

2017 年度
生物物理学会中部支部講演会
講演要旨集

2018 年 3 月 5 日

名古屋大学 東山キャンパス 野依記念学術交流館

講演会 野依学術記念会館

■ 9:15-9:20 支部長挨拶 廣明 秀一 (名大)

■ 9:20-10:35 講演 1

T01
9:20-9:35
ビブリオ菌極べん毛の正の本数制御因子 FlhF によるべん毛形成開始機構の解析
○井上 祐菜¹、小嶋 誠司²、本間 道夫²
¹名大・理・生命理学、²名大・院理・生命理学

T02
9:35-9:50
レプリカ交換傘サンプル法によるリゾチームと α ラクトアルブミンのモルテングロビュール状態の構造探索
○清水 政宏、岡本 祐幸
名大・院理

T03
9:50-10:05
超分子質量分析によるプロテアソーム構成サブユニットの相互作用解析
○石井 健太郎¹、関口 太一朗²、矢木 宏和²、佐藤 匡史²、内山 進^{1,3}、加藤 晃一^{1,2,4}
¹岡崎統合バイオ、²名市大・院薬、³阪大・院工、⁴分子研

T04
10:05-10:20
細菌べん毛モーター形成の中心である MS リングのリング形成メカニズムの解明
○平野 圭一、寺島 浩行、本間 道夫
名大院理生命理学

T05
10:20-10:35
(6-4) 光回復酵素の DNA 修復における Lys 残基の役割
○山田 大智¹、Hisham M. Dokainish²、山元 淳平³、北尾 彰朗²、神取 秀樹¹
¹名工大院工、²東工大院生命理工、³阪大院基礎工

10:35-10:50 休憩

■ 10:50-12:20 講演 2

T06
10:50-11:05
原子間力顕微鏡を用いた発生期大脳原基における力学的特性の計測
○長坂 新、宮田 卓樹
名大・院医

T07
11:05-11:20
NMR 法を活用した Wnt シグナル阻害剤の探索
○堀 公法¹、味岡 果澄²、合田 名都子¹、天野 剛志^{1,3}、廣明 秀一^{1,3}
¹名大・院創薬、²名大・理生命、³合同会社 BeCellBar

T08
11:20-11:35
高速 AFM によるサソリ毒ペプチドと K⁺チャネルの結合動態解析
○角野 歩^{1,2}、炭竈 享司³、内橋 貴之⁴、老木 成稔³
¹金沢大 WPI-NanoLSI、²金沢大新学術、³福井大医、⁴名大院理

T09
11:35-11:50
酸素センサータンパク質の動作機構に関する理論的研究
○太田 匡隆¹、倭 剛久^{1,2}
¹名大・院理、²ストラスブール大

T10 イオンチャネルにおけるノックオン機構は本当に重要か？-その2-
11:50-12:05 ○炭竈 享司、老木 成稔
福井大医

T11 膜タンパク質の強制アンフォールディングの粗視化シミュレーション
12:05-12:20 執行 治雄¹、山田 達矢²、○倭 剛久^{1,3}
1名大院理、²京大エネルギー理工、³ストラスブール大
12:20-13:45 中部支部総会・昼食

■ 13:45-15:00 講演 3

T12 タイトジャンクションを制御する植物由来成分の発見
13:45-14:00 ○久田 美咲、野田 翔太、天野 剛志、廣明 秀一
名大・院創薬

T13 タンパク質の糖鎖修飾制御機構の解明に向けた糖転移酵素の局在観察
14:00-14:15 ○本田 怜奈^{1,2}、矢木 真穂^{1,2,3}、矢木 宏和³、青木 一洋^{1,2}、加藤 晃一^{1,2,3}
1総研大、²岡崎統合バイオ、³名市大院薬

T14 制御性T細胞と白血病細胞との相互作用を考慮した数理モデルによる免疫細胞療法の設計
14:15-14:30 ○西山 義晃
金沢大院自然研

T15 海洋性ビブリオ菌べん毛モーター固定子PomAタンパク質のCys変異導入を用いた細胞質領域の構造解析
14:30-14:45 ○三野 平¹、錦野 達郎²、岩月 啓人²、小嶋 誠司²、本間 道夫²
1名古屋大・理・生命理学、²名古屋大・院理・生命理学

T16 トロンビンのアロステリック制御・再訪
14:45-15:00 ○栗崎 以久男^{1,2}、高柳 昌芳^{2,3}、Barberot Chantal^{2,3}、長岡 正隆^{1,2}
1名大・情報学、²CREST、³名大・情報科学
15:00-15:15 休憩

■ 15:15-16:45 講演 4

T17 分子動力学法による静止膜電位に関する研究
15:15-15:30 ○川口 一朋、長尾 秀実
金沢大理工

T18 *Enterococcus hirae* 由来 V₁-ATPase のサブステップと化学力学共役機構の解明
15:30-15:45 ○飯田 龍也^{1,2,3}、皆川 慶嘉⁴、上野 博史⁴、河合 文啓³、村田 武士⁵、飯野 亮太^{1,2,3}
1総研大、²分子研、³岡崎統合バイオ、⁴東大院工、⁵千葉大院理

T19 Creating and analyzing microtubule defects with high-speed AFM
15:45-16:00 ○Ganser Christian, Uchihashi Takayuki
Nagoya University, Department of Physics

T20
16:00-16:15
ビブリオ菌べん毛モータータンパク質 FliG 変異が回転方向制御に与える構造的影響
○錦野 達郎¹、土方 敦司²、宮ノ入 洋平^{3,4}、尾上 靖宏¹、小嶋 誠司¹、白井 剛²、
本間 道夫¹
¹名大院理生命理学、²長浜バイオ大バイオサイエンス、³名大院理構造生物学センター、
⁴阪大蛋白研

T21
16:15-16:30
コヒーシンの浸透圧によるループ形成機構
○山本 哲也¹、Helmut Schiessel²
¹名古屋大学 物質科学専攻、²Instituut Lorentz for Theoretical Physics, Leiden
University

T22
16:30-16:45
能動輸送のパナマ運河モデルと光駆動ナトリウムポンプの特殊性
○神取 秀樹、井上 圭一、角田 聡
名工大院工

■ 16:45-17:45 ポスター発表

P01
Construction of recombinant expression system of a heterodimer kinesin-14 Kar3-
Cik1/Vik1
○Akasit Visootsat^{1,2}, Akihiko Nakamura^{1,2}, Jun Ando^{1,3}, Ryota Iino^{1,2,3}
¹総研大、²岡崎統合バイオ、³分子研

P02
ROS 感受性プロモーター融合蛍光タンパク質コード遺伝子組換え大腸菌による環境毒性の
蛍光可視化
○岩上 諒太郎¹、柄谷 肇²
¹京工繊大院・機能物質化学、²京工繊大院・分子化学系

P03
種々のイオンによるアクチン重合の熱力学測定
○菊本 真人¹、大澤 文夫²
¹名大・構造生物、²名古屋大学／大阪大学名誉教授

P04
脂質、ヌクレオチド依存的なペルオキシレドキシシン高次複合体の形成メカニズム
○紺野 宏記¹、春山 隆充²、内橋 貴之³、古寺 哲幸¹、安藤 敏夫¹
¹金沢大・バイオ AFM、²奈良先端大・バイオ、³名大・院理

P05
霊長類緑感受性視物質の光反応中間体の赤外分光測定
○佐々木 拓磨¹、片山 耕大¹、吉住 玲¹、今井 啓雄²、神取 秀樹¹
¹名工大、²京大・霊長研

P06
蛋白質の翻訳後修飾に関わる酵素群の基質選択性の解明に向けた分子動力学シミュレーション
○三嶋 浩和^{1,2}、塚本 修一郎^{1,2}、岡本 祐幸^{1,2,3}
¹名大院理、²CREST、³名大院理構造生物

P07	<p>光化学系Ⅱ酸素発生系マンガククラスター損傷の分子機構</p> <p>寺島 尚貴、○三野 広幸</p> <p>名大・院理</p>
P08	<p>βヘアピン構造を持つペプチドの高圧下での構造安定性に関する理論的研究</p> <p>○山内 仁喬^{1,2}、奥村 久士^{1,2}</p> <p>¹総研大、²分子研</p>
P09	<p>高速 AFM を用いた微生物型ロドプシンの多量体構造の包括的解析</p> <p>池田 健人¹、井上 圭一²、今野 雅恵²、Manish Singh²、片岡 千尋²、 吉住 玲²、神取 秀樹²、内橋 貴之³、○柴田 幹大^{4,5}</p> <p>¹金沢大・理工、²名工大・院工、³名大・院理、⁴金沢大・WPI-NanoLSI、⁵金沢大・新学術創成</p>
P10	<p>紅藻由来カチオンチャンネルロドプシンのチャンネルゲート機構の解明を目指して</p> <p>○重村 竣太¹、細島 頌子^{1,2}、角田 聡^{1,3}、神取 秀樹¹</p> <p>¹名工大、²JSPS Research Fellow、³JST さきがけ</p>
P11	<p>高速 AFM による IV 型線毛関連タンパク質 PilB の観察</p> <p>○杉山 翔吾¹、Zhaomin Yang²、内橋 貴之³</p> <p>¹金大院自然、²Dept. of Biol. Sci., Virginia tech.、³名大理</p>
P12	<p>キチン加水分解酵素は 1nm ステップの” Burnt-bridge” Brownian ratchet である</p> <p>○中村 彰彦^{1,2}、岡崎 圭一³、古田 忠臣⁴、櫻井 実⁴、飯野 亮太^{1,2,3}</p> <p>¹岡崎統合バイオ、²総研大、³分子研、⁴東工大</p>
P13	<p>光化学系 II における Mn クラスターの光活性化過程：FTIR および量子化学計算による解析</p> <p>○中村 伸、佐藤 彰彦、野口 巧</p> <p>名大・院理</p>
P14	<p>セリン残基の非酵素的脱水機構についての量子化学計算</p> <p>○仲吉 朝希^{1,2}、加藤 紘一^{2,3}、栗本 英治²、小田 彰史^{1,2,4}</p> <p>¹金沢大院医薬保、²名城大薬、³金城学院大薬、⁴阪大蛋白研</p>
P15	<p>高速 AFM による Ca²⁺/CaM 結合に伴う CaMKII の動態観察</p> <p>○辻岡 尚太郎¹、村越 秀治²、柴田幹大^{3,4}</p> <p>¹金沢大・理工、²生理研、³金沢大・WPI-NanoLSI、⁴金沢大・新学術創成</p>
P16	<p>高速 AFM によるカドヘリンの結合状態の解析</p> <p>○渡辺 大輝¹、Sanjeevi Sivasankar²、内橋 貴之¹</p> <p>¹名大・物理、²アイオワ州立大・物理</p>
P17	<p>高速 AFM を用いた抗体-量子ドット複合体の動的観察</p> <p>○馬越 貴之¹、宇高 光²、福田 武司²、鈴木 美穂²、内橋 貴之³、安藤 敏夫⁴</p> <p>¹阪大院工、²埼玉大理工、³名大院理、⁴金沢大バイオ AFM-FRC</p>

- P18 イオン伝導顕微鏡による生細胞表面の観察
○北澤 怜子、中山 隆宏、渡辺 信嗣
金沢大・理工
- P19 光遺伝学に用いられる *AtCRY2* の分光解析
○縣 和哉、山田 大智、神取 秀樹
名工大
- P20 アクチン結晶構造の分類
○小田 俊郎
東海学院大学健康福祉学部
- P21 走査型プローブ顕微鏡の時間分解能向上に向けた水平走査制御手法の開発
○開発 秀星、渡辺 信嗣
金沢大・理工
- P22 抗体 G2 は異なる 3 つの配列を強く特異的に認識する
○鎌足 雄司
岐大・生命セ
- P23 講演タイトル 時計タンパク質 KaiC の機能発現に関わる動的構造変化の解析
○向山 厚^{1,2}、古池 美彦^{1,2}、山下 栄樹³、近藤 孝男⁴、秋山 修志^{1,2}
¹分子研 協奏分子システム、²総研大、³阪大・蛋白研、⁴名大・院理
温度補償能を欠損した時計タンパク質 KaiC 変異体の多様性
- P24 ○古池 美彦^{1,2}、向山 厚^{1,2}、山下 栄樹³、近藤 孝男⁴、秋山 修志^{1,2}
¹自然科学研究機構 分子科学研究所 協奏分子システム研究センター、²総合研究大学院大学、
³大阪大学蛋白質研究所、⁴名古屋大学大学院理学研究科
- P25 Optimizing expression and purification of His-tagged KaiC proteins
for an effective *in vitro* screening of circadian clock mutants in cyanobacteria
○Dongyan Ouyang¹, Atsushi Mukaiyama^{1,2}, Yoshihiko Furuike^{1,2} and Shuji Akiyama^{1,2}
¹Research Center of Integrative Molecular Systems (CIMoS), Institute for Molecular
Science, National Institute for Natural Sciences, ²Department of Functional
Molecular Science, SOKENDAI (The Graduate University for Advanced Studies)
- P26 新規酵素型ロドプシン Rh-PDE の反応中間体における分光研究
○渡 雅仁¹、吉田 一帆¹、生田 達也²、志甫谷 渉²、山田 大智¹、角田 聡^{1,3}、濡木 理²、
神取 秀樹¹
¹名工大、²東大、³JST さきがけ
- P27 アミノ酸変異による Na⁺ポンプロドプシン KR2 の波長制御の試み
○中島 悠太¹、中村 良子¹、井上 圭一^{1,2}、神取 秀樹¹
¹名古屋工業大学、²JST さきがけ

- P28 サーマライシンの高圧結晶構造解析
○森 一也¹、永江 峰幸²、渡邊 信久^{1,2}
¹名大・院工、²名大・シンクロトロン光研究センター
- P29 Ras タンパク質多量体化の X 線小角散乱
○杉本 泰伸^{1,2}、橋本 貴志³、山下 真広²、高橋 由芽²、渡邊 信久^{1,2}、丸田 晋策³
¹名大シンクロトロン、²名大工、³創価大工
- P30 キネシンの物質輸送に及ぼす微小管の座屈変形の影響
○西川聖二¹、Christian Ganser²、Tanjina Afrin¹、内橋貴之²、古寺哲幸³、佐田和己^{1,4}、角五彰^{1,4}
¹北大・総化 ²名大・院理 ³金沢大・理工 ⁴北大・院理

■ 18:00-19:30 懇親会および最優秀発表賞受賞式

生物物理学会中部支部メーリングリストのご案内

講演会のご案内など情報発信を行っております。まだ入会されていない方のご参加をお待ちしております。

詳しくは、生物物理学会中部支部会ホームページまで。

<http://bunshi4.bio.nagoya-u.ac.jp/~biophy-c/index.html>

生物物理 中部支部



T 0 1

ビブリオ菌極べん毛の正の本数制御因子 FlhF によるべん毛形成開始機構の解析

○井上 祐菜¹、小嶋 誠司²、本間 道夫²

¹名大・理・生命理学、²名大・院理・生命理学

海洋性ビブリオ菌 *Vibrio alginolyticus* は細胞の極に極べん毛を1本持ち、その位置本数制御には FlhF と FlhG というタンパク質が関与している。FlhF はべん毛の形成位置を極に決定し、かつべん毛本数を正に制御している一方、FlhG はべん毛本数を負に制御している。本研究では、正の本数制御因子 FlhF がどのようにべん毛形成を促進しているのかに着目した。サルモネラ菌においてべん毛の形成は MS リングの構築から開始する。そこでビブリオ菌においてもべん毛の構築が MS リングを起点として開始すると考え、FlhF は MS リングを構成するタンパク質 FliF を極へとリクルートすることでべん毛形成を促進するという仮説を立て、検証を試みた。MS リングの形成は GFP を融合した FliF の極局在で評価した。その結果、*flhF* 欠失株において FliF は極局在できないこと、べん毛構成タンパク質を発現しない株において FlhF を過剰発現させると FliF は極局在することが明らかとなった。以上の結果は FlhF が FliF を極ヘリクルートしているという可能性を強く支持している。

T 0 2

レプリカ交換傘サンプル法によるリゾチームと α ラクタアルブミンのモルテングロビュール状態の構造探索

○清水 政宏¹、岡本 祐幸¹

¹名大・院理

本研究では、タンパク質のモルテングロビュール状態の構造決定を目的とした分子シミュレーションを行った。通常のシミュレーション手法ではモルテングロビュール状態の構造探索が困難であるため、拡張アンサンブル法の一つである、レプリカ交換傘サンプル法を用いた。対象球状タンパク質には、 α ラクタアルブミン-リゾチームファミリーの中から、イヌミルクリゾチーム、ヤギ α ラクタアルブミン、ヒト α ラクタアルブミンを用い、反応座標には慣性半径を選択した。平均力ポテンシャルの最小値付近の構造群を主成分分析で射影し、混合分布モデルを使ってクラスタリングした結果、それぞれの代表構造が得られた。これらは先行実験で報告されているモルテングロビュール状態の性質をよく再現していた。これより、我々はサンプリング効率の良いレプリカ交換傘サンプリングシミュレーションがモルテングロビュール状態の構造探索に有効であるということが分かった。

T 0 3

超分子質量分析によるプロテアソーム構成サブユニットの相互作用解析

○石井 健太郎¹、関口 太一朗²、矢木 宏和²、佐藤 匡史²、内山 進^{1,3}、
加藤 晃一^{1,2,4}

¹岡崎統合バイオ、²名市大・院薬、³阪大・院工、⁴分子研

プロテアソームを構成する α リングは、相同性のある 7 種類のサブユニット α - ω が環状に会合したヘテロ 7 量体である。これまでに我々は、 ω が単独で 14 量体のダブルリング構造を形成すること、更には ω の添加に伴い、14 量体が崩壊し、 ω が 7 つと α が 1 つからなる複合体が形成されることを見出してきた。しかしながら、こうした非常によく似たサブユニットが秩序だって集合していくプロセスは未だ不明な点が多い。そこで本研究では、超分子質量分析により α リングのアクセントリー機構の解明を目指している。

本発表では、各 α サブユニットや ω の 7 量体シングルリング変異体、単量体変異体などを用いて形成される α リングの形成中間体と考えられる複合体のオリゴマー状態を明らかにした結果に基づき、 α リングの形成過程について議論したい。

T 0 4

細菌べん毛モーター形成の中心である MS リングのリング形成メカニズムの解明

○平野 圭一、寺島 浩行、本間 道夫
名大院理生命理学

細菌の運動器官であるべん毛の基部には回転モーターがあり、固定子と回転子から成り立っている。細胞膜上に位置し回転子の一部を形成する MS リングは、べん毛の形成と回転に中心的な役割を持っている。このリングは、FliF という一種類の二回膜貫通型タンパク質が数十コピー集合して形成されている。これまでの知見から、サルモネラ菌の FliF は過剰発現するだけで MS リングを形成するが、大腸菌や海洋性ビブリオ菌の FliF は、それだけでは MS リングを形成しない。そのため FliF がどのようなメカニズムで MS リングを形成するのか、十分に理解されていなかった。そこで、先行研究によって確立されたサルモネラ菌の MS リング精製プロトコルを使用し、ビブリオ菌から、あるいはビブリオ菌の FliF・FliG を発現する大腸菌から、ビブリオ菌の MS リングを精製することを試みた。その結果、ビブリオ菌 MS リングの精製に初めて成功した。発表では、その過程とリング形成の条件検討について述べる。

T 0 5

(6-4)光回復酵素の DNA 修復における Lys 残基の役割

○山田 大智¹、Hisham M. Dokainish²、山元 淳平³、北尾 彰朗²、神取 秀樹¹

¹名工大院工、²東工大院生命理工、³阪大院基礎工

(6-4)光回復酵素は紫外線によって損傷した DNA((6-4)光産物)を、光エネルギーを用いて修復することができるフラビンタンパク質である。この DNA 修復機構に関して、これまでに多くの研究が行われてきたが、未解明な部分も多い。我々は近年、(6-4)光回復酵素の(6-4)光産物修復における新しい機構を提案し、理論計算から活性部位の Lys 残基が重要であることも提唱した。今回、この活性部位の Lys 残基の重要性と役割について詳細に調べるため、Ala, Arg, Gln, His に置換した変異体によるフーリエ変換赤外 (FTIR) 分光測定を行った。その結果、Ala と His 変異体では修復能が無くなり、Arg と Gln 変異体では修復能を保持していた。また理論計算から、活性部位の水素結合環境は修復能がある変異体と無い変異体で大きく異なることを見出した。本発表では、得られた結果をもとに(6-4)光産物修復における Lys 残基の役割について議論したい。

T 0 6

原子間力顕微鏡を用いた発生期大脳原基における力学的特性の計測

○長坂 新、宮田 卓樹

名大・院医

生体の組織が形づくられる過程では、それを構成する細胞の増殖や移動、分化といったふるまいは、化学的な要因だけでなく力学的な要因にも制御される。しかし、組織を対象とする力学的特性の定量的把握は、技術的な困難さがあるためにあまり行われてこなかった。発生期の大脳原基は、apical 面と basal 面を結ぶ細長い形をした神経前駆細胞によって構成されている。この apical 面近傍域は、神経前駆細胞の細胞周期進行に伴う核移動や細胞分裂が行われるとともに、アクチンミオシンに裏打ちされた adherens junction による apical 面の収縮といった、力学的な負荷が生じる環境となっている。そこで本研究では、apical 面近傍域における力学的な状況の把握を目的とした。原子間力顕微鏡を用いた apical 面の弾性率計測を中心に、マウスとフェレットという動物種の違い、およびマウス大脳原基の凹状の外套と凸状の基底核原基という組織形状の違いによる apical 面近傍域における力学的な状況の違いを調べ、それぞれから定量的な数値を得ることが出来た。

T 0 7

NMR 法を活用した Wnt シグナル阻害剤の探索

○堀 公法¹、味岡 果澄²、合田 名都子¹、天野 剛志^{1,3}、廣明 秀一^{1,3}

¹名大・院創薬、²名大・理生命、³合同会社 BeCellBar

【背景】 Wnt シグナル経路は、がん細胞での亢進が報告されていることから、がんに対する創薬標的として注目されている。本経路において、細胞内へのシグナル伝達は、Dishevelled の PDZ ドメイン (Dvl_PDZ) を介して行われる。そのため、Dvl_PDZ は Wnt シグナル阻害剤の標的として注目されており、これまでに複数の Dvl_PDZ 阻害剤が報告されている。しかし、既報の阻害剤は親和性・選択性に乏しく、他のタンパク質の PDZ ドメインにも相互作用する。そこで、我々は既報の阻害剤よりも親和性・選択性に優れた阻害剤の探索を目的に研究を行った。

【方法・結果】 Dvl_PDZ への結合が期待できる化合物を *in silico* スクリーニングで探索した。見出された化合物は、実際に Dvl_PDZ と相互作用するか NMR 滴定実験によって検証した。検証した 13 化合物のうち、9 つが Dvl_PDZ と相互作用した (Hit 率 69%)。相互作用が確認された化合物のなかには、既報の阻害剤よりも親和性・選択性に優れた化合物が含まれた。また、培養細胞を用いた実験によって Wnt シグナル経路を阻害したと思われる活性を示した。

T 0 8

高速 AFM によるサソリ毒ペプチドと K⁺チャネルの結合動態解析

○角野 歩^{1,2}、炭竈 享司³、内橋 貴之⁴、老木 成稔³

¹金沢大 WPI-NanoLSI、²金沢大新学術、³福井大医、⁴名大院理

サソリの毒液に含まれるペプチドの Agtx2 は、K⁺チャネルの細胞外表面に結合して K⁺透過路を塞ぐ。Agtx2 と K⁺チャネルの結合構造は明らかになっているが、結合動態についての詳細は不明であった。今回我々は、高速 AFM によって Agtx2 と K⁺チャネル KcsA の結合・解離を解析した。AFM 基板上に K⁺チャネルを細胞外表面が上向きになるように組織化し、観察溶液中に Agtx2 を添加して平衡状態で観察を行った。直径 5 nm 程度の K⁺チャネルの細胞外表面の中央に Agtx2 が結合すると、チャネルの中央が 0.5 nm 程度高くなった。Agtx2 の結合・解離に伴うチャネル中央部の高さの時間変化を解析すると、結合および解離の持続時間がその後の結合速度に影響していることを発見した。これはチャネルに Agtx2 との親和性の異なる複数の状態が存在することを示唆している。我々は高親和性および低親和性結合を含む結合・解離モデルによってこれらの実験結果を説明する。

T 0 9

酸素センサータンパク質の動作機構に関する理論的研究

○太田 匡隆¹、倭 剛久^{1,2}

¹名大・院理、²ストラスブール大

酸素感受性ヒスチジンキナーゼ FixL は酸素の結合により不活性化するが、そのセンサードメイン FixLH の構造変化はわずか（主鎖 RMSD: 0.6 Å）であり、またセンサーとキナーゼ（HK）の両ドメインの複合体構造も未知である。

我々は、FixLH の動作機構を理論的に調べるため、EEN 解析 (JCC, 2015) を実行した。EEN (Energy Exchange Network) はアミノ酸残基間のエネルギーのやり取りに基づいて、残基ネットワークをグラフで表すモデルであり、all-atom MD シミュレーションのデータを用いて、重要な残基間相互作用を忠実に表現することができる。FixLH から HK への情報伝達は FixLH 表面の残基を介して実行されるはずである (FSS : Functional Surface Site)。我々は酸素結合に伴う EEN の変化を調べ、FSS を同定した。その結果、これまでに提案されている複数の機構と整合する計算結果を得た。

T 1 0

イオンチャネルにおけるノックオン機構は本当に重要か？—その2—

○炭竈 享司、老木 成稔

福井大医

イオンチャネルにおけるイオン透過は、歴史的にはノックオン機構(ビリヤードのようなイオンの玉突き運動)によって説明されてきた。しかし、昨年度の発表で、ノックオン機構は電気生理学的手法によって測定される単一チャネル電流(1分子のチャネルを通るイオン電流)を説明できず、電流値を決める律速段階とは何ら関係がないことを示した。本年度の発表では、さらに踏み込んで、ノックオン機構とは全く異なるイオン透過の仕方があることを示す。これは、低濃度でのイオン透過を記述するためには必須であり、生理的濃度においても存在している。この従来見過ごされていた透過の仕方を含む濃度によらないロバストな、同時に単純な透過理論を発表する。また、この理論を支持する多種多様な実験を紹介する。この透過理論は、ノックオン機構が見た目の運動(現象)に過ぎないことを示し、また、イオン選択性の根源的な再考を促すものである。

膜タンパク質の強制アンフォールディングの粗視化シミュレーション

執行 治雄¹、山田 達矢²、○倭 剛久^{1,3}

¹名大院理、²京大エネルギー理工、³ストラスブール大

膜タンパク質の強制アンフォールディング過程に関して、AFM を用いたカー距離曲線の測定が行われている。カー距離曲線上に現れる鋸歯状のパターンはタンパク質種ごとに固有であり、アンフォールディング機構に関する重要な情報を反映していると考えられるが、今日に至までその解釈は必ずしも十分でなかった。

我々は、膜タンパク質の粗視化モデルを設計し、実験的なカー距離曲線をシミュレーションで再現した(パリティ特集号、物理科学この1年 (2018); *CPL* (2018); *Biophys. J.* (2016))。シミュレーションでは、「ペプチド結合粒子」を数珠つなぎにしたポリペプチド鎖のブラウン運動動力学を実行する。力場関数は、膜貫通ヘリックスのヘリックス内水素結合や、各アミノ酸残基の疎水性／親水性を考慮している。計算の結果、特に、カー距離曲線のピーク位置の再現性が高かった。

本研究では、我々の力場関数と郷モデルを組み合わせたアプローチにより、膜タンパク質の強制アンフォールディングのシミュレーションを実行した。その結果、カー距離曲線のピークの高さに関し、実験の再現性が向上した。

T 1 2

タイトジャンクションを制御する植物由来成分の発見

○久田 美咲、野田 翔太、天野 剛志、廣明 秀一

名大・院創薬

タイトジャンクション(TJ)は上皮細胞において隣接細胞の間隙を埋める細胞接着間装置であり、分子やイオンの透過の制御を担っている。4 回膜貫通型タンパク質であるクローデイン(CLDs)と TJ 裏打ちタンパク質である ZO-1 が結合することで形成が促進される。近年、TJ のエンドサイトーシスと分離を促進する因子 LNX1p80 が同定され(Takahashi *et al.*, 2009, J Cell Sci)、生体内の TJ は動的に形成と分解を繰り返していると考えられるようになった。これまで、我々は ZO-1 の PDZ1 ドメインに結合する化合物の一部に、MDCK 細胞などの TJ から CLD-2 を減少させる活性があることを確認している。今回我々は、植物由来成分フラボノイドから TJ 制御化合物を探索した。NMR 滴定実験によって ZO1-PDZ1 との相互作用を検証したところ、複数のフラボノイドが ZO1-PDZ1 と結合した。さらに相互作用を示したフラボノイドの内、3 種類は MDCKII 細胞の TJ を消失、また 1 種類は強化する活性を示した。これらの化合物は Western Blotting でも CLD-2 のタンパク質発現量を減少、増加させた。これらのフラボノイドは医薬品吸収促進剤やバリア強化剤として応用が可能かもしれない。

T 1 3

タンパク質の糖鎖修飾制御機構の解明に向けた糖転移酵素の局在観察

○本田 怜奈^{1,2}、矢木 真穂^{1,2,3}、矢木 宏和³、青木 一洋^{1,2}、加藤 晃一^{1,2,3}

¹総研大、²岡崎統合バイオ、³名市大院薬

タンパク質の約半数は糖鎖修飾を受けている。糖鎖はランダムな構造をとりうるにもかかわらず、一部特定のタンパク質に限って特異的な糖鎖修飾が認められることから、タンパク質の糖鎖修飾には何らかの制御機構が存在すると考えられている。私たちはこれまでに、分泌タンパク質に対して細胞内輸送に関わる特定のアミノ酸配列を付加することで、その糖鎖発現パターンが大きく変化することを見出している。こうしたことから、糖付加を担う糖転移酵素の局在および分泌タンパク質の輸送経路の情報はゲノムにコードされており、両者の細胞内での会合機会の有無により糖鎖構造が規定されると考えている。

本研究では、分泌経路の違いによる糖鎖修飾の制御機構の解明を目指し、6種類の糖転移酵素の局在観察を行った。その結果、これまで同じトランスゴルジ槽に存在していたと考えられていた糖転移酵素の局在が異なることを見いだした。この結果は、特定の糖鎖修飾のためのゴルジ体内の特別な空間の存在を示唆している。

T 1 4

制御性 T 細胞と白血病細胞との相互作用を考慮した数理モデルによる免疫細胞療法の設計

○西山 義晃¹

¹金沢大・院自然研

急性骨髄性白血病の寛解、再発など病態進行を記述する速度式モデルを作成した。白血病芽球細胞による制御性 T 細胞の増殖・分裂の促進と制御性 T 細胞によるエフェクター T 細胞の抑制とからなる間接的免疫抑制機構を考慮した。急性骨髄性白血病の寛解でのリンパ球数回復の時系列データに基づき、一部のモデルパラメータの推定を行い、未知パラメータの空間でのダイナミクスの探索を行った結果、2つの安定定常状態（寛解、再発に対応）が広いパラメータ範囲で存在していることが明らかとなった。再発するか寛解が維持されるかを予測する微小残存病変の閾値の存在や寛解時間と再発率との負の相関などの臨床知見は、本モデルでの吸引域境界の存在および境界近傍の過渡的ダイナミクスと整合した。本モデルにより、エフェクター T 細胞移植の臨床プロトコルに基づくシミュレーションを行った結果、再発抑制など臨床アウトカムと定性的に整合した。

T 1 5

海洋性ビブリオ菌べん毛モーター固定子 PomA タンパク質の Cys 変異導入を用いた細胞質領域の構造解析

○三野 平¹、錦野 達郎²、岩月 啓人²、小嶋 誠司²、本間 道夫²

¹名古屋大・理・生命理学、²名古屋大・院理・生命理学

海洋性ビブリオ菌極べん毛モーターの回転力は、回転子中の FliG と固定子タンパク質 PomA の 2 番目と 3 番目の膜貫通領域の間に存在する細胞質側領域(Loop₂₋₃)が相互作用することにより発生すると考えられている。本研究では、この領域の回転子との相互作用に重要とされる荷電残基を Cys に置換した PomA を発現させ、ビオチンマレイミドにより Cys 残基の標識を行い、その効率を比較することで、Loop₂₋₃ 領域の立体構造情報の取得を目指した。更に、FliG 発現の有無における Cys 標識効率を比較し、PomA 細胞質領域の構造に FliG の与える影響を調べた。その結果、D128, K89, E99, E97, R88, E96 の順に Cys 残基の反応性が高く、FliG の存在下では、E96C 変異体において標識効率に違いが見られた。以上の結果から PomA-FliG 間相互作用に伴う Loop₂₋₃ 領域の構造変化の足がかりが得られた。

T 1 6

トロンビンのアロステリック制御・再訪

○栗崎 以久男^{1,2}、高柳 昌芳^{2,3}、Barberot Chantal^{2,3}、長岡 正隆^{1,2}

¹名大・情報学、²CREST、³名大・情報科学

血液凝固因子トロンビンは、Na⁺特異的酵素活性を示す。その分子機構は、トロンビンの Na⁺結合能を念頭に、アロステリックな Na⁺部位特異的相互作用による基質結合構造の安定化促進と考えられてきた。然し、実際には、トロンビン立体構造は Na⁺結合の影響を受けない。そこで本研究では、分子動力学シミュレーションを用いて、Na⁺がトロンビン-基質会合に及ぼす効果を再考する。Na⁺部位特異的相互作用は基質結合部位形成に影響せず、またトロンビン-基質会合に不利なことが分かった。一方、トロンビン周囲のカチオン分布の解析から、Li⁺と Cs⁺は其々、トロンビン-基質相互作用を引力的及び斥力的に阻害するという観測を得た。Na⁺によるトロンビンの活性化は、従来考えられてきた部位特異的相互作用ではなく、非部位特異的相互作用による可能性が考えられる。

[引用文献] Kurisaki et al., J. Phys. Chem. B. 2016, 120, 4540.; Kurisaki et al., J. Phys. Chem. B. 2015, 119, 3635.; Kurisaki et al., J. Phys. Chem. B. 2016, 120, 11873.; Kurisaki et al., J. Phys. Chem. B. 2015, 119, 15807.

T 1 7

分子動力学法による静止膜電位に関する研究

○川口 一朋、長尾 秀実

金沢大理工

細胞の内と外には細胞膜を介してイオンの濃度差が生じ、膜電位と呼ばれる電位差が発生する。通常、細胞外を電位の基準点として、細胞内では-50 ~ -100 mV 程度の静止膜電位が観測される。この電位差は神経、聴覚など生体内の様々な機能に必須である。膜電位に関する研究は実験だけでなく、分子シミュレーションにおいても進められており、脂質膜の構造、物性に対する影響などが調べられてきた。しかしながら、イオンの濃度差によって膜電位が生じるにもかかわらず、イオン濃度差はほとんど考慮されてこなかった。

本研究では、細胞内外のイオン濃度差を考慮した分子動力学(MD)シミュレーションにより静止膜電位を再現し、膜の構造や物性を調べる。POPC 二重膜に対して MD を行った結果、約-50 mV の膜電位を示した。また、細胞内外の膜構造の違いや、膜界面の水分子の構造の違いについて明らかにした。

T 1 8

Enterococcus hirae 由来 V_1 -ATPase のサブステップと化学力学共役機構の解明

○飯田 龍也^{1,2,3}、皆川 慶嘉⁴、上野 博史⁴、河合 文啓³、村田 武士⁵、

飯野 亮太^{1,2,3}

¹総研大、²分子研、³岡崎統合バイオ、⁴東大院工、⁵千葉大院理

V_1 -ATPase は ATP 加水分解エネルギーを利用して一方向に回転する分子モーターとして知られている。腸内連鎖球菌由来 V_1 の化学力学共役機構を解明する為に、金ナノ粒子をプローブに用いて 1 分子解析を行った。120°毎の停止（メインポーズ）の間に短い停止（サブポーズ）を発見し、120°のステップは 40°と 80°のサブステップに分かれることを見出した。メインポーズの停止時間から、ATP 低濃度（ATP 結合律速条件）で 1 つの ATP 濃度依存的な時定数が得られた為、ATP はメインポーズの間に結合することが示唆された。また、ATP 高濃度のメインポーズで 2 つ、ATP 濃度に関係なくサブポーズで 1 つの ATP 濃度非依存的な時定数が得られた。これら 3 つの ATP 濃度非依存的な時定数は、ATP 解裂、ADP 解離、リン酸解離に対応すると考えられ、ATP γ S や ADP を用いた 1 分子解析より、ATP 解裂がメインポーズで、ADP 解離がサブポーズで起こると示唆された。リン酸解離は、残り 1 つのメインポーズの時定数に対応すると予想される。発表では、 V_1 の化学力学共役機構のモデルについても議論する。

T 1 9

Creating and analyzing microtubule defects with high-speed AFM

○Ganser Christian, Uchihashi Takayuki

Nagoya University, Department of Physics

Microtubules (MTs) are self-assembled tubes of tubulin dimers and are found in abundance within cells. Their functions include mechanical stiffening of the cytoskeleton and acting as transport pathways. The latter is achieved in combination with motor proteins such as kinesin and dynein. For both functions, defects in the MT lattice are of interest. From a mechanical point of view, the MTs ability to recover from defects or to sustain its shape with large parts of the MT removed is crucial. For their function as transport pathways, the motion of motor proteins around defects plays a role. To do this, a high-speed AFM (HS-AFM) method was developed that allows for in-line force application and recording of force-distance curves. It is possible to create single tubulin dimer defects on MTs and observe the MTs reaction within 100 ms to 500 ms. In this presentation, the creation of defects and their impact on the MTs will be shown.

T 2 0

ビブリオ菌べん毛モータータンパク質 FliG 変異が回転方向制御に与える構造的影響

○錦野 達郎¹、土方 敦司²、宮ノ入 洋平^{3,4}、尾上 靖宏¹、小嶋 誠司¹、白井 剛²、本間 道夫¹

¹ 名大院理生命理学、² 長浜バイオ大バイオサイエンス、

³ 名大院理構造生物学センター、⁴ 阪大蛋白研

細菌の運動器官であるべん毛モーターは、回転子及び固定子と呼ばれるタンパク質複合体が適切に相互作用することで、時計回り(CW)及び反時計回り(CCW)の両方向に回転することができる。モーターの回転方向は、回転子構成因子の一つである FliG の構造変化によって生じると考えられているがその詳細が明らかとなっていない。本研究では、回転方向制御が異常になるビブリオ菌 FliG 変異体を取得し、解析を行うことで、回転子の構造変化を明らかにすることを目的とした。得られた変異体のうち G214S 及び G215A 変異体は、それぞれ CCW への回転方向の偏り及び、CW のみでの回転を示した。分子動力学シミュレーションにより変異により生じる FliG の構造変化を予測したところ、立体障害により FliG 変異体が特定のコンフォメーションを取りやすいことが明らかとなった。また、NMR 法により ¹⁵N 標識された FliG 断片について ¹H-¹⁵N TROSY HSQC スペクトルを測定したところ、G215A 変異体において最も感度よくシグナルを観測することができた。本発表では、変異によって生じた構造変化が回転方向制御に与える影響を議論する。

T 2 1

コヒーシンの浸透圧によるループ形成機構

○山本 哲也¹、Helmut Schiessel²

¹名古屋大学 物質科学専攻、

²Instituut Lorentz for Theoretical Physics, Leiden University

Hi-C による実験によって、真核生物のクロモソームは 100kbps 程度の大きさのループを形成していることが明らかになってきた。Loop extrusion 理論は、コヒーシンが分子モーターとして働き、クロマチンファイバをアクティブに押し出すことがループ形成の物理的機構であることを予言する。しかし、最近の単一分子計測によると、コヒーシンは分子モーターとしては働かず、熱拡散によるランダム運動を示すことが明らかになってきた。それでは、コヒーシンはどのようにクロモソームループを形成するのだろうか？本研究では、コヒーシンは通常モノマーとしてクロマチンにロードされるが、時々ダイマーとしてロードされる状況を考えてコヒーシンのダイナミクスの理論解析を行い、コヒーシンモノマーが発生する浸透圧によって、コヒーシンダイマーが一方向に運動することがループ形成の物理的機構になりうることを理論的に予言した。

T 2 2

能動輸送のパナマ運河モデルと光駆動ナトリウムポンプの特殊性

○神取 秀樹、井上 圭一、角田 聡

名工大院工

ポンプやトランスポータの能動輸送は alternating access model やパナマ運河モデルによって説明される。このとき重要なのはエネルギー入力の時点で基質が輸送体に結合している点であり、バクテリオロドプシンやハロロドプシンなど光駆動イオンポンプ[1] を含むほとんどの輸送体でこの原則が成り立っている。我々は5年前に光駆動ナトリウムポンプの存在を報告してロドプシン分野に驚きを与えたが[2]、我々にとって何より驚きであったのはこのポンプが示す能動輸送の特殊性であった。このポンプは resting state においてナトリウムイオンを結合していなくても能動輸送できたのである[2,3]。そのメカニズムとして、拡張パナマ運河モデルとも言うべき「2つのゲートを巧みに利用した受動拡散による一方向輸送」が明らかになってきた[4]。本発表では、このポンプの特殊性と作動メカニズムについて議論したい。

[1] Ernst et al. *Chem. Rev.* (2014), [2] Inoue et al. *Nat. Commun.* (2013), [3] Kato et al. *Nature* (2015),

[4] Kandori et al. *Chem. Rev.* revised.

P 0 1

Construction of recombinant expression system of a heterodimer kinesin-14 Kar3-Cik1/Vik1

○Akasit Visootsat^{1,2}、Akihiko Nakamura^{1,2}、Jun Ando^{1,3}、Ryota Iino^{1,2,3}

¹総研大、²岡崎統合バイオ、³分子研

Kar3 is a non-conventional kinesin which belongs to kinesin-14 family. Kar3 is unique because it functions as a heterodimer with Cik1 or Vik1, motor homology proteins that contain a microtubule-binding domain but cannot bind and hydrolyze ATP. To understand mechanism of processive movement of Kar3-Cik1/Vik1 heterodimers, we are trying to construct recombinant expression system for single-molecule analysis. HaloTag was fused with Kar3 at the N-terminus for fluorescent or biotin labeling, and His6-tag was added to Cik1/Vik1 at the C-terminus for purification. Tagged Kar3 and Cik1/Vik1 were expressed in *Saccharomyces cerevisiae* simultaneously to form heterodimers. In this poster, we will present our current progress.

P 0 2

ROS 感受性プロモーター融合蛍光タンパク質コード遺伝子組換え大腸菌による
環境毒性の蛍光可視化

○岩上 諒太郎¹、柄谷 肇²

¹京工織大院・機能物質化学、²京工織大院・分子化学系

本研究では遺伝子組換え技術により蛍光大腸菌を作製し、活性酸素種(ROS)を誘発する環境毒性物質の蛍光可視化法の確立を目指した。具体的には、発光細菌由来青色蛍光タンパク質コード遺伝子(*Y1-Blue*)とカタラーゼコード遺伝子のプロモーター領域(*katG*)を融合し、プラスミドにクローニングして大腸菌を形質転換した。標準 ROS として H₂O₂ を用いて機能評価を進めた。H₂O₂ (1 × 10⁻⁶ ~ 1 × 10⁻⁴ mol/dm³)を添加直後から経時的に 17°Cにて蛍光顕微鏡を用いて観察を行ったところ、H₂O₂を添加した系では添加開始から 15~20 分の間に顕著な青色蛍光が単一細胞レベルで観察され、特に対数期前半において H₂O₂ 濃度依存的に青色蛍光の増大が見られた。この系を(AQP)-3,7,9,10 がトランスポーターとなって吸収され、抗酸化酵素活性を阻害する亜ヒ酸(As₂O₃)に応用したところ、H₂O₂と同様に顕著な青色蛍光が観察され、亜ヒ酸の生細胞蛍光可視化が達成された。

P 0 3

種々のイオンによるアクチン重合の熱力学測定

○菊本 真人¹、大澤 文夫²

¹名大・構造生物、²名古屋大学／大阪大学名誉教授

アクチン重合において、異なる重合イオン(Na^+ , K^+ , Mg^{2+} と K^+ + Mg^{2+})と結合二価イオン(Ca^{2+} と Mg^{2+})による低温での臨界濃度測定を行い、熱力学量の見積もりを行い、エントロピー変化とエンタルピー変化は 36-55(cal/mol K)と 2-8(Kcal/mol)であった。 Ca^{2+} アクチンのエントロピー変化とエンタルピー変化は重合イオン(K^+ or Na^+)に感受性があった; $\Delta S=39$ or 36 (cal/mol K)、 $\Delta H=3.9$ or 2.7 (kcal/mol)。 Mg^{2+} アクチンのエントロピー変化(cal/mol K)とエンタルピー変化(kcal/mol)も Ca^{2+} アクチンと同様に次の順序で重合イオンの感受性があった; $\text{Mg}^{2+}(55,7.6)>\text{K}^+(46,5.3)>\text{Na}^+(38,2.4)$ 。 Mg と高濃度(0.1M)の K^+ 存在下ではそれぞれ、負の値、あるいは、ゼロ近くの値に減少し、アクチンフィラメントへの K^+ イオンの静電遮蔽が示唆された。

P 0 4

脂質、ヌクレオチド依存的なペルオキシレドキシシン高次複合体の形成メカニズム

○紺野 宏記¹、春山 隆充²、内橋 貴之³、古寺 哲幸¹、安藤 敏夫¹

¹金沢大・バイオ AFM、²奈良先端大・バイオ、³名大・院理

ペルオキシレドキシシン(Prx)は、過剰の H_2O_2 存在下で、20~30 kDa のモノマーが会合しオリゴマーを形成すると報告されている。このオリゴマー化により、その本来の機能である H_2O_2 の分解酵素ではなく、タンパク質のフォールディングを手助けするシャペロニンとして機能する。最近、我々は高速 AFM を用いて、この高分子オリゴマー複合体の形成には過酸化ではなくリン脂質とヌクレオチドが必要であることを明らかにした。しかし、Prx と脂質やヌクレオチドとの相互作用部位など、複合体形成メカニズムの理解に必須の情報が乏しい。本発表では、Prx 変異体を用いて脂質やヌクレオチドの結合部位の同定を行った結果について報告する。

P 0 5

霊長類緑感受性視物質の光反応中間体の赤外分光測定

○佐々木 拓磨¹、片山 耕大¹、吉住 玲¹、今井 啓雄²、神取 秀樹¹

¹名工大、²京大・霊長研

我々の網膜には明暗視を担うロドプシンと、色覚を担う 3 種（青・緑・赤）の錐体視物質が存在する。これらは共通して発色団であるレチナールの光異性化反応を起点に、いくつかの中間体を経て、光情報を細胞内側に伝達する。我々はこれまでに、哺乳類細胞によって発現させた霊長類錐体視物質に対する低温（77 K）赤外分光測定により、世界で初めて構造解析を実現した[1, 2]。しかし、レチナールのフォトクロミックな性質を利用することで高精度なスペクトル測定を実現したバソ中間体とは違い、以降の中間体測定では、一度の測定で試料が退色してしまうため、スペクトル積算に向けて大量の試料が必要となる。そこで本研究では、昆虫細胞を用いた霊長類錐体視物質の大量発現、および各種中間体の赤外分光測定による構造解析を試みている。ポスター発表では昆虫細胞により発現させることに成功した霊長類緑感受性視物質に対するバソ中間体に続く光反応中間体（ルミ）の赤外差スペクトルを報告する。

[1], [2] K. Katayama, et al. *Angew Chem Int Ed.* (2010), *Sci. Rep.* (2017)

P 0 6

蛋白質の翻訳後修飾に関わる酵素群の基質選択性の解明に向けた分子動力学シミュレーション

○三嶋 浩和^{1,2}、塚本 修一郎^{1,2}、岡本 祐幸^{1,2,3}

¹名大院理、²CREST、³名大院理構造生物

DNA と複合体を形成するヒストンなどの蛋白質の翻訳後修飾は、遺伝子発現の制御機構である。このようなエピジェネティクス機構で異常が起きると、癌やアルツハイマーを発症する。そのため、翻訳後修飾に関わる酵素は、創薬の標的として重要である。ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) は代表的な酵素群であり、それに属する酵素は、それぞれが特定のアミノ酸配列中にあるアセチル化リジンを基質として認識する。これは結晶構造解析などの実験に基づいて確認されているが、酵素が特定のアミノ酸配列を認識する仕組みは未解明である。本研究では、レプリカ交換傘サンプリング分子動力学シミュレーションによる構造探索により、HDAC8 の基質選択性の仕組みを明らかにする。発表では、HDAC8 にアセチル化リジンを含むペプチドが結合する過程や、ペプチドの配列に対する HDAC8 の結合状態の差異について述べる。

P 0 7

光化学系Ⅱ酸素発生系マンガクスター損傷の分子機構

寺島 尚貴¹、○三野 広幸¹

¹名大・院理

光化学系Ⅱは光合成において酸素発生を行うタンパク質複合体である。酸素発生系は植物への強光や熱ストレスで最初に損傷を受ける部位と考えられている。酸素発生系は4つのMnと1つのCaにOが架橋している。酸素発生系は熱によって損傷し、それに伴いMn²⁺が遊離することは古くから知られている。酸素発生系の基本構造が明らかになった現在、分子構造を比較して損傷機構を解析することが可能になってきた。我々はEPRを用いて熱損傷におけるMn²⁺遊離の温度依存性と時間依存性を定量的に詳しく調べた。損傷過程におけるMn²⁺の遊離は多段階の反応であるが、初めに光化学系Ⅱあたり1個のMn²⁺イオンの遊離が見られる。その後1個のMn²⁺の遊離し、最終的にMn-Mn対として残ることが考えられる。この結果は磁化率測定の結果とも一致する。本発表では損傷過程での分子モデルを提案する。

P 0 8

βヘアピン構造を持つペプチドの高圧下での構造安定性に関する理論的研究

○山内 仁喬^{1,2}、奥村 久士^{1,2}

¹総研大、²分子研

シニョリンは10残基のアミノ酸から構成されるペプチドであり、βヘアピン構造を持つフォールド構造とミスフォールド構造を取ることが知られている。本研究では、我々が開発した定温定圧レプリカ置換法[1]を用いることで、様々な温度・圧力におけるシニョリンの構造安定性を調べた。

本シミュレーションから、圧力が高くなるとフォールド構造は壊れる一方で、ミスフォールド構造は逆に安定化することを発見した。一般にタンパク質の2次構造は高圧下で変性することと、シニョリンのフォールド構造とミスフォールド構造は互いによく似ていることから、この現象は自明なものではない。我々は、圧力に対するシニョリンの構造安定性の分子論的メカニズムを初めて解明した。このメカニズムを部分モルエンタルピー差や部分モル体積差といった熱力学量とともに示す。

参考文献:

[1] M. Yamauchi and H. Okumura, *J. Chem. Phys.* **147** (2017) 184107.

P 0 9

高速 AFM を用いた微生物型ロドプシンの多量体構造の包括的解析

池田 健人¹、井上 圭一²、今野 雅恵²、Manish Singh²、片岡 千尋²、吉住 玲²、神取 秀樹²、
内橋 貴之³、○柴田 幹大^{4,5}

¹金沢大・理工、²名工大・院工、³名大・院理、⁴金沢大・WPI-NanoLSI、

⁵金沢大・新学術創成

膜タンパク質の多くは、脂質二重膜中で多量体を形成し、多量体構造と機能には密接な関係がある。しかし、膜タンパク質の多量体構造は比較的大きく複雑で、また、実験条件により異なるサブユニット数が報告されるなど、脂質二重膜中での膜タンパク質の多量体構造を正確に決定することは難しい。本研究では、高速原子間力顕微鏡(高速 AFM)を用いて、古細菌や真正細菌に存在する様々な微生物型ロドプシンの多量体構造の包括的解析を行った。可溶化した微生物型ロドプシンを Membrane scaffold protein (MSP)を用いて脂質二重膜に再構成し、高速 AFM でその多量体構造を可視化した。その結果、微生物型ロドプシンの多量体構造と、その進化系統樹には、強い相関があり、進化の初期の段階で2種類の多量体構造へと枝分かれしたことを見出した。

P 1 0

紅藻由来カチオンチャネルロドプシンのチャネルゲート機構の解明を目指して

○重村 竣太¹、細島 頌子^{1,2}、角田 聡^{1,3}、神取 秀樹¹

¹名工大、²JSPS Research Fellow、³JST さきがけ

光依存性カチオンチャネルロドプシンである *GtCCR4* は、クリプト藻 *Guillardia theta* (*G. theta*) がもつ 4 4 種の微生物型ロドプシン様遺伝子がコードする分子の 1 つである。チャネルロドプシンはクラミドモナス由来の ChR2 が良く知られているが、*GtCCR4* はそのアミノ酸配列の相同性が ChR2 とは低く、チャネルゲート構造やイオン透過メカニズムが ChR2 とは異なると考えられる。さらに *GtCCR4* のチャネル活性は ChR2 と比べて不活化が小さい、脱感作がないなどの特徴を持つ。

今回、*GtCCR4* においてゲート機構に関与すると考えられるレチナール近傍のアミノ酸変異体を作成し、パッチクランプ法によってそのチャネル機能を評価した。その結果、ゲートの開寿命や、チャネル不活化に関与するアミノ酸残基をいくつか選別した。特に 5 番目の膜貫通ヘリックスに存在するフェニルアラニンがチャネルの活性寿命に重要な役割を担っている可能性が高い。

P 1 1

高速 AFM による IV 型線毛関連タンパク質 PilB の観察

○杉山 翔吾¹、Zhaomin Yang²、内橋 貴之³

¹金大院自然、²Dept. of Biol. Sci., Virginia tech., ³名大理

IV 型線毛は古細菌やグラム陰性菌に広く存在するタンパク質線維で、伸縮により細菌の twitching 運動や宿主への感染などに働いている。伸縮運動には複数の ATPase が関与しており、なかでも PilB は線毛の重合を制御し、twitching 運動の中核を担う分子モーターである。結晶構造解析から、PilB は非対称な六量体リング構造を形成し、ATP の加水分解によって構造変化することが示されている。この際、F₁-ATPase のように PilB 六量体リング孔に突き刺さった PilC を回転させることで機能していると想定されている。しかしながら、六量体内の協同的構造変化や構造変化の回転伝搬はこれまで実験的に証明されていない。高速 AFM を用いて PilB 構造変化の直接観察を試みた結果、PilB 六量体の C 末端面および N 末端面と思われる2種類の構造が観察された。また、回転構造伝搬の観察には成功していないが、N 末端面では六量体リングの構造対称性が変化する様子が観察された。

P 1 2

キチン加水分解酵素は 1nm ステップの”Burnt-bridge”Brownian ratchet である

○中村 彰彦^{1,2}、岡崎 圭一³、古田 忠臣⁴、櫻井 実⁴、飯野 亮太^{1,2,3}

¹岡崎統合バイオ、²総研大、³分子研、⁴東工大

霊菌 *Serratia marcescens* 由来キチン加水分解酵素(SmChiA)はキチン分子鎖を加水分解しながら結晶性キチン上を動く分子モーターである。金コロイドで標識し高速・高位置決定精度で運動を観測したところ 1.1 nm の前進運動と-1.1 nm の後退運動が観測された。前進運動の時定数は 2.9 ms と 23.9 ms であり、重水環境中で短い時定数は 10.1 ms に変化した。よって短い時定数は加水分解反応、長い時定数は生成物解離とキチン鎖の脱結晶化と考えられた。14.2%の後退運動が観測された事と、X 線結晶構造解析により判明した運動中間体構造でも酵素の構造自体には大きな変化がないことから SmChiA は Brownian ratchet motor であると想定された。後退運動と復帰運動の時定数は 18.3 ms と 17.1 ms であり、2つの状態にエネルギー差は殆どない。しかし SmChiA は前進運動にバイアスがかかっている。即ち SmChiA は加水分解によりレールを切断し、後退運動できなくなることにより前進運動する” Burnt-bridge” Brownian ratchet motor であると考えられた。

P 1 3

光化学系 II における Mn クラスターの光活性化過程: FTIR および量子化学計算による解析

○中村 伸、佐藤 彰彦、野口 巧

名大・院理

光合成水分解反応の触媒部位である Mn クラスターの形成 (光活性化) の最初のステップでは、1 つの Mn^{2+} が光化学系 II タンパク質 (PSII) に結合する。この Mn^{2+} の強い結合部位の特定は、光活性化過程の解明に必須であるが、未だ結論は得られていない。本研究では、光活性化機構を明らかにすることを目的として、 Mn^{2+} 結合の初期過程を量子化学計算およびフーリエ変換赤外 (FTIR) 分光法を用いて解析した。QM/MM 計算によるエネルギー計算により、 Mn^{2+} の結合部位は Mn クラスターの Mn2 の位置であることを示された。さらに、FTIR 測定により、 Mn^{2+} は 2 つのカルボキシル基に結合することが示唆された。本発表では、これらの結果から、 Mn^{2+} の強い結合部位について議論する。

P 1 4

セリン残基の非酵素的脱水機構についての量子化学計算

○仲吉 朝希^{1,2}、加藤 紘一^{2,3}、栗本 英治²、小田 彰史^{1,2,4}

¹金沢大院医薬保、²名城大薬、³金城学院大薬、⁴阪大蛋白研

【序論】近年、老化組織中タンパク質から異常な共有結合性架橋構造が検出されている。異常な架橋構造の形成はタンパク質の柔軟性を失わせると考えられており、架橋構造形成の一因としてタンパク質中におけるデヒドロアラニン (Dha) 残基の生成が挙げられる。Dha 残基は Ser 残基に由来し、周囲の求核性に富むアミノ酸残基と反応することで架橋構造が形成されると考えられている。しかし、生理的条件下における Dha 残基の生成機構はよくわかっていない。本研究では、Ser 残基の非酵素的脱水によって Dha 残基が生成する可能性について量子化学計算を用いて検討した。

【方法】計算はモデル化合物 Ace-Ser-Nme (Ace=acetyl, Nme=methylamino) を用いて行い、密度汎関数法による Dha 残基生成経路の探索を行った。

【結論】Ser 残基の非酵素的な脱水によって Dha 残基が生成する反応経路が見出され、本反応の触媒として無機リン酸が有効である可能性が示唆された。計算結果の詳細は当日報告する。

P 1 5

高速 AFM による $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ 結合に伴う CaMKII の動態観察

○辻岡 尚太郎¹、村越 秀治²、柴田 幹大^{3,4}

¹金沢大・理工、²生理研、³金沢大・WPI-NanoLSI、⁴金沢大・新学術創成

カルシウム/カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ II(CaMKII)は脳の神経細胞に存在し、カルシウム/カルモジュリン($\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$)結合により活性化状態となり、ATP を用いた自己リン酸化反応により、様々なタンパク質をリン酸化する。CaMKII の活性化は、記憶の形成と密接に関わっていると考えられているが、その詳細な分子作動メカニズムは不明である。本研究は、溶液中にある生体分子をリアルタイムで可視化できる高速 AFM を用いて、CaMKII の $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ 結合に伴う構造変化を可視化することを目的とした。CaMKII は12量体を形成し、サブユニットを繋ぐハブドメイン、キナーゼドメイン、2つのドメインをつなぐリンカー部分を持つ。 $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ 存在下での CaMKII の高速 AFM 画像では、リンカー部分に大きな構造が観察され、キナーゼドメインの揺らぎが阻害されていた。発表では、 $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ 結合に伴う CaMKII の構造変化を議論したい。

P 1 6

高速 AFM によるカドヘリンの結合状態の解析

○渡辺 大輝¹、Sanjeevi Sivasankar²、内橋 貴之¹

¹名大・物理、²アイオワ州立大・物理

カドヘリンは、細胞間接着において中心的な役割を果たす Ca^{2+} 依存的な一群である。とりわけクラシックカドヘリンに分類される E-カドヘリンの細胞外ドメインは EC1~5 までの5つの繰り返し構造からなり、EC1・2 が“S-dimer”あるいは“X-dimer”と呼ばれる2状態を取りながら、細胞同士を接着させていることが知られている。これまで AFM による力分光や蛍光顕微鏡、分子動力学シミュレーションなどによって2状態の結合様式の解析が行われてきたが、状態遷移を直接可視化した例は無く、そのダイナミクスは明らかにならなかった。

本研究では高速 AFM を用いて、E-カドヘリンの Ca 依存的なダイマー構造、2状態遷移のダイナミクス観察を行った。また、発表では野生型の解析結果だけではなく、S-及び X-dimer の状態をミミックした変異体についても解析を行ったのでそれらについても報告する。

P 1 7

高速 AFM を用いた抗体-量子ドット複合体の動的観察

○馬越 貴之¹、宇高 光²、福田 武司²、鈴木 美穂²、内橋 貴之³、安藤 敏夫⁴

¹阪大院工、²埼玉大理工、³名大院理、⁴金沢大バイオ AFM-FRC

抗体と量子ドットの複合体は、強い特異性と優れた蛍光特性を合わせ持つ強力なバイオプローブである。しかしながら、量子ドットが抗体に修飾される様子を観察した報告はなく、複合体の単分子レベルでの挙動は明らかにされていない。抗体-量子ドット複合体を単分子レベルで可視化することは、検出感度や量産性の向上など作製手法の改善に重要な知見を与えうる。そこで本研究では、高速 AFM を用いて抗体-量子ドット複合体を単分子レベルで可視化した。特に、サイズの小ささと配向制御性に優れる還元開裂抗体を用いた作製法で、複合体観察を行った。IgG 抗体が還元剤(TCEP)によって、重鎖間のジスルフィド結合を基に 2 段階過程で 2 つに開裂する様子を単分子ビデオイメージングすることに成功した。また、開裂部がチオール化した抗体が、マレイミド基修飾-量子ドットに特異的に吸着する様子も観察した。吸着した抗体が大きく揺らいでいることや、複合体形成前の中間状態なども、高速 AFM の高い時空間分解能により可視化することに成功した。

P 1 8

イオン伝導顕微鏡による生細胞表面の観察

○北澤 怜子¹、中山 隆宏¹、渡辺 信嗣¹

¹金沢大・理工

生細胞表面に生じている様々なナノ構造体の動態は、細胞の機能と強く相関すると認識されているが、未だに、このような動態を十分に捉えることができていない。これを可視化することで、細胞の状態に関する新たな知見を得られる可能性がある。このようなナノ構造体の未知の動態を見逃さないためには、多くの生細胞試料表面を、ナノ解像度で、簡便に、長時間にわたって観察することが必要である。このための有用な計測技術として、イオン伝導顕微鏡(SICM)という走査プローブ顕微鏡が知られている。しかし、SICM では生細胞観察の実績はあるものの、SICM の計測原理に起因した計測条件の設定に依存して、得られる細胞表面のイメージは大きく異なり、観察の再現性に課題があった。本研究では SICM を用いた生細胞表面の観察において、再現性良く観察を行える計測条件を探った。

P 1 9

光遺伝学に用いられる *AtCRY2* の分光解析

○縣 和哉¹、山田 大智¹、神取 秀樹¹

¹名工大

クリプトクロム (CRY) は、FAD を発色団として持つフラボタンパク質である。CRY の中でもシロイヌナズナ由来の *AtCRY2* は光依存的に情報伝達タンパク質である CIB1 と相互作用することやホモオリゴマー化することが知られており、最も優れた光遺伝学ツールの 1 つとして様々な応用研究が進んでいる。しかしながら、*AtCRY2* の光依存的相互作用の分子メカニズムについては全くわかっていないのが現状である。

本研究では、分光学的手法を用いることで *AtCRY2* の光依存的相互作用が実現する構造状態を解明することを目的とした。これまでに大腸菌を用いた *AtCRY2* の発現と精製を達成し、精製タンパク質に対して紫外可視吸収分光測定を行った。その結果、フラビンの光還元反応とそれに続く散乱の増大を観測した。これは *in vitro* においても *AtCRY2* が光依存的に多量体化することを示唆しており、本発表では *AtCRY2* の分子特性について議論したい。

P 2 0

アクチン結晶構造の分類

○小田 俊郎

東海学院大学健康福祉学部

アクチン分子にはいくつかのコンフォメーションが知られている。結晶内で観察されるアクチン分子は、単量体状態を反映していると考えられており、G 型と呼ばれる。その他の構造として、2009 年、F アクチンの構造が決定され、2つの大きなドメインが回転して分子が平板化する F 型が報告された。また、1996 年には、2つの大きなドメインが囲む ATP 結合クレフトが開いた Open 型のコンフォメーションが報告されたが、溶液内で安定的に存在するか懐疑的で、一つのコンフォメーションとして同定するか、意見は分かれている。最近、成田らが電子顕微鏡を用いてコフィリンが結合した F アクチンを構造解析し、2つの大きなドメインが G 型より傾いた C 型を見出している。これらの多型を俯瞰するために、アクチンの結晶構造から2つの大きなドメインにコアを定義し、そのコアの位置関係から構造を分類する方法を考案した。

P 2 1

走査型プローブ顕微鏡の時間分解能向上に向けた水平走査制御手法の開発

○開発 秀星¹、渡辺 信嗣¹

¹金沢大・理工

走査型プローブ顕微鏡 (SPM) は、探針と試料間に生じる物理化学的情報をナノ解像度で可視化する計測装置である。SPM を動きのある生物試料の計測に用いるには、高速走査を行うことで高い時間分解能を得る必要がある。このために、SPM のナノ位置決め機構を構成する圧電素子の、電圧-伸縮ヒステリシスの補償制御性能の向上が求められている。従来、この補償制御は、フィードフォワード (FF) およびフィードバック (FB) 制御法のいずれかが用いられており、それぞれ、制御の時間遅れは少ないが位置の予測が困難である、および、制御の時間遅れが大きい位置決めの精度が高い、といった利点・欠点がある。本研究では、歪みゲージによるプローブ位置決め計測とフィールドプログラマブルゲートアレイによる制御を用いて、従来の FF・FB 補償制御におけるそれぞれの利点を利用した新しいヒステリシス補償手法を開発したので報告する。

P 2 2

抗体 G2 は異なる 3 つの配列を強く特異的に認識する

○鎌足 雄司¹

¹岐大・生命セ

モノクローナル抗体 G2 は、抗体作成に使用したニワトリプリオンタンパク質 (ChPrP) 以外の少なくとも 3 つのタンパク質 (ATP6V1C1、SEPT3、および C6H10or76) と反応する (1)。これまでに我々は、ChPrP および ATP6V1C1 上のエピトープを同定しており、本研究で、第 3 のタンパク質である SEPT3 のエピトープを同定した (2)。興味深いことに、3 つのタンパク質上のエピトープ間のアミノ酸配列の類似性は見いだせなかった。SPR は、これらのエピトープが G2 に対して高い結合親和性を有することを示した。さらに、競合 ELISA と NMR は、G2 上の結合部位が重複しており、抗原結合部位は柔軟で、少なくとも 3 つの異なる立体配座をとることにより、3 つの異なる抗原との相互作用を示唆した。

1. Kamatari et al., Protein Sci. 23, 1050-1059 (2014).
2. Mahmud et al., Protein Sci. 26, 2162-2169 (2017)

P 2 3

時計タンパク質 KaiC の機能発現に関わる動的構造変化の解析

○向山 厚^{1,2}、古池 美彦^{1,2}、山下 栄樹³、近藤 孝男⁴、秋山 修志^{1,2}

¹分子研 協奏分子システム、²総研大、³阪大・蛋白研、⁴名大・院理

シアノバクテリアの生物時計は KaiA、KaiB、KaiC の 3 種類の時計タンパク質から構成される。KaiC は N 末端側の C1 ドメインと C 末端側の C2 ドメインから成り、ATP と結合することで 2 つのリングが積み重なった 6 量体構造を形成する。KaiC は KaiA、KaiB と離合集散を繰り返し、C2 リングのリン酸化状態を約 24 時間周期で変動させることにより「時間」を提示する一方、近年の研究から C1 リングの ATPase が周期の調節に深く関与することが明らかとなった。このことは 2 つのリング間で構造変化を介した情報伝達が行われていることを示唆しているが、溶液中で C1 リングがどのような構造変化をするのかよくわかっていない。

そこで本研究では、C1 リングに部位特異的に Trp を挿入した KaiC 変異体を構築し、蛍光分光法を用いて溶液中における KaiC の C1 リングの変化を検出、特徴づけた。本発表では KaiC の構造変化計測についての最新の結果を報告する。

P 2 4

温度補償能を欠損した時計タンパク質 KaiC 変異体の多様性

○古池 美彦^{1,2}、向山 厚^{1,2}、山下 栄樹³、近藤 孝男⁴、秋山 修志^{1,2}

¹自然科学研究機構 分子科学研究所 協奏分子システム研究センター、

²総合研究大学院大学、³大阪大学蛋白質研究所、⁴名古屋大学大学院理学研究科

シアノバクテリアの時計タンパク質 KaiC は KaiA、KaiB との共存下で約 24 時間周期のリン酸化/脱リン酸化を繰り返す。リン酸化状態変化の周期は 25-40°C の範囲でほぼ一定を保っており、この性質は温度補償性と呼ばれている。私たちは点変異を導入することにより温度補償性が脆弱になった複数の KaiC 変異体を同定することに成功している。これら点変異の導入箇所はそれぞれ構造上の様々な場所に点在しており、24 時間から大きく外れた周期や野生型とは異なる ATP 加水分解活性などが観察されている。点変異導入箇所を含む各部位の関係性・連動性の評価などに向けて研究を進めている。

P 2 5

Optimizing expression and purification of His-tagged KaiC proteins for an effective *in vitro* screening of circadian clock mutants in cyanobacteria

○Dongyan Ouyang¹、Atsushi Mukaiyama^{1,2}、Yoshihiko Furuike^{1,2}、Shuji Akiyama^{1,2}

¹Research Center of Integrative Molecular Systems (CIMoS), Institute for Molecular Science, National Institute for Natural Sciences, 38 Nishigo-Naka, Myodaiji, Okazaki 444-8585, Japan、

²Department of Functional Molecular Science, SOKENDAI (The Graduate University for Advanced Studies), 38 Nishigo-Naka, Myodaiji, Okazaki 444-8585, Japan.

KaiC has attracted much attention of biophysicists and chronobiologists as the core protein of the circadian clock system in cyanobacteria. To accelerate structural and functional researches on the Kai-protein clock system, effect ways of mutating target residues of KaiC and of purifying a large amount of mutated- proteins are needed. In this presentation, the authors optimized the protocol of expression and purification of the C-terminal His-tagged KaiC. This speedy and accurate protocol could accelerate the production of the mutants and consequently, contribute to the research of this stable and robust endogenous clock system.

P 2 6

新規酵素型ロドプシン Rh-PDE の反応中間体における分光研究

○渡 雅仁¹、吉田 一帆¹、生田 達也²、志甫谷 渉²、山田 大智¹、角田 聡^{1,3}、濡木 理²、神取 秀樹¹

¹名工大、²東大、³JST さきがけ

ホスホジエステラーゼ (PDE) は細胞内シグナル伝達物質としてはたらく環状ヌクレオチドを加水分解する酵素である。昨年、我々は PDE と光受容膜タンパク質であるロドプシン (Rh) が直接つながったタンパク質 (Rh-PDE) が光依存的な環状ヌクレオチド分解活性をもつことを報告した。この分子は、細胞内シグナル伝達を光で制御する光操作ツールとしても期待されているが、光受容に伴いどのような構造変化を経て、酵素反応を行うかは不明である。

そこで本研究では、紫外可視分光法やフーリエ変換赤外分光法を用いて Rh-PDE の光反応中間体を捉え、反応メカニズムを明らかにすることを試みた。実験の結果、2つの光反応中間体を捉え、酵素活性化に繋がると考えられるタンパク質骨格の変化を観測した。発表では得られたデータを基に Rh-PDE の光反応メカニズムについて議論する。

P 2 7

アミノ酸変異による Na⁺ポンプロドプシン KR2 の波長制御の試み

○中島 悠太¹、中村 良子¹、井上 圭一^{1,2}、神取 秀樹¹

¹名古屋工業大学、²JST さきがけ

2013 年に海洋性細菌である *Krokinobacter eikastus* から Na⁺をポンプするロドプシンである KR2 が発見された (Inoue et al. *Nat. Commun.* (2013))。KR2 は 525 nm に吸収極大を持っており 525 nm の光を吸収すると発色団であるレチナールが異性化し、それに伴ってタンパク質の構造変化を引き起こし Na⁺を細胞内側から細胞外側へと輸送する。また KR2 は神経細胞の活性を光で操作するオプトジェネティクスツールとしての有用性がすでに報告されている (Kato et al. *Nature* (2015))。

本研究ではオプトジェネティクスへのさらなる応用に向け、KR2 の極大吸収を部位特異的変異により制御し、ポンプ機能を保持したままの長波長にシフトした変異体の作製が目的とした。特に今回は KR2 の発色団レチナールの β -イオン環近くの Pro219 について 19 種類のアミノ酸に変異させた結果について報告する。

P 2 8

サーモライシンの高圧結晶構造解析

○森 一也¹、永江 峰幸²、渡邊 信久^{1,2}

¹名大・院工、²名大・シンクロトン光研究センター

蛋白質の準安定状態はその機能発現に重要であることが知られているが、占有率が低いいため詳細に解析することが困難である。一方、準安定状態は基底状態よりも部分モル体積が小さいため、高圧力下では占有率が逆転し、観測が可能となる。我々は放射光とダイヤモンドアンビルセル(DAC)を用いて、サーモ

ライシンの高圧力下の結晶構造解析を行なった。その結果、サーモライシンが触媒する加水分解反応中で、基質への求核攻撃を担う水分子を捕らえることに成功した。

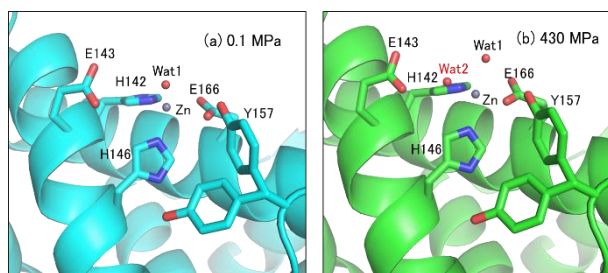


図 (a)常圧下と(b)430 MPa 下の活性サイト。

P 2 9

Ras タンパク質多量体化の X 線小角散乱

○杉本泰伸^{1,2}、橋本貴志³、山下真広²、高橋由芽²、渡邊信久^{1,2}、丸田晋策³

¹名大シンクロトロン、²名大工、³創価大工

低分子量 G タンパク質の Ras は、細胞増殖や分化を制御する経路の中間に位置し、細胞外からの刺激を受けて GDP を結合した不活性の状態から GTP に結合した活性化の状態に移行する。我々は Ras タンパク質の C 末端領域をケージド化合物で化学修飾することで、タンパク質が多量体化すること、さらにケージド化合物の分解により単体化することなどを見いだした。そこで、このようなケージド化合物により化学修飾した Ras の、光応答により変化する多量体の構造、また多量体化のインターフェイスを調べるために X 線小角散乱法による測定を行った。X 線小角散乱実験はあいち SR のビームライン BL8S3 を利用した。結果から化学修飾した Ras の多量体構造、紫外光の照射による多量体からの解離が示された。多量体化のインターフェイスを調べるために蛍光プローブを用いた測定を行った。ケージド化合物と同様に蛍光プローブを修飾した Ras においても多量体化が見られたが、X 線小角散乱の結果からは多量体構造が異なっていることが示唆された。

P 3 0

キネシンの物質輸送に及ぼす微小管の座屈変形の影響

○西川聖二¹、Christian Ganser²、Tanjina Afrin¹、内橋貴之²、古寺哲幸³、佐田和己^{1,4}、角五彰^{1,4}

¹北大・総化 ²名大・院理 ³金沢大・理工 ⁴北大・院理

微小管およびキネシンはそれぞれ細胞内の物質輸送における輸送路と輸送体として役割を果たす。微小管は他にも多くの細胞活動に関わり、その中で恒常的に機械的ストレスに晒されている。このストレスにより微小管は構造変形を起こし、構造変形はキネシンが行う物質輸送に影響を及ぼす。しかし、微小管の構造変形が物質輸送障害を引き起こす際の分子機序は未だ解明されていない。そこで本研究では微小管の変形とキネシン 1 分子の運動挙動の関係を高速 AFM による観察で評価し、構造変形と生理機能との相関を分子レベルで明らかにすることを目的とした。

キネシンの運動速度と微小管の屈曲変形との相関を曲率を指標として評価すると、微小管の屈曲によりキネシンの運動速度が減少することが明らかとなった。また微小管の屈曲部で微小管の構成要素であるチューブリンの欠損が観察されなかったことから、微小管の屈曲部では、微小管を構成するチューブリンが変形しその変形がキネシンの運動に影響を及ぼすため、キネシンの運動速度が減少すると考えられる。