

2010 年度 生物物理学会中部支部講演会  
講演要旨集

2011 年 3 月 30 日-3 月 31 日

名古屋大学・野依学術交流センター

主催： 生物物理学会中部支部

共催：名古屋大学大学院理学研究科附属構造生物学研究センター



## プログラム

- 口頭発表時間 10分： 発表8分 質疑2分  
15分： 発表12分 質疑3分  
20分： 発表16分 質疑4分  
25分： 発表20分 質疑5分  
30分： 発表25分 質疑5分

(1 鈴：発表終了1分前, 2 鈴：発表終了質疑開始, 3 鈴：質疑終了)

ポスター発表 3月30日

15:50-16:50 奇数番号, 16:50-17:50 偶数番号

### 3月30日(水)

13:30-13:35 支部長あいさつ

桑島邦博 (岡崎統合バイオサイエンスセンター)

#### 口頭発表1 (13:35-14:25)

13:35-13:55 (20分) レプリカ交換法を用いたアポミオグロビンのヘリックス形成順序の比較

○阪口剛志、岡本祐幸 (名古屋大学 大学院理学研究科)

13:55-14:10 (15分) カイコを利用した甘味受容体細胞外領域の大量発現系構築および味覚修飾タンパク質クルクリンとの相互作用

○文庫有志<sup>1</sup>、矢木宏和<sup>1</sup>、雨宮瑛子<sup>1</sup>、栗本英治<sup>2</sup>、加藤晃一<sup>1,3</sup> (<sup>1</sup>名市大院薬、<sup>2</sup>名城大薬、<sup>3</sup>岡崎統合バイオ)

14:10-14:25 (15分) ビブリオ菌べん毛モーターにおけるHリングタンパク質FlgTの相互作用およびトポロジー解析

○小池雅文、小嶋誠司、本間道夫 (名古屋大学大学院理学研究科生命理学専攻)

14:25-14:40 (休憩)

#### 口頭発表2 (14:40-15:35)

14:40-15:00 (20分) クリプトクロームにおける電子移動反応の理論的研究

○佐藤竜馬、倭剛久 (名古屋大学 理学研究科)

15:00-15:20 (20分) バクテリオロドプシンのLeu93の役割に関するX線結晶構造解析

○張進<sup>1</sup>、山崎芳和<sup>1</sup>、樋掛正則<sup>1</sup>、村上緑<sup>1</sup>、井原邦夫<sup>2</sup>、神山勉<sup>1</sup> (<sup>1</sup>名古屋大理学研究科物質理学、<sup>2</sup>名古屋大学遺伝子実験施設)

15:20-15:35 (15分) ATPaseやリン酸化状態に依存したKaiCの概日性構造変化

○向山厚<sup>1,2</sup>、村山依子<sup>1,2</sup>、今井圭子<sup>1,2</sup>、松井佑介<sup>1,2</sup>、近藤孝男<sup>1,2</sup>、秋山修志<sup>1,2,3,4</sup> (<sup>1</sup>名大院・理、<sup>2</sup>CREST/JST、<sup>3</sup>理研・播磨、<sup>4</sup>PREST/JST)

15:35-15:50 (休憩)

**ポスター発表**

15:50-17:50 ポスター発表

(15:50-16:50 奇数番号, 16:50-17:50 偶数番号)

18:00- 懇親会 (花の木)

3月31日(木)

**口頭発表3 (9:00-10:25)**

9:00-9:20 (20分) **Characterization and comparative study of the periplasmic region of PomB, a Na<sup>+</sup>-driven flagellar stator protein in *Vibrio alginolyticus***

○李娜<sup>1,2</sup>, 小嶋誠司<sup>1</sup>, 本間道夫<sup>1</sup> (1名大・院理・生命理学、<sup>2</sup>西北農林科技大学・生命科学)

9:20-9:40 (20分) **Ligand-protein interaction studied by computer simulation and time-resolved x-ray crystallography**

○都築峰幸<sup>1,4</sup>, 富田文菜<sup>2</sup>, 腰原伸也<sup>2</sup>, 足立伸一<sup>3</sup>, 倭剛久<sup>1,4</sup> (1名大院理、<sup>2</sup>東工大、<sup>3</sup>高エネ研、<sup>4</sup>JST-CREST)

9:40-10:10 (30分) **配列順序に依存しない蛋白質構造アラインメントの新規手法**

○南慎太郎, 澤田賢吾, 千見寺浄慈 (名古屋大学 工学研究科)

10:10-10:25 (15分) **高圧下におけるユビキチンの構造変化: 焼き戻しシミュレーションによる研究**

○森義治, 岡本祐幸 (名古屋大学 大学院理学研究科)

10:25-10:40 (休憩)

**口頭発表4 (10:40-11:45)**

10:40-11:00 (20分) **霊長類色覚視物質の内部結合水の構造解析**

○片山耕大<sup>1</sup>, 古谷祐詞<sup>1,2</sup>, 今井啓雄<sup>3</sup>, 神取秀樹<sup>1</sup> (1名工大院工、<sup>2</sup>分子研生命錯体、<sup>3</sup>京大霊長研)

11:00-11:15 (15分) **Hydrogen-exchange studies of the free heptameric GroES**

○Mahesh S. CHANDAK, Takashi NAKAMURA, Koki MAKABE, Koichi KATO, and Kunihiro KUWAJIMA (Okazaki Institute of Integrative Bioscience, National Institutes of Natural Sciences, and The Graduate University for Advanced Studies (Sokendai))

11:15-11:45 (30分) **ポテンシャル面の変形によるマルチプルシークエンスアラインメント(MSA) 評価スコアの最適化**

○澤田賢吾, 南慎太郎, 千見寺浄慈 (名大・工)

11:45-13:20 (昼食)

## 口頭発表5 (13:20-14:15)

13:20-13:45 (25分) リガンド結合とタンパク質立体構造変化の関心の分類と注釈付け

○雨宮崇之<sup>1,2</sup>、小池亮太郎<sup>1</sup>、淵上壮太郎<sup>2</sup>、池口満徳<sup>2</sup>、木寺詔紀<sup>2,3</sup> (1名大院・情報、<sup>2</sup>横浜市大院・生命ナノ、<sup>3</sup>理研・次世代計算科学)

13:45-13:55 (10分) 徐冷法と遺傳的アルゴリズムを組み合わせた分子の安定構造探索法の提案  
について

○榮 慶丈<sup>1</sup>、廣安 知之<sup>2</sup>、三木 光範<sup>3</sup>、岡本 祐幸<sup>1,4</sup> (1名古屋大学大学院理学研究科、<sup>2</sup>同志社大学生命医科学部、<sup>3</sup>同志社大学理工学部、<sup>4</sup>名古屋大学大学院理学研究科附属構造生物学研究センター)

13:55-14:15 (20分) **Effect of a positively charged Lysine group in the 105 position of  
Proteorhodopsin**

○Tushar Kanti Maiti, Keisuke Yamada, Keiichi Inoue and Hideki Kandori (Nagoya Institute of Technology)

14:15-14:30 (休憩)

## 口頭発表6 (14:30-16:00)

14:30-14:50 (20分) Na<sup>+</sup>駆動型べん毛モーター固定子複合体のモーターへの集合機構

○小嶋誠司<sup>1</sup>、野々山菜摘<sup>1</sup>、竹川宜宏<sup>1</sup>、福岡創<sup>2</sup>、本間道夫<sup>1</sup> (1名大・院理・生命理学、<sup>2</sup>東北大・多元物質科学研究所)

14:50-15:05 (15分) **NMRを用いたミトコンドリアジスルフィド結合導入タンパク質 Tim40 と  
FAD 結合型酸化 酵素 Erv1 の相互作用様式の解明**

○安西高廣、河野慎、若森育也、寺尾佳代子、遠藤斗志也 (名大院・理・物質理学)

15:05-15:20 (15分) ハロロドプシンのアザイド結合の状態

○中西太市<sup>1</sup>、金田創運<sup>1</sup>、竹口優<sup>1</sup>、村上緑<sup>1</sup>、井原邦夫<sup>2</sup>、神山勉<sup>1</sup> (1名大・院理、<sup>2</sup>名大遺伝子実験施設)

15:20-15:40 (20分) レプリカ交換法による膜たんぱく質の立体構造予測

○浦野諒、岡本祐幸 (名古屋大学大学院理学研究科)

15:40-16:00 (20分) 赤外分光法でみる V型 ATPase のイオン結合・解離に伴う構造変化

○古谷祐詞<sup>1,2</sup>、村田武士<sup>3</sup>、神取秀樹<sup>4</sup> (1分子研、<sup>2</sup>総研大、<sup>3</sup>千葉大・院理、<sup>4</sup>名工大・院工)

16:00-16:30 休憩 (優秀発表賞、ポスター賞選考委員会)

16:30 - 17:00 中部支部総会と優秀発表賞、ポスター賞贈呈

## ポスター発表演題

ポスターは3/30午後3時までに掲示してください。

ポスターは都合が付かない場合を除いて3/31の講演会終了まで掲示したままにしてください。

3/30 15:50-17:50 ポスター発表  
(15:50-16:50 奇数番号, 16:50-17:50 偶数番号)

- P 1 時計タンパク質 KaiC の概日性分子鼓動  
村山 依子<sup>1</sup>, 向山 厚<sup>1,2</sup>, 今井 圭子<sup>1,2</sup>, 尾上 靖宏<sup>1,2</sup>, 角田 明菜<sup>1</sup>, 野原 淳志<sup>1</sup>, 石田 達郎<sup>1</sup>, 前田 雄一郎<sup>1</sup>, 寺内 一姫<sup>4</sup>, 近藤 孝男<sup>1,2</sup>, ○秋山 修志<sup>1,2,3,5</sup>  
(<sup>1</sup>名大・院理, <sup>2</sup>CREST/JST, <sup>3</sup>理研・播磨, <sup>4</sup>立命館・生命, <sup>5</sup>PREST/JST)
- P 2 SEIRA Spectroscopy of Halorhodopsin Monolayer Tethered on Gold Surface  
○Hao Guo<sup>1,2</sup>, Tetsunari Kimura<sup>1,2</sup> and Yuji Furutani<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup> Department of Structural Molecular Science, The Graduate University for Advanced Studies, <sup>2</sup> Department of Life and Coordination-Complex Molecular Science, Division of Molecular Sensing, Institute for Molecular Science)
- P 3 脂質二重膜のレプリカ交換分子動力学によるシミュレーション  
○永井哲郎<sup>1</sup> 岡本祐幸<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>名古屋大学大学院理学研究科, <sup>2</sup>名古屋大学大学院理学研究科附属構造生物学研究センター)
- P 4 溶液 NMR を用いた FliG の動的構造変化の解明に向けて  
○郷原瑞樹<sup>1</sup>、吉住怜<sup>1</sup>、服部良一<sup>2,3</sup>、児嶋長次郎<sup>2,3</sup>、本間道夫<sup>1</sup> (<sup>1</sup>名古屋大学大学院理学研究科、<sup>2</sup>大阪大学蛋白質研究所、<sup>3</sup>奈良先端科学技術大学院)
- P 5 Outer surface protein A のフォールディング機構  
○真壁幸樹、Debanjan Dhar、中村敬、桑島邦博 (岡崎統合バイオサイエンスセンター)

- P 6 Dissecting a bimolecular process of ATP binding to the chaperonin GroEL  
○Jin Chen<sup>1</sup>, Koki Makabe<sup>1,2</sup>, Takashi Nakamura<sup>1</sup>, Tomonao Inobe<sup>3</sup>, Kunihiro Kuwajima<sup>1,2,3</sup> (<sup>1</sup>Okazaki Institute for Integrative Bioscience and Institute for Molecular Science, National Institutes of Natural Sciences; <sup>2</sup>Department of Functional Molecular Science, School of Physical Sciences, Graduate University for Advanced Studies (Sokendai); and <sup>3</sup>Department of Physics, School of Science, University of Tokyo)
- P 7 アポミオグロビンのフォールディングの pH 依存性  
○水上琢也、槇互介 (名古屋大学・大学院理学研究科)
- P 8 細菌の走光性に関わるタンパク質の相互作用解析  
○割石学<sup>1</sup>、鈴木大介<sup>1</sup>、本間道夫<sup>1</sup>、須藤雄気<sup>1,2</sup> (名古屋大学院・理学研究科・生命理学専攻<sup>1</sup>、さががけ・JST<sup>2</sup>)
- P 9 ミトコンドリア内膜トランスロケータ構成因子 Tim50 の構造解析  
○石丸雄基<sup>1</sup> 河野慎<sup>1</sup> 遠藤斗志也<sup>1</sup> (<sup>1</sup>名大院・理)
- P 10 Na<sup>+</sup>駆動型べん毛モーターの固定子 PomA/B 複合体の膜貫通領域に保存された PomB-F22 の役割  
○寺内堯史<sup>1</sup>、寺島浩行<sup>2</sup>、小嶋誠司<sup>1</sup>、本間道夫<sup>1</sup> (<sup>1</sup>名古屋大・院理・生命理、<sup>2</sup>コーネル大・医学校)
- P 11 拡張アンサンブル法分子動力学計算による、GroEL の ATP 結合平均力ポテンシャル評価  
○葛巻 亜弥子、岡本 祐幸 (名古屋大学 大学院理学研究科 物質理学専攻(物理系))
- P 12 光化学系 II-金ナノ粒子複合体の形成  
○野地 智康<sup>1</sup>、鈴木 博行<sup>2</sup>、五藤 俊明<sup>1</sup>、岩井 雅子<sup>3</sup>、池内 昌彦<sup>4</sup>、鞆 達也<sup>2</sup>、野口 巧<sup>1</sup> (<sup>1</sup>名古屋大学院・理、<sup>2</sup>東京理科大・理、<sup>3</sup>東京理科大・理工、<sup>4</sup>東京大・総合文化)



T-1: レプリカ交換法を用いたアポミオグロビンのヘリックス形成順序の比較

発表者、共著者：○阪口剛志、岡本祐幸

所属：名古屋大学大学院理学研究科

要旨：タンパク質アポミオグロビンはその二次構造としてA~Hまで計8本の $\alpha$ ヘリックスを持つ。このアポミオグロビンのフォールディング初期過程において、これら8本のヘリックスの内、ABGHの外側に配置するヘリックスがまず形成されることが西村らの研究によって示されている[1]。

この結果から我々は、ひもの外側に配置するほどより早い段階で二次構造が形成されるという仮定を持った。そこで、特に立体配置の違いによるフォールディング中の速度の違いに着目しながら、A-B-CとB-C-Dのヘリックスを持つミオグロビンフラグメントを用いたレプリカ交換分子動力学シミュレーションを行った。本講演ではその結果を報告する。

参考文献[1] C. Nishimura, P. E. Wright, and H. J. Dyson, *J. Mol. Biol.* **334**, 293-307 (2003).

---

T-2: カイコを利用した甘味受容体細胞外領域の大量発現系構築および味覚修飾タンパク質クルクリンとの相互作用

発表者、共著者：○文庫有志<sup>1</sup>、矢木宏和<sup>1</sup>、雨宮瑛子<sup>1</sup>、栗本英治<sup>2</sup>、加藤晃一<sup>1,3</sup>

所属：<sup>1</sup>名市大・院薬、<sup>2</sup>名城大・薬、<sup>3</sup>岡崎統合バイオ

要旨：クルクリンは甘味活性とともに酸味を甘味に変えるという味覚修飾活性を併せ持つユニークなタンパク質である。クルクリンはホモダイマーあるいはヘテロダイマーとして存在しているが、ヘテロダイマーのみが活性を示す。これまでに我々はクルクリンの活性発現に関与するアミノ酸残基を明らかにしているが、クルクリンの相互作用相手である甘味受容体(T1R2-T1R3)を大量に発現することが困難であったため、クルクリンの活性発現機構は未解明である。本研究ではカイコ発現系を利用して、クルクリン結合活性を有する甘味受容体の細胞外領域の大量発現に成功した。また、発現した甘味受容体を用いて核磁気共鳴法および表面プラズモン共鳴法により、クルクリンとの相互作用解析を行った。これらの結果をもとに、本発表ではクルクリンの甘味および味覚修飾活性発現機構に関して考察したい。

### T-3: ビブリオ菌べん毛モーターにおける H リングタンパク質 FlgT の相互作用およびトポロジー解析

○発表者、共著者: ○小池雅文<sup>1</sup>、小嶋誠司<sup>1</sup>、本間道夫<sup>1</sup>

所属: <sup>1</sup>名大院・理・生命理学

#### 要旨

細菌べん毛モーターは、共役イオン ( $H^+$ あるいは $Na^+$ )が内膜に存在する固定子複合体を透過することで起きる回転子との相互作用により回転力が生じると考えられている。回転子は、基部体とも呼ばれ、L、P、MSリングとそれらを通するロッド、べん毛繊維とモーターをつなぐフック、MSリングの細胞質側に付着したCリングから構成されている。ビブリオ菌の $Na^+$ 駆動型べん毛モーターでは、サルモネラ菌や大腸菌などの $H^+$ 駆動型モーターにはない、MotXとMotYから構成されるTリング構造が存在している。また、近年ビブリオ特異的なFlgTタンパク質が構成因子である新規リング構造(Hリング)が発見された。しかし、その他のHリング構成因子やFlgTのトポロジーは分かっていない。

そこで、ホルムアルデヒドを用いた菌体の架橋実験により、FlgTと相互作用するタンパク質の検出を試みた。Tリング欠失株で2つのFlgT架橋産物が検出された。一つはFlgTホモダイマーであることが示唆された。また、FlgTホモダイマーの形成がTリングの存在によって阻害されることが明らかとなった。

---

### T-4: クリプトクロームにおける電子移動反応の理論的研究

発表者、共著者 ○佐藤竜馬<sup>1</sup>、倭剛久<sup>2</sup>

所属 名古屋大学<sup>1,2</sup>

#### 要旨

DNA への紫外線照射により CPD(cyclobutane pyrimidine dimer)が形成されることがある。CPDでは隣接する2つのチミンが反応をおこし、ダイマーを形成している。青色光受容体ファミリーに属するCPD光補修酵素は、このDNA紫外線損傷を光誘起電子移動反応により修復する。近年我々は(2008, Miyazawa et al.)電子移動反応の理論的解析による考察をすすめ、フラビン補因子近傍のメチオニン残基がI型CPD光補修酵素で100%保存されていることを発見した。

同じ青色光受容体ファミリーに属する6-4型光補修酵素ではこの残基はヒスチジンに置換されており、プロトン移動に関与していると考えられる。また、DASH型クリプトクロームではグルタミンに置換されている。すなわち、この部位のアミノ酸は青色光受容体ファミリーに属するタンパク質の機能を左右する重要な部位であると考えられる。本研究ではクリプトクロームのX線結晶解析構造に基づき、分子動力学シミュレーションと電子状態計算を実行し、クリプトクロームの電子移動反応を解析した。講演では電子移動反応経路による電子因子の寄与に焦点をしばって議論する予定である。

## T-5: バクテリオロドプシンの Leu93 の役割に関する X 線結晶構造解析

X-ray crystallographic study on the functional role of Leu93 in bacteriorhodopsin

○発表者、共著者：○張進<sup>1</sup>、山崎芳和<sup>1</sup>、樋掛正則<sup>1</sup>、村上緑<sup>1</sup>、井原邦夫<sup>2</sup>、  
神山勉<sup>1</sup>

所属：<sup>1</sup>名古屋大理学研究科物質理学、<sup>2</sup>名古屋大学遺伝子実験施設

要旨：Bacteriorhodopsin is a membrane protein that functions as a light-driven proton pump. Previous crystallographic studies of the hexagonal P622 crystal of wild-type bacteriorhodopsin (bR) have shown that rotation of the side chain of Leu93 assists water relocation across the retinal Schiff base in the K-to-L transition. So it is interesting to investigate how this water relocation is affected by replacement of Leu93 by a smaller amino acid residue Ala. Further, in the photocycle of bR mutant L93A, high concentrations of an O-like intermediate accumulate. This effect has been attributed to an inhibited reisomerization of its 13-cis retinal chromophore to the all-trans form, which causes an about 200-fold increase of the O-decay time. So the structure of the O intermediate which has not yet been elucidated can be expected in this L93A mutant.

In this study we crystallized the Leu93-to-Ala mutant bacteriorhodopsin into a hexagonal P622 crystal with cell dimensions of  $a = b = 102.2 \text{ \AA}$  and  $c = 112.2 \text{ \AA}$ . Diffraction data at  $2.2 \text{ \AA}$  resolution showed that the cavity created by the replacement are occupied by three additional water molecules and the conformation of the initial state of the L93A mutant at 100K resembles that of the L intermediate in the wild-type. Meanwhile, the M/O intermediate of L93A mutant is obtained at  $2.5 \text{ \AA}$ . As expected, the trapped M state of this mutant bears considerable similarity to the M state of wild type. The O intermediates of L93A mutant is also in progress.

---

## T-6: ATPase やリン酸化状態に依存した KaiC の概日性構造変化

発表者、共著者 ○向山厚<sup>1,2</sup>、村山依子<sup>1,2</sup>、今井圭子<sup>1,2</sup>、松井佑介<sup>1,2</sup>、近藤孝男<sup>1,2</sup>、秋山修志<sup>1-4</sup>

所属：<sup>1</sup>名大院・理、<sup>2</sup>CREST/JST、<sup>3</sup>理研・播磨、<sup>4</sup>PREST/JST

### 要旨

シアノバクテリアは概日時計を有する最も下等な生物のひとつであり、その中心振動体は 3 つの時計蛋白質 KaiA、KaiB そして KaiC によって構成されている。KaiA が KaiC のリン酸化を促進し、KaiB がその効果を抑制することで、KaiC は自己脱リン酸化する。これら 3 つの Kai タンパク質と ATP を混合することで、KaiC のリン酸化状態が約 24 時間の周期をもって変動する[1]。近年の研究において、リン酸化サイクルの周期と KaiC の ATPase 活性には相関が見られることが明らかとなった[2]。この相関は ATPase とリン酸化反応が互いに制御し合う共役関係にあることを意味しており、さらに重要なことに、いずれの反応も KaiC に内包されている。このことは、これら共役関係をもたらしているであろう KaiC の構造変化を解析することが概日時計の分子機構の本質に迫るために重要であるといえる。本発表では、蛍光をはじめとする分光学的手法を用いて、ATPase やリン酸化状態に呼応した KaiC の構造変化について報告する[3]。

[1] Nakajima *et al.*, *Science* **308**, 414–415 (2005)

[2] Terauchi *et al.*, *PNAS* **104**, 16377–16381 (2007)

[3] Murayama *et al.*, *EMBO J.* **30**, 68–78 (2011)

---

T-7: Characterization and comparative study of the periplasmic region of PomB, a Na<sup>+</sup>-driven flagellar stator protein in *Vibrio alginolyticus*

○李娜<sup>1,2</sup>, 小嶋誠司<sup>1</sup>、本間道夫<sup>1</sup>

所属: <sup>1</sup>名大・院理・生命理学、<sup>2</sup>西北農林科技大学・生命科学

Stator proteins PomA and PomB form a complex that functions as a Na<sup>+</sup> channel and couples Na<sup>+</sup> influx to torque generation in the polar flagellar motor of *Vibrio alginolyticus*. This stator complex must be anchored to an appropriate place around the rotor through a putative peptidoglycan-binding (PGB) domain in the periplasmic region of PomB (PomB<sub>C</sub>). We found that a PomB<sub>C</sub> fragment containing residues 135 to 315 (PomB<sub>C5</sub>) forms a stable homodimer and significantly inhibited motility of wild type cells when it was overexpressed in the periplasm. We also found that an in-frame deletion variant, PomB(Δ41-120) is functional and impaired cell growth under the condition of overexpression. In this meeting, together with other evidences, we would like to discuss functional roles of the periplasmic region of PomB in targeting and stable anchoring of PomA/B complex around the rotor and in the control of ion flux.

---

T-8: **Ligand-protein interaction studied by computer simulation and time-resolved x-ray crystallography**

発表者、共著者 ○都築峰幸<sup>AD</sup>、富田文菜<sup>B</sup>、腰原伸也<sup>B</sup>、足立伸一<sup>C</sup>、倭剛久<sup>AD</sup>

所属 名大院理<sup>A</sup>、東工大<sup>B</sup>、高エネ研<sup>C</sup>、JST-CREST<sup>D</sup>

**要旨:** Recently, high resolution x-ray crystallography demonstrated breathing motion of internal cavities in concert with ligand migration in myoglobin (Mb)[1]. Continuous pulsed illumination of carbomonoxy-Mb crystals at low temperatures has illustrated structural changes around each cavity in response to ligand migration. In the present study, we examined the effect of the breathing motion on the potential of mean force (PMF) for ligand-protein interactions by using molecular dynamics simulation and experimental data derived from the x-ray study[1]. Conformational sampling of Mb was performed by NPT molecular dynamics simulation for 90 ns. We introduced three-dimensional lattice of regularly spaced grid points, and evaluated PMF at each point by the implicit ligand sampling method [2]. The effect of the breathing motion of Mb on the ligand-protein interaction was illustrated by the difference map of PMFs for Mb structures before and after light illumination. Our results show ligand escaping pathway from the Xe1 and Xe2 pocket.

References

[1] A. Tomita et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A 106 2612 (2009)

[2] J. Cohen et al., Biophys. J. 91 1844 (2006)

## T-9: 配列順序に依存しない蛋白質構造アラインメントの新規手法

○南慎太郎<sup>1</sup>, 澤田賢吾<sup>1</sup>, 千見寺浄慈<sup>1</sup> 所属: <sup>1</sup>名古屋大・工

現在、アミノ酸配列順序に依存しない構造類似性が多い蛋白質間に存在することが明らかになっている。中には配列順序がシャッフルされ、二次構造要素の空間的配置のみが一致するという複雑な構造類似が多く存在し、蛋白質構造一般についての物理的制約を反映していると考えられている。さらに近年、LN. Kinch and NV. Grishin(2002)によって複雑な類似性を持ちつつも同様のリガンド結合様式を持つ蛋白質ペアの存在が明らかにされ、複雑な構造類似性が蛋白質の機能とも関連を持つ可能性が示唆された。以上の経緯から、配列順序に依存しない構造類似性を網羅的に解析することは、蛋白質の構造構築原理や機能-構造の関連性を理解する手段の一つになり得ると考えられている。しかし既存の配列順序に依存しない構造アラインメント手法の精度は満足のものではなく、ペアワイズアラインメント結果においてしばしば人間の直観と大きく反する(詳細は発表にて)。そこで我々はより人間の直観に合致するような構造比較アルゴリズムを開発し、その精度を既存のものと比較する目的でベンチマークテストを行った。さらに開発した手法を用いて複雑な構造類似性とリガンド結合様式に関連のあるペアについて網羅的検索を行った。講演当日はアルゴリズムの紹介、既存ツールとの比較と共に網羅的検索の結果を発表する。

---

## T-10: 高圧下におけるユビキチンの構造変化：焼き戻しシミュレーションによる研究

○森義治、岡本祐幸

名古屋大学 大学院理学研究科

タンパク質の構造を探る上で圧力は重要となってきた。いくつかのタンパク質は高圧下において変性することが知られている(タンパク質の圧力変性)。このような圧力によるタンパク質の変性機構を、コンピュータシミュレーションを用いて解明したい。

最近われわれは、拡張アンサンブル法のひとつである焼き戻し法(simulated tempering: ST)を定温定圧シミュレーションにおいて行うことができるように拡張した。この方法により、タンパク質の圧力依存性を正確に計算でき、さらに効率的なシミュレーションを実行することができるようになった。

この計算方法を水中のユビキチンにおいて適用し、正確かつ効率的なシミュレーションを行うことができることを示した。そして、ユビキチンが高圧条件下において特徴的な構造変化をすることも明らかにし、その構造変化に水分子が重要であることを見出した。

## T-11: 霊長類色覚視物質の内部結合水の構造解析

○片山耕大<sup>1</sup>、古谷祐詞<sup>1,2</sup>、今井啓雄<sup>3</sup>、神取秀樹<sup>1</sup>

<sup>1</sup>名工大・院工、<sup>2</sup>分子研・生命錯体、<sup>3</sup>京大・霊長研

我々が様々な色を識別できるのは、吸収極大波長の異なる 3 種類の錐体視物質が網膜に存在するからである。これらは全て 11-*cis* 型レチナールのプロトン化シッフ塩基という同一の発色団をもつが、オプシンと呼ばれる蛋白質部分がレチナールの電子状態を制御する結果、色の識別が可能になる。シッフ塩基のイオン対や我々の緑・赤感受性視物質に結合するクロライドなどに対しては、蛋白質部分だけでなく内部結合水も構造の安定化に関与すると考えられている<sup>[1]</sup>。しかしながら明暗視のロドプシンと異なり試料調製が困難なことから、このような錐体視物質の構造解析は皆無であった。

昨年我々は、培養細胞によりサルの緑・赤感受性視物質を大量に調製し、低温赤外分光法を用いることで霊長類色覚視物質の構造解析を初めて実現した<sup>[2]</sup>。我々はこの研究を発展させ、最近、内部結合水の O-D 伸縮振動を帰属することに成功したので報告する<sup>[3]</sup>。本発表ではウシロドプシンに対する水分子の構造解析<sup>[4]</sup>と比較するとともに、緑・赤感受性視物質間で確認された水分子を含む水素結合ネットワークの違いから、視物質の内部結合水が波長制御に関与する可能性について議論したい。

[1] H. Kandori (2006) In *cis-trans Isomerization in Biochemistry* Wiley-VCH: Weinheim, pp 53-75.

[2] K. Katayama, Y. Furutani, H. Imai, H. Kandori (2010) *Angew. Chem. Int. Ed.* 49, 891-894.

[3] K. Katayama, Y. Furutani, H. Imai, H. Kandori, to be submitted.

[4] Y. Furutani, Y. Shichida, H. Kandori (2003) *Biochemistry* 42, 9619-9625.

---

## T-12 : Hydrogen-exchange studies of the free heptameric GroES

発表者、共著者 : OMahesh S. CHANDAK, Takashi NAKAMURA, Koki MAKABE, Koichi KATO, Kunihiro KUWAJIMA

所属 : Okazaki Institute of Integrative Bioscience, National Institutes of Natural Sciences, The Graduate University for Advanced Studies (Sokendai),

要旨 : Tracing the dynamics of biomolecules having molecular weight larger than 50KDa is the most difficult task by using NMR solution spectroscopy. Here we report the study of relationships between dynamic structural fluctuations and biological functions of the free heptameric GroES by the use of a hydrogen-exchange technique. We observed rapid exchange rates of backbone amides of amino acid residues in a mobile loop which forms contacts with GroEL. This result indicates that the mobile loop is highly flexible in free-GroES.

## T-13: ポテンシャル面の変形によるマルチプルシークエンスアラインメント (MSA) 評価スコアの最適化

○澤田賢吾<sup>1</sup>、南慎太郎<sup>1</sup>、千見寺浄慈<sup>1</sup>

<sup>1</sup>名大・工

MSA は蛋白質の二次または三次構造予測、機能予測、系統樹解析などに役立つ生物学的に重要なツールである。現在 MSA の作成は一般的にプログレッシブアラインメントというアルゴリズムを基に行われている。プログレッシブアラインメントは比較的計算が軽いため大量の配列を扱うことができるが、MSA 作成の初期段階でのアラインメントの間違いを最後まで引きずる恐れがある。これらの問題を解決するための手法として反復改善法が提案されている。これはアラインメントを少しずつ変形させ評価スコアを最適化していく手法で反復改善法の中にも様々な手法が存在する。今回我々は反復改善法的一种としてモンテカルロ法を用いた MSA 評価スコアの最適化手法を提案する。我々の手法の特徴は評価スコア (COFFEE スコア) のポテンシャル面を変形させることにより効率よく最適化を行うことができるところである。

---

## T-14: リガンド結合とタンパク質立体構造変化の関数の分類と注釈付け

発表者、共著者: ○雨宮崇之<sup>1,2</sup>、小池亮太郎<sup>1</sup>、淵上壮太郎<sup>2</sup>、池口満徳<sup>2</sup>、木寺詔紀<sup>2,3</sup>

所属:<sup>1</sup>名大院・情報、<sup>2</sup>横浜市大院・生命ナノ、<sup>3</sup>理研・次世代計算科学

要旨: タンパク質立体構造は柔軟性があるため、リガンド結合などの外部からの刺激により立体構造変化が生じ、触媒作用などの機能を発現できるようになる。立体構造変化に伴う運動に対するリガンド結合との関係を明確にし、機能との相関を調べるために、非冗長な 839 種類の低分子リガンド結合に伴う立体構造変化のデータセットを構築した。その結果、全体的な運動であるドメイン運動の多くは閉じる運動であり、我々の開発した線形応答理論でリガンド結合との関係を理論的に示すことができた。さらに転移酵素では、反応を起こすために基質とまわりの水との接触を避けるので、ドメインの閉じる運動が顕著に観測された。一方で局所的な運動であるローカル運動にはオーダーディスタオーダー転移が多く見られ、局所構造の転移を伴う運動であることがわかった。

T-15: 徐冷法と遺伝的アルゴリズムを組み合わせた分子の安定構造探索法の提案について

発表者、共著者：○榮 慶丈<sup>1</sup>, 廣安 知之<sup>2</sup>, 三木 光範<sup>3</sup>, 岡本 祐幸<sup>1,4</sup>

所属：<sup>1</sup>名古屋大学大学院理学研究科, <sup>2</sup>同志社大学生命医科学部,

<sup>3</sup>同志社大学理工学部, <sup>4</sup>名古屋大学大学院理学研究科附属構造生物学研究センター

要旨：DNA やタンパク質などの生体高分子の構造や機能を理解する上で、分子シミュレーションは有効な手段として現在盛んに用いられている。しかしながらこれらの系を扱うシミュレーションでは、その構造の複雑さのために、計算可能な時間内で十分な構造探索をおこなうことができない。この問題を解決するため本研究では既に優れた構造探索手法であることが知られている徐冷法と遺伝的アルゴリズムの 2 つの手法を組み合わせた、より効率的な手法の提案をおこなう。今回提案する手法を実際に 20 残基の大きさをもつ Trp-cage に適用し、これまでの構造探索手法と比較した。

参考文献：Y. Sakae, T. Hiroyasu, M. Miki and Y. Okamoto, *J. Comput. Chem.* (2010), in press.

T-16: **Effect of a positively charged Lysine group in the105 position of Proteorhodopsin**

発表者、共著者：○Tushar K. Maiti, Keisuke Yamada, Keiichi Inoue and Hideki Kandori

所属 Department of Frontier Materials, Nagoya Institute of Technology,

要旨 (Abstract) Proteorhodopsin (PR) is a light driven proton pump found in marine  $\gamma$ -proteobacteria. Genomic analysis reveals more than thousands of PRs and they are classified into blue-absorbing ( $\lambda_{\max}$  ~490 nm) and green-absorbing ( $\lambda_{\max}$  ~525 nm) PR, dependent on the environmental light conditions. Color tuning mechanism in PR is intriguing, which has been our research topics (1-3). One of the color determinants of PR is known to be at position 105(position 93 in the bacteriorhodopsin), where blue and green PR possess Gln and Leu, respectively (4). The 105 position is in contact with the retinal chromophore at the hydrophobic region of the cytoplasmic side, but here we have found that a positively charged Lysine can be introduced at this position. The L105K mutant of PR shows a ~21 nm red shift ( $\lambda_{\max}$  ~549 nm) at pH 7.0, and the pKa of the counterion (7.2) does not change significantly compared to wild-type PR (6.8). Thermal analysis shows that the mutation causes some destabilization of structure, but it is more stable towards hydroxylamine reaction than the wild type. The flash photolysis measurement at pH 9.0 shows that the decay of the M-intermediate is very slow compared to wild-type protein, and more interestingly, the M-intermediate is in equilibrium with the O-intermediate. The slow M-decay possibly originates from the perturbation of proton donor (Glu108) by Lys105, both of which may form a salt bridge. The inhibition of proton transfer is also observed when we measure the light-induced proton transport which corroborates our flash photolysis result. The results for the introduction of positively charged residue in 105 position will be discussed.

**References**

1. Yoshitsugu M., Shibata M., Ikeda D., Furutani Y., and Kandori H. *Angew Chem. Int. Ed.* (2008)47, 3923-3926.
2. Yoshitsugu M., Yamada J., and Kandori H. *Biochemistry* (2009) 48, 4324-4330.
3. Yamada K., Kawanabe A., and Kandori H. *Biochemistry* (2010) 49, 2416-2423.
4. Man D., Wang W., Sabehi G., Aravind L., Post A. F., Massana R., Spudich E. N., Spudich J. L., and Beja O. *EMBO J.* (2003) 22, 1725-1731.



#### T-17: Na<sup>+</sup>駆動型べん毛モーター固定子複合体のモーターへの集合機構

○小嶋誠司<sup>1</sup>、野々山菜摘<sup>1</sup>、竹川宜宏<sup>1</sup>、福岡創<sup>2</sup>、本間道夫<sup>1</sup>

所属：<sup>1</sup>名大・院理・生命理学、<sup>2</sup>東北大・多元物質科学研究所

細菌べん毛モーターは固定子と回転子からなり、固定子チャンネル中を共役イオンが流れる際に起こる回転子-固定子間相互作用によってトルクが発生する。モーターが回転するには、複数の固定子が回転子周囲の適切な場所に配置・固定される必要があるが、その集合メカニズムの詳細は分かっていない。そこで我々は、菌体の極に1本のNa<sup>+</sup>駆動型極べん毛を持ち、GFP融合固定子複合体を用いて固定子集合能を容易に解析できるビブリオ菌を材料として、固定子集合のメカニズムに迫ろうと考えた。変異体の解析から、固定子と回転子の相互作用は、回転子タンパク質 FliG と固定子タンパク質 PomA の間で起こると考えられてきた。そこで、モーター回転を欠損する種々の FliG 変異体において固定子の集合能を調べたところ、FliG の C 末端ドメインのコア部分における変異によって、固定子の集合が著しく阻害されることが明らかとなった。一方、PomA の細胞質側の変異に付いても同様に調べたところ、同様に固定子集合能を低下させる複数の変異が見つかった。従って、固定子が集合する際、FliG の C 末ドメインと PomA の細胞質領域が近傍に存在しなければならない。支部会では、これまでの解析結果をもとに提唱した固定子集合モデルについて議論したい。

---

#### T-18: NMR を用いたミトコンドリアジスルフィド結合導入タンパク質 Tim40 と FAD 結合型酸化酵素 Erv1 の相互作用様式の解明

発表者、共著者：○安西高廣、河野慎、若森育也、寺尾佳代子、遠藤斗志也

所属：名大院・理・物質理学

要旨：ミトコンドリア膜間部には、基質へのジスルフィド結合導入を担う酸化還元トランスロケータ Tim40/Mia40 と FAD 結合型酸化酵素 Erv1 が存在する。本研究では、Erv1 による Tim40 認識機構の解明を目指し、NMR を用いて相互作用領域の同定を試みた。<sup>15</sup>N 標識した Tim40 のコアドメインに、スピラベルを導入した Erv1 を加えたが、シグナル強度減少は観測されなかった。一方、Tim40 の基質である Tim9 の認識配列ペプチド MSP1 を N 末端側に融合させた MSP1-Tim40 では、MSP1 および基質認識部位の近傍に位置する残基でシグナル強度減少が観測された。したがって、Erv1 は Tim40 単独を認識するのではなく Tim40 と基質との複合体を認識すること、Erv1 と Tim40 の相互作用部位は結合した基質およびその近傍であることが明らかになった。

## T-19: ハロロドプシンのアザイド結合の状態

発表者: ○中西太市<sup>1</sup>、共著者: 金田創運<sup>1</sup>、竹口優<sup>1</sup>、村上緑<sup>1</sup>、井原邦夫<sup>2</sup>、神山勉<sup>1</sup>

所属: <sup>1</sup>名古屋大学理学研究科物質理学、<sup>2</sup>名古屋大学遺伝子実験施設

要旨: ハロロドプシン(hR)は、高度好塩菌の細胞膜中にある膜タンパク質であり、Halobacterium salinarum 由来のもの(sHR)と Natronomonas pharaonis 由来のもの(pHR)が広く研究されている。ハロロドプシンは、光エネルギーを利用して細胞外側の塩素イオンを細胞内側に輸送する光駆動塩素イオンポンプとして働く7回膜貫通型のタンパク質である。タンパク質内の発色団レチナールが光を吸収することにより all-trans 型から 13-cis 型に光異性化し、タンパク質の構造変化を誘起する。

本研究室では、大量のhRを産出する Natronomonas pharaonis の大量発現系(KM-1株)を創出し、また高純度のハロロドプシンの精製法を開発し、そして三次元結晶化に成功している。結晶構造解析では塩素イオン結合状態に2.0Åの分解能で成功し、O中間体の類似の状態である塩素イオン非結合青色状態の構造解析にも成功している(分解能1.8Å)。

ハロロドプシンは塩素イオン以外にも結合させることができる一価陰イオンが報告されている。これら一価陰イオンは塩素イオン同様に輸送されるものと、光反応サイクル中でシッフ塩基の脱プロトン化を促すものがある。光反応サイクル中でのシッフ塩基脱プロトン化は塩素イオンポンプ→プロトンポンプの転換を示唆しているという事が報告されている。

本研究ではアジ化物イオン結合型ハロロドプシンのM中間体(アジ化物イオン添加により光反応サイクル中に生じる410nmに吸収極大を持つ中間体)の形成を分光測定で確認し、その構造解析を行った。分光測定の結果からM中間体の寿命が外液のpHとアジ化物イオン濃度に依存する事が分かった。これらのデータを基に結晶中でのM中間体の蓄積条件を検討し、2.5Åの分解能で回折データを得た。構造解析の結果からM中間体では、①レチナールが13-cis型をとる事で、Fヘリックスが細胞質側へスライドする。②アジ化物イオンが結合部位から脱落し、Cヘリックスの構造変化(O中間体様陰イオン非結合状態とよく似た構造変化)を起こす。という事が明らかになった。

---

## T-20: レプリカ交換法による膜たんぱく質の立体構造予測

発表者、共著者 ○浦野諒、岡本祐幸

所属 名古屋大学・大学院理学研究科

### 要旨

膜たんぱく質は、分子生物学により、各生物種で全たんぱく質の約2、3割を占めることがわかっている。しかし、実験により構造を決定するのは、非常に困難であり、pdbでも約1%の比率でしか登録されてない。よって、我々はレプリカ交換モンテカルロ法をもちいることにより、計算機実験により膜たんぱく質の自由エネルギー最小の構造をもとめる手法を開発中である。膜たんぱく質特有の膜環境は陰溶媒として見つかった。結果としてえられた構造のエネルギー成分をみることにより、その構造を決定する要因を調べた。

T-21: 赤外分光法でみる V 型 ATPase のイオン結合・解離に伴う構造変化

○古谷祐詞<sup>1,2</sup>、村田武士<sup>3</sup>、神取秀樹<sup>4</sup>

所属：<sup>1</sup>分子研、<sup>2</sup>総研大、<sup>3</sup>千葉大・院理、<sup>4</sup>名工大・院工

#### 要旨

液胞型 ATPase (V 型 ATPase) は ATP の加水分解反応により H<sup>+</sup> や Na<sup>+</sup> イオンを輸送する膜タンパク質である。腸炎球菌 *Enterococcus hirae* から見つかった V 型 ATPase は Na<sup>+</sup> 輸送型であり、イオン輸送に関連する K リングサブユニットの X 線結晶構造が Na<sup>+</sup> および Li<sup>+</sup> 結合状態で報告されている (Murata et al. Science 2005, PNAS 2008)。我々は、全反射型赤外分光法を用いた解析を行い、Na<sup>+</sup> および Li<sup>+</sup> イオンの脱着に伴う赤外吸収スペクトル変化を、V 型 ATPase の構成ユニットおよび ATPase 活性を保った状態で、計測することに成功した (Furutani et al, J. Am. Chem. Soc. 2011)。その結果、イオンの脱着に伴ってイオン結合部位の Glu139 のプロトン化状態が変化すること、Tyr 残基の水素結合に変化が生じることなどを明らかにした。講演では、以上の結果とともに最近の研究の進展について報告したい。

## P1 : 時計タンパク質 KaiC の概日性分子鼓動

○発表者、共著者：村山 依子<sup>1</sup>, 向山 厚<sup>1,2</sup>, 今井 圭子<sup>1,2</sup>, 尾上 靖宏<sup>1,2</sup>, 角田 明菜<sup>1</sup>, 野原 淳志<sup>1</sup>, 石田 達郎<sup>1</sup>, 前田 雄一郎<sup>1</sup>, 寺内 一姫<sup>4</sup>, 近藤 孝男<sup>1,2</sup>,  
○秋山 修志<sup>1,2,3,5</sup>

所属：<sup>1</sup>名大・院理, <sup>2</sup>CREST/JST, <sup>3</sup>理研・播磨, <sup>4</sup>立命館・生命, <sup>5</sup>PREST/JST

近年, KaiC の ATPase 活性がシアノバクテリアの概日時計の周期と相関することが見出された. この相関は, ATPase の反応機構が時計の本質 (周期を 24 時間に定める機構) と密に関わり, それがタンパク質に内包されていることを示唆する. また, リン酸化型 KaiC に比べて脱リン酸化型 KaiC が高い ATPase 活性を示すという観察は, 「周期を規定する ATPase」と「リン酸化」という 2 つの反応が, タンパク質構造の枠組み内でクロストークし, 互いに制御し合っていることを意味する. よって解き明かすべきは, KaiC の ATPase 活性を“ゆっくり”かつ“安定”に制御する機構, すなわち, リン酸化状態や ATP 加水分解状態に応じた KaiC の構造変化である. 本発表では, X線小角散乱をはじめとする各種分光法を用いた結果に基づき, KaiC の概日性構造転移について議論する.

---

## P2 : SEIRA Spectroscopy of Halorhodopsin Monolayer Tethered on Gold Surface

発表者、共著者：Hao Guo<sup>1,2</sup>, Tetsunari Kimura<sup>1,2</sup> and Yuji Furutani<sup>1,2</sup>

所属：<sup>1</sup> Department of Structural Molecular Science, The Graduate University for Advanced Studies, <sup>2</sup> Department of Life and Coordination-Complex Molecular Science, Division of Molecular Sensing, Institute for Molecular Science

要旨：Surface-enhanced infrared absorption (SEIRA) is a phenomenon that infrared absorption of molecules adsorbed on some rough metal surfaces can be increased by a factor of 10 to 1000. With the high sensitivity and near-field effect, SEIRA spectroscopy is considered as a promising tool for the functional study of a protein monolayer. *pharaonis* halorhodopsin (*pHR*) is a light-driven chloride pump in bacterial cell membrane and its anion transport mechanism is less clear.

Using difference SEIRA spectroscopy combined with attenuated total reflection (ATR) configuration, we followed specific binding of His-tagged *pHR* to a nickel chelating nitrilotriacetic acid (Ni-NTA) modified gold surface and formation of a member protein monolayer. The chloride-ion-binding induced difference spectrum of *pHR* in monolayer, which is significantly different from the conventional FTIR result, has been recorded for the first time. The assignment of the signals has not been done yet, but this will open the new method for investigating ion-protein interactions of membrane proteins, such as ion channels, transporters, sensors, etc.

### P3：脂質二重膜のレプリカ交換分子動力学によるシミュレーション

発表者、共著者： 永井哲郎<sup>1</sup> 岡本祐幸<sup>1,2</sup>

所属 <sup>1</sup>名古屋大学大学院理学研究科

<sup>2</sup>名古屋大学大学院理学研究科附属構造生物学研究センター

#### 要旨

脂質二重膜は、細胞が外部と協調・対峙する最前線の舞台をなすばかりでなく、それ自体が薬として作用することが示唆されている非常に興味深い対象である。

本研究では、粗視化モデルの脂質二重膜を、レプリカ交換分子動力学を用いてシミュレーションした。粗視化モデルには、MARTINI2.0を用いた。我々の知る限り、脂質二重膜に拡張アンサンブル法を用いたのは本研究が初めてである。

エンタルピー・膜面積・膜厚に296Kあたりで急激な変化があることを確認した。また、比熱にもこの温度でピークが見られた。これらは、ゾルゲル相転移を示すと考えられる。また、低温での構造を、平均力ポテンシャルにより分類すると、ゲル層には2つの構造があり、それぞれ、傾いたゲル層と傾かないゲル層であった。

構造のスナップショット等を含む詳細を当日発表する予定である。

---

### P4：溶液 NMR を用いた FliG の動的構造変化の解明に向けて

郷原瑞樹<sup>1</sup>、吉住怜<sup>1</sup>、服部良一<sup>2,3</sup>、児嶋長次郎<sup>2,3</sup>、本間道夫<sup>1</sup>

所属：<sup>1</sup>名古屋大学大学院理学研究科、<sup>2</sup>大阪大学蛋白質研究所、<sup>3</sup>奈良先端科学技術大学院

#### 要旨

ビブリオの持つベン毛モーターは、細胞膜を介した Na<sup>+</sup>の電気化学的勾配をエネルギー源とする分子機械である。この Na<sup>+</sup>駆動型モーターは、固定子と回転子によって構成されている。FliG は、回転子を構成するタンパク質で、トルク発生と回転方向の切り替えに関わっていると考えられている。

近年、*A. aeolicus* の FliG の全長の結晶構造から、FliG が N 端ドメイン(N)、ミドルドメイン(M)、C 端ドメイン(C)の3つのドメインからなる事が明らかになった。また、この論文によって、FliG のダイナミックな構造変化によって、トルクの発生や回転方向制御が起こっていることが示唆された。

本研究では、*V. alginolyticus* の FliG の構造的性質の解析を行うために、FliG 全長 (FliG)、G122-FliG (FliG-MC)、G214-FliG (FliG-C)といった、3つの FliG を発現、精製できる系の構築をおこなった。その後、ゲルろ過クロマトグラフィーや CD スペクトルによる二次構造予測、DSC(示差走査熱量測定)を用いた熱安定性の測定を行った。現在は、溶液 NMR を用いて <sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N HSQC を測定し、三次元測定による構造情報の取得に向けた条件検討をおこなっている。

**P5 : Outer surface protein A のフォールディング機構**

発表者、共著者 : ○真壁幸樹、Debanjan Dhar、中村敬、桑島邦博

所属 : 岡崎統合バイオサイエンスセンター

要旨 : ポレリア菌由来 Outer Surface Protein A (OspA) は N 末端ドメインと C 末端ドメイン間に単層  $\beta$  シート (single-layer-beta-sheet; SLB) 領域を持つ。この SLB 領域は  $\beta$  シートの両面が溶媒に露出しており、側鎖はパッキングに関与していないため、 $\beta$  シートそのものの物理化学的性質を観察できる。本研究では OspA の構造形成過程を明らかにするために、巻き戻り過程を急速混合法を用いて評価した。トリプトファン残基は C 末端ドメインに一つだけあり、トリプトファン蛍光を用いて C 末端ドメインの形成を特異的に追跡できる。トリプトファン蛍光を用いた蛍光値の時間変化から、遅延相を含む二つの指数関数で表される巻き戻り過程が観測された。円偏光二色性を用いた測定では、この遅延相が CD 値の変化を持つ速い速度相として観察された。このように天然状態の形成が遅延相の後に観察されるのは、中間体が経路上に存在することの強い証拠である。

---

**P6 : Dissecting a bimolecular process of ATP binding to the chaperonin GroEL**

発表者、共著者 : ○Jin Chen<sup>1</sup>, Koki Makabe<sup>1,2</sup>, Takashi Nakamura<sup>1</sup>, Tomonao Inobe<sup>3</sup>, Kunihiro Kuwajima<sup>1,2,3</sup>

所属 <sup>1</sup>Okazaki Institute for Integrative Bioscience and Institute for Molecular Science, National Institutes of Natural Sciences; <sup>2</sup>Department of Functional Molecular Science, School of Physical Sciences, Graduate University for Advanced Studies (Sokendai); and <sup>3</sup>Department of Physics, School of Science, University of Tokyo

要旨 Although allosteric transitions of GroEL by MgATP<sup>2-</sup> have been widely studied, the initial bimolecular step of MgATP<sup>2-</sup> binding to GroEL remains unclear. Here we studied the equilibrium and kinetics of MgATP<sup>2-</sup> binding to a variant of GroEL, in which Tyr485 was replaced by tryptophan, by isothermal titration calorimetry and stopped-flow fluorescence spectroscopy. In the absence of K<sup>+</sup> at 5°C, the allosteric transitions and the subsequent ATP hydrolysis by GroEL are halted, and hence the stopped-flow fluorescence kinetics induced by rapid mixing of MgATP<sup>2-</sup> and the GroEL variant solely reflected MgATP<sup>2-</sup> binding, which was well represented by bimolecular non-cooperative binding with a binding rate constant  $k_{on}$  of  $9.14 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$  and a dissociation rate constant  $k_{off}$  of  $14.2 \text{ s}^{-1}$ , giving a binding constant  $K_b$  ( $=k_{on}/k_{off}$ ) of  $6.4 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ . We also successfully performed isothermal titration calorimetry to measure binding isotherms of MgATP<sup>2-</sup> to GroEL, and obtained a  $K_b$  of  $9.5 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$  and a binding stoichiometric number of 6.6. The  $K_b$  was thus in good agreement with that obtained by stopped-flow fluorescence. In the presence of 10-50 mM KCl, the fluorescence kinetics consisted of three-to-four phases, the first fluorescence-increasing phase, followed by one or two exponential fluorescence-decreasing phases, and the final slow fluorescence-increasing phase, and comparison of the kinetics in the absence and presence of K<sup>+</sup> clearly demonstrated that the first fluorescence-increasing phase corresponds to bimolecular MgATP<sup>2-</sup> binding to GroEL. The temperature dependence of the kinetics indicated that the MgATP<sup>2-</sup> binding to GroEL was activation-controlled with an activation enthalpy as large as 14-16 kcal/mol.

Present address: Tomonao Inobe, Laboratory for Structural Neuropathology, RIKEN Brain Science Institute, 2-1, Hirosawa, Wako, Saitama 351-0198, Japan.

#### P7: アポミオグロビンのフォールディングの pH 依存性

発表者、共著者：○水上琢也、榎互介

所属：名古屋大学・大学院理学研究科

要旨：アポミオグロビンは、中間体  $I_{ref}$  の形成の後、天然状態へとフォールディングする。 $I_{ref}$  は、pH~4 等の穏和な変性条件下で蓄積する平衡論的の中間体  $I_{eq}$  と類似している。本研究では、この蛋白質のフォールディングの初期過程を明らかにするため、トリプトファン蛍光をプローブとして、8 °C におけるウマアポミオグロビンのフォールディングの速度論と平衡論の pH 依存性を系統的に測定した。酸変性状態からのリフォールディング反応においては、 $I_{ref}$  の形成過程を反応開始後~100  $\mu$ s の時間領域で検出した。天然状態から低 pH へのアンフォールディング反応では、反応開始後~100  $\mu$ s の時間領域で、中間体  $I_{unf}$  の蓄積を検出した。この過程は、 $I_{eq}$  からのアンフォールディングでは検出されなかった。これらの結果は、 $I_{ref}$ 、 $I_{unf}$  及び  $I_{eq}$  が同一の中間体であると仮定したモデルで説明できた。変性条件が強いほど、天然状態から  $I_{eq}$  へのアンフォールディングが速くなり、酸変性状態から  $I_{eq}$  へのリフォールディングが遅くなることで、天然状態が不安定化し、酸変性状態が安定になることがわかった。

---

#### P8: 細菌の走光性に関わるタンパク質の相互作用解析

○発表者、共著者：○割石学<sup>1</sup>、鈴木大介<sup>1</sup>、本間道夫<sup>1</sup>、須藤雄気<sup>1,2</sup>

所属：名古屋大学院・理学研究科・生命理学専攻<sup>1</sup>、さきがけ・JST<sup>2</sup>

【要旨】微生物は外部刺激を感じ、自分の好む環境へ移動する「走性」を示すことで過酷な環境を生き抜く。私は、光に対する応答である走光性に興味をもち、研究を行っている。走光性に働くタンパク質は走化性との類推から予測されているが、その詳細な働きは明らかになっていない。

本研究では走光性のメカニズムを明らかにするために、真正細菌である *Salinibacter ruber* 由来の CheA 及び CheW の単離/発現/精製系を確立し、走光性において、これら分子の役割を明らかにすることを目指した。これまでのところ、CheW 及び CheA を組み換え体として大腸菌内で大量に発現・精製させる事に成功し、CheW と CheA が直接結合する事、*SrSRI-SrHtrI* 全長複合体が、CheW/CheA 複合体と結合する事を生化学的に明らかにした。今後、表面プラズモン共鳴 (SPR) や等温滴定型熱量計 (ITC) などで定量的な相互作用解析を行うほか、光依存的な結合変化やリン酸化反応を解析する予定である。

**P9** : ミトコンドリア内膜トランスロケータ構成因子 Tim50 の構造解析

○発表者、共著者: ○石丸雄基<sup>1</sup> 河野慎<sup>1</sup> 遠藤斗志也<sup>1</sup>

所属: <sup>1</sup>名大院・理

#### 要旨

ミトコンドリア膜上には、サイトゾルで合成されたミトコンドリアタンパク質前駆体を選択的に膜透過させるトランスロケータ複合体が存在し、外膜上では TOM40 複合体が、内膜上では TIM23 複合体がこの機能を担っている。これらの複合体は共役して働くことが知られているが、TOM40 複合体から TIM23 複合体への前駆体受け渡しや内膜における行き先シグナル認識の分子機構については不明な点が多い。本研究室で同定された Tim50 は、これらのステップに直接関与するものと考えられている。本研究では Tim50 のコアドメインについて行き先シグナルに対応するペプチドとの複合体の結晶構造を 2.1 Å の分解能で決定したので、それに基づき、Tim50 の機能について議論したい。

---

**P10** : Na<sup>+</sup>駆動型べん毛モーターの固定子 PomA/B 複合体の膜貫通領域に保存された PomB-F22 の役割

○寺内堯史<sup>1</sup>, 寺島浩行<sup>2</sup>, 小嶋誠司<sup>1</sup>, 本間道夫<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>名古屋大・院理・生命理、<sup>2</sup>コーネル大・医学校)

細菌のべん毛モーターは、細胞膜内外の共役イオン (H<sup>+</sup> や Na<sup>+</sup>) の電気化学ポテンシャル差により駆動される回転モーターである。大腸菌の H<sup>+</sup> 駆動型モーターの固定子は、MotA と MotB からなり、海洋性ビブリオ菌の Na<sup>+</sup> 駆動型モーターの固定子は、PomA と PomB からなる。本研究では、固定子のイオン特異性、イオン透過経路を解析するために、MotA と PomA、MotB と PomB のアミノ酸配列を比較し、Na<sup>+</sup> 駆動型で保存されている残基を H<sup>+</sup> 駆動型で保存されている残基に置換した変異体を作成し、運動能を調べ、その残基の特徴付けを行った。その結果、作成した変異体のうち PomB-F22Y でのみ、遊泳可能となる Na<sup>+</sup> 濃度の閾値の上昇が観察された。また、PomB-F22 を様々なアミノ酸に置換してみると、セリンやアスパラギンに置換した時は閾値がさらに上昇することがわかった。さらに、PomB-F22S、PomB-F22N は、Na<sup>+</sup> チャネル阻害剤である phenamil に強い耐性を示した。これらの結果から、PomB-F22 は、これまでに知られている phenamil 結合部位の近傍に存在し、Na<sup>+</sup> の透過、特に Na<sup>+</sup> の放出に重要であると考えられる。



**P11** : 拡張アンサンブル法分子動力学計算による, GroEL の ATP 結合平均力ポテンシャル評価

**発表者、共著者** 葛巻 亜弥子, 岡本 祐幸

所属 名古屋大学 大学院理学研究科 物質理学専攻(物理系)

**要旨** 拡張アンサンブル法は, 系がエネルギーの局所的な極小状態に陥るのを避けることにより, 生体分子系の計算機シミュレーションの多様な配座サンプリングを可能にする. 本研究では, 拡張アンサンブル法を適用した分子動力学シミュレーションにより, 57K ダルトンのタンパク質である, バクテリアシャペロニン GroEL のサブユニットの ATP 結合の平均力ポテンシャルを計算した. 拡張アンサンブル法の一つであるレプリカ交換アンブレラサンプリング法は, 反応座標空間において広範な空間のサンプリングを促すことができる. この手法を適用することで, 既知の ATP 結合部位周辺の平均力ポテンシャルを明らかにした.

---

**P12** : 光化学系 II-金ナノ粒子複合体の形成

**野地 智康**<sup>1</sup>, 鈴木 博行<sup>2</sup>, 五藤 俊明<sup>1</sup>, 岩井 雅子<sup>3</sup>, 池内 昌彦<sup>4</sup>, 鞆 達也<sup>2</sup>, 野口 巧<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>名古屋大学院・理, <sup>2</sup>東京理科大・理, <sup>3</sup>東京理科大・理工, <sup>4</sup>東京大・総合文化

**要旨**

高効率な人工光合成系の開発は、現在人類が直面するエネルギー問題、地球温暖化問題を解決するために極めて重要な課題である。高い量子効率で光エネルギー変換反応を行う天然の光合成蛋白質を利用したハイブリッド型人工光合成系の開発は、その一つの方向性として注目されてきた。本研究では、光水分解ナノシステムの開発を目指して、光化学系 II コア蛋白質(PSII)と金ナノ粒子との複合体形成を行った。CP47 サブユニットの C 末端にヒスチジンタグを導入した好熱性シアノバクテリア *T. elongatus* の PSII 二量体を、Ni-NTA を介して直径 20 nm の金ナノ粒子へ結合させた。本研究で得られた PSII-金ナノ粒子複合体は、水から電子を得る光エネルギー変換ナノデバイスとして応用が可能であると考えられる。