

中川洋¹、片岡幹雄^{1,2}、城地保昌³、北尾彰朗³、山室修⁴
¹,原子力機構、量子ビーム ²,奈良先端大、物質創成
³,東大、分生研 ⁴,東大、物性研

- ・タンパク質ダイナミクスと中性子非弾性散乱
- ・タンパク質の水和に関するダイナミクス研究
- ・今後の展望

～今後のサイエンスとIRTに対する希望～

The diagram illustrates the relationship between the amino acid sequence, the 3D structure, and the function of a protein. It consists of three ovals arranged vertically, connected by arrows. The top oval is labeled 'アミノ酸配列' (Amino acid sequence). An arrow points down to the middle oval, labeled '3次元立体構造' (3D structure). Another arrow points down to the bottom oval, labeled 'タンパク質の機能' (Protein function). To the left of the top oval is a blue line drawing of a tangled polymer. To the left of the middle oval is a blue line drawing of a coiled spring. To the right of the middle oval is a 3D molecular model of a protein structure, with a red dashed arrow pointing from a small molecule labeled '基質' (Substrate) towards it. The protein structure is labeled 'タンパク質' (Protein) at the bottom.

アミノ酸配列

折りたたむ ↓

3次元立体構造

↓ ← - -

タンパク質の機能

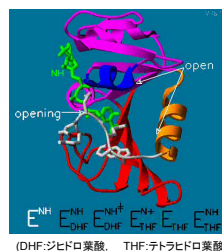
タンパク質の立体構造の揺らぎ

基質

タンパク質

標的分子結合にともなうタンパク質の構造変化

DHFR(ジヒドロ葉酸還元酵素)
の機能発現における構造変化

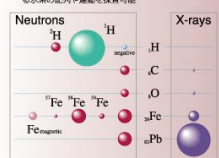


タンパク質は構造変化を巧みに利用して機能する

中性子で狙うダイナミクス

中性子線の原子散乱能

⇒ 水素に対しては特に敏感なため、生体の基本元素である水素の配列や運動を探索可能



散乱断面積の例

この図は、球の大きさが大きいほど中性子が敏感であることを示しています。同じ水素(H)でも、軽水素(^1H)と重水素(^2H)では大きく散乱断面積が異なるのです。

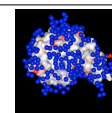
(KEKのHPより)

— タンパク質と水分子の水素原子

- 水素原子



中性子は水を高
プローブする



水和水

水素原子を明瞭に見ることが可能

水系原子をみることでタンパク質
や水と水の運動の解析ができる

分子シミュレーションの相補的利用

動的構造因子
(中性子散乱実験)

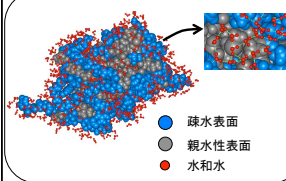
$$S(Q, \omega) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} I(q, t) \exp(-i\omega t) dt$$

中間散乱関数
(分子動力学計算)

$$I(Q, t) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} g(r, t) \exp(-iq \cdot r) dr$$

$$= \sum_{i=1}^N \langle \exp(-iq \cdot R_i(0)) \exp(iq \cdot R_i(t)) \rangle$$

分子動力学でみた水和構造



原子位置の軌跡

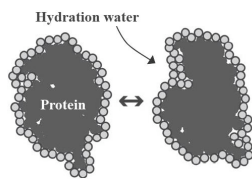
ピコ〜ナノ秒のダイナミクス解析や
水和構造解析

非弾性散乱による研究の方針

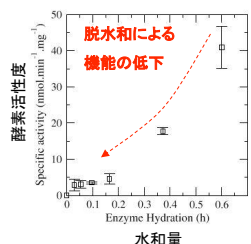
- 見たいダイナミクスに合わせて分光器を選択
(装置分解能、カバーする Q 領域、温度、
圧力などの外部環境を制御するアクセ
サリー)
- 非干渉性散乱では分からない構造情報を
分子シミュレーションで補う

タンパク質の水和に関する ダイナミクス研究

タンパク質表面の水分子



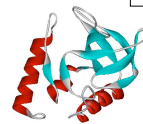
水和水に依存した酵素活性機能



タンパク質表面で揺らぐ水和水が生理機能に必須

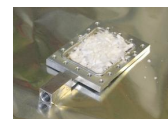
Kurkal V. et al (2005)

実験試料

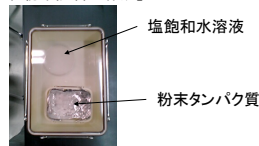


スタフィロコッカスヌクレアーゼ
(MW=16800, 149 残基)

凍結乾燥処理による粉末試料



【水和粉末試料の作成】

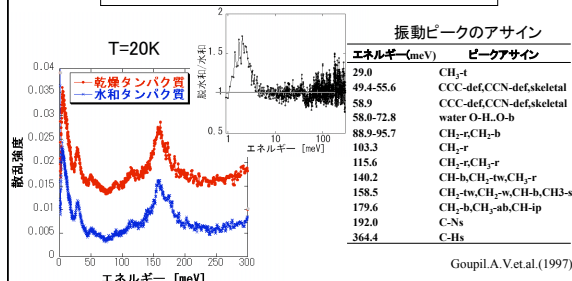


塩飽和水溶液

蒸気圧平衡により水和させる

水和率: $h=0 \sim 0.60$
(g water/g protein)

振動スペクトルの水和効果

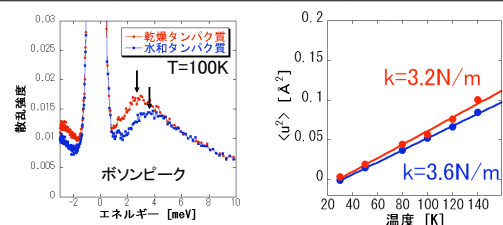


Goupil A. V. et al. (1997)

(水和効果)

- 分子由来の高エネルギー運動は変化しない
- 低エネルギー動力学に対する影響が大きい

低エネルギー動力学に対する水和の影響

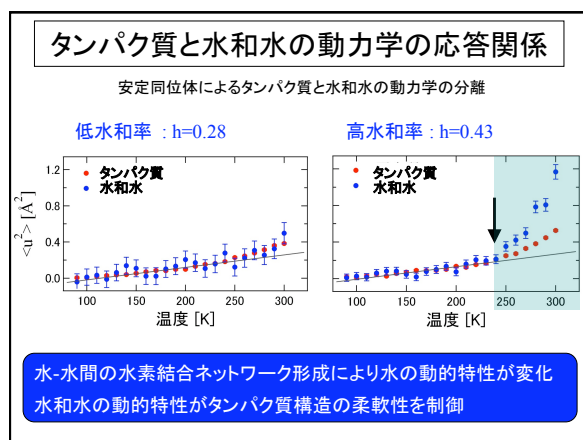
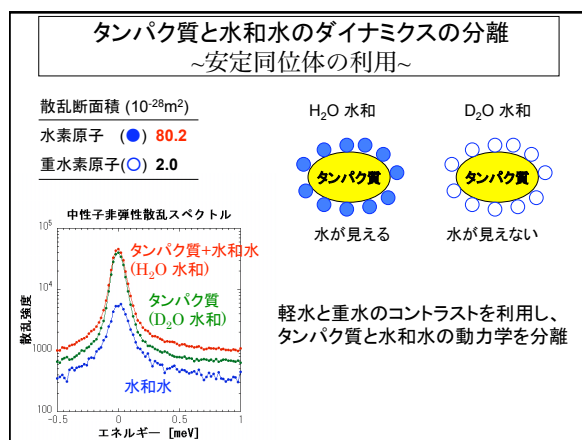
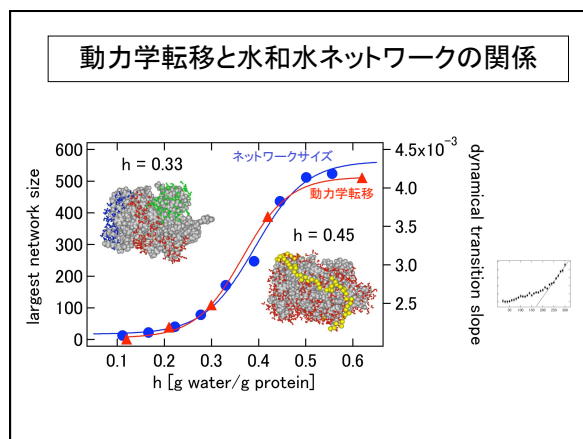
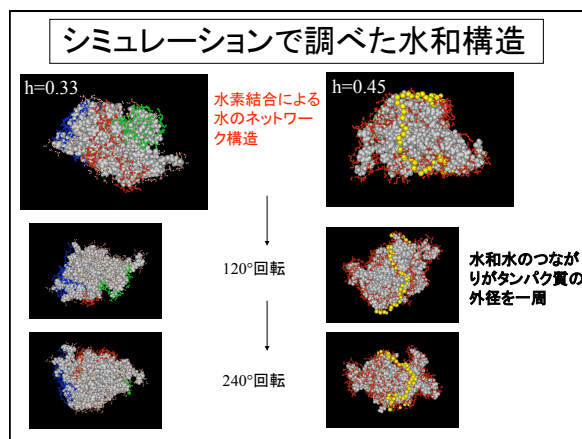
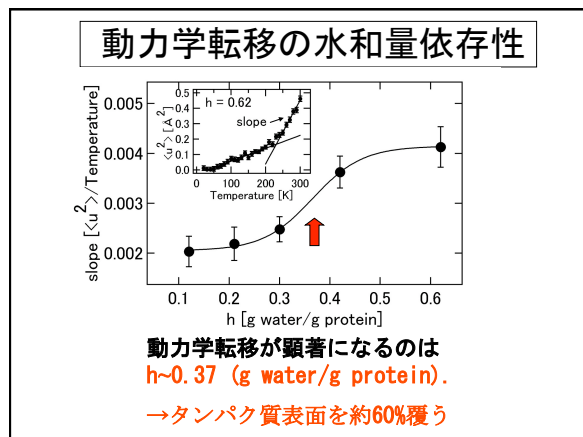
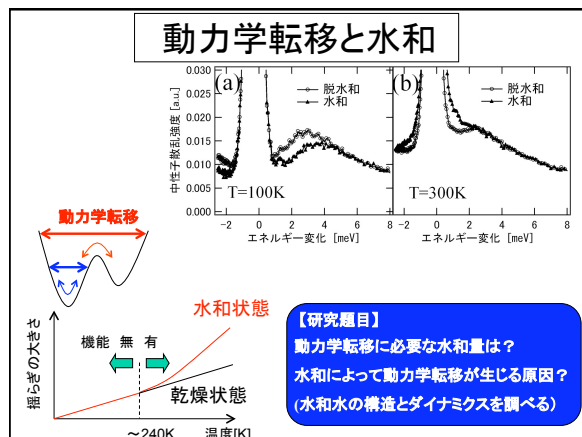


脱水和

水和

エネルギー曲面
がシャープに

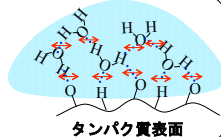
水和がタンパク質の
揺らぎを制御



まとめ

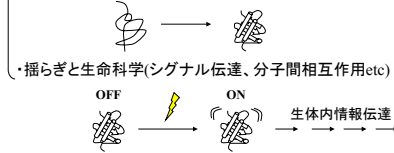
- 約 $h=0.37$ (g water/g protein)の水和量で動力学転移が顕著になる
→タンパク質表面での水分子間の水素結合ネットワークの形成と相関がある
- 水と水の運動は動力学転移において、より拡散的になる
→水分子間の水素結合の組み換えが起こる

タンパク質と水の界面の水素結合ダイナミクスがタンパク質の力学特性を制御する



今後の展望(狙いたいサイエンス)

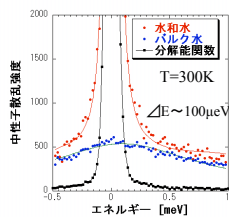
構造の揺らぎ (ダイナミクス) → タンパク質の物理化学(水和、折り畳み、構造安定性etc)



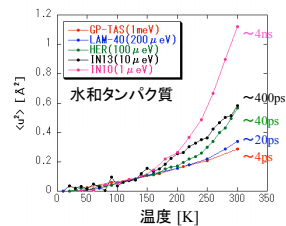
【実験で検討すべき項目(IRTに対する希望)】

- 装置性能
→強度、分解能、Q ω 範囲、etc
- 測定試料環境パラメーター
→温度、水和量、圧力、塩濃度、pH、光、分子間相互作用、etc

タンパク質の水和研究～E分解能～

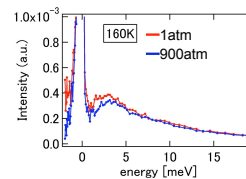


- 水と水のスローダイナミクス
→ΔE~1μeV
準弾性散乱のQ依存性解析
スペクトルの対称性

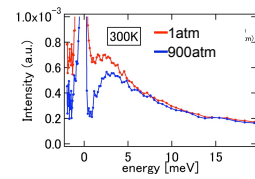


- タンパク質-水のダイナミクスの時間軸における階層性
→ 分解能変化測定によるダイナミクスの分離
高分解能測定が必須

タンパク質ダイナミクスの圧力効果～高圧測定～



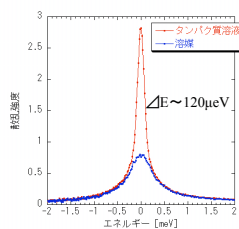
ボソンピークの
高エネルギーシフト



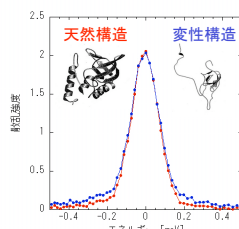
準弾性散乱の著しい抑制

圧力がタンパク質の低エネルギー動力学に強く影響を与えることを実証
さらなる今後の系統的な測定と解析が期待される

変性タンパク質の揺らぎ



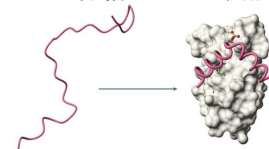
高精度の準弾性散乱
スペクトルの対称性



適切な分光器の選択と装置パラメーターの設定
→タンパク質の変性による揺らぎの変化を検出

天然変性タンパク質

- 真核細胞の核内タンパク質に多い
→生物学的に重要なタンパク質
- 決まった立体構造を取らない
→規則的な立体構造による機能解析が困難



- 天然変性タンパク質の機能を調べるためには、
”構造の揺らぎ”を特徴付ける必要がある

生命の極限環境耐性の分子機構



幼虫



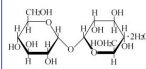
水で蘇生!



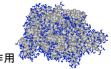
クリプトビオシス
(無代謝休止状態)

【トレハロースによる生物の乾燥耐性の分子メカニズムの解明】

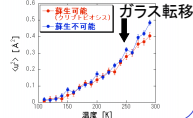
トレハロースの構造式



生体物質の水和



水和への作用
ガラス転移への作用



中性子非弾性散乱によるクリプトビオシスの解析(ガラス転移、ボソンピーク)
生体物質の保護技術開発への応用(臓器保存技術、食品保存技術)

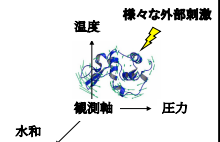
最後に

タンパク質ダイナミクス的重要性

- ・観測される現象は他のソフトマターと共通することが多い
ガラス転移(動力学転移)
ボソンピーク
など
- ・生理機能を支える物性(揺らぎ)は何か?
- ・物質と生命の境界領域はどこにあるのか?

今後の生物の中性子非弾性散乱

- ・高E分解能によるスローダイナミクスの精密測定
- ・柔らかい構造を持つタンパク質の解析には、特殊環境下での測定が必要



謝辞

- ・片岡幹雄(奈良先端大)
- ・城地保昌(東大分生研)
- ・北尾彰朗(東大分生研)
- ・郷信広(原子力機構)
- ・柴田薫(原子力機構)
- ・山室修(東大物性研)
- ・菊池龍弥(東大物性研)
- ・山田武(東大物性研)
- ・古府麻衣子(東大物性研)
- ・目時直人(原子力機構)
- ・金子耕士(原子力機構)
- ・徳久淳師(原子力機構)
- ・金谷利治(京大)
- ・筑紫格(千葉工大)
- ・奥田隆(農生研)