

Wide-q測定における蛋白質の構造解析の検討



JAEA J-PARCセンター:高田慎一、鈴木淳市、篠原武尚、奥隆之、 吉良弘、鈴谷賢太郎、相澤一也、新井正敏



KEK J-PARCセンター:大友季哉



KURR I

: 杉山正明



Wide-q測定

·大観

Debyeの式を使ったWide-qにおける散乱関数の挙動変化
 Wide-q解析方法の開発の検討

■解析法の検討

分布関数 P(r)

I(q)=S(q)XF(q)

蛋白質分子をモデルとして

• RMC解析法

・水溶液中の蛋白質と水分子、





•0.2 < q < 1 [Å⁻¹]において、3種の蛋白質の散乱関数の挙動は大きくことなる。
 → 内部構造の相関の違い



Wide-qにおける蛋白質の散乱関数の学



- ・ 血液中に存在する赤血球の中にあるタンパク質
- ・酸素分子と結合(酸素運搬)

Wide-q測定において、顕著な挙動変化を観測

R. Scheneider Eur. J. Biochem.20 (1971) 179-182

 $\begin{array}{c} 24.7 \pm 1.1 \ \ 23.8 \pm \ \ 1.5 \\ 26.2 \pm 1.2 \ \ 24.3 \pm \ \ 1.5 \\ 1.5 \pm 0.9 \ \ 0.54 \pm \ 0.15 \end{array}$

24.14

24.58 0.44

24.21

24.60 0.39

Oxy-Deoxy-Deoxy-Oxy(Spont



分布関数P(r)について

散乱関数の解析(分布関数

実空間へ(逆フーリエ変換)



g(r):2体分布関数 動径分布関数:RDF $\rho_0 = N/V: 数密度$ (Radial Distribution Function) $I(q) = Nb^2 \left\{ 1 + \int_0^\infty 4\pi r^2 \rho_0(g(r) - 1) \frac{\sin(qr)}{ar} dr \right\}$ $S(q) = \frac{I(q)}{mh^2}$ $S(q) = 1 + \int_0^\infty 4\pi r^2 \rho_0(g(r) - 1) \frac{\sin(qr)}{r} dr$ $g(r) = 1 + \frac{1}{2\pi^{2}\rho_{0}} \int_{0}^{\infty} (S(q) - 1) \frac{\sin(qr)}{ar} q^{2} dq$ $\rho_0(g(r)-1) = \frac{1}{2\pi^2} \int_0^\infty (S(q)-1) \frac{\sin(qr)}{qr} q^2 dq$ 配位数 $C = \int \rho(r) dr$ $RDF = 4\pi r^2 \rho_0(g(r))$

(Spone

 $\rho_0 = N/V: 数密度$





散乱関数の計算I(q)=S(q)∞F(q)















単に個々のアミノ酸の平均の形状因子F(q)を平均しただけでは、 high-q領域の散乱関数を再現しない。









この手法をRMC解析法に使用する際の、散乱関数構築に使えないか?



SUPCOM 結晶構造解析により得られた座標データ (PDBデータ)とRMC解析により得られた データを比較するソフト。

400

小角RMCの再現性 D_{max} 毎回、全く同じ形態は得られない。

> D_{max}を直径とする 探査空間を決める

び小角RMCの再現性

10回程度ソフトを実行し 得られたモデルの向きを重ね 合わせ平均化して代表的な モデル構造として抽出。

(Auguna

改良型(藤澤氏@spring8) 平均モデル構造を約10%大きくした 空間を探査空間とし再度散乱曲線に 対してモデルを構築する。

今後、拘束条件を増やして改良を進める











水和水について



さらに、束縛水の寄与を考慮する。

Svergunグループの考え方 $A_a(S)$ 蛋白質 水分子 ρ_s $A_s(S)$ 東縛水 $\delta \rho_b A_b(S)$ $\delta \rho_b A_b(S)$ (電子密度がbulk水より約10%高い)

 $I(S) = \left\langle \left| A_a(S) - \rho_s A_s(S) + \delta \rho_b A_b(S) \right|^2 \right\rangle_{\Omega}$ $A_a(S): 真空中の蛋白質粒子の散乱振幅$ $A_s(S): 蛋白質粒子の排除体積分の散乱振幅$ $A_b(S): 束縛水層の散乱振幅$ $\rho_s : バルク水の散乱長密度(電子密度)$ $\rho_b : 束縛水の散乱長密度(電子密度)$ $\delta \rho_b = (\rho_b - \rho_s): 散乱長密度(電子密度)$ $\delta \rho_b = (\rho_b - \rho_s): 散乱長密度(電子密)$



蛋白質と(蛋白質+水和水)の広域空間の構造因子の変化







RMC解析を行うと際の制限項目に関して





- SvergunらのATSASは、測定データ処理からRMC解析まで充実しており、初めてのUserでも使いやすく工夫されていた。Hi-SANSグループでも検討していきたい。
- SvergunのRMC解析では、q<1[Å⁻¹]の小角領域までしか対応していない。
- 再現性の問題はある。

改良点

High-q領域のデータまで使う。

複数の散乱関数からRMC解析を行なう。(HD置換、X線と中性子のデータ)

C2

- RMCの改良点
 - ・アミノ酸の散乱長密度を使用する。
 - ・文献値各アミノ酸の大きさ(体積)を利用する。
 - ・原子のイオン半径などを利用する。
 - ・各アミノ酸の形状因子を考慮し、よりhigh-q領域に対応できれば
 分子間内部、2次構造(ヘリック、βシート)などの相関も積極的に解析したい。
- バルクの水分子配置座標(小原氏・@spring8 提供)を用い、束縛水及び溶媒の寄 与を考慮した解析法を確立。
- 多数の散乱関数(HD置換)やSAXSと併用し、複数の散乱関数に対してRMC解析 を行なうことにより、構造の決定精度を向上させる。