

第5号



いろいろな形をしたタンパク質の分子たち。いったい自然はどれほどたくさんの形をタンパク質に用意しているのでしょうか。

たった20種類のアミノ酸という共通部品で出来ているタンパク質が、私たちの誕生から健康も病気も、地球上の数百万ともいわれる生きとし生けるものすべての命をはぐくむために、最もふさわしい形と働きをもっているのです。このタンパク質がもつ形の多様性の奥に、立体構造と生命のいとなみとの密接な関係が一步一步あきらかにされつつある、というのが生物学の最前線です。

いま世界中で大きなうねりとして進められ、日本でも研究者たちが全力を傾けて取り組んでいる研究分野、“タンパク質X線構造解析”を取り上げます。





“タンパク質X線結晶構造解析”

SPring-8放射光X線が
明らかにするタンパク質立体構造。
21世紀生命科学への幕開け!

タンパク質の立体構造と機能

タンパク質分子は、それぞれの遺伝子の情報をしたがってリボソームという細胞の中の工場で、20種類のアミノ酸が、短いもので数十残基、長いものでは2万残基以上が、バラエティに富んだいろいろな並び方で“数珠”的ようにつなげられて創られます。*プラスワン講座参照（以下プラスワン参照）
それぞれのタンパク質は、精緻にさだまつた三次元的なかたちに折りたたまれてはじめて、その固有の機能を発揮できます。ですから、遺伝子によって決まるアミノ酸の配列（一次構造）だけでは、タンパク質の「働き」（機能）を知ることはできないのです。

多くの場合、大きなタンパク質分子のごく一部分がそのタンパク質がつかさどる生体機能の中核的役割をもって働いており、“活性部位”と呼ばれています。一次構造の“ひも”的上では遠く離れた位置にあるいくつかのアミノ酸残基が、ひもが折れたたまれて初めてごく近くに集まり、活性部位を形成するのです。これが、それぞれのタンパク質独自の生理的機能を一次構造だけではなく理解することができない理由なのです。タンパク質機能を正確に理解するには、立体構造を、それも原子レベルでの三次元構造を、実際に“目で見て知る”ことが必要なのです。

それにはX線結晶構造解析法が、最も強力な手段です。

タンパク質X線結晶構造解析のステップ

X線結晶学によるタンパク質の立体構造を解明するには、X線を強く回折する、乱れない結晶が必要であり、右の図2に示すように、いくつかのかなり困難な段階を経て、進められます。

重要なタンパク質、それがたとえ生体内で極微量しか存在しない場合でも、また細胞内で必要なほんのわずかな間だけ創られるのでも、結晶構造解析に必要な量のタンパク質試料が、ゲノム科学と分子生物学の急速な進歩により、それぞれの遺伝子を取り出し、遺伝子組換えの手法を適用することにより、いまでは容易に入手できるようになっています。

目的とするタンパク質を大腸菌などでつくらせ、精製したのち、タンパク質の結晶作りが試みられます。一般にタンパク質のよい結晶作りには、時間と労力と経験・センスが必要とされます。

（国際宇宙ステーションの日本実験棟（JEM）でよい結晶を作る計画が進められています）

重さの半分あるいはそれ以上を占められるほど多量の水を含んだままのタンパク質の結晶は、乱れない結晶として結晶化することがとても難しい。うまく結晶化の条件を見つけて、結晶が成長して構造解析に適した大きさ（現在は0.1mm程度）になるのに、何ヶ月もかかる場合もあります。その上、結晶ができても、たくさんの水を含んだ結晶なので、温度の変化や衝撃に弱くすぐ壊れてしまうものが多く、取り扱いには経験が必要です。

よい結晶が得られると、いよいよX線回折測定段階に入れることになります。規則正しく並んだ多数の同一分子がつくる反復構造（結晶）にX線を照射し、この反復構造によって回折したX線像がつくる膨大な数の回折点を測定します。

回折データがひとそろい得られると、コンピュータを駆使して解析計算を始めます。位相が決まると、電子密度図を描くことができます。*プラスワン参照 分子モデルを構築し、立体構造を決定するには、研究者の経験に基づいた高度な技術が不可欠です。

位相がほぼ正しく決まった電子密度のかたちは、そこに存在する分子の形を反映します。高度なコンピュータグラフィックス上で分子モデルを構築し、いよいよタンパク質分子が“目”で見られます。

タンパク質の立体構造が決定される瞬間!!です。

脳神経中で記憶を運ぶ“物質”

糖尿病に関わるインシュリンの働きを活性化する“物質”

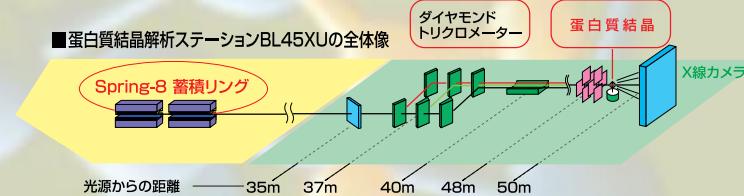
ネズミにアルツハイマー病を発症させてしまう“物質”

の発見やその働きの実験的証明や、

細胞膜に埋まって細胞の動きを調整する膜タンパク質の複雑な分子構造の解明など、

これまで解析することがたいへん難しいと考えられてきた、私たちの命にとってとても大切な働きをする、タンパク質の本当の姿や働きなどが、最近次々に明らかになっています。

SPring-8のタンパク質構造解析ビームライン



タンパク質は、時に分子量が数100万にもおよぶ巨大な分子です。その結晶からのX線回折は極めて弱いのに、その構造を決めるために測定しなくてはならない回折点の数は非常に多くなります。微弱で多数の回折点を分解能よく測定しなければならぬ

いタンパク質は、結晶化もたいへん困難で、結晶ができるても大きさが10から100ミクロンの小さなものが多いのです。このようなタンパク質の結晶構造解析には、輝度が極めて高く、しかも波長を容易に変えることができるSPring-8のX線ビームが、ほかでは得られない優れた光源です。

“高輝度光源”は、微小サイズの結晶でもシャープに回折し、測定できる回折点の数も多くなります。測定データのシャープさ、数の多さは解析を容易にし、決定した構造の正確さと精度を高めます。波長が変えられると、多波長異常分散（MAD）法という方法により、たった一つの結晶だけで構造決定に必要なすべてのデータを測定できます。高輝度で波長可変のSPring-8は、タンパク質の解析には最適です。

SPring-8では現在、データの測定・記録、読み出しなどデータ測定の殆どのプロセスが簡単な操作で出来るようになったBL40B2や、非常に小さな結晶の解析を得意とするBL41XUビームラインをはじめ、理研の構造生物学研究ビームライン、BL44B2と、MAD専用BL45XUなど、特徴ある数種のビームラインが稼動しています。各ビームラインにおいて数多くのタンパク質構造解析研究が進められています。

*神谷 信夫
サイアス Apr. P16 (1999)

C型肝炎ウイルスに関する酵素の立体構造の解明

注1 表紙の分子構造図は、C型肝炎ウイルス（HCV）が増殖するとき自分自身の遺伝子であるRNAを複製するRNAポリメラーゼという酵素の立体構造です。最近SPring-8のトリクロメーター・ビームラインでのMAD（マッド）法*プラスワン参照も利用し、決定されました。

このポリメラーゼは、10数個のαヘリックスとβシートが組合わさり、ちょうど野球のグローブのような構造をしています。グローブの手のひら部分の、親指とその他の指との間に張られたネットに相当する部分とその下部にあいている穴の奥に、RNA合成機能を発揮する活性部位があります。酵素は、この穴から複製の原料となるヌクレオチドを取り込み、親指と他の指でつかんだHCVウイルスの錆型RNAの配列に従って、新しいRNA鎖を複製し、伸長させる。この結晶構造を使ってはじめて、酵素が実際に働く様子を描くことができました。（図1a）

C型ウイルスによる肝炎は、慢性肝疾患の90%を占める感染症であり、長年のうちに肝硬変や肝臓ガンにいたる確率が一番高い病気です。今回明らかになった活性部位の穴にきっちりと入り込んで、酵素がRNAを合成できなくなる分子を見つけることができれば（図1b）、この分子は、ワクチン生産不可能なC型肝炎を抑える、画期的な薬となるのです。

注1 混みいったタンパク質の分子構造を、αヘリックスはラセン状リボン、βシートは板状の幅広リボンで単純化し、全体の形を支配する二次構造を強調して表すリボン式模式図。

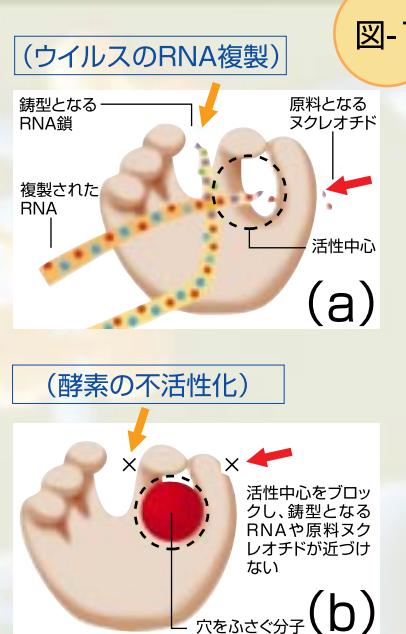
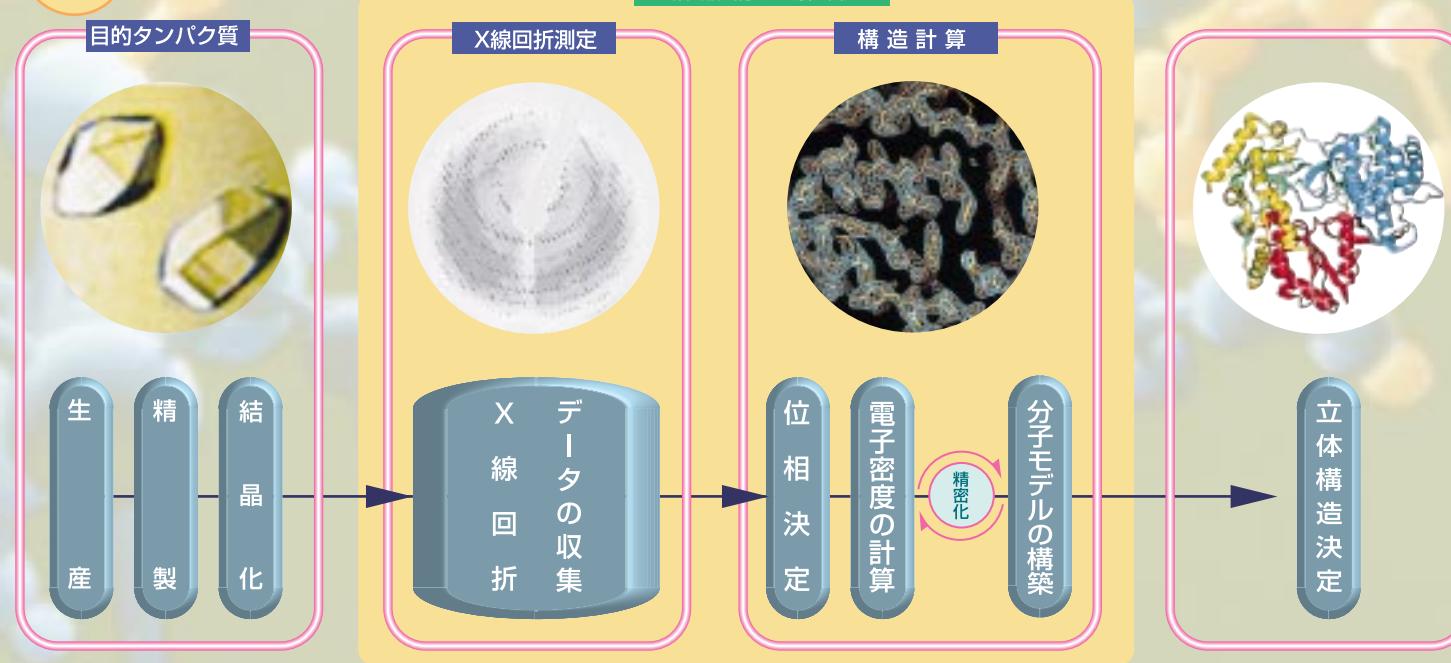


図-2



*宮野 雅司
日本結晶学会誌 42号P322 (2000)

様々なタンパク質の立体構造が明らかにされ、構造から機能を理解することが加速的に進むと、わたしたちの生活にとても大きな恩恵がもたらされます。

二十一世紀は、タンパク質の形を思い描きながら、生命現象を考えたり病気を治療したりする、時代です。

今、このSPring-8が、重要なタンパク質の結晶構造研究を飛躍的に進展させる力になると大きな期待が寄せられています。

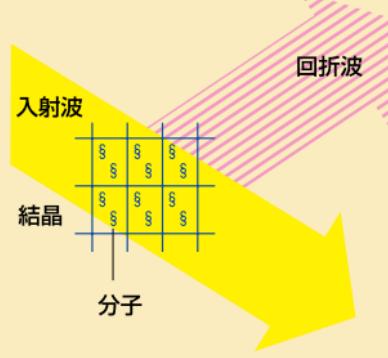
プラスワン講座

—結晶によるX線の回折—

よくそろった極く短い波長の光であるX線が結晶に当たると、結晶を構成する3次元空間に規則的に並んだ分子を作り上げているひとつ一つの原子のまわりの電子雲により、あらゆる方向へX線が散乱される。この散乱X線は分子が規則的に並んでいるため干渉現象を起こす。そして分子が並ぶ規則に従って、ある特定の方向にだけ強められて、スクリーン上に規則正しい斑点を示す。このように、散乱光が干渉によって方向により強さを変える現象を、回折という。

この回折したX線によってできる斑点一つ一つは、X線が照射された結晶全部分からの散乱X線が一定の方向に干渉して形成した回折点です。この回折点の位置は結晶の中に並んだ分子の並び方の規則を、また、その強さ（明るさ）は並んだ分子の構造を、反映している。

（これら干渉の結果である回折点の模様は、実像を単純に拡大したものではありません。）



MAD法

回折点としては、干渉した光の波の強さだけが観測される。構造を決めるのに最も大切な情報である光の波の位置、つまり光波のすすみ具合である位相情報は測定データではなくなってしまっている。この位相を決定することがなによりも重要で、そのための有力な手段がMAD法です。MAD法は、3波長でのカラー画像を得ることによりこの位相をたった一つの結晶で実験的に決めることができる。

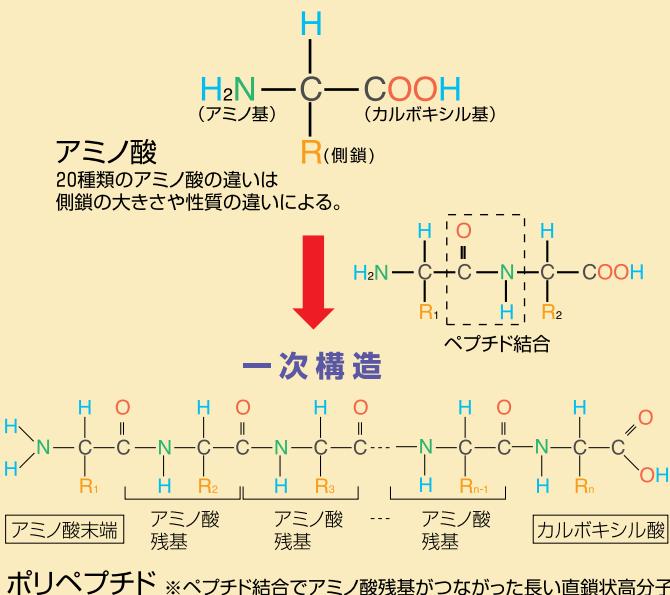
構造解析法は、散乱・干渉した回折X線を三次元的に観測し、回折点の並び方から分子の結晶中での詰まり方を決め、この回折点の強さと、さらに実験的（MAD法、重原子同型置換法）に、あるいは、モデルを使う（分子置換法）などで位相を決める。回折模様から実像（実際の分子の姿）を知るために、その物質の各点から散った散乱光をふたたびスクリーン上的一点へ集中し、像を再構成する“顕微鏡で集光し結像する接眼レンズ”の役割をコンピュータによる数学的計算で行い、拡大した実像を立体的に描き出すのです。

計算が成功して得られる電子密度のかたちこそ、結晶分子を構成する原子の周りの電子の空間的配置であり、位相さえ正しければ、ほとんど原子配置そのものとなる。

こうしてX線結晶構造解析により分子構造が決まる。

タンパク質の基礎知識

タンパク質の基本構造



アミノ酸がつながったポリペプチド鎖=タンパク質

タンパク質は、20種類あるいは、そのうちのいくつかの種類のアミノ酸が細胞内のリボソーム中で遺伝子の指令による順序で直線上につなげられたポリペプチド鎖です。アミノ酸の並び方が異なると、側鎖の違いによって全く性質の異なるポリペプチド鎖ができます。このポリペプチド鎖アミノ酸残基の配列を、タンパク質の**一次構造**といいます。

一次構造は、今では対応する遺伝子やcDNAの塩基配列から迅速に決めることができます。

タンパク質折れたたみ構造の階層性

ポリペプチド鎖は折りたたまれて立体的な構造をとりますが、立体構造のかなりの部分でタンパク質共通の折りたたみの基本構造(α ヘリックス構造と β シート構造)をとります。これを**二次構造**といいます。

α ヘリックスはある長さにわたるアミノ酸の並び方の特徴により一本のポリペプチド鎖が規則正しくらせん状に巻いた構造で、主鎖のすべてのイミン基(NH)とカルボニル基(C=O)の間の水素結合が連なって右巻きらせんが安定化された構造です。

一方、 β シートは平行に隣り合ったジグザグ状に伸びた主鎖同士が互いに水素結合で横につながり合ってシート状構造をしている部分です。

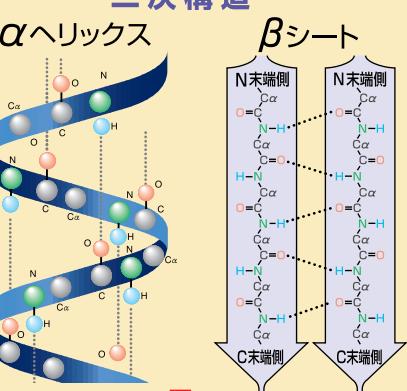
この二次構造が組み合わさり、その間を短い軟らかに折れ曲がった鎖が繋いで一本のポリペプチド鎖の立体構造(**三次構造**といいます)、すなわちタンパク質のかたちをつくります。折りたたまれた立体構造が、そのタンパク質に固有な機能に深くかかわっているのです。

タンパク質の高次構造

ここまで、一本のポリペプチド鎖からなるタンパク質について述べてきましたが、タンパク質の中にはさらに高度な機能を果たすため、多くのタンパク質が集合して、一つのタンパク質では果たせない機能を持つものも、たくさんあります。

この集合を構成する一つ一つのタンパク質をサブユニットといいます。同じタンパク質が複数集まって機能を発揮するものもありますし、いくつもの異なるタンパク質が集合して互いにしっかり制御しながら作業を効率よくすすめる、複雑で大きなタンパク質複合構造体もあります。これを構成するサブユニットの種類や数・その組合せの仕方を**四次構造**と呼びます。

立体的なタンパク質の、**二次構造・三次構造・四次構造**をあわせて、**高次構造**といいます。



三次構造



四次構造



スプリング・エイト まめ知識

体の中の働き者——タンパク質——

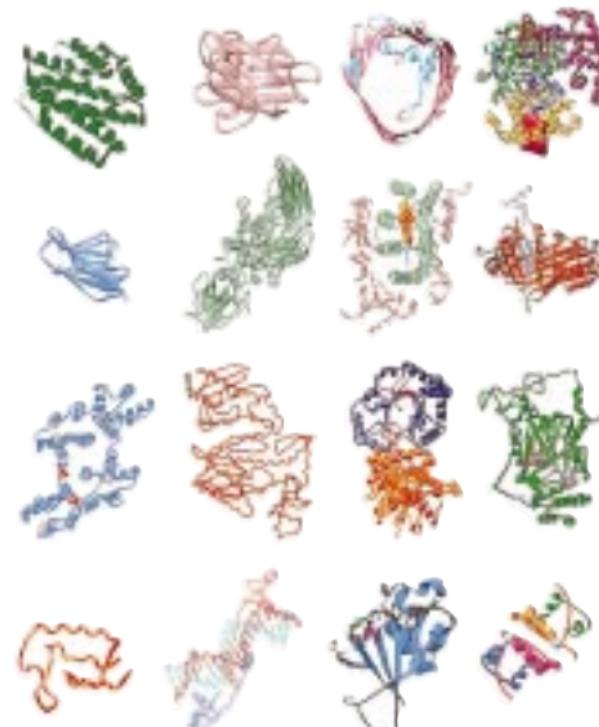
私たちの体を作っている物質のうち、重さにして全体の約70%を占める水を除いたうち6割、つまりからだ全体の18%は、タンパク質です。さらに残りの12%が核酸や糖質・脂質でできていて、みな大切な構成要素なのですが、中でもタンパク質がとても重要なことが重さからも推定できます。

生物種全体にどれほど多種類のタンパク質が存在しているのか、数えることはできませんが、人間の体の中だけでも数万から10万種類以上もの異なるタンパク質が協力し合って、生命を営んでいるといわれています。タンパク質が持つこの大きな多様性は、タンパク質を構成する20種類のアミノ酸の大きさや化学的特徴の違いを駆使した絶妙なアミノ酸配列を通して、タンパク質の形や大きさや性質に大胆にして精妙な違いをもたせ、さまざまな生命機能を発揮できる源なのです。

アミノ酸の並び方(アミノ酸配列)における無限の多様性が、どんな必要にも応えられるタンパク質を用意できる“自然の妙”なのです。

タンパク質には、細胞の内外で溶けた状態で他の分子とついたり離れたりしながら、複製、翻訳、代謝、免疫反応、信号伝達などの働きをする球状タンパク質とよばれる多くのものがあります。また、細胞膜にくっついたり、埋もれたりして膜の両側での物質や情報を出し入れするチャンネル・ポンプや受容体の役目をはたす膜タンパク質もあります。運動に必要な力を出す筋肉もタンパク質です。これらのほか、爪、毛髪、皮膚、腱、軟骨などをつくるコラーゲンやケラチンなども、結合細胞を作っている繊維状のタンパク質です。

私たちが、若々しいことにも、年老いていくことにも、病気になったりすることにも、すべてタンパク質が直接に間接にかかわっているのです。



いろいろな形のタンパク質

HELLO. SPring-8!

来て!見て!ドッキリ?
SPring-8の普及棟。



「SPring-8」って何?・「放射光」ってどんなもの?・ここでどんなんことやっているの?…そんなみなさんの疑問にお答えできる待望の「放射光普及棟」が今年の4月にオープンしました。その全貌をみなさまにご紹介します。SPring-8正門を通して、すぐ左手に見えてくる平屋の建物が、うわさの「放射光普及棟」。駐車場は合計55台駐車可能ですので車で来られても大丈夫です。まず玄関に入ると、ロビーには変わったいす(クッション)がお出迎え。一説によると結晶をイメージしているとか。一度“結晶の座りごこち”を試してみるのも楽しいですよ。

右側に目を移すと、そこがメインの展示コーナー。床の矢印に沿って進んでいけば正面にSPring-8の全景写真と全景模型を展示しています。大きな施設なので、航空写真や模型で全体をご覧いただきながらSPring-8の広さを実感して下さい。さらにSPring-8の各施設の名称が書き込まれ、非常に分かりやすくなっています。

次に矢印に沿って右方向へ進むと、SPring-8の模型が登場! 電子の発生からビームラインに光りを導くまでを、一般の方にも分かり易いように、アナウンスと動くLEDの光を使って展示しているので、おすすめです!



さらに、「SPring-8の沿革」・「放射光の発生原理」・「なぜ物が見えるの?」などのパネルが展示されています。さて次に登場するのは、SPring-8の主要な部分を構成している磁石や装置の展示。一般の方は入れない施設内を、左側に写真で紹介しています。右側には偏光電磁石等の本物が展示。

ここでおすすめなのが、少し進んだところにある「アンジュレータ」の模型。アルミニウムが「磁石にくっつかない」のは小学校で教わる常識ですが、あら不思議! 磁石の上で、アルミニウムの棒を引いたり押したりするとなぜだか「くつつけた?」ような感じがします。それはなぜでしょうか…普及棟での体験後、広報部へお尋ね下さい。次は、模型による体験コーナー。身の回りの放射光が見える「大型霧箱」や、電子が磁石によって曲がる「偏向電磁石模型」等があります。中でも一番のおすすめは、広報部長発案の「高周波波乗りサーフィン」。電子に見立てた黄色玉を、ハンドルを回しながら波形の模型の上を、いかに早くスムーズに加速するかを体験するもの。ハンドルの回し加減にコツがあるようです。これは電子の加速する原理を理解するのに学術的にも奥の深い模型なので必ず体験!



最後のコーナーには、最近の研究成果をご紹介しています。パネルとビデオ上映会場、そして、展示コーナー総まとめのQ&Aがお待ちかね。研究成果は少し難しいかもしれませんかSPring-8で何をやっているの?という疑問にとことんお答えしています。中には世界的にも有名な科学雑誌に掲載された研究成果が並んでいます。ビデオコーナーでは分かり易く説明したビデオを上映。さあ「SPring-8」をどれだけ理解できたか腕試し! 「SPring-8 Q&A」のパソコンにトライ。内容は簡単なので楽しみながらどうぞ。

そうそう、肝心なことを忘れていました。開館日と時間です。

開館日時は、平日9:30~17:00/土・日・祝日は10:00~16:00です。



「百聞は一見にしかず」。まずは来て、見て、ドッキリ?して、SPring-8について理解を深め、兵庫県に“すごい”施設があるのだと実感して下さい。

みなさまのご来場を広報部一同楽しみにお待ちしております。そして来館されたらお気軽に広報部に声をお掛け下さい。

※ Further Reading

さらに興味をお持ちの方に役立つ読み物情報を各記事の末尾※印に示しています。



SPring-8はあなたとネットでつながっています。
興味のある方はアクセスください。

<http://www.spring8.or.jp/JAPANESE/>

広報部から

20ミクロンにも満たない薄い小さい結晶しか得られなかつた筋小細胞カルシュウムポンプ膜タンパク質がBL41XU・BL44B2を使って、酵素ポリメラーゼはBL45XUを用いて最近構造決定された。

本号編集中にも、SPring-8のBL45XUを使った視物質ドプロシン構造解明が報じられました。皆様に、タンパク質構造解析を巡る熾烈なレースの一端とSPring-8の活躍ぶりを、お届けできたと思います。

上記普及棟の4月開設と重なって、広報部スタッフに数名の異動がありました。新布陣で一層みなさまに親しんでいただける広報を進める所存です。

播磨科学公園都市へのご案内



編集・発行



財団法人高輝度光科学研究中心

JAPAN SYNCHROTRON RADIATION RESEARCH INSTITUTE
〒679-5198 兵庫県佐用郡三日月町光都1丁目1番1号
TEL(0791)58-2785 FAX(0791)58-2786

広報部