

業績紹介：光による DNA-タンパク質間相互作用制御

寺嶋正秀

(京都大院理・A01 計画研究代表者)

論文題目："Photoreactions of Aureochrome-1"

著者： T. Toyooka, O. Hisatomi, F. Takahashi, H. Kataoka, M. Terazima

雑誌巻号： *Biophys.J.*, **100**, 2801-2809 (2011)

近年、フシナシミドロ中でオーレオクロムという新規の青色光受容タンパク質が発見された。オーレオクロムには、オーレオ1とオーレオ2の2種類があり、オーレオ1は主に枝の成長点である突起の発生を担い、オーレオ2は枝の成長の源となる生殖器官の形成を制御していることが報告されている。このタンパク質はC末端側に青色光センサーとして働くLight-Oxygen-Voltage-sensing (LOV)ドメインをもち、中央部には転写因子として働くことで知られるbasic region-leucine zipper (bZIP)ドメインをもっている。オーレオクロムは暗状態でダイマーを形成しており、青色光を受光すると各々のbZIPドメインでDNAを挟み込むかたちで結びつくといわれており、それが機能発現に重要であると考えられているが、その反応についてはほとんどわかっていない。ここでは、LOVドメインのみのAC1-LOVと、オーレオ1のN末端側を100残基ほど切ったAC1-ZCを用いて、過渡回折格子(TG)法により反応ダイナミクスを調べた。AC1-ZCはLOVドメインとbZIPドメインを保持しており、機能発現までの光反応は全長と同様に起こることが示されている。

AC1-LOVを光励起後に見られるTG信号を図1に示す。～2μsの時間スケールにLOVドメインにあるシステイン残基と発色団であるFMNとの共有結合形成の信号と、～10μsに励起分子から放出された熱の拡散が観測された。また、さらに遅い時間スケールに、立ち上がりと減衰を示す山型の信号が観測された。これは分子拡散信号であると同定され、立ち上がり成分が反応分子の拡散、減衰成分が生成分子の拡散を表すことがわかった。この拡散係数変化を伴う反応がどのような反応かを知るために、拡散信号の濃度依存性を調べたところ、拡散信号に顕著な濃度依存性が見られ、モノマーからダイマーへの会合反応が起こっていることがわかった。一方で、bZIPドメインを持つAC1-ZCを光励起したのちにも、同様な拡散係数変化を示す信号

が得られたが、拡散係数の値からこれはダイマーとして存在すること、AC1-ZCの濃度を変えても拡散信号に顕著な変化は見られなかったことから、この反応は会合反応ではなく構造変化を伴う反応であることがわかった。こうした事実と、光励起によってDNAとbZIPドメインとの相互作用が減少するという観測から、光によるDNA相互作用の変化は、図2のようなスキームで表されるものと提案した。我々はLOVドメインの分子間相互作用変化は揺らぎを使って制御されていると考えているが、この蛋白質では、それがDNAとの相互作用を変える原因になっていると思われる。

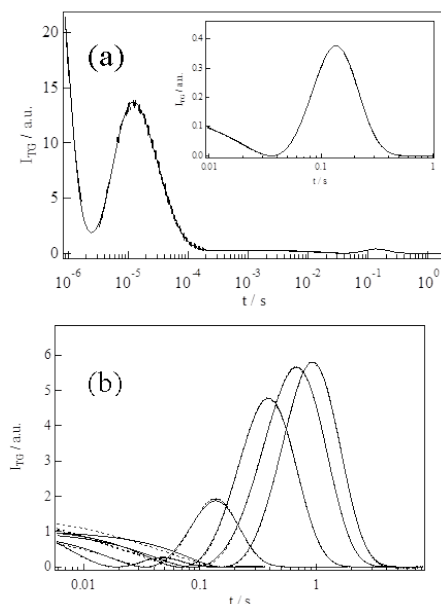


図1 (a) AC1-LOV 光励起後に観測されるTG信号。(b) 拡散係数変化を表す信号の回折格子波数依存性。

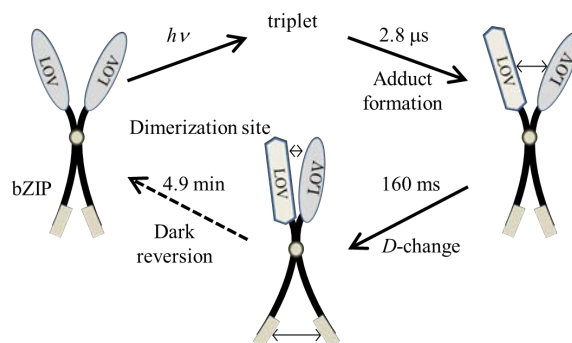


図2 提案したオーレオクロムとDNAとの相互作用スキーム

業績紹介：3D-RISM で PYP 中の溶媒構造を解析

吉田紀生

(分子研・A03 計画研究分担者)

平田文男

(分子研・A03 計画研究代表者)

片岡幹雄

(奈良先端大物質創成・A02 計画研究代表者)

論文題目："Solvent penetration in photoactive yellow protein R52Q mutant: A theoretical study"

著者：Daniel J. Sindhikara, Norio Yoshida, Mikio Kataoka, and Fumio Hirata

雑誌巻号：J. Mol. Liq., **164**, 120-122 (2011)

Photoactive yellow protein (PYP) の R52Q 異性体は、光受容体近傍の残基の異性化にもかかわらず、スペクトルがほとんど変化しないことが知られている[1]。すなわち、正電荷を持つアルギニンから、電荷的に中性なグルタミンへの置換は光受容体近傍の静電ポテンシャルを大きく変化させ、受容体の吸収スペクトルへ影響を与えるはずであるが、このような変化は観測されていない。このため、光受容体近傍の電荷条件が変化していないと考えられ、その条件は2つの状態が考えられる。1つはもともとのアルギニンがプロトン化しておらず中性である場合、もう一つは異性化後に溶媒

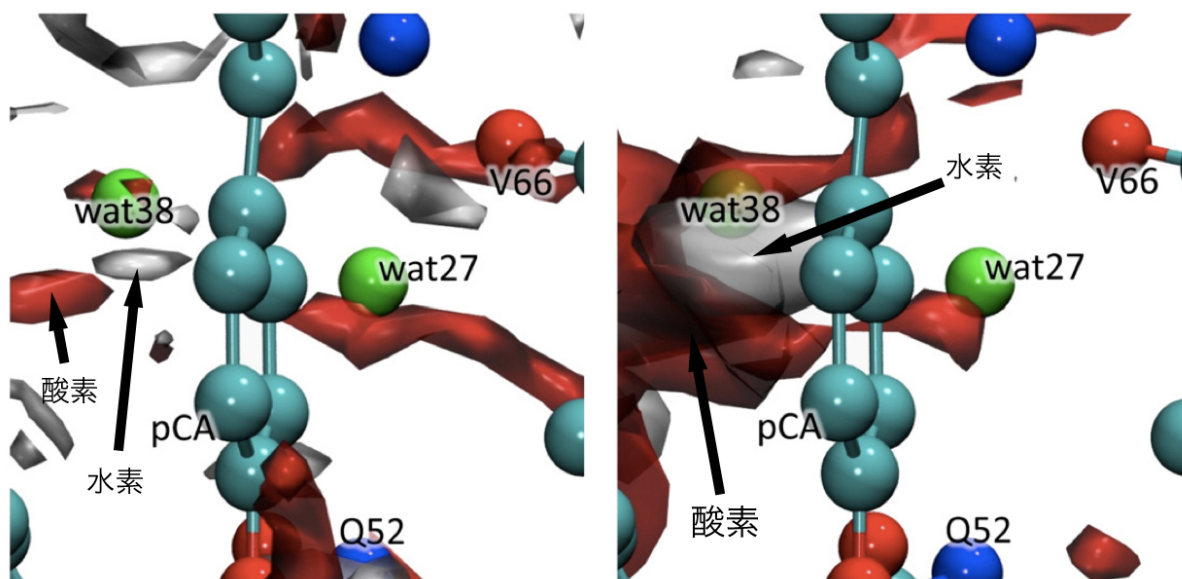
がプロトンを提供する場合である。

この問題を検証するため、我々は液体の統計力学理論である 3D-RISM[2,3]を用いて、PYP の水和構造およびプロトン（水素化物イオン）の分布を求めた。3D-RISM はこれまで多くの生体分子の水和、分子認識の問題に応用され、多くの成功を収めている[4]。R52Q の光受容体近傍の水の分布および水素化物イオンの分布を図に示す。水素化物イオンの分布強度から、キャビティ内のプロトンの存在確率はバルクよりも高いことが分かった。しかし、配位数（分布関数に平均密度を掛けたものをキャビティ空間内で積分したもの）は依然として低く、水分子が多勢を占めていることが示唆された。

今回の解析ではこのような傾向が示されたが、キャビティ内の電荷状態を決定するにはさらなる定量的な解析が必要であり、現在、解析を進めている。

参考文献

- [1] K. I. Mihara et al., *J. Biochem.* **121**, 876 (1997)
- [2] D. Beglov et al., *J. Phys. Chem. B* **101**, 7821 (1997)
- [3] A. Kovalenko et al., *Chem. Phys. Lett.* **290**, 237 (1998)
- [4] N. Yoshida et al., *J. Phys. Chem. B* **113**, 873 (2009)



図：水（右）および水素化物イオン（左）の3次元分布。赤は酸素原子，グレーは水素原子を表す。

シンポジウム報告

The 5th International Symposium on Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions

片岡幹雄

(奈良先端大物質創成・A02 計画研究代表者、
第5回公開シンポジウム世話人)

本新学術領域「揺らぎと生体機能」の第5回国際シンポジウムが、松飾りもまだ取れない1月7日、8日の日程で、東大寺の境内の総合文化センターで開催された。東大寺総合文化センターは、昨年オープンしたばかりであり、メイン会場の金鐘ホールをはじめとして、木の香もかぐわしく、新年早々のシンポジウムにはふさわしい会場であったと思う。併設されている東大寺博物館には法華堂から移されていた国宝の不空絹索観音立像と日光、月光両菩薩が展示されており、講演のあいまに訪れる方も多かったと思う。外国からの招待講演者にも喜んでいただけたであろう。舞台裏を明かせば、奈良の会場としてやはり外国人からは好評の新公会堂で開催するつもりであったが、新年最初の土日ということで新春能が開催されており、利用することができなかったのである。他の会場を予約していたのだが、準備の段階で、東大寺総合文化センターがオープンするとの話を聞き、候補に加えたのであった。昨年の10月になっても使用料などの詳細が決まらず、不安要素があるまま、ここを利用することに決めたのである。予算立てが難しく、実際に運営にあたっていた藤澤さんには大変な迷惑と心配をおかけした。

参加者は国内から班員を中心に140名、海外19名であり、14件の招待講演と108件のポスター発表があった。今回の国際シンポジウムでは、二つの新しい試みをした。一つは招待講演者のうち、1989年ノーベル化学賞受賞者のThomas R. Cech教授の講演を市民公開講演会として開催したことである。公開講演会は、奈良先端科学技術大学院大学との共催としていただき、大学の持っている広報ネットワークを宣伝のために利用させていただいた。そのため、6日の毎日新聞に公開講演会の案内記事が掲載され、その記事に触発されて参加した方もおられた。一般からの参加者は10名であった。第2点は若手セッションを設けたことである。

このセッションでは演者4名と座長2名を本新学術領域の公募研究代表者の30代の若手研究者から選んだ。

“揺らぎと生体機能”の研究領域が形成されたのち、この領域を発展させていく若手研究者を養成することは、本新学術領域の使命の一つなのである。このような試みは、今後も続けていく必要があるだろう。本シンポジウムの内容に関しては、3名の班員の方からの報告を参照していただきたい。最後に、運営にご尽力いただいた秘書の藤澤祐子さん、片岡研のスタッフ、学生みなさんに感謝の意を表したい。



櫻井一正

(大阪大学蛋白質研究所・A01 公募研究代表者)

2012年1月7、8日に奈良東大寺総合文化センターで行われた「揺らぎと生体機能」第5回公開シンポジウムに参加した。このシンポジウムのプログラムは、海外の研究者および領域内から選ばれた班員による招待講演と、海外の研究者および領域の班員、班友によるポスター発表から成っていた。今回のシンポジウムでひとつ感じたことは、ポスター発表の場での議論が普段の学会と異なり、とてもなじんだ雰囲気だなされていたことである。同じ領域内の参加者という連帯感がそのような雰囲気をつくり出していたのかも知れない。

さて、今回のシンポジウムには多くの海外講演者が招待されたが、その中で触れておかなければならないのは、やはりノーベル賞受賞者であるThomas Cech博



Thomas R. Cech 博士

士であろう。Cech 博士には 8 日に市民公開講演を行っていただいたが、その前日の 7 日の懇親会の挨拶で以下のようなことをおっしゃっていた。つまり、「1300 年もの歴史があるこの奈良で、時代の最先端をいく科学領域の発表、議論を行うことはとても素晴らしいことではないか」というのである。日本人にとって奈良は、修学旅行で定番の日本の史跡の典型であり、あまりそれ以外の側面を考えない。しかし、深読みすれば、Cech 博士は科学の進展も歴史の一部であり、それと奈良時代がつながっていることを感じ取られていたのではないかと思う。その言葉に私は何かはっとさせられるものがあつた。

しかし、その言葉がさらに意味を持つのはその翌日の市民公開講演の時である。Cech 博士は、自身のリボザイムの発見やその反応機構の研究を軸に最新の成果も発表されたが、それに加えて RNA が生命の起源の物質であるという持論も展開された。生命物質は、自己を複製できることと生命反応を触媒することの両方が要求される。RNA はそのどちらも行うことができるため生命の起源なのではないかと言うのだ。そして現在は進化の過程で自己複製は DNA に、反応触媒は蛋白質に担い手が変化していったのだと。

このメッセージの時にさらにはっとした。というのも前日の懇親会で博士は現在と 1300 年前の繋がりについて話された。しかし、博士は自身の研究の中で、現在と 35 億年前の繋がりについて述べられたのである。この時間スケールに対する思考の広さというか柔軟性はなんとすごいことか。

翻って自分の研究においては、分子の揺らぎに集中し過ぎ、ピコ秒からせいぜい秒オーダーの現象にしか思いを馳せることがない。しかしたまには、自分の研究を“歴史”や“生命誌”と連結して考えてみるこ

も何かの発見につながるのかも知れない、そう思った今回のシンポジウム参加であった。東大寺の境内という場所は、そのような思いを馳せる場所として最適だったのかも知れない。

最後に、このようなすばらしいシンポジウムを企画、運営してくださった、片岡先生、藤澤さん、そして同研究室の運営スタッフの方に感謝の気持ちを述べたいと思います。

楯 真一

(広島大学理学研究科・A02 公募研究代表者)

第 5 回国際公開シンポジウムは、新年の改まった雰囲気の中、奈良・東大寺で行われました。新年早々の休日であったおかげで、大学の行事に妨げられず気分的にも落ち着いて参加でき、大変に得るものの多い研究会でした。まずは、オーガナイザー片岡先生のグループの方々のご苦勞に感謝致します。

個人的に特に興味を持った発表について紹介させていただきます。領域評価委員 Miller 氏 (Univ. Toronto) の電子回折ムービーとして分子の動きを原子レベルで観測する研究は、いつも圧倒されます。今回の発表では、最近の成果に加えて、研究の動機から最終的には何をやりたいのかなどについて、映画のシーンも使いわかりやすく解説していただきました。プレゼンテーションのお手本のような明快で楽しい発表でした。Stadler 氏 (Research Center Jülich) は、中性子線散乱を用いて細胞内 (赤血球) の水やタンパク質の動態を解析する方法について発表されました。細胞内の水の 90% はバルクと同じであり、10% 程度が水和水に相当するという結果は、思ったよりも細胞内環境がバルク溶液に近いことを教えてくれました。同じく中性子線



講演会場

散乱を用いた細胞内タンパク質の拡散速度の定量的解析から、ヘモグロ빈は体温近傍で微少な構造変化をすることが示されました。また、そのような構造変化を誘導する温度は、それを保有する生物の体温と相関がありそうだという指摘もありました。微少構造変化の分子の実体については不明なようですが、興味深い現象だと思いました。中性子線散乱を用いた研究の展開を知ることができて印象深い発表でした。

若手研究者発表では、石井氏（理研）の FRET とパルスレーザーを巧みに使った 2 次元相関分光法の紹介が印象に残りました。高い時間分解能で大きな振幅をもつタンパク質の運動を追跡する方法として将来発展すると期待させる発表でした。竹内氏（産総研）は、分子量の大きなキナーゼを対象とした野心的な研究を報告されました。アロステリック構造変化による機能制御機構の解明に迫ろうとしています。NMR のみでは攻めきれない問題も含んでいるようで、シミュレーションや他の計測技術を併用した研究展開が望まれるのではないかと思います。

2 日目の北尾氏（東大）のドメインダイナミックスを解析するための MD 法の報告には大変に興味を持ちました。私自身も、NMR を用いてドメインダイナミックスを解析する研究も進めています。NMR 分光学的パラメーターとして得られるドメイン間揺らぎの情報から、分子構造としての実体を知るには MD の利用は不可欠であると実感しています。北尾氏の提案された方法を用いて、私たちの実験結果の解析を進めたいと思いました。

松本氏（崇城大）のハイブリッドリポソーム(HL)研究に関する包括的な報告は、HL の医学的応用の成果を次々と示されて大変に印象に残りました。膜の流動性の違いのみをマークして、がん細胞と正常細胞を明瞭に見分けるという HL の医学的応用の有用性の確立は、この研究領域の重要な成果として社会にアピールできるものだと感じました。

そのほかには、Cech 博士の市民講座も開催されてノーベル賞につながった RNA 研究の歴史から最新の研究成果まで大変にわかりやすい講演を聴くことができました。ポスターでもいくつも興味深い発表があり、十分なポスターセッションの時間の中で何人かの研究者と議論させていただき大いに刺激を受けました。

生物系の研究とは、生物の多様性ゆえ枚挙にはしる傾向があり、手法は同じで対象が違うだけというよう



ポスターセッション

な研究発表が延々と続いてうんざりする研究会というものもあります。しかし、本領域での研究のほとんどは、独自の手法を開発しながら揺らぎに関わる新しい現象を追求するというスタイルのものであり、班会議・シンポジウムのたびに刺激をうけて、自らも新しい研究に取り組もうという意欲をいただいています。今後もこのような研究会が持続・発展することを切に願っています。

相沢智康

（北海道大学大学院先端生命科学研究院・A03 公募研究代表者）

新年を迎えた 1 月 7 日、8 日の 2 日間にわたり開催された本領域の第 5 回公開シンポジウムに参加させていただいた。会場となった東大寺総合文化センターは、旧東大寺学園の跡地に昨年建設されたばかりの真新しい施設であるが、東大寺の南大門を入ってすぐというまさに世界遺産の真ん中という立地であり、東大寺ミュージアムなどが併設されていることや、意匠を凝らした金鐘ホールが口頭発表会場であったことなどから、奈良という都市のもつ歴史を強く感じながら、生命分子の揺らぎに関する最新の研究成果に触れる、という印象深いシンポジウムとなった。

初日の Dwayne Miller 先生のユーモアあふれる講演から始まった 2 日間にわたる招待講演は、多くの海外からの研究者や本領域で活躍する研究者による非常に幅広い分野に渡るものであったが、生命分子の揺らぎについて様々な切り口から取り組む先端の研究の紹介はいずれも刺激的なものであった。

2 日目の午後のノーベル化学賞受賞者の Thomas

Cech 先生の講演は一般公開シンポジウムとして開かれたこともあり、基礎的な内容から非常に判りやすく丁寧に、しかしながら熱意をもって講演される先生の姿は非常に印象的であり話に引き込まれた。講演では RNA が初めて触媒機能をもつ分子として働く事を明らかにしノーベル賞の受賞理由ともなった自己スプライシング RNA に関する研究と、同じく機能性分子として RNA が働くが蛋白質との共同的な作用が重要となっているテロメラーゼについての single-molecule FRET を用いた最新の研究成果が紹介された。講演内容は生命の起源に関する仮説にも及び、会場からも多くの質問がなされた。また、機能性の RNA 分子も揺らぎを持つ分子であるということは明らかなのにもかかわらず、その機能との関連はほとんど明かではない、とのコメントがあり、揺らぎに関しては研究手法の開発と合わせて未知なるテーマが多いことも強く感じさせられた。

また、印象に残っているのは1日目の午後に若手招待講演という形で行われた、本領域において活躍される4名の若手研究者による講演である。私が所属するA03班「揺らぎと機能」からも、竹内恒先生と元島史尋先生の講演が行われた。竹内先生からは p38 α MAP キナーゼにおいて、触媒部位から大きく離れた部位への基質の一部分の結合が、触媒部位の揺らぎを制御し活性型にコンフォメーション変化させる、という巧みな制御機構について NMR 法を駆使して明らかにした研究成果が発表された。また、元島先生からは、先生



若手招待講演

の研究グループが提案されている GroEL によるフォールディング援助のメカニズムの新しいモデルに関して、それをサポートする single-pair FRET や熱力学的解析の結果が紹介された。解析結果は、GroEL の持つ疎水性残基との相互作用により、変性蛋白質が自発的フォールディングと比較してよりアンフォールドした状態からフォールディングを開始することを示した非常に興味深いものであった。すべての若手研究者の講演において、活発に質問や討論が繰り返され、たいへん盛り上がりを見せた。

このほか、ポスター発表会場においても、熱心に議論を交わす姿や、共同研究の打ち合わせを進める姿などが数多く見られ、本領域での研究交流が活発に進められていることを強く感じ、会場内では新春の奈良の肌寒さをすっかり忘れさせられる熱い2日間であった。



東大寺南大門での集合写真

シンポジウム報告

4th Japan-Korea Seminar on Biomolecular Sciences – Experiments and Simulations

新井宗仁

(東京大学総合文化・A02 公募研究代表者)

2012年1月に奈良県の東大寺総合文化センターにて、当新学術領域の公開シンポジウムが開催されましたが、その直後の1月9日(月)から11日(水)までの3日間、同じ会場にて、標記の国際シンポジウムが開催されました。これは、分子科学研究所の Asian CORE program の主催、当新学術領域の共催によって開催されたものであり、桑島邦博教授(岡崎統合バイオ、A03 計画研究代表者)、片岡幹雄教授(奈良先端大、A02 計画研究代表者)、Jooyoung Lee 教授(KIAS)、および、Hawoong Jeong 教授(KAIST) がオーガナイザーでした。また、当新学術領域から約10人の研究者が参加しました。

このシンポジウムは、これまでに日本と韓国で交互に開催されており、今年で4回目でした。約40件の口頭発表(各25分程度)があり、日本と韓国の生体分子科学の研究者がそれぞれ約20件ずつの発表を行いました。発表は、日本からと韓国からの発表が交互に行われるように配慮されていました。また、実験系と理論系の発表が半数ずつありました。1日目は主に理論系、2日目は主に実験系の講演が多かったですが、理論系・実験系の研究者が互いの発表に対して積極的に質問していたのが印象的でした。

お昼休みが毎日2時間あったので、食事のあとに東大寺などに行く時間もありました。また、私は参加しなかったのですが、奈良県ビジターズビューローのサポートにより、最終日の午後に、法隆寺や唐招提寺へのエクスカーションもありました。さらに、夜にはカラオケに行って、日韓の親交を深めた方々もいらっしゃいました。韓国からの皆さんのみでなく、国内の研究者にとっても楽しい時間を過ごすことができたのではないかと思います。

研究発表の内容は非常に多岐にわたっており、一言で言い表すことができないほどでした。キーワードだけ並べていきますと、タンパク質のフォールディング機構、タンパク質のダイナミクス、天然変性タンパク質、モルテン・グロビュール状態、タンパク質の安定

性、網羅的変異、X線結晶構造解析、NMR、FTIR、FRET、蛍光イメージング、ニューラルネットワーク、分子動力学シミュレーション、拡張アンサンブル法、マルコフ・モデル、リガンド・ドッキング、水のダイナミクス、機能予測、等々。

このような発表の多様性は、生体分子科学という研究分野の多様性を象徴しているように思われます。実際、私たちの新学術領域にも3つの班があり、各班の中には、多様な研究テーマが存在しています。現在の生体分子科学には、生物学のみでなく、物理学、化学、情報学、数学、医学、薬学などの様々な分野の実験的・理論的研究が必要です。その中から、全体にわたる基本概念や共通認識を抽出することはとても大切なことですが、同時にそれはとても難しいことだと思います。しかし、多様な分野の研究者が一堂に会して、お互いの研究を紹介し、自分なりの物の見方を語ることによって、少しずつ共通認識へと近づいていくのではないかと思います。その際に、キーワードがあると議論しやすいですが、「揺らぎ」という言葉は、そのようなキーワードとして最適であり、現代の生体分子科学から得られつつある描像を端的に表すものであると感じています。

この日韓セミナーは、来年2月25-27日に第5回目が韓国で開催予定になっています。このような会議を通して、「揺らぎ」の次のキーワードへの手がかりが得られることを期待したいと思います。



東大寺南大門の前にて

水口峰之

(富山大学大学院・A03 公募研究代表者)

標記のセミナーが 2012 年 1 月 9 日～11 日に東大寺総合文化センターにおいて開催されました。

このセミナーは、日本の分子科学研究所、韓国の KIAS (Korea Institute for Advanced Study) と KAIST (Korea Advanced Institute of Science and Technology) の共同セミナーです。2009 年から始まった本セミナーは今回で 4 回目になります。

新学術領域研究「揺らぎと生体機能」の計画班から、以下の 6 件のご講演がありました。岡本祐幸先生が「Generalized-ensemble simulations for protein folding, unfolding, and ligand binding」、加藤晃一先生が「Protein dynamics in the ubiquitin-proteasome system」、片岡幹雄先生が「Molecular anatomy of staphylococcal nuclease」、芳坂貴弘先生が「Site-specific incorporation of fluorescent nonnatural amino acids into proteins and its application to FRET analysis of protein structure」、桑島邦博先生が「Some remaining questions about the mechanism of protein folding」、平田文男先生が「Exploring life phenomena with a statistical mechanics of molecular solution」のタイトルでご講演されました。

公募班からは、西村千秋先生が「Fluctuating structures during the folding events of apomyoglobin: non-native structure in the intermediate」、新井宗仁先生が「Molecular recognition by intrinsically disordered proteins」、著者が

「Dynamic structural changes of the intrinsically disordered protein PQBP-1」のタイトルで講演を行いました。

また、桑島研究室（岡崎統合バイオ）の中村敬先生が「Structure and biological function of anti-tumor complexes between oleic acid and proteins in the molten globule state」、真壁幸樹先生が「Structural insights into the stability perturbations by N-terminal variations in human and goat α -lactalbumin」、加藤研究室（岡崎統合バイオ）の矢木真穂先生が「Spectroscopic characterization of conformational transitions of membrane-binding peptides upon their specific interactions with glycolipids」について講演を行いました。

3 日間で合計 40 件の講演が行われましたが、シミュレーション中心の講演（17 件）と実験中心の講演（23 件）が程良くミックスされたプログラムでした。また、いずれの講演も先進的であり、終始活発な討論が行われました。

会場の周辺には、東大寺、春日神社、奈良国立博物館、興福寺などがあり、昼休みを利用して観光を楽しんだ参加者も多かったようです。また、3 日目の午後には法隆寺などを巡るエクスカーションもありました。

最後に、このような刺激的なセミナーを主催してくださった桑島先生、片岡先生、Jooyoung Lee 先生（KIAS）、Hawoong Jeong 先生（KAIST）に感謝いたします。



エクスカーションでの集合写真