

業績紹介：分子間信号伝達の時間分解追跡；新規機能・光強度センサー

寺嶋正秀

(京都大院理・A01 計画研究代表者)

論文題目："Time-Resolved Tracking of Interprotein Signal Transduction: Synechocystis PixD-PixE complex as a Sensor of Light Intensity"

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

雑誌巻号：J. Am. Chem. Soc., **134**, 8336–8339 (2012)

以前にも本ニュースレターで紹介したように、PixD は常温性シアノバクテリアの走光性の制御に関わる青色光センサータンパク質である。光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 Flavin) ドメインを持ち、その構造や光反応機構が近年多くの興味を集めている。主にゲルクロマトグラフィーを用いた研究により、レスポンスレギュラータンパク質 PixE の存在しない時には PixD は 2 量体として存在し、PixE を加えることで PixE 5 分子と PixD の十量体を含んだタンパク質複合体 (PixD₁₀-PixE₅) を作ることで、ここに青色光を照射すると PixD 二量体と PixE 単量体に解離すること、それにより生理活性が制御されているらしいことなどが報告されてきた。我々は PixD の光反応を、分子間相互作用変化を時間分解検出できる過渡回折格子(TG)法を用いて調べたところ、この多くの人が信じてきたこのスキームは間違っており、PixD だけでも十量体として存在して、それは 2 量体との平衡にあること、十量体のうち複数個が励起されると解離することなどを示した。今回、より生体反応に関係する PixD₁₀-PixE₅ 複合体の反応を検討した。

図 1 に PixD のみの溶液と PixE を含む溶液を青色光で励起した後観測される TG 信号を示す。この時間スケールでの立ち上がり減衰を示す信号は、それぞれ生成分子と反応分子の拡散信号であることが格子波数を変化させた実験により示された。減衰の速度がかなり異なっているのは、PixD 十量体と PixD₁₀-PixE₅ の大きさの差による拡散係数の違いで説明できる。一方、立ち上がりの速度は 2 つの信号で似ているが、これはどちらも解離して PixD の 2 量体と、PixD₁₀-PixE₅ では PixE が作られていることを反映している。(PixD₂ 量体と PixE の大きさはほぼ同じなので拡散係数も近い。) よって PixD₁₀-PixE₅ の反応はゲル濾過

実験から報告されていたように PixD 二量体と PixE 単量体に解離すると言える。励起光強度を変化させて測定して、この信号の強度をプロットしたのが図 2 である。この変化を、単量体励起、2 量体励起、3 量体励起を仮定してフィットしたのが、破線、実線、点線であるが、これを見ると、明らかに反応は 2 量体励起で起こっていることがわかる。すなわち、生理活性を制御する反応が 2 光子で起こっていることがわかった。このことは、PixD は単なる光センサーではなく、光強度センサーと呼ぶべきものであることを示す。またこの結果は、以前に我々が示した、Met93 残基およびこれを含むループ領域の構造変化、あるいはその領域での揺らぎ増大が生理活性に重要であることを示していると考えている。

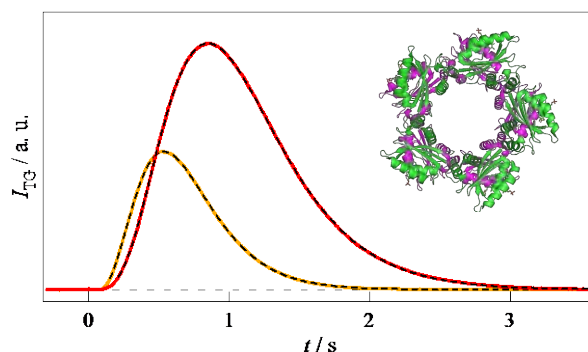


図 1 PixD のみ(黄線)と PixD₁₀-PixE₅(赤線)の過渡回折格子信号。X 線結晶解析で得られている PixD₁₀ 量体構造も示す。

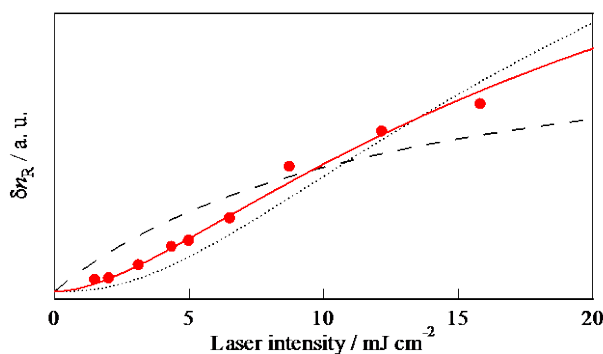


図 2 反応効率を示す信号強度の励起光強度依存性(赤丸)と、1 光子(黒破線)、2 光子(赤実線)、3 光子(黒点線)励起によるベストフィット曲線。

業績紹介：確率共鳴を利用し、DNA ヘアピンの速いダイナミクスを検出

林久美子

(東北大学工学研究科・A01 公募研究代表者)

論文題目："Single-Molecule Stochastic Resonance"

著者：Kumiko Hayashi, Sara de Lorenzo, Maria Manosas, Josep Maria Huguet, Felix Ritort

雑誌巻号：Phys. Rev. X, 2, 031012 (2012)

確率共鳴は、揺らぎを内在する非線形系でよく知られる現象だが、確率的なノイズのアシストで系の応答は増幅される。これまでに気候力学、コロイド粒子系、生物系、量子系など広い範囲の物理系で確率共鳴が観察されてきた。私達は、生体分子の一分子実験で初めて確率共鳴を観察することに成功した。

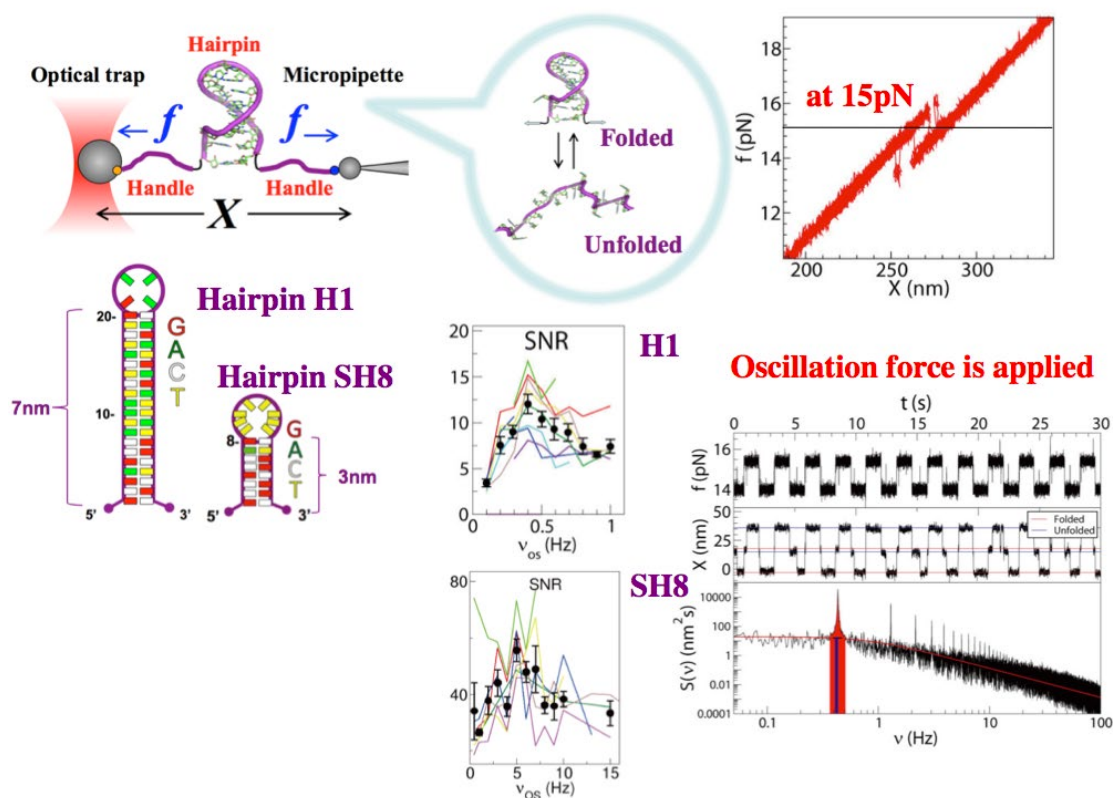
確率共鳴を観察するため、DNA ヘアピン (下図) の Folding/Unfolding のダイナミクスを光ピンセットを用いて計測した。DNA ヘアピンの両末端に 30 塩基対程度の dsDNA ハンドルを修飾し、ビーズに付ける (下図)。ビーズに光ピンセットで力を与えることで、DNA ヘアピンに張力を与えた。張力を与え続けると、

critical force の前後で、DNA ヘアピンは確率的に開閉した。DNA ヘアピンの長さを測定し、開閉 (Folding/Unfolding) の様子を観察した。さらに光ピンセットで振動力を加え、振動の周波数を変えながら、DNA ヘアピンの開閉の応答を観察した。応答を特徴付ける量として Signal-to-Noise Ratio (SNR) を定義し、SNR の周波数依存性を調べた。振動を与えない際の Folded/Unfolded 状態の滞在時間に相当する周波数で SNR は最大値をとった。8 塩基対程度の小さいヘアピン (SH8) は開閉のダイナミクスも速く、Folded/Unfolded 状態の滞在時間を検出するのが困難であるが、SNR の測定から滞在時間を検出した。

RNA ヘアピンの粗視化モデルのシミュレーションでも確率共鳴が研究されている[1]。より複雑な自由エネルギー地形を持つタンパク質に対しても、一分子実験とシミュレーションから確率共鳴を観察することは今後の課題である。

参考文献

[1] W. Kim, C. Hyeon and W. Sung, Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2012).



業績紹介：ヤギ α ラクトアルブミンの逐次的4状態フォールディング

桑島邦博

(岡崎統合バイオサイエンスセンター・A03
計画研究代表者)

論文題目："Sequential four-state folding/unfolding of goat α -lactalbumin and its N-terminal variants"

著者：Katsuaki Tomoyori, Takashi Nakamura, Koki Makabe, Kosuke Maki, Kimiko Saeki, Kunihiro Kuwajima
雑誌巻号：Proteins, 80, 2191–2206 (2012)

円二色性スペクトルを用いて、 α ラクトアルブミン (α LA) とその二つの N 末端改変体のフォールディング機構を調べた。二つの N 末端改変体は、大腸菌中で発現させた野生型組換え体 (N 末端に Met 残基が付加している) と Glu1 欠失変異体 (E1M) (N 末端の Glu1 が Met に置換されている) である。野生型組換え体の N 末端 Met 付加は蛋白質を 2 kcal/mol 不安定化させるが、E1M 変異体では安定性が回復した。ストップフロー塩酸グアニジン (GdnHCl) 濃度ジャンプによる、蛋白質のフォールディング/アンフォールディング反応の速度論的解析から、巻き戻りのバースト相が観測され、シェブロン・プロットは巻き戻りとアンフォールディングのいずれの側も顕著な曲率を示した (図 1)。巻き戻り側の曲率はバースト相中間体 (I) の蓄積によって説明されるが、アンフォールディング側の曲率は、アンフォールディングのバースト相が観測されない

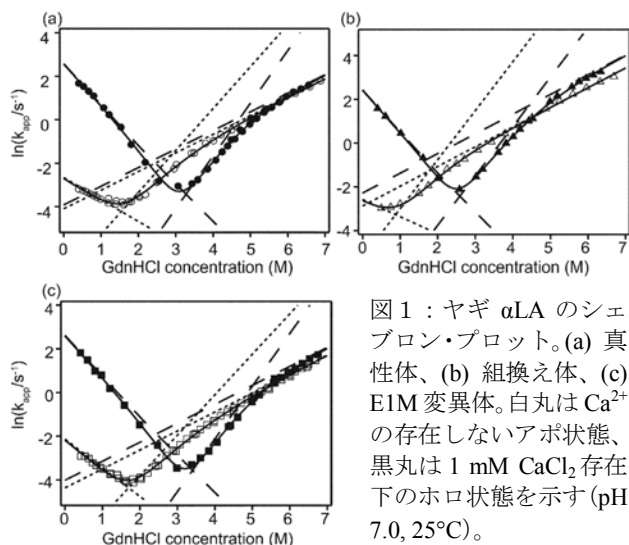


図 1：ヤギ α LA のシェブロン・プロット。(a) 真性体、(b) 組換え体、(c) E1M 変異体。白丸は Ca^{2+} の存在しないアポ状態、黒丸は 1 mM CaCl_2 存在下のホロ状態を示す (pH 7.0, 25°C)。

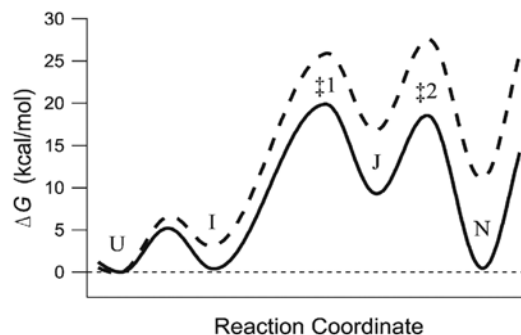


図 2：ヤギ α LA のアンフォールディングの自由エネルギー・プロファイル。実線と破線は、それぞれ、弱いアンフォールディング条件 (3.3 M GdnHCl) と強いアンフォールディング条件 (6.5 M GdnHCl) を示す。実線では律速段階が $\ddagger 1$ にあるのに対し、破線では $\ddagger 2$ に移っている。

め、別の説明が必要である。そこで、I からの巻き戻りは、高エネルギー中間体 (J) を挟む二つの遷移状態 ($\ddagger 1$ と $\ddagger 2$) を経由して起こるとする逐次 4 状態機構を仮定した (図 2)。シェブロン・プロットのアンフォールディング側の曲率は、変性剤濃度の上昇とともに遷移状態が $\ddagger 1$ から $\ddagger 2$ に移ることによって説明される。N 末端の改変やカルシウムイオン (Ca^{2+}) の結合による、I, $\ddagger 1$, $\ddagger 2$ の自由エネルギー変化を求め、各状態における、N 末端と Ca^{2+} 結合部位の Φ 値を推定した。いずれの Φ 値も、I $\rightarrow \ddagger 1 \rightarrow \ddagger 2$ の順に増加し、フォールディングが逐次的 4 状態機構でよく表されることが分かった。 Ca^{2+} 結合部位の Φ 値は常に N 末端の Φ 値よりも大きく、その差はフォールディングが進行するにつれてより大きくなった。これは、構造形成が分子全体に均一に進行するのではなく、 Ca^{2+} 結合部位を核として不均一に進行することを示している。N 末端の Φ 値は $\ddagger 2$ でも 0.4–0.5 であり、アンフォールディングが N 末端近傍から始まることが分かった。また、E1M 変異体は、その安定性およびフォールディング/アンフォールディングの速度論的挙動ともにヤギ乳から調製した真性体 α LA と大変類似しており、E1M 変異体を疑似野生型として用いられることが分かった。

業績紹介：プロテアソームの分解プロセッシビティは由来生物種と基質のアミノ酸配列に依存する

伊野部智由

(富山大先端ライフサイエンス拠点・A03 公募研究代表者)

論文題目: "Sequence- and species-dependence of proteasomal processivity"

著者: Daniel A Kraut, Eitan Israeli, Erin K Schrader, Ashwini Patil, Kenta Nakai, Dhaval Nanavati, Tomonao Inobe, and Andreas Matouschek

雑誌巻号: *ACS Chem. Biol.* 7, 1444-1453 (2012)

ユビキチン-プロテアソーム系は、真核生物の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関わっている。最終的な分解を担うプロテアソームに運び込まれた基質蛋白質は、まずプロテアソームに引っ張られるようにしてアンフォールドされ、内部の分解活性部位に送られ、そこで分解される。基質蛋白質は通常小さなペプチドにまで完全に分解されるため、プロテアソームによる分解は非常にプロセッシブであるといえる。つまり途中で分解が止まり、有害な分解中間産物が出来ないようになっている。それに関わらず、いくつかの蛋白質(転写因子など)はプロテアソームにより部分的に分解されて、全長の蛋白質とは異なった活性をもつ断片蛋白質が生成される。このことはプロテアソームのプロセッシビティに影響を与える何らかの要因があることを示しているが、その詳細はわかっていない。

そこで我々は様々な生物に由来するプロテアソームのプロセッシビティの測定を行った。そのために2つのドメインからなるモデル蛋白質を基質蛋白質として分解実験を行った。断片基質の分解速度定数 k_{deg} と基質断片の解離速度定数 k_{rel} を測定し、これをもとにプロセッシビティ(アンフォールディング能力 U)を以下のように定義した(図1 a)。

$$U = k_{deg}/k_{rel}$$

この実験の結果、プロテアソームのプロセッシビティ U は由来生物種が高等になればなるほど高くなり、酵母と哺乳類のプロテアソームでは5倍ほどの違いがあることがわかった(図1 b)。つまり高等生物のプロ

テアソームほど基質を小さなペプチドにまで分解し、分解中間産物を生じにくいことがわかった。この原因を詳しく調べると、高等生物のプロテアソームほど解離速度 k_{rel} が大幅に遅くなり、分解が持続してプロセッシブに起こることがわかった。高等生物の蛋白質ほどマルチドメインであることが多いが、マルチドメイン蛋白質の分解断片の生成を防ぐために、高等生物のプロテアソームは高いプロセッシブ分解活性を持っているのだと考えられる。

以上のように高等生物のプロテアソームは高いプロセッシビティをもつが、基質蛋白質のある特定のアミノ酸配列がプロセッシビティを弱めることが知られている。転写因子 NF κ B の構成サブユニット p60 の前駆体である p105 はグリシンリッチな領域を持ち、この領域が原因となりプロテアソームの部分分解がおこり、p105 の分解断片である p60 が生成される。上記と同様の実験により、このグリシンリッチ領域はプロテアソームによる分解速度 k_{deg} を低下させる働きがあることがわかった。おそらくプロテアソームはグリシンリッチ領域を上手く掴み引っ張ることが出来ないため、分解を誘導できなかったのではないかと考えられる。またハンチントン舞踏病におけるハンチンチンのポリグルタミン反復配列も同様にプロテアソームのプロセッシビティを下げる働きがあることがわかった。この効果はポリグルタミン配列が長いほど強く、毒性の強い長いポリグルタミン配列が分解されずに蓄積する。

グリシンリッチ領域もポリグルタミン反復配列も、どちらも単純な配列を持つことから、このような単純な配列はプロテアソームのプロセッシビティを低下させる働きを一般的に持っているのかもしれない。

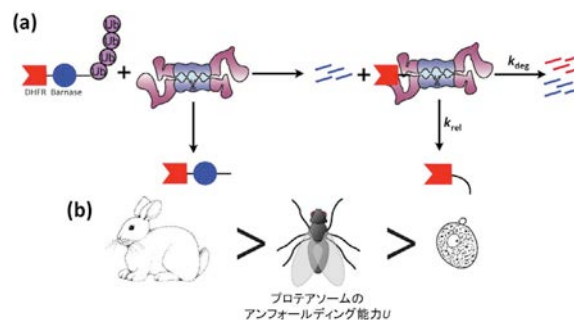


図1 プロテアソームの分解プロセッシビティ

業績紹介：二成分界面活性剤系における構造形成：バイセル、蛸状ミセル形成

野口博司

(東京大学物性研究所・A03 公募研究代表者)

論文題目："Structure formation in binary mixtures of surfactants: vesicle opening-up to bicelles and octopus-like micelles "

著者：Hiroshi Noguchi

雑誌巻号：Soft Matter 8, 8926-8935 (2012)

2種類の界面活性剤を用いると、1種類の界面活性剤では見られないミセル構造を作ることができる。よく知られているものにバイセルと呼ばれる円盤状のミセルがある。脂質二分子膜の円盤の円周を親水基の大きなコーン形の界面活性剤が囲い、膜端を安定化する。最近、これより複雑な形状のミセルが実験で報告されている[1]。本論文では粗視化分子模型[2,3]を用いて、ミセル形成機構を研究した。

2種類の界面活性剤のうち、一つは二分子膜を作る脂質分子を考え、円筒の形状の両親媒性分子、臨界ミセル濃度(CMC)が非常に低い分子とする。もう、一つは紐状ミセルを形成するコーン形の両親媒性分子を考える。臨界ミセル濃度は有限の場合と非常に低い場合の2通り考える。

図1に有限のCMCの場合のバイセル形成のダイナミクスを示す。2種類の界面活性剤が混合する条件でベシクルを構成させ、異種分子間に斥力相互作用を与え、相分離を起こさせる。相分離が進むと、コーン形の分子からなる二分子膜構造が不安定化し、膜が破裂する。コーン形の分子は円盤の膜端を安定化し、バイセルを形成する。途中で紐状ミセルがバイセルにつながった形状が見られるが、時間がたつと分かれる。

二成分どちらもCMCが非常に低い場合には、紐状ミセルが分離せずに繋がったままの蛸状ミセルが形成される条件が見つかった。得られた形状は実験で報告された電子顕微鏡像[1]とよい一致を示す。紐状ミセルと平面膜の間に3通りの結合構造が見られた(図2)。蛸状ミセルはこれまでブロックコポリマーでしか観察されていないが、シミュレーション結果は、コーン形分子のミセル中の割合が高いときに一般的な形態であることを示し、脂質分子でも構築することが可能だと考えられる。

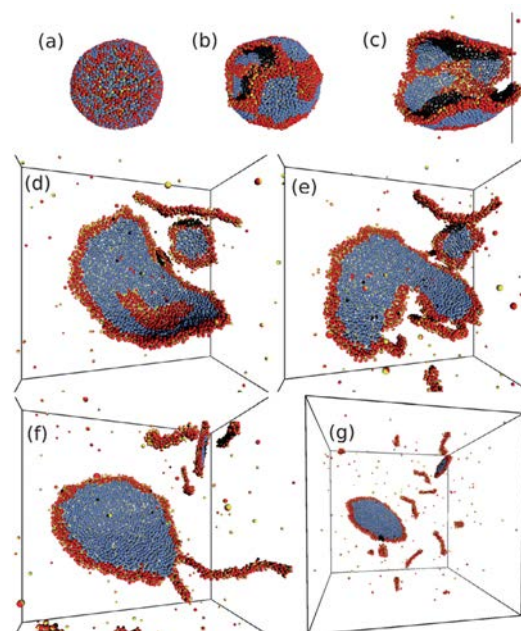


図1:バイセル形成のダイナミクス。青色の粒子は円筒形の脂質分子、赤色の粒子はコーン形の界面活性剤分子を表す。(a) 0s. (b) 100 μ s. (c) 120 μ s. (d) 0.4ms. (e) 0.5ms. (f) 1.2ms. (g) 2.8ms.

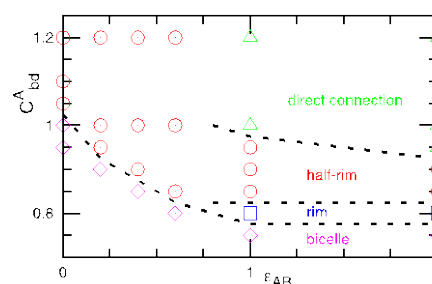


図2:ミセル構造の相図。コーン形の界面活性剤分子の親水基の大きい場合 (C^A_{bd} 大)、蛸状ミセルが形成される。異種分子間に斥力を加える (ϵ_{AB} 大) と、紐状ミセルと平面膜には3通りの結合の仕方が現れる。(i)図1dのように平面膜の膜端を覆うドメインと繋がる(rim)、(ii)平面膜に直接接合する(direct connection)、その中間(half-rim)。

参考文献

- [1] S. Jain and F. S. Bates, *Macromolecules* 37, 1511 (2004).
- [2] H. Noguchi, *J. Phys. Chem. Phys.* 134, 055101 (2011).
- [3] H. Noguchi, *Soft Matter* 8, 3146-3153 (2012)

業績紹介：ウマミオグロビン二量体の構造と酸素結合特性

廣田 俊

(奈良先端大物質創成・A03 公募研究代表者)

論文題目："Structural and oxygen binding properties of dimeric horse myoglobin"

著者：Satoshi Nagao, Hisao Osuka, Takuya Yamada, Takeshi Uni, Yasuhito Shomura, Yoshiki Higuchi and Shun Hirota

雑誌巻号：Dalton Trans. **41**, 11378-11385 (2012)

タンパク質の自己凝集は多くの神経変性病に見られる共通の現象である。タンパク質の構造変性に関する研究は病気との関連から精力的に行われており、タンパク質多量体は変性の初期中間体として注目されている。ミオグロビン(Mb)は天然状態では単量体として存在するが(図)、凍結乾燥すると二量体が生じることが40年以上前に報告されている[1]。本研究では、Mb 二量体の構造と酸素結合特性について調べた。

ウマ骨格筋由来の metMb 単量体をエタノール添加、凍結乾燥、緩衝液に再溶解することで多量体を作製した後、ゲルろ過クロマトグラフィーを繰り返し行い、metMb 二量体を精製した。吸収および CD スペクトルより、二量体は単量体と類似した活性部位構造を有し、単量体よりも α ヘリックス構造を僅かに多く有することが示唆された。

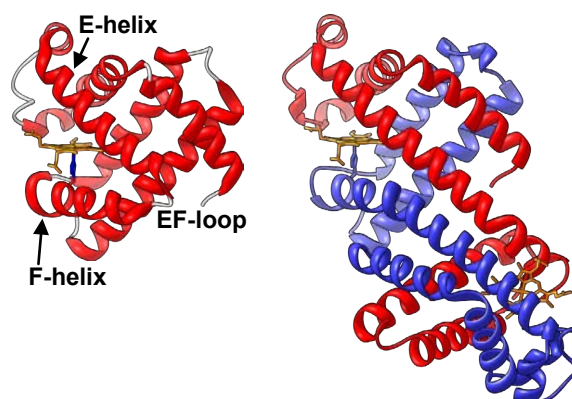
X 線結晶構造解析より、metMb 二量体では単量体で活性部位を形成している E と F ヘリックスおよび EF ループが1本の長い α ヘリックスを形成し、二量体がドメインスワッピング構造を取ることが分かった(図)。二量体の活性部位構造は単量体と類似していたが、活性部位を構成する E と F ヘリックスはそれぞれ異なるプロトマーに属していた。二量体のヘム配向は、ヘム側鎖のメチル基とビニル基の電子密度より、天然状態の単量体と同じ正常型であることが分かった。

Mb 単量体からヘムを取り除いた apo Mb にヘムを導入すると、正常型だけでなく、ヘムが 180° 反転して取り込まれた Mb が生じる。このようにして再構成された Mb を用いて多量体を作製し、ゲルろ過クロマトグラフィーで二量体と単量体を精製し、それぞれの ^1H NMR 測定を行ったところ、単量体では反転型のヘム

配向に由来するシグナルが観測されたが、二量体では観測されなかった。apo Mb 二量体にヘムを導入した場合でも、反転型ヘム由来のシグナルは観測されなかった。以上の結果より、Mb 二量体ではヘム配向が単量体よりも速く正常型に制御されることが明らかとなった。また、Mb 二量体を単量体に解離させると反転型のヘム配向が観測されたため、二量体が単量体に解離する時にヘムが解離すると推測された。

Mb 二量体の酸素平衡曲線より、酸素結合に対する協同性の指標であるヒル係数は 1.01 と求まり、協同性を示さなかったが、Mb 二量体は単量体より酸素親和性が約 1.4 倍高いことが分かった。フラッシュフォトリス法およびストップドフロー法により求めた酸素の結合速度定数 k_{on} は二量体と単量体で大きな差はなかったが、酸素の解離速度定数 k_{off} は二量体の方が小さく、Mb 二量体における酸素親和性の増大は主に k_{off} の低下によると考えられた。

本研究により、Mb はドメインスワッピングにより二量化し、Mb 二量体では、酸素の結合速度定数は単量体とほとんど変わらないが、酸素の解離速度定数が小さくなり、単量体よりも高い酸素結合能力を有することが判明した。



図：Mb 単量体 (左、PDB:1WLA) および二量体 (右、PDB:3VM9) の立体構造。

参考文献

[1] A.H. van den Oord et al, *Eur. J. Biochem.*, **10**, 140–145 (1969).

シンポジウム報告

XXVth International Conference on Magnetic Resonance in Biological System

櫻井一正

(大阪大学蛋白質研究所・A01 公募研究代表者)

標記のシンポジウムが2012年8月19日から6日間、フランスはリヨンのリヨンコンベンションセンターにおいて開催されました。リヨンはローヌ河とソヌ河という二つの河が流れる町で、その町並みは世界遺産に指定されており、とても趣深い街でした。

本シンポジウム (ICMRBS と略されます) はその名にある通り、生体分子を測定対象とした NMR 研究に特化した学会です。2 年ごとに世界各地で開催され、今年開催されたリヨンは世界最大の 1GHz MNR を擁する The European Center for High Field NMR があることで知られています。

プログラムはポスターセッションと口頭講演のセッションに分かれ、口頭講演のセッションは蛋白質のダイナミクスに加え、蛋白質の異常凝集、固体 NMR、新規測定手法、天然変性蛋白質、核酸、In Cell NMR、薬剤探索などここでは挙げきれないほど多様な種類がありました。そして、それぞれのセッションで若手の研究者に加えて第一線で活躍する著名な研究者の発表がありました。

皆様に報告すべきなのは、Plenary lecture の中で、本揺らぎ新学術領域の班員の共同研究結果を聞くことがあったということです。例えば、Scripps Research Institute の Peter Wright 教授の講演では高橋聡先生との共同研究内容を、東大嶋田一夫教授の講演の中では大澤匡範先生や竹内恒先生の研究内容を聞くことができました。これは本領域の研究活動が広く評価されていることの表れであると言えるのではないのでしょうか。

私は「Characterization of the Folding Intermediates and the Native States of β -Lactoglobulin and Its Folding Mutants」というタイトルで、最近の実験データを発表しました。さすが ICMRBS と思ったのは、他の参加者とのディスカッションの中で、非常に有用で鋭いコメントを頂くことができたことです。さらに多くの有用な講演を聞くことができました。個人的ではありますが、ゲーテ大学 Harald Schwalbe 教授のリゾチームの変

性状態の解析、アルバータ大学 David Wishart 教授やケンブリッジ大学 Michele Vendruscolo 教授の化学シフト情報から天然構造や中間構造を解析する手法開発の発表がとても興味深く、自身の研究にとって非常に有用な情報となりました。

私は ICMRBS に参加するのは今回で3回目となりますが、この学会は論文で著名な研究者の生の発表を聞くことができる、貴重な場だと感じています。そもそも、1938 年に発見された核磁気共鳴という物理現象が今では生体分子のダイナミクスを観測するツールになっており、それがこれら最先端の研究者の手によって今でも進化し続けているということに感嘆します。私はまだまだ NMR の一ユーザーですが、今回の経験を生かし、「揺らぎ」研究に貢献できればと思います。

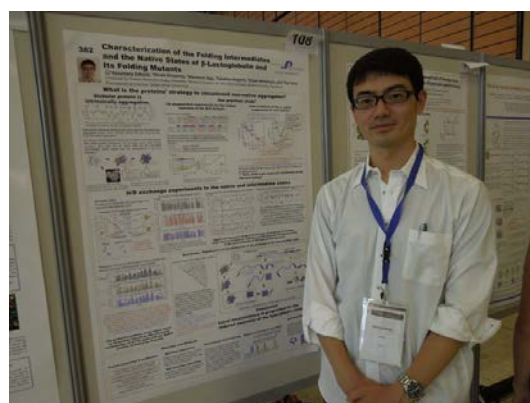


写真1 ポスター発表中の著者



写真2 リヨンコンベンションセンター講堂

蛋白質科学会ワークショップ報告

蛋白質のフォールディング問題はどこまで解決されたか？

To What Extent Has the Problem of Protein Folding Been Solved?

桑島邦博

(岡崎統合バイオ・A03 計画研究代表者)

岡本祐幸

(名古屋大学・A01 計画研究代表者)

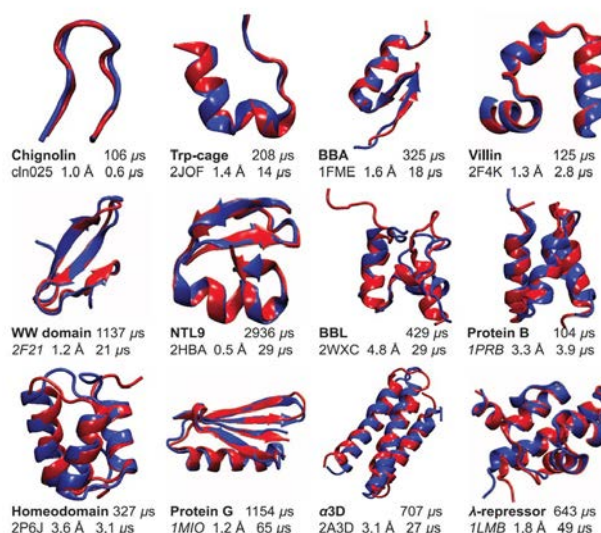
標記のワークショップが、第12回日本蛋白質科学会年会と本新学術領域研究との共催により、6月20日(水)に名古屋国際会議場にて開催されました。同日同時刻に、他の会場で関連した内容のワークショップが開催されていたため、十分に聴衆が集まるか懸念していましたが、実際には、会場に立ち見者がたくさん出るほど満席状態で、大変盛会でした。

このワークショップの趣旨は以下の通りです。「最近の蛋白質フォールディング研究の進展により、フォールディング反応の原子レベルの詳細を記述したり、実験とシミュレーションの結果を直接比較したりすることが可能となり、われわれが、蛋白質フォールディング機構に関してどこまで理解したのかを議論し、フォールディングに関連した研究の将来の方向性を探る好機を得ている。ここでは、理論、シミュレーションと実験の分野の6名の講演者による標記のテーマのワークショップを実施する。」

講演は、最初に桑島が演者の紹介と全体的なお話をした後、高田氏(京大、A01 公募班班員)が、多重ドメイン構造や結び目を持った複雑な蛋白質のフォールディングのエネルギー地形理論に関して講演されました。次に、高橋氏(東北大、A01 公募班班員)が一分子蛍光観察による蛋白質のエネルギー地形解析に関して講演されました。3番目の講演は本ワークショップのメイン・イベントであり、D. E. Shaw Research のStefano Piana氏が、蛋白質フォールディング解析専用スーパーコンピュータ"ANTON"によるフォールディングシミュレーションの結果について講演されました。この特別なコンピュータを用いることにより、 α 型、 β 型など異なる主鎖トポロジーの12種の蛋白質の全原子分子動力学シミュレーションを行い、いずれの蛋白質についても主鎖構造が天然構造に一致するシミュ

レーションに成功し、転移の中間点では、フォールディングとアンフォールディングが繰り返され、動的平衡を実現することにも成功しました。しかし、側鎖のディテールについてまで原子レベルで天然構造と一致した訳ではないので、力場パラメータの更なる改善が必要です。今回のシミュレーションはマイクロ秒の時間域で巻き戻る小さな球状蛋白質が対象でしたが、あと10年位すれば、リボヌクレアーゼAやリゾチームのような蛋白質のシミュレーションも可能になるだろうと述べられたのが印象的でした。4番目の講演は、榎氏(名大)がアポミオグロビンのフォールディング機構を連続フロー法で解析した結果について講演されました。最後に、岡本が拡張アンサンブル法による蛋白質フォールディング解析と力場パラメータに関する講演をしました。

残念ながら、当日写真を取り忘れたため写真の記録が残っていません。そこで、代わりに昨年 Science 誌に掲載された Piana 氏らのシミュレーションの結果を掲載します。



図：Piana 氏らのシミュレーション結果。青がシミュレーション結果、赤が天然構造を示す。各蛋白質にシミュレーション時間(上)とフォールディング時間(下)、PDBコード、RMSD値が示されている。(Science 334, 517-520 (2011)より転載。許可番号 2982810147121©AAAS)

A01 班川上研究室の吉田文さん (M2) が生物物理若手の会で ポスター賞 (1 位) を受賞

川上 勝 (北陸先端大マテリアルサイエンス・
A01 公募研究代表者)

平成 24 年 8 月 31 日 (水) から 9 月 3 日 (金) まで北海道支笏湖にて開かれた「第 52 回生物物理若手の会」にて、北陸先端大マテリアルサイエンス研究科川上研究室 (A01 班公募研究) の吉田文さん (博士前期課程 2 年生) がポスター賞 (1 位) を受賞しました。

生物物理若手の会は、生物物理の分野をリードする著名な講師を招いたシンポジウムと、若手研究者自身によるポスター・口頭発表から成り、様々なバックグラウンドを持つ若手研究者達が交流を深める会議です。吉田さんは、「Mechanical unfolding pathways of holo-myoglobin explored by AFM-based single molecule force spectroscopy」という演題で発表しました。川上研究室では原子間力顕微鏡 (AFM) 技術を用いて、タンパク質を部位特異的に掴んで「引っ張る」事で、タンパク質の力学的安定性、フォールディング経路、揺らぎのダイナミクスを 1 分子レベルで明らかにする研究を行っています。これまでに、ミオグロビンの高次構造が張力によって壊れる経路が複数存在することを明らかにし、中間体の大きさ (含まれるアミノ酸数) とその安定性 (壊すのに必要な力) を調べました。アンフォールディングに複数の経路が存在することは、補因子であるヘム分子の効果であることが示唆されます。本結果は、溶液中にある膨大な分子の「平均像」を基に議論がされてきた従来の分光法では得られない全く新しい情報であり、タンパク質の構造とダイナミクスの解明に貢献できると期待されます。

・受賞にあたっての一言

この度、第 52 回生物物理若手の会においてポスター賞 1 位を受賞できたことを大変うれしく思います。「一分子を掴んで引っ張り、その応答を見ることが出来る」という技術を初めて知る方は本発表を大変興味深く聞いていただきました。張力がかかることで、その機能を発揮する、メカノトランスダクションや、メカノエンザイマティクスの解明にも、本技術が大きく貢献できる可能性がある、招待講演の先生方や多くの参加者の方に評価いただきました。ご指導下さった川上勝准教授をはじめ研究を支えてくれた皆様に心より感謝致します。今回の受賞を糧にこれからも研究活動に励んで行きたいと思います。



写真 賞状と副賞の高級メロン、動くメロン熊