

2011年度生物物理学会中部支部講演会  
講演要旨集

2012年3月19日

名古屋大学野依記念学術交流館

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

## 【発表要項】

### 口頭発表

発表時間 15 分（発表 12 分，質疑 3 分）

（一鈴：10 分，二鈴：12 分，三鈴：終了）

発表直前の休憩時間に試写を必ず行ってください

### ポスター発表

説明義務時間：16:00-16:45 奇数番号，16:45-17:30 偶数番号

午前中にポスターを掲示してください

## 【プログラム】

9:25-9:30 支部長あいさつ

神山勉（名古屋大学）

口頭発表 1（9:30-10:30）（座長：倭剛久（名古屋大学））

**T1**9:30-9:45 時計計蛋白質 KaiC の ATPase に備わる自己抑制制御機構の解析

○向山厚<sup>1,2</sup>、尾上靖弘<sup>1,2</sup>、近藤孝男<sup>1,2</sup>、秋山修志<sup>1-4</sup>（<sup>1</sup>名大院・理、<sup>2</sup>CREST、<sup>3</sup>理研・播磨、<sup>4</sup>PREST/JST）

**T2**9:45-10:00 Na<sup>+</sup>駆動型べん毛モーターのプラグ欠失固定子を介した

イオン透過測定

○竹川宜宏<sup>1</sup>、寺内堯史<sup>1</sup>、Chien-Jung Lo<sup>2</sup>、小嶋誠司<sup>1</sup>、本間道夫<sup>1</sup>  
（<sup>1</sup>名大・院理・生命理学、<sup>2</sup>台湾中央大・物理）

**T3**10:00-10:15 Suppressor mutation against linker deleted mutant of PotB,  
a component of chimeric Na<sup>+</sup>-driven stator protein

○ Shiwei Zhu<sup>1</sup>, Seiji Kojima<sup>1</sup>, Michio Homma<sup>1</sup>（<sup>1</sup>名大・院理）

**T4**10:15-10:30 アクチンフィラメントへのコフィリンの協同的結合に関する  
モデル的解析

○榊原正太郎<sup>1</sup>、早川公英<sup>2</sup>、辰巳仁史<sup>1</sup>、曾我部正博<sup>1,2</sup>（<sup>1</sup>名大・院医、<sup>2</sup>名大・革新的ナノバイオデバイス研究センター）

10:30-10:45（休憩）

口頭発表 2（10:45-12:00）（座長：三野広幸（名古屋大学））

**T5**10:45-11:00 ロテインジスルフィドイソメラーゼの活性部位のミクロ変化と  
ドメイン間相互作用の連関

○稲垣宏弥<sup>1</sup>、神谷由紀子<sup>2</sup>、植草義徳<sup>2</sup>、加藤晃一<sup>1,2</sup>（<sup>1</sup>名市大・薬、<sup>2</sup>岡崎統合バイオ）

**T6**11:00-11:15 古細菌タンパク質 PbaB によるプロテアソーム活性化機構の構造基盤

○ 雲井健太郎<sup>1</sup>、佐藤匡史<sup>1</sup>、矢木宏和<sup>1</sup>、廣本武史<sup>1</sup>、水島恒裕<sup>1,2</sup>、内山進<sup>3</sup>、野田勝紀<sup>3</sup>、村田和義<sup>4</sup>、神谷由紀子<sup>5</sup>、加藤晃一<sup>1,5</sup> (1名市大院薬、<sup>2</sup>兵庫県立大院理、<sup>3</sup>大阪大院工、<sup>4</sup>生理研、<sup>5</sup>分子研)

**T7**11:15-11:30 Fibrillogenic propensity of the GroEL apical domain: a Janus-faced minichaperone

○ Jin Chen<sup>1</sup>, Hisashi Yagi<sup>2</sup>, Pietro Sormanni<sup>3</sup>, Michele Vendruscolo<sup>3</sup>, Koki Makabe<sup>1,4</sup>, Takashi Nakamura<sup>1,4</sup>, Yuji Goto<sup>2</sup>, Kunihiro Kuwajima<sup>1,4</sup> (1Okazaki Institute for Integrative Bioscience and Institute for Molecular Science, National Institutes of Natural Sciences, <sup>2</sup>Institute for Protein Research, Osaka University, <sup>3</sup>Department of Chemistry, University of Cambridge, <sup>4</sup>Department of Functional Molecular Science, School of Physical Sciences, Graduate University for Advanced Studies (Sokendai))

**T8**11:30-11:45 N 末端配列の相違による  $\alpha$  ラクトアルブミン不安定化の構造的知見

○ 真壁 幸樹、中村 敬、桑島 邦博 (分子研・統合バイオ)

**T9**11:45-12:00 ウマアポミオグロビンのフォールディング初期中間体の形成機構

○ 水上琢也、槇互介 (名大・院理・物理)

12:00-12:45 (昼食)

12:45-13:15 支部総会

口頭発表 3 (13:15-14:15) (座長：小嶋誠司 (名古屋大学) )

**T10**13:15-13:30 アニオンラジカル型による(6-4)光回復酵素の DNA 修復

○ 山田大智<sup>1</sup>、岩田達也<sup>1,2</sup>、神取秀樹<sup>1</sup> (1名工大院工、<sup>2</sup>名工大若手イノベータ)

**T11**13:30-13:45 ほ乳培養細胞におけるチャンネルロドプシンタンパク質の発現系の確立および全反射フーリエ変換赤外分光法による構造変化解析

○ 稲熊あすみ<sup>1,2,3</sup>、塚本寿夫<sup>2</sup>、木村哲就<sup>1,2,3</sup>、石塚徹<sup>3,4</sup>、八尾寛<sup>3,4</sup>、古谷祐詞<sup>1,2,5</sup> (1総研大、<sup>2</sup>分子研、<sup>3</sup>JST CREST、<sup>4</sup>東北大・院生命科学、<sup>5</sup>JST PRESTO)

**T12**13:45-14:00 イカロドプシンルミ中間体の構造解析

○村上緑、神山勉（名古屋大・院理・物理）

**T13**14:00-14:15 化学系 II Mn クラスタ-S<sub>2</sub> 状態における価数の解明

○浅田瑞枝<sup>1</sup>、長嶋宏樹<sup>1</sup>、KOUA Faisal Hammad Mekky<sup>2</sup>、沈建仁<sup>2</sup>、  
三野広幸<sup>1</sup>（<sup>1</sup>名古屋大・院理、<sup>2</sup>岡山大・院自然科学）

14:15-14:30 （休憩）

口頭発表 4（14:30-15:45）（座長：榎互介（名古屋大学））

**T14**14:30-14:45 青色光受容体蛋白質における電子トンネル移動経路の理論的研究

○佐藤竜馬、倭剛久（名大・院理）

**T15**14:45-15:00 励起移動を記述するための一般化 Bogoliubov 不等式を用いた変分マスター方程式の理論の開発

○藤橋裕太、木村明洋（名大院理）

**T16**15:00-15:15 徐冷法と遺伝的アルゴリズムを組み合わせたタンパク質の安定構造探索アルゴリズムの提案と改良

○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>1,4,5</sup>（<sup>1</sup>名大院理、<sup>2</sup>同志社大生命医科学、<sup>3</sup>同志社大理工、<sup>4</sup>名大構造生物研、<sup>5</sup>名大計算科学研）

**T17**15:15-15:30 DPPC 脂質二重膜へのレプリカ交換分子動力学法の応用とその相転移

○永井哲郎<sup>1</sup>、岡本祐幸<sup>1,2,3</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、<sup>3</sup>名古屋大学大学院工学研究科附属計算科学連携教育研究センター）

**T18**15:30-15:45 転写制御に関わる染色体の動的構造モデリング

○徳田直子、寺田智樹、笹井理生（名大・院工）

15:45-16:00 （休憩）

ポスター発表

16:00-17:30（16:00-16:45 奇数番号、16:45-17:30 偶数番号）

懇親会＋最優秀発表賞授与式

17:30-19:30

【ポスター発表プログラム】

(説明義務時間：16:00-16:45 奇数番号, 16:45-17:30 偶数番号)

**P1** Na<sup>+</sup>駆動型べん毛モーター固定子タンパク質 PomB のペリプラズム領域の構造と機能

○小嶋誠司<sup>1</sup>、高尾真登<sup>2</sup>、佐久間麻由子<sup>1</sup>、李娜<sup>1</sup>、今田勝巳<sup>2</sup>、本間道夫<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>名大・院理、<sup>2</sup>阪大・院理)

**P2** pH 依存的なイオン輸送過程で変化する水の時間分解赤外スペクトル解析

○藤原邦代<sup>1</sup>、木村哲就<sup>2,3</sup>、菊川峰志<sup>4</sup>、出村誠<sup>4</sup>、神取秀樹<sup>5</sup>、古谷祐詞<sup>2,6</sup>  
(<sup>1</sup>総研大、<sup>2</sup>分子研、<sup>3</sup>JST CREST、<sup>4</sup>北大・院生命科学、<sup>5</sup>名工大・院工、<sup>6</sup>JST PRESTO)

**P3** 青色光受容体蛋白質における電子トンネル移動経路の理論的研究

○佐藤竜馬、倭剛久 (名大・院理)

**P4** クライオ原子間力顕微鏡による生体超分子の観察

○林駿甫<sup>1,2</sup>、神山勉<sup>1,2</sup> (<sup>1</sup>名大・院理、<sup>2</sup>生物物理中部支部)

**P5** αラクトアルブミンの MG 状態と生物機能

○中村敬<sup>1,2</sup>、真壁幸樹<sup>1,2,3</sup>、相沢智康<sup>4</sup>、河野敬一<sup>4</sup>、出村誠<sup>4</sup>、桑島邦博<sup>1,2,3</sup>  
(<sup>1</sup>:岡崎統合バイオ、<sup>2</sup>:分子研、<sup>3</sup>:総研大・物理・機能分子科学、<sup>4</sup>:北大・院先端生命科学)

**P6** ハロロドプシンの光誘起構造

○中西太市<sup>1</sup>、金田創運<sup>1</sup>、井原邦夫<sup>2</sup>、村上緑<sup>1</sup>、神山勉<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>名古屋大学理学研究科 <sup>2</sup>名古屋大学遺伝子実験施設)

**P7** 海洋性ビブリオ菌のべん毛形成の抑制に関わる DnaJ モチーフを持つ新規遺伝子の解析

○西垣岳彦<sup>1</sup>、北岡摩耶<sup>2</sup>、井原邦夫<sup>3</sup>、西岡典子<sup>2</sup>、小嶋誠司<sup>2</sup>、本間道夫<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>名大・理、<sup>2</sup>名大・院理、<sup>3</sup>名大・遺伝子)

**P8** タンパク質の立体構造変化のデータベース PSCDB の開発

○雨宮崇之<sup>1</sup>、小池亮太郎<sup>1</sup>、木寺詔紀<sup>2,3</sup>、太田元規<sup>1</sup>  
(<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)

**P9** 緑色蛍光蛋白質のフォールディング中間体の分光学的性質

○櫻井 晶子、水上 琢也、榎 互介 (名大・理・物理)

**P10** 全反射赤外分光法によるサル緑感受性視物質のクロライドイオン結合機構解析

○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)

**P11** タコロドプシンの結晶化

○水野克秀 張進 中村洋子 村上緑 神山勉  
(名古屋大学 生体超分子物理研究室)

**P12** 光化学系 II におけるキノン電子受容体の酸化還元電位制御機構

○芦沢竜壮 野口巧 (名古屋大学 大学院理学研究科)

**P13** バキュロウイルス膜融合の可視化解析：界面通過法 GUV を用いて  
西上美佐子、富田昌弘、○湊元幹太（三重大・院工・分子素材）

**P14** Crystal structure of deltarhodospin from *Haloterrigena Thermotolerans*  
J. Zhang<sup>1</sup>, K. Mizuno<sup>1</sup>, Y. Murata<sup>1</sup>, K. Ihara<sup>2</sup>, M. Murakami<sup>1</sup>, and T. Kouyama<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Dept. of Physics, Nagoya Univ.;<sup>2</sup>Center for Gene Research, Nagoya University)

**P15** 全反射赤外分光法による Mg<sup>2+</sup>輸送体 MgtE のイオン選択機構の解析  
○木村哲就<sup>1,2,3</sup>、道喜慎太郎<sup>4</sup>、石谷隆一郎<sup>4</sup>、濡木理<sup>4</sup>、古谷祐詞<sup>1,2,5</sup>  
(<sup>1</sup>分子研, <sup>2</sup>総研大・物理科学, <sup>3</sup>CREST, JST, <sup>4</sup>東大・院理, <sup>5</sup>さきがけ, JST)

**P16** バクテリオロドプシン変異体 D85N の結晶化  
○大嶋元<sup>1</sup>、井原邦夫<sup>2</sup>、神山勉<sup>1</sup> (<sup>1</sup>名大・院理、<sup>2</sup>名大・遺伝子実験施設)

**T1**

講演タイトル 時計蛋白質 KaiC の ATPase に備わる自己抑制制御機構の解析

○発表者、共著者 ○向山厚<sup>1,2</sup>、尾上靖弘<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、<sup>3</sup>理研・播磨、<sup>4</sup>PREST/JST

シアノバクテリアの生物時計は KaiA、KaiB、KaiC の 3 つの蛋白質によって構成されている。これら 3 つの時計蛋白質と ATP を試験管内で混合すると、KaiC は約 24 時間の周期で自己リン酸化・脱リン酸化する。また、KaiC は ATPase 活性を有しており、その活性の高さとリン酸化の周期との間に相関があることが知られている。このことは KaiC の ATPase が周期を規定する上で重要な役割を担っていることを意味している。

KaiC の ATPase 活性は他の ATPase に比べて著しく低く、かつ生物時計の基本的性質である温度に依存しない性質を示す。我々はこの特徴を説明する機構として自己抑制制御機構を提唱しているが、まだその詳細はよくわかっていない。この機構に基づくと、定常状態では見られない高い ATPase 活性を示す KaiC が存在するはずである。我々は実験条件を工夫することでその一端を捉えることに成功した。本発表では、最近の結果について報告し、ATPase 活性に備わる自己抑制制御機構について議論したい。

**T2**

Na<sup>+</sup>駆動型べん毛モーターのプラグ欠失固定子を介したイオン透過測定

○竹川宜宏<sup>1</sup>、寺内堯史<sup>1</sup>、Chien-Jung Lo<sup>2</sup>、小嶋誠司<sup>1</sup>、本間道夫<sup>1</sup>

<sup>1</sup>名大・院理・生命理学、<sup>2</sup>台湾中央大・物理

細菌のべん毛モーターは固定子と回転子からなり、固定子を介して共役イオン (H<sup>+</sup> や Na<sup>+</sup>) が流入することによって回転力が発生する。海洋性ビブリオ菌の極べん毛モーターにおいては、固定子は Na<sup>+</sup>チャネルとして働く。固定子は、過剰な共役イオンの流入を防ぐ働きを担うプラグ領域を持っており、この領域を欠失した固定子をビブリオ菌中で大量発現すると、菌の生育が阻害されることが知られている。本研究では、このプラグ欠失固定子を大腸菌中で大量発現させた時の菌の生育を調べ、さらにその時の菌細胞内の Na 濃度を測定した。すると、プラグ欠失固定子の大量発現によって生じる生育阻害は、生育培地中の Na 濃度に依存して強くなり、またプラグ欠失固定子の大量発現によって菌細胞内 Na 濃度が、野生型に比べて約 2~4 倍上昇していた。さらにこれらの生育阻害および細胞内 Na 濃度の上昇は、べん毛運動を阻害するような固定子タンパク質中のいくつかの変異によって抑えられることが分かった。本発表ではべん毛モーター固定子を介したイオンの透過能について議論したい。

T3

### Suppressor mutation against linker deleted mutant of PotB, a component of chimeric Na<sup>+</sup>-driven stator protein

○ Shiwei Zhu<sup>1</sup>, Seiji Kojima<sup>1</sup>, Michio Homma<sup>1</sup>

<sup>1</sup>名大・院理

The stator protein complex involving in torque generation of bacterial flagella is composed of two kinds of membrane proteins, PomA and PomB for Na<sup>+</sup>-driven stator, MotA and MotB for H<sup>+</sup>-driven stator. It has been shown that a chimeric protein PotB, in which the N-terminal region (residues 1-50) of *V. alginolyticus* PomB was fused to the C-terminal region (residues 59-308) of *E. coli* MotB, can function with PomA as a Na<sup>+</sup>-driven stator in *E. coli*. Here, we constructed a deletion variant of PotB ( $\Delta$ 41-91; called PotB $\Delta$ L), and co-expressed with PomA in the *motAB* deletion strain of *E. coli*. This variant did not confer the motile ability. We isolated a suppressor mutant which has a point mutation (R109P) on the  $\alpha$ 1 region of *E. coli* MotB. Overproduction of the PomA/PotB $\Delta$ L(R109P) stator inhibited growth of host *E. coli* cells, which is rescued by another mutation D24N that disrupts the Na<sup>+</sup>-binding site in the stator, suggesting that R109P confers a high Na<sup>+</sup>-conducting activity to the stator. Furthermore, replacement of Arg109 with other amino acids and scanning the vicinity of 109 site by the replacement to Pro suggested that a conformational change around the  $\alpha$ 1 region is required for the function of stator. Thus, we speculate that the conformational change around the  $\alpha$ 1 region induce to open the channel of the stator complex and the energy conversion is triggered.

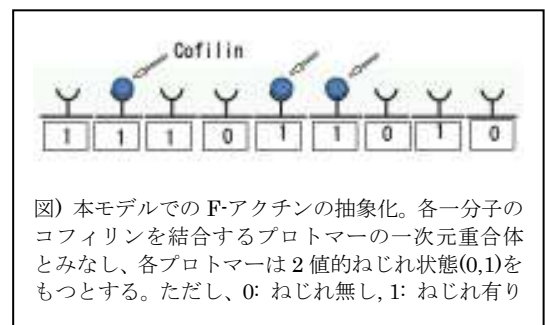
T4

アクチンフィラメントへのコフィリンの協同的結合に関するモデル的解析

○ 榊原正太郎<sup>1</sup>、早川公英<sup>2</sup>、辰巳仁史<sup>1</sup>、曾我部正博<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>名大・院医、<sup>2</sup>名大・革新的ナノバイオデバイス研究センター

細胞骨格 F-アクチンの動態はさまざまな結合タンパク質で制御されている。コフィリンは代表的結合分子の一つであり、F-アクチンの切断活性を有する。これまでの生化学的研究やコフィリンの一分子イメージングの研究から、コフィリンの F-アクチンへの結合には正の協同性があることが示唆されている。また電子顕微鏡像の解析により、コフィリンの結合に伴い F-アクチンの長軸周りのねじれ角が増大することが分かっている。本研究ではコフィリンの結合により F-アクチンがねじれると、引き続くコフィリンの結合に正の協同性が生まれるというモデルを統計力学の理論のもとに構成し、解析した。本モデルでは、F-アクチンをコフィリンの結合部位を一つもつプロトマーが一次元的に並んだ重合体とみなし、個々のプロトマーは 2 値的ねじれ状態 (0, 1) をもつとした(図)。さらに、(1) F-アクチンの *i* 番目のプロトマーがねじれていると、隣接する *i*+1 と *i*-1 番目のプロトマーもねじれやすく、(2) ねじれた状態の方がコフィリンは結合しやすいと仮定した。このモデルの解析解が得られたので、その結果を生化学実験で得られた結合曲線や一分子イメージングの観測結果と比較して協同現象に関する統計力学的パラメータを推定した。





**T5**

## プロテインジスルフィドイソメラーゼの活性部位のミクロ変化とドメイン間相互作用の連関

○発表者、共著者：○稲垣宏弥<sup>1</sup>、神谷由紀子<sup>2</sup>、植草義徳<sup>2</sup>、加藤晃一<sup>1,2</sup>  
所属：<sup>1</sup>名市大・薬、<sup>2</sup>岡崎統合バイオ

プロテインジスルフィドイソメラーゼ (PDI) はタンパク質のジスルフィド結合形成を触媒するフォールディング補助酵素である。本酵素は *a'* ドメインの活性部位に存在する 2 つのシステイン残基の酸化・還元状態に応じて *b'* *a'* ドメイン間の相対配置を変化させ、これにより基質との結合・解離が制御されている。本研究では核磁気共鳴法を用いて、こうした分子構造変化の仕組みを原子レベルで解明することを試みた。核オーバーハウザー効果を利用した解析の結果、活性部位近傍のトリプトファン残基は *b'* *a'* ドメインの界面に存在し、酸化・還元状態の違いにより、*b'* ドメインの異なるアミノ酸残基と異なる様式で相互作用していることが明らかとなった。このことからトリプトファン残基が *b'* *a'* ドメイン間の相対配置を決定する重要な因子であると推察された。

**T6**

## 古細菌タンパク質 PbaB によるプロテアソーム活性化機構の構造基盤

○雲井健太郎<sup>1</sup>、佐藤匡史<sup>1</sup>、矢木宏和<sup>1</sup>、廣本武史<sup>1</sup>、水島恒裕<sup>1,2</sup>、内山 進<sup>3</sup>、野田勝紀<sup>3</sup>、村田和義<sup>4</sup>、神谷由紀子<sup>5</sup>、加藤晃一<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>名市大院薬、<sup>2</sup>兵庫県立大院理、<sup>3</sup>大阪大院工、<sup>4</sup>生理研、<sup>5</sup>分子研

プロテアソームはタンパク質分解活性を有する 20S プロテアソームと、その両端に結合して分解を促進する活性化因子から構成される。真核生物では、プロテアソームは一連の集合因子の介助を受け複雑な四次構造が形成される。一方、古細菌のプロテアソームはサブユニットが自発的に集合することが知られている。最近、興味深いことに古細菌においても集合因子様タンパク質 PbaB が見出された。我々は PbaB について詳細な構造機能解析を行い、本タンパク質が新規なプロテアソーム活性化因子であることを突き止めた。電子顕微鏡および X 線結晶構造解析などの結果に基づき、20S プロテアソームの両端に結合した PbaB のホモ 4 量体が、その C 末端部分を介して変性タンパク質を捕捉し、プロテアソームへと導くことによりその分解を促進するというモデルを提唱する。

**T7**

講演タイトル Fibrillogenic propensity of the GroEL apical domain: a Janus-faced minichaperone

発表者、共著者: ○Jin Chen<sup>1</sup>, Hisashi Yagi<sup>2</sup>, Pietro Sormanni<sup>3</sup>, Michele Vendruscolo<sup>3</sup>, Koki Makabe<sup>1,4</sup>, Takashi Nakamura<sup>1,4</sup>, Yuji Goto<sup>2</sup>, Kunihiro Kuwajima<sup>1,4</sup>

所属 <sup>1</sup>Okazaki Institute for Integrative Bioscience and Institute for Molecular Science, National Institutes of Natural Sciences, 5-1 Higashiyama, Myodaiji, Okazaki 444-8787, Japan; <sup>2</sup>Institute for Protein Research, Osaka University, 3-2 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan; <sup>3</sup>Department of Chemistry, University of Cambridge, Lensfield Road, Cambridge CB2 1EW, United Kingdom; and <sup>4</sup>Department of Functional Molecular Science, School of Physical Sciences, Graduate University for Advanced Studies (Sokendai), 5-1 Higashiyama, Myodaiji, Okazaki 444-8787, Japan

要旨 The chaperonin GroEL plays an essential role in promoting protein folding and in protecting against misfolding and aggregation in the cellular environment. In this study, we report that both GroEL and its isolated apical domain form amyloid-like fibrils under a physiological condition, and that the fibrillation of the apical domain is accelerated under acidic conditions. We also found, however, that despite its fibrillation propensity, the apical domain exhibits a pronounced inhibitory effect on the fibril growth of  $\beta_2$ -microglobulin. Thus, apical domain defines a minichaperone system correlating with the universal amyloidogenesis.

**T8**

N 末端配列の相違による  $\alpha$  ラクトアルブミン不安定化の構造的知見

○真壁 幸樹、中村 敬、桑島 邦博

所属 分子研・統合バイオ

$\alpha$  ラクトアルブミンは変性の中間体としてモルテングロビュール状態を形成するため、フォールディング研究のモデル蛋白質として用いられてきた。大腸菌組み替え体として発現させた  $\alpha$  ラクトアルブミンの N 末端にはメチオニン残基が付加しており、これまでの研究から組み替え体は安定性が著しく減少することが知られていた。この不安定化は  $\phi$  値解析などの変異体を用いる測定によって不都合である。N 末端の一残基を欠失させると、不安定化が解消されることが以前に報告された。この不安定化解消の機構を明らかにするために、我々は N 末端を欠失させたヒトおよびヤギ  $\alpha$  ラクトアルブミンの結晶構造を決定した。結晶構造から、N 末端を欠失させた変異体では N 末端の主鎖構造が真性体と同じ構造になっていた。このことから、組み替え体で変化した N 末端の主鎖構造が元に戻ることで安定性が回復していることが示唆された。

**T9**

## ウマアポミオグロビンのフォールディング初期中間体の形成機構

○水上琢也、槇互介

名大・院理・物理

ウマアポミオグロビンは蛋白質フォールディングの研究における代表的なモデル蛋白質の一つである。この蛋白質はフォールディング開始後ミリ秒以内に部分的に構造形成した中間体を蓄積することや、pH~4 で類似の中間体を平衡論的に蓄積することが知られているが、その構造形成の機構は未だ不明な点が多い。今回、中間体の形成過程をより詳細に特徴づけるため、蛍光連続フロー法を用いてこの蛋白質のフォールディング過程を系統的に調べた。中間体は pH 4.0 では  $4 \times 10^3 \text{ s}^{-1}$  の速度定数で pH 6.0 では  $1.2 \times 10^4 \text{ s}^{-1}$  の速度定数で形成された。この中間体は~1.3 M 尿素の穏和な変性条件下でも平衡論的に蓄積した。また、中間体の形成により溶媒接触表面積が大きく減少すること、グルタミン酸やアスパラギン酸のプロトン化が中間体の形成を著しく阻害すること、中間体の形成以前 (100  $\mu\text{s}$  以内) に別の中間体が蓄積していることが示唆された。

**T10**

## アニオンラジカル型による(6-4)光回復酵素の DNA 修復

○山田大智<sup>1</sup>、岩田達也<sup>1,2</sup>、神取秀樹<sup>1</sup>( <sup>1</sup>名工大院工、<sup>2</sup>名工大若手イノベータ)

紫外線は DNA に作用してシクロブタン型ピリミジンダイマー(CPD)や(6-4)光産物を生成するが、生物は青色光を用いてこれを修復する CPD 光回復酵素や(6-4)光回復酵素をもっている。いずれも FAD を発色団としてもち、完全還元型(FADH<sup>-</sup>)からの光励起電子移動反応を利用して DNA のダイマーを解裂させることが知られている。名工大の神取研究室では、光誘起赤外差スペクトル分光法を初めて(6-4)光回復酵素に適用し、これまでに FADH<sup>-</sup>への光反応過程及び DNA 修復に伴うスペクトル変化を報告してきた<sup>[1,2]</sup>。

私は最近、(6-4)光回復酵素の 4 つの酸化還元状態である酸化型(FAD<sup>ox</sup>)、アニオンラジカル型(FAD<sup>•-</sup>)、セミキノン型(FADH<sup>•</sup>)、完全還元型(FADH<sup>-</sup>)の赤外差スペクトルを測定することに成功したが<sup>[3]</sup>、その結果、FAD<sup>•-</sup>と FADH<sup>-</sup>の構造が類似していることがわかった。この事実から、私は一電子還元状態(FAD<sup>•-</sup>)においても DNA 修復能があるのではと考えた。そこで FAD<sup>•-</sup>を安定化する変異体を作製して DNA 修復を調べたところ、完全還元型以外での修復を初めて見出したので報告したい。

[1] Zhang, Y., Iwata, T., Yamamoto, J., Hitomi, K., Iwai, S., Todo, T., Getzoff, E. D., and Kandori, H. (2011) FTIR study of light-dependent activation and DNA repair processes of (6-4) photolyase. *Biochemistry* **50**, 3591-3598.

[2] Zhang, Y., Yamamoto, J., Yamada, D., Iwata, T., Hitomi, K., Todo, T., Getzoff, E. D., Iwai, S., and Kandori, H. (2011) Substrate assignment of (6-4) photolyase reaction by FTIR spectroscopy. *J. Phys. Chem. Lett.* **2**, 2774-2777

[3] Yamada, D., Zhang, Y., Iwata, T., Hitomi, K., Getzoff, E. D., and Kandori, H. submitted to *Biochemistry*.

**T11**

ほ乳培養細胞におけるチャンネルロドプシンタンパク質の発現系の確立および全反射フーリエ変換赤外分光法による構造変化解析

○稲熊あすみ<sup>1,2,3</sup>、塚本寿夫<sup>2</sup>、木村哲就<sup>1,2,3</sup>、石塚徹<sup>3,4</sup>、八尾寛<sup>3,4</sup>、古谷祐詞<sup>1,2,5</sup>

<sup>1</sup> 総研大、<sup>2</sup> 分子研、<sup>3</sup> JST CREST、<sup>4</sup> 東北大・院生命科学、<sup>5</sup> JST PRESTO

チャンネルロドプシン (ChR) は、緑藻類の *Chlamydomonas reinhardtii* 由来の膜タンパク質で、可視光の刺激によって陽イオンを細胞内に取り込む。ChR は、光遺伝学における神経細胞を制御するツールとして近年注目されているが、光刺激による構造変化に関する情報は少ない。本研究は、光刺激を受けた ChR が光定常状態から基底状態へと回復する際の構造変化を全反射フーリエ変換赤外分光法 (ATR-FTIR) により解明することを目的とした。

現在報告されている野生型の ChR1 と ChR2 から作製されたキメラ ChR タンパク質をほ乳培養細胞で発現させ、ATR-FTIR を用い、光誘起赤外差スペクトル計測を行った。発表では、ほ乳培養細胞による発現系構築の詳細と、ATR-FTIR 計測の現状を報告する。

**T12**

イカロドプシンルミ中間体の構造解析

○村上緑、神山勉

名古屋大・院理・物理

視物質ロドプシンが光を吸収すると、バソールミ→メタ中間体へと続く光反応サイクルが始動し細胞質側表面に共役する G 蛋白質へと光情報が受け渡される。我々はイカロドプシンを用いて X 線結晶構造解析を行い、これまでに低温下で光平衡状態を形成する 11cis 型暗順応状態、全 trans 型バソ中間体、および 9cis 型イソロドプシン状態について立体構造を決定した。本研究ではレチナール光異性化後のロドプシン活性化にともなう構造変化を明らかにすることを目的として、ルミ中間体の構造解析を行った。

イカロドプシン結晶を 100K で青色光照射するとバソ中間体を多く含む光異性体の平衡状態が生成し、その後暗中で 170K に昇温するとバソールミ変換が完了した。2.8 Å 分解能の回折データから解析した活性部位近傍の差電子密度マップに基づいてルミ中間体の構造を決定した。ルミ中間体は全 trans 型レチナールを含み、そのポリエーテル鎖平面は基底状態と同様膜面に対して平行に向いた。C9-、C13-メチル近傍の芳香族側鎖がやや向きを変え、シッフ塩基結合が反転した。基底状態→バソールミ中間体までの光誘起構造変化の特徴を抽出し、無脊椎動物型ロドプシンの光活性化機構について議論する。

**T13**光化学系 II Mn クラスター $S_2$  状態における価数の解明○浅田瑞枝<sup>1</sup>、長嶋宏樹<sup>1</sup>、KOUA Faisal Hammad Mekky<sup>2</sup>、沈建仁<sup>2</sup>、三野広幸<sup>1</sup><sup>1</sup>名古屋大・院理、<sup>2</sup>岡山大・院自然科学

光化学系 II (PS II) に存在する Mn クラスターは酸素発生の触媒として作用する。Mn クラスターは 4 つの Mn、1 つの Ca 原子などからなり、その構造は最近の X 線結晶構造解析により明らかになった。酸素発生過程において Mn クラスターは 5 つの異なる酸化状態 ( $S_0$ ,  $S_1$ ,  $S_2$ ,  $S_3$ ,  $S_4$ ) を循環的にとる。このうち  $S_2$  状態ではマルチラインと呼ばれる EPR 信号が観測され、4 つの Mn の価数は (III, IV, IV, IV) と考えられている。

PELDOR 測定はスピン間の距離を高い精度で測定できる。本研究では  $S_2$  状態の Mn クラスターと  $Y_D$  間の双極子相互作用を PELDOR 法により測定した。

$Y_D$  と Mn クラスターのそれぞれの原子位置と電子密度分布を考慮してフィッティングを行った結果、Mn クラスター内にある Mn 原子の価数と位置の対応を決定することができた。さらに、Spin Projection の符号の組み合わせから Mn 原子間の交換相互作用  $J$  の符号も得られた。

**T14**

タイトル 青色光受容体蛋白質における電子トンネル移動経路の理論的研究

○発表者、共著者 ○佐藤竜馬<sup>1</sup>、倭剛久<sup>1</sup>**P3**所属 <sup>1</sup>名大・院理

DNA に紫外線が当たると DNA 内の隣り合ったチミンの間に共有結合が形成される。この結合様式は、シクロブタンピリミジンダイマー(CPD)と6-4光産物の2種類が知られている。この結合が形成されると、生物が DNA を正確に複製できないなどの原因となる。この DNA 損傷を修復する機能をもつものに青色光受容体蛋白質がある。青色光受容体蛋白質は補因子であるフラビンアデニンジヌクレオチド(FADH<sup>\*</sup>)から CPD への電子移動反応を用いて CPD を修復することがわかっている。

本研究では青色光受容体蛋白質である DNA photolyase と Cryptochrome DASH (Cry-DASH)における電子移動反応を計算生物物理学の観点から解析した。近年我々は DNA photolyase における電子移動の際、媒介物として Met-353 が重要であることを明らかにした(Y. Miyazawa *et al.*, 2008)。Cry-DASH では Met-353 と同様の部位が Gln-395 に置換されている。解析より FADH<sup>\*</sup>から CPD への電子移動およびチミンダイマーから FADH<sup>\*</sup>への逆電子移動において DNA photolyase では Met-353、Cry-DASH では Gln-395 を電子が経路する経路をそれぞれ見いだした。本発表では上記で示した経路以外の経路も詳細に示し反応メカニズムに関して言及する予定である。

## T15

励起移動を記述するための一般化 Bogoliubov 不等式を用いた変分マスター方程式の理論の開発

○藤橋裕太、木村明洋  
名大院理

光捕集系内の励起移動は色素間の励起移動相互作用、色素の励起状態とタンパク質間の揺らぎによる相互作用が拮抗する環境下で起こる。最近、Nazir らは変分原理を取り入れた量子マスター方程式の理論を構築した。

我々は両相互作用が拮抗する場合における励起移動をより適切に記述できるように、この理論の改良に取り組んだ。Nazir らは Bogoliubov 不等式を用いた自由エネルギー最小化によって変分パラメーターの決定を行っているが、我々は Decoster によって一般化された Bogoliubov 不等式を用いた。この不等式はオリジナルの Bogoliubov 不等式よりも真の自由エネルギーに近い値を得ることができるものである。この方法で決めた変分パラメーターによる量子マスター方程式から速度定数を算出して、Nazir の理論、階層型方程式による結果と比較した。

## T16

徐冷法と遺伝的アルゴリズムを組み合わせたタンパク質の安定構造探索アルゴリズムの提案と改良

○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>1,4,5</sup>

<sup>1</sup>名大院理, <sup>2</sup>同志社大生命医科学, <sup>3</sup>同志社大理工, <sup>4</sup>名大構造生物研, <sup>5</sup>名大計算科学研

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我々は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ってきた。さらに本手法の結果を 56 残基の ProteinG に適用した場合に、低いポテンシャルエネルギーをもつものの、同時に明らかに不自然な折り畳みを有する安定構造が新たに発見された。この構造はタンパク質をアミノ酸が連なった一本の“紐”として考えた時の、結び目構造をもつことが分かった。そこで本研究では結び目理論の分野で用いられている結び目不変量の考え方を導入し、不自然な結び目を避ける手続きを新たに加えることで、より自然な安定構造を探索できる手法へと改良した。

## T17

### DPPC 脂質二重膜へのレプリカ交換分子動力学法の応用とその相転移

○永井哲郎<sup>1</sup>、岡本祐幸<sup>1,2,3</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、<sup>3</sup>名古屋大学大学院工学研究科附属計算科学連携教育研究センター

脂質二重膜は、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物質である。本研究では、粗視化模型の脂質二重膜をレプリカ交換分子動力学法によりシミュレーションした。粗視化模型には、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。詳細を当日発表する予定である。

## T18

### 転写制御に関わる染色体の動的構造モデリング

○徳田直子、寺田智樹、笹井理生  
名大・院工

出芽酵母の染色体は核内において、セントロメア領域とテロメア領域が向かい合うような偏りのある配置をしていることが示唆されている。一方、核内の染色体は、核膜や核小体などから制約を受けながらダイナミックにブラウン運動をしていることが知られている。そのため、例えば遺伝子の発現調節や遺伝子損傷の修復のような、核内の染色体に関わる機能を理解するためには、染色体のこれら2つの側面を考慮することが重要である。しかし現在のところ、分子生物学的手法や遺伝学的手法では染色体構造・ダイナミクスについて限られた情報しか得ることができない。そこで本研究では、出芽酵母の核内における全染色体、すなわちゲノムの動力学シミュレーションモデルを構築した(Tokuda *et al.*, *Biophys J.* Vol. 102 p. 296 (2012))。シミュレーション結果から、実験で測定されているテロメア間の距離分布を説明するためには、染色体の特異的な領域であるテロメアおよびリボソーム DNA 領域が核膜と相互作用をすることが必要であることがわかった。また、この結果は特異的な染色体領域と核膜との相互作用によって、核内の染色体の偏りのある分布が形成されることを示唆している。

**P1**

Na<sup>+</sup>駆動型べん毛モーター固定子タンパク質 PomB のペリプラズム領域の構造と機能

○小嶋誠司<sup>1</sup>、高尾真登<sup>2</sup>、佐久間麻由子<sup>1</sup>、李娜<sup>1</sup>、今田勝巳<sup>2</sup>、本間道夫<sup>1</sup>

<sup>1</sup>名大・院理、<sup>2</sup>阪大・院理

海洋性ビブリオ菌の Na<sup>+</sup>駆動型べん毛モーター固定子複合体は、膜タンパク質の PomA と PomB から構成される。回転子周囲の適切な場所に固定された PomA/PomB 複合体中を Na<sup>+</sup>が透過する際に、固定子と回転子間の相互作用が生じ、トルクが発生する。この固定子のモーターへの集合・固定は、PomB の C 末端側ペリプラズム側領域 (PomB<sub>C</sub>) が担っている。我々は機能に重要な部分を含む PomB<sub>C</sub> フラグメント (PomB<sub>C5</sub>) の結晶を作成し、分解能 2.1Å で構造を決定した。PomB<sub>C5</sub> はシングルドメイン構造を示し、PomB<sub>C</sub> のホモログであるサルモネラ菌 MotB<sub>C</sub> の全体構造と非常に良く似ていた。PomB<sub>C5</sub> は結晶の非対称単位中に 2 分子存在し、二量体を形成していた。二量体形成はゲルろ過クロマトグラフィーでも確認できた。

また、PomB<sub>C5</sub> では、MotB<sub>C</sub> でプロトンチャネルの活性化に重要とされている helix 1 の表面が負に帯電しており、この部分で基部体の T リングを構成する MotX と相互作用する可能性が考えられる。現在、構造情報に基づいた変異導入実験を行い、PomB<sub>C</sub> の機能解析を進めている。

**P2**

$\mu$ HR のイオン輸送過程で変化する水の時間分解赤外スペクトル解析

○藤原邦代<sup>1</sup>、木村哲就<sup>2,3</sup>、菊川峰志<sup>4</sup>、出村誠<sup>4</sup>、神取秀樹<sup>5</sup>、古谷祐詞<sup>2,6</sup>

<sup>1</sup>総研大、<sup>2</sup>分子研、<sup>3</sup>JST CREST、<sup>4</sup>北大・院生命科学、<sup>5</sup>名工大・院工、<sup>6</sup>JST PRESTO

光駆動塩素イオンポンプとしての機能を持つ膜貫通タンパク質のファラオニス・ハロロドプシン ( $\mu$ HR) におけるイオン輸送機構を解明するために、フーリエ変換赤外分光計測 (FTIR 計測) を行った。

$\mu$ HR の駆動の鍵は、プロトン化シッフ塩基を経て結合しているレチナールである。レチナールが光刺激を受けて all-*trans* 型から 13-*cis* 型へ変化することで、タンパク質の構造を変化させ塩素イオンを運ぶ。このイオン輸送過程で  $\mu$ HR がとる中間体の構造情報については、特に水分子の情報が不足している。この詳細について解析するため FTIR で 3850–950 cm<sup>-1</sup> の振動数領域での時間分解赤外計測を行った。これには、Cl<sup>-</sup>、Br<sup>-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>などのいくつかの異なる陰イオン環境のサンプルを用意し、各々のスペクトルの変化を解析した。また、H<sub>2</sub>O および H<sub>2</sub><sup>18</sup>O による水和サンプルの比較によりイオンが  $\mu$ HR 内を輸送されるときに変化する水分子の動きを解析した。



P4

## クライオ原子間力顕微鏡による生体超分子の観察

○林駿甫<sup>1,2</sup>、神山勉<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>名大・院理、<sup>2</sup>生物物理中部支部

原子間力顕微鏡 (Atomic Force Microscopy: AFM) は片持ちバネ (カンチレバー) の先端に付けた鋭い探針で試料表面を二次元走査することによってその表面構造を高い分解能で解析できる装置である。生体試料への応用では大気中や溶液中といった環境下での測定が行われてきた。ただしそのいずれも、試料を平らな基板の上に吸着させる際に生じる変形や、測定中に探針によって引き起こされる変形などによって、得られた像は生体内での構造を維持しているとは限らない。そこで天然の細胞の構造を解明するために我々の研究室では、試料温度 $-100^{\circ}\text{C}$ 以下の低温で生体試料を観察できるクライオAFMを開発してきた。この低温下では生体試料は硬くなり探針による変形の問題を抑えることができる。開発したクライオ原子間力顕微鏡でハロロドプシンの膜小胞、タコロドプシンの微絨毛の低温観察を行った。

P5

## 講演タイトル $\alpha$ ラクトアルブミンのMG状態と生物機能

発表者、共著者 ○中村 敬<sup>1,2</sup>、眞壁 幸樹<sup>1,2,3</sup>、相沢 智康<sup>4</sup>、河野 敬一<sup>4</sup>、出村 誠<sup>4</sup>、桑島 邦博<sup>1,2,3</sup>

所属 1:岡崎統合バイオ、2:分子研、3:総研大・物理・機能分子科学、4:北大・院先端生命科学

近年ヒト $\alpha$ ラクトアルブミン( $\alpha$ LA)と不飽和脂肪酸の会合体が腫瘍細胞を選択的に細胞死に導くことが報告された。このヒト $\alpha$ LA複合体の蛋白質部分はモルテングロビュール(MG)状態類似の立体構造を持つことがわかっているが、その構造、物性、機能ともに未だ不明な点が多い。我々は、NMR及び抗腫瘍細胞活性測定からMG状態と細胞死誘導活性発現の分子機構との関係を明らかにしようと試みた。

2次元<sup>1</sup>H, <sup>15</sup>N-HSQCスペクトルから $\alpha$ LA-オレイン酸複合体のオレイン酸結合部位が、 $\alpha$ LAのフォールディング開始部位に相当しており、オレイン酸は蛋白質のフォールディング中間体中で不完全なコアを形成している疎水性領域に結合すると考えられた。そこでこの仮説をさらに検証するために、我々は $\alpha$ LA以外の安定なMG状態を形成するいくつかの蛋白質とオレイン酸との複合体を作製し、その抗腫瘍細胞活性を調べた。すると作製した全ての蛋白質-オレイン酸複合体は、活性に強弱はあるものの抗腫瘍細胞活性を示した。このことは $\alpha$ LA-オレイン酸複合体の抗腫瘍細胞活性の主体はオレイン酸にあり、複合体中の $\alpha$ LAは運び屋として働いているという仮説を支持するものである。

また、我々は $\alpha$ LA-オレイン酸複合体のオリゴマー形成を磁場勾配NMR法によって調べた。その結果、生理的な条件では $\alpha$ LA-オレイン酸複合体のモノマーとオリゴマーが共存していることが示された。

**P6**

講演タイトル：ハロロドプシンの光誘起構造

○中西太市<sup>1</sup>、金田創運<sup>1</sup>、井原邦夫<sup>2</sup>、村上緑<sup>1</sup>、神山勉<sup>1</sup>所属 <sup>1</sup>名古屋大学理学研究科 <sup>2</sup>名古屋大学遺伝子実験施設

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。

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(0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。

**P7**

海洋性ビブリオ菌のべん毛形成の抑制に関わるDnaJモチーフを持つ新規遺伝子の解析

○西垣岳彦<sup>1</sup>、北岡摩耶<sup>2</sup>、井原邦夫<sup>3</sup>、西岡典子<sup>2</sup>、小嶋誠司<sup>2</sup>、本間道夫<sup>2</sup><sup>1</sup>名大・理、<sup>2</sup>名大・院理、<sup>3</sup>名大・遺伝子

細菌のべん毛は種によって本数や形成位置が異なっている。海洋性ビブリオ菌のVI05株(側べん毛欠損、極べん毛野生型)では、FlhFとFlhGによってべん毛形成がそれぞれ正と負に制御され、極にべん毛が1本形成される。VI05株から*flhFG*が欠失した $\Delta flhFG$ 二重欠失株は、ほとんどの菌でべん毛が形成されず、ごくわずかな割合で菌体周囲に複数のべん毛が形成される。当研究室において、この株から軟寒天培地上の運動能が回復した抑圧変異体が単離された( $\Delta flhFG$ -sup株)。 $\Delta flhFG$ -sup株はべん毛を菌体周囲に複数本持ち、運動能が $\Delta flhFG$ 株より上昇していた。 $\Delta flhFG$ -sup株を全ゲノムシーケンスによって解析したところ、DnaJモチーフを持つ、ビブリオ属に特異的な未知の遺伝子に変異が見つかった。この遺伝子を*sfIA*と名付けた。 $\Delta flhFG$ 株に変異型*SfIA*を発現させると運動能が回復し、野生型*SfIA*を $\Delta flhFG$ -sup株に発現させると運動能回復が阻害された。以上の結果から*sfIA*が抑圧変異の原因遺伝子であり、*sfIA*はべん毛形成の抑制に関わる新規遺伝子であることが示唆された。現在、抑制機構の解明を目指している。

**P8**

## タンパク質の立体構造変化のデータベース PSCDB の開発

○雨宮崇之<sup>1</sup>、小池亮太郎<sup>1</sup>、木寺詔紀<sup>2,3</sup>、太田元規<sup>1</sup><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

タンパク質の立体構造は支えられる相互作用が非共有結合性であるため、まわりの環境変化に応答して柔軟に変化することができる。立体構造変化に関する研究は近年増加してきているが、個別のタンパク質のみでの研究にとどまっておき、情報が離散的で利用しにくいのが現状である。そこで我々は、PDB から非冗長で 839 種類のタンパク質の低分子結合に伴う立体構造変化を集めデータベースを開発した。低分子リガンド結合と共役するもしくは、独立な運動という視点で立体構造変化の分類を行い、さらに線形応答理論を用いた立体構造変化の解析結果をタンパク質の立体構造変化データベース PSCDB として公開した。現在、<http://idp1.force.cs.is.nagoya-u.ac.jp/PSCDB/>より、アクセスすることができ、広く一般に利用してもらえることを望んでいる。

**P9**

## 緑色蛍光蛋白質のフォールディング中間体の分光学的性質

櫻井 晶子、水上 琢也、楨 互介

名大・理・物理

緑色蛍光蛋白質(GFP)は、238 残基からなる球状蛋白質であり、天然状態で緑色の蛍光を発する発色団を持つため、生体内などの複雑な環境でのフォールディングの研究、蛋白質の発現のマーカーとして利用される。GFP は、pH による平衡論的アンフォールディングにおいて、酸変性状態(D)、中間体(I)、天然様中間体(N')、天然状態(N)の四状態を蓄積する。また、フォールディングにおいては、プロリンの異性化に伴う並行な経路を経て、複数の中間体を蓄積して N に至る。しかし、I や N'中間体、プロリンの異性化に伴う中間体の構造的な特徴や、そのフォールディングにおける役割の詳細は明らかになっていない。本研究では、フォールディングにおいて蓄積する中間体の構造的な性質や、プロリンの異性化を含めたフォールディング機構を明らかにするため、pH による平衡条件下でのアンフォールディング転移と pH ジャンプによる酸変性状態から天然状態へのフォールディング速度論を発色団とトリプトファン の蛍光を用いて調べた。平衡条件下で蛍光スペクトルの pH 依存性を測定した。平衡条件下で蓄積する N'中間体と N 状態とで蛍光極大波長が一致した。フォールディング反応に伴う蛍光スペクトルの時間依存性を測定した。フォールディング速度論は、二相で表すことができた。二相のうち、遅い相(見かけの速度定数:  $0.02 \text{ s}^{-1}$ )は、プロリンの異性化に律速される経路によるものであり、早い相(見かけの速度定数:  $0.07 \text{ s}^{-1}$ )は、プロリンの異性化を含まない経路によるものであることが過去の研究から示唆されている。各波長について、各相に対してゼロ時刻外挿値を評価し、それぞれの相に対応する蛍光スペクトルを得た。プロリンの異性化に伴う経路において蓄積する中間体の蛍光スペクトルは、N の蛍光スペクトルとほぼ一致した。この結果は、プロリンの異性化に伴う中間体の構造は、少なくとも発色団周辺においては天然構造を獲得していることを示唆する。さらに、早い相に対応する蛍光スペクトルは、N 状態の蛍光スペクトルと共通の蛍光極大波長を示し、その強度は N 状態の強度よりも小さかった。平衡論的アンフォールディングによって得られた N'中間体の蛍光スペクトルと、早い相に対応する蛍光スペクトルの類似から、早い相は、N'中間体から N 状態への構造形成に対応することが示唆される。

P10

全反射赤外分光法によるサル緑感受性視物質のクロライドイオン結合機構解析

○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。それに加えて錐体視物質の中には、塩化物イオン (Cl<sup>-</sup>) が結合すると吸収波長が長波長シフトするグループ (グループ L) があり、その波長シフトの機構が注目されている。特にサルやヒトの緑・赤感受性視物質はともにグループ L に属し、遺伝子重複によって発現した視物質である。従って、サル緑・赤感受性視物質の Cl 結合部位の構造解析を行い、両視物質間における Cl 結合機構が同じなのか、異なるのか、構造基盤に立って解析することは興味深い。これまで我々は、培養細胞により発現させたサルの緑・赤感受性視物質に対し低温赤外分光法を適用させることで、霊長類色覚視物質の構造解析を初めて実現し<sup>[1]</sup>、最近では、内部結合水の同定にも成功した<sup>[2]</sup>。

今回我々は、サル緑感受性視物質に対し、エバネッセント波を利用して水溶液中でのスペクトル測定が可能な全反射赤外分光を活用し、Cl<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, I<sup>-</sup>それぞれを含むバッファーのうち 2 つを交互に流すことで赤外差スペクトルを測定し、Cl 結合部位の構造情報を直接得ることに成功したので報告する。

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

[2] K. Katayama, Y. Furutani, H. Imai, H. Kandori (2012) *Biochemistry* 51, 1126-1133.

---

タコロドプシンの結晶化

P11

○水野克秀 張進 中村洋子 村上緑 神山勉

所属 名古屋大学 生体超分子物理研究室

イカロドプシンの結晶構造解析が報告されているが、イカロドプシンの結晶は不活性化状態でのみ安定であり、いまだにその光活性化状態、あるいは、GPCR-G タンパク質・複合体の構造解析には至っていない。一方、タコロドプシン(oRh)は基底状態で 11-*cis* であるレチナールが光異性化により all-*trans* になる。この変化により吸収スペクトルのピークが 480nm 付近から 510nm 付近に移動するが、ここでオレンジ光を照射すると吸収スペクトルのピークは 480nm 付近に戻る。これは光活性化状態で安定であることを示しており、oRh の結晶化を成功させ、構造解析することは GPCR の研究においてとても重要である、といえる。

本研究では北海道産ミズダコ(giant octopus)の眼球から網膜を採取し oRh を短期間で精製する方法を確立した。この精製法の確立により結晶化のトライアルの回数を格段に増やすことが可能となり、研究目標である oRh の微結晶の作製に成功した。

**P12****講演タイトル**

光化学系IIにおけるキノン電子受容体の酸化還元電位制御機構

○発表者、共著者 ○芦沢竜壮 野口巧

所属 名古屋大学 大学院理学研究科

葉緑体中の光化学系IIタンパク質複合体(PSII)に光が照射されると、集光性クロロフィルが光を吸収して励起し、その励起エネルギーはクロロフィル上を移動してP680と呼ばれる特殊なクロロフィルに渡される。P680は励起エネルギーを受け取ると電荷分離を起こす。電子は、フェオフィチン、第一キノン電子受容体 $Q_A$ 、第二電子受容体 $Q_B$ の順に酸化還元電位の低い成分から高い成分へと移動する。このように、 $Q_B$ の方が $Q_A$ よりも高い酸化還元電位を持つが、 $Q_A$ 、 $Q_B$ はいずれも同じプラストキノン-9 (PQ-9) 分子よりなる。こうした酸化還元電位の違いは周囲の蛋白質との相互作用により生じると考えられているが、その具体的なメカニズムは未だ解明されていない。そこで本研究では、量子化学計算を用いて、PQ-9のC=O基に対する水素結合と酸化還元電位との関係を調べた。

**P13**

バキュロウイルス膜融合の可視化解析：界面通過法 GUV を用いて

西上美佐子、富田昌弘、○湊元幹太

三重大・院工・分子素材

バキュロウイルスは出芽型エンベロープウイルスの形態をとり、その組換え体は昆虫細胞でのタンパク質発現のベクターとして利用される。これまでに、いくつかの膜タンパク質が出芽ウイルス粒子エンベロープ (BV) 上に搭載され、リポソームとの融合によりプロテオリポソームが調製できることが報告されている。今回、私たちは、この方法をリン脂質単層膜の張り合わせにより形成した巨大リポソーム (界面通過法 GUV) にも適用できるか検討した。

中性の内水相をもつ GUV に対するオクタデシルローダミン B (R18) 染色 BV の膜融合の pH 依存性を、単一 GUV レベルの共焦点レーザー顕微鏡観察により調べた。その結果、pH4-5 の領域で膜の相対蛍光強度が増大し、これより弱酸性側で融合が進行していた。当該 GUV でも、通常のリポソーム - BV 融合と同様の挙動が見られたため、GPCR 型受容体の CRHR1-TagRFP を搭載した BV を融合させたところ、GUV 膜上に移行し、プロテオリポソームとなっていることが認められた。

**P14****Crystal structure of deltarhodopsin from *Haloterrigena Thermotolerans***J.Zhang<sup>1</sup>, K.Mizuno<sup>1</sup>, Y.Murata<sup>1</sup>, K.Ihara<sup>2</sup>, M.Murakami<sup>1</sup>, and T.Kouyama<sup>1</sup><sup>1</sup>Department of Physics, Graduate School of Science, Nagoya University;<sup>2</sup>Center for Gene Research, Nagoya University)**Abstract**

Deltarhodopsin (dR), which is found in *Haloterrigena Thermotolerans*, is a new member of the microbial rhodopsins family. Here, we report the first three-dimensional structure of deltarhodopsin at 2.7 Å resolution. Crystals belonging to space group *H32* were obtained by the membrane fusion method. It is demonstrated that the structure of the inner part of dR (the proton channel and the retinal binding pocket) is similar to that of bacteriorhodopsin (bR). The trimeric structure of dR is also similar to those of bR and archaerhodopsin-2 (aR2), though the residues in the protein-protein region are largely altered. Structural comparison of dR with other archaeal rhodopsins offers an insight into the formation mechanism of the trimeric structure of archaeal rhodopsins ion pumps.

**P15****全反射赤外分光法による Mg<sup>2+</sup>輸送体 MgtE のイオン選択機構の解析**○木村哲就<sup>1,2,3</sup>、道喜慎太郎<sup>4</sup>、石谷隆一郎<sup>4</sup>、濡木理<sup>4</sup>、古谷祐詞<sup>1,2,5</sup><sup>1</sup>分子研,<sup>2</sup>総研大・物理科学,<sup>3</sup>CREST, JST,<sup>4</sup>東大・院理,<sup>5</sup>さきがけ, JST

MgtE は、細胞内 Mg<sup>2+</sup>イオン濃度の恒常性維持に関わるチャネル膜蛋白質であり、Mg<sup>2+</sup>濃度依存的なチャネル開閉により輸送活性調節を行っている [Hattori *et al. Nature* (2007), **448**, 1072 & *EMBO J.* (2009), **28**, 3602]。この MgtE は Mg<sup>2+</sup>に対する高い輸送基質選択性を有しており、Ca<sup>2+</sup>を含む多くの二価カチオンは輸送されないことが報告されている。本研究では、Mg<sup>2+</sup>に対する MgtE の高いイオン選択性の分子機構を明らかにすることを目的として、液中での計測を可能とする全反射赤外分光法を用いた分子構造解析を行った。脂質二重膜に再構成した MgtE に対して、Mg<sup>2+</sup>を含んだ溶媒と Ca<sup>2+</sup>等の二価カチオンを含んだ溶媒を交換することでイオン交換誘起赤外差スペクトルを測定した。その結果、Mg<sup>2+</sup>と Ca<sup>2+</sup>存在下で側鎖のカルボキシル基に由来するバンドが大きく異なっていることがわかり、Mg<sup>2+</sup>とその他の二価カチオンで MgtE への結合様式が異なることが示唆された。発表では、Mg<sup>2+</sup>結合型と Ca<sup>2+</sup>等の二価カチオン結合型 MgtE の分子構造の違いを詳細に検討し、MgtE のイオン選択性の分子機構について議論する。

P16

バクテリオロドプシン変異体 D85N の結晶化

大嶋元<sup>1</sup>、井原邦夫<sup>2</sup>、神山勉<sup>1</sup>

<sup>1</sup>名大・院理、<sup>2</sup>名大・遺伝子実験施設

バクテリオロドプシン(以下 bR)は、高度好塩菌 *Halobacterium salinarum* の細胞膜上に存在し、光のエネルギーを利用してプロトンの濃度勾配を生み出す光駆動プロトンポンプとして機能する膜タンパク質である。分子内に結合しているレチナールが可視光を吸収し、中間体(K,L,M,N,O)を経て基底状態へ戻るという反応サイクルによって、プロトン一個を細胞質側から外側に輸送する訳であるが、この輸送機構を詳細に解明するためには、基底状態だけでなくそれぞれの中間体の構造情報が必要不可欠である。本研究では、変異体 D85N のスペクトルが native-bR の O 中間体に対応していることを利用して、O 中間体についての構造情報を得る事を目的としている。さらに pH を上げることで native-bR の M 中間体に対応したスペクトルを得ることができ、その中間の pH では M 中間体と O 中間体の間の N 中間体に対応する状態を含んでいると考えられるため、N 中間体の構造情報を得る可能性があると思われる。今回は、X 線結晶構造解析を行うべく結晶化に取り組み、変異体 D85N を導入した MPK409 株を大量培養することで得られたサンプルを膜融合法で結晶化する手法で、一辺 20  $\mu$  m 程度の六角形の微結晶を得た。