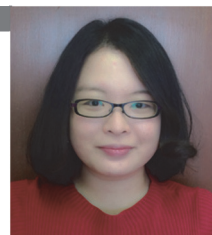


タンパク質の揺らぎが織りなす生命現象

奥田 綾 (複合原子力科学研究所 助教)



ご紹介いただき、ありがとうございます。
複合原子力科学研究所の奥田と申します。本日は、オンラインでも聞いていらっしゃるということで、このようなたくさんの方々の前でお話しさせていただく機会をいただき誠にありがとうございます。

本日は、タンパク質の揺らぎが織りなす生命現象ということで、お話しさせていただこうと思います。

まず、自己紹介からさせていただきます。
地図を描いていますけど、私は近畿圏内で完結してしまうほど狭い範囲で人生を歩んできました。出身地は京都府の木津川市です。ここは学術研究都市と呼ばれる、企業や大学などの研究施設が集まった場所ですので、小学校のときの社会科見学では研究施設にお邪魔して見学させてもらう環境にあり、サイエンス、科学が身近にあるような幼少期を過ごしてきました。

中学・高校は奈良県の奈良学園中学・高等学校に進学しました。中学生のときに私の進路を決定付けるようビッグなニュースに出会うことになりました。知っている方もいるかも知れませんが、サントリーの青いバラです。このときまで青いバラは作ることが不可能でしたが、自然ではあり得ないものを、サントリーの研究所が遺伝子の組み換え技術によって実現したというニュースが飛び込んできました。中学生の私は、これにビビッと来て、これは面白い、カッコいいなと感じて、遺伝子組み換え植物を作りたいと思いました。そして、どこに行けばそういうことができるのかなと調べて、農学部に行ったらそういう研究や勉強ができるということで、大学は京都大学の農学部に進学しました。

遺伝子組み換え植物を作りたいと思い大学に入ったのですが、いろいろな講義を聴いたり、最新の研究に触れるにあたって、生命現象の仕組みを明らかにしたいと思うようになりました。青いバラを作るのではなく、なぜバラが青くなるのか、どうやったらバラが青くなるのか、ということに興味シフトしていったわけです。そのまま京都大学の農学研究科に進学しました。そのときは、生命現象の仕組みを司る因子の一つとしてタンパク質に興味を持っていまして、大豆のタンパク質、酵素の研究ができるような研究室に配属されました。

第18回 京都大学附置研究所・センターシンポジウム
3月4日(土) 新潟県民会館

**タンパク質の
揺らぎが織りなす
生命現象**

京都大学複合原子力科学研究所

奥田 綾

自己紹介

名前: 奥田 綾

● 出身地: 京都府木津川市

● 中学高校: 奈良学園中学高等学校 (奈良県)

● 大学: 京都大学農学部 (京都府京都市)

● 大学院: 京都大学大学院農学研究科 (京都府宇治市)

学位: 博士(農学)

専門: 農芸化学/生化学 + 生物物理学

● 現在の所属: 京都大学複合原子力科学研究所 (大阪府泉南郡熊取町)

学術研究都市

遺伝子組み換え植物を作りたい!

生命現象の仕組みを明らかにしたい!

ダイズのタンパク質(酵素)の研究

タンパク質(酵素)の機能と構造の研究

サントリーの青いバラ

そのままその研究室で農学の博士を取りましたので、私の専門としましては、先ほど紹介していただいたとおり、農芸化学であったり、生化学であったりして、酵素やタンパク質に生命科学的な視点からフォーカスして研究をしています。しかし、それだけでは生命現象の仕組みを明らかにするところに迫りきれないと思い、一念発起して現在の所属である複合原子力科学研究所に移りました。今は生物物理学、物理の実験手法、考え方を用いて、タンパク質の機能に加えて構造の視点から研究を進めています。

所属している複合原子力科学研究所は大阪府の泉南郡熊取町にあります。そう、実はこの研究所は、京都大学でありながら京都にはないんです。大阪府のほぼ和歌山県寄り、関西国際空港（関空）の近くにある研究所です。写真で示していますが、名前に原子力とあるように、研究と教育に特化した小さな原子炉が設置されております。このきれいな青い光は、研究炉の炉心のチェレンコフ光ですが、このような原子炉があります。



皆さんは、恐らく原子炉ですと、発電用の原子炉、そこからエネルギーを取り出す原子炉をイメージされると思いますが、この原子炉は、発電用の原子炉の1000分の1ぐらいの非常に小さな小型の原子炉でして、エネルギーを取り出すのではなく、原子炉自体を使って研究したり、原子炉から出てくる放射線を使って研究をしています。

また、教育もやっていて、京大の学生さんだったり、ほかの大学の学生さんが全国からいらっして、原子炉の運転方法を実際に動かして学ぶ実習を受けられたりもしています。

その中でも、私は原子炉から取り出した中性子、放射線を使って研究を行っています。原子炉では、もちろん工学や原子炉の安全の研究を行っている先生もいますが、放射線を利用した生命科学的な研究も行われています。その中でも、私はタンパク質の構造にフォーカスして、研究をしています。

大阪府にある複合原子力科学研究所から、本日私は新潟にやってきたわけですが、新潟で有名なものと言えば、日本酒ですね。酒所ということで、私はとても日本酒を楽しみにしてしまっていて、新潟駅の近くにある日本酒の飲み比べができるお店に行ってみようと思っています。前のほうで聞いていらっしゃる高校生の皆さんは、大人になってから楽しんでくださいね。

この日本酒なんですけれど、おいしいので

新潟と言えば……！

日本酒！！

新潟県内の日本酒蔵

新潟県内の日本酒蔵

おいしい！でも呑み過ぎると…

二日酔い

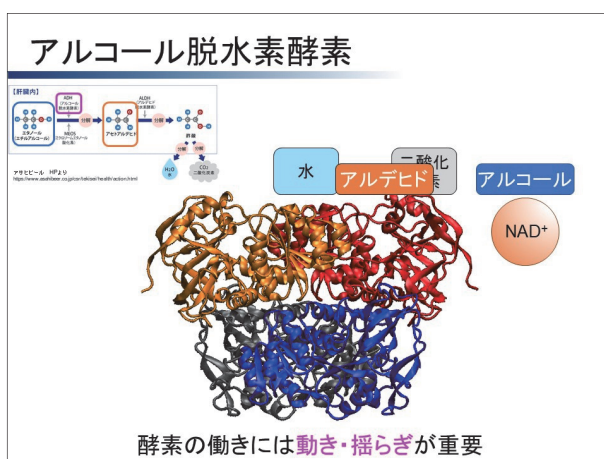
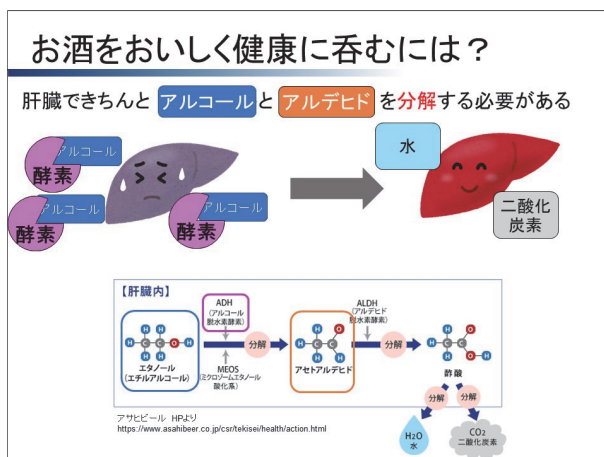
肝臓に負担が…

すが、飲み過ぎでしまうと二日酔いだったり、肝臓に負担がかかったりして、おいしく飲めない、健康的に飲めないという問題があると思います。こういうお酒を、おいしく飲みたい、健康的に飲みたい、おいしく、健康的に飲むにはどうすればいいか、と考えると思います。

そのためには、肝臓でちゃんと、アルコールと、その分解物であるアルデヒドを分解する必要があります。ここに描いているような経路で分解されるのですが、これはアルコールがたまってしんどそうな肝臓さんです。このアルコールを肝臓にある酵素が、アルデヒドを分解します。そして、最後は水と二酸化炭素に分解してくれます。そうすると、苦しそうな肝臓さんが、にっこり健康になります。肝臓がにっこり健康になるために、頑張ってほしい酵素の一つとして、アルコール脱水酵素があります。それはこういう形をしています。皆さんは、酵素の形を見たことがありますか。実はこういう形をしています。

こういう形があるだけではなく、実は動いています。動いてこのあたりに隙間ができます。アルコール脱水酵素が働くときに必要な、NAD という道具が、この穴の部分にうまく結合することが知られています。動いているので、NAD がうまくはまって、道具を得て、分解すべきアルコールがやってきて、きちんとアルデヒドに分解できます。さらに、また違う酵素が働いて、最終的には水と二酸化炭素に分解してくれます。ということは、酵素の働きには、こういった動き、揺らぎがとても重要なのではないかとイメージしていただけたかと思います。

動きがある「酵素」と言っていますが、「酵素」はタンパク質の一つです。このアルコール脱水酵素もタンパク質の一つです。働くタンパク質のことを、酵素と言います。このアルコール脱水酵素だけではなくて、皆さんも知っているかもしれませんが、ペプシンやアミラーゼ、そういったものも働くタンパク質、酵素です。いろいろな種類のタンパク質、酵素が私たちの体の中にあります。



私の研究の興味は、働くタンパク質、酵素の仕組み、どうやって働くかという仕組みをしっかり理解したいということにあります。さっきお見せした動き、揺らぎという視点から、この仕組みを理解しようと研究を進めています。

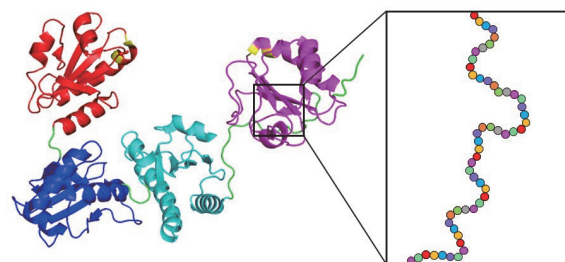
これまでタンパク質の形を見せるときに、このようなリボンの漫画的なかたちで示してきましたが、実は、実際こうではなくて、アミノ酸の玉が数珠状に連なったような形になっています。こちら1色の数珠状で示していますが、実は1色、1種類だけではなく、いろいろな種類のアミノ酸が連なっています。タンパク質ごとに規則に従った並びで繋がっています。タンパク質を構成するアミノ酸には、20種類のアミノ酸が知られています。皆さん、ご存じかも知れませんが、グルタミン酸ナトリウムのグルタミン酸だったり、サプリメントの必須アミノ酸だったり、グリナという機能性表示食品のグリシンなども知られています。性質や形が全然違う20種類のアミノ酸が、それぞれの規則を持って数珠状に連なって機能を発揮しています。

ただ単に数珠状に連なっただけでは駄目で、このようなタンパク質固有の形を作る必要があります。その正しい形をとることによって、そのタンパク質が酵素の場合はその機能を発揮し、働くことができます。

この正しい形へとかたち作る仕組みも、私たちの体の中に備わっています。細胞の中では、タンパク質を合成する装置であるリボソームが存在します。そこにメッセンジャーRNA (mRNA)、最近ではワクチンなどで有名かと思いますが、遺伝子情報の仮のメモ書きみたいなものがこのリボソームにやってきて、リボソームがその情報を読み取って、アミノ酸の鎖をつないでいきます。さっき言ったように、アミノ酸の鎖がつながるだけでは駄目で、アミノ酸の鎖を正しい形にしていきます。

その正しい形にするときにも、実は、タン

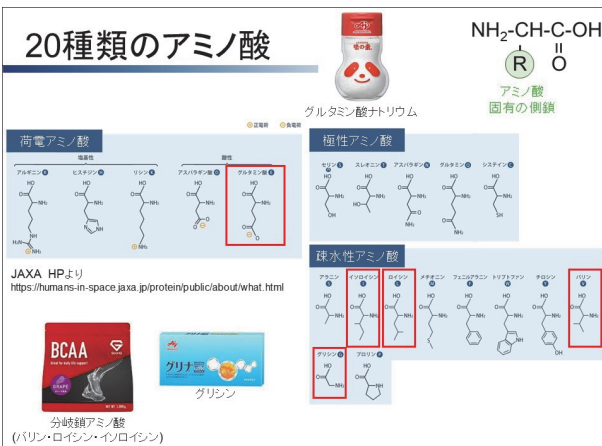
タンパク質はアミノ酸の連なりである



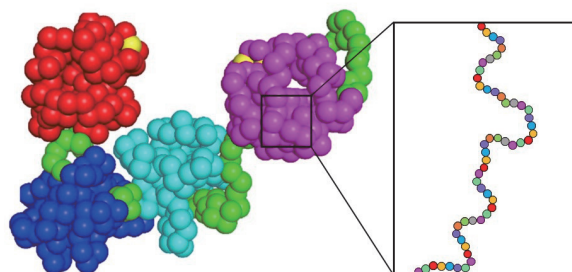
タンパク質構造形成酵素
(ER-60)

アミノ酸が数十個～数百個
数珠状に連なったもの

20種類のアミノ酸



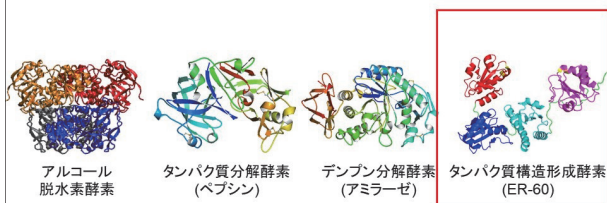
タンパク質には形がある



タンパク質構造形成酵素
(ER-60)

正しい形になることで
働くことができる

働くタンパク質＝「酵素」



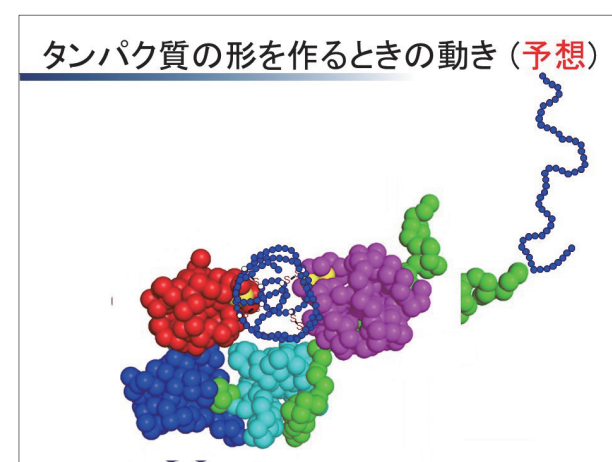
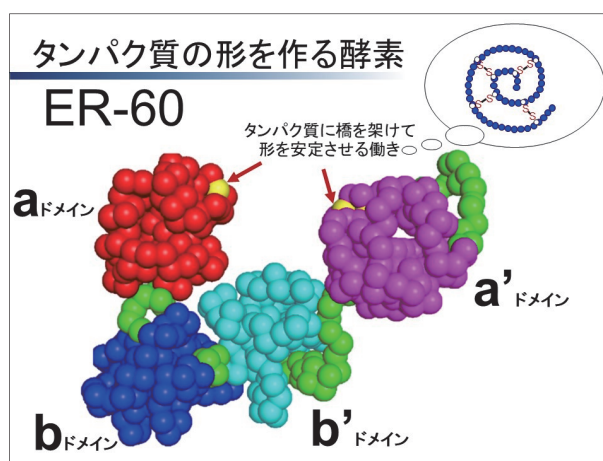
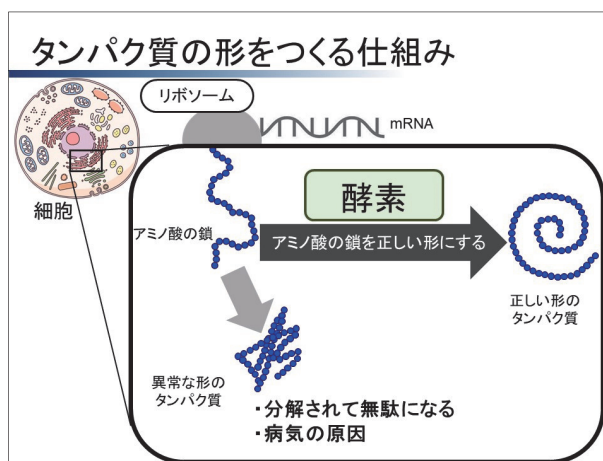
パク質の一つである酵素が働きます。もし、この酵素がちゃんと働くことができなかった場合に、変な形のタンパク質ができてしまいます。こういうタンパク質ができてしまった場合、分解されて、せつかくつないだものが無駄になってしまったり、変な形のものが細胞に蓄積して病気の原因になったりしてしまいます。ですので、このアミノ酸の鎖を正しい形にする酵素の働きが非常に重要であることが分かっていただけるかなと思います。

このタンパク質の形を作る酵素は ER-60 というタンパク質構造形成酵素です。ちょっと難しいですが、これから ER-60 と呼ばせていただきます。私はこの酵素に着目して研究をしています。これからお話しするのは、この ER-60 という、タンパク質の正しい形を作る酵素のお話になっていきます。

この ER-60 という酵素は、さっきのアミノ酸の球の形で示すと、こういう形をしています。色分けしていますが、これは1個のタンパク質で、U字型の斜めになったような、何か抱え込むような形のタンパク質、酵素です。それぞれ色分けた一塊をドメインと呼んでいます。a、b、b'、a' という4つのドメインがつながって1個のタンパク質になっています。このaとa'ドメインの部分には、タンパク質に正しい形を作るだけでなく、橋を架けて留め金のようにつないで、変な形に崩れないように形を安定させる働きを持つ部分も備わっています。

このタンパク質の形を作る酵素、ER-60に、さっきアルコール脱水酵素でお見せしたような動きがあるとすれば、どんなものがあるのかを予想してみました。今の段階では、完全に予想です。U字の構造ですと、ここに何かはまりそうだなと想像できるかと思います。この鎖が、まだ形を作っていないタンパク質のアミノ酸の鎖だと思ってください。これを迎え入れるために、ぱかっと開きます。開いたのでアミノ酸の鎖が入っていき、開いたままだと離れていってしまうので、ER-60 はぱくっと食いつきます。そして ER-60 は頑張ってタンパク質の形を作っていきます。きちんと形ができたなら、このままでは完成したできたものが離れていけないので、またぱかっと開いて完成したものが出ていき、タンパク質自身が働くところに行くということが考えられます。

これはあくまで予想ですので、私はこの動きが本当にあるのかを、自分の目で見たいと思います



した。

ですが、どうやってタンパク質を見たいのかの問題です。タンパク質はすごく小さいものです。数ナノメートルから数十ナノメートルなので、1センチの1000万分の1の大きさです。イメージしづらいと思いますが、目では見えないですし、虫メガネを使っても絶対見えないことが分かると思います。

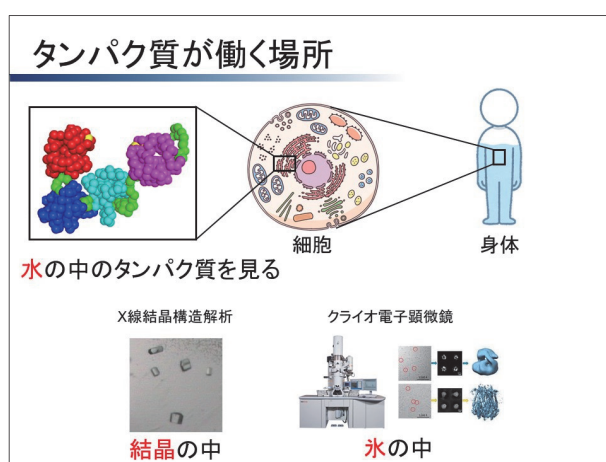
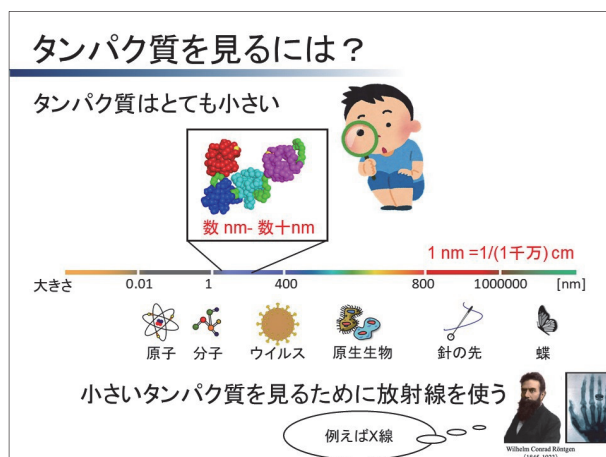
ですので、この大きさと近い波長を持つ放射線を使います。例えばレントゲンで有名なX線を使います。こういう特殊な目で見る必要で大事なポイントです。

もう一つ大事なことが、タンパク質が動いているところを見たいということです。動いていて、働いているところが見たいのです。タンパク質はどこで働くのかというと、生き物の細胞内がその一つです。我々の身体にある細胞は、そもそも体自体が60%から70%が水で満たされているので、細胞自体も水で満たされています。ですので、タンパク質自体も水の中で働くことが想像できると思います。つまり、水の中でタンパク質を見る必要があります。

詳しい方だったら知っているかも知れませんが、タンパク質の形を見る方法の中で有名なものが、X線結晶構造解析というものです。これは、タンパク質を結晶化して、X線を当てて形を見るのですが、結晶化してしまうので、結晶の中に固まったタンパク質の動きは見えません。他にも、クライオ電子顕微鏡という方法もあります。これはノーベル賞の対象にもなったので、知っている方もいるかも知れませんが、タンパク質を氷の中に閉じ込めて電子顕微鏡でタンパク質の形を観察する手法です。氷の中でタンパク質は動けないので、動きを見るには適していません。

では、水の中でどうやって見るかということですが、私が使っている手法は小角散乱法というものです。ちょっと勉強している人でも、あまり耳慣れないかと思います。私もこういう構造の研究を始めるまで聞いたことがなかった手法です。

この手法は、タンパク質を水に溶かした溶液の状態で測ることができます。結晶や氷で固めたりしなくても大丈夫です。この溶液に放射線、中性子線やX線を当てて、散乱してきたものを検出して、それをデータ処理すると、こういうデータが得られます。



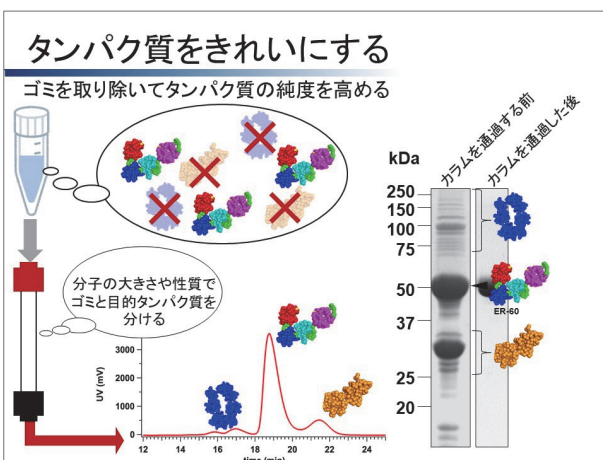
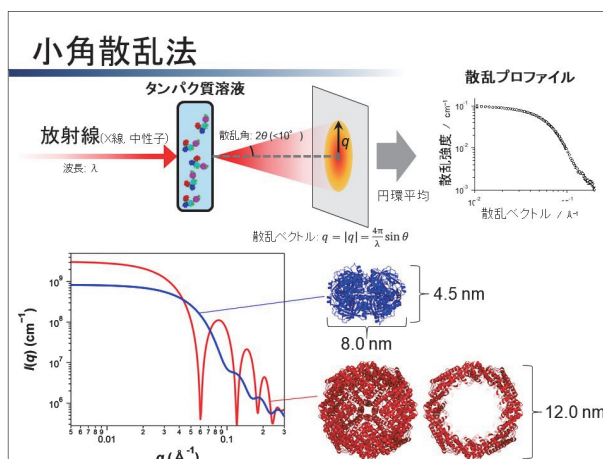
横軸に、散乱した角度に依存するような値、縦軸に強さがデータとして出てきます。しかし、このデータはタンパク質の形を示しているのか、何が何だか分からないと思います。実は、この中には情報が含まれていて、タンパク質の形、大きさが反映されているのです。例えばですが、青で示したひらべったくて小さめのタンパク質と、赤で示した丸くて大きめのタンパク質の2つを比べてみます。

この赤いほうは、丸いだけではなく、中に空洞があるタンパク質です。見た目でも形も大きさも全然違うタンパク質を、小角散乱法で観察してみると、どんなふうに見えるかという、青いタンパク質は、滑らかな凸凹を持つデータが取れます。赤い丸くて空洞があるようなタンパク質だと、明らかな谷が見えるようなデータが取れます。タンパク質の大きさ、形に依存したデータが取れるとイメージできたかと思います。このような手法を用います。

測定手法は小角散乱法ですが、タンパク質のほうはタンパク質の構造を形成する酵素である ER-60 を使います。これは、どこかで売っているものを買うのではなく、自分で作っています。どうやって作るかというと、大腸菌にタンパク質を作ってもらいます。作りたいタンパク質の DNA の配列を大腸菌に組み込んで、育てるとタンパク質を作ってくれます。これは私ですが、「私が育てました」と生産者の顔が見える大腸菌です。

このような大腸菌から、作ってもらったタンパク質を取り出すのですが、ただ単に取り出すだけでは駄目です。大腸菌も大腸菌自身のタンパク質を持っていますので、目的のタンパク質以外の要らないタンパク質も、そのまま取り出してきたときには存在しているので、これをきれいに取り除いてやらなければいけません。分子の大きさや性質で要らないものと目的タンパク質を分けるカラムというものに通します。カラムに通すと、要らないものがまず出てきて、その後、欲しい ER-60 が出てきて、また要らないものがでてくる、といったように分かれて出てくるので、ここの部分だけを取ればきれいになるという方法です。

実際にカラムを通過する前には、要らないタンパク質がいろいろなところに見えますが、カラムを通過すると、ちゃんと欲しい ER-60 だけになっています。これは結構大変な作業で、ある意味腕の見せどころです。きれいなタンパク質を作ることで、この先の小角散乱の実験もうまくい

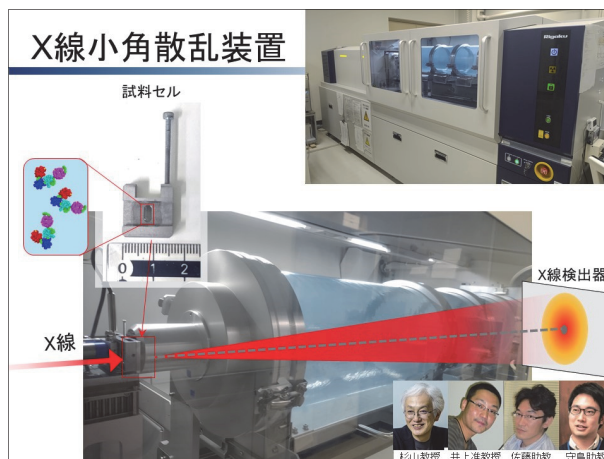


きます。

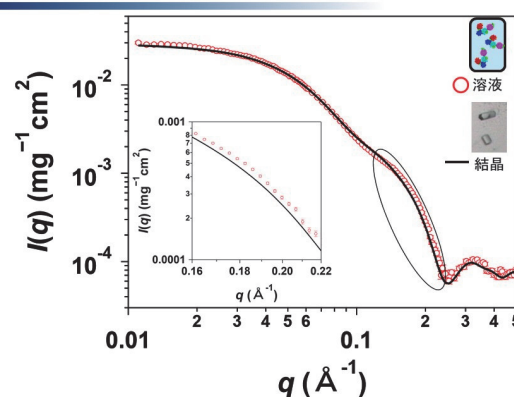
いよいよ小角散乱を測っていきます。最初にご紹介するのが、エックス線を使った小角散乱です。これは所属している研究室に設置されている小角散乱の装置ですが、研究室の専門家の先生方に教えていただきながら、私も実験をしています。こちらからエックス線が来て、ここにサンプルを置いて、この小さな試料セル（試料容器）、2センチぐらいの容器のこの小さな窓にサンプルの溶液を入れます。そしてエックス線を検出して、データ処理というふうに進んでいきます。

実際に出てきた、溶液の酵素 ER-60 のデータがこちらの赤い丸で示したものです。ここに、さっき動かないと言った ER-60 の結晶のデータを黒線で重ねてみます。一見ぴたり合っていると思うのですが、このあたりを拡大してみると、ずれているのが分かります。ということは、固まって動かない結晶と、水の中では少し違う構造、揺らいだ構造があるのではないか、ということが分かります。ただ、どこが揺らいでいるのか、何が動いているのか分からないので、計算機シミュレーションの力を借ります。あくまでここは予測の段階なのですが、研究室の専門家の方に計算をしていただきました。すると、このような、**a** ドメインと、**a'** ドメインが近づいたり広がったりするような動きがあることが予測できました。

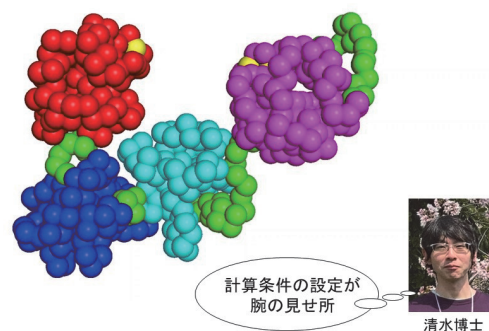
この予測は、スイッチを押すだけでできる魔法のようなものではなく、条件の設定がとても重要で、専門家の腕の見せどころです。こうして計算予測した構造、揺らぎのある構造を、さっきの溶液の実験データにピンクの線で重ねてみます。結晶よりは合っているのではない、先ほどずれていたところを拡大してみると、しっかり合っています。溶液の中では動いている、揺らいでいるのではないかということが分かったわけです。



酵素ER-60のX線小角散乱測定



計算機シミュレーションによる予測



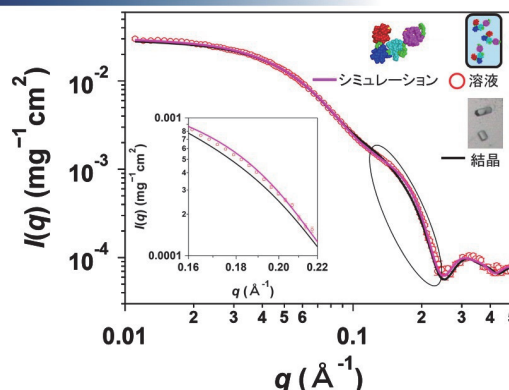
では、最初から計算の予測だけでいいのではと思ってしまう人もいるかと思いますが、実はそうではありません。計算予測と実験の連携がとても重要です。最初に計算シミュレーションを何も考えずに行うだけでと、実験データと全然合ってきません。実験データが本当の姿なのですから、このデータに合わせて行かなくてはならないので、計算条件の再設定をします。そして計算シミュレーションもう一回やります。そして少し近づいてきたかと思ったら、もう一回条件を再設定してまた計算をやります。またもう一回データを比較すると、ぴったり合います。実際はこの条件再設定と再計算を合うまで繰り返します。こういったデータの比較、条件の設定、計算予測と実験の連携が真の動き、揺らぎを見るにあたって重要です。

今回、きれいなタンパク質を作り、エックス線の小角散乱実験を行い、計算シミュレーションも取り入れて、ER-60 が開いたり閉じたりする揺らぎが見えました。この成果を論文に書いて公表しています。

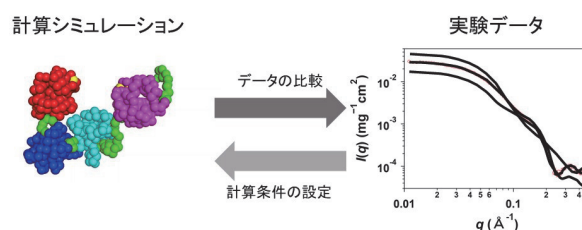
ですが、さらにもっと先を目指してみよう、まだまだ見るべきことがあるのでは、まだ見えていないところあるのではと、一歩先、最先端の研究に進んでみようと、さらに考えました。今まで見ていたのは、ER-60 という酵素だけの動きでした。ER-60 の働きは、この形が作られるほうのタンパク質があつてこそそのものです。つまり、形を作っていくときの動き、働くときの動きを見たいというわけです。

では、なぜこれまでの実験では形が作られるほうのタンパク質を入れていなかったのかですが、形が作られるほうのタンパク質も、ER-60 が働くと同時に動いてしまうことが問題だったためです。両方存在すると、形が作られるほうのタンパク質の動きなのか、酵素 ER-60 の動きなのかが

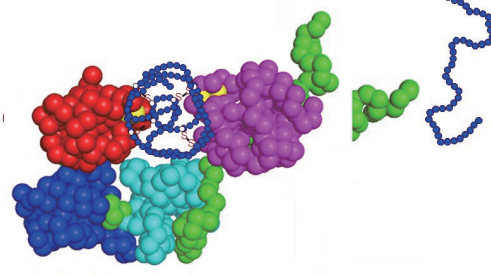
水中の揺らぎを計算予測できていたか？



計算予測と実験の連携が重要



働くときの揺らぎを捉えたい



酵素だけの動き・揺らぎを見るには……？

見分けられません。ですので、酵素だけの動き、揺らぎを、どうにかして見たいと思いました。

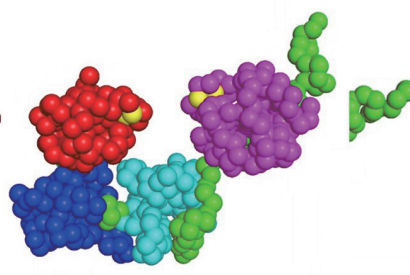
では、どうやって見るかという、見たくないものを消してしまう、見えなくしてしまうことが考えられると思います。こういう実験を知っていますか。水とサラダ油の中にガラスのビーカーを沈めると、水の中ではガラスのビーカーは見えますが、サラダ油の中では屈折率がサラダ油と一緒にあって見えなくなってしまいます。これに、絶対見える金属の鍵を入れると見えます。この考え方で、ガラスのビーカーを見たくないタンパク質と見立てて、金属の鍵を見たいタンパク質と見立てます。つまり、見たくないタンパク質と周りの液体が同化するような実験をすれば、二つの動きを見分けられるのではないかと考えました。

実際はこのようになります。見たくないタンパク質をオレンジ色、見たいタンパク質は青で示しています。見たくないタンパク質と同化する同じオレンジ色の液体を何とか用意できれば、青い酵素だけ見えるのではと考えられます。

この見たくないタンパク質どうやって用意すればいいか、同化する液体は何なのかが問題になるかと思います。そこで登場するのが、中性子と同位体です。同位体を使って、中性子の目で見ることが、さっきの実験を実現可能にします。

中性子は原子炉から取り出すことができるので、複合原子力科学研究所にも中性子の小角散乱装置が存在しています。取り出した中性子を使って、中性子の目で見ます。水素 (H) の同位体は何かというと、それよりも中性子が1個くっついて少し重くなった、水素ではあるけど重い原子があります。それを重水素 (D) と言います。この重水素を水素と比べて、中性子の目で見てみると、全然見え方が違います。さっきの青いのとオレンジぐらいの見え方の違いが

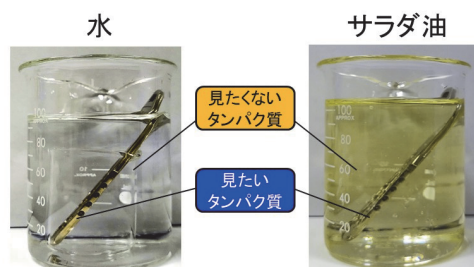
酵素ER-60の揺らぎを捉えることに成功



一歩先の最先端の研究へ！

酵素ER-60だけ見るには？

見たくないものを見えなくする

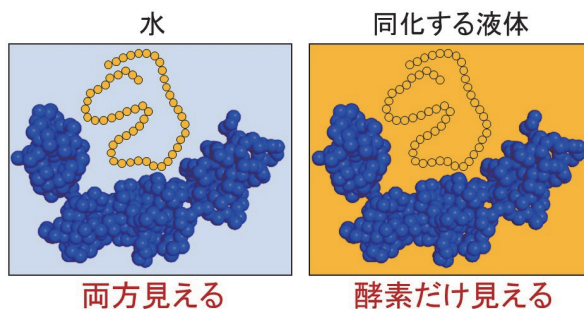


タンパク質と周りの液体が「同化」してしまえばいい

酵素ER-60だけ見るには？

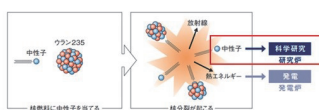
タンパク質と液体を同化させる

● 見たいタンパク質
● 見たくないタンパク質



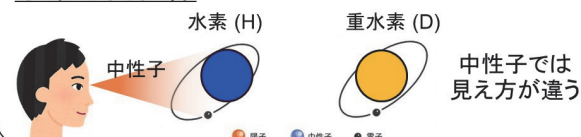
同位体を使って中性子の「目」で見る

中性子



中性子小角散乱装置 (CN-2)

水素の同位体



このタンパク質を作るのは生命科学分野の技術で、特別な実験は実験物理学分野の技術、計算機シミュレーションは計算機科学分野の技術です。私は生命科学分野の研究者ですが、実験物理学の先生方や、計算機の先生方、もちろん生命科学の先生方も、いろいろな方と連携して、この最先端の研究が可能になりました。しかし、それぞれの研究者が分離しているのではなくて、相互的に理解して、お互いの研究分野にリスペクトを持って研究を密に進め、それぞれがいろいろな分野の研究をできる状況になること

タンパク質だけ見える

で、最先端の研究、まだ見ぬものを見る研究が成り立っていくと思っています。
以上です。ありがとうございました。