

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 時分割 XFEL 結晶解析で可視化する金属酵素の動的構造活性相関

2. 個人研究者名

溝端 栄一（大阪大学大学院工学研究科 講師）

3. 事後評価結果

本研究では、電子伝達を伴う酸化還元酵素が機能する際の動きを高解像度で解析するため、モデル酵素として銅含有亜硝酸還元酵素 (CuNiR) を同期的に還元して触媒反応を開始させるシステムを開発し、X線自由電子レーザー (XFEL) の時分割連続フェムト秒結晶構造解析法 (TR-SFX) への適用を目指した。

[どのような量子性をどのように扱ったのか]

- XFEL の量子技術をタンパク質の動的構造解析に利用
- Ru 錯体が青色光照射で励起され電子を放出する性質を酵素還元を利用
- 量子性が顕著なプロトン共役電子移動を伴う酵素の反応機構解明

[達成状況とインパクト]

溝端研究者は、酵素反応を誘起する低分子スイッチとしてルテニウム錯体を用い、これに青色光を照射することで放出された電子で酸化還元金属酵素 CuNiR を還元してその反応を開始させる測定システムの構築を試みた。得られた CuNiR の反応速度は通常溶液中で観られる最大速度の約 1000 分の 1 ではあったが、ルテニウム錯体からの電子放出によって CuNiR を還元することが可能であることを見いだした。この過程において、亜硝酸還元酵素をルテニウム錯体で光還元する方法を様々検討しており、地味ではあるが検討を続けた。ルテニウム錯体を利用して 450nm の可視光制御での還元反応を開始できることを初めて観測したことは評価できる。ルテニウム錯体を用いた還元の確率が低かったのは残念だが、独創性も高いと思われるので、さらなる条件検討を確立したのち、その結果が SACLA の実験につながる大きな成果を期待したい。一方で、酵素溶液に電流を流すことで、電気化学的に酵素を還元して反応を誘起するシステムの開発も検討も進めたことは、前者の検討が上手く進まなかったことに備えた意味で良かった。ポテンショスタットを用いて電気化学測定を行って、通常溶液中での CuNiR の最大速度の 1000 分の 1 程度の速度を確認しており、酵素の電極への固定化を伴わずに電気化学的に CuNiR の反応を誘起できることが初めて確認ができたと思われる。この電流をトリガーとする方法は新しく、将来的には、微結晶を充填したインジェクターノズルの先端に電極を装備し、酵素の微結晶が電極部位を通過する瞬間に一気に通電して、酵素の金属中心を還元して反応を制御する装置の開発につながることに期待する。

本研究からどのような生命現象の量子現象にアプローチできる手法もしくは理論であるかの方向性について、溝端研究者は、電子供与体から電子を受け取ることで機能するタンパク質や酵素の動的構造解析やキネティクス解析の計測を挙げている。例えば、呼吸鎖や光合成の電子伝達系を構成するフェレドキシン-NAD⁺レダクターゼ (FNR) やシトクロム c オキシダーゼなど (COX)、あるいは、窒素固定に関与するニトロゲナーゼなど、多様な酸化還元酵素の計測へ展開を提唱している。今後、電子放出のターンオーバー頻度を向上させるための、金属錯体、メディエーター、添加剤の組み合わせや濃度のスクリーニングと最適化を期待する。電流をトリガーとする方法については、XFEL 施設の研究者や技術者と連携の上、反応誘起システムを XFEL 施設に実装するためのステップに期待したい。