹介します。

T.Tsuchibuchi

タンパク質の赤外スペクトル

Infrared spectrum of Protein

Fig.1に牛血清アルブミンの透過スペクトルを示します。

Fig.1に見られるピークのうち、 1650 cm^{-1} 付近のピークはペプチド結合におけるC=Oの伸縮振動で“アミドIバンド”と呼ばれています。同様に、 1540 cm^{-1} 付近(N-H変角振動, C-N伸縮振動)、 1240 cm^{-1} 付近(C-N伸縮振動, N-H変角振動)のピークをそれぞれアミドII, アミドIIIバンドといいます。また、 3300 cm^{-1} 付近のピークはN-H伸縮振動で 1400 cm^{-1} 付近はタンパク質の側鎖 COO^- によるピークと考えられます。これらのタンパク質による吸収のうち、アミドIバンドは二次構造によりピーク位置や形状が異なるため、このピークを解析することより二次構造に関する情報が得られます。

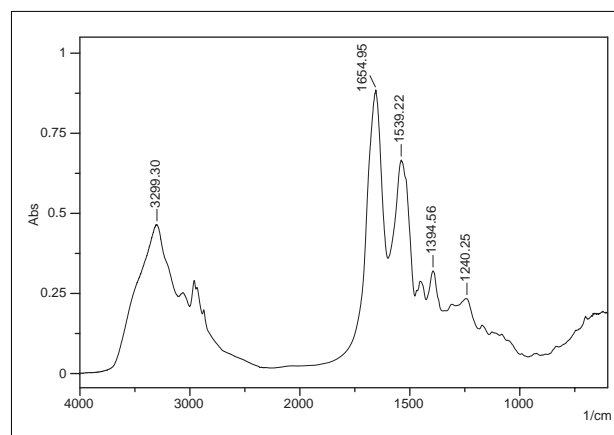


Fig.1 タンパク質(牛血清アルブミン)のスペクトル
Spectrum of Protein(Albumin, bovine serum)

リゾチーム、リボヌクレアーゼAのスペクトル

Spectra of Lysozyme and Ribonuclease A

タンパク質の代表的な二次構造としてらせん状のヘリックス、直線的な構造のシート、長さや構造が規則的でないループなどがあります。それぞれアミドIの吸収が異なり、水溶液中ではヘリックス： 1650 cm^{-1} 付近、シート： 1630 cm^{-1} 付近、ループ： 1645 cm^{-1} 付近(ブロード)に吸収を持つことが知られています。

Fig.2は重水中リゾチームとリボヌクレアーゼAのアミドIの吸収です(差スペクトルにより重水除去後)。測定条件はTable 1をご参照ください。リゾチームとリボヌクレアーゼAのピークトップはそれぞれ 1651 cm^{-1} と 1640 cm^{-1} ですが、どちらの物質も複数の二次構造から構成されているため、複数のピークが混合したピーク形状となっています。

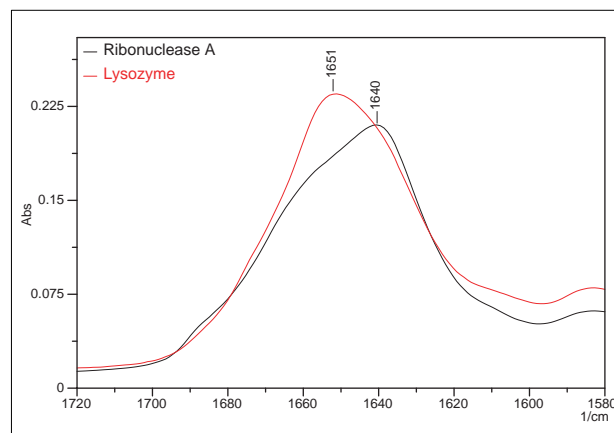


Fig.2 リゾチーム リボヌクレアーゼAのスペクトル
Spectra of Lysozyme and Ribonuclease A

Fig.3はFig.2のスペクトルに対し2次微分処理を行なったものです。2次微分は重なり合った各ピークの位置を明確にすることができます。これらの結果より、リゾチームはヘリックスが、リボヌクレアーゼAはシートが豊富であることがわかります。

Table 1 測定条件
Analytical Conditions

Method	: Between BaF ₂ (0.01mm)
Resolution	: 2 cm ⁻¹
Accumulation	: 100 (約4分)
Detector	: DLATGS

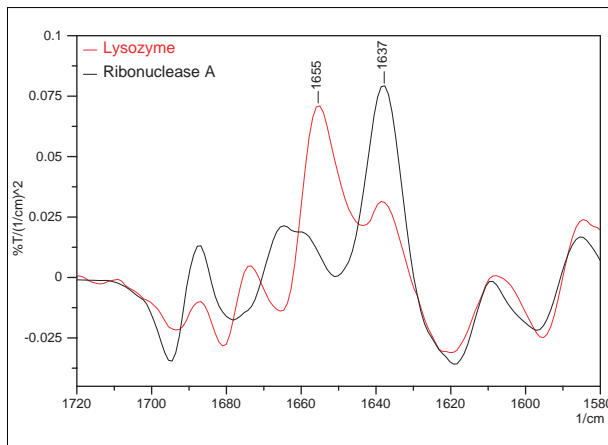


Fig.3 リゾチームリボヌクレアーゼAの2次微分スペクトル
Secondary differential Spectra of Lysozyme and Ribonuclease A

アルブミンのATRスペクトル

ATR spectra of Albumin

Fig.4は2種類のアルブミン（卵製アルブミン、人血清アルブミン）を1回反射ATR法（ダイヤモンドプリズム）にて測定したアミドIの吸収です。またFig.5はFig.4のスペクトルに対し2次微分処理を行なったものです。測定条件はTable 2をご参照ください。

これらの結果より、卵製アルブミンは1633 cm⁻¹付近の吸収が強くシートが豊富であるのに対し、人血清アルブミンは1651 cm⁻¹付近の吸収が強くヘリックスが豊富であると推測されます。

今回ご紹介した分析は、東京医科歯科大学教養部 奈良雅之助教授にご協力いただきました。

Table 2 測定条件
Analytical Conditions

Attachment	: DuraSampIR II
Resolution	: 2 cm ⁻¹
Accumulation	: 100 (約4分)
Detector	: DLATGS

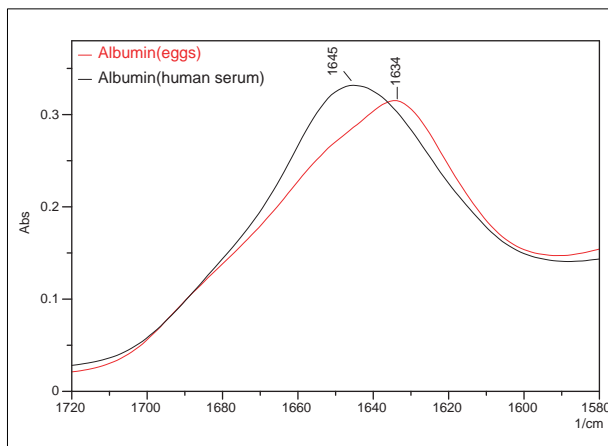


Fig.4 アルブミンのATRスペクトル(赤:卵製アルブミン 黒:人血清アルブミン)
ATR Spectra of Albumin (Red :from Eggs, Black :from Human serum)

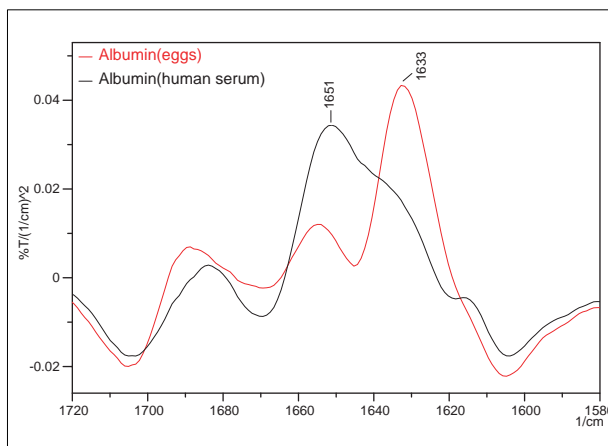


Fig.5 アルブミンの2次微分スペクトル
Secondary differential Spectra of Albumin
(Red: from Eggs, Black: from Human serum)

本資料は初版または改訂版発行時の情報に基づいて作成されています。

初版発行：2006年3月

 **島津製作所** 分析計測事業部
応用技術部

島津分析コールセンター

●東京 ☎(03)3219-1691
●京都 ☎(075)813-1691

<http://www.an.shimadzu.co.jp>

会員制情報提供サービス「Shim-Solutions Club」にご登録下さい。
<http://solutions.shimadzu.co.jp/>
いろいろな情報提供サービスが受けられます。

3100-03601-11A-1K
2006.3