

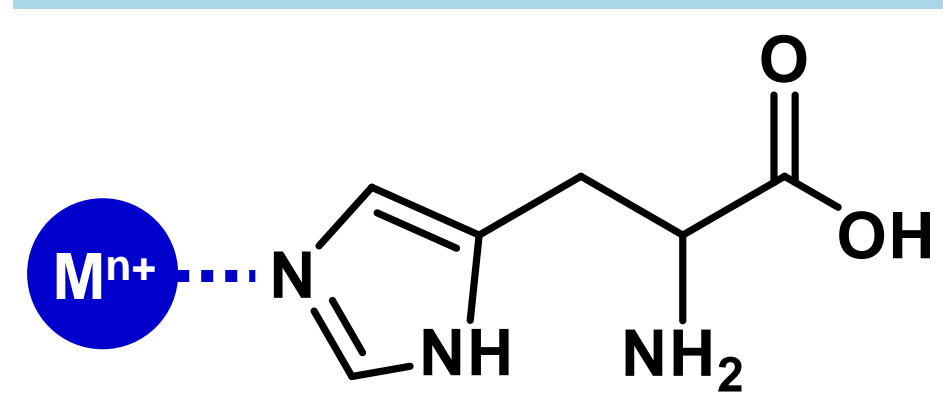


# ヒスチジンを含むテトラペプチドと金属イオンの結晶化とその偏光ラマン分光

東京工業大学 物質理工学院 材料系, ○西山 弓恵, 茂田井 和紀, 早水 裕平

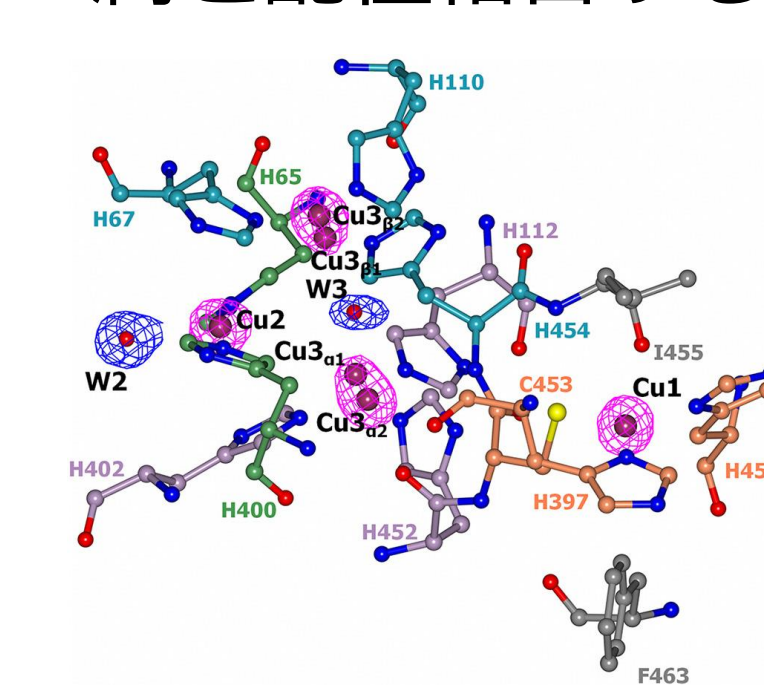
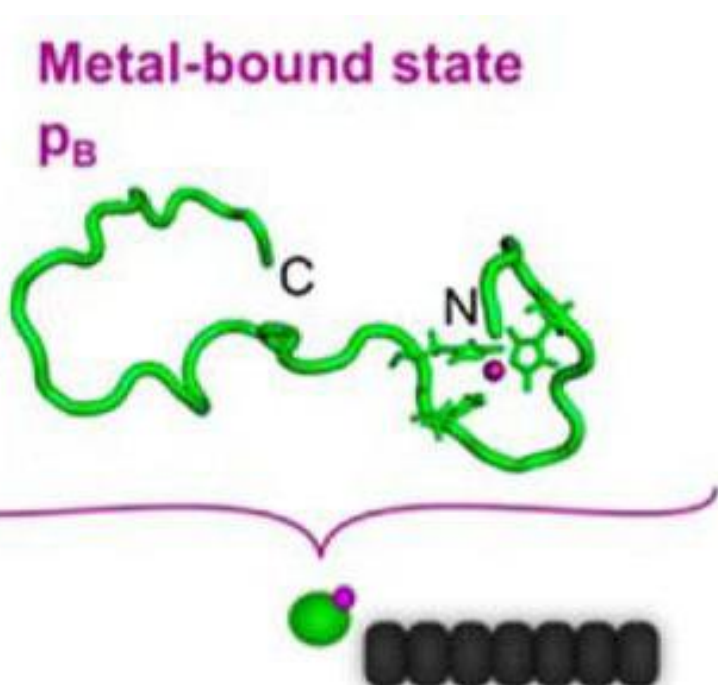
## 研究背景

### 生体中のヒスチジンと金属イオン



#### ヒスチジン

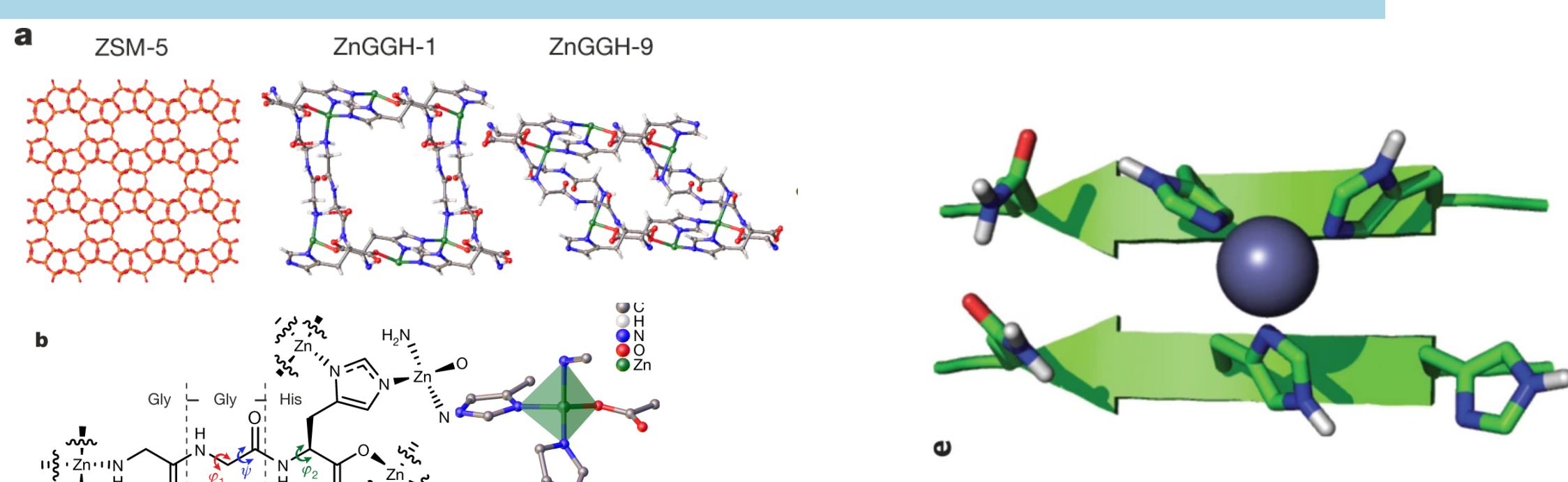
- 天然アミノ酸の1種
- イミダゾール基が金属と配位結合する



Wallin, Cecilia, et al. *Journal of Biological Chemistry* 295.21 (2020): 7224-7234.  
アミロイドの凝集を引き起こし、アルツハイマー病の原因となる

Olga A Glazunova, et al., *International journal of biological macromolecules*, 118:406-418, 2018  
フェノール分解酵素のラッカーゼなどの活性中心

### ヒスチジンと金属イオンを用いた材料研究



A. P. Katsoulidis, et al., *Nature*, 565, 213-217 (2019).

Rufo, Caroline M., et al., *Nature chemistry* 6.4 (2014): 303-309.

ヒスチジンと亜鉛イオンを用いた Metal-Organic Framework

亜鉛イオンと7残基のペプチドを用いた人工のエステル分解酵素

- 課題**
- 配列や金属イオンとの組み合わせが限られている
  - 配列の単純さと機能が両立していない

## 目的・アプローチ

アミノ酸4残基の、単純なペプチド配列の設計  
→容易な解析と機能の両立を目指す

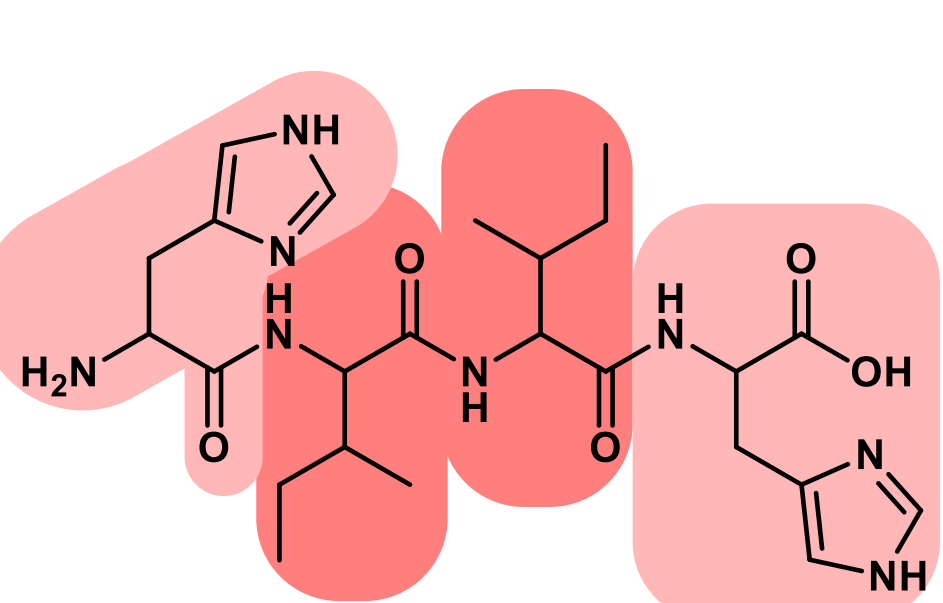
ヒスチジンを含むペプチドと金属イオンを結晶化  
→規則的な構造をつくる

偏光ラマン測定で構造を調べる  
→ペプチドのみの場合と構造を比較する

## 実験方法

### ペプチドと金属イオン

#### ペプチド- HIIH



#### イソロイシン(Ile)

疎水性が高く、βシートを形成しやすい

#### ヒスチジン(His)

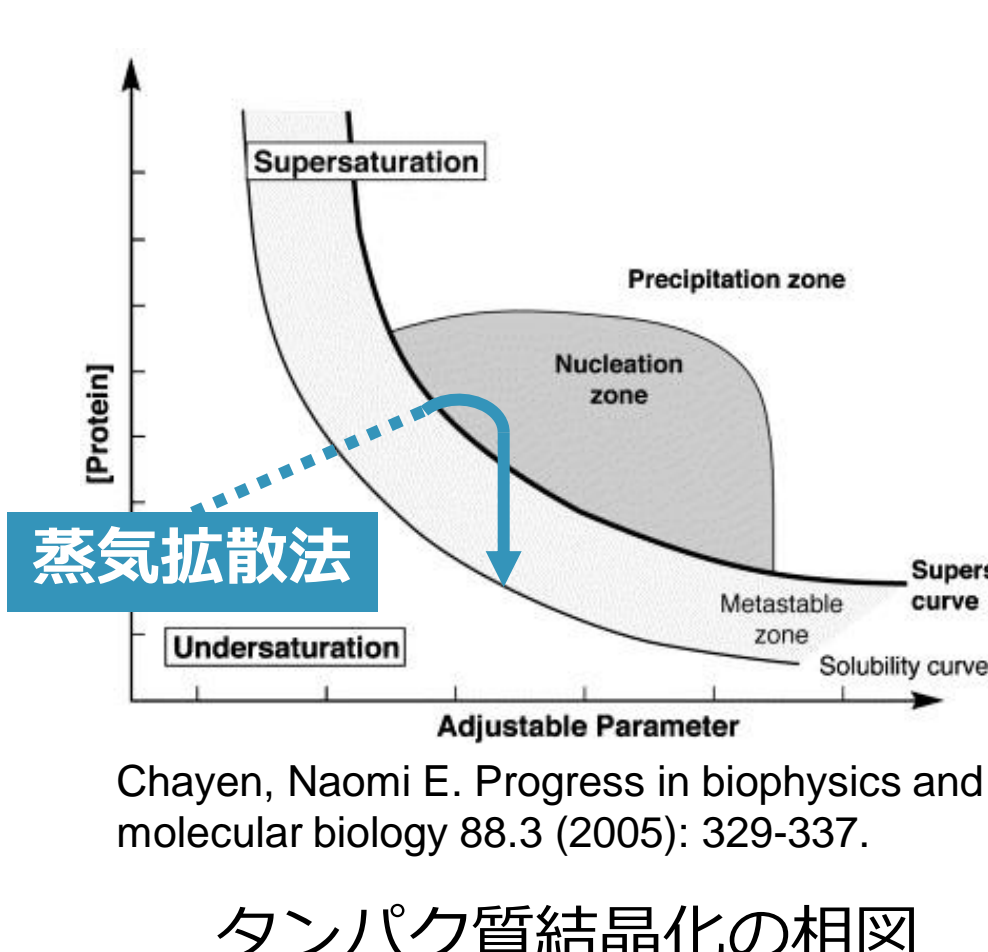
イミダゾール基が金属と配位しやすい

#### 銅(II)

ヒスチジンと配位結合しやすい金属イオン

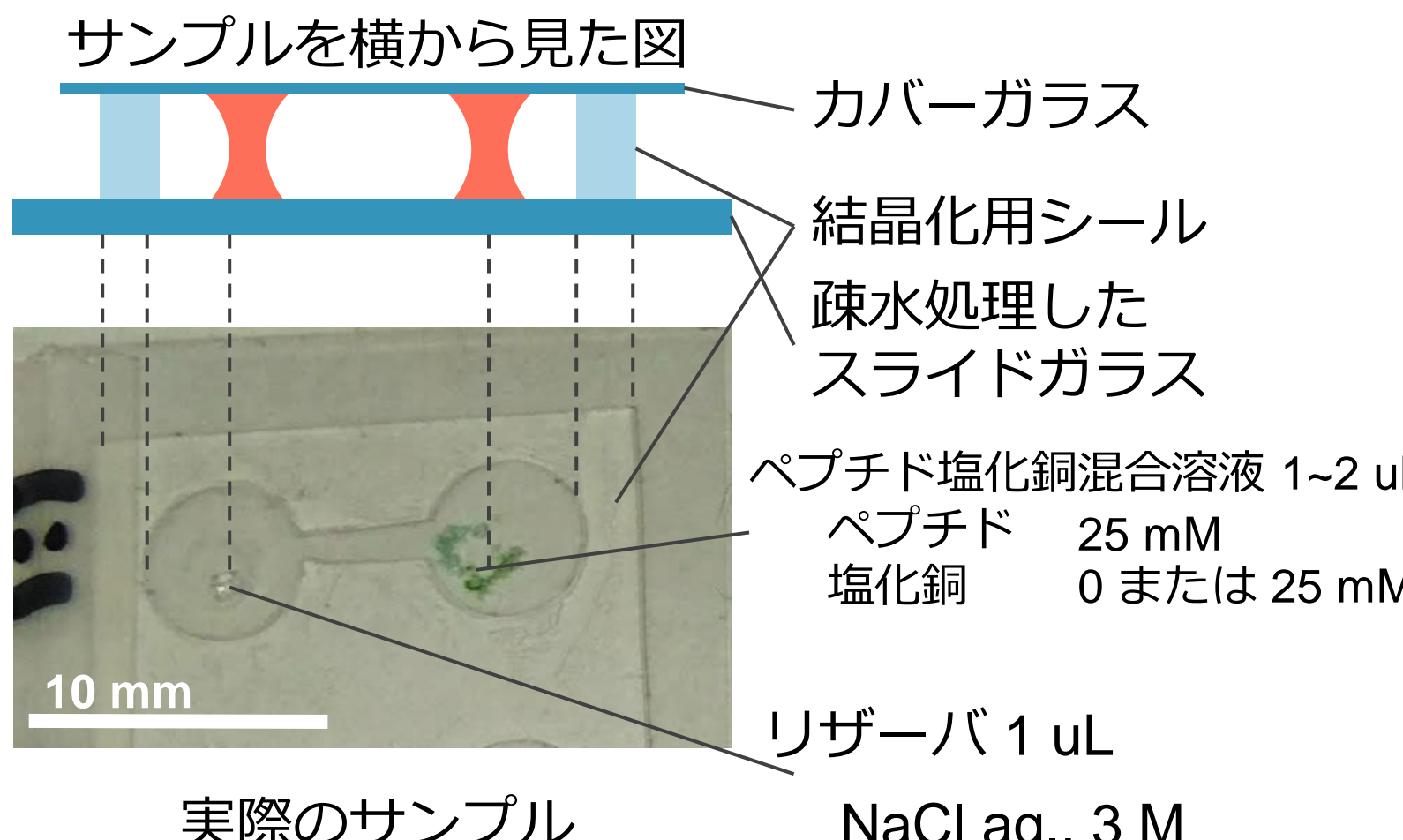
### 結晶化手法: 蒸気拡散法

タンパク質結晶化の代表的な手法



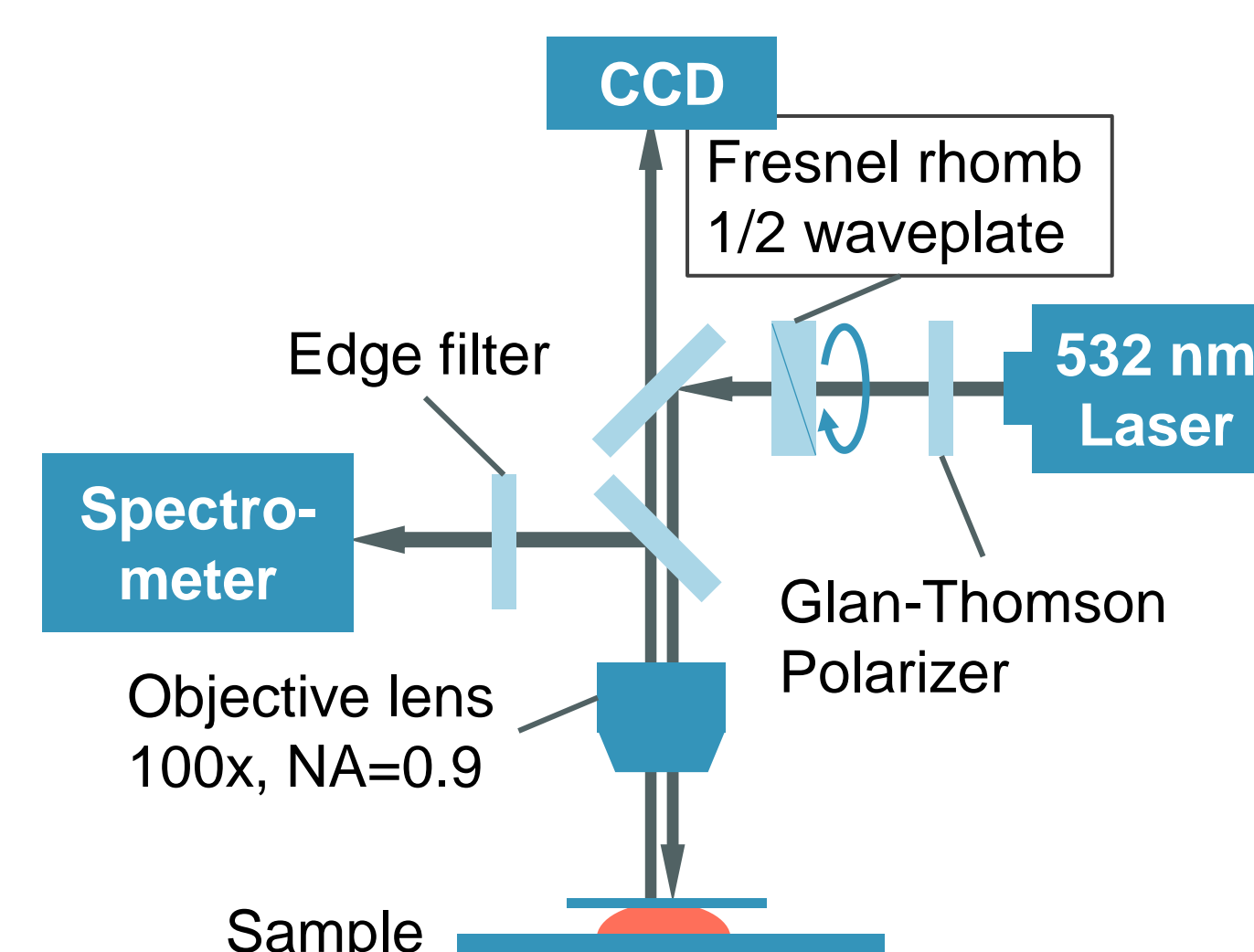
Chayen, Naomi E. *Progress in biophysics and molecular biology* 88.3 (2005): 329-337.

タンパク質結晶化の相図



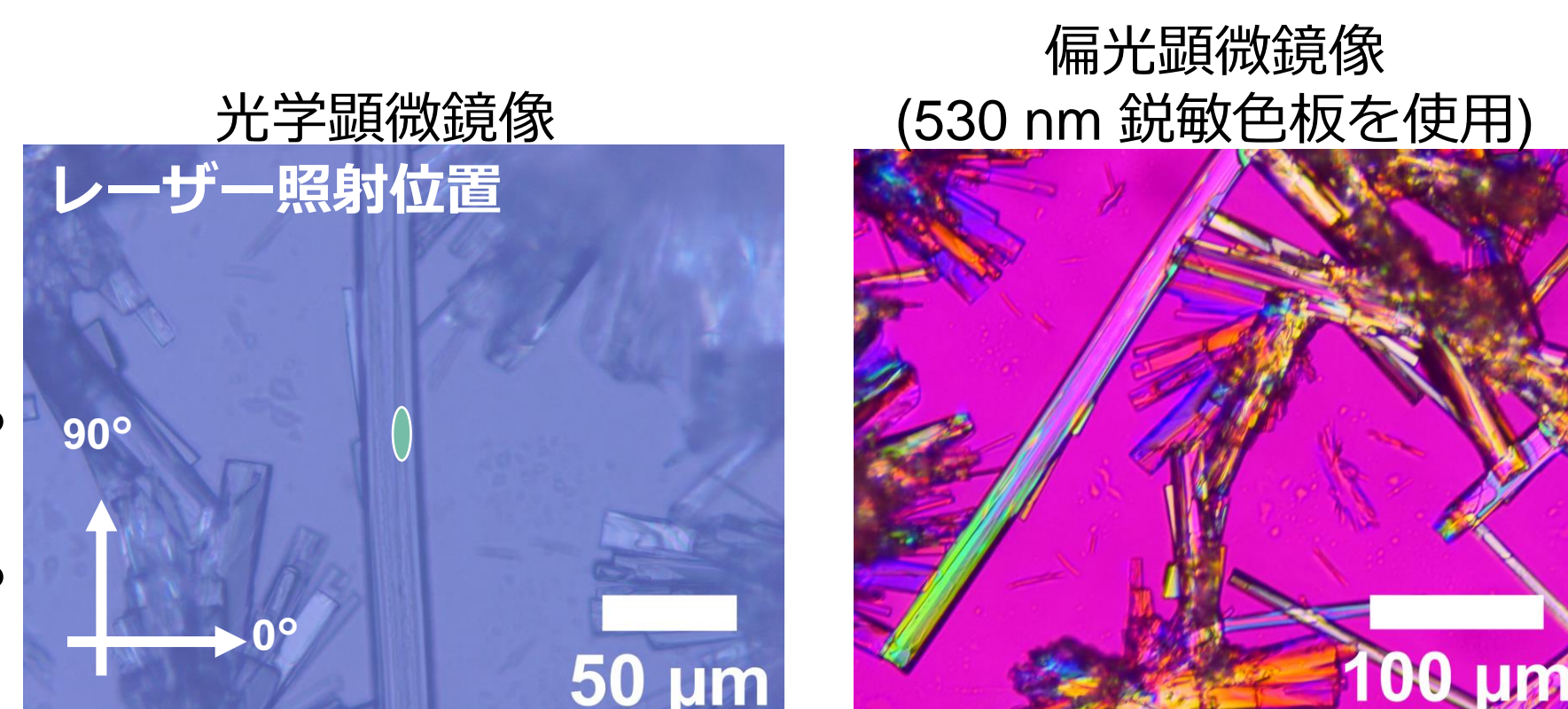
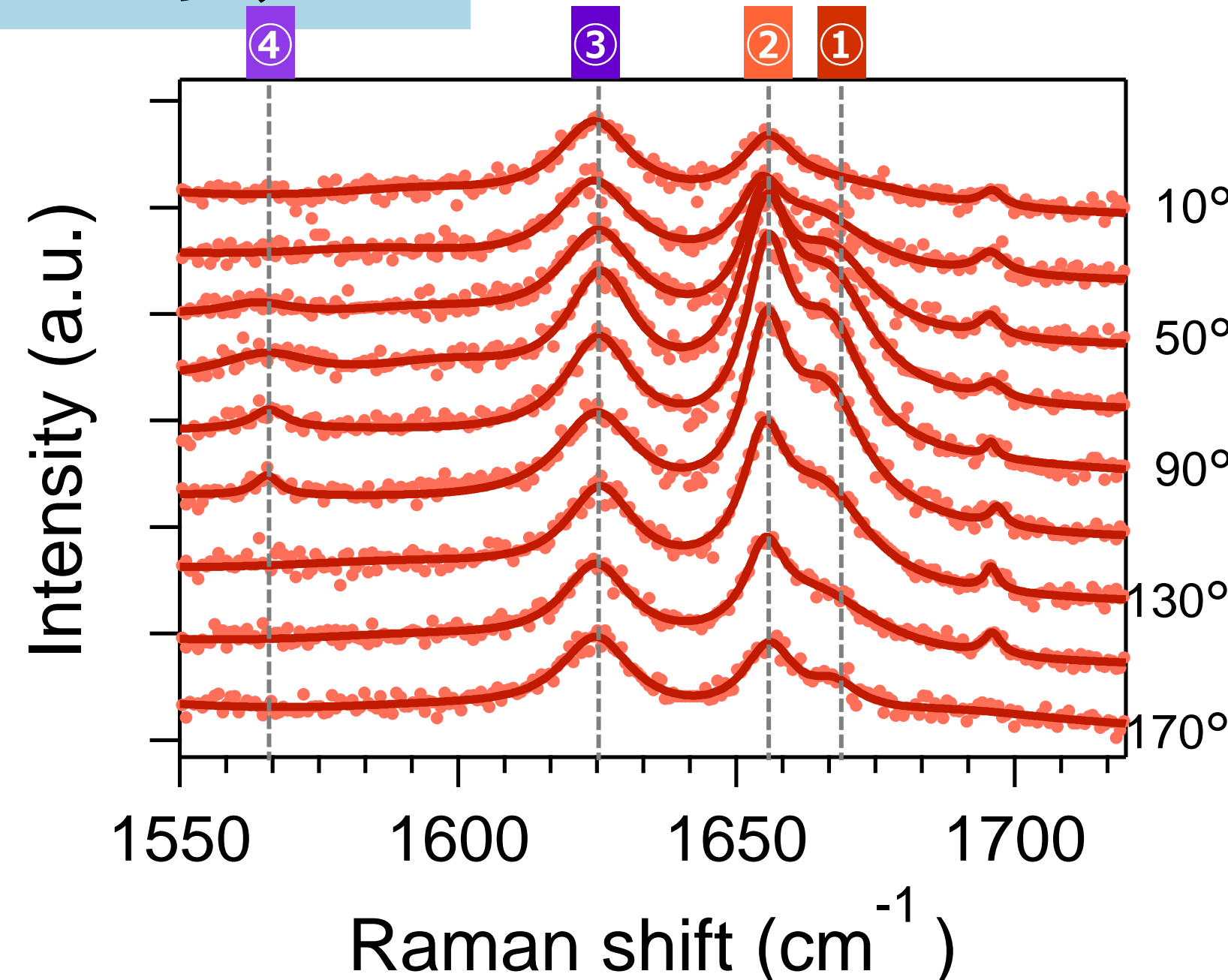
実際のサンプル

### 測定方法: 角度分解ラマン測定



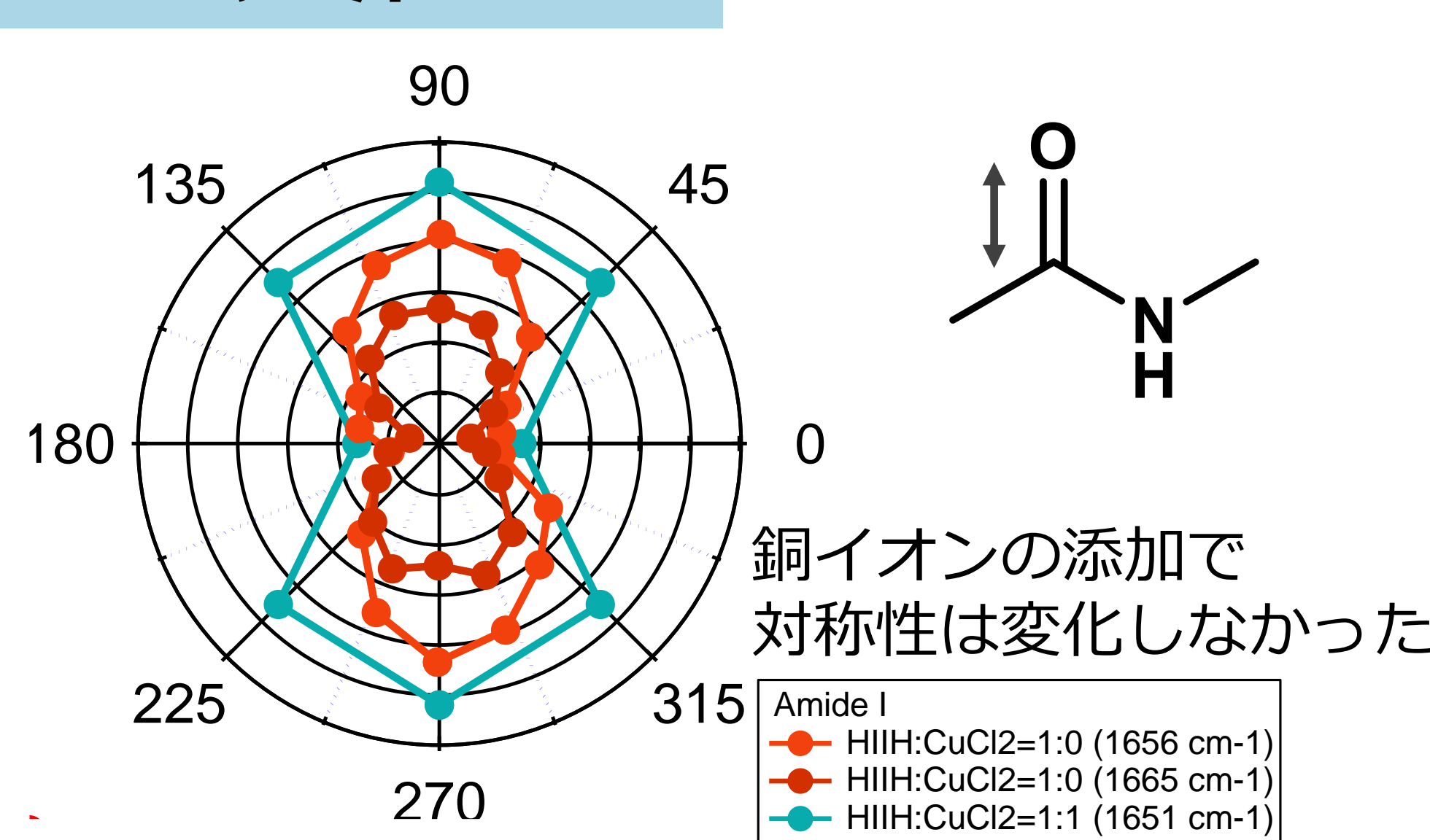
## 実験結果

### 偏光ラマン測定 HIIHのみ



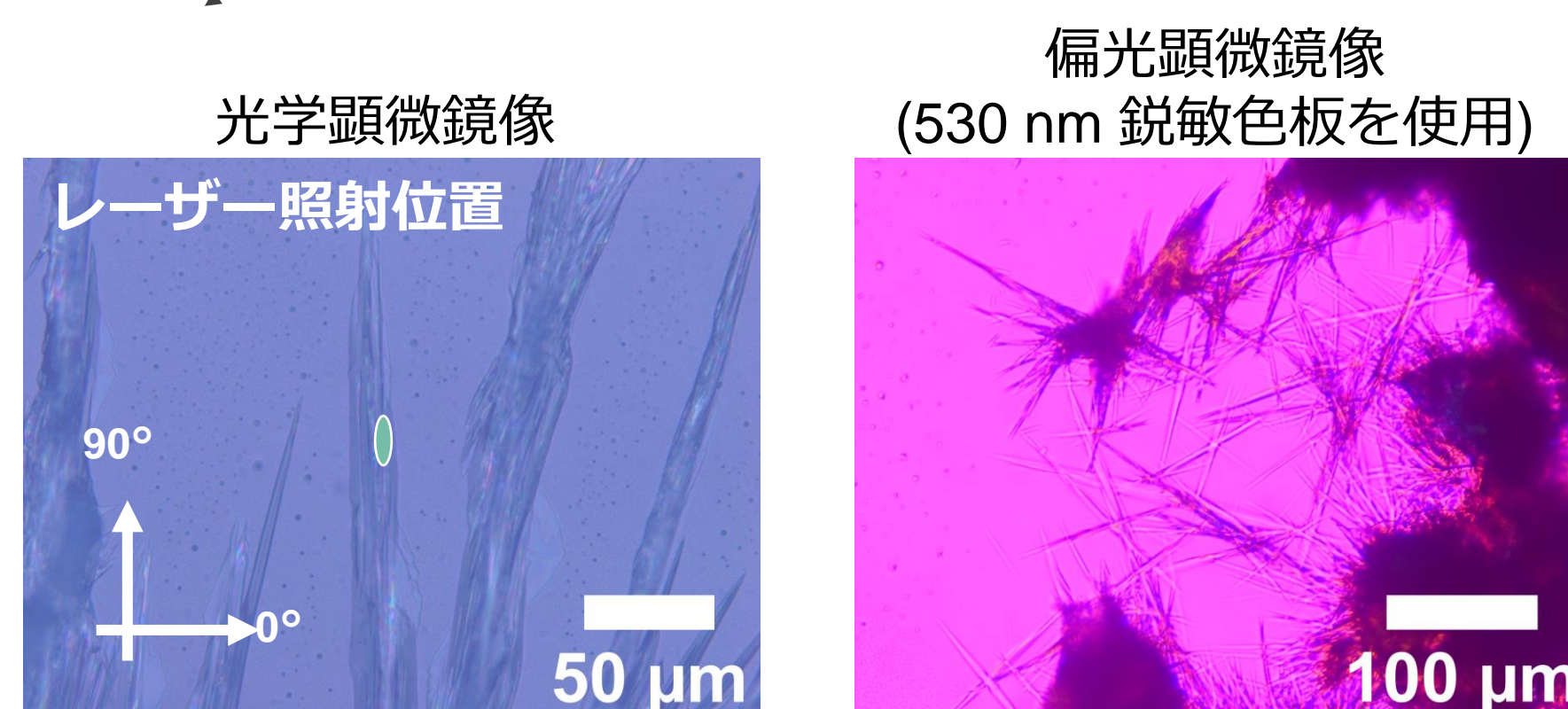
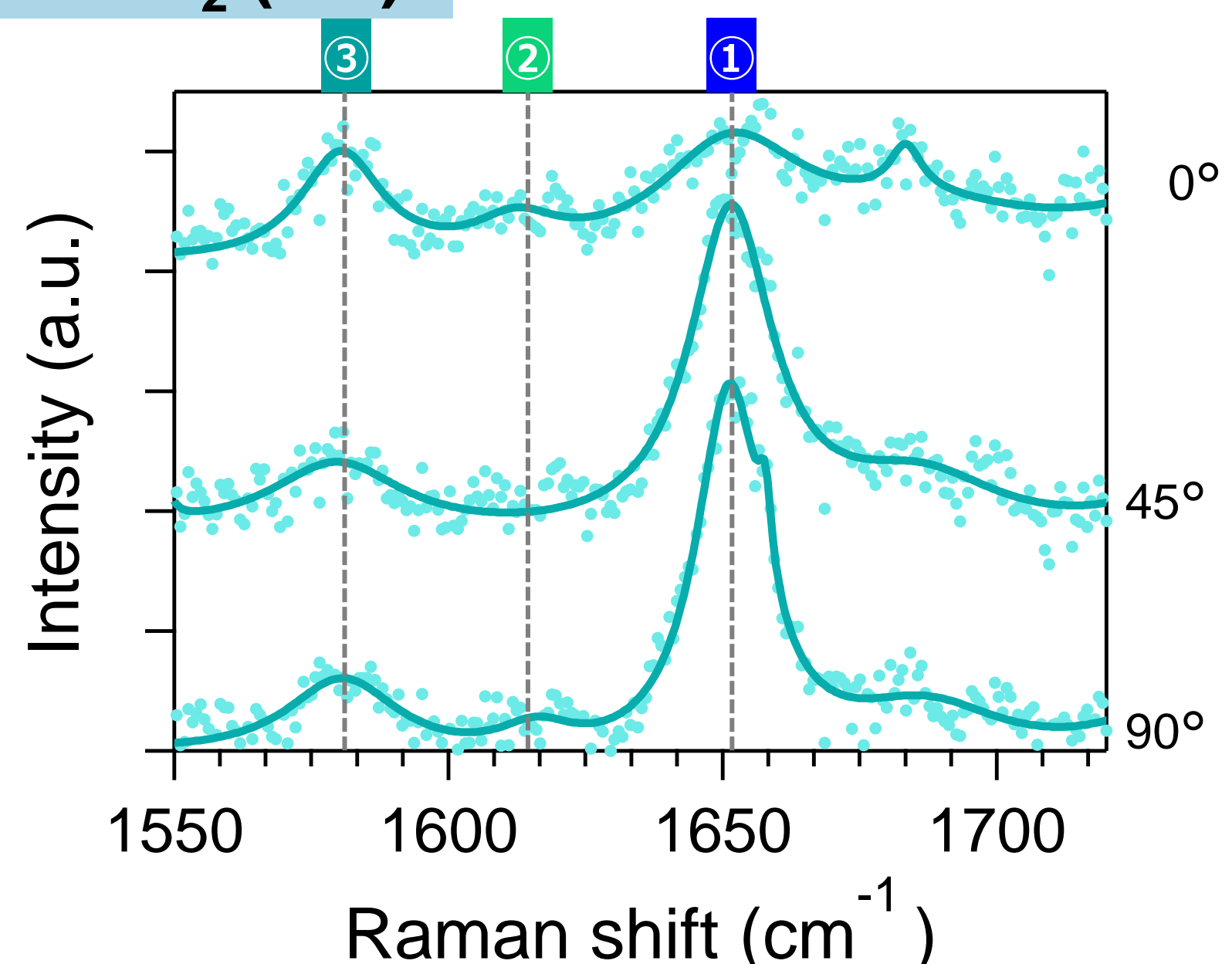
官能基	測定値(cm <sup>-1</sup> )	文献値(cm <sup>-1</sup> )
①アミドI	1665	1645-1670 [2]
②アミドII	1655	1645-1670 [2]
③イミダゾール基	1625	1627-1634 [1]
④イミダゾール基	1566	1568-1573 [1]

### 官能基の偏光依存性 アミドI



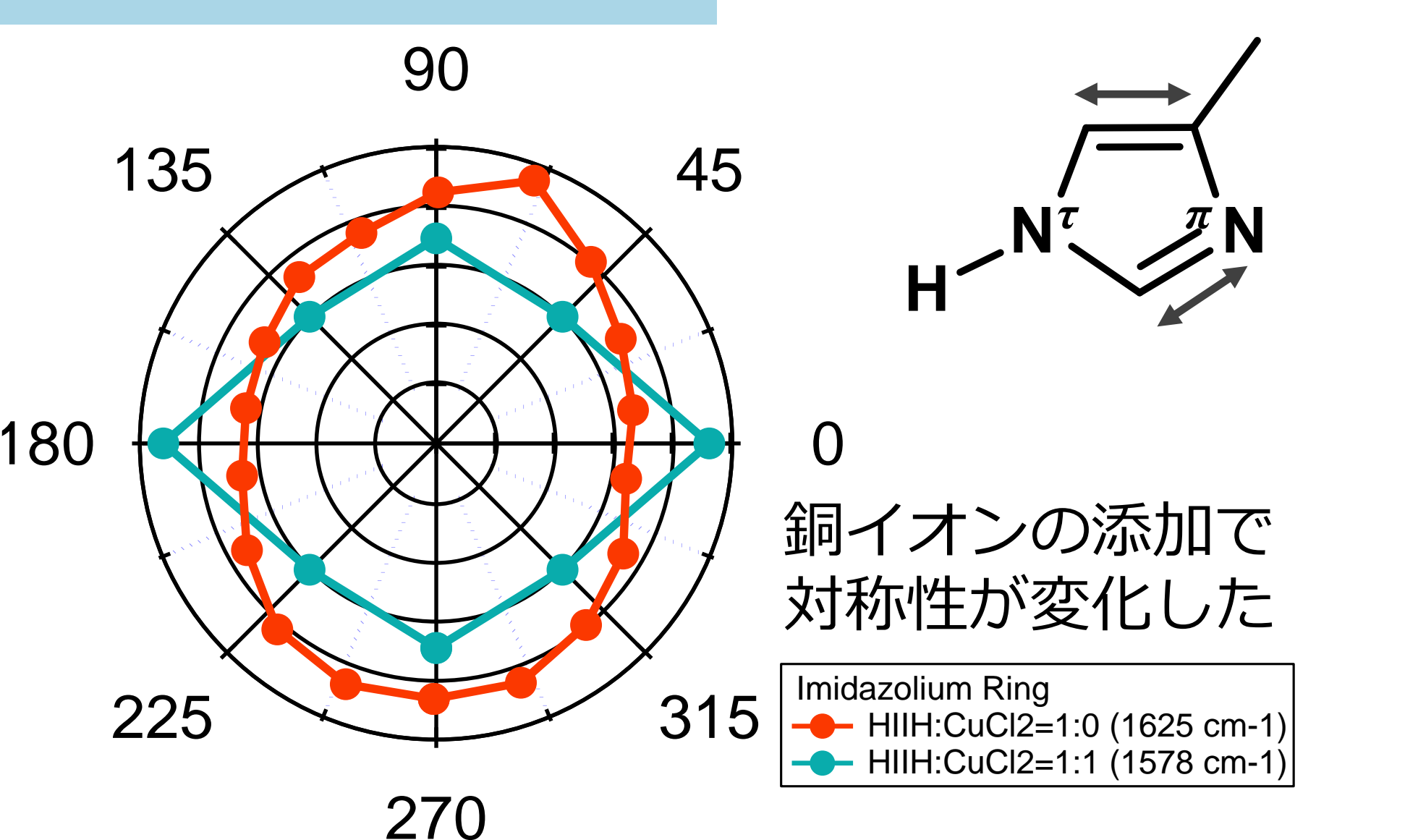
銅イオンの添加で対称性は変化しなかった

### 偏光ラマン測定 HIIH+CuCl<sub>2</sub> (1:1)



官能基	測定値(cm <sup>-1</sup> )	文献値(cm <sup>-1</sup> )
①アミドI	1651	1645-1670 [2]
②イミダゾール基	1611	1594-1606 [1]
③イミダゾール基	1580	1573-1590 [1]

### 官能基の偏光依存性 イミダゾール基

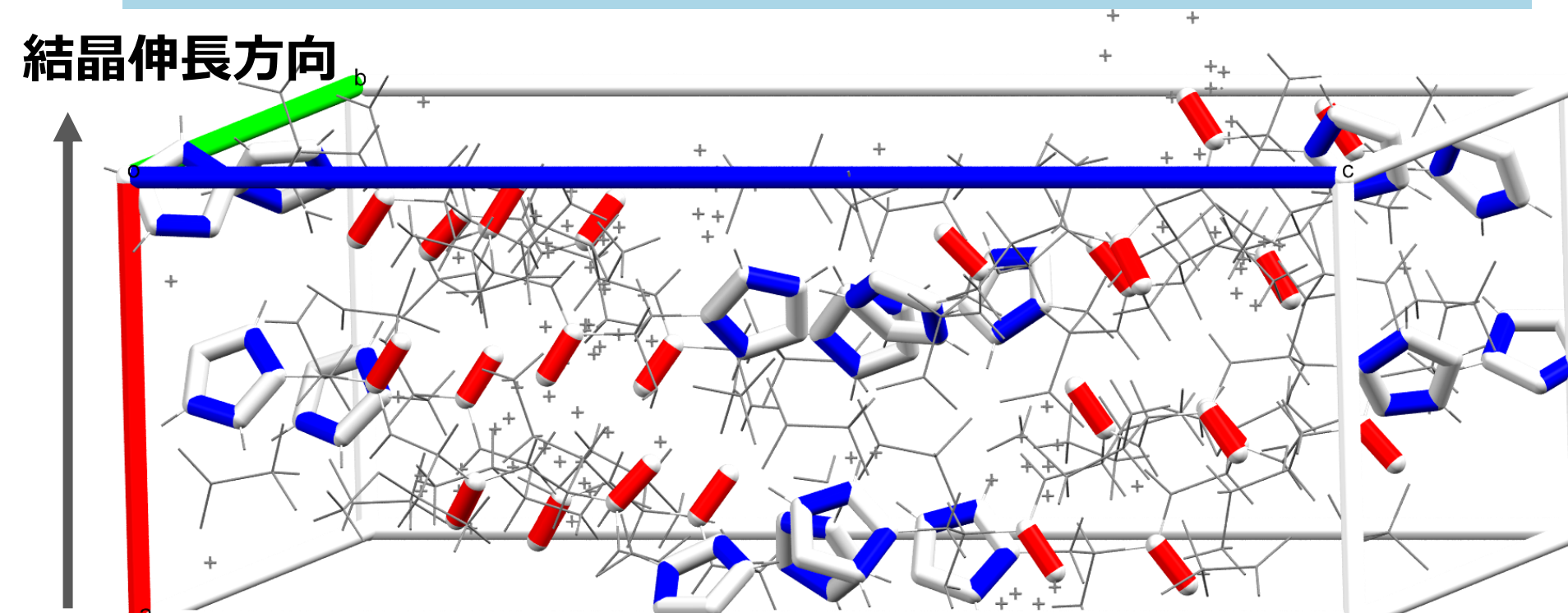


銅イオンの添加で対称性が変化した

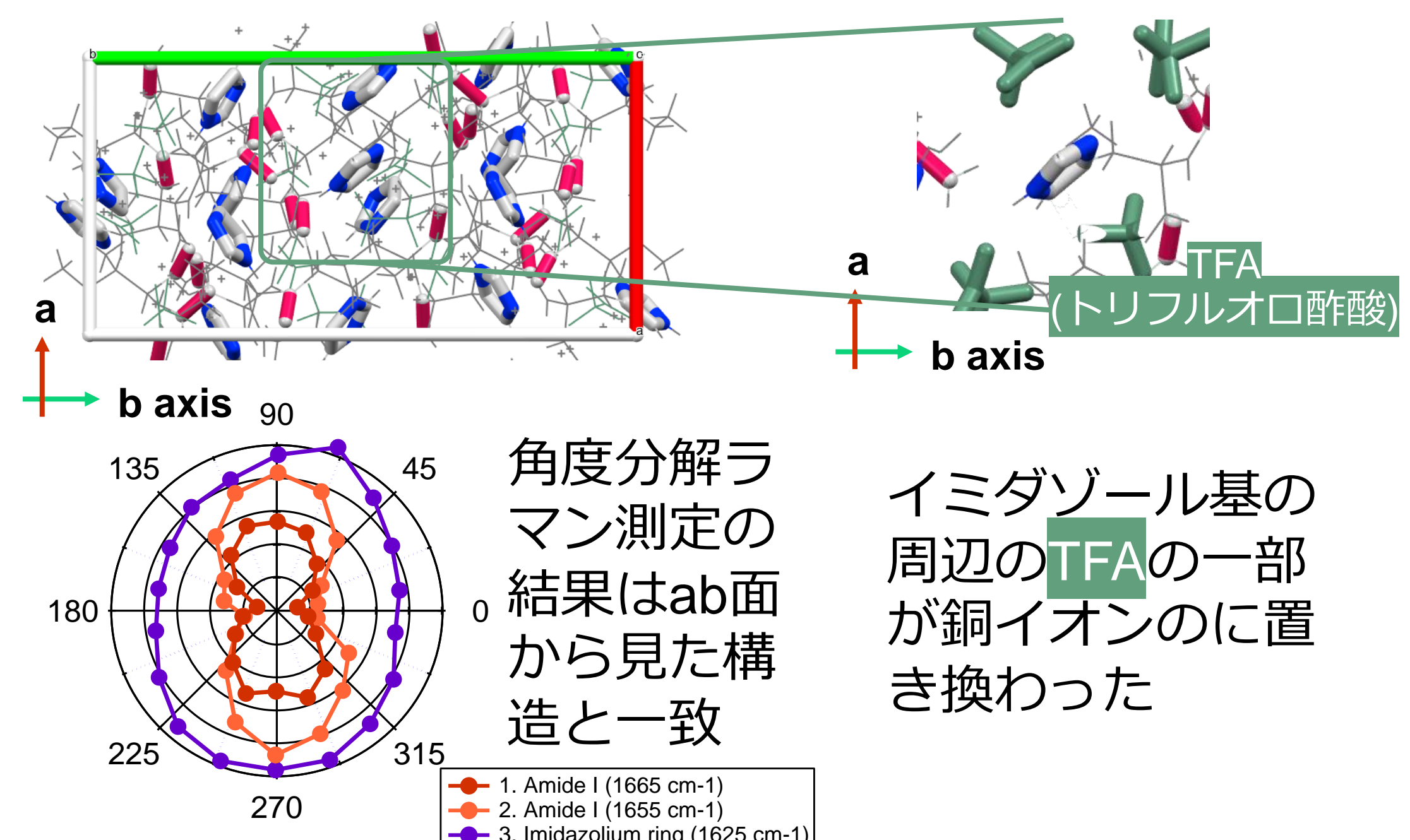
## 結論

- HIIHのみ、HIIHと塩化銅を混合した水溶液から、いずれも針状の結晶が得られた。
- ラマン測定で得られたピークを帰属したことで、水素結合距離及びイミダゾール基のプロトン化状態、金属との配位状態の変化が確認された。
- 結晶構造との比較を行うことで、銅イオンがイミダゾール基周辺に配位していることが推定された。

### 考察: HIIHの結晶構造との比較



測定条件など	Crystal characteristics
液体窒素ガスを吹きかけて測定	Space group P2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub>
測定装置 シナジー(リガク)	Cell lengths a 10.924 (4) b 21.607 (4) c 30.801 (5)
X線 Cu 1.54 Å	Cell angles α=β=γ=90°
R値 0.1296	
S. Vanessa, 修士論文(2022)	



イミダゾール基の周辺のTFAの一部が銅イオンの置き換わった