

業績紹介：高速原子間力顕微鏡による人工タンパク質ケージのダイナミクス観察

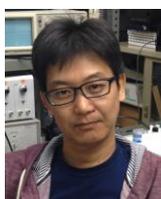
"Probing Structural Dynamics of an Artificial Protein Cage Using
High-Speed Atomic Force Microscopy"

Motonori Imamura, Takayuki Uchihashi, Toshio Ando, Annika Leifert, Ulirich Simon, Ali D. Maly, and
Jonathan G.Heddle

Nano Letters **15**(2), 1331-1335, (2015), DOI: [10.1021/nl5045617](https://doi.org/10.1021/nl5045617)

内橋貴之

(金沢大学理工研究域数
物科学系/バイオ AFM 先
端研究センター・A01 公募
研究代表者)



Bacillus 属のバクテリアで、トリプトファンの生合成を制御するタンパク質である *trp* RNA-binding attenuation protein (TRAP)は、リング状の11量体を形成している。システインを導入した変異体(K35C)では金ナノ粒子との混合により球殻構造を形成し、その熱安定性も高いことから、無機ナノ構造体形成の理想的鋳型として研究されている。金ナノ粒子により、タンパク質が不定形の凝集体を形成したり、ナノ粒子表面にタンパク質コロナを形成することはよく知られているが、サイズが規定された構造体を形成するタンパク質はTRAPだけである。しかしながら、球殻の詳細な構造や形成メカニズムについては不明であった。高速原子間力顕微鏡(HS-AFM)を用いて球殻とその脱集合過程を観察し、球殻の構造と形成メカニズムを明らかにした。

HS-AFMで野生型およびK35C変異体TRAPを基板上で観察したところ、どちらも結晶構造解析で得られているのと同様のリング構造が見られた。HS-AFM観察中に直径1.4nmの金ナノ粒子を観察溶液に加えたところ、リング中心のポア部分が1-2nm高くなり、金ナノ粒子はリングの中心穴に吸着することがわかった。また、変異体TRAPは基板表面を拡散しながらリングが凝集していき、還元剤(DTT)を加えるとリング凝集体が脱凝集していく過程が観察された。このことから、変異体TRAPが持つシステイン残基間のジスルフィド結合によりリングが凝集していくことが確認できた。

金ナノ粒子との混合後にTRAPを観察したところ、直径約20nmのサイズが良くそろった球状構造体が見られた(図1a)。球体の表面では網目構造が解像できることから、球体は11量体リングから構成された球殻構造であると考えられる(図1b)。詳細な解析から、球殻は約26個のTRAPリングから形成されていることがわかった。DTTを加えると球殻が壊れ、5分ほどで完全に脱集合してリング構造だけになる様子が観察された(図1c)。また、球殻は酸性(pH4)条件でも維持されるが、リング構造は酸性条件ではモノマーに解離していくことから、球殻構造の形成がTRAPリング構造自体を安定化することが分かった。

本論文により、金ナノ粒子を触媒としたタンパク質超構造体の形成メカニズムの一端を明らかにするとともに、HS-AFMがナノ構造体のダイナミクス研究に有効な手法であることを示した。

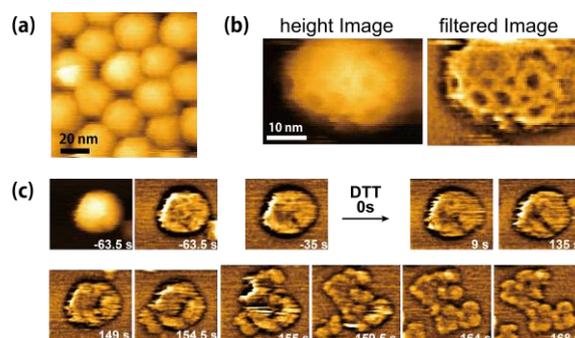


図1 変異体 *trp*TRAP と金ナノ粒子により形成された球殻の高速 AFM 像 (a) 直径約 20 nm の球状構造体 (b) 球殻の AFM 像(左)とハイパスフィルター処理後の像(右). (c) DTT の添加による球殻の脱集合化



業績紹介：カーボンナノチューブ分子とフラーレンから秩序化した
さやえんどう型分子の回り方を理論化学の手法により解明

"Theoretical Studies on a Carbonaceous Molecular Bearing: Association Thermodynamics and
Dual-mode Rolling Dynamics"

Hiroyuki Isobe, Kosuke Nakamura, Shunpei Hitosugi, Sota Sato, Hiroaki Tokoyama, Hideo Yamakado,
Koichi Ohno, and Hirohiko Kono

Chemical Science, in press, (2015), DOI: 10.1039/C5SC00335K

佐藤宗太
(東北大学 WPI-AIMR・A02 計
画研究代表者)



筒状のカーボンナノチューブ(CNT)に球状のフラーレンがとりこまれた、「さやえんどう」のような構造をとる物質は、1998年に電子顕微鏡観察によって発見された。この物質中では、閉じ込められたフラーレンは固体状態であるにもかかわらず、自由に高速回転運動することが報告され、その特異な構造と物性に興味をもたれている。

筆者の所属する研究グループでは、合成化学の手法を駆使することで、太さや長さまで精密制御した分子性のカーボンナノチューブの合成を報告してきている。このチューブ分子の内部にフラーレンを閉じ込めると、構造が厳密に制御された「さやえんどう」分子を構築できる。先日、放射光 X 線を用いた単結晶構造解析に成功した。解析の結果、チューブ分子内の変曲点が存在しない滑らかな sp^2 炭素からなる内面が、フラーレンの sp^2 炭素からなる凸表面と相補的にかみあうことで、効率的なファンデルワールス相互作用が発現する構造が、摩擦のない回転運動に重要であることを見いだした(ニュースレター第 11 号を参照)。

さやえんどう分子内におけるフラーレンの速い回転運動は NMR スペクトルの解析によってわかっていたが、その運動様式の詳細は解明できていなかった。今回、理論化学の手法を使うことで、「歳差運動」と「自転運動」の 2 つの運動様式があることを見いだした。

理論計算を実施するにあたって、湾曲した sp^2 炭素

曲面同士が接触した分子系にどのような手法が適用できるか検討した。その結果、十種を越える密度汎関数(DFT)法の中から、LC-BLYP法が最適であり、実験的な熱力学エネルギーを非常に精度良く再現することがわかった。この手法を用い、遷移状態計算と分子動力学法計算を行い、フラーレンの回転運動を予測することに成功し、「歳差運動」と「自転運動」という二種類の異なる動きがあることを見いだした(図 1)。さらに、温度が低い(低エネルギー状態)ときには「歳差運動」が主に起こっており、温度を高く(高エネルギー状態)するにつれ、「自転運動」が加わっていくことを見いだした。この二種類の運動の存在と、温度による変化が、これまでの分光分析の解析を困難にしていたことがわかった。

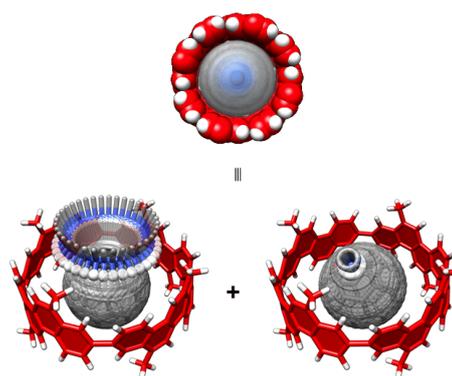


図 1: 精密構造をもつカーボンナノチューブ分子(赤)内部で C_{60} フラーレン誘導体(灰)が軸(青)を中心に軸回転する。上図が従来の NMR 分析からわかっていた大まかな回転運動。下図が今回の理論研究から解明された回転運動の詳細。「歳差運動(左)」と「自転運動(右)」の二種類の運動が明らかになった。



業績紹介：金ナノロッドの高速配向イメージング法の開発と
回転分子モーターの高速1分子計測への適用

“High-speed Angle-resolved Imaging of Single Gold Nanorod with Microsecond Temporal
Resolution and One-degree Angle Precision”

Sawako Enoki, Ryota Iino, Yamato Niitani, Yoshihiro Minagawa, Michio Tomishige, and Hiroyuki Noji

Anal. Chem. **87**, 2079-2086, (2015), DOI: [10.1021/ac502408c](https://doi.org/10.1021/ac502408c)

飯野亮太

(自然科学研究機構 岡崎統合
バイオ・分子研、A02 公募研究
代表者)



分子モーターの機能発現に重要な構造変化や中間構造を明らかにするには高速1分子計測が有用である。しかし、我々が以前開発した金ナノ粒子をプローブに用いる高速1分子計測は、散乱像の重心の変位を計測する。この場合、重心の移動を伴わない構造変化の検出は困難である。一方、配向に依存して散乱像の強度や形状が変化する金ナノロッドをプローブに用いると、重心移動がなくても配向変化として構造変化を捉えることができる。我々は今回、金ナノロッドの高速配向イメージング法を開発し、回転分子モーターF₁-ATPaseの高速1分子計測に適用したので紹介する。

後方散乱型レーザー暗視野顕微鏡と高速度 CMOS カメラを用い、金ナノロッドの配向をマイクロ秒の時間分解能と1°の角度分解能で決定する下記2種の手法を開発して評価した。1) 金ナノロッドのフォーカス像を直交する偏光2成分に分割して結像させその強度比から配向を求める方法(図1左、偏光分離)、2) 金ナノロッドのデフォーカス像の点像分布関数の形状から配向を求める方法の2種である(図1右、デフォーカス)。ガラス基板に固定した金ナノロッドの方位角の決定精度(偶然誤差)は10 μ秒の時間分解能で共に1°程度であったが、正確さ(系統誤差)は2)の方が高く5°程度であった。また2)では、デフォーカス像を計算像でフィットすることで方位角に加え極角も精度1°程度で決定することが可能であった。

さらに原理的に、1)の偏光分離法では測定できる方位角の範囲が0-90°に限定されるのに対し、2)のデフォーカス法では0-360°の範囲で決定することが可能である。これらより、1)よりも2)がより有用

だと結論した。そこで2)のデフォーカス法を適用し、回転分子モーターF₁-ATPaseの回転子に結合させた金ナノロッドの回転運動を3.3 μ秒の時間分解能でイメージングすることに成功した(図2)。さらに得られた画像を解析し、F₁-ATPaseの化学反応素過程の時定数やトルクを計測することに成功した。

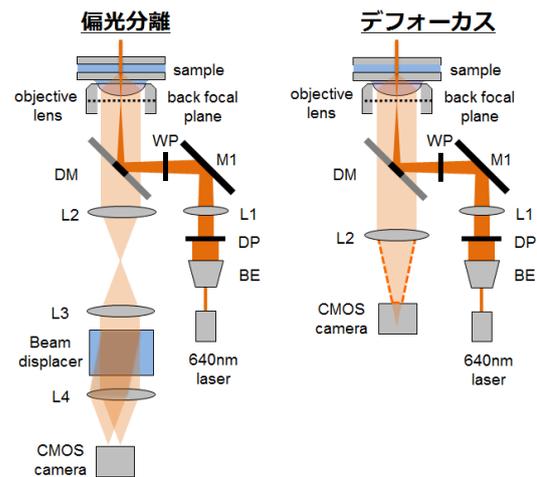


図1：光学系。(左)偏光分離。(右)デフォーカス。

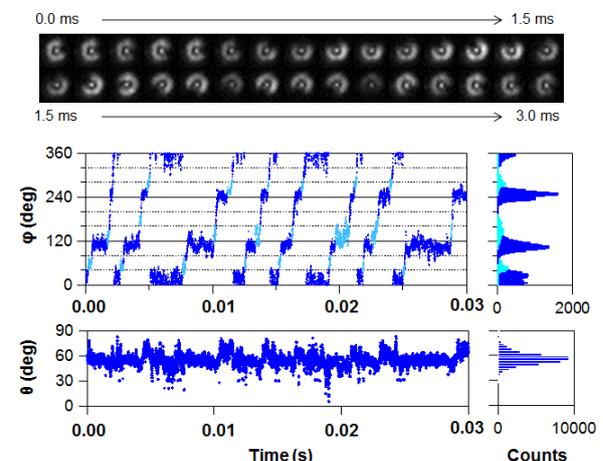


図2：デフォーカス法によるF₁モーターの高速1分子計測例。時間分解能3.3 μ秒。



業績紹介： 微小液滴内の急速灌流による液滴接触膜上での
イオンチャネル機能解析法を開発

“Contact Bubble Bilayers with Flush Drainage”

Masayuki Iwamoto, and Shigetoshi Oiki

Sci. Rep., **5**, 9110, (2015), DOI: [10.1038/srep09110](https://doi.org/10.1038/srep09110)

老木成稔

(福井大学医学部 分子生
理学・A03 公募研究代表者)



脂質平面膜 (PLB) 法では、膜脂質組成や溶液条件など、厳密にコントロールされた環境下で膜タンパク質、特にイオンチャネルの機能解析を行うことができる。一方、PLB法の脂質二重膜の面積・膜容量は大きいと、電気的ノイズの増大やチャンパー内溶液灌流効率の低さなどといった短所も存在する。

今回の研究では、脂質単分子膜に囲まれた微小な油中液滴同士の接触で形成する液滴接触膜 (CBB) をイオンチャネル機能解析の場として用いることで、上述の PLB 法の短所を克服した新しい人工膜実験法を開発した。

本法の特筆すべき点は、細く加工したガラスピペット先端に微小な油中液滴 (約 300 pL) を形成させる点である (図 1)。これにより、形成される CBB の面積は従来法の PLB と比較して 1/100 程度となり、電気生理測定時の特性を大きく向上させることができた。

形成された CBB にチャネルタンパク質を挿入するにはリポソームを用いた。チャネルタンパク質を再構成したリポソーム懸濁液をピペット内に含ませて液滴を形成させれば、チャネルが CBB に移行し、単一チャネル電流や巨視的電流を観測できた。またこの際、それぞれ異なる脂質組成のリポソームを含む油中液滴同士を接触させれば、非対称脂質二重膜を容易に形成させることができる。

パッチクランプ法では、アゴニストまたはブロッカー急速投与後の経時的チャネル電流変化の解析が一般的に行われている。これにはチャネル周囲の溶液を迅速に置換する必要があるが、PLB ではその面積の大

きさに起因する物理的安定性の低さから、溶液置換は膜が破れないよう静穏に行う必要がある。

CBB ではそのような制約はなく、液滴に直接インジェクションピペットを挿入して溶液を急速に置換しても膜は安定に保たれた。蛍光および電気生理学的測定から、CBB 近傍の溶液は 20 ms 以内に置換されることがわかり、CBB 法が急速投与実験にも応用可能であることが示された (図 2)。

以上から今回報告した CBB 法は、低ノイズ電流信号記録、非対称脂質二重膜作成、急速溶液置換が行えるなど、従来法よりも汎用性が高い人工膜実験法であると言える。

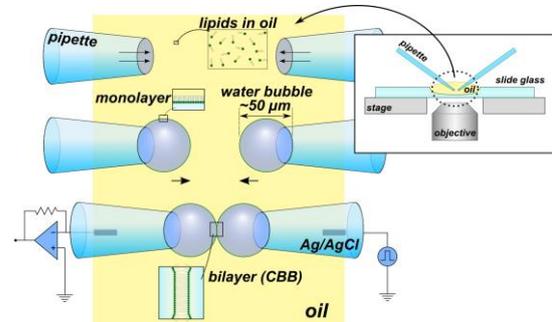


図 1: CBB 法の模式図。パッチクランプ実験の装置をそのまま流用できる。

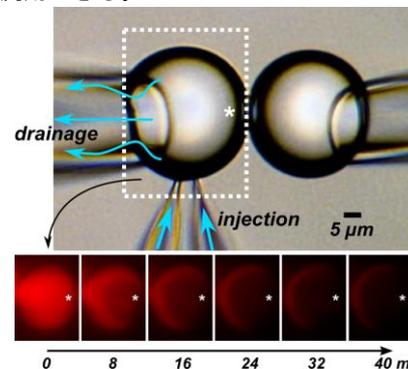


図 2: 急速灌流実験。液滴内の排液が保持ピペット内へ流れるように内圧を調節する。蛍光色素置換の時定数は 14.4 ± 0.4 ms であった。

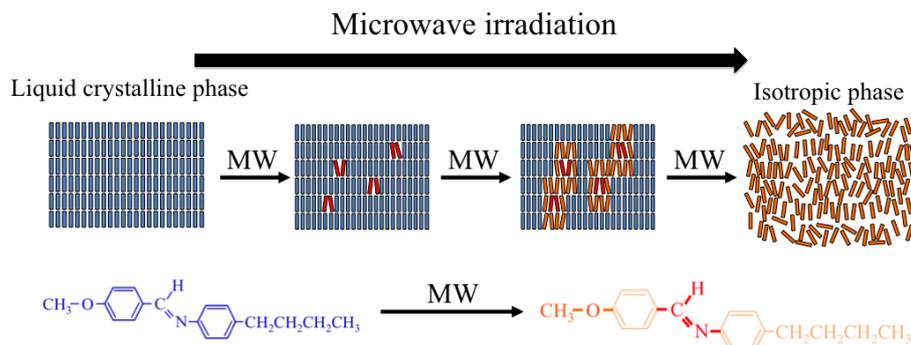


マイクロ波照射 NMR を用いた液晶のマイクロ波加熱現象の解明

The Microwave Heating Mechanism of N-(4-methoxybenzylidene)-4-butylaniline in Liquid Crystalline and Isotropic Phases as Determined Using in Situ Microwave Irradiation NMR Spectroscopy

Yugo Tasei, Fumikazu Tanigawa, Izuru Kawamura, Teruaki Fujito, Motoyasu Sato, and Akira Naito
Phys. Chem. Chem. Phys., **17**, 9082-9089, (2015), DOI: [10.1039/c5cp00476d](https://doi.org/10.1039/c5cp00476d)

マイクロ波加熱効果は有機化学反応や酵素反応の促進に広く用いられている。これらの効果はマイクロ波による溶媒の局所加熱効果によって生じていると考えられている。しかし、マイクロ波加熱が有機反応促進に働く分子論的な理解はまだ十分とはいえない。本研究では液晶物質の MBBA を用いて、液晶相および等方相におけるマイクロ波加熱現象を、マイクロ波照射 NMR 分光器を新たに開発して、 ^1H NMR スペクトルから解析する試みを行った。この結果、液晶相にマイクロ波を照射した場合、液晶相の温度が相転移点より低い温度において、液晶相内にホットスポットができて等方相が生じた。このホットスポットは、非平衡局所加熱状態になっていることを示している。次に、等方相の状態になってから、さらに高出力のマイクロ波を照射した結果、分子内の極性基が他の部位より 100 °C 以上高い温度になっている現象が観測された。ここで、分子温度は ^1H 核の化学シフト値の温度依存性から算出した。このように、マイクロ波加熱により、分子内で温度が異なるという新しい現象がこの実験で観測された。



(内藤 晶 横浜国立大学大学院工学研究院・A01 公募研究代表者)

新学術領域「動的秩序と機能」 今後の活動予定

1. 平成 27 年度全体班会議

日時：2015 年 8 月 4 日（火）～6 日（木）

会場：兵庫県立淡路夢舞台国際会議場 住所：兵庫県淡路市夢舞台 1 電話：0799-74-1020

<http://www.yumebutai.org>

宿泊：ウエスティンホテル淡路 <http://www.westin-awaji.com/>

2. 第 4 回国際シンポジウム

日時：2015 年 11 月 22 日（日）、23 日（祝）

場所：西新プラザ 住所：福岡市早良区西新 2-16-23 電話：092-831-8104

<http://www.kyushu-u.ac.jp/university/institution-use/nishijin/>



“Dynamical Ordering & Integrated Functions” Newsletter Vol. 20

April, 2015

女子中高生のためのサイエンスカフェ 物理や化学で紐解く生命科学の魅力 —女性研究者と考えよう—

茶谷絵理

(神戸大学大学院

理学研究科化学専攻

・A03 公募研究代表者)



2015年3月21日(祝)に、東京大学駒場キャンパスにて、女子中高生向けのサイエンスカフェを開催しました。現在の女子学生の大学進学率は男子学生にほぼ並び、女性の社会進出も随分進んだ印象があります。しかしながら理系への進学や研究職への就職については依然障壁が高いようで、日本は先進国のなかで女性研究者の割合がもっとも低いという集計結果があります。そこで、当新学術領域の立場から女子中高生の理系進路選択への支援として上記サイエンスカフェを企画し、自然科学カフェとの共催、日本糖質学会の協賛のかたちで開催するはこびとなりました。

新学術領域「動的秩序と機能」では、化学と物理学と生物学の研究者が分野横断的に一丸となって生命の不思議を解き明かすことを目指した魅力的な研究プロジェクトです。そこで、本サイエンスカフェでは少しでも多くの学生に生命科学の研究の面白さを知ってもらうために、班員である真行寺先生と筆者の2名が自己紹介を兼ねた講演を行うことから会がスタートしました。



真行寺先生による講演の様子。参加者の中高生が熱心に話を聞いている様子がわかります。

会場は、21 KOMCEE という学生の主体的な学習を目指した新しい教育棟です。採光性に富んだとても明るい教室で、主催者、参加者ともに終始リラックスした雰囲気で行いました。当日は、28名の中高生と9名の保護者の方のご参加がありました。当初、高校生の方が多いのだと思っていましたが、意外にも中学生が全体の4分の3以上を占めました。中学1年生も2名居り、非常に早い時期から将来のことを真面目に考える女子学生がたくさんいることに驚きました。筆者は、なぜ研究者の道に進んだのか?どのような研究をしているのか?中高生の頃はどんな学生だったのか?などについてかなり初歩向けの話をしました。衝撃的だったのは、この後の真行寺先生の研究の話のなかで、ウニ精子の鞭毛の動く動画データを見ながら説明を聞いている女子中高生の顔が真剣そのものだったことです。こんなに若い頃からサイエンスの楽しさというのは分かち合えるものなのだということを知り、驚きを覚えました。

また今回は、事前に参加者から質問を募り、集まった様々な質問に回答する時間も設けました。こちらの企画には、東京大学の現役の大学生・大学院生7名にも参加していただきました。研究職はどんな仕事か、研究職について良かったこと、大変だったこと、学生時代の部活動、中高生にしてあげばよかったと思うこと、「科学の力で不老不死は可能か」という難しい質問も……。さまざまな質問がありましたが、中高生を差し置いて筆者自身ももっとゆっくり聞きたいと思うほどさまざまな話や意見を聞くことができました。



参加者からの質問に回答する一場面。実にたくさんの質問が集まったので、これらをいくつかのカテゴリーに分類して回答しました。TAとして参加した大学生・大学院生も質問に答えられました。



“Dynamical Ordering & Integrated Functions” Newsletter Vol. 20

April, 2015

その後「お茶会」として交流スペースに場所を移し、数班に別れて懇談会を行いました。桜色の可愛いケーキとお茶を前に、どのテーブルも和気あいあいとした楽しい雰囲気でした。参加者からは「どうやら理科が得意になりますか?」や「出会いはありますか?」など、素朴な疑問もたくさん出たようです。特に、大学生・大学院生のTAの皆さんとの交流は、参加者の中高生にとっては年齢も近く、自分の将来像を重ねやすかったのではないかと思います。

会の終わりにとったアンケートでは概ね好評で、先生方のお話がとてもおもしろかった/実際の経験をもとにした話を聞くことができ良かった/知らなかったことを色々知れた/お茶会の時、聞きたい事をたくさん聞けた/具体的な研究者の様子などがわかった/研究を仕事にしている人の話を聞く機会があまりなかったのが参加してよかった/色々な考えを聞いてよかった/理系が苦手でも、研究者になることができるとわかった(理系教科が苦手だったが最終的に理系に進学したという大学生のTAさんの話を聞いての感想と思います)といった感想が挙がりました。

なかには、今まで文系を考えていたが、研究職も面白そうかなと思った、という声も聞くことができました。本会で生命科学研究に親しみを感じ、今後の進路を考えるうえでの参考になればと願っています。



お茶会の様子。保護者の方にも参加していただきました。TAさんや先生方を囲み、質問を交えて歓談する様子が見られました。

最後に、本会開催にあたりまして企画時からお力添えを賜りました平岡先生と加藤先生、また、事前の準備、当日の講演、司会、参加者からの質問への回答などお世話になりました真行寺先生、神谷先生、矢木先

生、山口先生、鈴木様、内藤様にこの場を借りて御礼を申し上げます。共催の自然科学カフェの後藤様、古屋様も会に参加してくださり終始温かくサポートしてくださりました。皆様方に心より感謝いたします。



会の終了後。右から神谷先生、矢木先生、真行寺先生、筆者。

女子中高生のためのサイエンスカフェ

物理や化学で紐解く 生命科学の魅力

～ 女性研究者と考えよう ～

複雑な生命もいろいろな分子からつくられています。これを解明するために、生命を組み立てている分子の役割を調べる必要がありますが、そのとき物理や化学も活躍します。このサイエンスカフェでは、最先端の研究で活躍している女性研究者が生命科学の研究の面白さを皆さんにわかりやすく紹介します。生命現象に興味のある方はもちろん、物理や化学が生命科学研究とどういう関係にあるのか気になる方もご参加下さい。

日時	プログラム
2015年3月21日(土) 13:30 から 16:00	13:30 から なぜ研究者になったの?いま何をしている? 真行寺 千佳子 (東京大学理学部 准教授) 茶谷 絵理 (神戸大学理学部 准教授)
会場 東京大学駒場キャンパス内 21 KOMCEE 303教室	15:00 頃 から 質問コーナー グループに分かれてお茶会
対象 女子中高生と 保護者の方(定員50名)	お申込み Webページ(http://seimei.lms.ac.jp)上の「イベント」欄のリンク「女子中高生のためのサイエンスカフェ」から申込み登録をください。先着順にて受付します。

主催: 日本学術振興会科学研究費補助金
新学術領域「動的秩序と機能」領域
共催: 自然科学カフェ

本カフェについてのお問い合わせはこちら
新学術領域「動的秩序と機能」領域 事務局
E-mail: seimei_jyoshaicafe@iriron.moleng.kyoto-u.ac.jp



アウトリーチ活動報告

山口拓実

(自然科学研究機構 分子科学研究所・A03 計画研究分担者)



愛知県立岡崎高等学校の理系2年生を対象としたアウトリーチ活動を行いました。同校は文科省/JSTのスーパーサイエンスハイスクール(SSH)に指定されており、今回、SSH活動の一環として開かれた進路オリエンテーションに参加し「第3の生命分子鎖：揺らめく糖鎖のかたちとはたらき」と題した講演を行いました。岡崎高校のキャンパスは私の所属する分子科学研究所のすぐ隣にあるため、同校の皆さんが高校生活に励む姿は日頃よく目にしているのですが、いざ240名を超える生徒さんを前に、果たして話に興味をもってもらえるだろうかと、若干の不安と期待を抱きながら壇上にあがりました。

会を準備してくださった先生からは、研究者としての生き方に触れることで進路選択の一助としたいという趣旨を説明されていたこともあり、講演では研究内容の紹介はほどほどに、私自身の高校時代の様子(数学と物理がとにかく嫌いだった)や、進学時の思い出などを含めて話をしました。もともと私は、大学院在学中は超分子化学を専攻しており、後に現在の分野(糖鎖の構造解析など)へ研究テーマを展開していますので、創る学問としての化学の面白さや、生体分子へ興味をもったいきさつなども紹介しました。こうしたエピソードの甲斐もあってか、「大人になっても勉強し直すことも大いにあり得るのだと知った」「これもやりたい、あれもやりたいと思うときがあったが、将来、広い分野を学んでいけることに安心した」という感想をもらいました。

また最後に、本新学術領域についても紹介しつつ、現代そしてこれからの自然科学には分野の垣根がどんどんなくなっているという話をしました。そうした潮流の中で抛り所となる、自分の得意なことを幹として育ててください、そうすれば葉や花はきっと増やしていきますよとメッセージを贈りました。事後アンケートの結果を教えていただいたところ、内容を難しいと感じながらも理解できたという生徒さんが多かったの

には安堵しました。そして、「今まで、生物、物理、化学の分野どうしのつながりについてよくわからなかったが、それぞれの分野をこえて研究を行っていくのが、これからの研究の流れであるとわかった」「これからの科学では、いろいろな分野をつなげる力が必要になるとわかった」といったコメントを多くもらうことができ、私も大変嬉しく思いました。懸命に耳を傾けてくださった多くの生徒さんの、いつか何かの一助になれば幸いです。



講演の様子。著者が学部時代にはじめて合成した分子についても紹介しました。



講演後には多くの質問をもらうことができました。「研究者の生活はどのようなのですか？」という質問への回答(毎日遅くまで研究に励んでいます!)に少し迷いましたが、アンケートには「企業に入ることを目標としてきたが、研究所で自分の研究に励むこともいいと思った」という声もありました。



“Dynamical Ordering & Integrated Functions” Newsletter Vol. 20

April, 2015

日本薬学会第 135 年会（神戸）シンポジウム
「タンパク質の会合・凝集：計測、メカニズム
から制御まで」（2015 年 3 月 26 日開催）報告

二木史朗（京都大学化学研究所・
A02 公募研究代表者）



タンパク質はその機能発現に会合体形成を必要とする場合が多い。一方、タンパク質が アミロイド形成など異常な凝集を引き起こした場合、神経変性疾患やアミロイドーシスなどの疾病につながる。本シンポジウムは、種々の受容体やアミロイド形成タンパク質の会合と凝集に焦点を当て、1)in-cell 蛍光分光法や一分子計測を用いた生細胞における膜タンパク質の会合・凝集の細胞膜上での計測、2)生物物理学的手法を駆使した会合・凝集のメカニズム解明、3)さらには疾病の治療を指向したケミカルバイオロジー的な会合・凝集制御方策の樹立を念頭に、京都大学薬学研究科松崎勝巳教授と私をオーガナイザーとして開催された。演者とタイトルは以下の通りであり、新学術領域研究「動的秩序と機能」の班員でもある佐甲靖志先生、茶谷絵理先生にもご講演をお願いした。

コイルドコイル標識法と in-cell 蛍光測定法による生細胞膜上での膜タンパク質の会合計測

（松崎勝巳・京大院薬）

細胞膜受容体の会合と機能の 1 分子イメージング

（佐甲靖志・理研）

ペプチド相互認識を用いた膜タンパク質の会合制御

（二木史朗・京大化研）

アミロイド線維形成における蛋白質初期集合メカニズムの解明

（茶谷絵理・神戸大院理）

脂質膜環境におけるアミロイド β タンパク質の構造変化と凝集

（池田恵介・富山大院薬）

触媒的酸素化反応によるアミロイド形成の制御

（谷口敦彦・東大院薬、JST-ERATO）

松崎先生の講演では、独自に開発したコイルドコイル蛍光標識による FRET 観察により、インフルエンザ M2 タンパク質は中性条件下ではこれまで言われてき

た 4 量体を形成するのではなく、2 量体でプロトンチャンネルを形成するという新知見が紹介された。佐甲先生からは、上皮細胞増殖因子受容体(EGFR)の一分子観察による解析により、受容体の会合状態や可動範囲がリガンド添加により変化し、情報伝達へと至る過程が紹介された。二木はペプチドリンカーを用いた EGFR 等の膜タンパク質の会合制御法に関して紹介を行った。茶谷先生からは、時分割小角 X 線散乱を用いたインスリンのアミロイド形成過程の解析により、まず低毒性の柱状中間体が形成され、seeding 能を有する高毒性の成熟体へと成長するという知見が紹介された。池田先生からは、アミロイド β タンパク質 ($A\beta$) の構造形成における糖脂質 GM1 ガングリオシドの重要性や膜曲率の影響、水中と膜存在下での β シート構造形成様式の違い等に関しての知見が紹介された。谷口先生からは、独自に開発したフラビン誘導体による $A\beta$ の酸素化（酸素原子を化学的に分子内に導入）による凝集性や細胞毒性の軽減の試みと共に、触媒分子の分子内回転が $A\beta$ 存在下で抑制されることを利用した、毒性型凝集体の選択的酸素化のアプローチに関して紹介があった。それぞれの演者の方のバックグラウンドを活かした斬新で非常に興味ある話題が続き、約 200 人の聴衆を交え、所定の 2 時間半が瞬く間に過ぎ去ったシンポジウムであった。



会場にて（左から、谷口、佐甲、松崎、二木、池田、茶谷）（敬称略）

謝辞：本シンポジウムは、新学術領域研究「動的秩序と機能」協賛の形で開催させて頂きました。厚く御礼申し上げます。



“Dynamical Ordering & Integrated Functions” Newsletter Vol. 20

April, 2014

The 5th Yonsei-IMS Joint Workshop: “Multilateral approaches for investigating biomolecular structures and functions” 報告

矢木真穂

(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 計画研究分担者)



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)



1月30日から2月1日にかけて、韓国 Yonsei 大学の Weontae Lee 教授のグループとの合同セミナーを行いました。合同セミナーの開催は5回目になりますが、今回は、韓国・日本の両国から、学部生と大学院生あわせて8名を含む若手メンバーが箱根に集まり、“Multilateral approaches for investigating biomolecular structure and functions”をテーマとして研究ディスカッションを行いました。

Lee 教授はタンパク質複合体の構造解析や、ユビキチン化やグリコシル化などの翻訳後修飾系に関する研究、分子レベルの構造情報に基づいた創薬研究などを精力的に行っています。特に核磁気共鳴 (NMR) 法を基軸にした構造生物学研究に造詣が深く、ご自身は韓国の磁気共鳴学会の会長も務めています。

私たちは、Lee 教授の研究グループとともに、高磁場 NMR 法や X 線結晶構造解析法をはじめとする生物物理的手法を基盤に、生命システムの秩序形成に関わるタンパク質の動的分子認識メカニズムの詳細を解明しようと共同研究を展開しています。本セミナーは、共同研究の進捗や今後の方針についての定例的な意見交換を行うこともさることながら、若手研究者同士の国際的な相互交流を促すことを主な目的として、日本と韓国で毎年交互に開催しています。これまでに参加した日韓両国の学生は、外国人研究者の前で発表を行ったり質問をする経験が初めてである場合も多く、

今回も始めは緊張した面持ちだったものの、泊まりがけで話し合いを続けることで、お互いにすっかり打ち解けることができ、ディスカッションも弾んだようでした。また、セミナーの後は温泉と箱根観光を通じて、さらに交流を深めました。本セミナーを通じた意見交換、および今後の共同研究の広がりによって、次世代を担う若手研究者がますます活発に相互交流し、大いに活躍してくれることを期待しています。



第5回 Yonsei-IMS 合同セミナーの参加者。



セミナーの冒頭で挨拶をする Weontae Lee 教授。



大湧谷より富士山を眺める。



“Dynamical Ordering & Integrated Functions” Newsletter Vol. 20

April, 2015

活動報告

立川仁典

(横浜市立大学 大学院生命
ナノシステム科学研究科
・ A01 公募研究代表者)



神谷由紀子

(名古屋大学
エコトピア科学研究所
・ A02 公募研究代表者)



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)



2月24日、A01班の立川班員のグループ、A02班の神谷班員、およびA03班の山口班員、加藤班員が分子科学研究所にて会合し、A01～A03三班連携による共同研究に関するディスカッションを行いました。

本研究は水溶液中の methyl- α -D-glucopyranoside (図1) の円偏光二色性 (CD) スペクトルに現れる H/D 同位体シフトについて実験・理論の両面から解析を行い、その発現機構の解明を目指すものです。

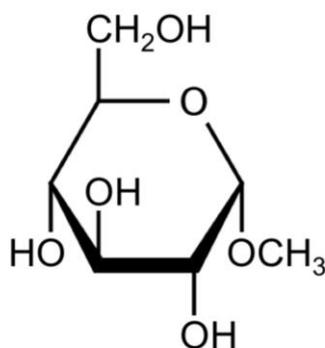


図1. Methyl- α -D-glucopyranoside

当該分子は市販の CD 装置では測定することが不可能な高エネルギー帯で固有の CD 活性を示します。加藤・神谷両班員らは広島大学放射光科学研究センターにある真空紫外円二色性 (vacuum ultraviolet circular dichroism; VUVC) 分散計[1]を用いて、CD

スペクトルを軽水中と重水中でそれぞれ測定し、同位体置換によるスペクトルの変化、すなわち H/D 同位体シフトが生じることを発見しました。これは糖の CD スペクトルの同位体効果を観測した初の事例であり、糖の微視的挙動を理解する上で有用な情報を含んでいることが期待されます。

測定結果の解釈を深めるには計算機を用いた理論解析が有効ですが、従来汎用されてきた計算手法である、通常の分子動力学法と密度汎関数法だけでは、今回対象としている分光物性に現れる同位体効果の解析を行うことは不可能です。そこで、同位体効果を直接考慮できる新規手法として、立川班員らが独自に開発した多成分系密度汎関数法 (multicomponent density functional theory; MC_DFT) を用いた量子化学計算 [2]によって、立川グループの兼松佑典博士がこの同位体シフトに関して精緻な理論解析を行いました。

当日は兼松氏が理論解析結果について報告し、報告内容を下地にして水溶液中の CD スペクトルの同位体シフト発現に影響する諸要因の検討を行いました。その後、今後の展望や論文執筆の際のシナリオ構成について協議し、大まかな方針を決定しました。半日程度の短い会合でしたが、A01～A03 三班間の活発な意見交換を通して実りの多い交流を持つことができました。

研究成果の詳細については、あらためて紹介したいと思いますので、ご期待の程を。



研究打ち合わせ風景 右から2人目が兼松佑典博士

[1] N. Ojima, K. Sakai, T. Fukazawa, K. Gekko, Chem. Lett. **29**, 832 (2000)

[2] T. Udagawa and M. Tachikawa, J. Chem. Phys. **125**, 244105 (2006).



内山グループの石井健太郎さんが平成 26 年度生物物理学会中部支部講演会にて
優秀発表賞を受賞

内山進

(大阪大学 大学院工学研究科、
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)

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)



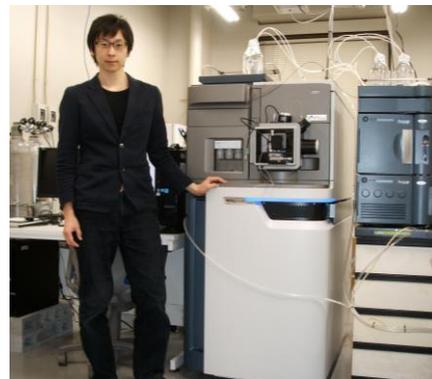
2015 年 3 月 10 日、岡崎コンファレンスセンターに
て開催された平成 26 年度生物物理学会中部支部講演
会において、私たちの研究グループの石井健太郎さん
(岡崎統合バイオサイエンスセンター研究員) が「プ
ロテアソーム $\alpha 7$ サブユニットの多量体ダイナミクス
の超分子質量解析」の研究発表によって、優秀発表賞
を受賞いたしました。

私たちは複雑なタンパク質複合体の組み立てのルー
ルを知るためにタンパク質分解装置プロテアソームの
形成過程を研究しています。プロテアソームは 35 種類、
67 個のサブユニットからなる巨大で複雑な超分子複
合体です。興味深いのは、相同性の高いサブユニット
をいくつも持ち合わせているにも関わらず、決まった
個数と配置でその構造が組み立てられていることです。
タンパク質分解活性を持つ部分は α リングと β リング
が $\alpha \beta \beta \alpha$ に積み重なった円筒状構造をしています。
 β リングは α リング上にサブユニットが組み付けられ
ていくことにより形成されるので、 β サブユニットの
配置は α リングが決めていると考えられます。 α リン
グは 7 種類のサブユニットからなるヘテロ 7 量体です。
それぞれのサブユニットの一次構造の相同性は約 40%
と高く、 α リング中での立体構造にはほとんど違いが
見られません。それぞれのサブユニットがどのように
して互いを見分け、ひとつずつリングに組み込まれる
のか、また並び方の順序はどうやって決まっているの
かは分かっていません。

石井さんは超分子質量分析を用いて α リングの複合
体形成の解析に取り組みました。超分子質量分析では

非共有結合性の相互作用で結合した複合体の質量を精
度良く測定可能であり、従って、測定質量から組み込
まれたサブユニットの数と種類を決定できます。本研
究において、別のサブユニットが $\alpha 7$ リングに組み込
まれるときに $\alpha 7$ リングの解離が起きることが明らか
になりました。

複雑なタンパク質複合体の形成では、新たに形成し
た相互作用とは別に、他の部位が構造変化する過程が
重要であると考えられます。超分子質量分析はこのよ
うな会合と解離を伴いながら複合体を形成する系の解
析に力を発揮します。今後は 7 種類全てのサブユニッ
トの単独での会合状態を明らかにするとともに、アッ
センブリーシャペロンなども加えて α リングの複合体
形成過程を解明することが期待されます。



内山グループ研究員の石井博士と超分子質量分析装置



中部支部会での授賞式の様子