

業績紹介：蛍光寿命の揺らぎを観る相関分光法を提案

石井邦彦

(理研田原分子分光・A01 公募研究代表者)

論文題目："Resolving inhomogeneity using lifetime-weighted fluorescence correlation spectroscopy"

著者：Kunihiko Ishii and Tahei Tahara

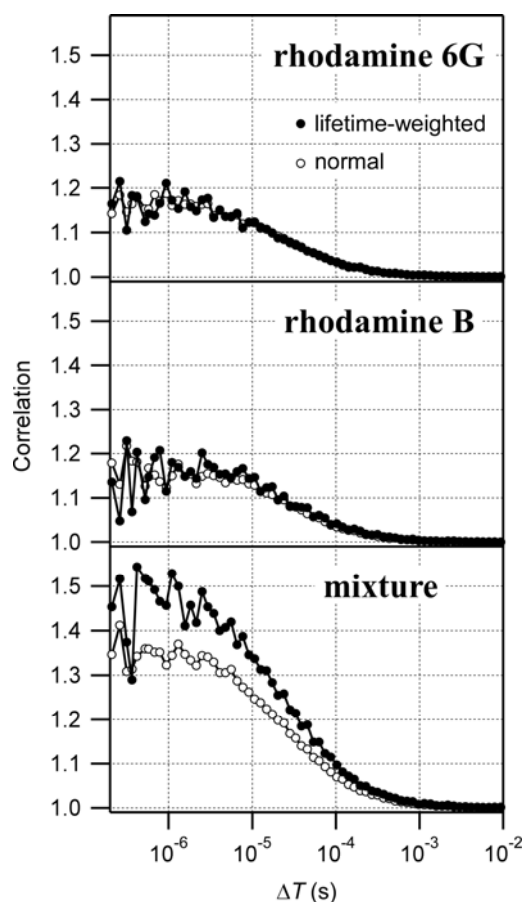
雑誌巻号：J. Phys. Chem. B **114**, 12383-12391 (2010)

生体分子の構造を調べるためのプローブとして、適切な部位にラベルした蛍光性レポーター分子の蛍光寿命を利用する方法がある。この方法ではレポーター分子と周囲の分子との相互作用による蛍光消光や近傍のアクセプター分子へのエネルギー移動を蛍光寿命の変化として検出し、周囲の環境とその変化についての知見を得ることができる。

本研究では、生体分子の構造揺らぎの計測手段として蛍光寿命のもつ情報を有効に活用するために、蛍光寿命の不均一性（分子間の揺らぎ）と時間変化（分子内の揺らぎ）を蛍光相関分光法の原理を応用して調べる新しい分光法を提案した。蛍光相関分光法はナノ秒～マイクロ秒の時間領域での蛍光強度の揺らぎを単一分子レベルで測定する方法である。これを蛍光寿命の揺らぎ計測に拡張するために、検出される光子毎に蛍光寿命測定を同時に行える蛍光相関分光計を製作した。これを用いて得られた光子データから通常の蛍光強度相関関数 $G_L(\Delta T)$ と蛍光寿命の重みをかけた蛍光強度の相関関数 $G_L(\Delta T)$ を算出し、それらを比較することで、並進拡散成分など蛍光寿命に影響を与えない相関成分と区別して蛍光寿命揺らぎの存在を検出することができる。

図に示した応用例は、蛍光寿命の異なる2種類の蛍光色素 rhodamine 6G と rhodamine B の混合溶液に対して本手法を適用した結果である。それぞれの蛍光色素の純粋な溶液（上図、中図）では、 $G_L(\Delta T)$ 、 $G_L(\Delta T)$ はほぼ重なっていて区別できない。これは、系に含まれる分子の蛍光寿命の揺らぎがないことを反映している。この場合でも個々の光子のもつ蛍光寿命の値は統計的に揺らぐが、その期待値としては系が均一であるため揺らがないということである。一方、混合溶液の測定結果（下図）では $G_L(\Delta T)$ が $G_L(\Delta T)$ とは異なる挙動を示

している。このことは観測される平均の蛍光寿命が（観測領域への異種分子の出入りに伴い）時間と共に変化していることを意味する。これにより、系が不均一であることを直接的に結論できる。



図：蛍光寿命重み付き蛍光相関分光による不均一性検出
(上・中) 純溶液、(下) 混合溶液

本研究で重要なことは、蛍光寿命を鍵として予備知識なしに系の不均一性を検出できるということである。さらに $G_L(\Delta T)$ と $G_L(\Delta T)$ の比の遅延時間 (ΔT) 依存性を調べることで、不均一性の時間スケール、すなわち蛍光寿命の時間揺らぎを議論することができる。これらの特長を利用することで、生体分子の構造揺らぎに関するユニークなデータが得られる可能性が期待される。現在これを目標とした応用研究が進行中である。

第 48 回日本生物物理学会年会シンポジウム報告

Fluctuation and Function of Biomolecules

飯野亮太

(阪大産研・A03 公募研究代表者)

戸谷希一郎

(成蹊大理工・A03 公募研究代表者)

2010 年 9 月 20 日～9 月 22 日に東北大学川内北キャンパスで行われた第 48 回日本生物物理学会年会において "Fluctuation and Function of Biomolecules Symposium" が、本新学術領域研究「揺らぎと生体機能」の共催のもとに飯野亮太(阪大産研)、戸谷希一郎(成蹊大理工)による企画・運営で開催された。本シンポジウムでは、主要な生命分子である DNA, タンパク質, 脂質膜, 糖鎖に焦点を絞り, それらの構造や反応に関与する「揺らぎ」に対して多様なアプローチで研究を行っている若手研究者による講演が行われた。当日は 200 名程度の参加者を得て, 講演者によるホットな話題提供と活発な討論が行われ, 盛況であった。

開会に先立ち, オーガナイザーの飯野よりシンポジウムの趣旨が説明されるとともに, 本領域代表の寺嶋正秀先生よりご挨拶をいただいた。その後, タンパク質に関する講演 2 件, DNA に関する講演 2 件, 脂質膜に関する講演 2 件, 糖鎖に関する講演 1 件が行われ, 最後にオーガナイザーの戸谷が閉会の挨拶を行った。講演者と講演題目を以下にまとめる。

1. 飯野亮太 (大阪大学, A03 公募研究代表者)
Fluctuation and Function of a Rotary Motor Protein
2. 戸谷希一郎 (成蹊大学, A03 公募研究代表者)
Enzymatic Property under Intra- and Extracellular Specific Environments
3. 菅瀬謙治 (サントリー生物有機科学研究所, A01 公募研究代表者)
Fluctuation and Function of Nuclear Proteins
4. 米谷佳晃 (日本原子力研究開発機構, A03 公募研究代表者)
Dynamics of Water Molecules and Proteins Interacting with DNA

5. 横田浩章 (京都大学)

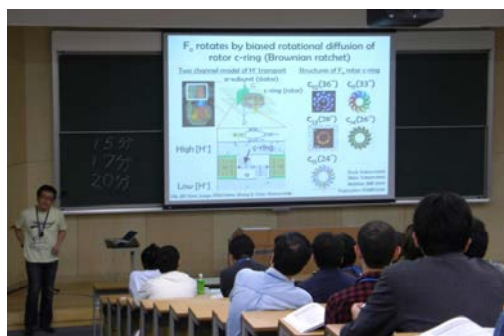
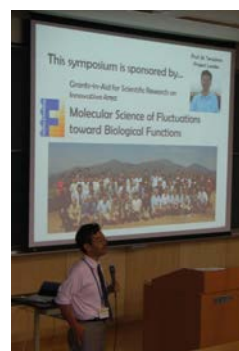
Single-molecule Imaging of DNA-protein Interaction

6. 樺山一哉 (東海大学)

Glycolipid-enriched Microdomain Control Lateral Diffusion of Membrane Receptors

7. 手老龍吾 (豊橋技術科学大学, A03 公募研究代表者)
Micro-structure Formation and Its Effect on Molecular Diffusion in Supported Lipid Bilayer

各講演は標的が異なるばかりでなく, 研究手法も多岐にわたり, 「揺らぎ」が幅広い分野の研究者を繋ぐ重要なキーワードであるという認識を参加者間で共有できたものと考えている。共催を快諾いただいた寺嶋先生をはじめ, 講演者や参加者として本シンポジウムにご参集くださった領域関係者の方々に感謝したい。



シンポジウム報告

日本物理学会 2010 年秋季大会 領域 1 2, 領域 1 1 合同シンポジウム

「揺らぎが決める生体分子の構造形成と機能発現」

真壁幸樹

(岡崎統合バイオサイエンスセンター・A03
計画班 (代表 桑島邦博) 連携研究者)

2010年9月23日に日本物理学会秋季大会にて、表記のシンポジウムが開催されました。秋季大会は大阪府立大学(中百舌鳥キャンパス)にて開かれました。物理学会は研究分野によって領域が13まであります。生物物理、化学物理、ソフトマターは領域12です。著者は領域12(生物物理)の領域運営委員を今年の10月まで担当しており、生物物理の立場から生体分子の揺らぎに関する系統的な議論を行うシンポジウムを物理学会にて行うことは重要であると考えて本シンポジウムを提案しました。プログラムは下記の通りです。

1. タンパク質反応における時間分解揺らぎ検出の試み (寺嶋正秀先生：京都大学)
2. 蛋白質フォールディング経路の速度論的理解 (桑島邦博先生：岡崎統合バイオサイエンスセンター)
3. 分子シミュレーションで見る小蛋白質の折れ畳み (依田隆夫先生：長浜バイオ大学)
4. 蛋白質機能の発現に構造は必須か？ (片岡幹雄先生：奈良先端科学技術大学院大学)
5. 膜の揺らぎが関与する制がんメカニズム (上岡龍一先生：崇城大学)

6. 分子シミュレーションで探る DNA 結合タンパク質の揺らぎと機能 (池口満徳先生：横浜市立大学)

発表をいただいた先生方は、実験的アプローチの講演を計画班の先生方から4人、分子シミュレーションに関する講演を長浜バイオ大学の依田先生と横浜市立大学の池口先生にお願いしました。寺嶋先生はTG法による反応中間体の熱力学的パラメータ測定について、桑島先生は相同な構造を持つ蛋白質間のフォールディング機構の決定因子について、依田先生は小さな蛋白質の巻き戻りのシミュレーションについて、片岡先生はSNase変異体を用いた構造・機能相関について、上岡先生はハイブリッドリポソームによる癌細胞のアポトーシス誘導について、池口先生はシミュレーションとSAXS/NMRを組み合わせた解析について講演を行われました。研究対象も蛋白質分子から癌細胞まで幅広い内容でした。100人ほどの参加者があり活発な議論を通じて、揺らぎがどのように生体分子の構造・機能を決定するのかについて理解が深まったと思います。

また、物理学会は揺らぎ新学術領域のメンバーの方々には少しなじみが薄い学会かもしれませんが、領域12では生物物理の実験、理論の両面から様々な発表が行われています。メンバーの方々も是非、機会がありましたらご参加ください。次回、春の年回は3月に新潟大学で開催されます。

