

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2007～2010

課題番号：19685001

研究課題名(和文) 単一タンパク質の振動分光

研究課題名(英文) Vibrational spectroscopy of single proteins

研究代表者：藤芳 暁(FUJIYOSHI SATORU)

東京工業大学・大学院理工学研究科・助教

研究者番号：70371705

研究代表者の専門分野：化学

科研費の分科・細目：基礎科学・物理化学

キーワード：分光・低温・タンパク質・単一分子分光・赤外・中赤外・アミド I

1. 研究計画の概要

本課題の目的はタンパク質の構造と機能を明らかにするために、単一のタンパク質の振動分光法を世界にさきがけて成功させることにある。生命現象の理解を深める上で、その機能を司るタンパク質を研究することは非常に重要であることは論を待たない。単一分子分光では、一つのタンパク質のみを観測することによって、上記のような構造の多様性による実験の難しさを除去できるため、国内外で広く試みられている。特に、低温下では熱による構造変化を抑えることができるため、均一幅が支配する非常にシャープな自家蛍光の電子スペクトルが得られている。しかし、得られる電子スペクトルは構造や機能を間接的に反映するものの、直接的な情報を与えない。このため、分光学的な議論をするためには統計量の結果が必要であるため、従来法では平均構造を議論するにとどまっている。

2. 研究の進捗状況

昨年度に得た単一タンパク質の赤外スペクトルの結果をまとめ、2010年3月に行われた「日本化学会」で講演、欧文誌への投稿中である。実験の結果から、本課題で目的とした分光法が実現可能であり、従来法に比べて五桁以上の感度向上につながることを明らかにした。その結果、世界で初めて、単一タンパク質(牛血清アルブミン)の α ヘリックス構造を取っているペプチド主鎖のCO伸縮振動の赤外吸収スペクトルの取得に成功した。さらに、本分光法の実行の元となる物理現象(赤外誘起の単一分子蛍光増大現象)を発見した。

3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

当初の予定では、3年目までに単一タンパク質の赤外分光を実行し、4年目に論文投稿および学会発表を予定していた。これに対して、現実には予定を1年半くらい前倒しに実験が成功し、学会発表を済ませ、投稿論文を投稿中である。

4. 今後の研究の推進方策

3に述べたように、当初の予定を前倒して研究成果を得た。この研究を通じて、本法が単一タンパク質の感度を持つものの、そのスペクトルはタンパク質全体からの寄与が同時に観測されていることが分かった。そこで、光学課程やプローブ分子を検討することで部分構造の検出を目指す予定である。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4件)

①「Single-Component reflecting objective for ultraviolet imaging and spectroscopy at cryogenic temperature」
M. Fujiwara, S. Fujiyoshi, M. Matsushita;
Journal of Optical Society of the America B, 26 (2009) 1395. 査読有

②「Visible Fluorescence Spectroscopy of Single Proteins at Helium-Liquid Temperatures」
S. Fujiyoshi, M. Fujiwara, M. Matsushita;
Physical Review Letters, 100 (2008), 051125 (3 pages). 査読有

③「How deep is the potential well confining protein to a specific conformation? A single-molecule spectroscopy on temperature dependence of conformational change at 5 - 30 K」

H. Oikawa, S. Fujiyoshi, T. Dewa, M. Nango, M. Matsushita;

Journal of the American Chemical Society (Communication), 130 (2008) 4580-4581.

査読有

④「Single-Component Reflecting Objective for Low-Temperature Spectroscopy in the Entire Visible Region」

S. Fujiyoshi, T. Fujiwara, C. Kim, M. Matsushita, A. M. van Oijen, J. Schmidt; *Applied Physics Letters*, 91 (2007) 051125 (3 pages). 査読有

[学会発表] (計 15 件)

①「単一タンパク質の振動分光法の開発」

藤芳 暁・古屋 陽・伊関峰生・渡辺正勝・松下道雄 (東工大物理・総研大)

日本化学会 2010・2E1-39・発表日: 2010 年 3 月 27 日

②「低温固体中の単一Pr³⁺核スピン量子状態分光の試み」

中村一平・吉弘達矢・藤芳 暁・松下道雄 (東工大物理)

物理学会 2010 年春季大会・21pTD-5・発表日: 2010 年 3 月 21 日

③「1.5Kにおける単一色素分子の蛍光スペクトルの時間変化の起源探究」

島内明理・櫻井敦教・平野充遙・藤芳 暁・松下道雄 (東工大物理)

日本物理学会 2010 年春季大会・23aHL-3・発表日: 2010 年 3 月 23 日

④「光活性化アデニル酸シクラーゼの単一タンパク質分光」

藤芳 暁・平野充遙・松下道雄・伊関峰生・渡辺正勝 (東工大物理・総研大)

分子科学討論会 2009・4B07・発表日: 2009 年 9 月 24 日

⑤「低温下における単一タンパク質分光のための反射対物レンズの開発」

藤原正規・藤芳 暁・松下道雄 (東工大物理)

分子科学討論会 2009・4B06・発表日: 2009 年 9 月 24 日

⑥「液体ヘリウム温度における単一タンパク質の可視蛍光分光」

藤芳 暁 (東工大物理)

日本物理学会 2009 年春季大会 (若手奨励賞受賞講演)・

28pVB-2・発表日: 2009 年 3 月 28 日

⑦「低温固体中の単一Pr³⁺の発光検出の試み」

吉弘達矢・中村一平・藤芳 暁・松下道雄 (東工大物理・さきがけ)

日本物理学会 2009 年春季大会・27pSK-9・発表日: 2009 年 3 月 27 日

⑧「タンパク質の生体機能の単一分子観測に向けて」

藤芳 暁 (東工大物理)

日本物理学会 2008 年秋季大会 (シンポジウム講演)・

22pWB-8・発表日: 2008 年 9 月 22 日

⑨「低温の単一タンパク質分光の励起過程の検討」

藤芳 暁・平野充遙・古屋 陽・藤原正規・松下道雄・伊関峰生・渡辺正勝 (東工大物理・総研大)

第 2 回分子科学討論会・3C18・発表日: 2008 年 9 月 26 日

⑩「低温固体中の単一イオンの発光検出に向けた可視顕微分光システムの開発」

吉弘達矢・平野充遙・藤芳 暁・松下道雄

日本物理学会 2008 年秋季大会・20pZA-5・発表日: 2008 年 9 月 20 日

⑪「二光子蛍光による低温の単一タンパク質分光」

○藤芳 暁・松下道雄

日本物理学会 2008 年春季大会・23pYD-6・

発表日: 2008 年 3 月 23 日

⑫「1.5 K で使える反射対物レンズの球面収差及び色収差の改善」

○藤原正規・藤芳 暁・松下道雄

日本物理学会 2008 年春季大会・23pYD-5・

発表日: 2008 年 3 月 23 日

⑬「顕微分光による光合成アンテナ複合体のエネルギー移動の研究」

○古屋 陽・内山大輔・藤芳 暁・松下道雄・末守良春・出羽毅久・南後 守

日本物理学会 2008 年春季大会・23pYD-4・

発表日: 2008 年 3 月 23 日

⑭「可視蛍光をプローブとした低温の単一タンパク質分光」

○藤芳 暁・藤原正規・松下道雄

第 1 回分子科学討論会・2C11・発表日: 2007 年 9 月 21 日

⑮「人工脂質膜中における光合成アンテナ複合体の会合体の分光」

○内山大輔・古屋 陽・藤芳 暁・松下道雄・出羽毅久・南後 守

日本物理学会 2007 年秋季大会・21aRK-3・

発表日: 2007 年 9 月 21 日

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]