



業績紹介：酵母カーゴ受容体様タンパク質 Emp46p-Emp47p の pH 依存的な離合集散機構

“pH-dependent Assembly and Segregation of the Coiled-coil Segments of Yeast Putative Cargo Receptors Emp46p and Emp47p”

Kentaro Ishii, Hiroki Enda, Masanori Noda, Megumi Kajino, Akemi Kim, Eiji Kurimoto, Ken Sato, Akihiko Nakano, Yuji Kobayashi, Hirokazu Yagi, Susumu Uchiyama, and Koichi Kato

PLoS ONE 10(10), e0140287, (2015), DOI: [10.1371/journal.pone.0140287](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140287)

加藤晃一

(自然科学研究機構 岡崎統合 バイオサイエンスセンター・A03 計画研究代表者)



内山 進

(大阪大学 工学研究科、自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター・A03 公募研究代表者)



佐藤 健

(東京大学 総合文化研究科・A03 公募研究代表者)



真核生物では、小胞体で合成された糖タンパク質はゴルジ体へと選別輸送される。その機能を担うのがカーゴ受容体タンパク質である。酵母では、Emp46p と Emp47p が哺乳類カーゴ受容体タンパク質のホモログとして同定されている。Emp46p が小胞体に存在するためには Emp47p の存在が必須である。一方、Emp47p の局在は Emp46p の有無に依らないことから Emp47p は Emp46p の受容体として機能していると考えられている。Emp46p と Emp47p は、中性 pH の小胞体ではヘテロオリゴマーを形成し、酸性 pH のゴルジ体では解離する。この pH に依存した離合集散の分子機構は分かっていなかった。Emp46p と Emp47p はコイルドコイル領域で相互作用することから、それらのコイルドコイル領域 (Emp46p^{CC} と Emp47p^{CC}) を用いて生化学解析と質量分析を行った。

各種の解析の結果、pH 依存的な離合集散を *in vitro* で再現することができた。また質量分析の結果から Emp46p^{CC}-Emp47p^{CC} ヘテロオリゴマーの化学量論が

2:2 であることが分かった。さらに Emp46p^{CC} のコイルドコイル 2 量体形成面にあるグルタミン酸残基 (E303) が pH センサーとして機能していることが明らかになった。中性 pH の小胞体では、E303 の負電荷同士が反発し合うことにより Emp46p^{CC} の 2 量体を不安定化しているが、Emp47p^{CC} とのヘテロオリゴマー中ではそれが安定化されていると考えられる (図 1 上段)。一方、酸性 pH のゴルジ体では E303 の電荷は中和され Emp46p^{CC} の 2 量体が安定化するため、ヘテロオリゴマーが解離するものと考えられる (図 1 下段)。

本研究の成果は、pH に応じて会合・解離する分子システムを創生するための設計基盤を与えるものである。

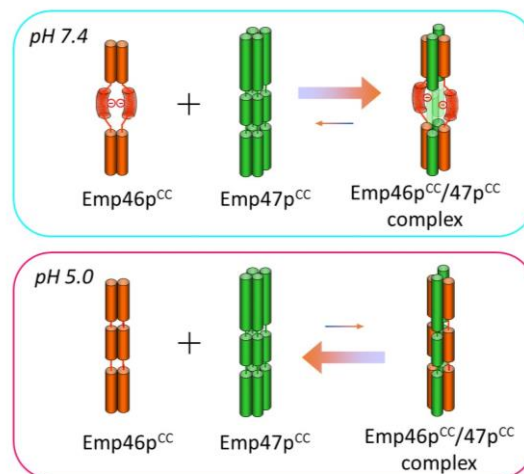


図 1：小胞体の中性 pH ではヘテロオリゴマー形成に平衡が偏る (上段)。Emp46p の E303 が pH を感知するスイッチになっており、ゴルジ体の酸性 pH では、ヘテロオリゴマーが解離し、ホモオリゴマーになる (下段)。



業績紹介：SAXS の時分割測定で見てきた
アミロイド形成初期のタンパク質集合の様子

“Early Aggregation Preceding the Nucleation of Insulin Amyloid Fibrils as Monitored by Small Angle X-ray Scattering”

Eri Chatani*, Rintaro Inoue*, Hiroshi Imamura, Masaaki Sugiyama, Minoru Kato, Masahide Yamamoto, Koji Nishida, and Toshiji Kanaya (*equally contributed)

Sci. Rep. **5**, 15485 (2015), [10.1038/srep15485](https://doi.org/10.1038/srep15485)

茶谷絵理
(神戸大学 理学研究科・
A03 公募研究代表者)



杉山正明
(京都大学 原子炉実験所・
A03 公募研究代表者)



アミロイド線維は、アミロイドーシスや神経変性疾患に関与するタンパク質の異常凝集構造である。アミロイド線維形成初期には、オリゴマーやプロトフィブリルなど、最終的なアミロイド線維に比べ会合数が小さく、なおかつ構造も未成熟な中間体様凝集体の観察例が報告されている。しかしながら、これらの凝集体の分布量は少なく寿命も短いことが多いため、これらがその後どのように成熟してアミロイド線維の形成に至るのかについての詳細は不明であった。

われわれはこれまでに、ウシ膵臓由来のインスリンのアミロイド線維形成初期にオリゴマー様の中間体様凝集体である線維前駆中間体が一旦大量蓄積したのち線維化する反応経路を見つけた (Chatani *et al.*, *J. Biol. Chem.* **289**, 10399-410 (2014))。そこで本研究では、この線維前駆中間体を経由する反応経路を解析対象として選択し、小角 X 線散乱 (SAXS) プロファイルの時分割測定を行い、線維形成反応初期におけるタンパク質の集合プロセスをリアルタイムで追跡することにした。

インスリン水溶液は石英セルに封入し、温度コント

ローラーで高温ジャンプさせることで線維形成反応をセル内で開始し、これに同期させて SAXS 測定を実施した。その結果、約 100-200 秒後に低い散乱ベクトル領域での急激な散乱強度の増大が見られ、線維前駆中間体の形成が確認された。このときの散乱プロファイルをモデルフィッティングすると、線維前駆中間体は柱状の規則構造をもつことが判明した。

その後さらにアミロイド線維構造への成熟化を意味する散乱プロファイルの変化も見ることができ、チオフラビン T 蛍光、FTIR、小角光散乱 (SALS) の解析結果も総合することで、最終的に図 1 のようなタンパク質の会合および構造化スキームが提案された。アミロイド線維のクロス β 構造という規則構造の形成には初期段階の規則立った集合化および構造発達が重要な役割を担うことが考えられる。

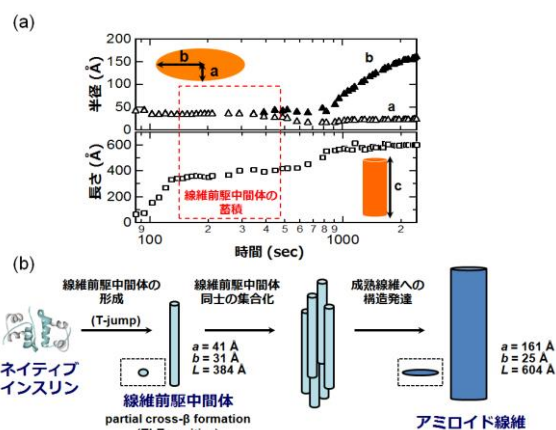


図 1: (a) インスリンの線維形成における柱状集合体のサイズ発達の様子および (b) 本研究結果より提案されたタンパク質の初期集合および構造発達のスキーム

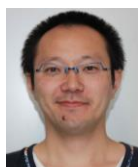


業績紹介：黄色ブドウ球菌の1成分性膜孔形成毒素（ α ヘモリジン）
の膜孔形成機構

“Structural Basis for Pore-forming Mechanism of Staphylococcal α -hemolysin”

Takaki Sugawara, Daichi Yamashita, Koji Kato, Zhao Peng, Junki Ueda, Jun Kaneko, Yoshiyuki Kamio,
Yoshikazu Tanaka, and Min Yao *Toxicon*,(2015), [10.1016/j.toxicon.2015.09.033](https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2015.09.033)

田中良和
(北海道大学 先端生命科学研究
院・A01 公募研究代表者)



病原性微生物はホストの血球を破壊するために、膜孔形成毒素と呼ばれる蛋白質を分泌する。膜孔形成毒素は可溶性の単量体として分泌されるが、ターゲット細胞上でプレポアと呼ばれる円状の会合体を形成した後、大きく構造変化して細胞膜中に膜孔と呼ばれる孔を形成して、ターゲット細胞を殺傷する。院内感染の原因菌として知られる黄色ブドウ球菌は、様々な膜孔形成毒素を分泌することで知られる。黄色ブドウ球菌の膜孔形成毒素は、単一の分子で構成される α -ヘモリジンと、2つの成分から構成される2成分性毒素に分類される。我々はこれまで、2成分性毒素の膜孔およびプレポア中間体の結晶構造を決定し、その分子機構を明らかにしてきた。一方、1成分性の α -ヘモリジンについては、膜孔の結晶構造を決定しただけで、単量体やプレポアの結晶構造解析は成功できずにいた。本研究では、長年に渡り構造決定できなかった α -ヘモリジンの単量体とプレポア中間体のX線結晶構造解析を行い、 α -ヘモリジンの動的な膜孔形成機構を明らかにした。

簡単そうに思われる1成分性の α -ヘモリジンの単量体の構造解析が長きにわたり成功しなかった理由は、濃縮されると膜孔へと会合しやすいという α -ヘモリジンの分子特性に起因する。そこで我々は、膜孔の結晶構造をもとに分子をデザインし、プロトマー同士の界面に変異導入する事で多量体へと会合しない変異体（H35A 変異体）を取得した。また、安定なプレポア中間体を形成できる変異体として、膜結合部位周辺の残基の変異体（W179A/R200A 変異体）を取得した。結晶構造解析の結果、これらは予想通り、単量体およびプレポア中間体の構造的特徴を有していた。

単量体の構造と膜孔の中の1分子とを比較すると（図1）、膜貫通領域を形成するステム領域（図1 赤の領域）がコンパクトに折り畳まれていることに加え、N末端アミノラッチ（図1 青の領域）が大きく構造変化している事がわかった。アミノラッチの構造変化は、N末端に存在するIle5、Ile7による疎水性相互作用が駆動力となっており、このようなアミノラッチの大きな構造変化により引き起こされる物理的接触が引き金になり、折り畳まれていたステムがリリースされることが明らかになった。プレポア中間体の構造からは、1成分性毒素においても、過去に報告のある2成分性毒素と同様、プレポア状態では膜貫通領域が局所的にフレキシブルな構造を形成しており、それ以外は膜孔とほぼ同じ構造をしていることが明らかになった。

本研究により、黄色ブドウ球菌の全ての膜孔形成毒素の分子機構の詳細が明らかになった。今後は、膜孔形成に伴う分子の動的な挙動を利用した蛋白質工学的な研究を展開していきたいと考えている。

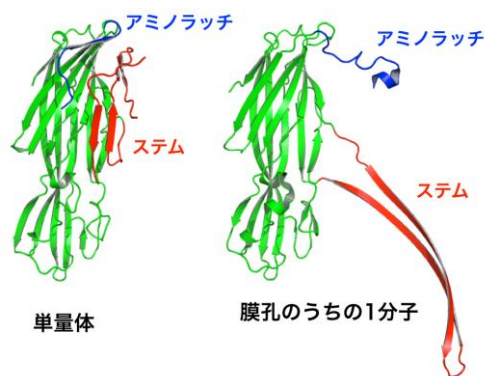


図1： α -ヘモリジン単量体の構造（左）と、膜孔のうちの1分子の構造（右）。N末端アミノラッチ（青の部分）と膜貫通ステム領域（赤の部分）の構造が大きく変化しているのがわかる。



“Dynamical Ordering & Integrated Functions” Newsletter Vol. 27

November, 2015

第2回若手研究会 報告

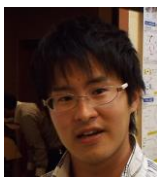
米澤健人

(奈良先端科学技術大学院大学
物質創成科学研究科・博士課程
3年)



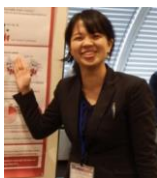
大山克明

(立命館大学 生命科学部・博士
課程2年)



増子貴子

(横浜市立大学生命ナノシステ
ム科学研究科・博士課程2年)



蒲郡市西浦温泉は愛知県の三河湾に飛び出た半島に位置しており、会場であるホテルたつきは半島の末端にある海に面した場所でした。そんな温泉地にて、新学術領域「生命分子システムにおける動的秩序形成と高次機能発現」第2回若手研究会がスタートしました。今年の若手研究会も10月5日より3日間盛大に行われ、総勢44人の参加者による交流がなされました。昨年と違った点は、学生が主体となって、企画・運営に携わって来たことです。今回は、奈良先端科学技術大学院大学・物質創成科学研究科 上久保研 D3 の米澤健人、横浜市立大学生命ナノシステム科学研究科 立川研 D2 の

増子貴子、そして立命館大学 生命科学研究科 寺内研 D2 の大山克明の3名が実行委員として会をとりまとめました。ここでは第2回の研究会での様子を実行委員からご報告したいと思います。

企画講演1

超分子科学における実験と理論の協奏

初日の企画講演では、超分子科学分野から東京大学総合文化研究科の平岡秀一先生と横浜市立大学生命ナノシステム科学研究科の立川研究室の増子貴子さんにご講演を頂きました。平岡先生と増子さんは4年もの間共同研究を続けられてきました。今回のご講演では、お二方で共通される研究対象のナノキューブについて、実験的理論的アプローチをそれぞれお話していただきました。

平岡先生は歯車状の両親媒性分子がメタノール溶媒中で単量体として存在しており、水を加えていくと分子同士が噛み合い一義的にサイコロのような6量体(1₆)を形成することを実験的に見出しました。先生はこのナノキューブが自己組織化する上でエンタルピー、つまり van der Waals 力が重要であることを量的に見出しました。更に、ナノキューブを形成する歯車状両親媒性分子の置換基の効果や内包挙動など、様々な特性を調べられています。今回のご講演ではナノキューブの驚異的熱安定性を中心に述べられていました。質疑では、何らかの刺激でキューブが開くようなシステムが構築できれば、汎用性の高い化合物になることが期待されるのではないかと、参加者が





“Dynamical Ordering & Integrated Functions” Newsletter Vol. 27

November, 2015

共有する「動的秩序と機能」というコンセプトに基づいた議論が数多くなされていました。



このナノキューブを理論的にアプローチされている横浜市立大学生命ナノシステム科学研究科の増子貴子さんは、そのナノキューブの置換効果と溶媒効果について、主に分子動力学計算を用いて計算されています。具体的には、歯車状両親媒性分子の置換基を変えた二種類のナノカプセル **1₆** と **2₆** のそれぞれの構造に対して、水とメタノール、あるいはその混合溶媒による溶媒効果を検証されており、ナノキューブを安定化させる要因としてナノキューブ内で形成される CH- π 鎖が非常に重要であることや、メタノール溶媒分子がその CH- π 鎖を切るような働きをすることを明らかにしていました。中でも、今回のご講演では、計算手順を追って説明して頂けたので、理論の方々がどのようにして計算を行っているか想像出来た気がします。質疑では特に計算方法に関する内容や、**2₆** の崩壊過程においてメタノール分子がどのように崩壊に関わっているのかなどを詳細に聞かれており、丁寧な受け答えが印象的でした。分子が噛みあうことで形成されるナノキューブの自己組織化は、生体分子における鍵と鍵穴（基質が蛋白質内に取り込まれる様子）と通じるものがあるように感じると同時に、ナノキューブのように対称性の良い綺麗な分子が水中で自発的に構築されることに感動した方も多いと思います。（奈良先端大・米澤健人）



企画講演2

蛋白質科学における実験と理論の協奏

2 日目の企画講演では「タンパク質科学における実験と理論の協奏」をテーマに神戸大学の茶谷絵理先生と分子科学研究所の奥村久士先生に御講演を御願いました。最新の研究内容にたいして内容の濃い質疑応答がみられました。質疑応答では、奥村先生と茶谷先生による掛け合いも非常におもしろく大変印象に残っております。以下、2 名の御講演について感想を紹介させていただきます。

神戸大学 茶谷絵理 先生

茶谷先生には「アミロイド形成におけるタンパク質凝集メカニズムへの実験的アプローチ」を題目に発表して頂きました。これまでの研究ではアミロイドは線維の形成過程が非常に早く、その線維形成初期を捉えることができませんでした。茶谷先生は高濃度の塩をいれることで、この初期段階の種の観測に成功し、どのようにアミロイドがオリゴマー化するのかを実験で得られた情報を基に報告して頂きました。実験的に線維初期段階の種の存在を示してくださり、理論との協奏の重要性を示唆した御講演だと感じました。



分子科学研究所 奥村久士 先生

奥村先生には「アミロイド線維の分子動力学シミュレーション」を題目に発表して頂きました。理論・計算のアプローチをあまり知らない学生向けに分子動力学の基礎から説明して頂き、将来、理論の研究者と共同研究するための足場を作って頂きました。さらに、アミロイドが四量体を形成する際に単量体ずつ結合していく様子を分子動力学シミュレーションの結果から報告して頂きました。計算機の中のタンパク質は実際に水の中で揺らいでいる様子をみているようで、タンパク



“Dynamical Ordering & Integrated Functions” Newsletter Vol. 27

November, 2015

質が凝集していく様から一義に秩序をもつメカニズムの存在を再確認すると共に大変驚きました。タンパク質がある一定の秩序を保つ壮大なイベントに対して計算科学でアプローチしていく重要性を感じました。(立命館大・大山克明)



一般講演

一般講演は学部生から先生までの計7名の方に発表を行って頂きました。本領域の特色を色濃く反映し、化学、物理学、生物学といった多岐にわたる分野の若手研究者により発表して頂くことができました。聴衆も、自らの専門分野を超えて積極的に質疑に挑戦していました。以下、7名の方のご講演と私の感想を簡単に紹介させていただきます。



分子研の伊藤暁先生(助教)には「 $A\beta$ (29-42)のオリゴマー化に関するハミルトニアンレプリカ置換法を用いた研究」という題目で発表して頂きました。水中の $A\beta$ に対してハミルトニアンレプリカ置換分子動力学シミュレーションを実行し、その結果から自由エネルギー面を作成することで、どのように $A\beta$ がオリゴマー化するかを定量的に明らかにしたという研究報告をして頂きました。この研究を通してタンパク質の秩

序化という壮大で複雑なイベントに対して、計算科学でのアプローチの大きな可能性を示してくださり、理論と実験との共同研究の重要性を再確認することができました。



名古屋市立大の與語理那さん(B4)には「Fc受容体との相互作用における抗体の構造変化から抗体の足場としての機能を考える」という題目で発表して頂きました。Fc受容体と抗体が抗原を捉えた時の構造変化をX線小角散乱解析や抗体分子自体の慣性半径の計測等から突き止め、従来考えられていた会合モデルではなく、構造変化を伴うアロステリックモデルであるという研究成果を報告して頂きました。他の博士学生等と引けを取らない堂々とした発表とその内容で、皆に非常に良い刺激を与えてくださいました。今後もこの領域を引っ張っていく研究をしてくださることを楽しみにしております。



東京農工大の山本陽平さん(D2)には「グループII型シャペロニンにおけるサブユニット間協調作用の解析」という題目で発表して頂きました。タンパク質のフォールディングの補助機能を持つタンパク質であるシャペロニンがATPによりどのように構造変化するか、またその変化による影響を、条件を変えて実験し、解析することで明らかにした結果をご報告してくださいました。構造のダイナミクスを追うだけでなく、1つの構造変化が別のタンパク質の構造変化を誘起して



“Dynamical Ordering & Integrated Functions” Newsletter Vol. 27

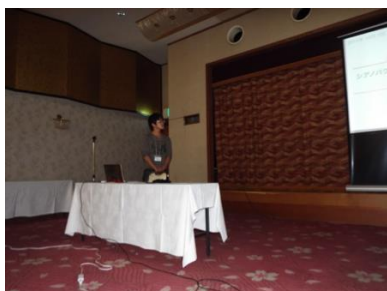
November, 2015

いるという点に着眼しており、複雑な生体内での具体的なタンパク質の役割や機能を研究対象とする難しさと、その面白さを知ることが出来ました。

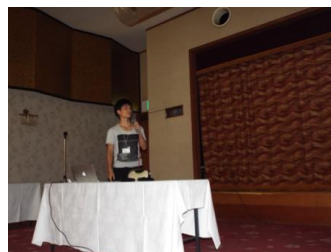


奈良先端大の米澤健人さん (D3) には「Photoactive Yellow Protein (PYP)におけるアルギニン 52 のプロトン化状態」という題目で発表をして頂きました。PYP の表層にあるアルギニン 52 がプロトン化もしくは脱プロトン化する条件を X 線構造解析や FT-IR 等の解析から系統的に解析し、PYP 内で生じる低障壁水素結合の存在を示唆する結果を発表して頂きました。様々な実験手法を駆使するだけではなく、計算科学との共同研究も積極的に行い、広い観点でタンパク質構造とその機能の深淵となる情報を分子レベルで詳細に突き詰めようとする真摯な姿勢は非常に学ぶべき点だと私は感じました。

立命館大の大山克明さん (D2) には「シアノバクテリア時計タンパク質 KaiC の二状態変換」という題目で発表して頂きました。シアノバクテリア由来の KaiC は 24 時間周期で振動することが分かっていますが、その構造変化の具体的な様子は明らかになっていません。そこで、その構造変化を BN-PAGE を用いて解析し、具体的にリン酸化および脱リン酸化に伴って構造が伸縮することを解明した研究結果を発表して頂きました。タンパク質の緩やかな揺らぎを捉え、タンパク質全体の振動の要因を明らかにした点で非常に興味深く、まるでその様子を見ているかのような結果は非常に面白かったです。



北海道大の陳明皓さん (D1) には「嫌気条件下での鉄硫黄タンパクの結晶化」という題目で発表して頂きました。タンパク質中の鉄硫黄イオンクラスターがどのような構造であるかを調べるため、嫌気条件下で作成したタンパク質結晶を長波長 X 線構造解析で解析し、その電子密度からタンパク質中の鉄硫黄イオンクラスターの結晶構造を明らかにしたことを発表して頂きました。特に嫌気条件下での結晶作成の苦労話を全て笑いに変え、動画で明るく紹介して下さったことは印象深く、研究がうまく行かなくても決して諦めないことの大切さを皆に教えて頂きました。



京都大の藤田貴敏さん (PD) には「分子集合体の秩序と機能」という題目で発表して頂きました。分子集合体の秩序と機能を解明するためにはどこに着眼点し、どのような物理量を取り扱っていくべきか。また理論家としてどの点の情報を重要視しているかについて、今までのご自身の研究成果をふまえて具体的に話して下さり、今後、この領域にどのように計算科学が貢献できるのかという壮大なテーマで発表して頂きました。今回の若手の会の大きなテーマである実験と理論の協奏にふさわしく、今後の本領域の更なる可能性を示唆したご講演でした。(横浜市大・増子貴子)





“Dynamical Ordering & Integrated Functions” Newsletter Vol. 27

November, 2015

ポスターセッション

ポスター発表においても、蛋白質科学として分子シャペロンを扱った研究や、アミロイドに関する研究など、そして超分子科学からはかご状に自己組織化するものや、UFO キャッチャーのような形をしているものを実験的理論的に展開されており、多種多様な素晴らしい研究に触れ合うことができました。（奈良先端大・米澤健人）

多分野の学生が一堂に会し、質問を積極的に交換し合う場となったので、このポスター発表は全員にとって、とても有益だったと思います。時間はだいぶ長めにとったにも拘らず、「聞き足りなかった」という声があがったのは本当に嬉しいことでした。（横浜市立大・増子貴子）

午後全ての時間を使ったポスター発表は、自分の担当時間以外でもディスカッションが盛んにおこなわれ、非常に盛り上がりました。様々な分野の方々と自身の研究内容について意見交換でき、非常に有益な時間だったと思います。ディスカッションが終わるとすぐに別の人とディスカッションが始まる様はとても嬉しい光景でした。（立命館大・大山克明）



受賞者コメント

本年度の若手研究会では優秀ポスター賞、並びに優秀質問者賞を設けました。優秀ポスター賞は、投票と質問者数から、優秀賞質問者賞は企画講演での質問の数とポスターでの質問数を考慮し決定しました。ここでは、それぞれの賞の受賞者からのコメントをご紹介します。

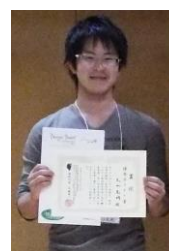


優秀ポスター賞

大山 克明

（立命館大・生命科学 寺内研 D2）

この度大変栄誉な賞を頂き、大変嬉しく思っております。これもひとえに協力してくださった方々や普段御指導をいただいている寺内先生、浅井先生のおかげだと考えております。この場をかりて御礼申し上げます。



3日間実行委員として参加させて頂き、大変多くのことを学ぶことができました。個人的には2日目の午後すべてをつかったポスターセッションがとても印象的で、普段話せないような異分野の方とも深くディスカッションすることができました。このような場から将来



“Dynamical Ordering & Integrated Functions” Newsletter Vol. 27

November, 2015

共同研究が生まれるのかと考えドキドキしていた記憶があります。

今後もこの賞を励みに研究に傾注して参ります。最後になりましたが、若手の会の企画・運営に携わって頂いた方々、見守ってくださった先生方にこの場を借りて御礼申し上げます。

甲斐 詢平

(東大院・総合文化 平岡研 M2)

この度ポスター賞を受賞できましたこと、大変嬉しく思います。多くの方と実りあるディスカッションができ、ポスター発表を楽しむことができました。

Pdイオンを用いた超分子錯体の自己集合メカニズム解明の研究を始めて約1年半が経ちますが、その間、様々な困難がありました。しかし、平岡先生をはじめとする沢山の方々にご指導いただき、成果を上げることができました。

今後は、博士課程に進学し引き続き研究に邁進してまいります。

最後になりますが、本若手の会を企画・運営して下さった委員会の方々にこの場を借りてお礼申し上げます。

優秀質問者賞

陳 明皓

(北大・院生命科学 田中研 D1)

今回、はからずも優秀質問者賞を頂き、心より光栄に思っております。本当にありがとうございました。

今回の新学術領域若手の会で、様々なバックグラウンドを持つ参加者たちが同じ旅館に3日間泊まり込み、非常に密度の高い議論ができただけでなく、学生が中心となって討論を盛り上げたことが特徴的でした。自分もそののびのびとした雰囲気の影響されて、このような光栄な賞を頂くことができましたが、この賞は決して自分だけのものではなく、発表をして下さった方々、そして議論に参加した全員のものだと思ってお



ります。今後もこの経験を生かして、自分のディスカッションスキルを磨いていきたいと思います。

最後にこのような素晴らしい機会を設けてくださった運営スタッフの方、またずっと会場の後ろで温かく見守ってくださった先生方にこの場をお借りしてお礼を申し上げます。



最後に

振り返ると企画・運営において、我々実行委員の至らぬ点多々あり、多くの方にご迷惑をお掛けしたかもしれないと反省していますが、参加者の皆さんのおかげでなんとか無事に第2回若手研究会を成功裏に終えることができました。最後になりますが、この会を開催するに当たり、世話人である上久保先生をはじめ、会場係として手伝ってくれた吉田くん(上久保研D3)と篠原さん(上久保研M2)には多大なご尽力を頂戴しました。ここに改めて感謝致します。

若手研究会が来年も盛大に行われることを願って、このNews letter を締めさせていただきます。





“Dynamical Ordering & Integrated Functions” Newsletter Vol. 27

November, 2015

研究会報告

内山 進

(大阪大学 工学研究科・A03
公募研究代表者)



杉山正明

(京都大学 原子炉実験所・
A03 公募研究代表者)



第 53 回日本生物物理学会年会が 9 月 13 日から 15 日の日程で緑に囲まれた金沢大学角間キャンパス自然科学本館にて開催されました。この年会の 2 日目に本新学術領域が共催となり「Formation of spatiotemporal dynamic ordering mediated by ATP hydrolysis (ATP 加水分解が介在する時空間動秩序の形成)」をテーマとして、筆者らがオーガナイザーとなりシンポジウムを開催させて頂きました。

シンポジウムでは、本領域の 6 名の班員の先生方に ATP 加水分解により引き起こされる生命現象に関する最新の研究成果を発表していただきました。前半の 3 演題は ATP 加水分解が重要な役割を担っている時計タンパク質における概日振動に関するご講演をお願いいたしました。まずは、立命館大学の寺内一姫先生(A03 班公募班代表者)に「A self-sustaining and temperature-compensated circadian rhythm reconstituted in vitro in a minimal system containing three Kai proteins

(3つのタンパク質で再構成できるシアノバクテリアの生物時計)」と題して、Kai タンパク質における ATP の加水分解により動く概日時計の全体像を紹介して頂きました。その上で示された CBB 添加を行うと電気泳動で KaiC のリングの 2 つの状態が検出されるという分析手法を駆使した最新の研究成果は大変興味深いものでした。次に、分子科学研究所の秋山修志先生(A01 班公募班代表者)に「KaiC as Circadian Pacemaker of Cyanobacterial Circadian Clock」というタイトルで、ATP の加水分解に伴う KaiC の微妙な構造変化を詳細な結晶構造解析に基づき紹介していただき

ました。リン酸化状態に応じて KaiC のリング構造が動いていく Movie は圧巻でした。更にこの事より 24 時間という通常の化学反応に比べるとゆっくりとした時間スケールで現象が進行していくメカニズムについて実験的に論じて頂きました。前半の最後は名古屋大学の笹井理生先生(A03 班公募班代表者)に「Mesoscale modelling of coupling between ATP hydrolysis and circadian oscillation in KaiABC system (KaiABC システムにおける ATP 加水分解と概日振動の結合についてのメゾスケールモデリング)」と言うタイトルで計算科学の立場から概日振動のメカニズムについて解説していただきました。計算機によるシミュレーションから概日振動が出てくる事と実験的なデータとの検討が今後領域内共同研究としてより一層発展していくことが大いに期待される内容でした。

後半の 3 題は、ATPase とアクチンについてのダイナミックな運動の研究のご講演となりました。まずは、岡崎統合バイオサイエンスセンターの飯野亮太先生(A02 班公募班代表者)に「Single-molecule high-speed imaging analysis of ATP-driven molecular motors (ATP 駆動分子モーターの 1 分子高速可視化解析)」と題して、生体中の回転モーターである ATPase の駆動メカニズムに関する講演をして頂きました。1 分子観察により実際にモーターが回る様子を捉え、そこから ATP の加水分解状態や構造変化を説明した内容は興味深いものでした。次に東北大学の水野健作先生(A03 班公募班代表者)に「Roles of actin dynamic ordering in cell migration and mechanosensing (細胞の力覚応答と増殖におけるアクチン動的秩序の役割)」と言うタイトルで、細胞が移動の際に、ATP を加水分解しながら Actin 集合体が移動していく機構を可視化技術を用いて解析した研究を紹介していただきました。特に、運動の 3 つの段階における G-Actin 単量体の濃度を変数とした重合モデルを用いて細胞移動の様子を説明した内容は印象的でした。全体の最後は九州大学の秋山良先生(A01 班公募班代表者)に

「Spatiotemporal dynamic ordering regulated by ATP hydrolysis and effective attraction between negatively charged sites in a biofluid (生体溶液中での ATP 加水分解による同符号電荷間引力制御と時空間動秩序)」と題して、生体溶液中での ATP 加水分解による同符号



“Dynamical Ordering & Integrated Functions” Newsletter Vol. 27

November, 2015

電荷間引力制御と時空間動秩序ついて、カチオンを介した引力発生機構と ATP の加水分解による価数変化に注目した統計力学の観点からの研究を説明して頂きました。

シンポジウムを通して時間・空間スケールの異なる生命現象の中で ATP の加水分解がミクロな構造変化や相互作用の変化を引き起こし、その構造変化が運動へと繋がっていることが明瞭に示されました。更に場合によっては、それぞれの局所的な運動が協調的に動くことで、定常的でありながら動的な運動が生み出される様子は、とても印象的でありこの協調性が動的秩序の形成において重要な因子であるという事が印象付けられました。また、領域内の班員の先生方の講演で本シンポジウムが構成されておりますことからわかるように、生物分野における本領域の研究分野の広さと深さが印象付けられるシンポジウムでもありました。

学会会場は市内から離れた自然豊かなキャンパスであり、シンポジウムは朝早くからのスタートでしたので、聴衆が集まるかを若干心配しておりましたが、杞憂に終わり、最後には立ち見が出るほどの大変活気のあるシンポジウムとなりました。質疑応答も活発に行われ、シンポジウムの研究テーマに対する高い興味を感じることが出来ました。改めてこの場を借りて、ご講演頂いた方、熱心に講演を聞いてくださった方、さらに、加藤領域代表にお礼を申し上げます。



オーガナイザーの内山(左)と杉山(右)



緑に囲まれた金沢大学角間キャンパス



講演者の先生方とオーガナイザー・領域代表との記念撮影。(左より、水野先生、笹井先生、寺内先生、飯野先生、内山、杉山、秋山(良)先生、秋山(修)先生、加藤先生)



受賞報告

前田大光

(立命館大学 薬学部・班友)



このたび Banyu Chemist Award (BCA) 2015 (万有生命科学振興国際交流財団) を「超分子集合体を形成するイオン応答性 π 電子系の合成」という課題で受賞させていただくことになりました。この賞は日本の有機合成化学分野における若手研究者の独創性を喚起し、優秀な人材を育成することを目指して設立され、有機合成化学分野において優れた業績をあげ今後の発展が期待される 40 歳未満の若手研究者を表彰するものです。今年は私を含め 6 名への受賞が決定されました。審査に関わられた先生方にこの場を借りて心より感謝申し上げます。

われわれのグループでは、ピロール環などから構成される新規 π 電子系の合成を基軸として、その分子認識能や集合化挙動に焦点を当て研究を行ってきました。これまで、①非環状型 π 電子系による金属錯化集合体の形成と動的挙動の発現、②非環状型 π 電子系による多様なアニオン会合体の形成とキラル光学特性の発現 (図 1a-c)、③アニオン応答性 π 電子系および π 電子系イオン (アニオン会合体など) からなる次元制御型集合体の創製 (図 1d, e)、を研究実施の柱とし、既存にはない電子・光機能マテリアルへの展開に挑戦してきました。とくに、イオン会合 π 電子系または非会合型 π 電子系イオンを構成ユニットとしたイオンペアの適切な組み合わせにより、電荷種間にはたらく相互作用を制御した特異な集合体形態の実現および半導体物性などの発現に成功しています。

われわれの開発したアニオン応答性 π 電子系の特徴は、アニオン非会合時に会合に適したコンフォメーションをとらず、会合に際して構成ユニットであるピロール

環の反転挙動を必要とする点です。アニオン応答性 π 電子系の共有結合オリゴマーに関する研究の中で見出したキラル光学特性を発現するアニオン駆動型らせん構造 (図 1c 左) において、EXSY 解析による溶液中での M 型 $\rightleftharpoons$ P 型反転速度を評価する際には、A02 班班長の平岡秀一先生と貴重な議論をさせていただいたことをここに記載させていただきたいと思います。

受賞課題における独創性は、独自に開発した π 電子系を基盤とし、未開拓であった π 電子系イオンの配列制御を実現し、新たな分子集合体形態を提案したことにあります。電荷積層型集合体の形成を端緒とし、静電反発により実現困難である電荷種分離配置型構造の寄与を明らかにした点は、分子集合体に対する新たな形成原理を与えるものとして、きわめて高い斬新性・革新性を有するものです。既存にはない集合体形態の構築や物性発現を実現する基盤として、新規骨格を有する π 電子系の設計・合成が位置づけられていることから、本研究により有機合成の意義を改めて示すことができました。この受賞を契機に、次元制御型集合体の構成ユニットである π 電子系のイオン駆動による動的挙動の解明に向けて、領域内の先生方との共同研究を精力的に実施し、班友としていっそう努力したいと考えております。

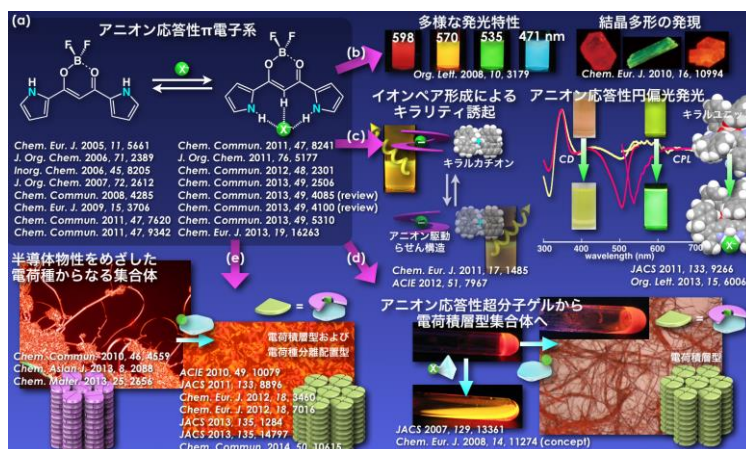


図 1: (a) アニオン応答性 π 電子系のアニオン会合形態; (b) 溶液中・結晶状態での電子・光物性; (c) レセプター分子のキラリティ誘起と円偏光発光 (CPL) 発現; (d) アニオン応答性超分子ゲルを基盤とした電荷積層型集合体の形成; (e) π 電子系イオンからなる中間相 (サーモトロピック液晶) の形成