



坪井 泰之 北海道大学大学院 理学研究科

プロフィール：1967年大阪府豊中市生まれ。私立高槻中・高校を経て1990年大阪大学基礎工学部合成化学科卒業。1995年同大学院工学研究科応用物理学専攻後期課程修了（工博）。(株)富士写真フイルム・富士宮研究所を経て1996年京都工芸繊維大学繊維学部助手。1999年同講師。2001年4月より北海道大学大学院理学研究科化学専攻助教授（現職）。専門は、凝縮相のレーザー化学。趣味は、地魚巡り、ボクシング観戦、へぼ将棋など。最近買った4駆で北海道ドライブも楽しんでおります。
e-mail: twoboys@sci.hokudai.ac.jp Web: <http://acl.sci.hokudai.ac.jp/tsuboi.html>

レーザーで創るタンパク質のマクロな形態・ミクロな構造

要旨

タンパク質は様々な見地から実に興味深い研究対象である。その“状態”（=形態と構造）は複雑であり、ミクロには1次構造から高次構造を有し、マクロには膜状や繊維状などの形態をとることが知られている。

本研究ではタンパク質にレーザー光を照射し、誘起される様々な刺激（光反応や温度上昇など）を利用して、このタンパク質特有の複雑な“状態”を“変革”することを大きな目的とした。光反応場としてのタンパク質の役割を探る研究は数多いが、タンパク質そのものの光化学に対する我々の本質的な理解は未だ浅い。また、近年、機能性タンパク質を利用して光・電子デバイスを作製する試みが盛んになりつつある。レーザーが、このような機能性タンパク質に対するプロセッシング・ツールとなりうるかも興味深い問題である。さらに、タンパク質のレーザー化学がレーザー・サージェリーの基礎としても重要であることは言うまでもない。

対象としたタンパク質は、シルクの主成分タンパク質であるフィブロインである。フィブロインは我々の生活にも馴染み深い、代表的な単純タンパク質であり、以下のような特徴に基づき本研究で取り上げた。

- ①1次構造は、基本的には-Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ser-であり、極めて単純である。よって、タンパク質のレーザー化学のプロトタイプとして好適である。
- ②その2次構造は、準安定なランダムコイル型と安定な逆平行 β シート型の二つが主に知られている。外部摂動により、前者から後者への転移が誘起できる。
- ③酵素固定化能や生体・細胞適合性、酸素・水透過性などの機能が極めて高く、バイオマテリアルやバイオセンサーへの応用が大きく期待される、古くて新しい機能性材料である。

このフィブロインを対象に（固体試料）、具体的には以下の4つのテーマを設定し、本さがけ研究21を展開した。

1) レーザー堆積法を用いたタンパク質薄膜の創製 [1-3]

レーザー堆積法は、無機材料では既実用段階に入りつつある、優れた薄膜創製手段である。しかし、有機材料系の場合、その複雑な構造がレーザー照射下で保持されるか、予測が難しい。フィブロインやコラーゲンは良溶媒に極めて乏しく、完全ドライな本手法で薄膜が作製出来ればその意義は大きい。そこで、光増感堆積法を提案し、フィブロインやコラーゲンの薄膜を作製することに成功した。さらに、励起モード（主鎖ペプチド結合励起や増感剤励起）を変化させることにより、薄膜における2次構造を制御出来ることを示した。

2) レーザーアブレーション挙動とダイナミックスの解明 [4]

表面形態解析や時間分解分光法を駆使して、アブレーション（=マクロ形態変化）挙動を解明した。すなわち、挙動が励起モードに顕著に依存することを明らかにした。増感剤励起の場合、従来の常識を超える大きな表面膨張や深いエッチングを見出した。一方、主鎖ペプチド励起の場合、エッチングは極めて誘起されがたく、サブミクロンの微細構造が形成される。これらのダイナミックスも明らかにした。

3) 2次元超薄膜の創製とAFMによる2次構造変化の可視化 [5]

簡便なキャスト法により、マイカ基板上にフィブロインのペプチド鎖が2次元状に展開した超薄膜を作製することに成功した（図、左）。このランダムコイル型ネットワーク状薄膜が種々の処理により β シート型アイランドに転移する様子をAFMにより直接観察することが出来た。

4) 励起モード依存性を利用した2次構造の光変換 [6]

ランダムコイル型のフィブロインフィルムに種々の波長のレーザー光を照射した。励起モードを選択することにより、2次構造の変換を狙った。その結果、フィブロインの側鎖インドール環を励起する266nmレーザー光を照射することにより、ランダムコイル \rightarrow β シート型の部分的な変換を達成した（図1）。分光学的にもこの転移を確認した。

以上のように、タンパク質はレーザー照射に対しても比較的タフであり、レーザー化学の対象として興味深い問題をはらんでいることが分かった。励起モード依存性がそのKEYであるが、詳細は未だ不明な点も残されている。このような現象が他のタンパク質でも一般に起こりうるのか、また転移のダイナミックスはどのようになっているのか、どのような応用が可能か、などの問題に今後チャレンジしていきたい。

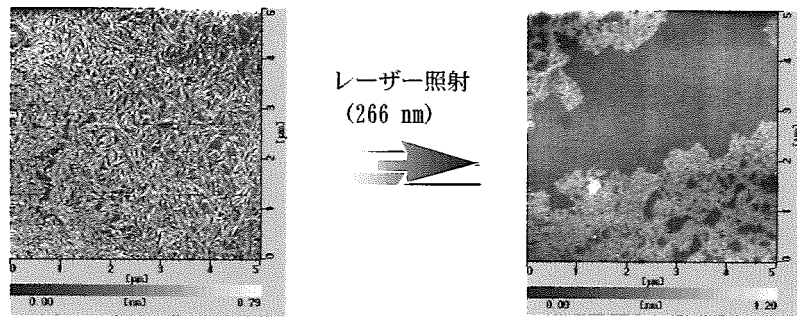


図1 マイカ基板上に形成したフィブロインの2次元超薄膜（左）。ランダムコイル型のペプチド鎖が基板上に2次元ネットワークを形成している。これに266 nm レーザー光を照射すると、 β シート型アイランド状に転移する（右）。

<研究成果（さきがけ研究21に関連したものに限る）>

原著論文

1. Y. Tsuboi, M. Goto, and A. Itaya, "Pulsed Laser Deposition of Silk Protein: Effect of Photosensitized-Ablation on the Secondary Structure in Thin Deposited Films" *J. Appl. Phys.* 89 (2001) 7917.
2. Y. Tsuboi, N. Kimoto, M. Kabeshita, and A. Itaya, "Pulsed Laser Deposition of Collagen and Keratin" *J. Photochem. Photobiol. A. Chem.* in press.
3. Y. Tsuboi, H. Adachi, E. Yamamoto, and A. Itaya, "Pulsed Laser Deposition of PTFE, PMMA, and PC Utilizing anthracene-Photosensitized Ablation" *Jpn. J. Appl. Phys.* submitted.
4. Y. Tsuboi, H. Adachi, and A. Itaya, "Laser Ablation of Silk Protein Films" *Appl. Phys. A*, submitted.
5. Y. Tsuboi, K. Yamada, and A. Itaya, "AFM Observation of Silk Fibroin" in preparation.
6. Y. Tsuboi, T. Ikejiri, S. Shiga, K. Yamada, and A. Itaya, "Light Can Transform the Secondary Structure of Silk Protein" *Appl. Phys. A*, in press. (rapid communication).

特許：国内特許 2 件