

2004, Nov.

No. 200

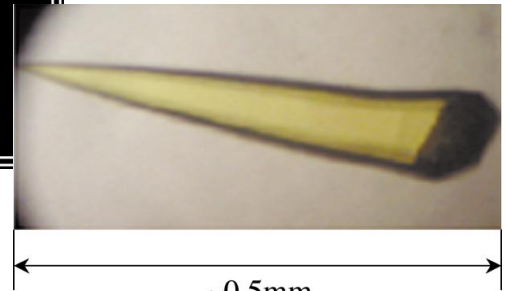
## CONTENTS

■蛋白質結晶の光反応

■『光と蔭』EDWARD TELLER LECTURES - Lasers and Inertial Energy -

■ $\gamma$ 線核反応中性子計測

【表紙】PYP(Phytoactive Yellow Protein)の立体構造(by Dr. J.Hendriks )  
とPYP単結晶の写真(奈良先端技術大学院大学今元助教より提供)



~0.5mm

## 蛋白質結晶の光反応

レーザーバイオ科学研究チーム 谷口誠治  
コスロ-ビアンハイク  
又賀昇

## ■光受容性蛋白質の光反応性の違い

生体内で様々な役割を果たす蛋白質の高い機能性には、アミノ酸残基により巧みに構成される蛋白質の「構造」が深く関与していると考えられ、蛋白質構造と機能性(反応性)との関連性について明らかにすることはバイオ研究の大きな課題である。これらに関する重要な要素の一つに「蛋白質の結晶化」が挙げられる。これは蛋白質の立体構造を、X線結晶構造解析により明らかにするために必要な技術であり、ポストゲノム計画の一つ

(蛋白質のアミノ酸配列と立体構造のデータベース化)として盛んに研究が行われている分野でもある。またこれらの技術が進むにつれ、蛋白質結晶の応用(バイオチップへの導入による検査システムとしての利用等)を指向した研究も最近見られるようになってきた。しかし一方で、蛋白質は本来生体膜または溶液中で機能するため、環境の異なる結晶状態でも同様の機能を発揮できるかどうかについては疑問があり、それを指摘する報告例も見られる。結晶状態と溶液状態での蛋白質の機能性

次ページへつづく▶

の相違について正確な情報を得ることは学術上重要な点であるばかりでなく、応用分野においても必要なことであると思われる。

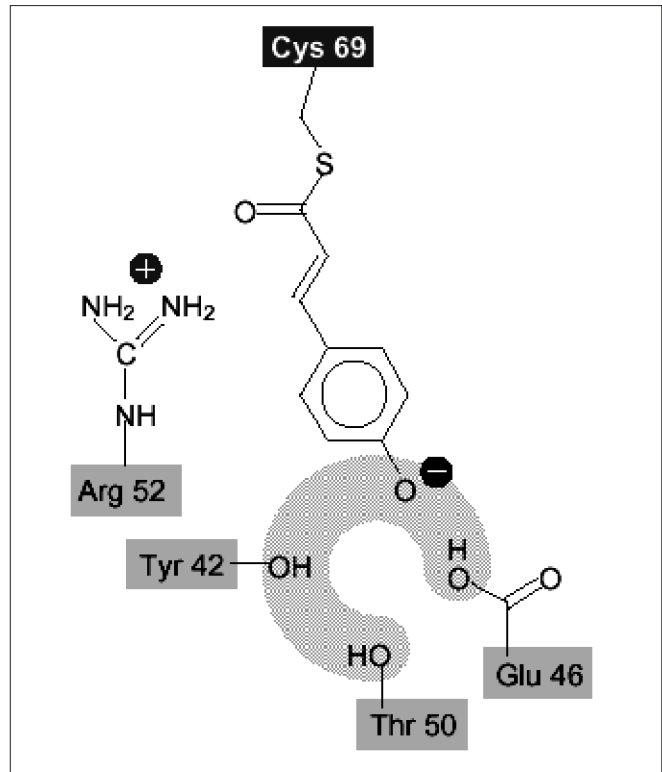
われわれの研究グループでは、蛋白質機能のメカニズムを解明することを目的として、光に直接応答する蛋白質(光受容性蛋白質)の光反応について研究を行っており、その反応は蛋白質環境場の微弱な変化により大きく影響されることを見だしてきた。本稿では溶液中と結晶中における光受容性蛋白質の光反応性の違いについて、われわれが新たに取り組んでいる研究も含めて紹介する。

### ■ PYPの光サイクル反応

光受容性蛋白質(光を直接吸収して反応および蛋白質の構造変化を引き起こす蛋白質)の一つとして代表的なものにPYP(Photoactive Yellow Protein)が挙げられる。PYPは青色光から逃げる性質を持つ好塩菌(*Halorhodospira halophila*)中に含まれる蛋白質で、青色光を吸収する発色団(*p*-クマル酸)を持つ。*p*-クマル酸は基底状態では脱プロトン化しており、一方は蛋白質と共有結合で、もう一方は周囲のアミノ酸残基(チロシン(Tyr42)、グルタミン酸(Glu46)と)の水素結合ネットワークで安定化されている(図1)。PYPは発色団の光吸収による異性化反応がトリガーとなり、蛋白質の構造変化を伴ういくつかの中間体を経て元の状態に戻る光サイクル反応を示し、いわゆるバクテリアの「目」の機能を果たす蛋白質であると考えられている。またPYPは小さな蛋白質で構成アミノ酸残基数が125と少ない)あり、光に対する耐性も比較的高く、ロドプシンなど典型的な光受容蛋白質との類似点も見られることもあり、蛋白質の光機能を解明するためのモデルとなるものとしてその反応メカニズム、ダイナミクスの解明に興味を持たれている。

### ■溶液中および結晶中における反応中間体の相違点

PYPの光反応ダイナミクスの解明のため、近年パルスレーザーとX線パルスを組み合わせた時間分解結晶構造解析による観測が行われた。これにより、蛋白質の主な構造変化は発色団近辺のみであることや、反応中間体ではGlu46と*p*-クマル酸の水素結合が切れ、さらには*p*-クマル酸が完全に回転してアルギニン(Arg52)と水素結合すること等が明らかとなった。この結果は、蛋白質の構造変化を「直接」とらえる手法として時間分解X線構造解析が非常に優れたものであることを示したものである。しかし一方で、従来行われてきた溶液中での過渡吸収や低温トラップによるIR測定などの分光手法による結果との相違点も指摘されている。つまり、溶液中では中間体は発色団近辺以外の部分でも構造の変化が見られることから構造自体が結晶



【図1】発色団(*p*-クマル酸)と周辺のアミノ酸残基

中とは異なっており、また中間体のGlu46と*p*-クマル酸の水素結合はむしろ強くなっているものである。これらの結果は、結晶中と溶液中ではPYPの反応ダイナミクスが大きく異なっており、それぞれを区別して考える必要があることを示している。

### ■PYPの光初期異性化反応

われわれの研究グループではPYPの光反応に関して、一連の反応のトリガーとなる発色団*p*-クマル酸の異性化反応(図2)に焦点を絞り、時間分解蛍光測定による反応ダイナミクスの研究を行ってきた。時間分解蛍光測定法は分光手法として代表的なものの一つであり、*p*-クマル酸からの蛍光減衰をフェムト秒レベルで観測することにより、周囲の蛋白質環境に影響された異性化の様子をとらえることが可能である。この研究については本誌においても過去に報告してきたが、簡単にまとめると以下のようなになる。

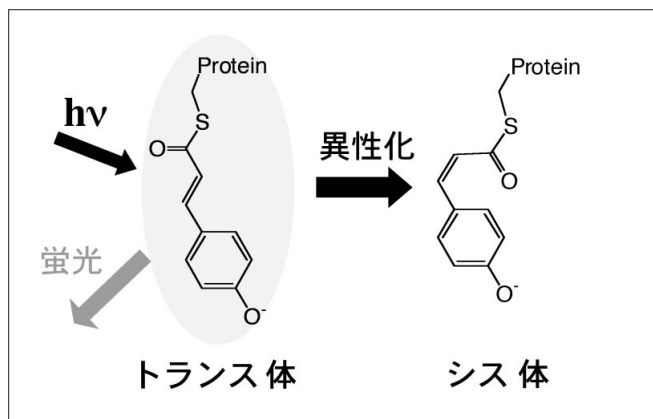
- ・ *p*-クマル酸の光異性化は約100フェムト秒の反応寿命成分を含む超高速過程である。
- ・ 蛋白質の構造を解いた状態では光異性化は起こらない、あるいは非常に遅くなる(>30ピコ秒)。またアミノ酸の一部を別の種類のものに改変(ミューテーション)することによっても同様に異性化反応速度は遅くなり、さらに改変箇所によっても反応速度は変化する。

・光励起により $p$ -クマル酸の特定の分子振動(面外骨格振動 $_{16}$ モード)が誘起され、超高速異性化の原因となっている可能性がある。

異性化反応におけるこれらの特性はいずれも蛋白質内反応に特有のものであり、蛋白質構造による反応制御がフェムト秒レベルの超高速領域にまで及ぶことを明確に示している。

### ■結晶中の異性化反応のダイナミクス

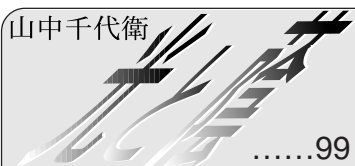
一方、これらの結果は溶液中で観測されたものである。では結晶中の異性化反応のダイナミクスはどのようになるのであろうか。この疑問を明らかにするには、結晶中での挙動を溶液中と同様の手法により観測し比較することが良い方法であるように思われる。そこでわれわれは現在、単結晶状態のPYPについてもフェムト秒時間分解蛍光測定を行い、反応ダイナミクスの比較を行った。図3(次ページ)に結果の一部を示す。図中、青線は溶液中、赤線は結晶中の $p$ -クマル酸の蛍光(観測波長は蛍光スペクトルのピーク付近)減衰曲線であり、異性化反応が速いものほど光励起後の経過時間(横軸)に対する蛍光強度の減衰



【図2】 $p$ -クマル酸の光初期異性化反応

度も大きくなる。結果から明らかなように、結晶中での異性化は溶液中よりも遅くなっており、反応ダイナミクスはやはり異なっている。この要因として考えられることとして、空間自由度の制限がある。つまり、結晶中では蛋白質間の距離が近く構造変化に必要な自由度が制限されているため、光に対する反応性が低くなっているものと考えられる。また、結晶中では周囲

山中千代衛



## EDWARD TELLER LECTURES - Lasers and Inertial Energy -

Edward Teller(1908-2003)は20世紀の偉大な物理学者の一人である。残念なことに昨年他界した。『Physics Today』8月号(2004)に「テラーの科学的人生」と「パブリックアリーナ(政界)のテラー」と題する2篇の追悼記事が出ている。いわゆるハンガリー生まれのユダヤ人学者で、貧しい農業国ハンガリーの中から傑出し、ヒトラーの圧政に抗してアメリカに流出、物理学で名をなし、核戦力の必要性を訴え、遂に水爆の父との異名を奉られた人物である。SDIの必要性を唱え、レーザー核融合の平和利用にも情熱を傾けた。前半の研究人生では有名な多原子分子の縮退解消にかかわるヤーン・テラー効果や崩壊の選択規則であるガモフ・テラー遷移を見いだしている。

さて本題に戻ろう。先号でも触れたが、H. HoraとG. Mileyが標記の本を編集した。Imperial College Pressの出版で12月に発売になる。E. Campbellが前書きを書き、テラーの講話とテラー賞受賞者の記念講演が集められている。昨日その前刷りの仮綴じ本が送られてきた。多分出版社に推薦文を書いたお礼のつもりだろう。

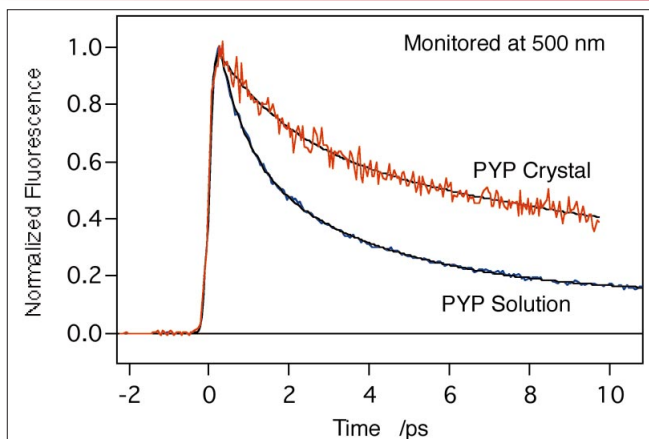
エドワード・テラー賞は元をたせばH. Horaが演出したもので、彼とH. Schwarzが始めたLaser Interaction and Related Plasma Phenomena Workshop(LIRPP)第10回のモンレー会議で第1回の授与が行われた。受領者は私とJ. Nuckolls、N. BasovおよびH. Horaであった。LIRPPは1997年第13回で終了し、1999年からはInertial Fusion Science and Application Conference(IFSA)に衣替えし、引き続き会議の場でテラー賞が授けられている。大阪大学からは私の後に中井貞雄、高部英明の二人がテラーメダルを受けている。賞の受賞者などからなる選考委員がこの時期即ち会議開催前年の年末にレーザー核融合へ優れた貢献をなした候補者を選定することになっている。

選考委員長はG. Miley(1991)、H. Hora(1993、1995)、J. Nuckolls(1997)、E. CampbellとB. Hogan(1999、2001、2003)が務めている。ぼつぼつ日本から委員長を出すべきころ合いである。

ところでこの本にあるテラーの講話は今もって人をひきつけるド迫力がある。一読をお勧めする次第。

【(財)レーザー技術総合研究所 研究所長】

に水がほぼ存在しないため、蛋白質内での水素結合相互作用が変化し反応性に影響している可能性も考えられる。ただし結晶の反応ダイナミクスに関しては、励起光偏向や結晶表面の状態等の影響を受けやすいため、さらに詳細な議論が必要であり、このため現在フェムト秒蛍光分光法と顕微分光法を組み合わせた測定システムを作成してそれらについての研究を進行中である。PYPに関するわれわれの研究は、奈良先端技術大学院大学物質創成科学研究科片岡研究室(今元助教)大阪大学大学院理学研究科徳永研究室の両研究室の協力の下で行われており、御協力には深く感謝いたします。



【図3】溶液、結晶中におけるPYPのフェムト秒蛍光減衰(時間分解能~220fs)

NEWS

## 線核反応中性子計測

レーザーエネルギー研究チーム 今崎一夫

### ■光の蓄積で核を変換する可能性

当研究所では光を蓄積することにより、高エネルギー電子との相互作用で高効率コンプトン散乱を誘起し核を変換する可能性について調べている。これは線のエネルギーを電子エネルギーと光波長によりチューニングし、核の巨大共鳴に同調することにより核反応が起こり、異なる核に変換されることを用いる方式である。このとき線による核の巨大共鳴により中性子が発生する。これまではスーパーキャビティー線による核変換研究において線発生、スペクトルやその反応率を兵庫県立大学(旧姫路工大)のニュースバル電子蓄積リング等において調べてきた。今後反応時に誘起される中性子の計測を行う計画であり現在準備が進められている。

### ■中性子に入るエネルギーの計算

この中性子は核変換の二次的な反応に使用することができる。変換量の増大やエネルギー回収に寄与する。核の巨大共鳴物理はよく解明されており、中性子に入るエネルギーもかなりの精度で計算できる。図におおよその中性子エネルギースペクトルを示す。入射線のエネルギーを17MeVとしている。

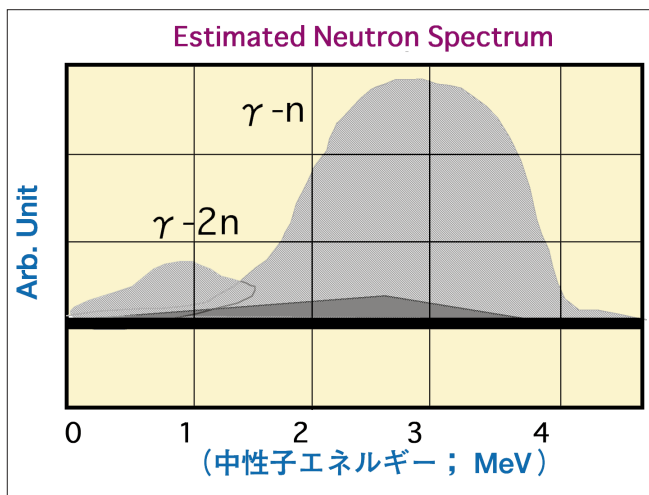
### ■核融合中性子計測に用いられる方式

高次の  $\sim 2n$  反応も起こるが影響は少ない。このような中性子の計測をシンチレーターを用い、反応の原点 = ガンマ線照射時から中性子到達の飛行時間法で、中性子のエネルギースペクトルを調べる。これは核融合中性子計測によく用いられる方式である。

### ■散乱された中性子の影響

このような計測で最も問題となるのが散乱された中性子である。これが影響してスペクトルの形を大きく歪める。このため極力、散乱中性子の影響が少ないような中性子の飛行路や遮蔽が必要となる。このためにはコンクリートやパラフィンが有効である。これらは水素原子核を多く含んでおり中性子を止める能力が高い。一方線の遮蔽に有効な鉛などは止める能力がなく散乱体となる。そのため両者をうまく組み合わせて中性子飛行路や遮蔽を考えることが必要となる。

現在、ほぼこのための設計も終わり遮蔽や計測のためのボックスも設計が終了している。計測のシンチレーターや回路計のチェックも進行中である。



【図】中性子エネルギースペクトル