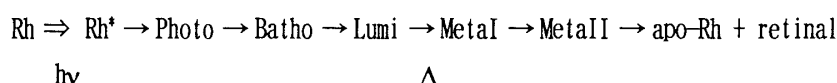


レチナル蛋白質の低温分光と SVD 解析 –きちんと測ると揺らぎが見える–

北陸先端科学技術大学院大学・材料科学研究科 水上 卓

レチナル蛋白質は、細胞膜貫通型の7本ヘリックス構造で、ビタミンA誘導体レチナルを蛋白分子の中心部に持ち、これが発色団として可視部に吸収を示す。反応のトリガーは光によるレチナルの異性化で、それに誘起された蛋白質の構造変化により、数個の反応中間体がシーケンシャルに現れる(熱崩壊過程)。発色団-蛋白質間の相互作用により、反応中間体はそれぞれ固有の可視吸収スペクトルを示し、低温分光法や時間分解分光法によって、古くから反応解析が進んでいた。例として視覚を司るロドプシン(Rh)を挙げると、反応スキームは



となる。レチナル蛋白ではどれも類似のスキームを示すが、このなかのメタ II あるいはメタと呼ばれる中間体が、(視覚の)情報伝達・イオンポンプなどの機能を発現する。

さて蛋白質のゆらぎと、機能の発現との関連を調べるのは、高効率な蛋白質の反応機構を解明する上で重要だと考えられている。筆者はこれまでレチナル蛋白質を試料に用いたコンベンショナルな低温分光法と、スペクトル解析法の一つである特異値分解(SVD: Singular Value Decomposition)法を組み合わせ、研究を進めてきた。SVDは拡張された固有値分解法とみなすことができ、スペクトル変化の線形独立性に着目して、ノイズに隠されたシグナルを抽出することができる。またスペクトル変化の成分の次元(rank)も決定することから、きわめて定量的な解析が可能となる。その解析において、単純な一次反応のシーケンシャルスキームでは、説明のできないスペクトルの挙動を見いだした。

イカの持つレチナル蛋白質であるレチノクロム(Ret)試料を80Kで光照射し、その可視吸収スペクトル変化を、SVD法によって解析した。レチノクロムは液体窒素温度下(80K)において、Lumi, X 中間体と



の光平衡をなす。スペクトル/キネティクスはSVDによって2成分と決定された(rank=2)。上の一次反応を仮定すると、キネティクスはdouble-exponential関数に従うはずだが、近似が不可能なことを示された。そこでガウス分布した反応定数を仮定して解析すると、LumiからXへ向かう反応定数は、Ret-Lumiの遷移にくらべて幅広い分布プロファイルを持ち、さらにそのプロファイルに照射波長依存性があった。ガウス分布した反応定数をもとにfittingを行い、トスペクトルを求めると、デルタ関数型(一時反応)の分布の場合よりLumi-Xのシグナルが大きくなる傾向が認められ、良い近似であることを示している。本実験において速度分布は、異性化の量子収率の分布を反映し、レチノクロム中間体の蛋白質構造のゆらぎを反映していると考えられる。

ミオグロビン蛋白質の反応過程にあらわれる速度分布に関しては、Frauenfelderらによる先駆的な研究があるが、レチナル蛋白質に関してはこれまでこのような報告例はなかった。今回の実験データは低温での光異性化過程であるが、これまでおこなってきた熱過程のSVDによる反応解析においても、一時反応スキームモデルへの近似が困難なケースがいくつか見られ、レチナル蛋白質における分布した反応速度の存在を示唆している。

最近のレチナル蛋白質を巡る状況として、反応中間体も含めた複数の分子種に対するX線結晶構造解析がなされたこと、また、赤外/ラマン分光によって、各反応中間体におけるアミノ酸残基および水分子等の相互作用の詳細が明らかになりつつあること、などがある。機能の発現と蛋白質のゆらぎとの関わりを調べる目的に、多数の反応中間体を持つレチナル蛋白質と、可視/赤外分光およびSVD解析は(少なくとも当面は)良い素材・方法ではないかと考えている。