

業績紹介：光が強いと反応しなくなる光センサータンパク質

寺嶋正秀

(京都大院理・A01 計画研究代表者)

論文題目: "A way to sense light intensity: multiple-excitation of the BLUF photoreceptor TePixD suppresses conformational change"

著者: K. Tanaka, Y. Nakasone, K. Okajima, M. Ikeuchi, S. Tokutomi, M. Terazima

雑誌巻号: *FEBS Lett.*, **585**, 786-790 (2011).

多くの光センサータンパク質の中でも、TePixD はリング構造を取った5量体が2つ合わさった十量体を作るという非常に変わった構造を持つタンパク質といえる。こうした多量体構造には、何か意味があるのであろうか。今回、このタンパク質の反応を調べたところ、奇妙な光強度依存性を見出した。

以前にもこのニュースレターで紹介したように、TePixD は好熱性シアノバクテリアのもつ青色光センサータンパク質である。青色光の受容のために、発色団としてフラビンを結合するBLUF (sensors of Blue Light Using FAD)ドメインを持ち、図1に示したような10量体構造が溶液中でも保持されていると考えられている。TePixD を青色光で励起した後の過渡回折格子(TG)信号には、過渡吸収では検出されない40 μ sの時定数をもつ体積膨張を表す信号、ミリ秒領域に光誘起のD変化に起因する山型の信号が見られ、光反応スキームが決定された。

今回、光強度を変えてこのTG信号を測定したところ、体積変化を表す信号強度は、ある光強度までは増加したが、それ以上の光強度増加でだんだんと増加量が減る現象が観測された(図2)。この変化は、レーザーを用いた光吸収実験ではしばしば見られる飽和現象として説明できる。これは分子の数に比べてレーザーの光子数が大きいため、それ以上光を吸収できないことによる。実際に、過渡吸収を用いて、発色団吸収スペクトルの変化する割合をモニターすると、同様の飽和現象が見られた。ところが、拡散係数を表す信号強度は、ある強度まで増加したのち、それ以上の強度で減少するという奇妙な振る舞いが見られた(図3)。

このふるまいを理解するために、ポアソン分布を用いて、10量体のうちで2個以上が励起された場合には反応しないというモデルを用いて、励起光強度依存性をフィットしたところ、きれいに再現することがで

きた(図3)。しかも、この確率を計算すると、自然の太陽光のもとでも十量体のうちで2個励起される確率は無視できないこともわかった。つまり、このタンパク質は、光の弱い時には光センサーとして働くが、光強度の強い時には働かないという、非常に奇妙な振る舞いをするのである。一体、その機構はどうなっているのか興味が持たれる。

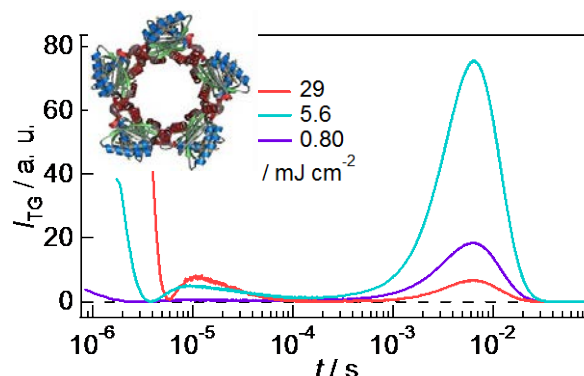


図1 PixD の過渡回折格子信号。最初の減衰が熱格子信号。

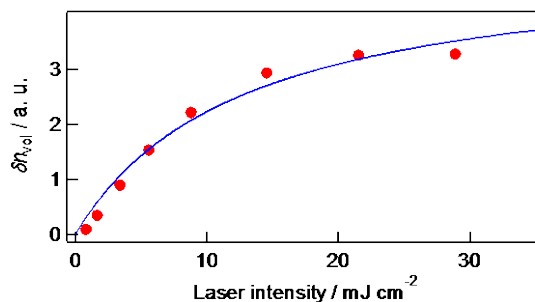


図2 体積変化を表す信号の励起光強度依存性(赤丸)と飽和現象によるフィット(青線)。

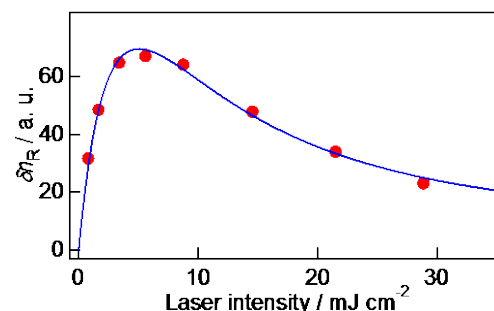


図3 拡散を表す信号の励起光強度依存性(赤丸)と2つの分子が励起されると反応しないというモデルによるフィット(青線)。

業績紹介：マルチスケールシミュレーションによるシニョリンのフォールディング自由エネルギー地形

北尾彰朗

(東京大学分生研・A01 公募研究代表者)

論文題目: "Exploring the Folding Free Energy Landscape of a β -Hairpin Miniprotein, Chignolin, Using Multiscale Free Energy Landscape Calculation Method"

著者: Ryuhei Harada and Akio Kitao

雑誌巻号: *J. Phys. Chem. B.*, **115**(27), 8806-8812 (2011).

計算機シミュレーションは完全に超並列計算の時代に入っている。しかし、超並列計算を効率的に行うことは容易ではない。次世代スパコン「京」のアプリケーションの多くは、この難題を大規模分子シミュレーションの並列化や、同期が必要だが比較的過程間通信の少ない並列シミュレーションを用いることで、なんとか乗り切ろうとしている。しかし、更に並列化が進む次々世代スパコンでも、従来法の延長線上で効率的なシミュレーションが実行できるのであろうか。我々は、大規模計算が必要な全原子シミュレーションにおいてプロセス間の通信や同期を排除し、完全に並列なシミュレーションを実行し、最終的に結果を統合して自由エネルギー地形を計算する MMM (Multiple Markov transition Matrix Method, [1]) や MSFEL (Multi-Scale Free Energy Landscape analysis, [2]) を開発してきた。

我々は MSFEL を用いてミニタンパク質シニョリンのフォールディング自由エネルギー地形を計算し、フォールディングのメカニズムを研究した。MSFEL ではまず粗視化モデルを用いて広い構造空間をサンプルする。サンプルされた多数の構造から全原子構造(溶媒含む)を構築し、精度の高いシミュレーションを完全に独立に実行する。最後に WHAM (Weighted Histogram Analysis Method) などを用いて自由エネルギー地形を計算する。この手法では、従来の分子動力学シミュレーションやレプリカ交換法よりも効率的に自由エネルギー計算が可能であることが示された。本研究では、これまで知られていなかったシニョリンのフォールディング中間状態が見出された。また、代表的なフォールディング経路やアミノ酸変異の影響を評価すること

ができた。

現在我々は、この方法の更なる改良を進めると共に、より大きなタンパク質への応用を行っている。

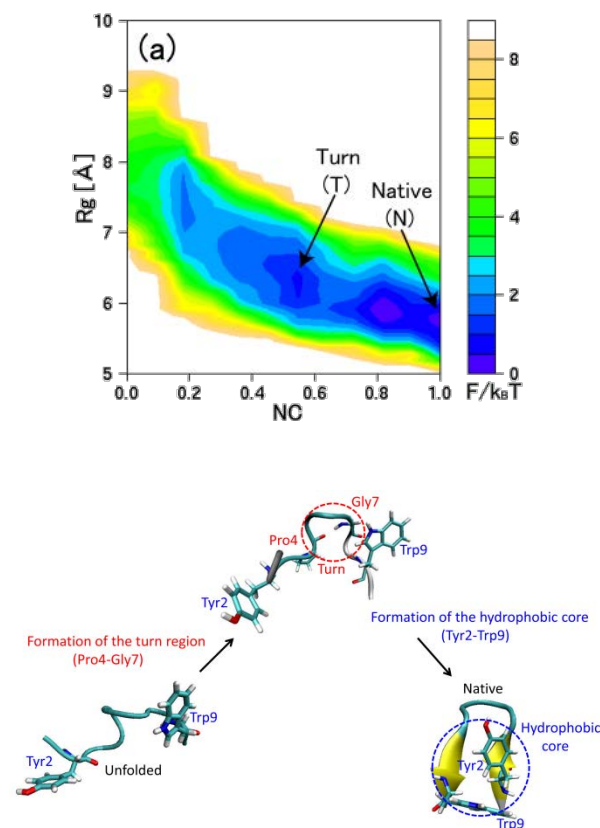


図 シニョリンのフォールディング自由エネルギー地形 (上) と代表的なフォールディング経路 (下)

参考文献

- [1] Shun Sakuraba and Akio Kitao, *J. Comp. Chem.*, **30**, 1850-1858 (2009).
- [2] Ryuhei Harada and Akio Kitao, *Chem. Phys. Lett.*, **503**(1-3), 145-152 (2011).

業績紹介 : Transform and Relax Sampling (TRS)によるタンパク質揺らぎの効率的シミュレーション

北尾彰朗

(東京大学分生研・A01 公募研究代表者)

論文題目 : "Transform and relax sampling for highly anisotropic systems: Application to protein domain motion and folding"

著者 : Akio Kitao

雑誌巻号 : *J. Chem. Phys.*, **135**(4), 045101 (2011).

分子動力学法は、分子シミュレーションの代表的な手法であり、様々な物理量の計算や揺らぎの時系列観察を可能にする。しかし、計算時間には限りがあるので、精度の高い全原子シミュレーションを用いて比較的遅い揺らぎをみるのは困難である。構造空間のサンプリング効率を上げるため、時系列情報の再現はあきらめる代わりに、全系や部分系の温度や圧力を変化させたりバイアスポテンシャルを加えたりする方法や、集団座標でシミュレーションをする方法など、様々な効率的シミュレーション法が提案されてきた。この論文では、従来の発想とは異なった、Transform and Relax Sampling (TRS)という計算法を提案している。

TRSは、Transform, Relax と Sampling という3つのStageからなる。まず Transform stageにおいてシステムにランダムな摂動力を加えながら分子動力学シミュレーションを行い、遅い揺らぎを誘起する。次に Relax stageにおいて摂動を加えるのをやめ、運動エネルギーが等分配されるまでシステムを緩和させる。そして Sampling stageでは2つのstageで変形された後の構造を受理するかどうかをエネルギー変化と乱数に基づき判定し、受理した場合には変形後の状態から、棄却した場合には Transform 前の状態から分子動力学シミュレーションを行う。これらの操作を繰り返すことで、遅いゆらぎをあらゆる集団座標をあらかじめ知らなくても、通常分子動力学では起こりにくい遅い揺らぎを多自由度系において比較的短いシミュレーションで観測することが可能になる。

この論文では、いくつかの蛋白質のドメイン運動やフォールディングにおいてこの手法が有用であることを示すことができた。ドメイン運動の代表としては、

様々なアミノ酸変異によって大きく構造が変化するT4 リゾチームとリガンド結合によってドメイン運動することが知られているグルタミン結合蛋白質を選んだ。どちらの場合にもドメイン間にあるクレフトがより露出した開構造と露出の少ない閉構造がある。またフォールディングの例としてシニョリンを選んだ。すべての例で画期的な計算効率化が実現できた。

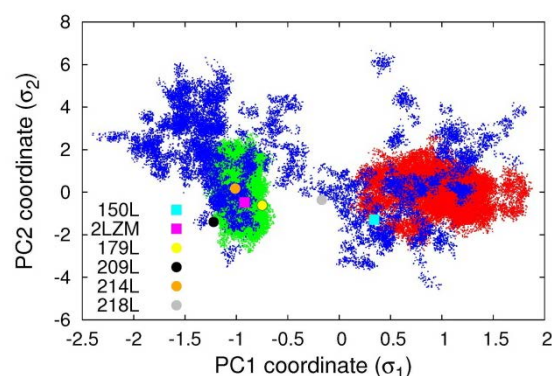


図 主成分空間で見た TRS による T4 リゾチームのドメイン運動 (青)。従来の分子動力学法を用いて開構造 (赤) または閉構造 (緑) から出発するとその近傍に留まるが TRS では複数の開閉転移が見られる。

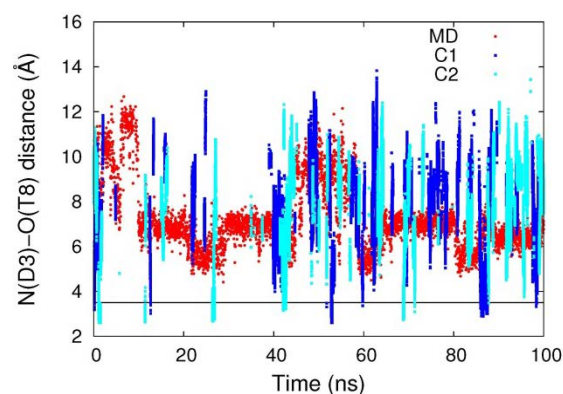


図 鍵となる水素結合距離で見た TRS によるシニョリンのフォールディング・アンフォールディング転移。アンフォールディング状態から出発すると従来の分子動力学法 (赤) では、ミスフォールド状態にトラップされてしまうが、TRS (青および水色) では複数回フォールディング・アンフォールディングを行う。

業績紹介：温州みかん抽出物含有ハイブリッドリポソームの *in vitro* でのがん細胞増殖抑制効果

上岡龍一

(崇城大応用生命科学・A03 計画研究代表者)

論文題目：“温州みかん抽出物含有ハイブリッドリポソームの制がん効果に関する研究”

著者：上岡秀嗣, 古水雄志, 後藤浩一, 上岡龍一

雑誌巻号：化学工学論文集 37, 271-276 (2011)

熊本県は全国有数の農林水産業の基地であり、とくに温州みかん (*Citrus unshiu* Marc.) をはじめとする柑橘類の特産地として知られている。しかしながら、1980年代より温州みかんの収穫量および出荷量は減少の一途をたどっており、出荷量調整のために多量のみかんが摘果され、また廃棄処分されているのが現状である。一方、温州みかんは古くから漢方薬の原料として使用されているが、近年、温州みかんに多く含まれるカロテノイドのβ-クリプトキサンチンや夏みかん、ハッサク、グレープフルーツ等に含まれるクマリン系化合物オーラプテンなどの発がん抑制作用が動物実験等で明らかになり注目されている。

ハイブリッドリポソーム(HL)[1]は、リン脂質とミセル系界面活性剤を緩衝水溶液中で超音波処理することにより調製でき、HL 自身がアポトーシス誘導型の制がん効果を示すこと、その制がんメカニズムに“HLの揺らぎ(流動性)”や“がん細胞膜の揺らぎ”が重要であることを報告している[2]。一方、合成抗がん剤や天然由来の抽出成分を含有させたHLの制がん効果を観測し、新しいドラッグキャリアとしての有用性を明らかにしている。

本研究では、バイオマスとして廃棄処分されている温州みかんの有効利用の一環として、温州みかんに含まれる抗腫瘍成分の抽出と制がん効果について検討したところ、以下のような知見が得られた。

1) IR スペクトルの測定から、温州みかん(青島)の果実と果汁の抽出物で類似したスペクトルパターンが観測され、低極性溶媒抽出物(Extract 1-3)の成分として高級脂肪酸やそのエステル、カロテノイド、フラボノイドなどが考えられた。一方、高極性溶媒抽出物中(Extract 4-6)には、糖類やアミノ酸、フラバノン配糖体などが含まれていると考えられた。

2)温州みかんの各抽出物含有 90 mol% DMPC/10 mol% Tween 80 ハイブリッドリポソーム(HL)の膜物性について、低極性溶媒抽出物含有 HL は、リポソーム自身および高極性溶媒抽出物含有 HL と比べて安定しており、果実および果汁ともに、膜直径が約 120 -160 nm のベシクルを形成した。

3)温州みかんの果実および果汁ともに、極性溶媒抽出物含有ハイブリッドリポソームは、とくに石油エーテル抽出物とクロロホルム抽出物で、ヒト胃がん(MKN-45)細胞および肝臓がん(HuH-7)細胞に対する顕著な増殖抑制効果を示した(図1)。

以上のように、HL を用いて、温州みかんより得られた低極性溶媒抽出成分の培養がん細胞に対する顕著な増殖抑制効果を *in vitro* で明らかにした。今後さらに検討することで、天然由来の新しいがん治療薬としての可能性が期待できると考えられる。

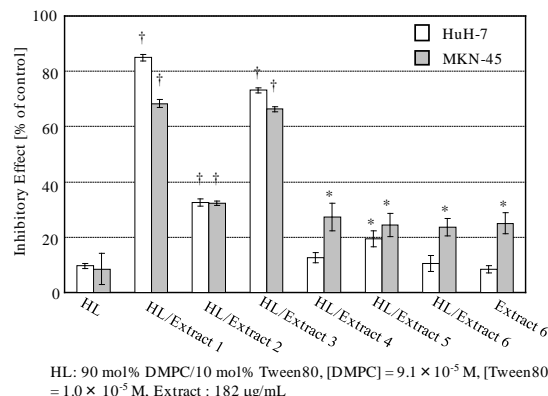
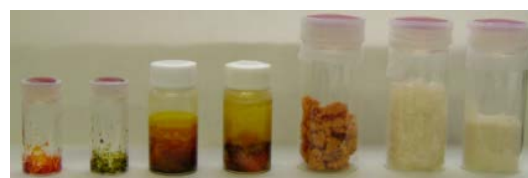


図1 温州みかん抽出物含有ハイブリッドリポソームのがん細胞増殖抑制効果 Extract:1 (Petroleum ether), 2 (Ethyl ether), 3 (Chloroform), 4 (Acetone), 5 (Ethanol), 6 (Hot Water)
Data represent mean \pm SD (n=5). * † Significantly difference ($p < 0.05$, $p < 0.001$) compared with HL alone.

参考文献

- [1] R. Ueoka et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 1588-1595 (1988).
[2] R. Ueoka et al., *Curr. Pharm. Des.*, **17**, 1709-1719 (2011).

業績紹介：イタドリ生理活性物質含有ハイブリッドリポソームのリンパ腫細胞 に対する増殖抑制効果

上岡龍一

(崇城大応用生命科学・A03 計画研究代表者)

松本陽子

(崇城大応用生命科学・A03 公募研究代表者)

論文題目：“イタドリ生理活性物質含有ハイブリッドリポソームのリンパ腫細胞に対する増殖抑制効果”

著者：市原英明, 巽 一喜, 後藤浩一, 松本陽子
上岡龍一

雑誌巻号：化学工学論文集, **37**, 192-196 (2011).

イタドリ (学名: *Polygonum cuspidatum*) は、日本各地、朝鮮半島、台湾、中国の温帯域に自生するタデ科の大形多年草であり、その薬用部位は根茎とされ、漢方では虎杖根という。薬効としては、抗菌、抗血脂、利尿、止血等があるとされ、医用素材などとしての有効利用が期待される。

一方、筆者らが創製したハイブリッドリポソーム (HL) は [1]、HL のみで種々のヒトがん細胞に対し増殖抑制効果を示し、アポトーシスを誘導することが明らかになっている [2]。in vivo において、担がんマウスを用いた治療実験から延命効果が得られ [3]、正常動物を用いた安全性試験で副作用が無いことが確認されている [4]。生命倫理委員会承認後の悪性リンパ腫患者に対する臨床試験において、高い安全性および延命効果が得られている [5]。

本研究では、まず、イタドリ根茎から有機溶媒を用いて成分の抽出を行なった。次に、脂溶性成分に着目し、HL に含有させて水溶液にし、ヒト T 細胞白血病 (MOLT-4) 細胞に対する in vitro での抗腫瘍効果を検討した。さらに、有効成分の同定を検討した。

① イタドリからの成分抽出は、図 1 のスキームに従って行った。極性の小さな溶媒による抽出物の収量が小さく、極性の大きな溶媒による収量が大きい傾向があり、中でもアセトンでの抽出量が最も多かった。

さらに、有機溶媒での抽出物はそれぞれの抽出溶媒を用いて再結晶を行い、粉末と油状物質に分離精製した。

② 石油エーテル抽出物 (1) およびクロロホルム抽出物 (3) 含有 HL は、HL のみと比較しても調製直後から 1 週間以上安定な膜を維持した。

③ 抽出物含有 HL の増殖抑制効果は、エタノール抽出物 (5) ($23 \pm 0.3\%$ 、 0.5 mg/kg) < 抽出物 (1) ($34 \pm 0.3\%$ 、 0.5 mg/kg) < 抽出物 (3) ($61 \pm 0.7\%$ 、 0.06

mg/kg) であり、抽出物 (3) は少量で顕著な増殖抑制効果を示す事が明らかになった。

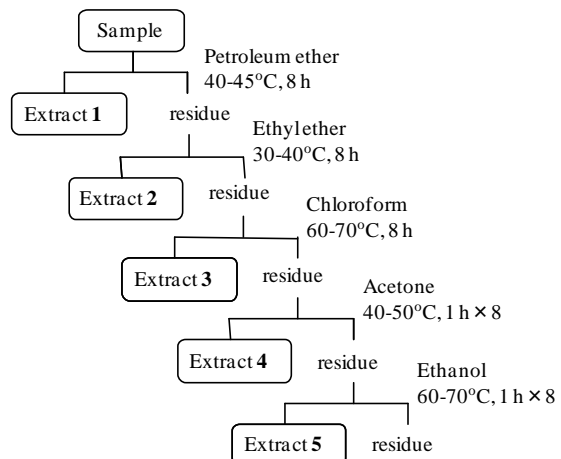


図 1 イタドリからの有機溶媒を用いた成分抽出

④ 顕著な増殖抑制効果を示した抽出物 (3) の有効成分を分取薄層クロマトグラフィー (PLC) を用いて、抽出物 (3) から分離精製した。得られた有効成分 (3a) は、IR、 ^1H NMR と融点測定からエモジンであると同定した。

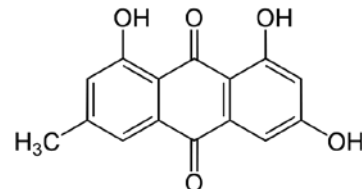


図 2 エモジンの化学構造

⑤ 抽出物 (3) は、約 60% の抑制効果を示した。一方、エモジン (抽出物 (3a)) の抑制効果は 30~40% であった。抽出物 (3) の抑制効果は、エモジン (抽出物 (3a)) 以外の抗腫瘍活性成分も存在する可能性があり、複数の成分による複合的效果により、顕著な抑制効果を示すことが考えられる。

以上のように、イタドリ抽出物 (3a; エモジン) 含有 HL は、MOLT-4 細胞に対して増殖抑制効果を示す事が明らかとなった。エモジン含有 HL は、有機溶媒を用いず可溶化でき、安全性が高いため、将来、臨床への応用が期待できる。

参考文献

[1] R. Ueoka et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 1588-1595 (1988). [2] Y. Matsumoto et al., *Int. J. Cancer*, **115**, 377-382 (2005). [3] H. Ichihara et al., *Int. J. Pharm.*, **394**, 174-178 (2010). [4] H. Nagami et al., *Int. J. Pharm.*, **315**, 167-172 (2006). [5] H. Ichihara et al., *Anticancer Res.*, **28**, 1187-1196 (2008).

業績紹介：プロテアソームによる蛋白質分解に必要な分解シグナルの配置

伊野部智由

(富山大先端ライフサイエンス研究拠点・A03
公募研究代表者)

論文題目: "Defining the geometry of the two-component proteasome degron"

著者: Tomonao Inobe, Susan Fishbain, Sumit Prakash, and Andreas Matouschek

雑誌巻号: *Nat. Chem. Biol.* **7**, 161-167 (2011)

ユビキチン-プロテアソーム系は、不要な蛋白質を分解するだけでなく、細胞機能を制御する蛋白質の濃度調整にも係わっており、その生物学的な寄与は大きい。最終的な分解を担うプロテアソームは、洗練された方法で分解すべき蛋白質とそうでない蛋白質を見分けている。プロテアソームによる標的基質蛋白質の選別機構としてよく知られるのがユビキチン化機構である。この機構により取り付けられたポリユビキチン鎖を目印にして、基質蛋白質はプロテアソームに認識される。しかしながらポリユビキチン化だけではプロテアソームの基質蛋白質選別機構を完全に説明できない。

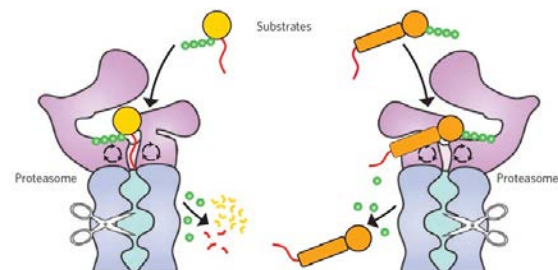
最近プロテアソームによる効率的な蛋白質分解には、ポリユビキチン鎖のほかに、構造をとらないフラフラと揺らいだ変性領域を基質蛋白質が持つ必要があることがわかった[1]。変性領域は基質のアンフォールディング、及び分解の開始サイトとして働く。ポリユビキチン鎖と変性領域は分解ターゲットとなる一つのポリペプチド鎖にある必要はない。これらは複合体を形成する2つの別のサブユニットに分離することができ、効果的な変性領域を持ったサブユニットだけが特異的に分解される[2]。実際にプロテアソームの基質蛋白質の多くは大きな複合体を形成しており、複合体中のサブユニット特異的な分解には変性領域の特性が非常に重要な役割を果たしている。そこで分解を引き起こす変性領域の特性を明らかにするために、我々は変性領域の長さや配置が分解効率にどのような影響を与えるか調べた。

まず分解における変性領域の長さ依存性について調べるために、様々な異なる長さの変性領域を持つユビキチン化基質を用意した。このモデル蛋白質は十分に

長い変性領域を持つ場合、プロテアソームにより分解されるが、長さを20~40残基ほどまで短くすると分解されなくなった。

次にプロテアソーム結合標識と変性領域の距離と分解の関係を調べた。そのためにプロテアソーム結合標識と変性領域の間にタイチン I27 ドメインを挿入した。I27 ドメインのN末端とC末端はお互い離れているため、スペーサーとして用いることができる。このような基質の分解効率を調べたところ、ユビキチンタグから適度な距離にあるときにのみ、効率的な分解が起こることを見いだした。ユビキチンタグから近すぎても遠すぎても、分解を引き起こすことが出来ない。効率的な分解において、スペーサー距離と変性領域の長さ依存性は相補的に働くことから、プロテアソーム結合標識と変性領域が、それぞれプロテアソーム上の別の場所で認識されるということを示唆している。

この配置依存性はユビキチンタグの性質により異なっていた。おそらくプロテアソームのユビキチンタグ認識部位が異なることに起因すると思われる。このようなユビキチンタグごとに異なるシグナル配置依存性は、細胞内の多くの蛋白質の安定性や機能を説明することができる。以上より、蛋白質の細胞内での運命は、ユビキチンタグと変性領域の配置により決定されるといえる。



図：効率的分解のために必要なユビキチンシグナルと変性領域の配置は、それらのプロテアソーム上の認識部位の位置により決定される。

参考文献

- [1] T. Inobe and A. Matouschek, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **18**, 43-51 (2008).
[2] S. Prakash, et al., *Nat. Chem. Biol.* **5**, 29-36 (2009).

業績紹介：酸化物表面ナノ構造が誘起する脂質膜中での異常拡散

手老龍吾

(豊技大エレクトロニクス先端融合研・班友)

論文題目: "Anomalous Diffusion in Supported Lipid Bilayers Induced by Oxide Surface Nanostructures"

著者: Ryugo Tero, Gen Sasaki, Toru Ujihara, and Tsuneo Urisu

雑誌巻号: *Langmuir*, **27**, 9662-9665 (2011)

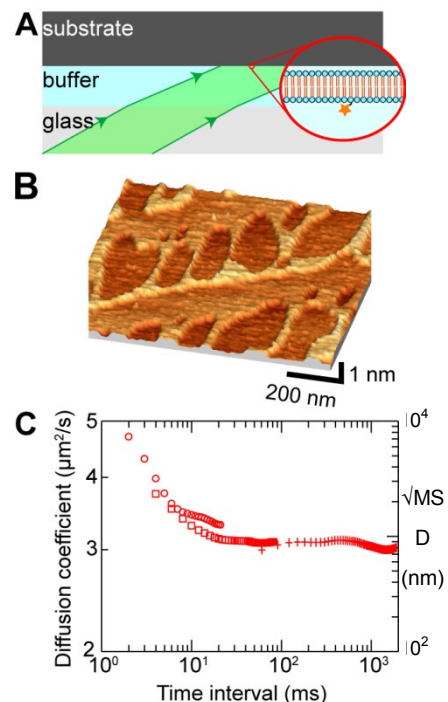
脂質分子が形成する2次元組織化構造や分子拡散は細胞膜反応における重要な要因の一つである。生体中と同様のスケールで階層構造を作りこんだ脂質膜モデル系は脂質ドメインのサイズ依存的な機能や、マイクロスケールでの分子挙動がマクロに伝播する様子を詳細に調べるために有用である。本研究では、固液界面に形成される支持平面脂質二重膜(supported planar lipid bilayer (SLB))を用い、固体基板表面微細構造が脂質分子の異常拡散を誘起することを蛍光一分子追跡法(single molecule tracking (SMT))によって明らかにした。

通常の SMT 法では蛍光標識試料をのせた基板の背面から励起光を全反射条件で入射してエバネッセント照明するため、基板材料がガラスや石英に限られていた。本研究では清浄化したガラス上約 500 nm に逆さまに基板を配置して励起光を斜めに導入することにより(図 A)、基板材料の透明度や屈折率に関わらずに SMT 計測を行うことを可能にした。基板として単結晶 TiO₂(100)基板上に原子ステップと平坦なテラスからなるステップ&テラス表面(図 B)を用いた。TiO₂(100)表面(図 B)には、テラス内に原子ステップで形成されるピットが存在する。この基板上に蛍光標識脂質(lissamine rhodamine B - dipalmitoylphosphatidylethanol-amine (Rb-DPPE))を 4×10^{-9} - 6×10^{-8} の割合で含む dioleoylphosphatidylcholine (DOPC)-SLB をベシクル融合法によって形成した[1]。

DOPC-SLB 中での Rb-DPPE の分子拡散について 33 fps ($\Delta t = 30$ ms) - 1004 fps ($\Delta t = 996$ μ s)の時間分解能で SMT 計測を行った。各分子の拡散軌跡から平均二乗変位(MSD)を計算し、その分子間平均をフィッティングして拡散係数(D)を求めた。33 fps での計測では MSD が時間間隔(τ)に対して直線的に増加するのに対

し、1004 fps での計測では MSD の傾きが τ に依存して変化する異常拡散が起きていることを見出した。

TiO₂(100)表面上においては、 $\tau = 2$ ms、平均拡散距離($d = \sqrt{\text{MSD}}$) 160 nm で $D = 4.70$ $\mu\text{m}^2/\text{s}$ の拡散係数が、 $\tau = 10$ ms、 $d = 390$ nm の時間・空間スケールまで拡散するうちに 3.3 $\mu\text{m}^2/\text{s}$ まで減少し、 $\tau = 20$ ms、 $d = 710$ nm 以上のスケールではほぼ一定の値(3.1 $\mu\text{m}^2/\text{s}$)をとった(図 C)。TiO₂(100)表面上での平均ステップ間距離に近い値であることから、基板表面構造に誘起された異常拡散現象であると考えられる。我々は以前、TiO₂(100)上の PC-SLB が表面原子ステップをなぞった階段状の構造を取ることを見出している[1]。基板原子ステップに沿った SLB の歪みが拡散のエネルギー障壁として働いていると考えられる。本研究の結果は、基板表面上の微細構造を利用することにより、脂質膜内での分子拡散挙動の時間・空間依存性を制御できる可能性を示している。



図(A) 斜入射照明による SMT 計測のセットアップ。(B) 原子ステップ & テラス TiO₂(100) 表面。(C) TiO₂(100)上 DOPC-SLB での拡散係数の時間依存性。

参考文献

[1] R. Tero et al., *Langmuir* **24**, 11567-11576 (2008).

シンポジウム報告

Telluride Science Research Center Workshop on Protein Dynamics

北尾彰朗

(東京大学分生研・A01 公募研究代表者)

米国コロラド州テリュライドの Telluride Science Research Center (TSRC)が主催する会議が、今年も6月中旬から8月中旬にかけて30余りが開かれた。表記のワークショップは2年に一度開催されているもので、2011年は8月1日から5日まで行われた。前回の様子はニュースレターNo.9で片岡先生が紹介されているので興味のある方はご覧いただきたい。

このクロズドで行われる討論重視のワークショップで、今回31の講演があった。講演者は Protein dynamics の分野から”Scientific diversity”をなるべく持たせるという方針のもと招待されている。日本からの参加者は講演順に、池口満徳氏(横浜市大)、片岡幹雄氏(奈良先端大)、小松崎民樹氏(北大)、水谷泰久氏(阪大)と今回4人のオーガナイザーの1人となった筆者であった。あと2名の方が日本から招待されていたが、残念ながら地震の影響もあり今回は参加を見合わせられたようである。ワークショップには並行して開催されていた”Exploring Energy Landscapes”からも時折何人かの参加者があり、しばしば40分の講演時間を大幅にオーバーして活発な議論が行われた。会議の性質上、個々の講演に関するコメントは控えるが、全体を通して気づいたことをいくつか述べてみたい。

多数の研究者が、複数の手法を用いて異なる角度からダイナミクスを観察することで、その実像を明らかにするという方針を徹底して行っていた。例えば、日本でも実験とシミュレーションの両面からタンパク質ダイナミクスが研究されるようになってきたが、当然なすべきと考える研究者はまだ少数派ではないか。しかし、今回の講演では実験結果の説明に対して、なぜシミュレーションで確かめられないのかという質問が当然のように投げかけられていた。つまり実験とシミュレーションはどちらも実行されるべきであるというのが参加者共通の認識であった。

X線結晶解析・NMR・電子顕微鏡は日本では主に立体構造決定のツールであって、ダイナミクス研究のために用いている研究者は少ない。しかし、今回の会議

ではそれぞれの手法を用いたレベルの高いダイナミクス研究が発表されていた。オーガナイザーとして筆者が最も困ったのはこの点であった。浅学にしてアジアからの対抗馬が思いつかなかったのである。

独創的研究・古典的研究や異なるアプローチによる研究を評価すること。つまり流行を追いかけるだけではなく、長年研究され続けている問題や、他ではあまり研究されていない問題に関する研究が高く評価されていた。今回で最も議論が白熱したと感じたのは水とタンパク質ダイナミクスの問題であった。筆者も長年この問題に取り組んできたが、今回は「ちょっと新しい話」をしてみようと水の問題に触れなかったことを後悔している。

結果として、広い分野から研究者を集め、共同研究を押し進めている本領域の貴重さを再認識することとなった。筆者は2年後のワークショップでも4人のオーガナイザーのひとりとして参加予定であるので、ふさわしいと思われる方の推薦や本新学術領域の研究者からの「売り込み」を大いに歓迎する。しかし、招待講演者は、オーガナイザーの議論で決定するので必ずしもご期待には添えないことにご留意いただきたい。



写真 筆者が滞在したホテル近くの Beaver Creek とビーバーの巣。ワークショップは自然環境に恵まれた地で開催され、空き時間に登山やハイキングに行く参加者も多い。登山で雷雨に見舞われたりクマに出会ったりすることもあるそうだし、高地(海拔2700m)なので時には高山病でダウンする人もいますのでご注意ください。

受賞報告：miR-17-92 cluster が癌細胞に及ぼす影響

鈴木 元

(名大院医・A03 公募研究代表者)

名古屋大学大学院医学系研究科では3年生の10月より翌3月まで、学生を基礎系研究室に配属して研究に携わせる基礎医学セミナーという実習を実施しております。過日その成果発表会が行われ、審査員による投票の結果、指導学生の松野宏樹君が最優秀研究賞を受賞いたしましたのでご報告申し上げます。

松野君の発表は過酷な環境における microRNA の機能と癌細胞の生存、増殖に関するものであります。研究のキーワードの一つ、microRNA は蛋白に翻訳されず、22 塩基程度の RNA 分子として働き、特定の mRNA の蛋白への翻訳を抑制いたします。

今回、松野君および大学院生の曹さんは microRNA のひとつ、miR17-92 cluster の標的遺伝子を探す過程で、細胞増殖に関わる脱リン酸化酵素の 3' UTR に miR-17-92 cluster の結合部位と推定される場所が多数存在することに気がきました。なお、この脱リン酸化酵素に関する研究は継続中なので、今回の報告では仮に PPx と呼称させていただくことをお許しください。

そこで、松野君はレポーターベクターを用いて種々の条件下で実験を行いました。その結果、miR-17-92 は PPx の 3'UTR に直接結合し、このタンパク質の発

現抑制をすることを明らかにいたしました。

次に、松野君は RNAi によって肺癌細胞の PPx 発現量を低下させました。そしてこの細胞が種々のストレス存在下でコントロール群に比較し良好に生存することを発見しました。さらに、この表現型は PPx および miR17-92 cluster の下流にある転写因子 HIF1 α を介していることが明らかになりました。

以上の実験から松野君は、miR-17-92 が PPx 発現抑制を通じて HIF-1 α 発現を制御していること、HIF-1 α がストレス下において種々の蛋白の発現に影響を与えること、その結果、癌細胞は本来の発生場所と異なる転移先、あるいは低酸素といった過酷な環境下でも生存できる能力を獲得すると推察いたしました。

もとよりわずか半年間の研究成果ですので、客観的にみればたいへん至らない内容ではございますが、松野君、及び松野君の指導を行ってくれた大学院生の曹さんにはたいへん喜ばしい成果となったのではないかと思います。

参考文献

鈴木元、高橋隆 がんと microRNA、血液・腫瘍科 2010: 61; 621-626

鈴木元、高橋隆 がんと microRNA、癌細胞イラストレーテッド (羊土社) 2011:169-176



大学院生の曹さん(左)と賞を獲得した学部学生の松野君(右)