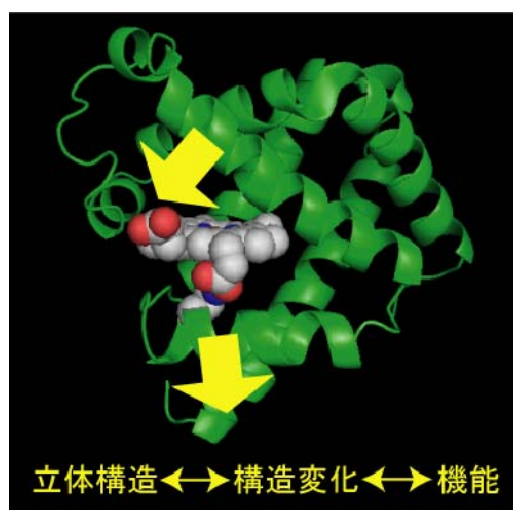


ディビジョン番号	1
ディビジョン名	物理化学

大項目	1. 分子分光学および分子集合体の構造
中項目	1-2. 時間分解分光
小項目	1-2-6. 生体関連振動分光

#### 概要（200字以内）

時間分解分光法のタンパク質ダイナミクス研究への応用について述べる。 $10^{-14}$ 秒オーダーの高い時間分解能をもった分光技術が開発され、光生物学反応の初期過程の研究に適用されている。また、レーザー温度ジャンプ法、高速混合法など、より広範囲に適用できる反応開始トリガーの時間分解能も向上している。今後は、タンパク質分子を高い時間分解能で部位特異的に観測する技術の開発などが進むと予想される。



#### 現状と最前線

タンパク質が機能する仕組みを理解するには、機能する過程の動的情報を得ることがきわめて重要である。なかでも、反応中間体の構造を同定することは、反応機構の解明に直結する。タンパク質の反応においてはサブピコ秒から秒の時間領域にわたって反応中間体が生じるため、これらの幅広い領域においてその構造を調べることが重要である。また、機能にかかわるタンパク質のダイナミクスには時間軸に階層的な広がりがあり、それが分子としてのタンパク質の特徴にもなっている。このような特徴を理解するためには、時間軸における広がりを広範囲に調べることが必要である。現在、タンパク質の立体構造研究には主にX線回折法が用いられている。X線回折法は、タンパク質全体の原子の位置情報に対して、一様に同質の情報を与え、タンパク質全体の平均構造（静的構造）を知るのに適している。これに対して、分光法がプローブできる部位はタンパク質分子の中の一部に限定されるが、対象とする部位についてはシャープな構造情報を与える。また、特に光を用いた分光法の場合、タンパク質分子の状態変化をとらえるうえで高い時間分解能を持っている点も大きな特徴である。したがって、現在は、X線回折法から求められた平均構造を基礎とし、それと時間分解分光法から求められた動的情報を組み合わせて、タンパク質の反応機構、機能発現機構が議論されることが多い。特に分子構造の変化は機構の理解に直接関わるため、時間分解分光法のもつ重要性は高まっている。

時間分解分光測定で最も広く採用されているポンプ・プローブ法では、用いる光のパルス幅が時間分解能を決定する主な因子である。最近では 10 フェムト秒オーダーのパルス光が市販のレーザーシステムを用いて比較的容易に得られるようになり、フェムト秒領域で起きるタンパク質の光化学反応の研究、特に、視覚や光合成など光生物学反応の初期過程についての研究が精力的に行われている。発色団でどのような光化学反応が起きるか、さらに発色団の反応と連動してタンパク質の構造にどのような変化が起きるかが種々の時間分解分光法を用いて研究されている。電子状態に関する分光、振動状態に関する分光ともに、時間分解能はほぼ原理的な極限まですでに高められており、「現象を観測する」という段階から「分光法の特徴を活かし、観測されるものの中から生理的に重要な要素を引き出す」という段階に移っている。

光化学反応を利用する方法では、サブピコ秒からの非常に速い時間領域のダイナミクスを調べることができる。しかしこの方法はすべてのタンパク質に適用可能ではなく、むしろタンパク質全体のなかで光化学反応を起こすものは少数である。タンパク質の光化学反応を利用する以外の反応開始トリガーとして、(1) 高速混合法、(2) レーザー温度ジャンプ法、(3) ケージド化合物を用いる方法が利用されている。

(1) には、2 種類の試料溶液の急速な混合によって反応を開始するため、広範囲のタンパク質反応に対して適用できるという大きな特徴がある。混合に要する時間が不感時間となり、これが時間分解能を決める。従来不感時間は数ミリ秒あったが、最近装置の改良によって数十マイクロ秒にまで改善されている。この方法を使ってサブミリ秒領域のフォールディング反応や酵素反応のダイナミクスが調べられている。

(2) 近赤外領域の強力なパルス光を水に吸収させることによって、水溶液の温度をナノ秒オーダーでジャンプさせる手法が開発された。この手法を用いて、フォールディング反応のダイナミクスが調べられている。

(3) 生理活性分子のケージド化合物を利用し、光照射によって生理活性分子とタンパク質との反応を開始させる。この場合、混合による不感時間はないので、高速混合法に比べ高い時間分解能が得られる。

物理化学研究の場合、早い時間領域が注目されがちであるが、先に述べたようにタンパク質のダイナミクスは時間軸に広範囲に広がっている。また、酵素反応として重要な過程はマイクロ秒～ミリ秒領域に多い。タンパク質ダイナミクスの理解には、それぞれの時間帯の特徴的な現象に着目し、かつ全体がどのように連動しているかを明らかにしていくことが重要である。

将来予測と方向性

- ・ 5 年後までに解決・実現が望まれる課題
  - 一分子分光法の時間分解能向上 (マイクロ秒)
  - 分子量の大きな生理活性物質のケージド化合物合成
- ・ 10 年後までに解決・実現が望まれる課題
  - 不感時間をサブマイクロ秒にする高速混合技術の開発
  - タンパク質の各残基の動きをサブピコ秒の時間分解能で観測する技術の開発

キーワード

光生物学、タンパク質高次構造変化、タンパク質フォールディング

(執筆: 水谷 泰久)