

先端 1 分子計測と次世代放射光の役割

佐々木裕次

東京大学大学院新領域創成科学研究科物質系専攻

Advanced Single Molecular Observations and the Task of Next X-ray Light Sources

Yuji C. SASAKI

The University of Tokyo, Graduate School of Frontier Sciences

Department of Advanced Materials Science

<Synopsis>

Recent technological progress in dynamical biological imaging of individual single protein molecules has been achieved with several single-molecular techniques and systems. However, it is very difficult to measure intramolecular structural changes of individual protein molecules using visible lights due to the lack of monitoring precision and stability of the signal intensity from individual single chromophores under aqueous solutions or physiological conditions. In order to improve monitoring precisions and stability of the signal intensity from single molecular units under physiological conditions, we have proposed that single molecular techniques using shorten wavelength, for example, X-rays, electrons, neutron, and other accelerated ion probes. Recently, we succeeded dynamical observations of picometer-scale slow Brownian motions in individual protein membranes (Bacteriorhodopsin (BR) [1] and Potassium channel KcsA [2]) under aqueous solutions. We call Diffracted X-ray Tracking (DXT) [3-6] as the single molecular detection system with X-rays.

生物物理学において「1分子計測」が登場したのは1980年である。それよりも早く1950年代から生体分子構造の静止画としての構造生物学が登場し、その運動の様子が議論され始めた丁度その時期に「1分子計測」がスタートしたことになる。その後、可視光を用いた1分子計測研究が活発に研究展開され、分子の並進運動の追跡ではなく分子内運動の正確なモニターに関する議論がされ始めた時期に高速X線1分子追跡法を提案した[3]。X線1分子追跡法(Diffracted X-ray Tracking: DXT)のアイデアは単純で、直径20-50nm程度の極微ナノ結晶をタンパク質分子にその機能を損なわないように標識し、極微ナノ結晶からのラウエ斑点を指標に着目したタンパク質分子の動きを μs ~ms時分割追跡する。目的1分子ユニットの一部に構造変化があるとその部位に標識されているナノ結晶がその構造変化と同期して変位し、ナノ結晶からのラウエ回折斑点の方向を変化させる。

最近計測に成功し話題となった系に、機能性膜たんぱく質分子であるカリウムチャンネルKcsAがある[2]。カリウムチャンネル分子はカリウムイオン(K^+)だけを選択的に通す機能性膜

たんぱく質分子で、バクテリアからヒトの細胞に至るまで広く存在する大変重要な分子である。多くの研究者の疑問はどうやってイオン流を開閉するのか？だった。この課題に向かって長年多くの研究が積み重ねられてきたが開閉時の分子内運動を直接計測する手段が望まれていた。そこで1分子が動く様子を高精度に実時間で測定できるDXTを用いて、チャンネル分子が静止している状態で得られたスナップ写真ではなく、分子が働いている正にその運動状態を捉え、沢山のチャンネル分子からの平均的な情報では得ることができなかった1分子のチャンネルの構造が変わりつつある現場を計測することに成功した。結果的に4つの柱構造がねじれ回転することでイオンの通り道を開けたり閉じたりしていた。計測した後はどう研究展開するか？計測された予想よりも大きなこの運動は制御できるかもしれないと最近考えるようになった。今後生体系において「1分子機能制御」が実現するのも時間の問題だろう。

他にDXT計測で成功した系は、T細胞の分子認識に関連する1分子内部運動や、分子ゆらぎ運動と抗原抗体反応結合力の直接関係[4]、光励起型の分子内構造変化計測[1]、1分子シミュレーションとの比較[5]などがあり、今現在も可視1分子計測法では測定不可能な非常に微細な分子内運動を計測しており、マイクロ秒の高速化やナノ結晶の微細化も行っている。

今後、新しいX線光源が登場すれば、より高速により高精度にという流れは加速するが、それ以外に全く新しい方法論が登場することは極めて興味ある研究方向である。例えば、X線ピンセット[6]やX線AFMやX線エバネッセント顕微鏡など、可視光で行われていることすべてをX線領域で行うという極めて受動的な研究テーマでさえ多くの可能性が開ける。

- [1] Y. Okumura, T. Oka, M. Kataoka, Y. Taniguchi, Y. C. Sasaki: Phys. Rev. E, 70, 0219171 (2004). [2] H. Shimizu, M. Iwamoto, F. Inoue, T. Konno, Y.C. Sasaki, S. Oiki: Cell 132, 67-78 (2008). [3] Y. C. Sasaki, Y. Okumura, S. Adachi, N. Yagi: Phys. Rev. Lett., 87, 248102-248105 (2001). [4] T. Sagawa, T. Azuma, Y. C. Sasaki: Biochem. Biophys. Res. Commun. 335, 770 (2007). [5] Y. Kawashima, Y. C. Sasaki, Y. Sugita, T. Yoda, Y. Okamoto: Molecular Simulation, Volume 33, Issue 1 & 2, 97 (2007). [6] Y. C. Sasaki, T. Higurashi, T. Miyazaki, Y. Okumura, N. Oishi: Appl. Phys. Lett, 89, 053121 (2006).