

1F2b

質量分析法によるポリ-L-グルタミン酸 ヘリックスの H/D 交換の研究

広島大・QuLiS¹、広島大院理²
山本竜也¹、泉 俊輔^{1,2}、月向邦彦²

我々はこれまで質量分析法により蛋白質のH/D交換を調べ、構造の揺らぎに二次構造が大きく関与していることを明らかにしてきた。特に α -ヘリックスのH/D交換は、その配列や周辺環境、またリガンドの結合に大きく依存し、その揺らぎが機能発現に関わっている可能性が示唆された¹⁻³。揺らぎに及ぼす α -ヘリックスの鎖長依存性を知ることは、蛋白質の揺らぎを理解する上での基礎として重要である。本研究では、モデルポリペプチドとしてポリ-L-グルタミン酸を用い、様々な鎖長を有する α -ヘリックスのH/D交換反応を質量分析法により追跡し、 α -ヘリックスの鎖長と揺らぎの関係について調べた。

pH 4.4 でヘリックス構造をとらせたポリ-L-グルタミン酸(M.W.750 ~ 4,000)水溶液に 10 倍量の重水を混合することにより H/D 交換反応を開始し(pH4.8、15)、各時間ごとに pH を 2.8 まで下げ液体窒素で凍結することにより反応をクエンチし、MALDI-TOF-MS を用いて質量を測定した。

その結果、試料に含まれる 7~43 残基からなるすべての鎖長のポリペプチド鎖について H/D 交換を観測することができ、一次反応式でフィッティングすることにより速度論的パラメータを算出した。短いペプチドは高い交換量と交換速度を示しており、特に 7 残基のペプチドは初期の段階で完全に交換していることから、安定なヘリックスを形成していないことがわかった。また、鎖長が長くなるにつれ交換量・交換速度ともに減少するが、その鎖長依存性は単調ではなく、22 残基と 38 残基前後に変曲点が存在することがわかった。このことはポリグルタミン酸のヘリックス構造がこれらの鎖長で変化していることを示している。これらの結果をもとに、蛋白質内における α -ヘリックスと揺らぎの関係について考察する。

(参考文献)

1. Yamamoto *et al.* *The Journal of Biochemistry*, **135**(1) (2004) 17–24
2. Yamamoto *et al.* *The Journal of Biochemistry*, **135**(4) (2004) 478–494
3. Yamamoto *et al.* *The Journal of Biochemistry*, **135**(6) (2004) 663–671