

中性子非弾性散乱による 蛋白質動力学の研究

片岡 幹雄

奈良先端科学技術大学院大学
物質創成科学研究科

構造生物学における中性子の応用

1. 結晶構造解析

Hが見える。

水和水の詳細な情報が得られる。

2. 溶液散乱

コントラスト変調の応用

二成分系の研究に威力を発揮

3. 準弾性・非弾性散乱

蛋白質の動力学的研究

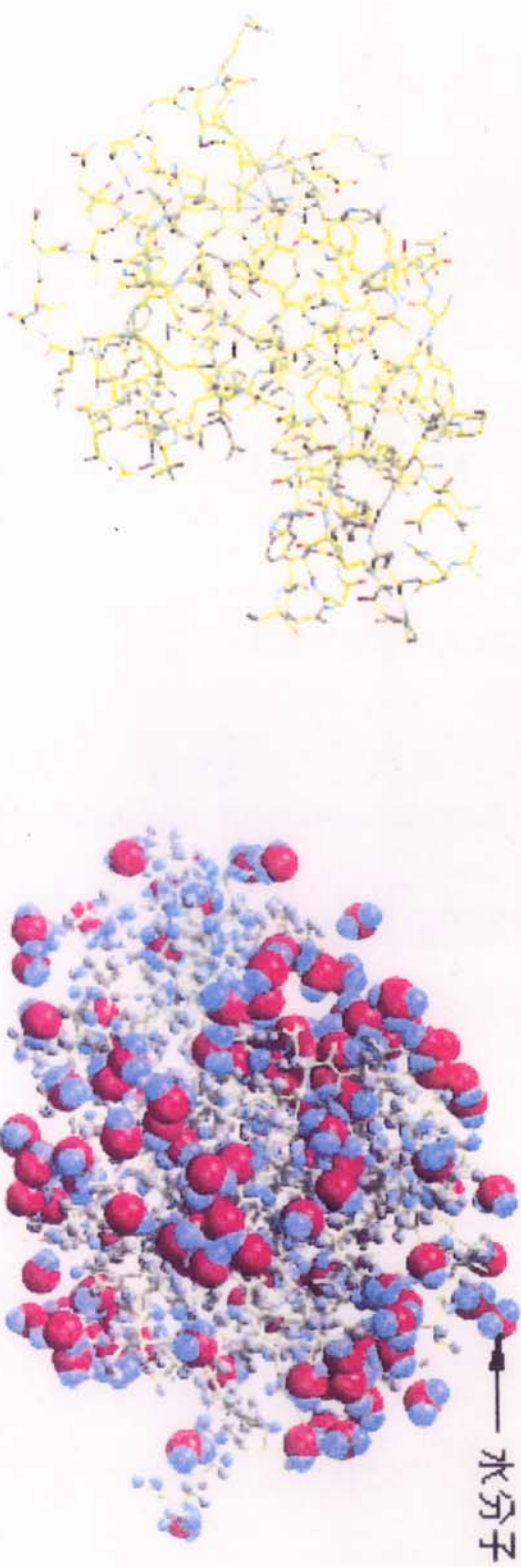
構造生物学研究での中性子の利点

1. H と D の散乱長の差
2. 散乱長は原子番号に大きく依存しない
3. H の大きな非干渉性の散乱長
4. 中性子のエネルギー $\div$ 物質の振動エネルギー

中性子の欠点

1. 線源が特殊
原子炉または加速器が必要
2. 入射強度が弱い
かなりの量の試料が必要
長い測定時間が必要

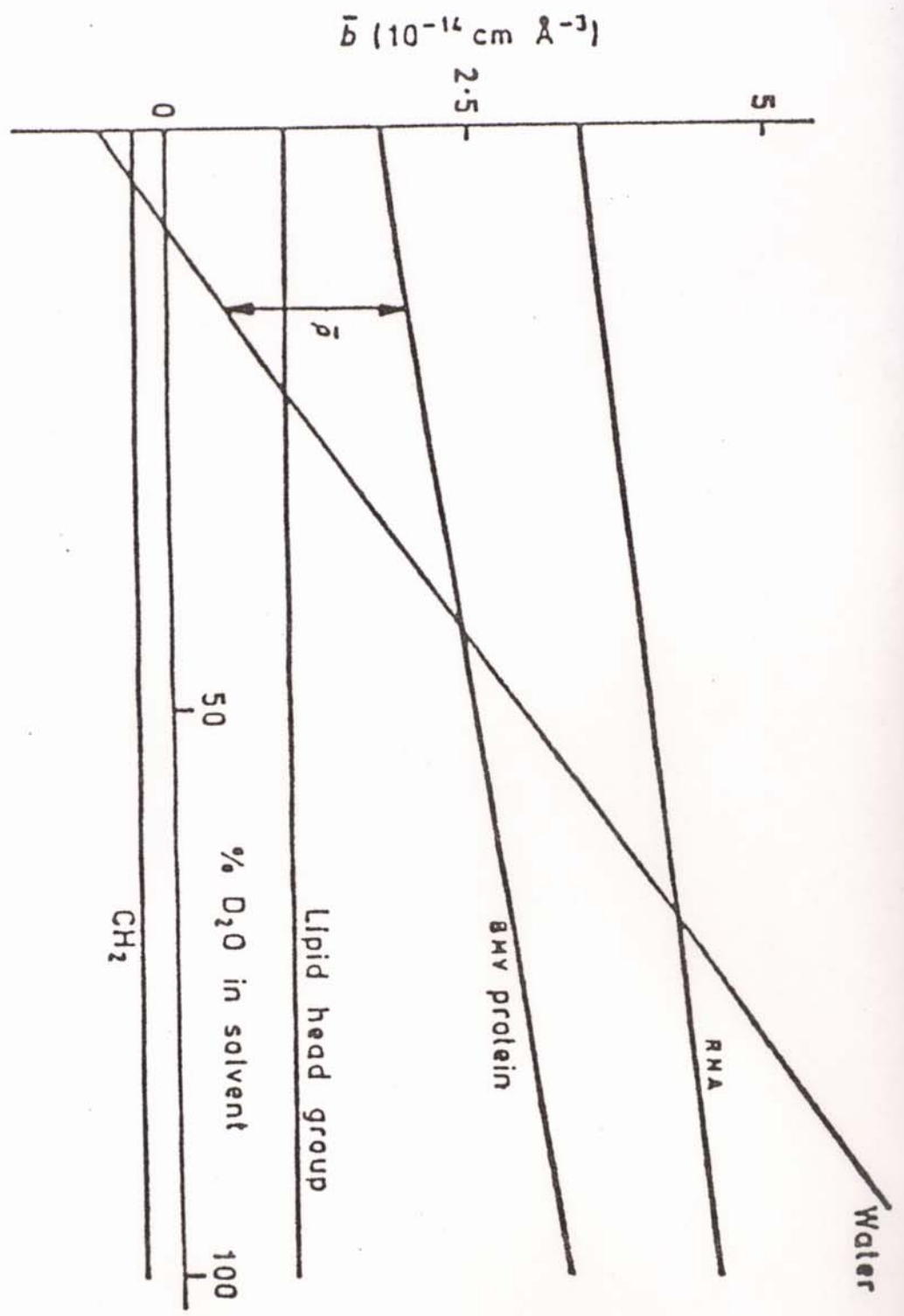
タンパク質は水分子で3次元の立体構造が保たれ、生命活動を営むことができる



×線で見た構造

中性子で見た構造

ニトロリの卵白中のリゾチーム蛋白の3次元立体構造中の水分子が中性子で見える



生体分子の $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ 混合液中での平均散乱長密度の変化。脂質以外は $\text{H}-\text{D}$ 置換するが、 pH , pD 、分子の構造にも依存する。

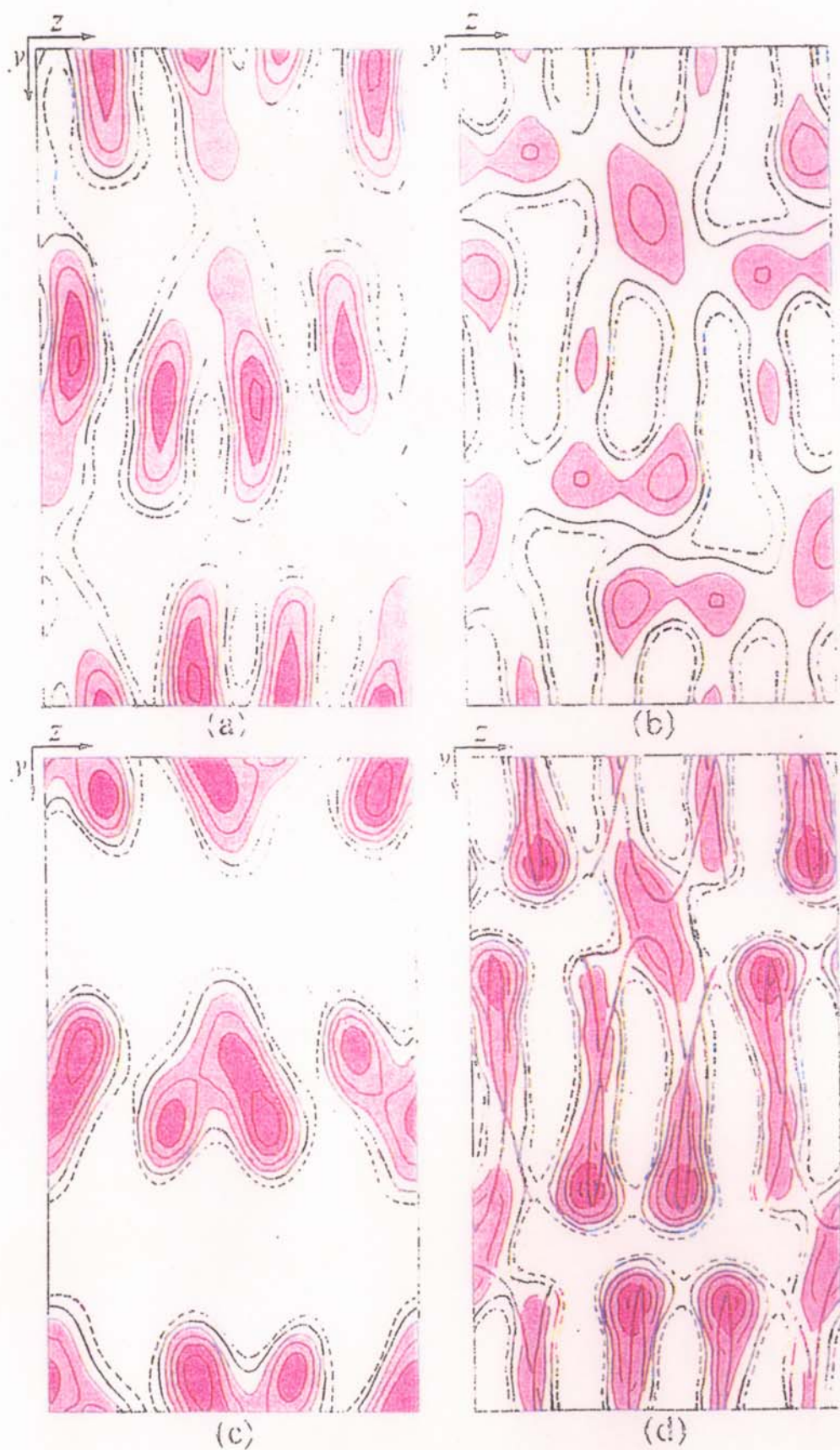
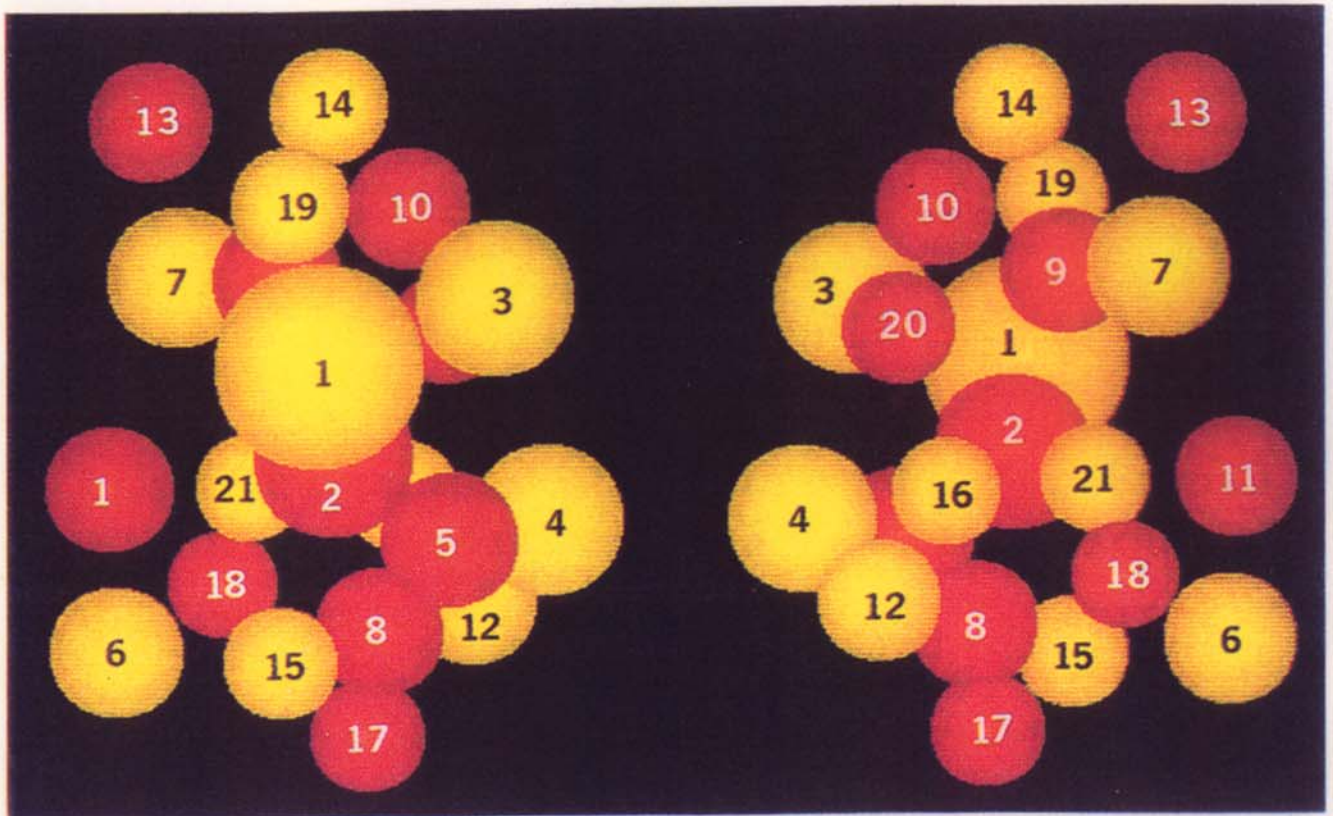


図1 Bentley らによるヌクレオソームの (0 kl) 投影構造. (a) 0% D_2O . (b) 39% D_2O (c) 65% D_2O (d) DNA 超らせんモデルのフーリエ地図.

中性子溶液散乱により明らかにされた 大腸菌30Sリボソームの蛋白質配置

選択的重水素化と三角測量法の応用

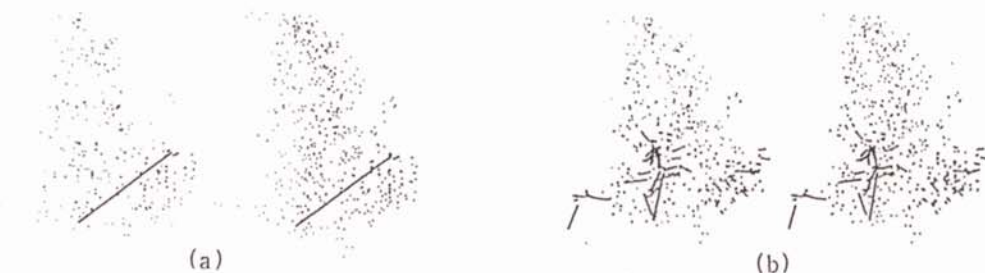
(Capel, Engelman, Moore *et al.* (1987) Science 238, 1403)



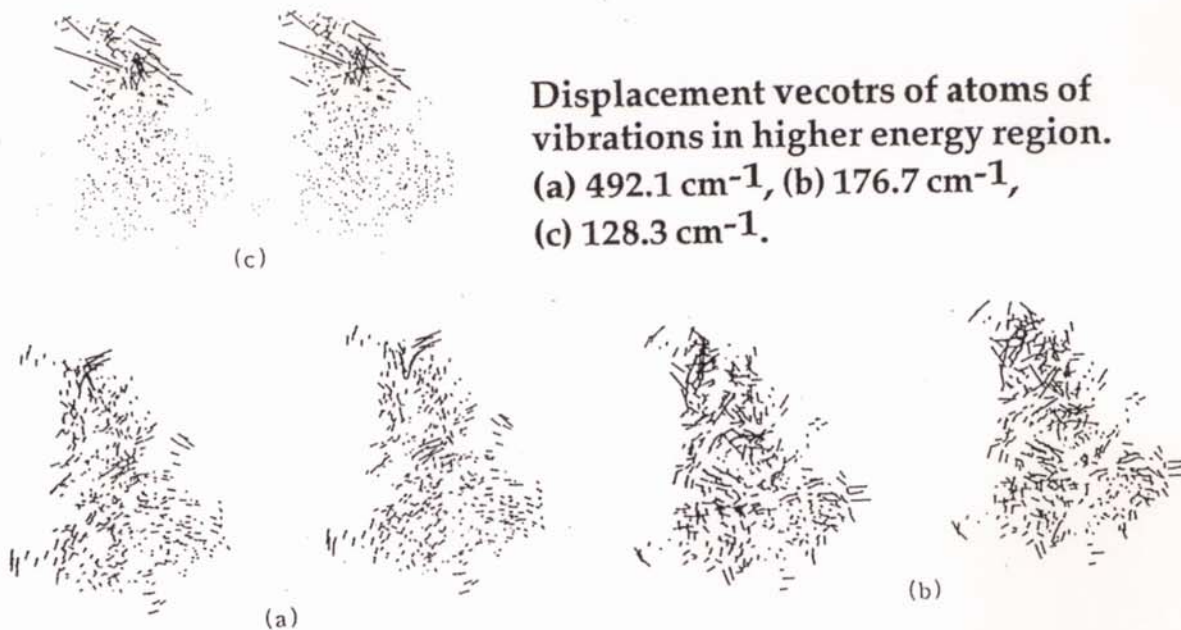
蛋白質の動力学について

1. 蛋白質はやわらかい。
“鍵と鍵穴”ではなく、“induced-fit”
2. 決定された立体構造には、動力学の
情報が含まれている。
温度因子
結晶構造に基づく基準振動解析
3. 動力学を実験的に調べる
振動分光法
NMR
中性子準弾性・非弾性散乱
4. 蛋白質の個性は動力学に現れるのか

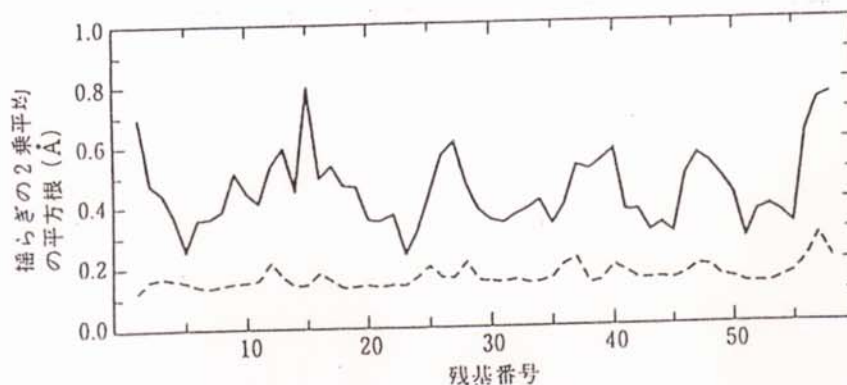
Results of normal mode calculations by Go et al.



Displacement vectors of atoms of vibrations in higher energy region.
(a) 492.1 cm^{-1} , (b) 176.7 cm^{-1} ,
(c) 128.3 cm^{-1} .



Displacement vectors of atoms of vibrations in lower energy region.
(a) 11.7 cm^{-1} , (b) 37.2 cm^{-1} ,
(c) 92.0 cm^{-1} .



Residue number dependency of RMSD of $C\alpha$.

(—) Contributions from the modes with ν lower than 30 cm^{-1} .

(- -) Contributions from the modes with ν higher than 30 cm^{-1} .

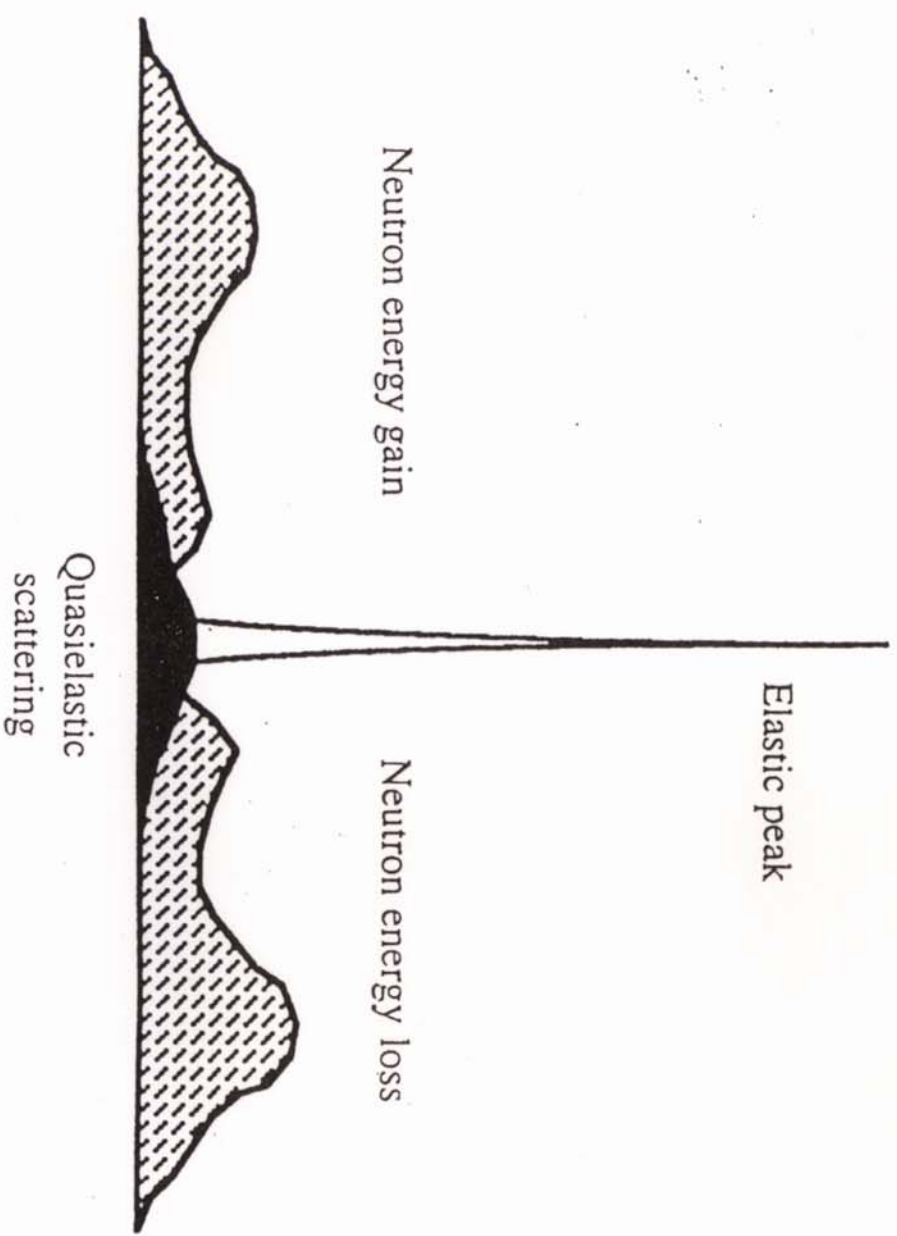
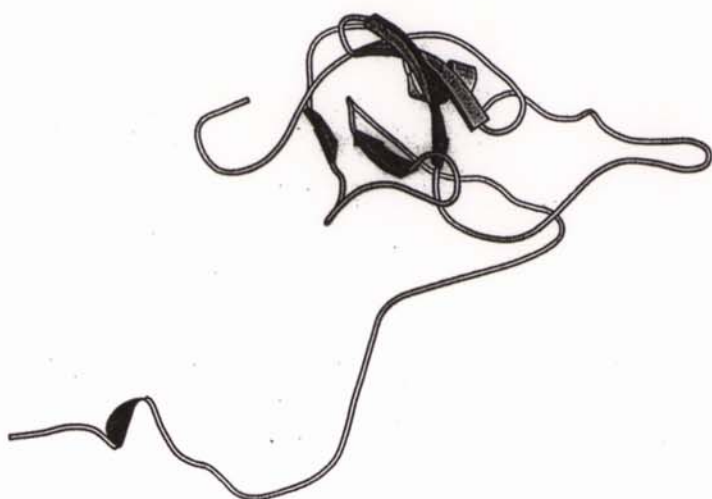


Fig. 2. Schematic diagram indicating the three observed types of incoherent neutron scattering: elastic, quasielastic and inelastic. Reproduced from Cusack (1989).

研究の視点

1. 高分解能振動分光としての中性子非弾性散乱の有効性の検証
中性子非弾性散乱スペクトルと基準振動解析計算の比較
2. 折り畳まれることによって獲得する振動モードの同定
蛋白質特有の動力学はあるのか
3. 動力学に対する水和の影響
4. 動力学的不均一性の評価

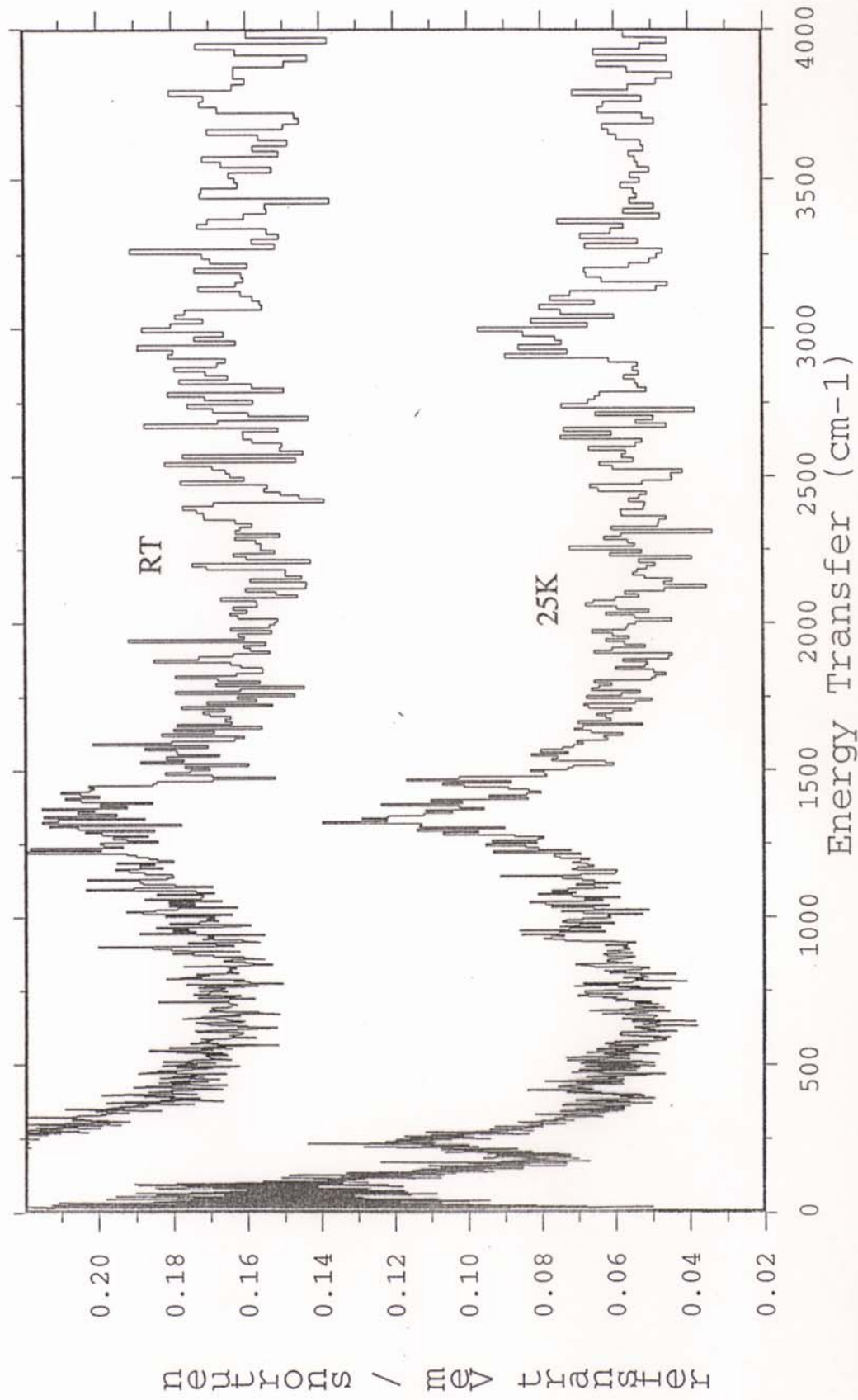
機能に必要な動力学や蛋白質固有の動的物性の解明



INSTRUMENT: TFXA
RUN NUMBER: 3507
SPECTRUM : 1

USER: MK/JCS
RUN START TIME: 28-JUN-1996 11:40
PLOT DATE: Tue 2-JUL-1996 10:10
NO GROUPING OF BINS
LOCATION: TFXA\$DISK0:[TFXMGR.DATA]TFX03507.RAW

TITLE : SNase wild type, powder, cooling



中性子非弾性散乱 スベクトルの計算

$$S(\vec{Q}, \omega) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} dt \exp(-i\omega t) F(\vec{Q}, t)$$

$S(\vec{Q}, \omega)$: 動的散乱因子

$$F(\vec{Q}, t) = \sum_{\alpha} b_{\alpha}^2 \langle \exp(-i\vec{Q} \cdot \vec{R}_{\alpha}(0)) \cdot \exp(i\vec{Q} \cdot \vec{R}_{\alpha}(t)) \rangle$$

$F(\vec{Q}, t)$: 中間散乱関数

α : 個々の原子を表す.

$\vec{R}_{\alpha}(t)$: 原子 α の(時間依存する)位置

基準振動解析の結果を用いて

$$S(\vec{Q}, \omega) = \sum_{\alpha=1}^N \sum_{\lambda=1}^{3N-6} b_{\alpha}^2 \exp\left(\frac{\hbar\omega_{\lambda}}{2kT}\right)$$

$$\times \frac{\exp(-2W_{\alpha}(\vec{Q})) \cdot \hbar |\vec{Q} \cdot \vec{e}_{\lambda\alpha}|}{4m_{\alpha}\omega \sinh\left(\frac{\hbar\omega_{\lambda}}{2kT}\right)} \delta(\omega - \omega_{\lambda})$$

λ : 基準振動モード

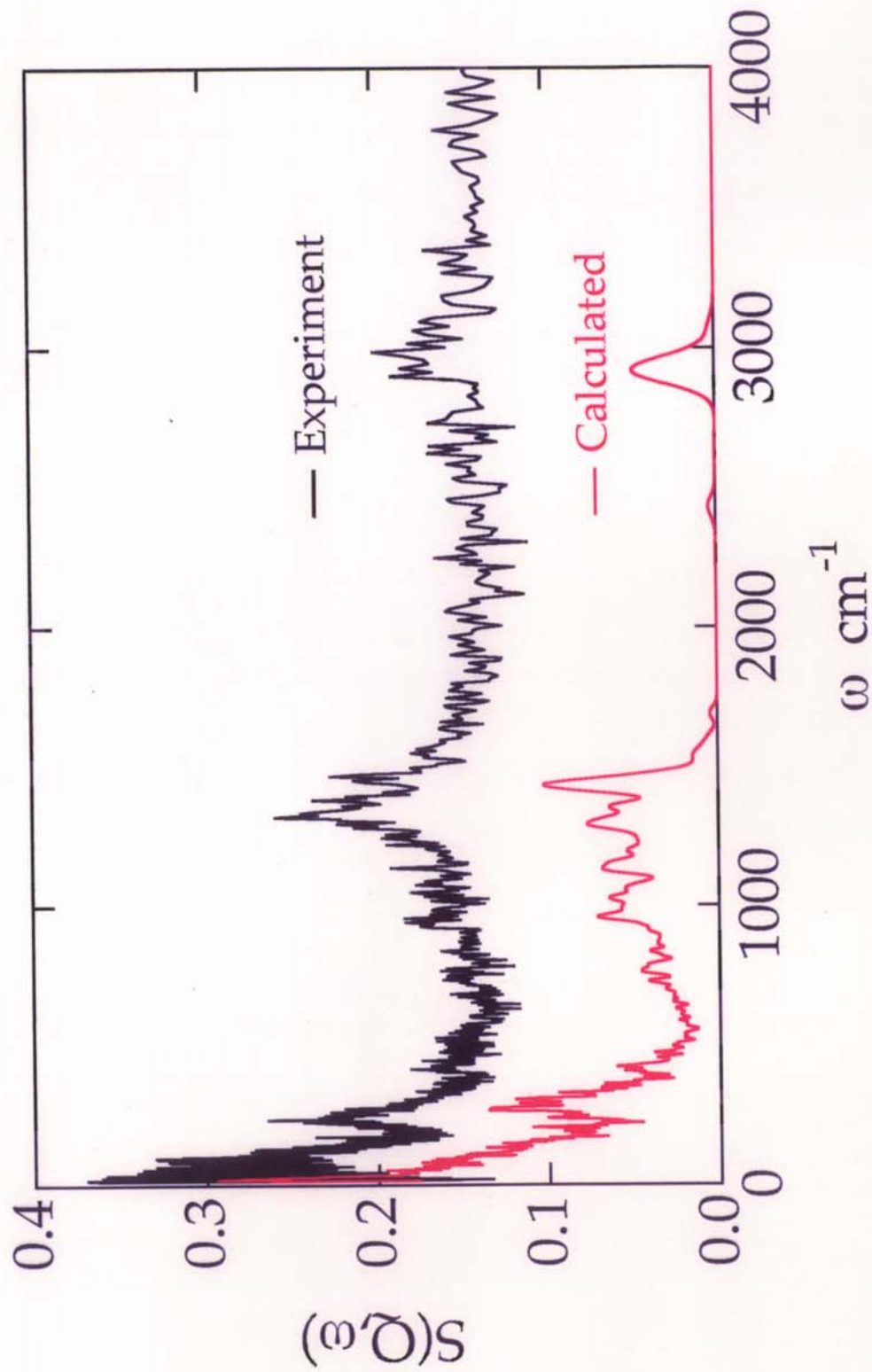
(位置)

$\vec{e}_{\lambda\alpha}$: 原子 α の基準振動モード λ の原子固有ベクトル

と計算される.

Comparison of Inelastic Neutron Spectrum

25K, powder



expt.	theory	assignment
235	269	CH ₃ -t
400-450	395-435	CCC-def, CCN-def, skeletal
477	471	CCC-def, CCN-def, skeletal
470-590		water O-H..O- b
720-775	720-795	CH ₂ -r, CH-b
837	835	CH ₂ -r
936	958	CH ₂ -r, CH ₃ -r
1136	1136	CH-b, CH ₂ -tw, CH ₃ -r
1284	1291	CH ₂ -tw, CH ₂ -w, CH-b, CH ₃ -sb
1326		
	1352	CH ₂ -w, CH ₂ -tw, CH-b, CH ₃ -sb
1386		
1455	1431	CH ₂ -b, CH ₃ -ab, CH-ip
1555	1530	C-N _s
	1686	C-N _s
	2430	N-D _s
2952	2920	N-H _s

Table I: Frequencies (in cm^{-1}) of vibrational peaks in 25K INS spectrum from the TFXA experiment and the theoretical normal mode analysis. Assignments of the theoretical modes are also given. For modes of frequency $< 1500 \text{ cm}^{-1}$ qualitative assignments were made by graphical inspection of dynamical trajectories. For each peak the order, from left to right, is in decreasing strength of the contribution. The abbreviations used are as follows: t=torsion; def=deformation; b=bend; r=rock; tw=twist; w=wag; sb=symmetric bend; ab=antisymmetric bend; ip=in-plane bend; s=stretch.

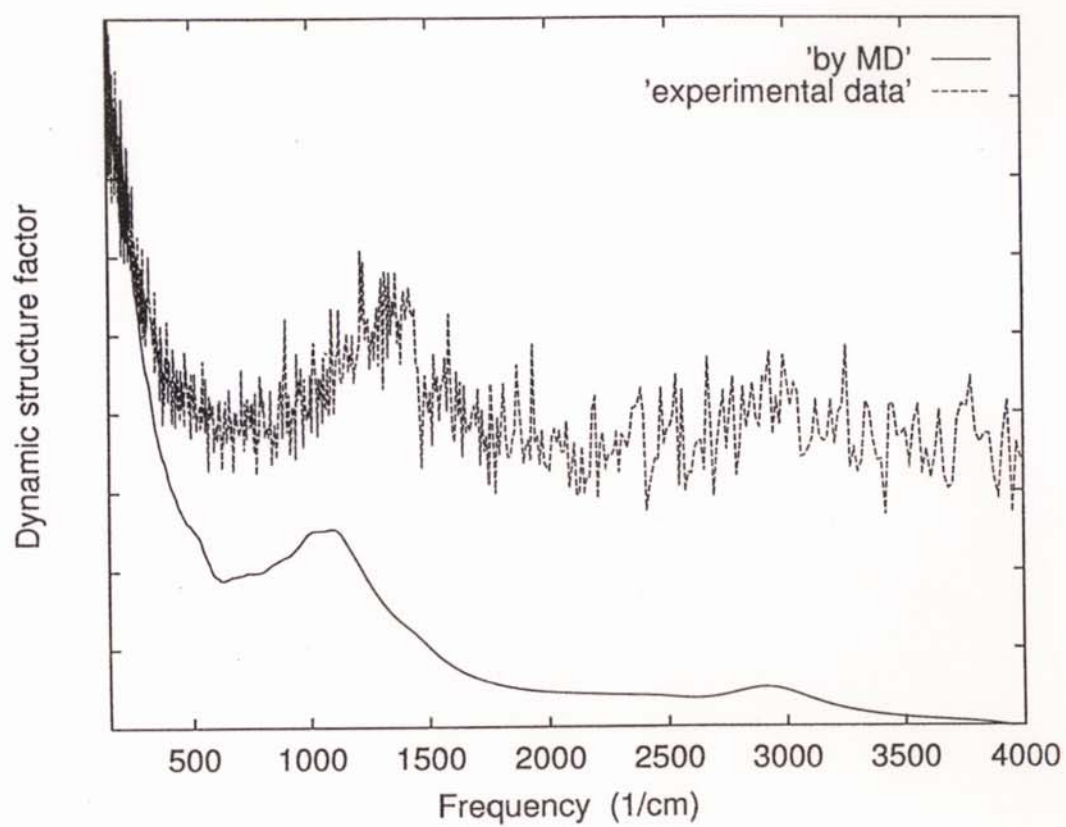
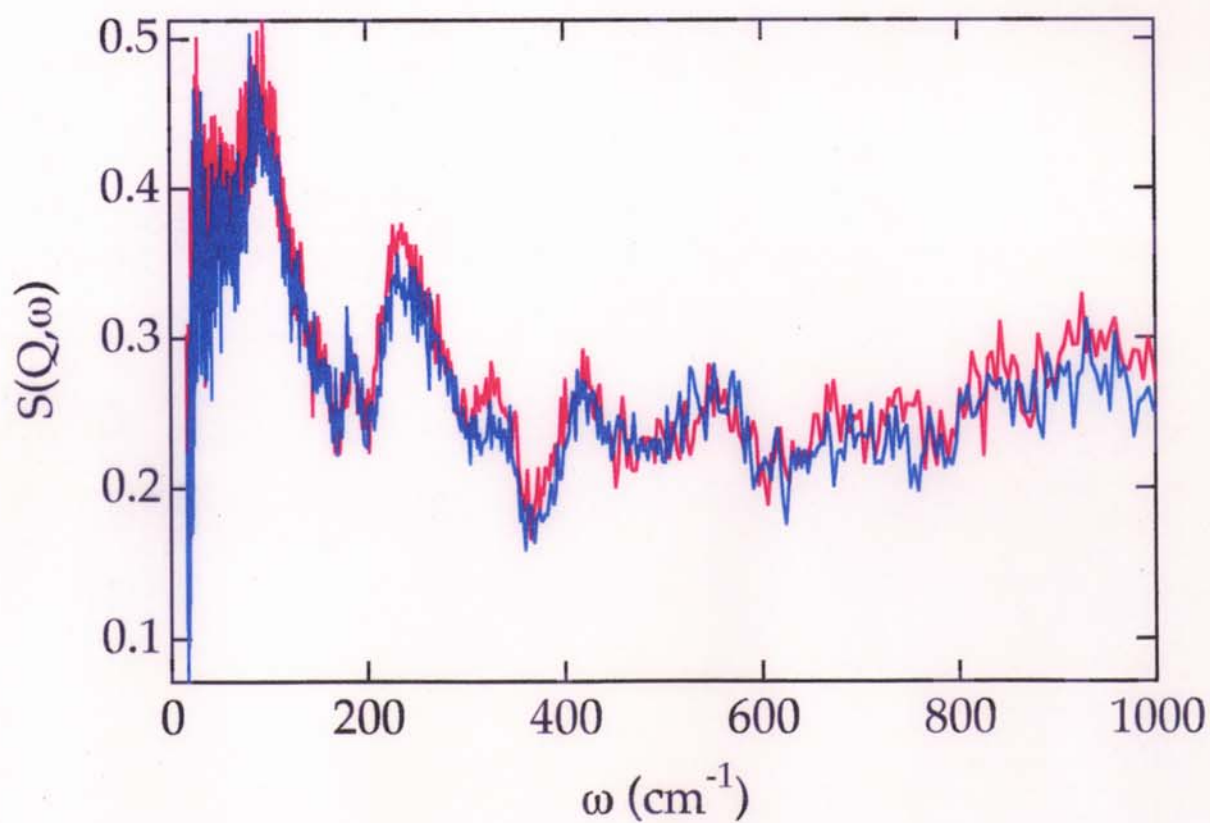
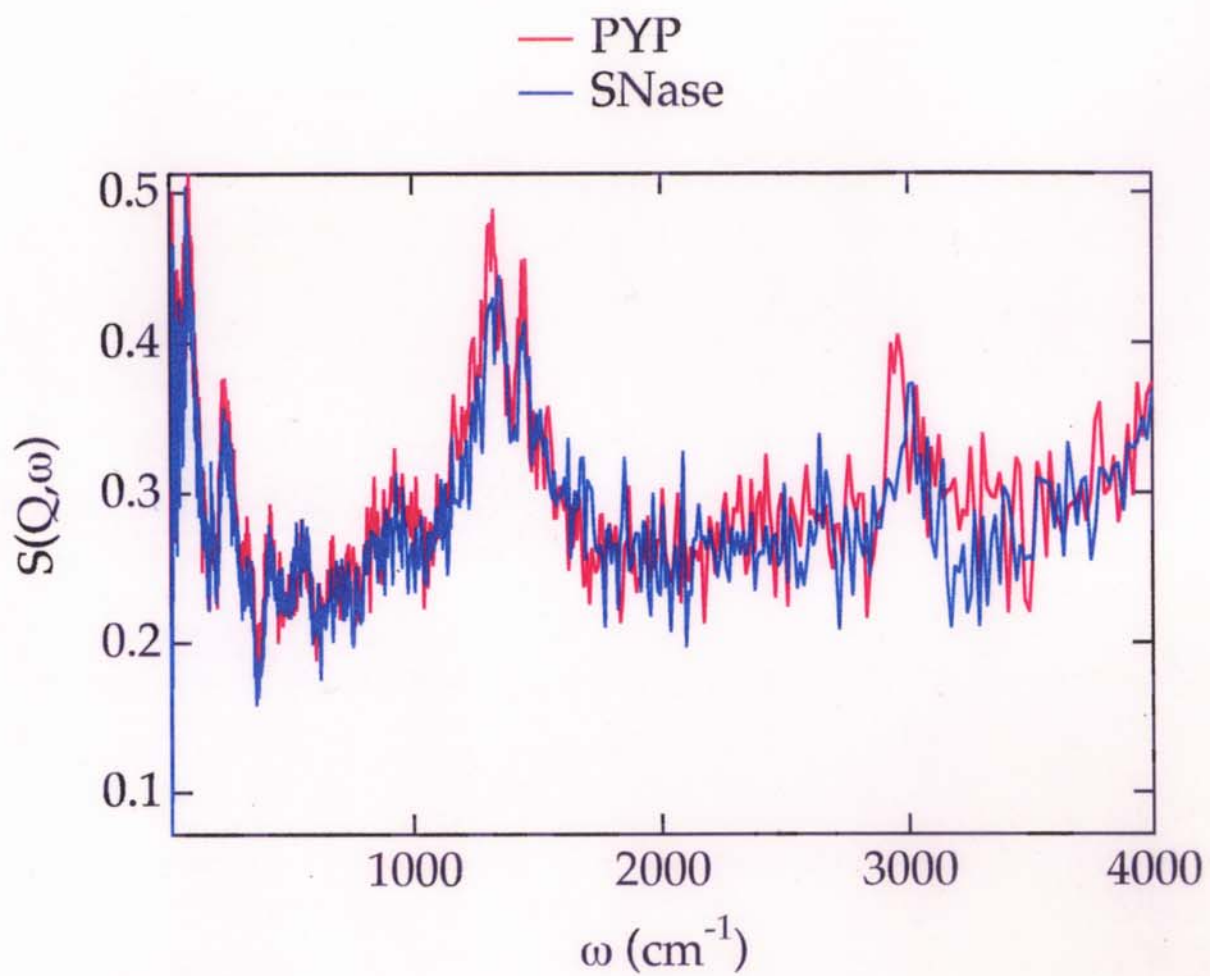
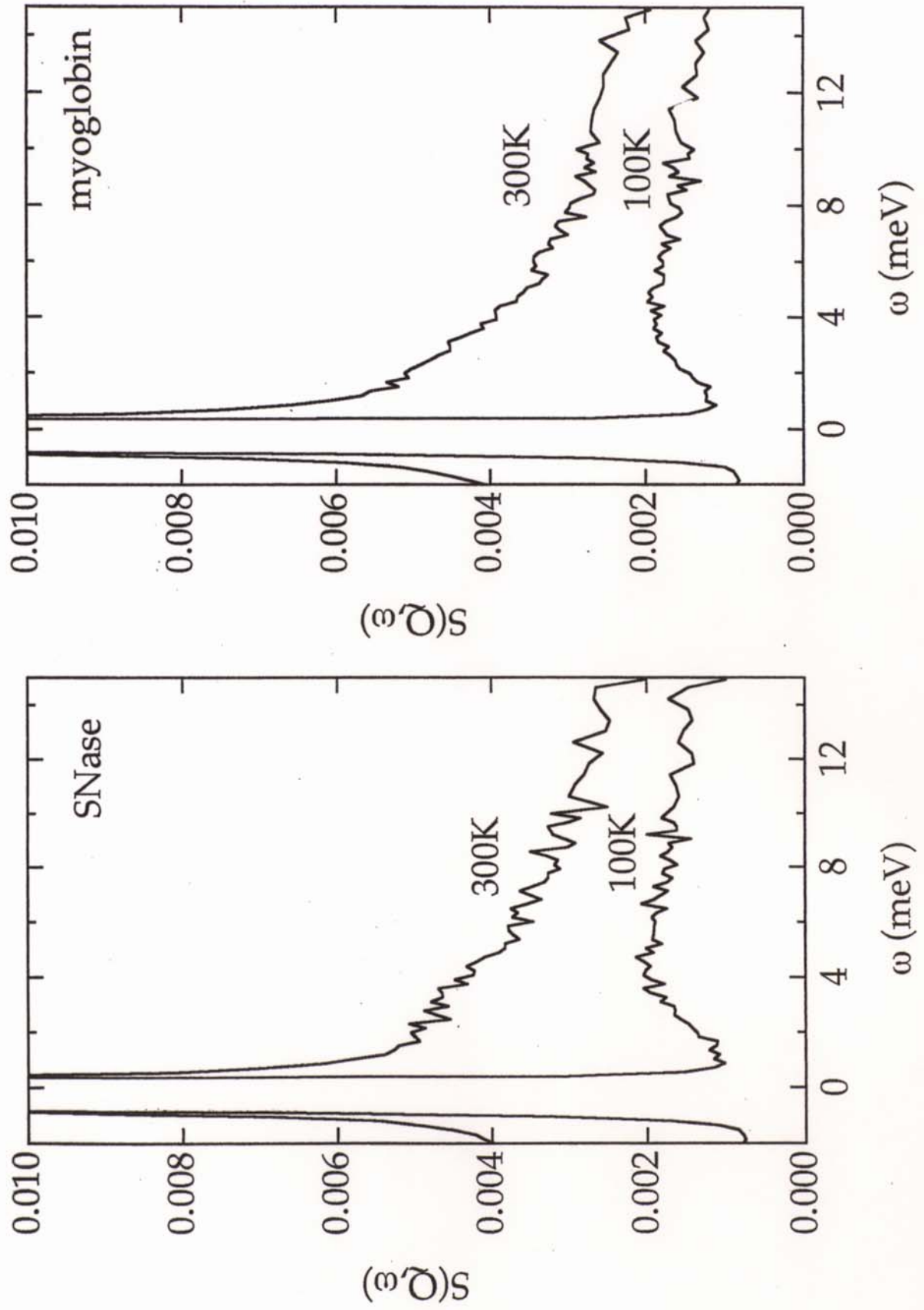


Figure 4.6: The comparison of dynamic structure factor. (solid line) result of molecular dynamics simulations at 300K; (dashed line) experimental result at 300K.

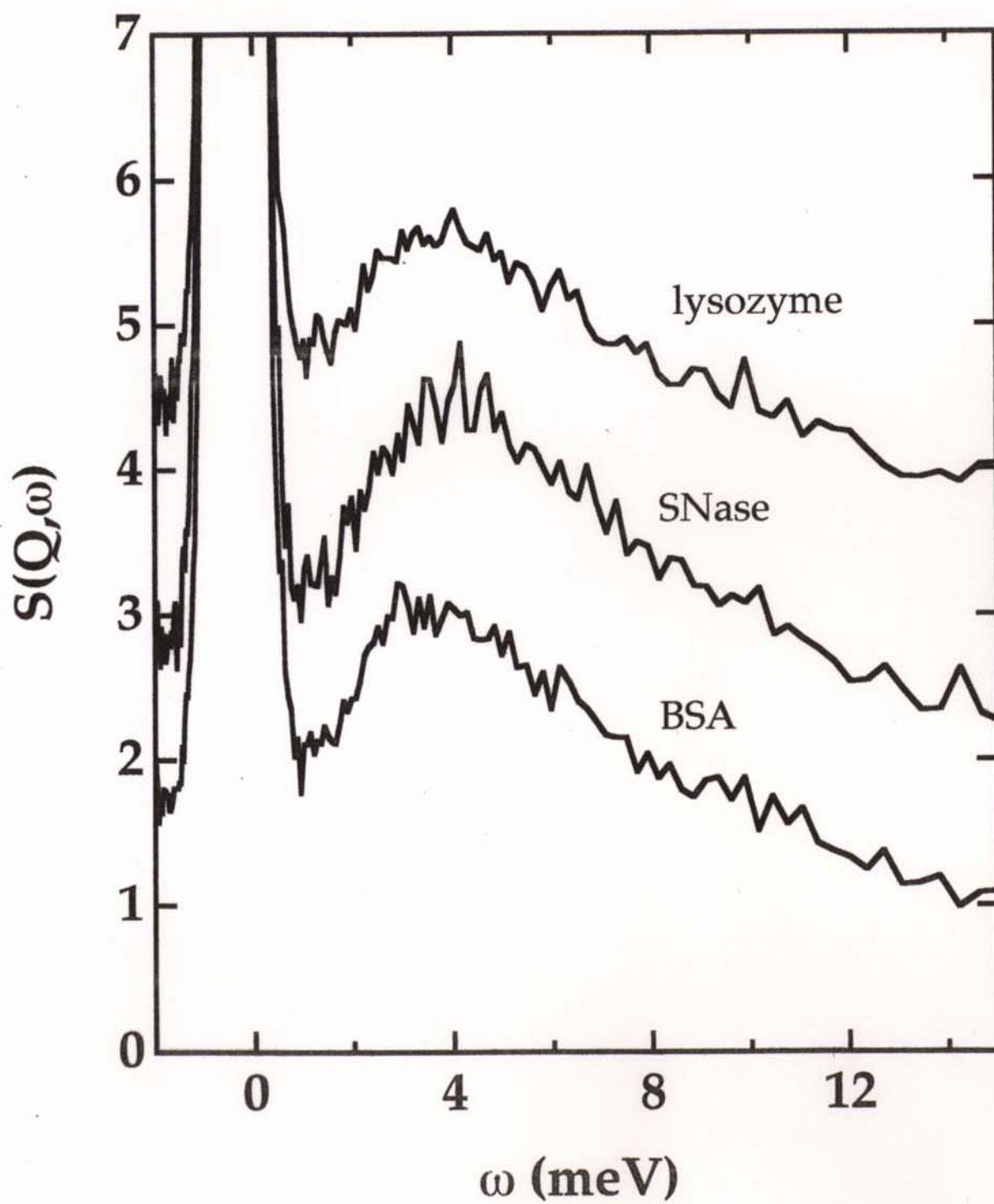
Comparison of INS spectra





Comparison of quasielastic scattering spectrum

100K



Comparison of $S(Q, \omega)$ between wild type SNase and Fragment

