

# 1年ぶりの岡崎、3年ぶりの分子研

おくむら・ひさし

1998年慶應義塾大学工学部卒業、2002年同大学大学院理工学研究科博士課程修了、博士（理学）。東京大学工学系研究科日本学術振興会特別研究員(PD)、分子科学研究所助手、名古屋大学大学院理学研究科COE特任講師、ラトガース大学研究助手、同研究助教授を経て2009年5月より現職。



2009年5月1日付けで計算科学研究センターに着任しました。私は2002年10月から2006年3月まで理論分子科学研究系の岡本祐幸グループで助手を務めていました。その後岡本先生の異動にともなって2008年1月まで名古屋大学COE特任講師を務めました。名大に勤務していたときも岡崎のアパートから通っていたので1年3ヶ月ぶりに岡崎に、また分子研には3年1ヶ月ぶりに帰ってきたことになります。昨年、名大からアメリカのラトガース大学に異動したときには「次、日本に帰ってきたときにはどこの都道府県に行くことになるのだろうか？」と漠然と思っていました。まさかまた分子研に赴任することになるとは全く想像していませんでした。分子研の恵まれた環境で再び研究できることを幸せに感じています。またその機会を与えていただき中村宏樹所長はじめ多くの先生方に深く感謝いたします。

以前、分子研に在籍していたときの思い出はソフトボール大会とスキーです。ご存知の方も多いと思いますが、理論・計算分子科学研究領域で作るソフトボールチームは岡崎3研究所ソフトボール大会で優勝の常連です。といっても私は強いほうのチームには入れてもらえず、2軍のピッチャー（時には2軍の控えピッチャー）をしていました。

だいたい一回戦で敗退し1軍の応援に回るパターンが多いのですが、応援もそのあとの飲み会も楽しい思い出です。また冬には良くスキーに連れて行っていただきました。特に平田文男先生はスキーがお上手なのでよく教えていただきました。おかげで私もだいぶ上達しました。今後も分子研の方々ソフトボールやスキーができるのを楽しみにしています。

自分の研究室を持つというのは初めての経験なので、周りの先生方のアドバイスをいただきながら試行錯誤しているところです。2009年6月現在、私の研究室には私しかいません。いずれは私の研究室にも人が来てくれると思いますが、その人たちが私の研究室から転出するときには、私が以前分子研から転出したときに思ったように、「この研究室にいて良かったな」と思ってもらえるような研究室を作りたいと思っています。良かったと思ってもらえるには第一に良い成果がでることが重要ですが、研究とは苦勞せずに成果がでるものではありません。私の好きな言葉に「良く学び良く遊べ」があります。良く学び良く遊んで研究の苦勞と同じくらい多くの楽しい思い出もつくってほしいと思います。

私の専門は分子動力学シミュレーションです。特にタンパク質など生体

物質のシミュレーションをおこなっています。タンパク質には多くの自由エネルギー極小構造があります。このため通常の分子動力学シミュレーションではこれらの極小構造にトラップされてしまい、広い範囲の構造を探索できません。そこで生体分子の分子動力学シミュレーションをより効率的におこなう新しい手法を開発しています。現在興味ある研究テーマは以下のとおりです。

## ①マルチバーリック・マルチサーマル法の開発

温度や圧力を変えると分子の形は変わります。特に生体分子について温度や圧力を変えたときの構造の変化を理論的に研究することはこれまで困難でした。この問題を解決するためマルチバーリック・マルチサーマル法を提案しました（図1参照）。この方法を使うと生体分子の各構造のエンタルピー差や体積差を精度良く計算できます。エンタルピー差と体積差は各構造の存在確率がそれぞれ温度、圧力とともにどのように変化するかを示す重要な物理量です。これらの物理量を分子シミュレーションで求めたのは本研究が初めてです。この方法を用いることにより高温・高圧下での生命現象を理論的に解析できると考えています。

### ②部分的マルチカノニカル法の開発

これまで提案されてきたシミュレーション手法には大きな系に適用できないという問題がありました。この問題を解決するために部分的マルチカノニカル法を提案しました。この方法では重要なポテンシャルエネルギー項についてだけ広くサンプルするので大きな系にも適用しやすくなります。この手法をタンパク質の折りたたみシミュレーションに応用しようと考えています。

### ③剛体分子の定温シンプレクティブ分子動力学法の開発

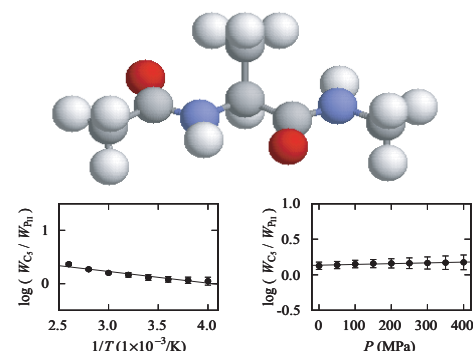
シンプレクティブ分子動力学法と総称される手法では長時間シミュレーションを実行してもハミルトニアンに誤差が生じません。カノニカルアンサンブル、定温定圧アンサンブルにおいて剛体分子のシンプレクティブ分子動力学シミュレーションをおこなう手

法を私は提案しました。この手法を用いると時間刻み幅を4 fsに設定した場合でもハミルトニアンはよく保存します。これは時間刻み幅を従来のアルゴリズムにおける値0.5-2 fsよりも長く設定でき、高速かつ安定にシミュレーションをおこなえることを示しています。この手法はタンパク質や水分子の分子動力学シミュレーションを高速化するために有効な手法です。

### ④独自の分子動力学シミュレーションプログラム (GEMB) の開発

私はこれまで独自にGeneralized-Ensemble Molecular Biophysics (GEMB) プログラムを開発してきました。このプログラムには以下の特徴があります。

- (1) 拡張アンサンブル分子動力学法により多くの構造を効率よく探索できる。
- (2) シンプレクティブ解法を採用



しているのでシミュレーションを安定に実行できる。

この2点を兼ね備えたプログラムにはありません。今後新たに開発した手法も本プログラムに実装し生体分子系に応用していきたいと考えています。

まだいたらぬ点が多いかと思いますが、今後とも皆様のご指導、ご鞭撻のほどよろしくお願いいたします。

## 赤外分光法によるタンパク質の構造・機能相関研究に魅せられて

ふるたに・ゆうじ

1999年京都大学理学部卒業、2001年同大学大学院理学研究科修士、2004年博士課程修了、博士(理学) 2003-2005年学術振興会特別研究員、2006-2008年名古屋工業大学大学院工学研究科助手、助教を経て、2009年3月より現職

趣味：分子科学研究の歴史を知ること(回想の水島研究室：科学昭和史の一断面)



2009年3月より分子研に赴任致しました。よろしくお願いいたします。これまでの経歴を簡単に説明します。京都大学大学院修士課程に在学中は、七田芳則教授の研究室において、視物質ロドプシンの二次元結晶化と電子線回折

法による立体構造解明を目指した研究(藤吉好則教授との共同研究)を行っていました。博士課程に進学後は、当時七田研究室に在籍されていた神取秀樹先生の指導のもと、光受容タンパク質ロドプシンの光エネルギー・情報変

換機構について赤外分光法を用いた研究を行ってきました。2001年に神取先生が名古屋工業大学に異動され、私も依託学生として指導を受けるべく、名古屋に引っ越しました。その後は日本学術振興会特別研究員、名古屋工業大

学の助手、助教を経て、現在に至ります。これまで一貫して、光受容タンパク質ロドプシンの研究を行ってきました。

### 光受容タンパク質ロドプシンについて

ロドプシンには、視覚ではたらく視物質ロドプシン（11-*cis*型レチナールを発色団とする）と古細菌から見つかった古細菌型ロドプシン（*all-trans*型レチナールを発色団とする）があり、両者とも7回膜貫通型ヘリックスを基本構造とし、類似点が多く見られるが、進化的にはまったく異なる起源から生じたと考えられています。前者は基本的には光を受けると退色し、新たに11-*cis*型レチナールを加えないと再生しないが、後者は光サイクル反応を示し、光反応後も元の状態に戻るために、実験的な取り扱いが比較的容易です。また、前者の試料は生体試料を元に精製を行うか、培養細胞を用いて強制発現させることで、試料を得る必要があります。特に培養細胞を用いた試料調製は、大腸菌での発現が可能な古細菌型ロドプシンに比べると多くの研究費と手間を必要とするが、得られるタンパク質量は極めて少量であるために物理化学的な計測をするには覚悟が必要となります。そのため、ロドプシンの光-エネルギー・情報変換機構に関わるプロトン移動やタンパク質間相互作用など機能発現をもたらす分子機構解明は、古細菌型ロドプシンを中心に研究が発展してきました。次に、私がこれまでにやってきた赤外分光法による古細菌型ロドプシンの分子機構解明に関する研究について概説します。

### 光駆動プロトンポンプ活性と内部結合水に関する研究

一般的にプロトンポンプ機構において、アスパラギン酸やグルタミン酸だけで

なく、タンパク質内部の水分子が重要な役割を果たしていることがよく指摘されています。私は、様々な古細菌型ロドプシンに対して網羅的な解析を行うことにより、強い水素結合を形成した水分子の存在と光駆動プロトンポンプ活性に相関が見られることを明らかにしました<sup>1)</sup>。また、2008年にはバクテリオロドプシンに対する時間分解赤外分光計測を行い、プロトンポンプ機能に関与する水分子のOH伸縮振動のダイナミクスを実時間で観測することに成功し、長年の謎であったM中間体形成時に観測される2000-1800 cm<sup>-1</sup>のコンティナムバンドがプロトン化水クラスターに由来することを明らかにしました<sup>2)</sup>。

### ファラオニスフォポロドプシンの光情報伝達機構に関する研究

古細菌の負の走光性に関与するファラオニスフォポロドプシン（ppR）に対して赤外分光計測を行い、その情報伝達機構に関わる構造変化を明らかにしてきました。光異性化直後に形成されるK中間体においてレチナールのC14位がThr204と立体障害を起こし、その結果、Thr204の水素結合がpHtrIIと複合体を形成しているときだけ変化することを明らかにしました<sup>4)</sup>。また、M中間体の形成に伴って、情報伝達タンパク質のAsn74の分子振動に変化が生じることを明らかにし、レチナールの光異性化からThr204の水素結合変化を経て、pHtrIIのAsn74へと伝わる情報伝達経路を明らかにしました。

### 今後の研究について

これまでに示したように、赤外差スペクトル法はロドプシンなどの光受容タンパク質では盛んに研究が行われ、その分子メカニズムの解明に大いに役立てられています。また、超分子にお

ける光化学反応においても、微細な構造変化を検出するのに有効です<sup>5)</sup>。しかしながら、光が関与しないタンパク質においては、その分子機構解明に十分に役立てられているとは言い難い状況にあります。最近、全反射赤外分光法により、光ではなく、イオン結合による赤外差スペクトルを計測することで、ppRの塩化物イオン結合に伴うアスパラギン酸のプロトン化を検出しました<sup>6)</sup>。この手法は、KcsAなどのイオンチャンネル、V型ATPaseなどのトランスポーターにも適用できる手法であり、現在、研究を進めています。今後、光受容タンパク質だけでなく、他の膜タンパク質についてもケージド化合物やストップフロー法を活用することでマイクロ秒程度の時間分解計測を目指し、X線結晶構造からは見えてこないタンパク質のダイナミックな分子実態に迫りたいと考えています。

### 最後に

X線および電子線結晶構造解析やNMR分光法は、タンパク質の構造をきれいな分子モデルとして示せるため、研究者だけでなく一般の人にも訴えかける強力な手法です。一方、振動分光法と総称される赤外分光法やラマン分光法は、1 Å以下の微細な構造変化も検出できる高精度な構造解析手法であるが、スペクトルをそのまま解析する必要があるため、一般の人のみならず研究者にも取っつきにくいものです。それでも、「分子からの手紙」とも言われるスペクトルから、タンパク質の機能発現に重要な構造変化を見いだしたときは、秘密の暗号を解読できたような楽しさがあります。最後に、ロドプシン研究に導いて頂いた七田芳則先生と、赤外分光法という魅力的な研究手法を教えて頂いた神取秀樹先生に感謝致します。



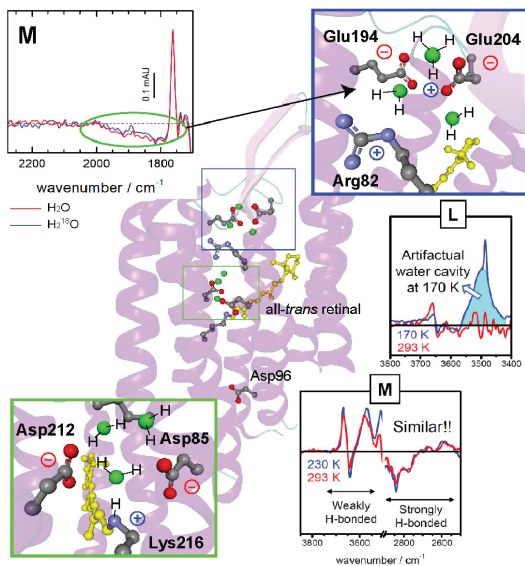
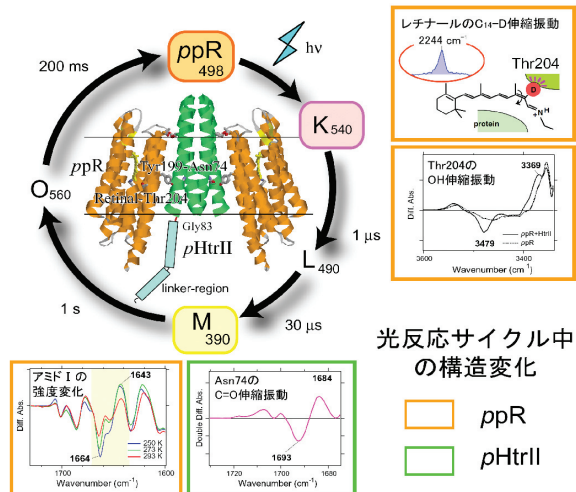
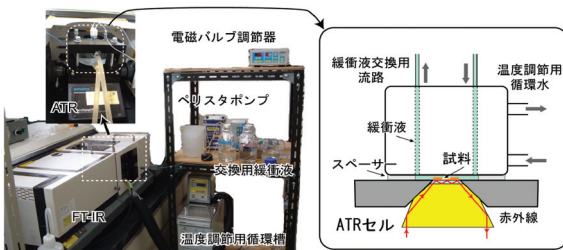


図1 バクテリオロドプシンの内部結合水と時間分解赤外差スペクトル

Glu194とGlu204の近傍にプロトン化水クラスターが存在し、M中間体形成時にプロトンを放出することを明らかにした。また、M中間体とは異なり、L中間体には、水分子のOH伸縮振動に温度効果が存在することを明らかにした。



光反応サイクル中の構造変化

ppR  
pHtrII

図2 ファラオニスフォボロドプシンの光情報伝達に関する赤外吸収スペクトル変化

ppRはpHtrIIと2:2の複合体を形成し、光を受容するとK, L, M, O中間体を経て元に戻る光反応サイクルを示す。これまでにKおよびM中間体において上記に示す構造変化を赤外分光法により明らかにした。

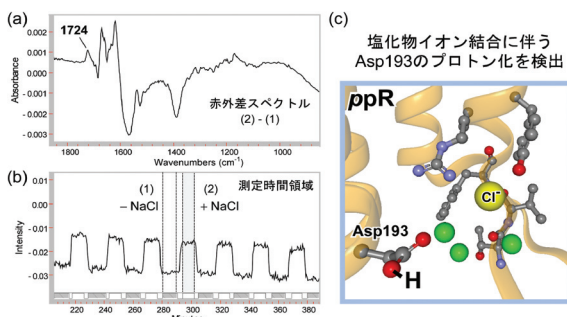


図3 全反射赤外分光法によるイオン結合誘起赤外差スペクトルの計測

ATR結晶の表面に膜タンパク質を吸着させ、組成の異なる緩衝液を交互に流すことで、イオン結合に由来する赤外吸収スペクトル変化を計測する。1724 cm<sup>-1</sup>のバンドはAsp193がCl<sup>-</sup>イオン結合に伴ってプロトン化したことを示す。

### 参考文献

- 1) Yuji Furutani, Mikihiro Shibata and Hideki Kandori, "Strongly Hydrogen-Bonded Water Molecules in the Schiff Base Region of Rhodopsins", *Photochemical & Photobiological Sciences* 4, 661-666, 2005.
- 2) Víctor A. Lórenz-Fonfría, Yuji Furutani and Hideki Kandori, "Active Internal Waters in the Bacteriorhodopsin Photocycle. A Comparative Study of the L and M Intermediates at Room and Cryogenic Temperatures by Infrared Spectroscopy", *Biochemistry* 47 (13), 4071-4081, 2008.
- 3) Motohiro Ito, Yuki Sudo, Yuji Furutani, Takashi Okitsu, Akimori Wada, Michio Homma, John L. Spudich, and Hideki Kandori, "Steric Constraint in the Primary Photoproduct of Sensory Rhodopsin II Is a Prerequisite for Light-Signal Transfer to HtrII", *Biochemistry* 47 (23), 6208-6215, 2008.
- 4) Yuji Furutani, Yuki Sudo, and Hideki Kandori, "FTIR Studies of Protein-Protein Interaction Changes between pharaonis Phoborhodopsin and its Cognate Transducer Protein", *Curr. Top. Biochem. Res.* in press.
- 5) Yuji Furutani, Hideki Kandori, Masaki Kawano, Koji Nakabayashi, Michio Yoshizawa and Makoto Fujita, "In situ Spectroscopic, Electrochemical, and Theoretical Studies on the Photoinduced Host-Guest Electron Transfer that Precedes Unusual Host-mediated Alkane Photooxidation", *J. Am. Chem. Soc.* 131 (13), 4764-4768, 2009.
- 6) Yuya Kitade, Yuji Furutani, Naoki Kamo and Hideki Kandori, "Proton release group of pharaonis phoborhodopsin revealed by ATR-FTIR spectroscopy", *Biochemistry* 48 (7), 1596-1603, 2009.