



業績紹介：黄色ブドウ球菌由来の細胞分裂必須因子 FtsA の結晶構造と
FtsA の結合による FtsZ の活性化

“Crystal Structure of FtsA from *Staphylococcus Aureus*”

Junso Fujita, Yoko Maeda, Chioko Nagao, Yuko Tsuchiya, Yuma Miyazaki, Mika Hirose, Eiichi Mizohata, Yoshimi Matsumoto, Tsuyoshi Inoue, Kenji Mizuguchi, and Hiroyoshi Matsumura
FEBS Letters, **588**, 1879-1885 (2014) DOI: [10.1016/j.febslet.2014.04.008](https://doi.org/10.1016/j.febslet.2014.04.008)

松村浩由

(大阪大学大学院
工学研究科応用化学専攻
・A01 公募研究代表者)



細菌は 20 種類以上の細胞分裂に関わるタンパク質を有している。そのなかでも FtsZ と FtsA は、細胞膜の陥入・分裂の過程における鍵タンパク質である。チューブリンホモログである FtsZ は、GTP 依存的に重合して細胞中央部にリング状のポリマーを形成し、集合・離散を繰り返しながら膜を収縮させる。一方、アクチンホモログである FtsA は、膜結合能を持たない FtsZ ポリマーを細胞膜に結合させる役割をもつ。しかし、FtsA の役割はそれだけではなく、最近になって FtsA は FtsZ を機能的にも手助けしていることが分かってきた。というのも、膜に結合するよう改変した FtsZ は、リボソーム膜をわずかに陥入するのみであったのが (*Science* 320, 792, 2008)、FtsZ-FtsA (変異体) 複合体は膜の陥入のみならず分裂まで達成することが示されたからである (*PNAS* 110, 11000, 2013)。このように FtsZ と FtsA の協調現象が示されたが、その分子機構は不明である。その理由として、FtsA の調製が難しく、FtsZ と FtsA の複合体、ならびに FtsA 単体の構造機能解析が進んでこなかったことが挙げられる。したがって例えば、「アクチン同様に FtsA はポリメライズし、ATPase 活性を持つのか?」、また「FtsZ と FtsA の結合はこれらの GTPase/ATPase 活性を変化させるのか?」といったことも示されてこなかった。

本論文では、黄色ブドウ球菌由来の FtsA を用いて初めて安定な FtsA の調製に成功し、つづいて ATP アナログ複合体の立体構造を X 線結晶構造解析によって決定した (図 1)。結晶中で FtsA 分子は逆平行フィラメントを形成しており、そのフィラメント内のモノ

マーはそれぞれ 17 度、28 度捻れていた。このことから、FtsA はポリメライズするものの、そのフィラメントは湾曲しうること、そしてこのフィラメントは構造的にフレキシブルであることが示唆された。つづいて、FtsA が ATPase を持ちうるかを立体構造から検証したところ、水の配置などから ATPase 活性が発揮されにくいことが予測された。実際に、我々の活性測定でも FtsA の ATPase 活性はほとんど検出できていない。

さらに、FtsZ と FtsA との結合が、GTPase/ATPase 活性に与える影響を調べたところ、FtsA の結合によって FtsZ の GTPase 活性が上昇することが明らかとなった。この結果は、前述した「FtsZ と FtsA が協調して機能する」現象を初めてアッセイで証明できたことを示している。

以上、本研究の成果により、FtsA の立体構造と FtsZ と FtsA による協調現象の一端が分かってきたが、その分子機構は未だ理解できていない。それには様々な観点から、分子構造と分子の集合・解離 (つまり動的秩序) との関係性を調べる必要があり、本領域で FtsZ-FtsA 複合体における分子機構と動的秩序の関係性を追求する予定である。

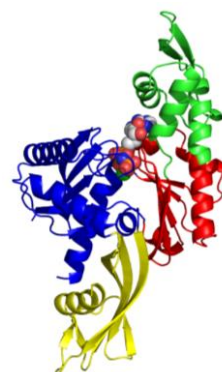


図 1 : FtsA の結晶構造。
ドメインで色分けをしており、緑、赤、青のドメインの境界に ATP アナログが結合している。



業績紹介：ヒストンを模倣したペプチド修飾 $M_{12}L_{24}$ 球状錯体を使い、段階的に DNA を凝集させた

“Stepwise DNA Condensation by a Histone-mimic Peptide-coated $M_{12}L_{24}$ Spherical Complex”

Takashi Kikuchi, Sota Sato, Daishi Fujita, and Makoto Fujita

Chem. Sci., 5, Accepted Manuscript (2014) DOI: 10.1039/C4SC00656A

佐藤宗太

(東北大学 原子分子材料科学
高等研究機構 (WPI-AIMR)
・ A02 計画研究代表者)



自然界における秩序化では、多段階にわたる秩序化が動的に進行する例が多く見いだされる。例えば、真核細胞では、正電荷を帯びたタンパク質であるヒストン 8 量体が、負電荷を帯びている DNA 分子を段階的に凝集させてコンパクトな構造のクロマチンを形成し、遺伝子発現という生命現象を制御していることが知られている。一方、人工系では合成分子の秩序化は一段階で安定な最終生成物に落ち着いてしまう単純な系が多く、多段階での秩序化の実現例は数少ない。そこで、ヒストン 8 量体の構造を参考に、大きさや電荷密度が似た分子を合成できれば、DNA の多段階での凝縮を実現できると期待をもって検討を行った。

これまでに、折れ曲がった有機配位子 (L: ligand) と遷移金属イオン (M: metal ion) との自己組織化によって、 $M_{12}L_{24}$ 組成の球状錯体が得られることを報告しており、その基本骨格の直径は 3.5 nm と、人工系分子としては最大級に大きい。さらに、配位子にあらかじめ化学修飾することで、配位子と同じ数である 24 個の官能基を厳密に構造制御して導入することができる。今回、正電荷を帯びたペプチド鎖を化学修飾すれば、ヒストン 8 量体の大きさと電荷密度を模倣した巨大分子を合成できると考えた。Arg-Lys-Leu-Pro-Asp-Ala の配列の +1 価のペプチド鎖を 24 個修飾することで、錯体骨格に 12 個含まれるの Pd^{2+} イオンの電荷と合わせて +48 価の電荷を持ち、直径 8.4 nm にも達する球状錯体を合成した。

環状のプラスミド DNA (pBR322) に対して、この球状錯体分子を加え、その形状をマイカ基板上で原子間力顕微鏡 (AFM) によって観察した (図 1)。加える錯体分子の量が少なく、DNA 分子の全負電荷 (Z_{DNA}) に対

して、球状錯体の全正電荷 (Z_{sphere}) の比率が $Z_{sphere}/Z_{DNA} = 0.87$ である場合は、DNA に球状錯体が部分的に載り、その場所で DNA が曲がっている beads-on-a-string 構造が観測された。この電荷比を $Z_{sphere}/Z_{DNA} = 1.7$ まで増やすと、複数の DNA 分子が凝集して、5 nm の均一な高さの構造を形成することがわかった。さらに、 $Z_{sphere}/Z_{DNA} = 8.7$ まで増やした場合には、高さ 16 nm、最大直径で 40 nm 程度のコンパクトな球状構造体へと凝集する様子が明らかになった。この凝集の様子は動的散乱 (DLS) によっても確認できた。従来の DNA を凝集する物質と比較すると、この球状錯体は最も効率的に DNA 凝集を促進できる物質の 1 つであった。

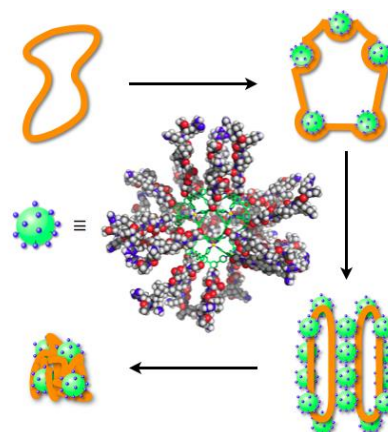


図 1：ヒストン 8 量体の構造を模倣し、表面に 24 本のペプチド鎖を精密配置した球状錯体を自己組織化合成し、環状 DNA を 3 段階にわたってからめとった。

このように、ヒストン 8 量体の構造を模倣して、大きさと電荷密度を整えた球状分子は、DNA を効率的に凝集できることがわかった。その過程は 3 段階にわたり、電荷比で制御された自発的な秩序化であることを明らかにすることができた。



業績紹介 : YidC によるタンパク質膜挿入機構の解明

“Structural basis of Sec-independent membrane protein insertion by YidC”

Kaoru Kumazaki, Shinobu Chiba, Mizuki Takemoto, Arata Furukawa, Ken-ichi Nishiyama, Yasunori Sugano, Takaharu Mori, Naoshi Dohmae, Kunio Hirata, Yoshihiko Nakada-Nakura, Andres D. Maturana, Yoshiki Tanaka, Hiroyuki Mori, Yuji Sugita, Fumio Arisaka, Koreaki Ito, Ryuichiro Ishitani, *Tomoya Tsukazaki, and *Osamu Nureki

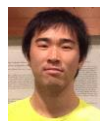
Nature, **509**, 516-520 (2014) DOI: [10.1038/nature13167](https://doi.org/10.1038/nature13167)

古川 新

(奈良先端科学技術大学院大学
バイオサイエンス研究科・塚崎研究室)

塚崎 智也

(奈良先端科学技術大学院大学
バイオサイエンス研究科
・A02 公募研究代表者)



生体膜では多数の膜タンパク質が機能している。細菌の場合、タンパク質のサイトプラズム膜への挿入は、真核生物にも保存されている Sec トランスロコン複合体または膜挿入装置 YidC を介しておこる。YidC は ATP 合成酵素のバイोजェネシスにも関わっており、真核生物のミトコンドリアや葉緑体に保存されているが、その膜タンパク質挿入機構は不明であった。我々の研究グループは世界で初めて *Bacillus halodurans* 由来 YidC の構造を X 線結晶構造解析により 2.4 Å 分解能で決定した(図 1)。

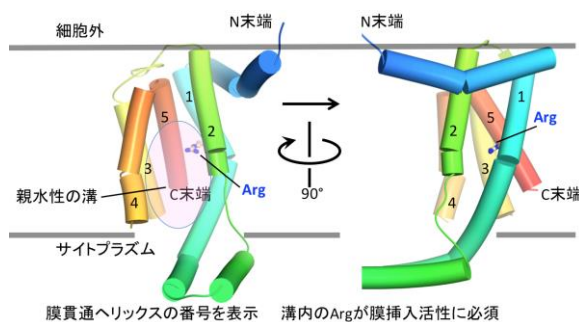


図 1 : *Bacillus halodurans* YidC の構造

YidC は 5 本の膜貫通ヘリックスを有しており、ほとんどの領域が膜に埋もれていた。5 本の膜貫通ヘリックスによって形成された溝は、サイトゾル側と側方に開かれていたが、細胞外側には閉ざされていた。MD シミュレーションの結果、YidC はこの溝が開かれた構造体を保ったまま膜内に安定に存在することが判明した。また、サイトゾル側の領域の揺らぎが大きいこと

が判明し、多彩な基質との認識に関与することが考えられた。親水性の溝の中心部には、生物種間で保存されたアルギニン残基が存在しており、溝の内部を正に帯電させている。このアルギニン残基を他のアミノ酸に置換したところ、YidC の膜挿入活性が著しく阻害された。一方で基質膜タンパク質に存在する負電荷を減少させても YidC の膜挿入活性が低下したことから、正に帯電した溝と基質タンパク質との静電的な相互作用が示唆された。さらに、YidC と基質膜タンパク質の相互作用部位を同定するため、部位特異的光架橋実験を進めた。溝の内側(保存されたアルギニン残基付近)と外側に、光架橋剤として非天然アミノ酸を導入したいくつかの YidC 変異体を作製し、光照射による *in vivo* における架橋産物の検出を進めた。その結果、溝の内側においてのみ、基質タンパク質との架橋産物が形成された。以上の結果を統合して、YidC が基質膜タンパク質を親水性の溝にいったん取り込み、その後膜へ挿入するという新たなモデルを提唱した(図 2)。

YidC の初めての構造決定によって、タンパク質膜組み込み機構の詳細な解析が可能となった。今回は単純な基質タンパク質の膜組み込み過程の提唱であったが、今後は多くの研究者が YidC の構造情報を基に、より複雑な膜タンパク質の組み込み過程について解析を進めるだろう。

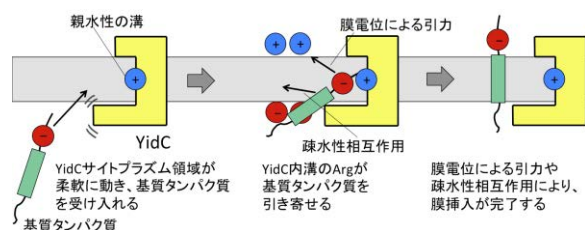


図 2 : YidC によるタンパク質膜挿入モデル



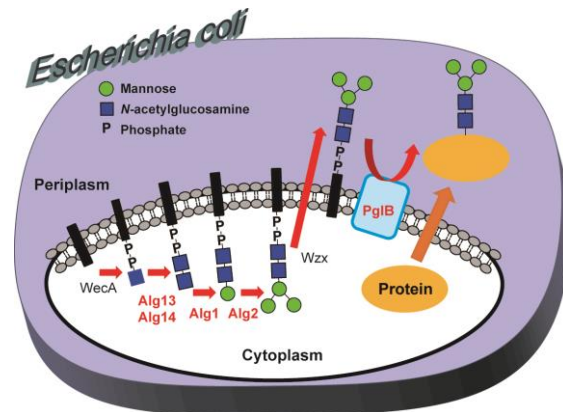
構造生物学を指向した糖タンパク質のテーラーメイド合成の最新動向 (総説)

Recent Advances in Glycoprotein Production for Structural Biology: Toward Tailored Design of Glycoforms

Yukiko Kamiya, Tadashi Satoh, and Koichi Kato

Current Opinion in Structural Biology, 26, 44-53 (2014). DOI: 10.1016/j.sbi.2014.03.008

自然界に存在する全種類のタンパク質の半数以上は糖鎖修飾を受けている。糖鎖は、細胞内におけるタンパク質社会の秩序維持や、細胞表層の生命分子集合場の構築など、生命分子システムの動的秩序形成の重要な要素として機能している。しかしながら、糖タンパク質の構造生物学・分子科学の研究は単純タンパク質の場合と比較して非常に立ち遅れている（プロテインデータバンクへの糖タンパク質の立体構造登録はわずか3.5%）。その原因として、均一な糖鎖構造を持つタンパク質および糖鎖そのものを調製することの困難さが挙げられる。なぜなら、タンパク質上の糖鎖の構造は発現細胞の種類や細胞内環境に応じて変化しており、真核細胞を用いた従来法によって得られる糖タンパク質には構造不均一性が生じるからである。本総説では、こうした現状を脱却するべく分子生物学、生化学、合成化学の手法を駆使することによって高度な発展を見せている糖タンパク質の産生法に関して最新の知見と研究動向を紹介している。例えば、生物の力を全く借りない完全化学合成による人工糖タンパク質の創成、糖鎖合成マシーナリーを据え付けることにより糖タンパク質生産能を獲得した大腸菌の開発が挙げられる。このようにテーラーメイドに糖タンパク質を合成する手法の確立によって、糖鎖が介する生命分子システムの動的秩序形成機構の解明が推し進められることが期待される。



(神谷由紀子 名古屋大学・A02 公募研究代表者、佐藤匡史 名古屋市立大学・A03 計画研究分担者)

新学術領域「動的秩序と機能」関連シンポジウムおよび共催イベントの予定

- ・ 第 14 回日本蛋白質科学会年会ワークショップ
「蛋白質における動的秩序形成と高次機能発現」
ワークピア横浜（神奈川県） 2014年6月26日（木）
- ・ 全体班会議
粟津温泉 おびし荘（石川県） 2014年8月4日（月）～7日（木）
- ・ 第3回国際シンポジウム
合歓の郷（三重県） 2015年1月10日（土）～11日（日）



計画班員の平岡秀一氏の共同研究者・小島達央助教が
第94日本化学春季年会で優秀講演賞(学術)を受賞

平岡秀一

(東京大学大学院総合文化研究科・A02 計画研究代表者)



平成26年3月27日から30日まで名古屋大学 東山キャンパスで開催されました、第94日本化学会春季年会におきまして、筆者の共同研究者である、小島達央助教が優秀講演賞(学術)を受賞しました。この賞は2006年より、日本化学会でB講演を行った36歳未満の若手研究者を対象として、発表内容、プレゼンテーション、質疑応答において優れた講演に与えられるものです。今年は、対象となる195件の講演の中から39件が選出されました。

小島さんの発表題目は「不安定アリアルリチウムをリチオ化剤とする、ヘキサフェニルベンゼン骨格の選択的交互型トリリチオ化」で、我々が現在取り組んでいる、歯車状両親媒性分子の合成手法の開発に関わる研究です。ヘキサフェニルベンゼンはベンゼン環の周囲に6つのベンゼンが結合した分子で、我々が目的とする歯車状両親媒性分子の基本骨格のほか、酸化することでグラフェン断面であるヘキサベンゾコロネンへ誘導できるなど、広範な利用が期待されている化合物群です。周囲に結合した6つのベンゼンに対して官能基を導入することで、多様な物質開発へ繋がりますが、これらの6カ所に選択的にいろいろな官能基を導入しようとする、従来の合成手法では大きな制約がありました。例えば、2種類の置換基を導入する場合、最も対称性の高い構造である交互に置換基が導入された化合物の合成は非効率的なものでした。この問題について、我々は最近、安価かつ大量に合成が可能な6つの臭素を導入したヘキサフェニルベンゼン誘導体に対して *t*-BuLi を作用させることで、容易に交互型のヘキサフェニルベンゼン誘導体を合成できることを見いだしました(*Org. Lett.* **2014**, *16*, 1024.)。本反応は *t*-BuLi とブロモ化されたヘキサフェニルベンゼン誘導体の間でハロゲン-リチウム交換が進行し、これが可逆的なため、



小島達央さん

熱力学的な安定な種が生成するというものです。この手法により、これまで合成が困難であるとされてきた交互置換型の物質合成という問題を解決することができました。一方、反応で利用する *t*-BuLi は爆発性のある化合物であるため、大量合成には危険を伴います。また、この手法を5つの臭素を導入したヘキサフェニルベンゼン誘導体へ適用することで、これまで合成が不可能であった、3種類の官能基を一選択的に導入した化合物群の合成の道が拓けましたが、化合物によっては、良好な結果が得られないという問題も抱えていました。

これらの問題を解決するために、小島さんは、反応の鍵となるハロゲン-リチウム交換を見直し、適切なリチウム試剤の開発を行いました。利用するリチウム試剤の安定性、交換後に生じる種の反応への影響を考慮し、2種類のリチウム試剤をデザインし、これらを用いることでヘキサフェニルベンゼン誘導体に対する選択的なリチオ化が進行することを見いだしました。今回開発したリチウム試剤は金属リチウムと対応するアリアルベンゼンから安全かつ大量に合成が可能なことから、選択性の問題加えて危険性の問題も解決され、置換ヘキサフェニルベンゼン誘導体が今後益々、様々な物質合成の鍵物質となるものと期待されます。