

放射線科学

## 酵素反応を目で見る

佐々木教祐

私たちの体の中で起こっている生命の維持に関係している反応は、ほとんどが酵素、ホルモンなどと呼ばれるタンパク質が関係しており、エネルギーをあまり使わずに行われている。その秘密は、酵素などの立体的な構造がその機能を果たすために最適なかたちをとり、基質と呼ばれる反応物質と複合体をつくり反応が進行することにある。すなわち、酵素の特異性は「基質(鍵)と酵素(鍵穴)のかたちがちょうどはまり合う」関係にあることから約100年前に鍵と鍵穴説がだされた。しかしこれらのタンパク質の立体的なかたちが明らかにされ始めたのは今から40年前にすぎない。

このような酵素のうちでも分子量が小さい、たとえばニワトリの卵の中にある細菌の細胞壁を壊す酵素のニワトリ卵白リゾチームはアミノ酸129個が枝分かれせずに連なったもので分子量14400ほどの大きさがある。このような大きさの分子のかたちを決めることはX線結晶構造解析法と呼ばれる酵素の結晶にX線を照射しそこから出てくる回折線を測定し、そのデータをコンピュータで計算することによって初めて可能になった。最近では、強力なX線を発生できる放射光(シンクロトロン光)が使われるようになり、立体的なかたちが分かるまでの時間もかなり短縮された。また溶液中の立体構造についてはNMR(核磁気共鳴、医学ではMRIとして画像診断に使われている)の手法により分子量が2万以下のものについては解析が可能になってきている。これ以上の分子量を持つタンパク質の立体構造を決める手段は、やはりX線結晶構造解析法が唯一である。

体の中の酵素と基質の反応がどのように起こっているのかについては、実際に体の中で反応する基質のかたちのモデルを作り、酵素の立体モデルの中の反応に関係すると思われる場所に入れて複合体が立体的に無理なく作ることができるかを調べて反応過程の推測が行われた。また基質と類似するかたちをもつ物質(インヒビター)をつくり酵素と反応をさせる。この場合、基質ではないので反応は進まず複合体ができたところで止まってしまう。こうしてできて偽の基質と酵素の複合体の立体構造を決めることにより反応を理解しようとした。し

かし本当の基質がどのように反応していくのかを知りたいということは誰しも考えることであるが、こんな夢みたいなことが可能になってきたのである。

平成5～8年に行われた文部省の重点領域研究で高エネルギー物理学研究所の坂部知平教授のもとに組織された「放射光による蛋白質構造のミリ秒オーダーのダイナミックスの研究—時間分割ラウエ法によるアプローチ」がそれである。私もこの研究メンバーに参加して、時分割ラウエカメラの作製・評価に加わったのでその成果の一部をここに書いてみたい。

まず反応の過程を見る方法は、シンクロトロンが作る強いX線(放射光)を使って高速にX線結晶構造解析のためのデータを集める方法、すなわちラウエ法を使いミリ秒単位でデータを収集する。普通のX線結晶構造解析が単一に近い波長のX線を使うのに対しラウエ法は、広い範囲の波長すなわち白色光を使ってたくさんのデータを一度に集めてしまう方法である。この方法は昔から知られていたがタンパク質のような複雑な構造の解析には使えないと思われていた。しかし実際にやってみるとかなりのデータが集まること最近になって明らかになり、世界のシンクロトロン装置を持っているところで試行実験が始まっているが、まだどのくらい有効かは明らかになっていない状態である。この方法の有効性を証明するには、やはりできるだけ多くの具体的な反応の中間体の構造を解明する事が大切である。そのためには、まずデータを測定するラウエカメラを制作し、生体反応を明らかにできるような適当な反応系を見つけなければならない。やり方としては、1) 酵素とレーザーをあてると基質が生成するような基質の誘導体を作り両方を含む結晶を作る。2) 光などを当てて反応を開始させる。3) 酵素と基質が反応して中間体ができたとところでラウエカメラでデータを収集する。4) そのデータを使って中間体の立体構造を決める。さらに時間を変えてデータを収集すれば生体反応を映画で撮影するように1コマ1コマの構造を解析していけば反応の経過を映像で見ることができるようになる。基本的な2)～4)の準備がまず整った。しかし、適当な試料がなかなかできない。反応がミリ秒の単位で進行してくれなくては見られないのである。普通の生体反応はそんなにのんびりと進んでくれないので、温度を下げる、基質をゆっくり反応するものに変更するなど考えられることは何でも試みられた。多くの試行錯誤の中でやっと今年の7月、京都大学の小田先生のグループによるグルタチオン合成酵素の反応が中間複合体のかたちを見ることに成功したのである。新しい方法の開発がいかに困難なことかを痛感した研究であった。

(名古屋大学情報文化学部教授)