

蛋白質作用機構解明へ向けてX線と中性子線回折の 同時測定へ期待する事

関西学院大学理工学部 准教授 山口 宏

タンパク質の作用機構を知るという事は、生命現象を理解する上で必須であるばかりでなく、医学、薬学、農学、化学などへの応用という面で多くの注目を集めている。例えば、化学反応の一つとして酵素反応を眺めた場合、その特異性や反応性、反応効率など、数多くの学ぶべき点があり、物質合成へのタンパク質の利用や新たな反応制御法の開発など、その応用は無限に広がるものと考えられる。タンパク質の作用機構を知る為に、そのタンパク質の立体構造からアプローチしようとするのが構造生物学の一つの目的である。タンパク質の構造決定において、タンパク質が働く前など止まった状態での構造を明らかにするだけでは、得られる情報は限られており、その働いている最中の構造、即ち、反応中間体を含む構造を明らかにする事や、反応や作用に伴うタンパク質の構造変化を追跡する事により、その機構を明らかにするためのより多くの情報を引き出す事が可能になる。これまで、種々のタンパク質でX線時間分割構造解析が試みられたが、結晶中での反応の制御には極めて大きな壁があり、解析できる反応系が限定されたため、多くの成果があがったとは言いがたい。しかしながら、真にタンパク質の作用機構を解明するためには、このような解析が重要である事は間違いない。

タンパク質の作用機構の追跡は、言い換えれば、タンパク質中での化学反応を追跡する事である。化学反応において、水素は、プロトンとして移動し、電子とともに酸化還元の主役を果たすので、反応を理解するためには水素の挙動が重要である。静的な構造解析では、超高分解能のX線結晶構造解析で、水素の位置を決定した報告が数多くなされるようになった。しかしながら、結晶中で反応を進行させて中間状態を達成した場合、往々にして結晶は乱され、分解能という面で散乱能力が劣化する。このため、超高分解能のX線構造解析が期待できない。反応中間体の構造解析において、中性子結晶構造解析が有利な点の一つであると考えられる。

我々のグループでは、これまでに土壌菌由来のフェニルエチルアミン酸化酵素を用いて、酵素中に存在するチロシン残基から翻訳後修飾で生成するトパキノン補酵素の生成反応の過程を時系列に構造解析する事に成功し、その反応機構を構造面から詳細に記述する事ができた。また、現在では、フェニルエチルアミンを基質としたトパキノン補酵素を用いた酵素反応自身の時系列構造解析を試みている。これらの構造解析においても中間状態の化学種の同定など、水素が見える事により実現する事は数多く存在する。しかしながら、現実には我々の系では、格子状数が 150\AA を超える 2 軸が存在し、中性子構造解析は現時点では困難であると考えられる。今回は、我々が行ってきた構造解析を通して、中性子線回折に関して、どのように X 線構造解析と相補的に利用するのか、また、同時測定にどのような利用価値が有るのかを考察するとともに、その問題点も考察してみたい。