

蛋白質NMRの感度向上 もう一つの視点と方法
Increasing NMR sensitivity of proteins-another aspect and method

近畿大学先端技術総合研究所・高圧力蛋白質研究センター
赤坂一之

蛋白質のNMRによる研究において、NMR検出感度の向上は至上命令である。これまで

- (1) 高磁場化によるポラリゼーションの向上
- (2) クロスポラリゼーションによる観測核ポラリゼーションの向上
- (3) 低温化による熱力学的ポラリゼーションの向上

が行われてきた。これらはメジャースペシーズ(主要種)の検出感度向上を図るものである。

ところで、生物進化を支配する最大のルールの一つは熱力学であり、蛋白質も数十億年の長きにわたって、地球表面の条件に適するように進化してきた。その帰結の一つが、“Anfinsenのドグマ”と呼ばれるものである。それによれば、進化の帰結として現存する蛋白質は、生理条件下で、自ずから、それぞれに特徴的な立体構造を、短時間で作り上げる。その検証として、長くX線結晶解析とNMR構造解析が行われてきた。それらの方法の進展によって、それぞれに特徴的な立体構造が示されてきた。

しかし、近年、蛋白質の機能を考えるとき、蛋白質の動的側面を知ることが必須と考えられるようになった。さらに最近では、より積極的に、結晶化する基底構造とは別に、機能する励起構造が存在するという考えが生まれてきた。もっともこれは、古くはヘモグロビンのT-R平衡として知られていることとほぼ同義であるが、現在は、これがより一般的に、蛋白質機能のルールとさえ考えられるようになった。

しかし問題は、そのような励起構造はそのポピュレーションが小さく(通常数%以下)、NMRをはじめとする通常の分光法では検出できない。これに代わる方法として、役割を果たして来たのが重水素交換法である。この方法では、稀にしか起こらない出来事を、時間をかけて積み重ね、見えるまで大きくして観測する、巧妙な方法である。しかしその弱点は、励起種そのものを直接観測していないということで、これまでも、何がおこっているのか、何が観測されているのか、ということについて、議論が別れてきたところである。

さて、われわれの高圧NMRは、圧力を利用して、その稀な励起構造のポピュレーションを直接増大させ、直接NMR等でそのスペクトルを直接観測しようというものである。その原理は「体積原理」と呼ぶもので、「励起構造の体積(部分モル体積を意味する)は基底構造の体積より小さい」という一般原理を適用することで、加圧下で励起種のポピュレーションを増し、NMRで観測するものである。つまり、体積軸での熱力学原理を用いて、稀な励起種のポピュレーションを、何桁も増大させる。蛋白質の励起種に限るが、NMRの感度を1000倍、1万倍、さらにそれ以上も向上させる一般的な方法である。

講演では、具体的な例と数値を交えて話す予定である。