

1. 研究課題名：蛋白質動的・高次構造検出法の開発及びそれを用いた蛋白質構造・機能相関の解明

2. 研究期間：平成14年度～平成18年度

3. 研究代表者：北川 禎三（自然科学研究機構・岡崎統合バイオサイエンスセンター・教授）

4. 研究代表者からの報告

(1) 研究課題の目的及び意義

ヒトゲノム解析終了の次の段階として、遺伝子にコードされた蛋白質の機能解明が問題になり、我が国ではX線結晶構造解析とNMRを主にした『タンパク3000』プロジェクトが進行した。本研究はその次の科学、すなわち「蛋白質の機能発現機構を分子科学のレベルで解明すること」を目指した。蛋白質が機能を果たすには、反応の進行と共にその高次構造が変化する必要がある。本研究では振動分光法を用い「高次構造変化の中間体を分光学的に同定する」という動的構造の研究を展開した。振動分光法では、光と分子との相互作用時間が非常に短く、ピコ秒オーダーの短寿命中間体でもそのスペクトル測定は可能である。しかも分子振動は立体構造に非常に敏感であるため、分子の構造緩和や構造転移を蛍光・吸収分光よりも詳細に論ずることを可能にする。また、共鳴効果を利用すると、大きな分子でも発色団部分の分子振動のみを高感度で観測することができ、200-240 nm 励起の紫外共鳴ラマン散乱では蛋白部分の振動のみを選択的に観測できる。本研究では、蛋白質の動的構造を高感度、高時間分解能で測定する装置を製作し、刻々と変化する蛋白質の分子振動を、励起波長と時間を変数にして観測した。こうした基本情報を基本分子のミオグロビンやヘモグロビンで得ると共に、最近遺伝子解析で見つかったガスセンサー蛋白質を対象として、構造・機能相関の解明に向けた先端的研究を展開した。

(2) 研究成果の概要

本研究で用いた方法論は主に、可視及び紫外静的共鳴ラマン分光法、時間分解ラマン分光法、顕微赤外吸収分光法で、その測定装置を開発し特異的な構造情報を得た。具体的には、次の(1)～(8)のサブテーマで研究を進めた。

(1)ピコ秒時間分解可視共鳴ラマン分光法による発色団の速い構造変化の検出、(2)サブナノ秒時間分解紫外共鳴ラマン分光法による蛋白質高次構造変化の検出、(3)レーザー温度ジャンプ法による蛋白質フォールディング／アンフォールディングの初期過程の解明、(4)機能を軸とした新規分光法の開発、(5)DNA フォトリアーゼによる DNA 光修復過程の解明、(6)蛋白質会合による高次構造変化とそのトリガーの顕微赤外分光法による検出、(7)センサーヘム蛋白質の環境検知、情報伝達、及び機能発現機構の解明、(8)ヘム酵素による酸素活性化及びプロトン能動輸送機構の解明。

(2)、(3)、(5)～(8)は岡崎の研究所で、(1)と(4)は神戸大で実験したが、ピコ秒領域の速い構造変化とナノ秒からミリ秒に起こる遅い構造変化を統一的に考える必要があったので、(1)、(2)、(7)については同じ試料を岡崎と神戸で測定する協力体制で研究を進めた。その結果、この学問分野の国際研究拠点となる成果をあげることができた。すなわち、ヘモグロビンやミオグロビンといった基本となる蛋白質、センサー蛋白質をはじめとする種々の蛋白質について、幅広い時間帯にわたる多様な蛋白質ダイナミクスの観測に成功し、機能発現機構を解明した。

5. 審査部会における所見

A (期待どおり研究が進展した)

振動分光法を用いて蛋白質の動的・高次構造を調べ、その機能との相関を明らかにしようとする意欲的な研究課題について、十分な測定データに基づいて顕著な研究成果を上げている。力量のある研究者が良いチームワークにより広い時間領域におよぶ蛋白質の動的・高次構造検出に成功しており、ミオグロビンに代表されるヘム蛋白質の動的・高次構造変化を明らかにした成果は特筆すべきものである。振動分光法を用いた生体物質解析の研究成果として極めて先駆的であり、物理、化学、生物などの分野を越えて目標とされるものとなることが期待され、その貢献は極めて革新的で、世界を先導する開拓的なかつ日本が誇るべき研究成果である。国際的に評価の高い学術誌にも数多くの論文を発表しており、期待通りに研究が進展したものと判断した。