

一分子酵素反応の動態解析における虚実を解明することに成功！

北海道大学電子科学研究所分子生命数理研究分野の李振飈准教授、小松崎民樹教授らは、一分子酵素反応の動態解析において、現在、世界中でもっともよく使われている一分子時系列解析方法は間違った解釈を与える可能性が高いことを示すことに成功しました。

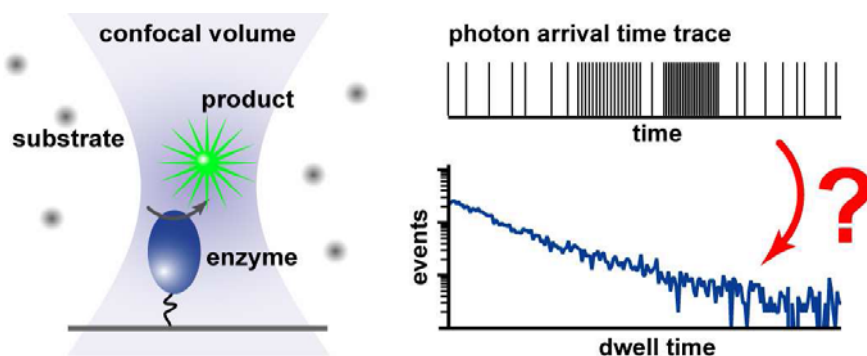
酵素反応は、生体内代謝、活性調節、分子認識の仕組みを理解するうえで中心的な役割を果たすことが知られています。近年の観察技術の進歩は、反応が起っている最中に個々の酵素をリアルタイムに一分子レベルで観察することを可能にしました。近年、一分子レベルで実際に生起する酵素反応では、各素過程の反応速度定数は酵素分子がもつ多様な構造毎に異なり、酵素反応はゆっくりと変化する酵素分子の多型構造に由来して多様な時間スケールの揺らぎを持つと解釈されています (Dynamic disorderと呼ばれています) (*Nature Chem. Bio.* **2**, 87 (2006) など)。一分子蛍光分光法では、酵素反応における反応過程は、基質分子が酵素分子に結合する「オン」状態、基質分子が酵素分子から離れる「オフ」状態の2つの状態間の遷移の時系列データから評価されます (図1)。もっともよく使われている状態同定法は、時間軸に沿ったフォトン列をある一定の時間幅でビンニング処理を行って蛍光強度の時系列に変換したのち、適当な閾 (しきい) 値を設定し、その閾値よりも高い (低い) 蛍光強度をもつ時間領域をオン (オフ) 状態と同定します。そして、そのオン・オフ状態の時系列データが有する (多様な時間スケールをもつ) キネティクスから酵素の構造多型性の重要性が提唱されてきました。

酵素活性の特性を正確に知るために、我々は、計算機シミュレーションならび α -キモトリプシンの一分子観察データに対して、この従来法と (情報理論に依拠する) 変化点解析を適用し、それらの結果を系統的に比較・解析しました。その結果、シグナル/ノイズ比が無視できない場合ならびにバックグラウンドノイズが一定でない場合は、従来法は誤った解釈を導く可能性が極めて高いこと、dynamic disorder をもつとされていた α -キモトリプシンにおいては、その存在は実は有意に認められないことなどを新規に明らかにしました。この結果は、これまでの研究が示してきた「多くの一分子酵素反応は構造多型性に由来する dynamic disorder を呈する」という常識が、実はデータ分析の過程で生じる人工的な副産物である可能性を強く示唆するものであります。

本研究は、一分子動態解析に関して、強固かつ汎用性が高い、新しい解析手法を提示すると同時に、 10^{23} 個ほどの分子の集団挙動の平均像しか観ることができない実験に比べて、より詳細に薬理作用における個々の分子の反応過程の仕組みを解明する上で重要な役割を果たすものと期待されます。また、(対象とする系がもつ) パターンとダイナミクスにおける変化を追跡、予測することを目的とする、生体医科学、ロボット工学、経済学、天気

予報、地震予測など広範囲な研究分野への適用も期待されています。

本研究は、カトリック大学ルーベン校 Johan Hofkens 教授ら（ベルギー）、ラドボード大学・分子物質研究所 Kerstin Blank 教授ら（オランダ）との共同研究で行われました。本研究成果は、米国科学誌『ACS Nano』で2012年1月24日（日本時間）に公開され、1月号のハイライトに取り上げられました。



(図1)

研究論文名：Dynamic Disorder in Single Enzyme Experiments: Facts and Artifacts

著者：氏名（所属）Tatyana Terentyeva（カトリック大学ルーベン校），Hans Engelkamp（ラドボード大学），Alan Rowan（ラドボード大学），Tamiki Komatsuzaki（北海道大学），Johan Hofkens（カトリック大学ルーベン校），Chun Biu Li（北海道大学），Kerstin Blank（ラドボード大学）

公表雑誌：ACS Nano