



業績紹介：シアノバクテリア時計タンパク質 KaiC 六量体の
ATP 加水分解による構造変化

" Conversion between Two Conformational States of KaiC is Induced by ATP Hydrolysis as a
Trigger for Cyanobacterial Circadian Oscillation "

Katsuaki Oyama, Chihiro Azai, Kaori Nakamura, Syun Tanaka, and Kazuki Terauchi

Scientific Reports, 6, 32443, (2016), DOI: [10.1038/srep32443](https://doi.org/10.1038/srep32443)

寺内一姫

(立命館大学生命科学部・
A03 公募研究代表者)



生物は、生物時計（概日時計、体内時計）とよばれる時計機能を備え、地球の自転による昼夜の環境変化に適応している。シアノバクテリアでは3つの時計タンパク質 KaiA、KaiB、KaiC が、生物時計の中心的な役割を担っている。2005年に3つの Kai タンパク質と ATP を混合することで、KaiC のリン酸化型と非リン酸化型が 24 時間周期で往来するという生物時計再構成系が構築され、時間を計測するという複雑なメカニズムがタンパク質に組み込まれていることが示された（図 1）。この試験管内の分子時計は言うまでもなく世界初の発見であり、現在でもこのようなタンパク質の例の報告はない。我々は、この実験系を用いて、分子レベルで 24 時間を計測するタンパク質の仕組みを明らかにしようとしている。

本論文では、KaiC の生化学解析により、24 時間のある特定の位相において生じた構造の変化が、概日振動の鍵になることを見出した。KaiC は構造のよく似た 2つの ATPase モチーフをもつドメインがタンデムに繰り返す（N 末端側から CI、CII ドメインと称する）という構造的特徴をもち、六量体を形成する（図 2）。周期的にリン酸化修飾を受ける部位は CII に含まれる。本研究では、KaiC 六量体が CI の ATP 加水分解によって gs-KaiC から cs-KaiC という構造に変化することを見出した。両構造の差異はごくわずかで、ゲル濾過や通常の電気泳動では分離できない。我々は、タンパク質の染色に広く使われる CBB の結合によって cs-KaiC のみ単量体に分離され、BN-PAGE で gs-KaiC と分離で

きることを見出した。本研究成果により、KaiC と KaiB の結合メカニズムの一端が明らかとなった。

本論文にまとめた内容は、筆頭著者である大学院生の大山克明君が「シアノバクテリア時計タンパク質 KaiC 六量体の状態変化とその役割」という研究題目で、2015 年度の第 15 回日本蛋白質科学会年会で発表し、ポスター賞を受賞したことも併せて報告する。

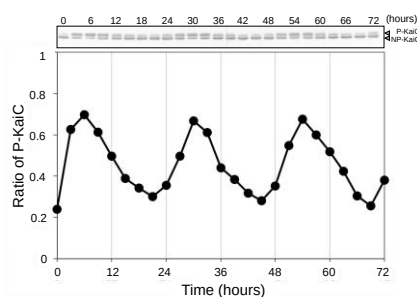


図 1：シアノバクテリア *Synechococcus elongates* PCC 7942 由来の 3 つの Kai タンパク質を *in vitro* で ATP と混合し、30℃でインキュベーションする。3 時間毎にサンプルを取り、SDS-PAGE で分離すると、リン酸化型 KaiC の比率が 24 時間周期で変動していることがわかる。

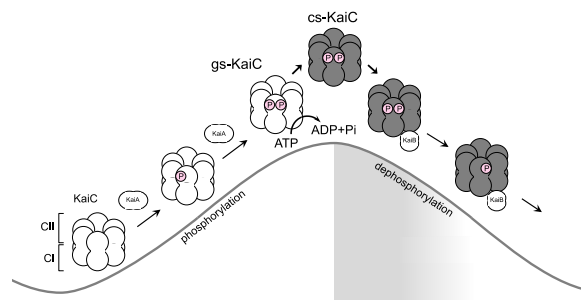


図 2：3 つの Kai タンパク質の結合解離と KaiC の構造変化による動的秩序形成モデル。KaiC は CI の ATP 加水分解により、gs-KaiC (白) から cs-KaiC (灰色) へと構造が変わる。KaiB は cs-KaiC にのみ結合する。



業績紹介：「積み荷」の化学反応によって引き起こされる
カプセルーボウル変換

"Capsule-bowl Conversion Triggered by a Guest Reaction"

Shitao Wang, Tomohisa Sawada, and Makoto Fujita

Chem. Commun., 52, 11653-11656, (2016), DOI: 10.1039/C6CC06551A

澤田知久

(東京大学 工学系研究科
・ 班友)



本論文では、ゲスト分子（“積み荷”）の化学反応を利用して、カプセル分子が構造変換する（珍しい）系を報告している。八面体カプセル分子に対して、ある特定のゲスト分子を包接させたのち、加熱によってゲスト分子間の縮合反応を起こすと、巨大化したゲスト分子によってカプセル分子が真っ二つに分解し、結果として巨大ゲスト分子を内包するボウル（お椀状）分子へと至る動的な系を、創出することができた。

“留め金”となるパラジウムイオン（M）と、5カ所で配位結合できる“三角形パネル”配位子（L）を、20 : 8 の比で水中にて混合すると、 $M_{20}L_8$ 組成の八面体カプセルが定量的に組み上がった。今回の設計のポイントは、三角形パネルの各辺を2カ所ずつ計6カ所配位させた以前の配位子から、1カ所の配位サイトを欠損させた計5カ所の配位子へ変更したことである（図 1b）。これにより、パラジウムイオン（M）との自己集合の後に得られる八面体カプセル分子に、ちょっとした脆弱性が生まれ、条件によっては真っ二つに分解する動的な挙動につながった。

$M_{20}L_8$ 組成の八面体カプセル分子の示す、ゲスト分子の包接挙動は以下のとおりであった。まず、ナフタレントリメトキシシラン（**1**）を、カプセル分子の水溶液へ加え、100℃で15分間、さらに80℃で2時間加熱攪拌した。この条件では、**1**の加水分解されたシラントリオール**1'**が次々と縮合してオリゴマー化すると予想されたものの、結果としては、加水分解のみで停止した**1'**がカプセル分子内に2分子トラップされた状態であった（図 1d、結晶構造）。一方、フェニルトリメトキシシラン（**2**）を用いて同様の実験を行った場合は、**2'**の特異的な4量体化反応と、 $M_{20}L_8$ カプセル分子から

の M_8L_4 ボウル分子への構造変換が同時進行し、結果として環状テトラシロキサン **3** (all-cis 体の単一の異性体) を内包する M_8L_4 ボウル分子となった（図 1e、結晶構造）。このように類似の基質にも関わらず、反応中間体がカプセル内に安定化される場合と、反応に伴って構造変換が起きる場合という顕著な違いが見られた。

以上、本論文では、内包した特定のゲスト分子の化学反応を駆動力としてカプセルーボウル変換を起こすことに成功した。基質の化学反応を駆動力としてタンパク質の大きな構造変換がいとたやすく行われている生体系に、人工系の分子システムも一歩近づけたのではないかと考えている。

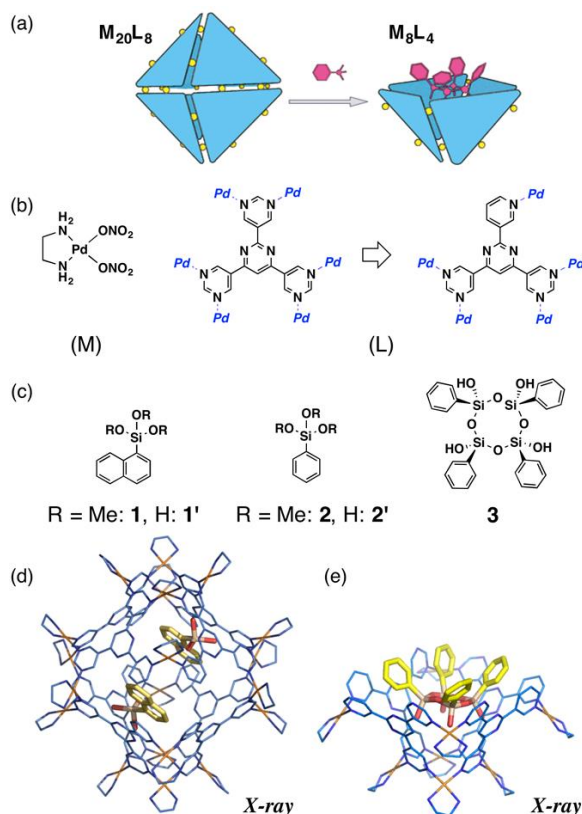


図 1：スキーム(a)と構造式(b,c)、結晶構造(d,e)



“Dynamical Ordering & Integrated Functions” Newsletter Vol.38

October, 2016

活動報告 「バイオ AFM 夏の学校 2016」 の開催

内橋貴之

(金沢大学自理工研究域・
A01 公募研究代表者)



平成 28 年 8 月 1 日から 6 日まで金沢大学理工研究域バイオ AFM 先端研究センターで「バイオ AFM 夏の学校 2016」を開催しました。この夏の学校は、金沢大学で開発された高速 AFM と超解像液中 AFM の普及活動の一環として、2012 年度から毎年 8 月に開催し、国内外の大学院学生や若手研究者を対象に hands-on 形式の 1 週間に亘る実習を行っています。単に講義や標準試料の観察で AFM の操作を学ぶだけでなく、受講者自身の研究試料を持ち込み観察することで、試料に応じた観察条件や解析方法の検討も含めた実践的な講習会になるようにしています。実際、夏の学校で出た成果を発展させ、論文として発表した例もあります。応募者数は毎年高速 AFM には 20-30 名、超解像 AFM には数名-10 名ありますが、装置の台数と講師の数に限界があるため、研究テーマによって 1 週間で AFM 観察が可能かどうかをある程度考慮して、高速 AFM では 10-20 名に、超解像 AFM では 3-4 名に受講生を絞っています。

今回は、高速 AFM に 21 名（国内 16、国外 5）、超解像 AFM に 5 名（国内 4、国外 1）、また、今年から加わった走査型イオンコンダクタンス顕微鏡(SICM)に 3 名の合計 29 名の受講者がありました（写真 1）。本領域を含むセンター教員が関係する新学術領域に宣伝を協力頂いた結果、過去最多の受講者数となりました。本領域からは、松村先生(A01)の研究室から 3 名の学生さん、二木先生(A02)の研究室の河野先生、田中先生(A03)の研究室から 1 名の学生さんに参加いただきました。



写真 1. 集合写真

初日の午後に AFM に関する一般的な話と、高速 AFM 及び超解像 AFM の装置の詳細、取り扱いにおける注意事項等に関する講義を行い、二日目には標準的な試料を用いて装置の操作を訓練しました。三日目から六日目まで自ら装置を操作して、各自が持参した試

料の観察を行い（写真 2）、最終日には受講生全員が研究背景や観察結果を発表しました。装置の都合上、実習は分かれて行うため受講生同士が会う機会が少ないので、中日の夕方からビアガーデンなどを企画して親睦をはかりました。また、最終日の夜は打ち上げの食事会で大変盛り上がりしました。

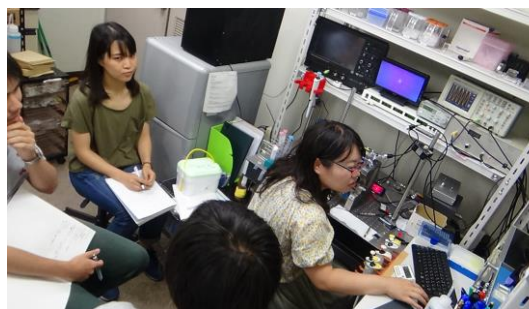


写真 2. 実習の様子



写真 3. 発表会の様子

受講者が普段研究している試料を観察するということもあり、皆さん非常に熱心に実験に取り組み、中には深夜まで実験しているグループもありました。最終日には受講生全員による成果発表を行いました（写真 3）が、意外と言ってはなんですが、1 週間という短い期間にもかかわらず皆さんの発表データのクオリティは高く、面白い結果が出ているグループもありました。夏の学校終了後も共同研究として再訪問し、AFM 実験を継続していくことが決まった参加者もいます。AFM はもちろん一分子観察技術に触れたことがない参加者も多く、また、若手研究者が普段使っていない装置を自ら操作して集中的に実験に取り組む機会はありませんことから、新鮮な経験だったとの意見を多く聞きました。また、講師役のポスドクや学生にとっても、受講者と一丸となって新規な試料を短期間で観察するという経験は、自らの研究を進める上でも貴重な経験であったと思います。私自身は、今回で 5 回目の夏の学校になりますが、毎回若い参加者との交流や新しい試料・知識と出会えることから、とても楽しんでいます。来年以降の開催は未定ですが、開催の場合は本領域関係者からの多数の参加を期待しています。

最後になりますが、素晴らしい夏の学校にしていた講師・参加者の皆様、運営スタッフに感謝いたします。また、夏の学校開催にあたり、開催宣伝に快く協力いただきました加藤先生ならびに計画班の先生方に深く感謝いたします。



“Dynamical Ordering & Integrated Functions” Newsletter Vol. 38

October, 2016

活動報告 「第 25 回日本バイオイメーシング 学会学術集会」の開催

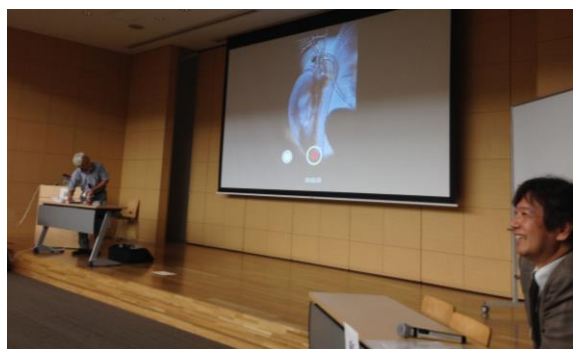
加藤晃一
(自然科学研究機構 岡崎統
合バイオサイエンスセン
ター・A03 計画研究代表者)



平成 28 年 9 月 4 日から 3 日間、名古屋市立大学薬学部キャンパスに於いて本新学術領域の協賛のもと、日本バイオイメーシング学会学術集会が行われました。当学会は、1991 年に設立され、新しいイメージング法の開発ならびにイメージング法の生物学への応用に関する理論およびバイオイメーシング法を用いた研究などを対象とした、国内外で唯一のバイオイメーシング分野の学術団体です。学術集会は毎年 1 回され、今回で第 25 回を迎えます。

本会には、多くの方々に足を運んでいただき、参加者は 177 名にも及びました。筆者は、飯野亮太副大会長ならびに、稲垣直之班員を初めとした 8 名の運営委員の協力のもと、大会長として学会運営に携わりましたが、学会会場は常に活発な議論がなされ、多くの参加者から好評を頂くことができました。

本会では、例年公開市民講座を行っておりますが、今回は「分子から心まで観るバイオイメーシング」と表して、浦野泰照先生、永山國昭先生、川上勝先生、瀬尾拓史先生、定藤規弘先生のお話を頂きました。高校生から年配の方まで幅広い年代の方々にご参加頂き、実演あり実習ありで、大好評でした。



永山國昭先生のスマホ顕微鏡の実演の様子

学術講演会では、当領域からは、計 6 名の班員の先生方がご講演されました。まず、「細胞レベルの分子ダイナミクス」のセッションでは、佐甲靖志班員は“細胞膜受容体の 1 分子可視化”、菊池和也班員は“GLUT4 の糖鎖機能を追う蛋白質履歴追跡プローブ”のタイトルでご講演されました。次に、「イメージング技術が明らかにする分子・細胞・組織の新たな動態」のセッションでは、稲垣直之班員は“蛍光ライブイメージングと牽引力顕微鏡による神経軸索ガイダンス機構の解析”のタイトルで講演されました。



佐甲班員、菊池班員、稲垣班員のご講演の様子

最後に、「ナノバイオイメーシング：1 分子から細胞までの先端手法」セッションでは、飯野亮太班員、村田和義班員、内橋貴之班員は、それぞれ、“金ナノプローブで生体分子の速いダイナミクスを観る”、“クライオ電子顕微鏡によるタンパク質の単粒子構造解析”、“高速 AFM による生体試料の動態イメージング”のタイトルで講演されました。非常に多彩な顔ぶれで、参加者から「新鮮な話ばかりで非常に刺激的だった」などの声が届け、様々な視点からの質問・コメントが活発に飛び交いました。



飯野班員、内橋班員、村田班員のご講演の様子

こうして成功裡に終わることができた学術集会でしたが、当領域も重要な貢献をするとともに、新しい異分野交流を行うことができました。皆様のご支援に感謝いたします。



“Dynamical Ordering & Integrated Functions” Newsletter Vol.38

October, 2016

活動報告

第4回バイオ関連 化学シンポジウム若手フォーラム

山口拓実

(北陸先端科学技術大学院
大学・A03 計画研究分担者)

渡邊貴嘉

(北陸先端科学技術大学院大学・助教
(A02 芳坂グループ))



9月6日、バイオ関連化学シンポジウム若手フォーラムを金沢にて開催しました。ここ北陸地方は、かねてより大阪・京都からは特急サンダーバード、名古屋からは特急しらさぎを利用したアクセス容易な立地に加え、北陸新幹線開業によって東京や東北方面との距離も格段に近くなりました。そのため、観光ブームのみならず、多くの学術集会が盛んに開催されるようになっていきます。本フォーラムの母体であるバイオ関連化学シンポジウムは、生物やバイオテクノロジーに関わる様々な化学分野の研究成果発表・討論の場として国内最大規模のものであり、前身の生体機能関連化学シンポジウムを含め30年以上の歴史があります。近年では分野融合の進展に伴い、日本化学会-生体機能関連化学部会、-バイオテクノロジー部会、フロンティア生命化学研究会、ホスト-ゲスト・超分子化学研究会の共催のもと、学問領域の枠を超え基礎から応用に渡る幅広い分野の研究者が一同に会する場となっています。

一方、例年、シンポジウムの前日に開かれる若手フォーラムは、各部会の若手が中心となり、学生を含めた若手研究者同士の交流を目的として企画されてきました。そのため、シンポジウム本会が纏まった研究成果の発表を主体とするのに対し、若手フォーラムはポスターセッションと講師陣による招待講演を中心に構成されます。今回、新学術領域研究「動的秩序と機能」からご支援をいただき、各分野で活躍されている若手講師を招き、バラエティに富んだ下記5件の講演を実施することができました。

「生体分子の分光スペクトルに現れるH/D同位体効果の理論解析」 兼松佑典 博士(広島市大)

「機能性人工タンパク質の創製と疾患治療への応用の

試み」 角田慎一 博士(神戸学院大)

「ラマン顕微鏡：分光分析とイメージングとの融合」

藤田克昌 博士(阪大)

「植物に学ぶ触媒デザイン：水から酸素をつくる鉄5核錯体」 正岡重行 博士(分子研)

「凍結濃縮を利用した両性電解質高分子ナノキャリア/タンパク質複合体の細胞内デリバリー」 松村和明 博士(北陸先端大)

さらに、フォーラム参加者は有機・無機化学、タンパク質科学、分子認識・超分子化学、生物物理学など多様な研究背景をもった研究室から100名を超え(うち学生が64名)、またポスター発表の総数は60件に及びました。このように本フォーラムは、普段の研究分野とは異なるサイエンスを学ぶとともに、同世代の研究者の高いアクティビティに直に触れて交流を深める、またとない機会となりました。

ところで、本フォーラムの会場は、金沢の新しいシンボルの一つであるJR金沢駅「鼓門」の下に広がる、もてなしドームのイベント広場を活用した特設ステージでした。ドームの由来は「雨や雪の多い金沢で、訪れた人に傘を差し出すもてなしの心を表現する」とされていますが、実は金沢の夏は暑く、当日も秋の足音は遙か遠く、厳しい残暑となりました。そのため、活気ある議論も相まって特設会場の温度はヒートアップするばかり。しかし、“おもてなしに”と配布した特製団扇で涼を得ながら、招待講演、ポスター発表においても質疑は途切れることなく続き、大変な盛会となりました。本フォーラムを通して培われた研究や人のネットワークは、他の学会にはない学際的な内容と、忘れがたい会場によって、参加者の間に強く共有されたものと思います。



会場およびポスターセッションの様子。



“Dynamical Ordering & Integrated Functions” Newsletter Vol. 38

October, 2016

アウトリーチ活動報告 虹のキャラヴァンサライ・ あいちトリエンナーレ2016

栗原顕輔

(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)



平成 28 年 8 月 11 日から 10 月 23 日にかけて、岡崎で開催中の「虹のキャラヴァンサライ・あいちトリエンナーレ 2016」への参加報告です。あいちトリエンナーレとは、愛知県の名古屋・豊橋・岡崎の 3 地区で同時に展開されている国際芸術祭のことで、愛知の各地域でアートプロジェクトを展開することで県内のアートコミュニティを形成することを目的としています。2010 年から 3 年ごとに開催されており、今年で 3 回目を迎えます。あいちトリエンナーレ 2016 の詳細につきましては、公式ホームページ(<http://aichitriennale.jp/index.html>)を、岡崎地区での美術展の様子は、オカザえもん(注1)さんによる紹介記事(<https://en.blendboard.jp/okazaki/feed/86454/7386253/14322694>)をご覧ください。

今回のトリエンナーレでは「ART & SCIENCE」のコンセプトのもと、科学と現代アートのコラボ企画が展開されています。筆者の所属する岡崎 3 機関(分子科学研究所、基礎生物学研究所、生理学研究所)でも「サイエンス・ミュージアム in CIBICO(注2)」と題して、研究者とアーティストによる対談や、錯視に関するパネル展示、共焦点顕微鏡など一般の方があまり目にしない実験器具などの展示を 8 月 6 日から 8 月 29 日の期間限定で行いました。

(注 1) 愛知県岡崎市の非公式キャラクター

(注 2) CIBICO(シビコ)は岡崎市にあるショッピングセンター

さて、あいちトリエンナーレ 2016 と新学術との関わりですが、飯野亮太先生(A02 班)と筆者が「科学のデザインアート」の κατηγοリーで、論文雑誌の表紙、裏表紙を飾った研究について、その表紙を出展しました(写真 1, 写真 2)。



写真 1. 飯野グループの展示作品

元になった論文は、*J. Biol. Chem.* **288**, 32700–32707 (2013) です。



写真 2. 展示全体の様子 (矢印が筆者の作品)

元になった論文は、*Chem. Commun.* **52**, 7786–7789 (2016) です。

この日は休日ということもあり、買い物客も大勢いで盛況でした。来場者からも「興味深い」「おもしろい」などの声がありました。筆者自身も普段は意識しない科学と芸術の融合が、とても刺激的でした。

【写真提供】鈴木達哉研究員 (A03 班・加藤グループ)