

## 核共鳴散乱による鉄貯蔵蛋白質フェリチンと鉄原子の相互作用の研究

### Study of the Interactions between the Iron Storage Protein Ferritin and Iron Atoms by Nuclear Resonant Scattering

春木 理恵<sup>a</sup>,瀬戸 誠<sup>b</sup>,北尾 真司<sup>b</sup>,小林 康浩<sup>b</sup>,三井 隆也<sup>c</sup>,依田 芳卓<sup>d</sup>,富永 昌人<sup>e</sup>,前田 豊<sup>f</sup>  
Rie Haruki<sup>a</sup>, Makoto Seto<sup>b</sup>, Shinji Kitao<sup>b</sup>, Yasuhiro Kobayashi<sup>b</sup>, Takaya Mitsui<sup>c</sup>, Yoshitaka Yoda<sup>d</sup>,  
Masato Tominaga<sup>e</sup> and Yutaka Maeda<sup>f</sup>

<sup>a</sup>高エネルギー加速器研究機構 物質構造科学研究所, <sup>b</sup>京都大学 原子炉実験所,

<sup>c</sup>日本原子力研究所, <sup>d</sup>高輝度光科学研究センター, <sup>e</sup>熊本大学 工学部, <sup>f</sup>関西外国語大学

<sup>a</sup>Institute of Materials Structure Science, KEK, <sup>b</sup>Research Reactor Institute, Kyoto University,

<sup>c</sup>JAERI, <sup>d</sup>JASRI, <sup>e</sup>Faculty of Engineering, Kumamoto University, <sup>f</sup>Kansai Gaidai University

鉄貯蔵蛋白質フェリチン中の鉄のコアのモデル物質として、鉄の無機塩、有機錯体の核共鳴非弾性散乱を大型放射光施設 SPring-8 の BL11XU 実験ステーションで測定した。

The measurements of nuclear resonant inelastic scattering from iron salts and iron complexes were performed at BL11XU in SPring-8 as a simple model of an iron core of an iron-storage protein, ferritin.

#### 背景と研究目的

フェリチンとは、動物、植物などの生体内に含まれる鉄貯蔵タンパク質である。タンパク質はほぼ球形をしており、その直径は 12nm で内径約 6nm の空洞を持ち、その中に鉄を取り込み、生体内で無害な形で鉄を貯蔵する役割を持つ。その性質を利用して、サイズが一定の内包空間を持つフェリチンをナノ粒子の反応場として用いることで、単分散で直径が同一のナノ金属化合物粒子の生成を行うことが出来る。このようなフェリチン内部におけるナノ粒子生成過程について明らかにするために、鉄原子の他分子との結合状態、振動状態、フェリチン内部における拡散状態を核

共鳴散乱法を用いて調べることを目的とする。

これまでにフェリチン内部の鉄クラスターの形状や、分子の組成などが調べられてきており、鉄がリン酸や水酸基と結合し、核を形成して成長していく様子などが報告されている<sup>1)</sup>。またメスバウア一分光法から、270K 付近より高い温度で鉄原子が拡散運動していることも指摘されている。しかしこまでの分光法ではタンパク質に囲まれた鉄を特定したダイナミクスを見ることは不可能であった。ここで、放射光を用いた核共鳴準弾性・非弾性散乱は、フェリチンのように複数の元素が混在する中から、微量に含まれる元素を特定して、動的な情報を得ることができるという

特色がある。フェリチンの鉄の結合状態を、これまでにモデル物質を用いて得られた結果と照らし合わせることで、内部の鉄のクラスター形成過程について解明していく。モデル物質からの結果と本研究での結果を比較することで、より複雑な構造を持つフェリチン内部でのタンパク質と鉄との相互作用について、発展させることができると考える。前回および前々回の課題 (2003B0504-ND3b-np-Na, 2004A0498-ND3b-np-Na) では、フェリチン内部の鉄原子数をフェリチン 1 分子当たり約 30 個から約 1000 個に調整したものを測定してきた。鉄原子がフェリチン 1 分子当たり 500 個以上では、鉄のコアの微粒子としての固体に似たフォノンスペクトルが得られたのに対して、30 個程度に減らしたものでは、低エネルギー部分に広いモード分布が見られた。この低エネルギー部分のモードが、鉄がフェリチン内部に取り込まれる段階での鉄原子のダイナミクスを表わしていると考えている。

今回の実験ではフェリチン内部における鉄のコアとの比較を行なうために、鉄の無機塩や有機錯体の核共鳴散乱を測定した。

## 実験

核共鳴非弾性散乱測定は BL11XU 実験ステーションで行った。蓄積リングは 11 トレイン  $\times 29$  バンチモードで運転された。 $^{57}\text{Fe}$  の核の第一励起準位の半減期は 98.3 ns なので、この崩壊シグナルを測定するために適したバンチ間隔が選ばれている。X 線は Si(111)で単色化されたあと、Si(975)と Si(511)を組み合わせた高分解能モノクロメータで、 $^{57}\text{Fe}$  の第一励起準位の 14.41keV の周辺を 1.7meV の分散を持った幅まで単色化して、サンプルに照射され

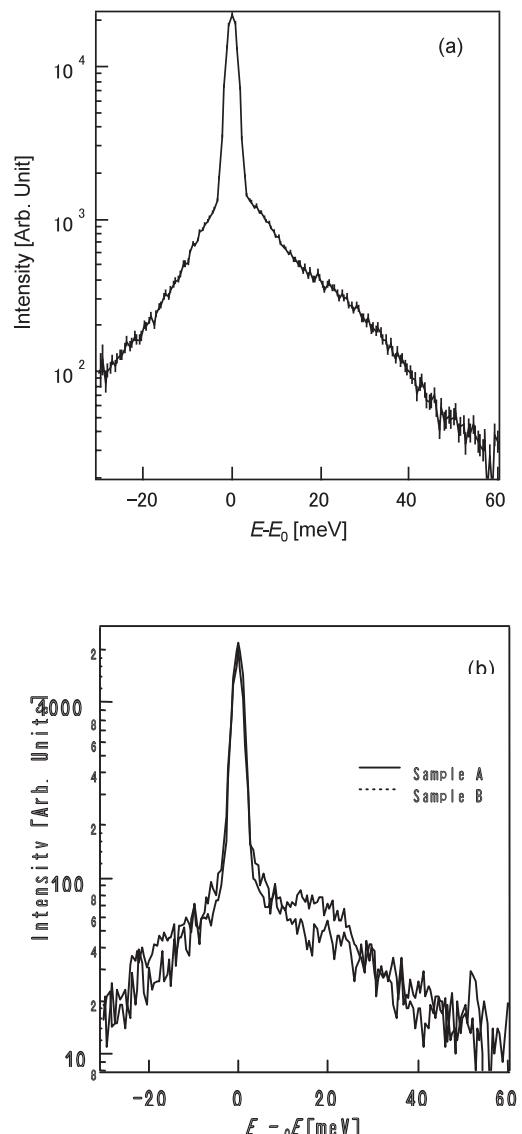


Fig. 1. (a)The nuclear resonant scattering data from iron phosphate (III) at room temperature. (b) The solid line shows the nuclear resonant scattering data from sample A and the broken line shows those from sample B. Both data are taken at a temperature of 277 K.

る。サンプルからのシグナルは、受光領域  $3 \times 5\text{mm}^2$  素子が  $2 \times 4$  個並んだアバランシェ型フォトダイオード(APD)検出器を用いて測定した。測定は室温および 277K で行なった。

## 結果および考察

Fig. 1 に前回と今回の核共鳴非弾性散乱の実験結果を表わす。Fig.1(a)には、今回測定を行なったリン酸鉄 (III) n 水和物からのデータを示す。Fig.1 (b)のサンプル A, B はそれぞ

れ前回までの実験で得られたフェリチン 1 分子当たり約 30 個および約 1000 個の鉄原子を含むものからのデータである。サンプル A のスペクトルはサンプル B のスペクトルに比べて、低エネルギーから高エネルギーに向かって緩やかな傾きが見られるが、この特徴がリン酸鉄からのデータにも見られる。リン酸は鉄のコアの形成に深く関わっているとされる物質である<sup>2,3)</sup>。そのため、サンプル A のデータにはリン酸鉄の成分が含まれており、その割合はサンプル B のデータより多いと考えられる。この他にもサンプル A からのデータには、ピークがいくつか見られることから、特有の振動モードを持った結合をした成分が含まれていると考えられる。のために、他の有機錯体のデータについても解析を進めている。

## 今後の課題

これまでにフェリチンの鉄のコアについて知るために、フェリチン 1 分子当たりの鉄原子数を 30 個から 1000 個に制御したもの用いて、鉄の錯体、塩との比較を行なってきている。今後は、鉄のコア生成における鉄原子と蛋白質との相互作用についてさらに詳しく調べるために、鉄のコアにおけるサイトを厳密に調整したサンプルなどを用いて、研究を進める計画である。

## 参考文献

- 1) N. D. Chasteen and P. M. Harrison, *J. Struct. Biol.* **126** (1999) 182.
- 2) Y. G. Cheng and N. D. Chasteen, *Biochemistry* **30** (1991) 2947.
- 3) H. Heqing, R. K. Watt, R. B. Frankel and G. D. Watt, *Biochemistry* **32** (1993) 1681.

## キーワード

- ・核共鳴散乱

核種に固有の励起エネルギーに単色化した X 線を照射し、特定の元素のダイナミカルな情報を得る手法。今研究においては、<sup>57</sup>Fe の 14.41keV の第一励起準位が用いられた。