S1S54

大腸菌走化性における受容体・キナーゼ複合体の局在と機能

○川岸 郁朗 (名大・院理・生命)

ポストゲノムシーケンス時代を迎え、生物の個々のパーツではなく、システム全体を分子レベルで理解しようという機運が高まっている。このような解析に適した対象の一つとして、大腸菌走化性シグナル伝達システムがあげられよう。構成因子とそれらの相互作用について、詳細な生化学的・構造生物学的知見が蓄積されているからである。近年、走化性受容体、ヒスチジンキナーゼ CheA およびアダプター CheW が複合体を形成し、細胞の極に局在することが明らかにされた。それ以来、この受容体・キナーゼ複合体 (クラスター) が、効率よいシグナル伝達に重要ではないかとされ、この分野の一つの焦点となっている。にもかかわらず、巨大な膜タンパク質複合体を扱う困難から、この極クラスターの構造の解析は遅れている。また、生菌における極クラスターの主要な生理的意義と考えられる、シグナル増幅や異種受容体間クロストークといった課題に対しても、明確な答えは得られていない。さらに、他のシグナル伝達因子 (たとえば受容体メチル化酵素 CheR や脱メチル化酵素 CheB など) も受容体・キナーゼ複合体と共局在する。その機構や調節の有無などもよくわかっていない。私たちは、これら未解明の課題を克服し、さらにタンパク質の立体構造情報に立脚した走化性システムの理解を目指している。具体的には、受容体ダイマー間ジスルフィド架橋など生化学的解析、および受容体その他のタンパク質と GFP との融合タンパク質を用いた細胞生物学的解析を中心に研究を進めている。本シンポジウムでは、それらの成果を紹介し、今後の課題についても考察したい。

I. Kawagishi : Localization and its physiological significance of the chemoreceptor-kinase complex of *Escherichia coli*

S1T51

分子シミュレーションは、どこまで生物物理的課題に迫ることができるか

○池口 満徳 (横浜市大院・総合理・生体超分子)

初めてタンパク質の分子動力学シミュレーションが行われたのは、1970 年代後半であった。そのときには、58 残基の BPTI を真空中で数 ps だけ計算したというものであった。そのときから四半世紀経ち、分子シミュレーションは格段の進歩を見せた。一つにはコンピュータの進歩があり、一つには計算アルゴリズムの進歩があり、構造生物学の進展も後押しした。しかし、分子シミュレーションは、生物物理学的課題に十分に答えてきたのだろうか？ 今までの分子シミュレーションでは、扱える分子サイズに限りがあり、残基数 100 強くらいのタンパク質を対象にするのが主流であった。このサイズのタンパク質では、重要な機能は例えば酵素反応や光反応で量子化学的解析を必要とするものが多く、古典的分子動力学シミュレーションでは扱えない範囲のものが多かった。しかし、ここに来て、分子動力学シミュレーションで、数百、あるいは数千といった残基数のタンパク質が扱えるようになってきた。周囲の環境も、水を含めるのは当然として、膜タンパク質の場合には脂質二重膜をも導入することが可能になってきた。そのようなサイズのタンパク質になると、ドメイン間運動や構造変化などが重要な機能になることが多く、古典的分子動力学計算が威力を発揮する。一方、量子化学計算も長足の進歩を見せ、タンパク質の環境の影響を活性中心近傍の量子計算に含めることが可能になってきた。このことで、酵素反応や光反応の詳細を、立体構造を基にして語ることができるようになってきた。ようやく、分子シミュレーションは、実験家たちと語り合うことが可能になってきたのである。このシンポジウムでは、光反応の精密量子計算から、膜タンパク質、生体超分子まで、実験家と理論家のペアに、最先端の現状と展望を語っていただこうと思っている。

M. Ikeguchi : How do molecular simulations shed light on biophysical problems?

S1S55

藍色細菌時計装置の原子レベルでの解明に向けて

○今田 勝巳¹、難波 啓一¹、石浦 正寛² (¹ 阪大院・生命機能、² 名大・遺伝子・植物ゲノム)

概日性の生体リズムは、単細胞生物から高等生物まで普遍的にみられる現象である。シアノバクテリアはこのような概日時計をもつ生物の中で最も単純な生物であり、概日時計のよいモデルシステムとして研究されている。シアノバクテリアの時計機構に不可欠な機能を持つ分子として、KaiA, KaiB, KaiC の 3 つのタンパク質が、光による概日時計安定化機構に重要な分子として SasA, Pex といったタンパク質が同定された。このうち 3 種の Kai 蛋白質は、これまでに機能解明された蛋白質との配列類似性が無く、生化学的な機能は未だに不明である。しかし、これら 3 種の蛋白質を過剰に発現したり破壊したりすると概日リズムは失われる。また、概日リズムに変調をきたす突然変異体の殆どは、この 3 つの蛋白質をコードする遺伝子上にマップされた。生理学・遺伝学的解析からは、この 3 つの蛋白質が概日時計の振動発生機構に関与することが明らかにされている。3 つの Kai 蛋白質は、互いに相互作用することが知られている。Kai 蛋白質の単一アミノ酸置換により、互いの結合活性や概日リズム周期が大きく変化することから、互いの結合活性の変化や各々の Kai 蛋白質の生化学的性質が概日振動発生や周期発現に決定的な役割を果たしていると考えられる。最近、好熱性シアノバクテリアの Kai タンパク質が高純度で大量精製できるようになり、分子構造解明に道が開けた。電子顕微鏡による画像解析より KaiC6 量体のリング構造が、X 線結晶構造解析により KaiB の 4 量体構造が次々と明らかになった。急速に進みはじめたこれら立体構造に基づく知見と、Kai 蛋白質の機能、概日時計の分子機構について議論する。

K. Imada, K. Namba and M. Ishiura : Toward understanding of the molecular mechanism of cyanobacterial circadian clock machinery based on atomic structure

S1T52

精密分光実験で観る ロドプシン光受容蛋白質機能のメカニズム ○神取 秀樹 (名工大)

今回のシンポジウムにおいて、視物質ロドプシンや古細菌ロドプシン研究の現状を網羅的に話すことも考えられるが、ここでは最も研究が進んでいる光受容蛋白質&膜蛋白質&分子ポンプであるバクテリオロドプシン (BR)¹ に絞った話をしたい。

X 線結晶構造解析を用いた中間体の構造決定にまで研究が進んだという事実は、分野外のひとにとって「遂にポンプ機構がわかったか!」という期待を抱かせたであろう。しかしながら研究の現場ではかえってさまざまな混乱が生じているのが事実であり、BR はプロトンポンプではなく水酸イオンポンプであると主張する研究者も現れる始末である (尤もそれが正しいかもしれない)。

演者は赤外分光法を用いた BR の研究を行っている。BR の研究は歴史的に分光法がリードしてきたが、高分解能の回折法により研究は新しい段階へ進んだ。しかしながらポンプ機構を考える上で重要な中間体の結晶構造は、さまざまな報告にも関わらず十分なコンセンサスに達していない。例えばこれまでに Nature 誌に掲載された 3 種類の中間体構造のすべてに疑問符がついており、我々は振動分光学の立場から Thr89 の研究を通して中間体構造の問題点を指摘した²。このような問題点は名大・神山グループが提起した X 線損傷によって説明されることかもしれない。さらに BR のポンプ機構には蛋白質中で起こる水素結合の組み換え、特に水分子の動きが重要であることは言うまでもないであろう。我々の立場からすると、今年になって提案した「水とスイッチ」モデル³の検討をより深化させる必要がある。

真実は 1 つしかない。今後も分光法、回折法、理論計算によるメカニズム解明のための努力が続くであろう。

¹ 神取秀樹 (2001) 日本物理学会誌 56, 75. ² Kandori et al. (2001) PNAS 98, 1571. ³ Tanimoto et al. (2003) Biochemistry 42, 2300.

H. Kandori : Spectroscopic studies of rhodopsin function