

業績紹介：タンパク質からのイオン放出過程の直接観測：ハロロドプシン

寺嶋正秀

(京都大院理・A01 計画研究代表者)

論文題目：" Reaction dynamics of halorhodopsin studied by time-resolved diffusion "

著者：K.Inoue, M.Kubo, M.Demura, N. Kamo, M. Terazima

雑誌巻号：Biophys.J., 96, 3724-3734(2009).

酵素に限らず、タンパク質の機能発現においては、タンパク質間相互作用やタンパク質 - 小分子間相互作用を変えることが、本質的な役割を果たしていることが多い。よって、こうした分子間相互作用を時間分解で捕えることは、その機能の反応機構を明らかにする上で、重要なステップとなる。しかし、従来の時間分解分光法では、そうした分子間相互作用を時間分解で検出することは困難が多く、研究のための手法がなかった。我々は、新しい手法として、レーザー誘起の過渡回折格子(TG)法を用いた時間分解拡散係数法を提案し、これが多くの系で適用できることを示してきた。ここでは、タンパク質 - イオン相互作用を変えて機能を発揮する、ハロロドプシン(hR)のイオン放出過程を直接時間分解で検出することに成功したので紹介する。

hR は、光励起によって、イオン、特に Cl⁻の親和性を変えることで、濃度勾配に逆らって Cl⁻を一方方向に移送する分子ポンプの役目をしている。この反応については、hR が光センサーのロドプシンと構造が似ていること、光で反応のトリガーをかけられるために時間分解計測が比較的容易であることなどから、数多くの研究がなされており、紫外可視吸収スペクトルの異なる中間体が存在することが示されている。これらによると、K → L1 → L2 → (L2 (or N) ⇌ O) → NpHR' → NpHR'' → NpHR という中間体を経て反応が進行する。しかし、イオンの吸収観測は困難であるし、また、空間的移動を時間分解で観測する手法がなく、どの過程でイオン輸送のキーとなる Cl⁻の放出と取り込みが起るのかは明確ではなかった。

この過程を直接観測するために、TG 法によって hR の反応過程を観測した(図 1 上)。信号は、早い時間で立ち上がったのちにマイクロ秒スケールでさらに立ち上がり、続いて幾つかの指数関数で表わされる減衰を示した。この立ち上がりは、中間体の形成を示し、マイクロ秒から数 100 マイクロ秒にかけての減衰は、放出した熱の拡散過程を示す。こうした成分から多くの情報が得られるが、ここでは最後の 100 マイクロ秒からミリ秒にかけての減衰成分に注目する。この過程は、

中間体の反応と分子拡散が重なったものであることを示した。詳細は省略するが、分子拡散信号の減衰速度は、グレーティングの波数 q に依存し、原理的に q が大きくなるほど早い減衰を示すことが示される。ところが、この hR の場合には、q が大きくなるほど遅く減衰するように観測された(図 1 下)。これは、拡散成分を表す TG 信号の原理と矛盾する。我々は、この原理的な矛盾を、Cl⁻の拡散と反応の信号が重なっていると説明できることを見出し、信号をフィットすることで、L2 → (L2 (or N) ⇌ O)の過程において Cl⁻が hR から放出されて溶液内を自由拡散すること、次いで(L2 (or N) ⇌ O) → NpHR'の過程において取り込まれていることを示すことに成功した。この成果は、本手法による分子間相互作用の時間分解計測手法が、生体分子機能発現の分子論的機構を明らかにする研究のために広範に用いることができることを示している。

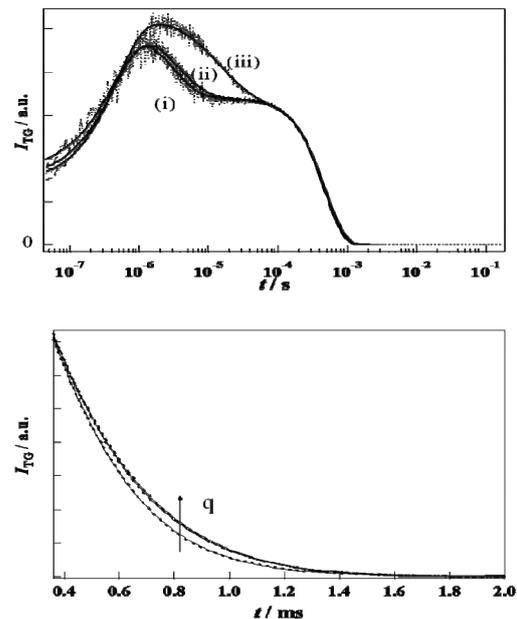


図 1 (上)hR 励起後の TG 信号(破線:観測信号、実線: hR からのイオン放出を考慮してフィットした理論曲線)。(i),(ii),(iii)の順に波数 q が小さくなる。熱拡散を示すマイクロ秒から数 100 マイクロ秒の成分は q が大きくなるほど早く減衰していることが分かる。ところが、ミリ秒領域の分子拡散を示す信号(下:拡散成分部分の拡大図)は、q が大きくなるほど遅く減衰しているように見える。

業績紹介：超音波処理による微細で均質なアミロイド粒子の作製

後藤祐児

(大阪大学蛋白研・A01 公募研究代表者)

論文題目："Ultrasonication establishes the equilibrium between production and breakdown leading to the minimum-sized amyloid fibrils"

著者：Eri Chatani, Young-Ho Lee, Hisashi Yagi, Yuichi Yoshimura, Hironobu Naiki and Yuji Goto

雑誌巻号：Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **106** (27), 11119-11124 (2009)

蛋白質の超分子重合体であるアミロイド線維は、非常に巨大でしかも不均一なサイズ分布をもつ。そのため、従来の蛋白質研究に使われている多くの解析手法の使用が困難であり、アミロイド線維の研究の大きな障害となっている。ここで、サイズが揃った微細なアミロイド粒子を作製できれば、アミロイド線維の定量解析が飛躍的に進み大きなブレイクスルーをもたらすことが予想される。本研究では、超音波処理によって、微細で均質な線維を作製することを試みた。

アミロイド線維に対する超音波効果でよく知られているのは、破碎効果であり、線維核を作製する方法として広く利用されている。さらに近年、われわれは、超音波によってアミロイド線維形成が誘導されることを明らかにした¹。面白いことに、超音波照射下でアミロイド線維を形成すると、先述の破碎効果が加わり、得られる線維サイズは小さくなる。この結果を踏まえ、超音波によるアミロイド線維の「形成誘導」と「破碎」をうまく組み合わせると、互いに競合し、最終的に平衡状態としてある一定のサイズに収束するのではないかと考えた。透析アミロイドーシスの原因タンパク質である β_2 ミクログロブリン水溶液に1分間の超音波パルスを9分から6秒の間のさまざまな時間間隔で繰り返し与え、形成されたアミロイド線維のサイズ分布を超速心分析（沈降速度法）により調べた。

その結果、いずれの条件でも超音波によってアミロイド線維の形成が誘導された。1分間パルス+9分間静置の繰り返しの場合には、数時間のラグタイムのちにアミロイド線維が形成され、その後線維サイズの減少がみられた。パルス間隔を短くするにつれ、より小

さな線維が形成され、さらに、一旦長い線維が形成されてから小さくなるというオーバーシュートの傾向が弱まり、より直接的に微細サイズに収束するようになった。得られた線維は、クロス β 構造も伝播能も保持しており、サイズ分布幅も狭かった。微細均質線維は、沈降平衡法によるアミロイド線維の分子量測定も可能にし、図1のアミロイド線維の場合、1線維あたりの分子量は約170万（約140量体）であった。

以上のように、超音波によって微細で均質なアミロイド線維を簡便に作製することができた。超音波照射条件では、図2の赤線のように、核形成相の遷移状態自由エネルギー障壁が下がり、且つ、大きなサイズ側の自由エネルギーが上昇することで自由エネルギー極小が形成され、サイズ収束がおきると考えられる。今後、溶液 NMR 測定など様々な物理化学的解析への活用が期待される。

参考文献

[1] Ohhashi *et al.* *J. Biol. Chem.* **280**, 32843-32848 (2005)

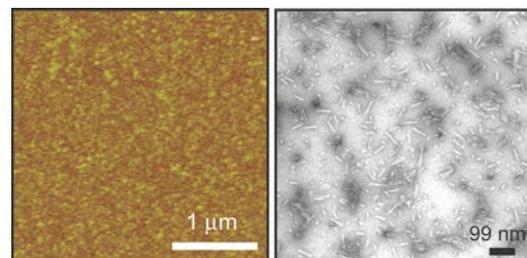


図1 超音波により形成した β_2 ミクログロブリンの微細均質線維の AFM 画像 (左) と電子顕微鏡画像 (右)。

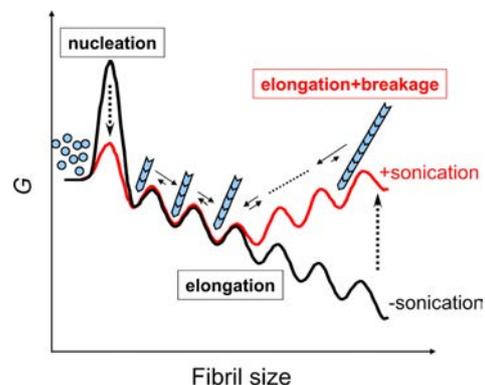


図2 微細均質アミロイド線維の形成機構を説明するエネルギー地形図。

業績紹介：p53 の天然変性領域と CBP/HDM2 との相互作用による p53 の機能制御

新井宗仁

(産総研生物機能工学・A02 公募研究代表者)

論文題目: "Cooperative regulation of p53 by modulation of ternary complex formation with CBP/p300 and HDM2"

著者: Josephine C. Ferreone, Chul Won Lee, Munehito Arai, Maria A. Martinez-Yamout, H. Jane Dyson, and Peter E. Wright

雑誌巻号: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **106**, 6591-6596 (2009)

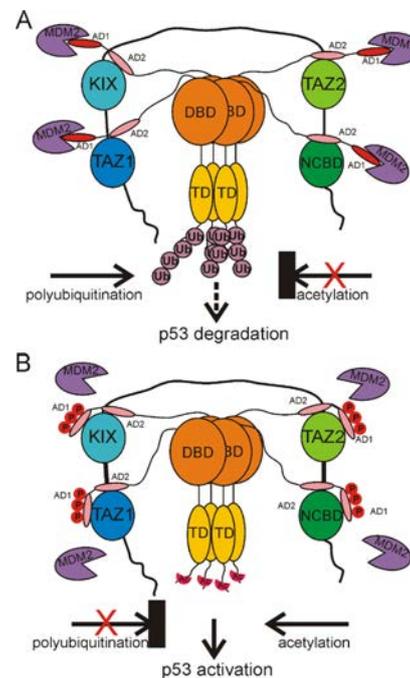
がん抑制因子である p53 は細胞ストレスによって活性化される転写制御因子であり、アポトーシスを誘起する。p53 の N 末端にある転写活性化ドメイン (TAD; 約 60 残基) は天然変性領域である。p53 のがん抑制活性は、p53 TAD にある AD1、AD2 という 2 つの結合モチーフと、ユビキチン転写酵素 HDM2 及び transcriptional coactivator CBP との相互作用によって制御されている。これまでに、細胞へのストレス不在下では p53 TAD は HDM2 と結合し、プロテアソームで分解されるが、DNA 損傷によって p53 TAD がリン酸化されると、HDM2 から解離し、CBP を介してがん抑制活性を発現することが知られていた。しかし、その詳細な分子機構は未解明であった。

そこで我々は、p53 と HDM2/CBP との相互作用を詳細に調べるために、NMR と ITC を用いて、p53TAD と、CBP の TAZ1、TAZ2、KIX、NCBD 各ドメイン及び HDM2 の p53 結合ドメインとの間の結合を個別に調べた。その結果、p53 TAD と CBP 各ドメインとの相互作用は主に AD2 を介したものであるのに対し、p53 TAD と HDM2 との相互作用は AD1 を介することがわかった。また、p53 TAD は AD1 と AD2 の両方を用いて HDM2 と CBP に同時に結合し、ternary complex を形成できることが明らかになった。さらに、AD1/AD2 単独では天然変性構造であったが、HDM2/CBP と結合することにより、ヘリックスを形成することが示された。一方、p53 TAD の AD1 領域がリン酸化された場合には、HDM2 との結合が弱くなったのに対し、CBP の TAZ1、KIX ドメインとの結合が強くなった。

以上の結果から、我々は次のようなモデルを提唱し

た(図)。細胞へのストレス不在下では、CBP/HDM2/p53 は ternary complex を形成し、p53 はユビキチン化され分解される。一方、細胞へのストレス存在下では、p53 の AD1 領域がリン酸化され、HDM2 から解離し、CBP と強く結合することにより、p53 が安定化されて活性化される。

本研究では、NMR 滴定法を用いて相互作用を解析したが、p53 の AD1 ペプチドが TAZ2 の 2 か所に結合し、複雑な滴定曲線を示した。そこで我々は、2 サイト結合の NMR 滴定曲線解析法を開発し、2 つの結合部位とそれぞれの解離定数を決定することに成功した [1]。また、p53 TAD と KIX との結合では、1 つの結合部位に 2 つのコンホメーションが競合的に結合することが明らかになった [2]。このように、天然変性蛋白質による分子認識は特異性が低く、結合も比較的弱いため、その結合様式の解析には十分な注意が必要である。



図：CBP/HDM2 との相互作用による p53 の機能制御モデル。A: 細胞ストレス不在下、B: ストレス存在下。p53 (図中の AD1/AD2/DBD/TD) は 4 量体であり、それぞれが CBP の 4 つのドメイン (TAZ1/KIX/TAZ2/NCBD) と結合すると考えられる。CBP はアセチル化活性も持つ。

参考文献

[1] Arai *et al.*, 論文執筆中

[2] Lee, Arai, *et al.*, *Biochemistry*, **48**, 2115-2124 (2009).

業績紹介：回転モータータンパク質の阻害機構を提案

飯野亮太

(阪大産研・A03 公募研究代表者)

論文題目: "Mechanism of inhibition by C-terminal α -helices of the ϵ subunit of *Escherichia coli* F_0F_1 -ATP synthase"

著者: Ryota Iino, Rie Hasegawa, Kazuhito V. Tabata, Hiroyuki Noji

雑誌巻号: *J. Biol. Chem.* **284**, 17457-17464 (2009)

F_0F_1 -ATP 合成酵素 (F_0F_1) は F_0 と F_1 の 2 つの回転モータータンパク質の複合体であり、細胞膜中の F_0 によるプロトン輸送と水溶性の F_1 による ATP 合成・加水分解が力学的回転により共役している。 F_0F_1 の回転子を構成するサブユニットの一つである ϵ は本酵素の ATP 加水分解活性を阻害する内部因子である。精製 F_1 の生化学的解析では、 ϵ による ATP 加水分解の阻害には C 末の α -ヘリックスが必須であることが明らかになっている。一方、 F_0F_1 の本来の機能である ATP 合成に対する ϵ の効果はこれまで、詳細には調べられていなかった。

本研究では ϵ の C 末ヘリックスを欠失した F_0F_1 変異体を作製し、ATP 合成活性の速度論的な解析を行った (図 1 A-C)。その結果、 ϵ の C 末ヘリックスは F_0F_1 の ATP 合成・加水分解の両方を阻害することが明らかとなった。阻害は広範な基質濃度域でみられ、 ϵ は ATP 合成・加水分解反応の素過程のうち、基質の結合と生成物の解離に影響を与えることが明らかとなった。

F_1 には 3 つの触媒部位 (β サブユニット) が存在し、結晶構造ではそれぞれの β は ATP 結合型、ADP 結合型およびカラ型の異なる状態にある。そして、それぞれの β は γ サブユニットの回転に伴い、順番を守って構造を変化させ反応を進めると考えられている。大腸菌由来 F_1 ($\alpha_3\beta_3\gamma\epsilon$ 複合体) の結晶構造では、 ϵ の C 末ヘリックスは回転子 γ に寄り添い固定子 $\alpha_3\beta_3$ リングに入り込んでいる (図 1 D の黒線で囲んだ部分)。 ϵ の C 末ヘリックスは ATP を結合した β とのみ相互作用しているため、 ϵ が複数の β と同時に相互作用することで複数の反応素過程に影響を与えるというモデルは成立しない。そこで我々は、 ϵ は γ (回転子) の回

転自身を抑制することで複数の反応素過程に影響を与えるという新規なモデルを提案した (図 2)。

このモデルから、 ϵ を再構成した F_1 の ATP 加水分解による回転では、ATP 結合待ちおよび生成物の解離待ちの位置での停止が長くなることが予想される。また ϵ の C 末ヘリックスが $\alpha_3\beta_3$ リングに入り込むことにより回転子のサイズ (直径) が大きくなり (図 1 D)、回転子の「揺らぎ」が抑制されることも予想される。今後は、 ϵ を再構成した F_1 の 1 分子計測によりこれらの予想を検証したい。さらに我々は以前、磁気ピンセットで強制的に逆回転させた F_1 ($\alpha_3\beta_3\gamma$ 複合体) の ATP 合成反応の共役効率、 ϵ の再構成により大幅に改善されることを報告している [1]。 ϵ の C 末ヘリックスを欠失した変異体を用いれば、 F_1 の力学-化学共役と ϵ による阻害の関係も明らかになると期待している。

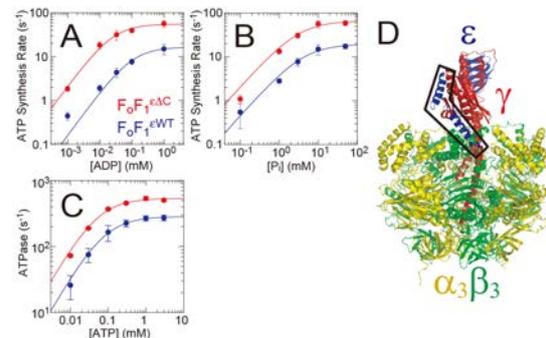


図 1. A-C, ATP 合成および加水分解活性の基質濃度依存性。赤: 変異体。青: 野生型。D, 大腸菌由来 F_1 ($\alpha_3\beta_3\gamma\epsilon$ 複合体) の結晶構造。

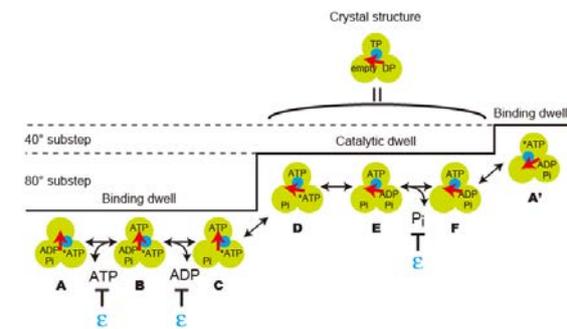


図 2. ϵ による ATP 合成・加水分解阻害のモデル。

参考文献

[1] Y. Rondelez et al., *Nature*. 433, 773-777 (2005)

業績紹介：リン脂質ベシクルへの抗がん剤 5-フルオロウラシルの結合・解離の速度論 —パルス磁場勾配 NMR による *in situ* 定量解析—

岡村恵美子

(姫路獨協大薬・A03 公募研究代表者)

論文題目："Kinetics of membrane binding and dissociation of 5-fluorouracil by pulsed-field-gradient ^{19}F NMR"

著者：Noriyuki Yoshii and E. Okamura

雑誌巻号：Chem. Phys. Lett. **474**, 357-361 (2009)

薬物の細胞膜への結合や膜からの解離挙動は、ソフトな膜の揺らぎと密接に関係すると考えられる。我々は、これまでに、高分解能溶液 NMR とパルス磁場勾配 (PFG) 法を組み合わせ、膜に結合した薬物と free の薬物のシグナルの *in situ* 同時観測に成功し、薬物の膜への結合量を定量する方法を提案した。同時に、膜のなかの薬物の拡散挙動を明らかにしてきた[1]。本論文ではさらに同じ方法を用いて、図 1 に示すような薬物の膜への結合と解離の速度論的な解析が可能となることを示した。

薬物として抗がん剤・5-フルオロウラシル (5FU) を、細胞膜の最も単純なモデルとして卵黄レシチンの一枚膜ベシクル (LUV, 直径 100 nm) を採用した。温度は、脂質が液晶状態にある 20-40 °C の間で変化させた。

5FU の PFG ^{19}F NMR シグナルに対して、膜に結合した状態 (bound) と解離した状態 (free) の間の交換を考慮した Bloch 方程式の解析解をフィッティングすることにより、結合・解離の速度定数 k_{FB} , k_{BF} を求めた(図 2)。得られた k_{FB} , k_{BF} は、温度 30°C において 0.2 および 4.1 s^{-1} であった。よって、それぞれの半減期は 3.5 秒、0.17 秒であり、5FU はこの程度の時定数で膜に結合し、膜からバルクへと解離していくことが分かった。さらに、温度を変化させて 5FU の LUV への結合と解離の活性化エネルギーを算出したところ 57 kJ/mol となり、5FU のベシクル内の拡散 (26 kJ/mol) に比べて 2 倍以上の大きな値となることが明らかとなった。これより、5FU はベシクル内、すなわち膜面の拡散運動と比較して、膜法線方向の結合・解離運動がより制限されているという結果が得られた。

NMR では分子の動きを「自然」のまま捉えることが可能である。今後、この方法を生きた細胞にも展開

して、細胞内へのドラッグデリバリーの分子機構を解明するための新しい手段として活用していきたい。

参考文献

[1] E. Okamura, N. Yoshii, *J. Chem. Phys.* **129** 215102 (2008)

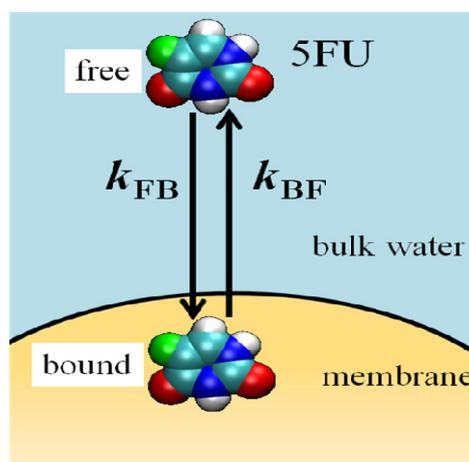


図 1：膜への 5FU の結合と膜からの解離の模式図。 k_{FB} , k_{BF} は、それぞれ、5FU の結合と解離の速度定数を示す。

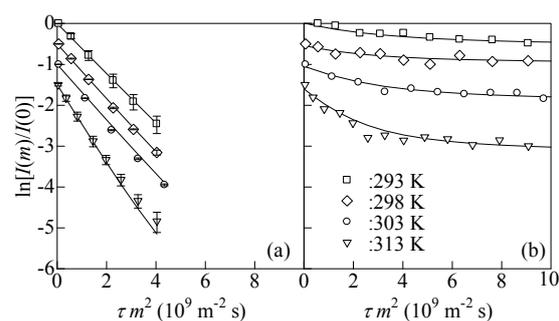


図 2：各温度における(a)膜から解離した 5FU および(b)膜に結合した 5FU の NMR シグナルの減衰の様子。横軸は磁場勾配の大きさに対応する。各々のシンボルは実測値を、実線は 5FU の結合・解離の 2 状態間の交換を考慮した Bloch 方程式の解析解によるフィッティングの結果を示す。温度 298, 303, 313 K の結果は、それぞれ、下に 0.5, 1.0, 1.5 ずつずらしている。

シンポジウム報告 Telluride Conference on Protein Dynamics

片岡幹雄

(奈良先端大・A02 計画研究代表者)

8月3日から7日まで、米国コロラド州テルライドで、Telluride Conference on Protein Dynamicsが開催された。テルライドというのは、ロッキー山脈の一角を占める San Juan 山地の中ほどにある広大なスキー場をはじめとする高級リゾート地である。この山間の小さな町に、Telluride Science Research Center があり、冬と夏を中心に年間 50 以上の会議を支援している。Protein Dynamics は、その中の一つであり、2年に1回開かれている。

今回の出席者は、3月のワークショップに招待した Susan Marqusee、招待していたが直前で来日できなくなった Martina Havenith、12月のワークショップに招待予定の Vladimir Uversky など28名で、日本からはオーガナイザーの一人の水谷泰久氏（阪大）、西坂崇之氏（学習院）、北尾彰郎氏（東大）と私の4名であった。水谷氏によると、日米欧それぞれのオーガナイザーと全体のオーガナイザー（今回はフランスの Martin Weik）が講演者をリストアップし、投票で決めるのだそう。この会議に招待されることはとても名誉なことなのだ。と3回目の出席にして初めて知った。参加者は最大30名に限られ、参加者は必ず講演しなければならないというルールがあるのだそうだが、今回は一人の参加者が同伴した2名の学生は講演をしな

ったので、26件の講演が行われた。一人の持ち時間は討論を含めて45分と決められているが、60分から80分に伸びるのが当たり前のよう議論が白熱した。

一つ一つの講演はそれぞれに質が高く、興味深いものであった。発色団の異性化に伴う収縮をみごとに示した PYP の時間分解結晶構造解析 (Phil Anfinrud)、時間分解テラヘルツ分光法の開発と応用 (M. Havenith)、Matrix metalloproteinase の加水分解に伴う活性部位での水のタンピングの示唆 (Irit Sagi)、DHFR のループの変異から intrinsic disorder と dynamic allostery の関係を示した Vincent Hilser、水溶性タンパク質、膜タンパク質、天然変性タンパク質それぞれで水和水の動力学が異なることを明瞭に示した Martin Weik、折り畳みの力学測定 of S. Marqusee、NMR relaxation によりカルモジュリンの多様なリガンド認識のダイナミクスを解明した Josh Wand、時間分解ラマン分光によるタンパク質の反応初期ダイナミクスを解明した水谷氏、F1-ATPase やキネシンの最近の一分子測定の進歩を示した西坂氏の講演は、特に印象に残った。

私は初日に PYP の低障壁水素結合について報告したが、多くの反響があり、最終日まで質問や共同研究の申し出があり、少しは貢献できたのではないかと考えている。次は 2011 年に開催されるが、本学術領域からも招待講演者が選ばれることを期待したい。



図 隣町に行くゴンドラから見たテルライドの町。(西坂さん提供)。

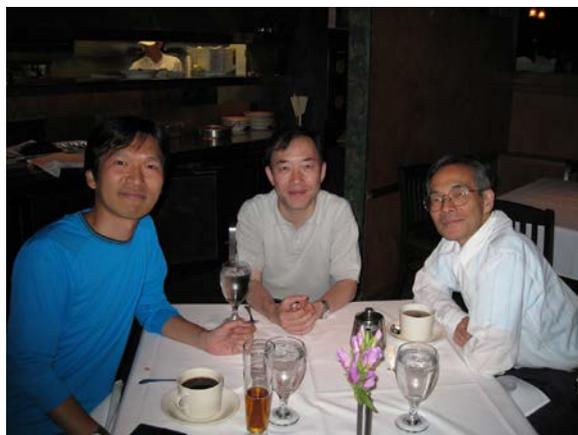


図 講演を終えてイタリアンレストランで (左から西坂さん、水谷さん、私)。(西坂さん提供)



国際会議シンポジウム報告

“Protein Dynamics and Function”, in 238-th American Chemical Society

August 16-20, 2009 at Washington D.C. , USA

高田彰二

(京大理・A01 公募研究代表者)

ワシントンのホテルで深夜に、興奮冷めやらぬ状態でこの報告を書いています。いまアメリカ化学会の年会の計算化学部門で、“Protein Dynamics & Function”というシンポジウムが行われています。そこで昨日衝撃的な講演を聴いたので、それを紹介させていただきます。

Anton ショック

タンパク質の分子動力学 (MD) シミュレーションに関わる人なら周知のことですが、今日のタンパク質 MD には致命的な弱点があります。重要な生命現象の多くはミリ秒かそれより遅い時間で起こりますが、いまの計算機で計算できるのはたかだかマイクロ秒程度までだということです (論文発表された中での世界記録はたぶん 10 マイクロ秒です。標準的研究では 0.1 マイクロ秒くらいをやれば合格点、という感じでしょうか、...)。それで、さまざまな理論 (トリック) を駆使してそのギャップを埋めようと努力しているわけです。

そのような中、昨日、D.E. Shaw 研究所の David E. Shaw が表題のシンポジウムで講演を行いました。彼の成功はすでに有名ですから彼の講演が始まる頃には会場は立ち見が出るほどの状況になっていました。Shaw は講演の中で、自作の計算機 Anton によって、(陽な) 水溶液中の小型タンパク質 BPTI を 1.03 ミリ秒シミュレーションした結果を報告しました！これまで論文で報告された世界記録より 100 倍長い計算です。「ミリ秒なんて、むこう 10 年は無理だろう」くらいに思っていた私が度肝を抜かれたことは言うまでもありません。なぜそのようなことが出来たのか、私の分かった範囲で書いてみます。ほとんどは講演から聞き取った情報ですから、精度は高くないかもしれませんが、ご容赦ください。また、池口さん (横浜市大) にだいぶん教えていただきました。

そもそも David Shaw とはどんな人か、少し書きます。

Shaw はもともと IT の専門家で、ファイナンスで、独自のアルゴリズムをもとに“大”儲けをしました。その後、姉妹が癌になったことがきっかけでタンパク質 MD に興味を持ち、タンパク質シミュレーションのための私的な研究所を設立しました。それが D.E. Shaw 研究所です。不確かな情報ですが、2002 年ごろにアメリカでこの研究所の話を知ったことがありましたから、6,7 年くらいは前から始まっています。Shaw は、長時間 MD をすることが必須と考え、それを可能にするソフトウェア、アルゴリズムの研究から、ついには計算機を設計し制作しました。その一つが Anton ということになります (Nature, 451, p240-243, 2008 に関連する面白い記事があります)。

Anton はタンパク質 MD 専用計算機です。原子座標から距離を計算し、力とエネルギーを求め、原子座標を動かす等々、MD 計算のほぼ全体がチップの中にハードとして組み込まれています。またチップの中には通信も含まれています。ノード間通信は、周期境界条件にぴったり合う 3 次元トラス型という念の入れようです。この計算機の設計、制作のために Shaw は計算機のプロを 5~60 人雇っているそうです (勿論、それとは別にタンパク質 MD のプロもたくさん雇っています)。Anton 一台は 512 ノードで構成されています。水中の DHFR (中型タンパク質) のベンチマークテストでは、一日に約 16 マイクロ秒のシミュレーションに成功しました。これを 2 ヶ月使うと 1 ミリ秒ができることとなります。たった一日の計算でこれまでの記録を塗り替えるというのは、凄まじい話です。

長時間 MD から何が見えてくる？

講演後、聴衆のなかの大御所の研究者達から多くの質問が飛びました。1 ミリ秒のシミュレーションから何が見えてくるか、というような議論でした。

BPTI というのは、小型で分子内に 3 本のジスルフィド結合があることから、非常に硬いタンパク質というのが常識です。しかし、1 ミリ秒シミュレーションから切り出した動画を見ると、かなり稀にですが、非常



にシャープに、小規模な構造遷移を起こしました。タンパク質内に閉じ込められていた3個の水分子が飛び出すと同時にタンパク質が歪む、という感じでしょうか？また、BPTIほど硬くない他の小型タンパク質（名前を忘れましたが）の動画では、時折、非常にシャープに、二次構造が大きく壊れたり向きを変えて、天然構造と異なる準安定構造に遷移したりを繰り返していました。動きは間欠的で、しばらく止まっていると思ったら、突然パカッと動く、という感じです。今まで見た原子レベルのタンパク質MDの動画に比べて、はるかに柔らかく動く姿に感銘を受けました（個人的には、まるで粗視化モデルの動画のような感じがしました）。ミリ秒の時間スケールでは、タンパク質はかなり柔らかく、そして大規模に動きます。ミリ秒オーダーのシミュレーションが日常的になれば、私達の“タンパク質像”は変わっていくでしょう。タンパク質の大規模な“揺らぎ”の重要性が増してくることは間違いありません。

金持ちだけが長時間MDできるのか？

「あなたのようにリッチでない私達はどうかしたらいいのか？Antonはみんなが使えるようになるのか？」という質問も出ました。Shawは、いずれcommunityが使えるようにしたい、というような返答をしていました。現時点では、Antonに対抗できる計算機はありませんから、これを使えるかどうかは、今後非常に重要な問題になってくるでしょう。0.1マイクロ秒程度のMDで論文を書いたら、「そんな短いMDではだめだ」というレフェリーコメントが帰ってくるようになるのは、案外早いかもしれません。

その他

David Shaw以外にも、多くのパワープレーのMD計算の発表がありました。Folding@HomeのV. PandeやIBM blue geneを使いまくっているR. Zhouは、1マイクロ秒のMDをたくさん走らせていました。またGPUを使った長時間MDの発表がいくつかありました。Shawは特別としても、他の（力のある）研究者も、普通に1マイクロ秒以上のMDをする時代になったことを痛感しました。残念ながら日本では、水を陽に含んだ系での1マイクロ秒以上のMDはまだされていないように思います（違っていたらすみません）。今後、世界に

どのように立ち向かえばよいのか、頭の痛いところです。

シンポジウムでは、日本からは池口さん（横浜市大）と私とが講演を行いました。池口さんや、向かいの部屋の別シンポジウムで講演した岡本さん（名古屋大、計画研究代表者）も交えている雑談しましたが、自分達の話よりも結局、Anton ショックの話で持ちきりでした。

岡村恵美子氏が第2回資生堂女性研究者サイエンスグラントを受賞

片岡幹雄（領域事務担当）

A03 班公募研究代表者の岡村恵美子氏（姫路獨協大学・薬学部教授）が、「第2回資生堂女性研究者サイエンスグラント」を受賞されました。授賞式は平成21年6月2日に資生堂リサーチセンター新横浜に於いて行われ、岩田喜美枝・代表取締役副社長から記念の盾の贈呈がありました。公募班決定前のことですが、領域としてもお祝いしたいと思います。

資生堂女性研究者サイエンスグラントは、自然科学分野の研究に従事する優秀な女性研究者の研究活動を支援し、指導的女性研究者を育成する目的で創設されたものです。第2回グラントには、200名を超える研究者の応募があり、このなかから、岡村氏を含む10名が受賞することになりました。

今回、受賞の対象となった岡村氏の研究課題は、“薬物のin-cell NMR：シグナルの非侵襲検出と輸送解析”

です。岡村氏はこれまでに溶液NMRを細胞系に拡張して、「生きた」細胞と薬物の相互作用を高感度高分解能で観測する手段を開発しました。また、パルス磁場勾配スピネコー法を組み合わせ、モデル細胞に結合した薬物と残存する薬物のNMRシグナルを同時に捉え、薬物の結合量と膜のなかの拡散のin situ定量、膜への結合と解離の速度論的解析を行ってきました。

受賞対象の研究では、高分解能溶液 NMR 法を展開して、「生きた」細胞への薬物の分配・輸送の非侵襲計測法を確立するとともに、磁場勾配 NMR 法を用いて細胞のなかの薬物の輸送過程を明らかにする計画です。薬物を選択的に識別するために、多核NMRを使用します。細胞内の分子の動きを「自然」の状態のまま取り扱うことができるNMRを駆使して、生きた細胞へのドラッグデリバリーの分子機構を解明する新しいアプローチとして、今後の展開が注目されています。



受賞者記念撮影（前列左から2人目が岡村教授）



受賞記念の盾

