

# カーボンナノ試験管内に内包したビリルビンオキシダーゼの構造解析

## Structural analysis of bilirubin oxidase in a carbon nano test tube

岩瀬 裕希<sup>1)</sup> 佐山 裕美<sup>2)</sup> 西原 洋知<sup>2)</sup> 伊藤 徹二<sup>3)</sup>  
 Hiroki IWASE Hiromi SAYAMA Hirotomo NISHIHARA Tetsuji ITOH

<sup>1)</sup>CROSS <sup>2)</sup>東北大多元研 <sup>3)</sup>産総研

### (概要)

ジャイアントカーボンナノ試験管 (GCNTT) は、従来のカーボンナノチューブよりも内径が一桁程度大きくすることが可能で、タンパク質などの生体高分子を内包できる。本研究では、コントラストマッチング法を使用して、GCNTT中のタンパク質の構造を選択的に観察することを試みた。

キーワード：ジャイアントカーボンナノ試験管、中性子小角散乱

### 1. 目的

最近開発されたジャイアントカーボンナノ試験管 (GCNTT) 内にタンパク質を内包し、新規ナノバイオ材料としての研究を行っている。この材料の高機能化には、内包タンパク質の構造形成メカニズムや安定性について明らかにすることが不可欠である。そこで本研究では、中性子コントラストマッチング法により、GCNTT中のタンパク質の構造解析を行った。

### 2. 方法

GCNTT のマッチングポイントを決定するための実験では、D<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>O の割合 (v/v) が 100/0、60/40、30/70、0/100 の 4 条件となるように、GCNTT 分散液を調製した。試料厚みは t1mm とし、試料-検出期間距離 (SDD) を 10 m に設定した。

GCNTT-タンパク質複合体中のタンパク質の選択的観察では、GCNTT のコントラストマッチング条件に調製した D<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>O を使用して測定を行った。試料厚みは t2 mm とし、SDD は 4 m と 2 m に設定した。タンパク質濃度は 5 mg/ml とした。

### 3. 結果及び考察

図 1a に 4 種類のコントラスト条件で測定した GCNTT 分散液の SANS プロファイルを示す。前方散乱強度 I(0) の見積もりは厳しいため、Low-Q 領域 (Q ~ 0.004–0.008 Å<sup>-1</sup>) の散乱強度の積算値の平方根を重水濃度に対してプロットし (図 1b)、マッチングポイントを D<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>O = 85/15 と決定した。

次にマッチングポイント条件に調製した軽水/重水混合水を使用して、GCNTT とタンパク質を懸濁させ、常温から 70°C まで温度を変えながら測定を行った。図 2 には 25 および 70°C で測定した結果を示した。実線は結晶構造データから計算された理論散乱曲線である。理論散乱曲線と比較して、類似の特徴を示しているものの、仕込みのタンパク質濃度に対して散乱強度が弱かった。また、このタンパク質は 70°C で失活するため、立体構造が変化することが予測されたが、25°C と 70°C では有意な差が観測されなかった。これらの原因として、SANS-J の観測限界を超えたサイズ (サブマイクロサイズ) の凝集体を形成したため、シグナルが弱く、温度依存性を示さない可能性が考えられる。現在、予想に反した実験結果の原因を調べている。

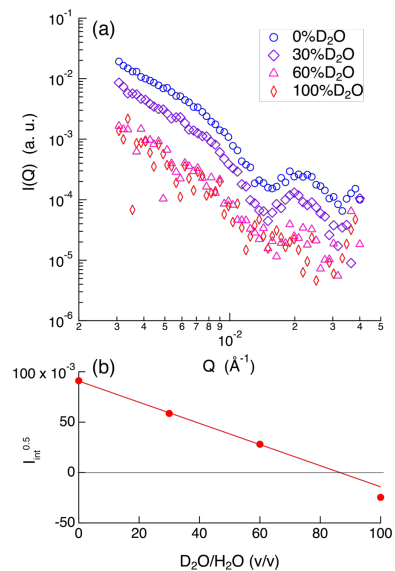


Fig. 1. (a) GCNTT の散乱プロファイルの D<sub>2</sub>O 濃度依存性. (b) 低 Q 領域の散乱強度の平方根の D<sub>2</sub>O 濃度依存性.

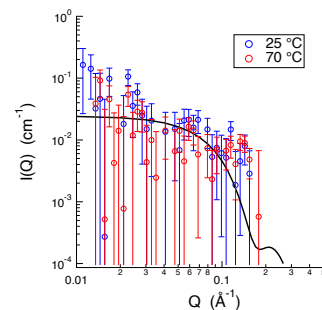


Fig. 2. 85%D<sub>2</sub>O 中の GCNTT-タンパク質複合体の SANS プロファイルの温度依存性. 実線は結晶構造データ (Protein Data Bank データ) から計算された理論散乱曲線.