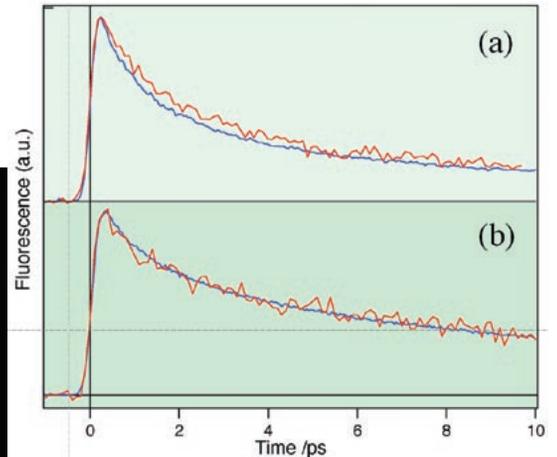


CONTENTS

- 顕微フェムト秒蛍光測定による蛋白質結晶の光初期反応
- フラビン蛋白質の光誘起電子移動の研究
- 【光と蔭】IFE(慣性核融合エネルギー)フォーラム
- いよいよ光の世紀、レーザー総研に期待

【表紙解説】レーザー光励起によるPYP単結晶の蛍光(左写真)と(a)野生種PYP、(b) PYPミュータント(R52Q)のフェムト秒蛍光(赤線)、および水溶液中での結果(青線)(励起波長410nm、観測波長500nm)



顕微フェムト秒蛍光測定による 蛋白質結晶の光初期反応

レーザーバイオ科学研究チーム コスロービアン・ハイク、谷口誠治

■はじめに

我々の研究チームではこれまで、微小領域における光物性評価を目的とした顕微フェムト秒蛍光計測システムの開発と、この手法を用いた蛋白質結晶の光初期反応ダイナミクスについて検討を行ってきた。蛋白質の機能は、蛋白質の構造と反応性が深い関連を持つと考えられており、その解明のためには結晶状態における蛋白質の光反応の研究が重要である。前回の報告(Laser Cross No.218)において光活性蛋白質PYPのフェムト秒蛍光ダイナミクスについて述べたが、装置の改良を含め進展がみられたため報告する。

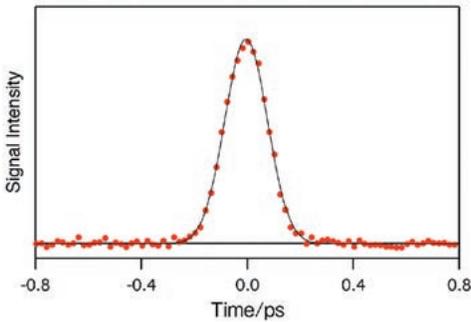
■装置の改良

顕微フェムト秒蛍光計測システムの概要については前回の報告でも述べたが、その後顕微鏡内部の改造や、光学結晶の見直し等の光学系の改良を行った結果、装置応答関数の時間幅は約190fsとなり(図1)、改良前(約380fs)と比べ時間分解能の大幅な改善がみられた。この数値は、通常の溶液系の観測で用いる光透過型の測定システムのそれとほぼ同様であり、結晶状態と溶液系での光反応ダイナミクスの相違点について、実験的な誤差を憂慮することなく議論することができる。また計測時の励起光強度は、PYPの計測時で6 μ W以下にまで低下させることができ、より高感度の計測が可能となった。

■PYP単結晶の光異性化反応

改良を施した測定装置により、PYP単結晶のフェムト秒蛍光ダイナミクスについて測定を行った。PYPは光合成細菌中に含まれる蛋白質で、光に対して顕著な応答を示すため細菌の目の役割を果たしていると考えられており、その初期反応は発色団(p-クマル酸)の光異性化である。野生種PYPにおける蛍光ダイナミクスは、(表紙図(a)中赤線、励起波長は410nm、観測波長500nm)である。励起直後から寿命約500fs、1.8ps、14psの成分を持つ急速な蛍光減衰が観測され、結晶中においても発色団の異性化が超高速で起こることが示されている。一方、我々が以前に計測した水溶液中での結果(表紙図(a)中青線)と比較すると、その蛍光ダイナミクスはほぼ同様であることが示された。アミノ酸の一部を置換したミュータント(R52Q)の単結晶についても同様の観測を行ったが(表紙図(b))、野生種との蛋白質構造の変化に伴う反応性の低下がみられるものの、蛍光ダイナミクスは水溶液中のものと同様の結果であった。PYPの光反応に関する研究では、発色団の異性化後の比較的遅い時間領域(ナノ～マイクロ秒)において、溶液中と結晶状態では構造および反応性が異なる可能性がある事が指摘されているが、今回の結果から、少なくとも光励起後フェムト秒～ピコ秒での反応領域では指摘されたような構造や反応性の違いは

次ページへつづく▶



【図1】顕微アップコンバージョンシステムの装置応答関数とガウス関数によるfitting(188fs FWHM)

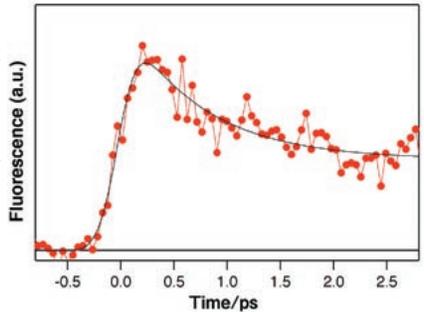
小さいと考えられる。前回の報告における結晶の計測結果は今回とは異なっているが、これは時間分解能が異なる点、高い励起光強度(~100 μ W)による試料の劣

化等が主な理由であると考えられる。

■フラビン蛋白質結晶の光電子移動反応

蛋白質結晶の光初期反応ダイナミクスの研究として、我々は現在フラビン蛋白質結晶の光反応についても検討を行っている。フラビン蛋白質は生体内での酸化・還元反応を制御する役割を持つことが知られているが、光励起によっても発色団(イソアロキサジン)と周囲のアミノ酸(トリプトファンやチロシン)との間で寿命200fs秒以下の超高速電子移動を示す。今回の測定では、硫酸還元菌に含まれるFMN結合蛋白質(FMN-binding protein、FBP)を試料として用いた。結晶での蛍光ダイ

ナミクスの観測の結果(図2)、蛍光寿命は約700fs秒にまで長寿命化し、更に長い寿命成分(~10ps秒)も観測されており、水溶液中との反応性の違い(電子移動速度の低下)がみられた。電子移動反応の場合、その速度は



【図2】FMN結合蛋白質結晶のフェムト秒蛍光(励起波長410nm、観測波長540nm)

周囲の溶媒(極性等)の影響を受けやすく、水溶液中では電子移動速度は大きいですが、結晶中ではその効果を受けないため電子移動速度の低下がみられるのではないかと考えられる。またFBPはX線結晶構造解析やNMRでの研究から、水溶液中と結晶中での構造の違いが指摘されており、構造変化自体が反応速度に影響している可能性も考えられる。

本研究は奈良先端大学院大学(今元助教授、PYP)、大阪市立大学院大学(北村助教授、FBP)により試料の提供を受け行われたものである。ご協力に心より感謝します。

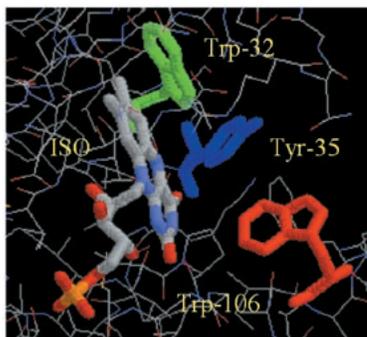
フラビン蛋白質の光誘起電子移動の研究

Mahasarakham大学教授(Thailand)、ILT特別研究員 田中文夫
レーザーバイオ科学研究チーム 谷口誠治

◆FMN結合蛋白質の反応

フラビン蛋白質は多くの動植物や微生物中に含まれ、生体内での酸化還元反応や電子輸送等の重要な役割を担っている。その基礎過程には分子間の電子の授受、つまり電子移動

反応が深く関与しているが、蛋白質という特異的な環境における電子移動の機構の解明は非常に興味深い研究課題である。これまでに我々はフラビン蛋白質が光励起

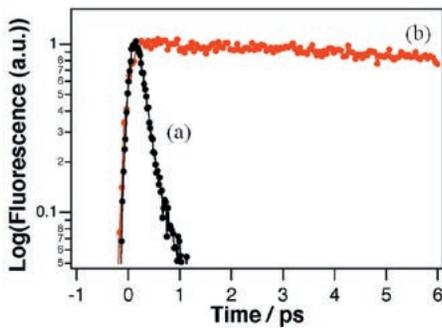


【図1】FMN結合蛋白質のイソアロキサジン(ISO)近傍の構造起電子移動)事実を見 (PDB:1FLM)

出し、近年ではILTとの共同研究によりフラボドキシ(Flavodoxin)やリボフラビン結合蛋白質(Riboflavin Binding Protein)等、種々のフラビン蛋白質の電子移動メカニズムを明らかとしてきた。本稿では、現在研究中であるFMN(Flavin mononucleotide)結合蛋白質(FMN Binding Protein、FBP)の反応について述べる。

◆FBPの結晶構造解析の結果

FBPは硫酸還元菌(*Desulfovrio vulgaris* Miyagaki F)中に含まれ、122アミノ酸残基からなる比較的小さな蛋白質で、その生理機能については現在明確ではない。FBPの結晶構造解析の結果から、発色団であるイソアロキサジン近傍には電子ドナーとして働くと考えられるトリプトファン(Trp-32)、およびチロシン(Tyr-35)が存在することが分かるが、Trp-32の距離が最も近く、電子移動反応は主としてTrp-32との間で起こるものと予想される(図1)。この蛋白質の水溶液中での光誘



【図2】FMN結合蛋白質(a)野生種、(b)ミュータント(W32A)の蛍光減衰曲線(励起波長410nm、観測波長530nm)

起電子移動過程をフェムト秒時間分解計測法により観測した。試料は大阪市立大学北村助教授により提供を受けた。図2(a)に蛍光寿命減衰曲線を示す。光励起後の蛍光の急速な減衰がみられる。解析の結果蛍光寿命は170fsで、イソアロキサジン近傍のアミノ酸からの超高速電子移動が起これと考えられる。次にTrp-32を電子ドナーとしての能力が低いアラニンと入れ替えたミュータント試料(W32A)につ

いて観測を行った。結果を図2(b)に示す。蛍光減衰は約30psの寿命で、電子移動速度の大幅な低下がみられることから、FBPにおける電子移動は主としてTrp-32との間で起こることが明らかとなった。またこの系でみられる遅い電子移動は、Trp-32よりも若干遠い位置にあるTyr-35のものではないかと考えられる。

◆電子移動機構を説明できる理論解析を進行中
フラビン蛋白質の光誘起電子移動は非常に高速であるが、その理論的な解析については、光合成反応中心など一部の蛋白質でみられる他は報告例が少ない。電子移動速度の解析にはMarcusらによる電子移動理論が標準的なものとして良く用いられるが、本系での反応がこの理論に従うかどうかについては更に研究を進める必要がある。現在、FBPを含めたフラビン蛋白質の電子移動機構を統一的に説明できる理論解析を進行中である。

山中千代衛



IFE (慣性核融合エネルギー)フォーラム

平成19年3月13日第15回IFEフォーラムが大阪KKRホテルにおいて開催された。白鳥の間で特別講演があり、「我が国の核融合政策の現状」について文科省研究開発局の松尾泰樹研究開発戦略官(核融合・国際原子力担当)から第3次科学技術基本計画の視点から見た核融合研究開発の座標について興味深い講演があった。

『第3期計画は25兆円を計上しイノベーションというキーワードで彩られている。基礎研究と政策対応研究を区分し、従来の重点4分野ライフサイエンス、情報通信、環境、ナノテク材料に加え、推進分野としてエネルギー、ものづくり、社会基盤、フロンティアをとり上げている。エネルギーに関しては14分野があり、「将来のエネルギー」の中に「核融合」が位置付けされている。「科学技術イノベーション25戦略」が黒川清座長以下7人で論議され、25年先を見越した工程表を作り、6月にまとまる骨太の方針に盛り込む計画である。この中に核融合をぜひ入れたいものだ。文科省の科学技術・学術審議会の下に原子力関連で核融合研究作業部会が飯吉厚夫主査を中心に研究レポートをまとめている。わが国の長期的なエネルギー政策を考えると環境負荷がない上特別な資源を要しない核融合エネルギーの開放こそ最も望ましいテーマである』

以上の講演に対し、司会の窪田恵一さんからコメントを求められた。「イノベーション指向の競争的研究推進はグローバルな産業競争力増強の立場からきわめて大切な方策であるが、憲法上諸外国とは異なる条件下のわが国にとって必要な国家安全保障策としてレーザー核融合によるエネルギー開発がある。これは国の基幹技術としてすすめる方向で対処しなければ軍事研究から、易々と産業のイノベーションを取り出す国々とは対抗できないのではなかろうか」と発言した。

ついで井澤靖和教授による大出力レーザー開発委員会の現状報告があった。EUVに関してもきわめて顕著な研究成果が報告された。

星華の間に席を改めIFEフォーラム委員会が開かれ、齋藤紀彦座長の下でレーザー核融合技術振興会の活動報告が疇地宏教授よりあり、レーザー核融合研究の進展が三間囃興センター長よりレポートされた。FIREX-1実験研究がいよいよ開始されようとしている。この成果を秋のIFSA国際会議に報告し、わが国としてIFEでの先進性を堅持して行くことが肝要であろう。

おわりに2007年度活動方針が西原功修教授より提案された。これらの課題に関し苫米地頭、山中龍彦、他の方々から討論をいただいた。

このあと琴の間で懇談会が開催され、レーザー核融合の将来への対話が続いた。

毎年開かれるIFEフォーラムも次第に佳境に入ってきた。2010年は米国のNIF、フランスのMJLも稼動に入り、成果競争は一層烈しくなるものと思われる。 【(財)レーザー技術総合研究所 研究所長】

いよいよ光の世紀、レーザー総研に期待

光産業創成大学院大学 学長 中井貞雄

21世紀は光の世紀といわれています。蒸気の19世紀、電気の20世紀には、それぞれの世紀に先立つ約半世紀前頃からその先がけ、導入時代がありました。これをサイレントブームと言います。光の21世紀には1950年頃からのレーザーの発明、これに誘発された光技術が飛躍的に進歩しました。サイレントブームの時期です。

レーザーの出現と前後して、原爆、水爆として核エネルギーが世に出ました。原子力発電所としてこの50年、核エネルギーのサイレントブームの時期がありました。21世紀にはこの2つ、光と核が組み合わさったレーザー核融合が地球環境問題解決の切り札、そして石油輸入99%以上という我が国の最弱点を克服し、尊厳ある国の未来を築く基盤技術として確立されることになりましょう。本格的なエネルギー開発計画に着手すべきときが来ました。半世紀近くの基礎研究の成果を結集して米国、フランスにて建設中のメガジュールレーザー NIF、LMJが2010～2015年には核融合点火、燃焼、エネルギー利得を実証しようとしています。これを受けて商用動力炉開発へ向けての技術開発が日米欧で立上ってきました。

商用動力炉の最も重要な課題は大出力で高効率な繰返し動作のレーザーです。電力からレーザー出力への変換効率が70～80%の半導体レーザーが実現され、セラミックレーザー媒質、CLBO等の新しい波長変換素子等が開発され炉用ドライバの技術的成立性が得られるようになってきました。

蒸気の時代の幕開けは燃料から蒸気動力への効率向上がきっかけでした。同じように電気の時代の幕開けは蒸気動力から電力への電磁誘導による高効率変換が実現されたことによります。いま高効率レーザーの出現はいよいよ光の時代への条件が整ったこととなります。単に光・レーザーがいろんな場面で使われると言うものでなく、産業の基盤を支える技術となり、社会システムそのものの発展、健全化に必須

の技術になりつつあるのです。

高度情報化社会を支える高速大容量の通信・情報処理技術は、すでに光・レーザー技術なしでは考えられなくなっていることは御承知のとおりです。レーザーの医療応用は無侵襲生体・健康診断、最大の死因であるガン、血管病等において有効な治療法が開発しうるものとして活発に研究が進められています。レーザーによる加工・プロセスは半導体から機械・重工業におけるものづくり技術を根底からかえることになりましょう。例えば自動車産業にはすでにレーザー技術が多くとり入れられています。製造ラインそのものを、光・レーザー技術を取り入れることを前提として設計すれば製造コストが30%以上も低減させることが可能であると言われています。バイオ分野においても全く新しく、かつ産業の基盤となる技術が開発されつつあります。稲のレーザー育成で米を年5回収穫することが実証されました。植物の遺伝子発現をレーザーで制御することにより多様な育て方が可能となってきました。

レーザー核融合によりクリーンで安全、かつ資源的制約のないエネルギーの確保に向けての研究と、そこから生まれてくる最先端レーザー技術は光の時代21世紀の基盤の産業技術を生み、新しい社会システムを構築するものです。大阪大学レーザー核融合研究センター(現レーザーエネルギー学研究センター)は世界のレーザー核融合研究をリードし、核融合動力炉へ向けてのエネルギー開発計画が指呼の間にまで来ました。その成果を広く産業技術として世にふえんするための絶妙の組合せとして創設されたのが財団法人レーザー技術総合研究所だと思えます。創設以来20年、サイレントブームの時代にたくわえた基礎のうえにいまや光の世紀の到来とともに大きく飛躍・発展するのを迎えています。ジャパンアズナンバーワンとして世界と人類の未来に貢献しうるのは、光・レーザー技術をおいてありません。(財)レーザー総研へ寄せる期待はいやが上にも大きくなります。頑張ってください。