

# 時間分解紫外共鳴ラマン分光法による高速タンパク質ダイナミクス観測

水野 操

大阪大学大学院理学研究科化学専攻

タンパク質ダイナミクスの時間および空間スケールは広範囲に広がる。時間分解共鳴ラマン分光法は、タンパク質中における部位特異的ダイナミクス観測に優れた実験方法である。観測可能な時間スケールはピコ秒から秒におよぶ。ラマン散乱の励起光に紫外光をもちいると、共鳴ラマン効果により芳香族アミノ酸側鎖やペプチド結合に由来する振動バンドが選択的に観測され、化学結合の微小変化をサブオングストローム単位で検出できる。時間分解測定によるタンパク質ダイナミクス観測は、これまでにナノ秒以降の観測技術は確立しているが、ピコ秒領域における高速ダイナミクス観測は、実験的な難しさにより未確立であった。我々はこれに対し、さまざまなタンパク質の光応答によるピコ秒ダイナミクスを実時間観測するための高感度な実験装置を開発した[1]。本発表では、我々が開発した高速タンパク質ダイナミクス観測のためのピコ秒時間分解紫外共鳴ラマン分光装置を紹介する。また、これまで報告がなかったピコ秒領域で起こる重要なタンパク質ダイナミクスの観測結果について報告する。

## 1. 光受容タンパク質における発色団異性化に連動したタンパク質応答 [2]

微生物型ロドプシンでは、サブピコ秒で起こるレチナル発色団の光異性化が機能発現のスイッチとして働く。発色団の異性化に連動した高速なタンパク質応答を観測するために、種々の微生物型ロドプシンについてピコ秒時間分解測定を行った。トリプトファンやチロシン残基の紫外共鳴ラマンバンドの時間変化を観測し、発色団の異性化および続いて起こる構造緩和に応答して、周辺タンパク質構造が再配置することを見出した。また、光センサーとして働くセンサリーロドプシン II については、信号伝達機能に重要なチロシン残基が、発色団の異性化に応答して高速に構造変化することがわかった。

## 2. ヘムタンパク質における振動エネルギー移動 [3]

アンチストークスラマン散乱光は振動励起状態の分子からのみ発生するため、時間分解アンチストークス共鳴ラマン分光法をもちいると、タンパク質内を余剰エネルギーがどのように移動するのかを部位選択的に調べられる。ヘムタンパク質では、ヘムを光励起すると、大きな余剰振動エネルギーが瞬間的にヘムに生じる。発生した余剰エネルギーは、タンパク質中を移動する。タンパク質では、アミノ酸残基が特定の立体配置に保持されている。このため、エネルギー源であるヘムとその流出先のアミノ酸残基の間の距離や方向を制御できる。これらの性質を利用し、本研究では、タンパク質中に含まれる特定のトリプトファン残基のアンチストークス紫外共鳴ラマンバンド強度の時間変化を観測し、ヘムで発生する余剰エネルギーの移動過程をアミノ酸残基単位で議論することに成功した。

【参考文献】 [1] 水野, 水谷, *分光研究*, **57**, 179 (2009); 水野, 水谷, *レーザー研究*, **37**, 746 (2009). [2] Mizuno, et al., *J. Phys. Chem. B* **113**, 12121 (2009); Mizuno, et al., *Biochemistry* **50**, 3170, (2011); Inada, et al., *Phys. Chem.* **419**, 65 (2013); Sudo, et al., *J. Phys. Chem. B* in press. [3] Fujii, et al., *J. Phys. Chem. B* **115**, 13057 (2011); 水野, 水谷, *熱測定*, **40**, 139 (2013).