

## 自己評価報告書

平成 23 年 4 月 11 日現在

機関番号：14301

研究種目：新学術領域研究

研究期間：2008～2012

課題番号：20107003

研究課題名（和文） エネルギー・構造揺らぎの時間分解検出法開発と反応機構の研究

研究課題名（英文） Development of time-resolved methods for detection of fluctuations on energy and structure and for elucidating reaction mechanism

研究代表者

寺嶋 正秀（ Terazima Masahide ）

京都大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号：00188674

研究分野：生物物理化学

科研費の分科・細目：基礎化学・物理化学

キーワード：揺らぎ・生体分子・反応・機能

## 1. 研究計画の概要

本研究では、分子の持つ揺らぎやすさやエネルギー揺らぎ変化を時間分解し、過渡種の揺らぎとダイナミクスを結び付ける手法の開発と、実際に光受容タンパク質への適用を行う。こうした揺らぎの時間分解計測法を確立し、反応の進行に構造揺らぎがどのような役割を果たしているかを明らかにする。これらの手法を、動物・植物・細菌が持つ種々の光センサーに適用し、共通因子を明らかにすることにより、揺らぎがいかに機能と結びついているかという一般則を見出す。また、他グループとの共同研究を通して、揺らぎを制御するために必須の要因をアミノ酸残基単位で明らかにし、それがそのタンパク質の機能とどう関係しているかを明らかにする。その背景にある分子論的な要因を探る。

また、情報伝達過程と揺らぎとの関係を明らかにするために、拡散を用いて分子間相互作用ダイナミクスを検出し、ここで開発する時間分解揺らぎ検出法を組み合わせることで、いかにして生体タンパク質は揺らぎを使ってタンパク質-タンパク質相互作用を制御しているかを明らかにする。

## 2. 研究の進捗状況

過渡回折格子法を用いて、揺らぎを時間分解検出するための手法を開発することに成功した。これを用いて以下のような成果を得て、多くの学術誌に報告している。

(1) イオンポンプとして機能する代表的なタンパク質である、ハロロドプシンについて時間分解拡散係数測定を行い、中間体から放出された塩素イオンと、それに続いて取り込まれる過程を拡散過程として検出することに成功した。拡散係数の時間分解測定という手

法を用いれば、他の方法では観測することができない、光学的吸収のないイオンの空間的移動を見ることができるといふ新しい応用法を開発したと言える。

(2) 細菌の持つ青色光のセンサータンパク質である TePixD と呼ばれる分子の機能に関する反応を検討し、中間体で大きな拡散係数変化を見出した。この変化の原因を探り、このタンパク質はいくつかの多量体として平衡状態にあり、そのうちで 10 量体のみが反応するとして解釈できることを示した。

(3) 光センサーとして働く YcgF の光化学反応を研究し、その基本的な反応ダイナミクスを明らかにした。その反応には顕著な温度依存性が見られ、揺らぎとの関係を指摘した。また、この温度依存性は、このタンパクを含む生物の温度センサーとしての役目を果たしている可能性を指摘した。

(4) 植物の持つ青色光のセンサータンパク質であるフォトトロピンの不活性化反応を調べるために、我々の開発した 2 段階起過渡回折格子法を用いた。これにより、揺らぎの大きな構造変化が元に戻るダイナミクスを初めて明らかにした。

(5) FKF1 タンパク質の反応ダイナミクスを明らかにし、その揺らぎの大きな部位であるループ部位の機能への重要性を明らかにした。

## 3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

(理由)

当初の計画では、3 年目までに測定方法を確立し徐々に生体反応系へ適用する予定であったが、2 年目までに確立することができており、すでに多くの生体分子の反応系に適

用できている。さらに、こうした研究を通して、我々の提案している手法が、想像以上に強力で非常に多くの系に有効な手法であることが示されてきたため。

#### 4. 今後の研究の推進方策

ここで開発してきた時間分解拡散係数測定法を、生体分子の揺らぎと機能との相関を明らかにするために、さらに種々の系に適用してその応用範囲を広げる。これにより、揺らぎの重要性をより多くの研究者に認識されるように努める。また、圧力測定システムも完成に近づける。

#### 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 42 件)

- ① Kinetics of conformational changes of the FKFI-LOV domain upon photoexcitation, Y. Nakasone, K. Zikihara, S. Tokutomi, M. Terazima, *Biophys.J.*, 99,3831-3839(2010). 査読有
- ② When is the helix conformation restored after the reverse reaction of Phototropin?, Y.Kawaguchi, Y. Nakasone, K.Zikihara, S. Tokutomi, M. Terazima, *J.Am.Chem.Soc.*, 132, 8838-8839(2010). 査読有
- ③ Oligomeric State-Dependent Conformational Change of a BLUF Protein TePixD (Tll0078), K.Tanaka, Y. Nakasone, K.Okajima, M. Ikeuchi, S. Tokutomi, M. Terazima, *J.Mol.Biol.*, 386, 1290-1300(2009). 査読有
- ④ Reaction dynamics of halorhodopsin studied by time-resolved diffusion, K.Inoue, M.Kubo, M.Demura, N. Kamo, M. Terazima, *Biophys.J.*, 96, 3724-3734(2009). 査読有
- ⑤ Stability of dimer and domain-domain interaction of Arabidopsis phototropin 1 LOV2, Y. Nakasone, T. Eitoku, K. Zikihara, D. Matsuoka, S.Tokutomi, M. Terazima, *J.Mol.Biol.*, 383, 904-913 (2008). 査読有

[学会発表] (計 145 件)

- ① Role of water-protein interaction for the function of biological proteins, M. Terazima, Pacificchem, Honolulu, USA, Dec. 15-20,2010
- ② タンパク質反応における時間分解揺らぎ検出の試み, 寺嶋正秀, 日本物理学会年会、大阪府立大学、2010年9月23日 - 26日
- ③ Time-resolved observation of protein-protein interaction between blue-light receptor PixD and response regulator PixE, K. Tanaka, Y.Nakasone, K. Okajima, M. Ikeuchi, S. Tokutomi, M. Terazima, 生物物理学会年会、仙台、2010年9月20日 - 22日

- ④ 青色光センサータンパク質 PixD の光誘起反応ダイナミクス, 田中啓介、岡島公司、池内昌彦、徳富哲、寺嶋正秀, 第4回分子科学討論会、大阪、2010年9月14日 - 9月17日
- ⑤ 分子拡散の時間分解検出による光回復酵素の DNA 光修復反応機構の解明, 近藤正人、人見研一、山元淳平、藤堂剛、岩井成憲、E. D. Getzoff、寺嶋正秀, 第90回日本化学会年会、近畿大学、2010年3月26日 - 29日

[図書] (計 3 件)

- ① 生体分子の反応中の揺らぎをとらえる分子科学手法, 寺嶋正秀、揺らぎと生体機能、寺嶋正秀監修, メディカルバイオ別冊、オーム社, 10-16(2010)
- ② 可視・紫外分光法, 寺嶋正秀・馬場正昭・富宅喜代一・星野幹雄・松本剛昭・宮崎芳雄・西澤潔 共著, 講談社サイエンティフィック (2009).
- ③ Time-resolved detection of intermolecular interaction of photosensor proteins, M. Terazima, *Water and Biomolecules, Physical Chemistry of Life Phenomena*, Eds. K.Kuwajima, Y.Goto, F.Hirata, M.kataoka, M.Terazima, Springer, (149-172), 2009.

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
出願年月日 :  
国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
取得年月日 :  
国内外の別 :

[その他]

ホームページ

<http://kuchem.kyoto-u.ac.jp/hikari/index.html>