1L1145

ショウジョウバエ味受容細胞の応答特性における分化

○上野 耕平¹, 森田 ひろみ¹, 太田 雅之¹, 三國 由佳², 山本 和生², 塚原 保夫³, 磯野 邦夫¹ (¹ 東北大・情報, ² 東北大・院理・生物, ³ はこだて未来大・複雑系)

ショウジョウバエの唇弁にある化学感覚毛の糖受容細胞は様々な糖に対して応答性を示す。これらの糖の中で、二糖類トレハロースの応答は遺伝子 Tre が関与する。Tre はその塩基配列から七回膜貫通型の G タンパク共役型受容体をコードする遺伝子であり、この遺伝子を欠損した変異体の唇弁感覚毛におけるトレハロース応答が野生型に比べ著しく低下する事を昨年度報告した。一方欠損変異体はショ糖など他の糖の応答性を低下させないこと、Tre の他にも相同性の高い遺伝子の存在などから、糖受容細胞には複数種類の糖受容分子の存在が示唆されている。唇弁とは異なる味受容容器であるふ節先端の化学感覚毛において様々な糖に対する味受容細胞の応答性を調べ、糖受容体の発現を唇弁化学感覚毛と比較した結果、糖の応答特性が大きく異なることが明らかになった。またふ節の糖受容細胞ではトレハロースの応答性は低く、唇弁に見られる Tre 遺伝子変異による顕著な感度の変化は見られなかった。これらの結果はふ節の糖受容細胞は唇弁とは少なくとも一部は異なる糖受容体を発現することを示唆する。これはちょうど光受容器官の複眼と単眼の関係のように同じタイプの感覚細胞でも器官により分化して異なる受容体の発現をすることよく似ている。一方唇弁の化学感覚毛には糖受容細胞の他に、水や塩類に特異的に応答する細胞がある。ふ節と唇弁の化学感覚毛の水や各種塩の応答性を比較したところ、ふ節の感覚毛では水応答が見られず、また逆に唇弁では見られなかったカルシウムイオンに対する高い応答性をもつ味細胞が同定された。このカルシウム応答は濃度の上昇に伴いインパルスの高さが顕著に大きくなることが特徴的である。味細胞は予想されたよりもはるかに多様に分化していることが示唆される。

K.Ueno, H.Morita, M.Ohta, Y.Mikuni, K.Yamamoto, Y.Tsukahara, K.Isono : Differentiation of response property in *Drosophila* labellar and tarsal taste receptor cells.

1L1330

核酸塩基・アミノ酸相互作用の自由エネルギーランドスケープ：蛋白質による DNA 認識における特異性

○相田 美砂子¹, 河野 秀俊³, Gromiha M. Michael², 佐谷野 健二⁴, Pichierri Fabio², 皿井 明倫² (¹ 広島大・院理・化学, ² 理研, ³ ペンシルベニア大, ⁴ 電総研)

遺伝子発現の時間的空間的な制御は多くの DNA 結合蛋白質が特異的なターゲット配列を協同的に認識することによってなされており、発生や形態形成などの複雑な生命現象において重要な役割を果たしている。蛋白質が DNA 配列を認識するメカニズムを明らかにするには、まずアミノ酸が塩基とどのように相互作用して特異性を発揮しているかを理解する必要がある。近年、蛋白質・核酸複合体の構造が次々と明らかにされ、アミノ酸と塩基の特異的相互作用に関する知識が蓄積しつつあるが、それらの構造データを統計的に解析してみると、特異的相互作用はユニークなものではなく、冗長性や構造の柔軟性が重要であることがわかる。そのような複雑な特異性を解析するため、我々は、塩基とアミノ酸の相互作用の計算機シミュレーションを行ってきた。この方法では、非経験的分子軌道法を基にして得られた力場を用いて塩基とアミノ酸の相互作用エネルギーを計算し、さまざまなコンフォメーションを系統的にサンプリングすることにより、相互作用の自由エネルギーマップを求める。このようなマップをさまざまな塩基とアミノ酸の組み合わせについて比較すると、塩基とアミノ酸の特異性に関する情報を得ることができる。これまでに、塩基のまわりのアミノ酸の分布は、アミノ酸の種類によって独特のパターンを示すこと、また、アミノ酸は異なる塩基に対して異なる特異性を示すという結果が得られた。今回、さまざまな塩基とアミノ酸のペアについて自由エネルギーマップを計算し、塩基とアミノ酸の認識特異性を比較した。また、構造データから抽出された塩基・アミノ酸相互作用とも比較した。さらに、計算で用いられる力場の効果や塩基対のまわりの環境の影響などの要因についても検討した。これらの結果について詳しく報告する。

M. Aida, H. Kono, M.M. Gromiha, K. Sayano, F. Pichierri, A. Sarai : Free-energy landscape of DNA base-amino acid interactions: specificity in the protein-DNA recognition

1L1315

モノヌクレオチド結合蛋白質の分子動力学シミュレーション

○池口 満徳、中村 周吾、清水 謙多郎 (東大・院農・応生工)

タンパク質の分子認識原理の解析のため、モノヌクレオチド結合タンパク質の分子動力学シミュレーションを行った。対象は、GTP 結合型の RAS P21 を用いた。本研究では、結合の自由エネルギーの計算法として、近年提案された Linear Interaction Energy (LIE) 法を用いた。この研究では、基質-蛋白質間の静電相互作用と van der Waals 相互作用を分けて評価し、LIE 法を評価検討するとともに、分子認識原理の定性的な把握を目指した。分子動力学シミュレーションでは、我々が近年開発したプログラムを用い、長距離のクーロン力をカットオフしない Fast Multipole Method (FMM)、多重時間積分法である rRESPA 法もしくは velocity Verlet 法、水分子に関しては安定性にすぐれた剛体分子用反転可能時間積分法を適用した。GTP に関しては Gaussian98 を用いて電子状態を計算した後、RESP を用いて電荷を見積もった。GTP を、塩基、糖、 $P_{\alpha}O_3$, $P_{\beta}O_3$, $P_{\gamma}O_3$ の部分にわけ、それぞれの部分において、周囲原子との静電相互作用、van der Waals 相互作用を計算した。その結果、タンパク質中、水中とも、静電相互作用については、塩基、糖、 $P_{\alpha}O_3$, $P_{\beta}O_3$, $P_{\gamma}O_3$ の順番で相互作用が強くなり、van der Waals 相互作用については逆の順番となった。特に、塩基の van der Waals 相互作用において、タンパク質結合状態と水中間で違いが見られた。リン酸部分については荷電状態であるので静電相互作用は大きい、タンパク質結合状態と水中において同等か、むしろ水中のほうが低いくらいである。水分子は強い極性を持つので、リン酸部と大きな静電相互作用を持つことができるが、タンパク質側のリン酸結合部位には、少なくとも水溶液環境と同等かそれ以上の電場環境が存在する必要があると思われる。

M.Ikeguchi, S.Nakamura, and K.Shimizu : Molecular dynamics simulation of mononucleotide binding proteins

1L1345

IRF-2/DNA システムによって明らかにされた水を介したマイナーグループ認識と配列特異性との関係

○藤井 佳史^{1,2}, 中野 福子², 清水 敏之², 京極 好正³, 谷口 維紹⁴, 箱嶋 敏雄² (¹ 農水省農業生物資源研、² 奈良先端大・生体高分子、³ 阪大・蛋白研、⁴ 東大・院・医学研究所)

DNA 認識に際して蛋白質と DNA 間の水が重要な役割を果たしているのではないかと考えられてきた。そのことが直接証明された例として trp repressor / DNA 複合体が唯一あげられるが、これは共通の水素結合 (水和) パターンが見られないメジャーグループ内での現象であった。マイナーグループでは spine と呼ばれる共通した水和パターンが見られるが、マイナーグループ認識におけるこの水の重要性は不明であった。以前、我々はインターフェロン制御因子 IRF-2 の DNA 結合領域と DNA 複合体を分解能 2.2 Å で解析することで、IRF の認識配列が GAAA ではなく AANNGAAA であることを明らかにした。IRF-2 は wHTH (winged helix turn helix) と呼ばれる DNA 結合モチーフを持ち、認識ヘリックスによってメジャーグループ側から GAAA を wing (ループ) によってマイナーグループ側から 5'-AA 配列 (AANNGAAA) を認識していた。5'-AA 配列の認識は wing 内の His40 がマイナーグループの--層目の水 (spine of hydration) を介して行っているのみであった。水を介した認識には配列特異性が欠けるように思われるため、5'-AA 配列に変位を導入した 16 種類の DNA を使って EMSA (electrophoretic mobility shift assay) を行うと、確かに AA に最も強く結合し、以降 GA Ae TA Ae AT Ae TT の順で結合しそれ以外の配列ではシフトバンドは観測されなかった (興味深いことに認識ヘリックスだけでは結合できないのである)。その配列特異性を決定する機構の詳細とプリンリッチな配列によって起きる DNA 構造依存的認識機構については講演でお話する。

Y. Fujii, F. Nakano, T. Shimizu, Y. Kyogoku, Y. Taniguchi and T. Hakoshiina : Mutagenesis showed the specific water-mediated minor groove recognition in IRF-2-DNA system