

## 業績紹介：データベース解析により得られた蛋白質極性原子周辺の水分子の空間分布

中迫雅由（慶應大・公募班 A03 研究代表者）

論文題目："Probability Distributions of Hydration Water Molecules around Polar Protein Atoms Obtained by a Database Analysis"

著者：Daisuke Matsuoka, and Masayoshi Nakasako

雑誌巻号：J. Phys. Chem. B, **113**, 11274-11292 (2009)

蛋白質がその機能を発揮するためには第 1 層程度の水和が必要であるという報告がこれまで数多くなされている。水分子は蛋白質分子と主に水素結合によって相互作用することから、第 1 層の水分子は蛋白質表面の極性原子周辺で水素結合に起因する特徴的分布を示すことが期待される。Protein Data Bank には多数の低温 X 線結晶構造モデルが登録されており、そこに含まれる膨大な水分子の座標データを用いて統計学的に信頼できる水分子の空間分布情報を得ることが可能である。そこで我々はデータベース解析により系統的に極性原子周辺の水分子の空間分布を調べた。

解析には、分解能 2.2 Å 以上、温度 150 K 以下で回折強度データ収集がなされ、その結晶学的 *R*-factor が 0.23 以下の蛋白質結晶構造モデル 17984 個を使用した。また、蛋白質極性原子（酸素・窒素原子）との距離が 2.4–3.4 Å の範囲にあり、*B*-factor が 45.0 Å<sup>2</sup> 未満の水分子を解析に用いた。水分子の分布は主鎖ペプチド鎖と 11 種類の親水性アミノ酸側鎖に対して調べた。得られた分布を定量的に解析するために各極性原子を中心とする極座標系を定義し、分布のピーク位置とその幅を評価した（図 1）。

得られた分布は N-H 結合、O-H 結合の方向ならびに C=O 基の孤立電子対の方向に分布極大を示した。さらに、水素供与基である N-H 基、O-H 基周辺では水分子は N-H 結合、O-H 結合方向に水分子が局在しているのに対し、水素受容基である C=O 基周辺では、水分子は C=O 結合の周囲に幅広く分布していた（図 1）。この結果は極性原子–水分子間相互作用に対して得られたものであるが、もしこの傾向が分子間相互作用でも保持されているならば、N-H 基、O-H 基の方が、C=O 基よりも結合相手の酸素原子位置をその水素結合方向に制限する能力に長けていることになる。

また水和水分子周辺の極性原子および水分子の空間分布について、水分子の標準的な相互作用形態である

正四面体配置を基準構造として解析を行った。その結果、蛋白質表面近傍でも水分子の標準的な正四面体配置が保たれていることが明らかとなった（図 2）。

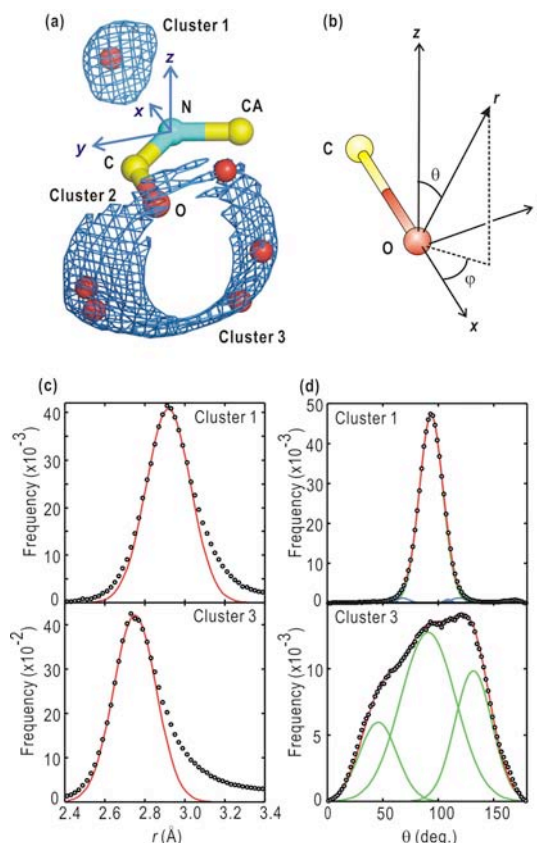


図 1. (a) 主鎖ペプチド結合周辺の水分子の分布。赤色の球は $\theta$ 分布のピーク位置を示す。  
(b) カルボニル基に対する極座標系の定義。  
(c, d) 距離分布、 $\theta$ 分布。緑色の線は主なガウス関数成分、赤色の線はガウス関数の総和を表す。

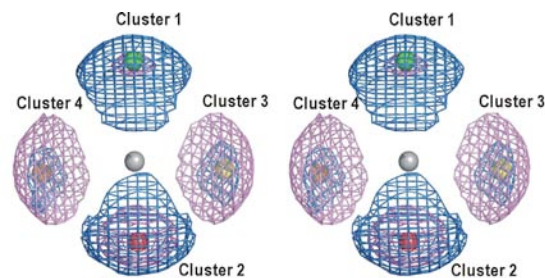


図 2. 水和水分子周辺の蛋白質極性原子および水分子の分布。青色・ピンク色のメッシュはそれぞれ極性原子、水分子の分布を示す。

## 業績紹介：センサーロドプシンと伝達タンパク質の全長複合体（10 年来的の夢）

須藤雄気（名大院理・公募研究代表者）  
井上圭一（東工大資源研・計画研究連携者）  
酒井誠（東工大資源研・計画研究分担者）  
藤井正明（東工大資源研・計画研究代表者）  
神取秀樹（名工大院工・総括班研究協力者）

論文題目："Characterization of a signaling complex composed of sensory rhodopsin I and its cognate transducer protein from the eubacterium *Salinibacter ruber*"

著者：Yuki Sudo, Akiko Okada, Daisuke Suzuki, Keiichi Inoue, Hiroki Irieda, Makoto Sakai, Masaaki Fujii, Yuji Furutani, Hideki Kandori, and Michio Homma

雑誌巻号：Biochemistry 48, 10136-10145 (2009)

微生物は、レチナルを発色団とするロドプシンタンパク質、青色受容体(SRII)と緑色受容体(SRI)により色を感知し、過酷な環境を生き抜く。SRII と SRI は2回膜貫通型タンパク質、HtrII、HtrI と膜中で複合体を形成し機能する(図1) [1]。光信号は、SRII(SRI)→HtrII(HtrI)と伝達され、HtrII(HtrI)→リン酸化(CheA/CheW)を経て伝わる。このように、① SRII(SRI) から HtrII(HtrI)、② HtrII(HtrI) から CheA/CheW、への2つの情報伝達の理解が重要である。

我々は、青色光受容体(SRII)と伝達タンパク質(HtrII)を中心に、色認識や信号伝達に関する原子レベルでの解析を行い、①SRII→HtrII に重要な構造変化やアミノ酸などを明らかにしてきた[2]。一方で、②HtrII(HtrI)から CheA

/CheW への伝達機構の解析は手付かずである。最大の理由は、上記研究のほとんど全てで、膜貫通部位のみを残した HtrII 欠失体(図1)を用いていることである。そのため、CheA/CheW への情報伝達に重要なドメインが含まれていない。およそ20年にわたって世界中で、HtrII(HtrI)全長の発現系構築が試みられてきたが、成功していなかった[私(須藤)の卒業研究以来の10数年も含む]。

最近、新たな SRI, HtrI を保持する微生物を探索し、不安定で解析の難しかった SRI の安定なホモログを *S. ruber* から単離し、SrSRI と名付けた[3]。これにより、種々の測定が可能となった[4, 5]。本研究では、HtrI 分子(SrHtrI)全長をクローニングし、SrSRI との融合タンパク質として発現を試みた。その結果、赤紫色タンパク質を得ることに成功し、種々の分光学的解析から、以下のことを明らかにした。

- (1) SrSRI 単体に比べて、13 nm 短波長シフトする。  
→ SrHtrI により、SrSRI の発色団近傍に構造変化
- (2) 全てのセンサー型ロドプシン同様に all-trans 型発色団
- (3) シッフ塩基の pKa が 0.6 ユニットアルカリ側へシフト  
→ 1)と同様に、SrHtrI による SrSRI の発色団近傍の構造変化を示唆。
- (4) 高速レーザー分光による K, M 中間体の反応解析(藤井グループ, 神取グループとの共同研究)

最近、CheA, CheW の大量発現系構築にも成功した(未発表)。今後、分子科学的解析を駆使しながら、HtrII(HtrI)→CheA/CheW の信号伝達機構について、分子科学的に迫りたいと考えている。*S. ruber*(細菌の一種)はなかなかいい奴である。

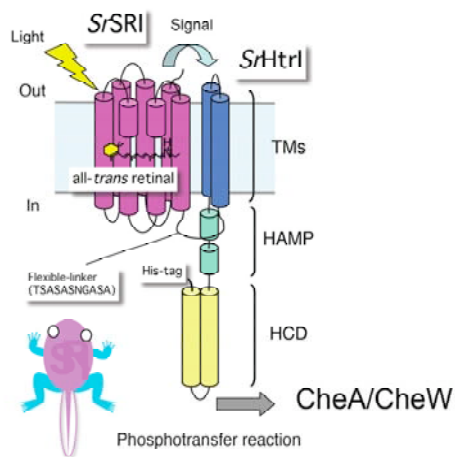


図 1. HtrI (HtrII) 全長の模式図

光情報伝達研究では、HtrII の膜貫通部位(TMs)のみを持つ欠失変異体が解析に用いられてきた。

### 引用文献

- [1] Y. Sudo, M. Iwamoto, K. Shimono, and N. Kamo, *Biophys. J.* **83**, 427-432. (2002)
- [2] Y. Sudo and J.L. Spudich, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **103**, 16129-16134. (2006)
- [3] T. Kitajima-Ihara, Y. Furutani, D. Suzuki, K. Ihara, H. Kandori, M. Homma, and Y. Sudo, *J. Biol. Chem.* **283**, 23533-23541. (2008)
- [4] D. Suzuki, Y. Sudo, Y. Furuani, H. Takahashi, M. Homma, and H. Kandori, *Biochemistry* **47**, 12750-12759. (2008)
- [5] D. Suzuki, Y. Furutani, K. Inoue, T. Kikukawa, M. Sakai, M. Fujii, H. Kandori, M. Homma, and Y. Sudo, *J. Mol. Biol.* **392**, 48-62. (2009)

## 本領域の学術論文が Philip Ball 博士の Blog で紹介される

中迫雅由（慶應大・公募班 A03 研究代表者）

本ニュースレターで紹介した松岳一 中迫の論文が、イギリスの Philip Ball 博士の Blog で紹介されました。

Philip Ball 博士は、1962 年生まれで、オックスフォード大学で化学を学び、ブリストル大学にて物理学の博士号を取得したイギリスのサイエンス・ライターです

([http://en.wikipedia.org/wiki/Philip\\_Ball](http://en.wikipedia.org/wiki/Philip_Ball))。ただ、通常のサイエンス・ライターと異なるのは、数年前まで約10年間、かの *Nature* 誌の Editor を務めていた点です。

Ball 博士は、様々な分野に興味があり、本を沢山書いています (<http://www.philipball.com/>)。本の中には和訳されたものもあり、本領域ととても関係の深い物質である水については、

*H<sub>2</sub>O: A Biography of Water* (1999), ISBN 0-297-64314-2 (published in the U.S. as *Life's Matrix*)

が有名です。もとの英語版は、たとえば、ヒースロー空港の本屋さんでも手に入ります(日本語訳は“水の伝記”荒木文枝訳、Newton Press です。)。その他に、

*Designing the Molecular World: Chemistry at the Frontier* (1994), ISBN 0-691-00058-1  
*The Self-made Tapestry: Pattern Formation in Nature* (1999), ISBN 0-19-850244-3

などがあります。勿論、英文は平易ですが格調高く、*Nature* 誌への寄稿文は信州大学の医学部英語入試問題に採用されておりますので、ご一読をお勧めします。

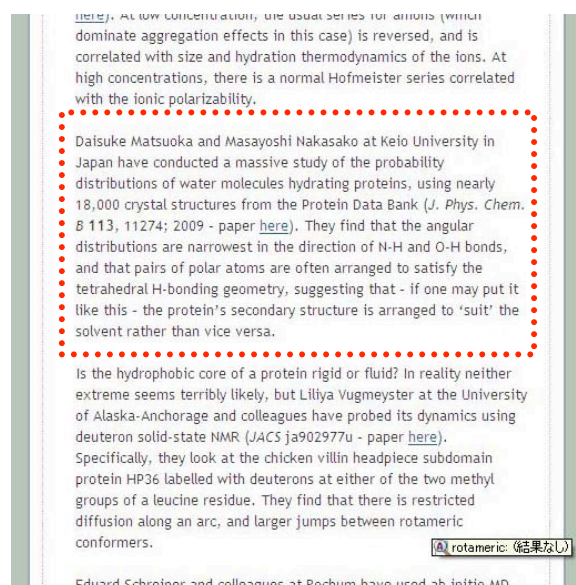
水に関しては、特段に関心があるようで、*Nature* 誌が、一時期、水の論文をよく掲載していたのは彼の差配によるようです。また、あるときは水関連の学会に座長として登場したり(2003年12月に開催された英国王立協会での Discussion Meeting “The molecular basis of life: is life possible without water?”や2005年6月の水に関する Gordon 会議)、学術雑誌に水に関するエッセイ風の論文を載せたりします(“Life’s matrix: water in the cell” (2001) *Cellular and Molecular Biology*, Vol.47, No.5, 717-720)。

さて、今回、松岳一 中迫の論文が取り上げられたのは、博覧の Ball 氏が綴る “Waters in Biology” と題した Blog で、だいたい毎月末に更新されるようです。内容はその前1か月間に、Ball 博士が興味のある論文などについてす

評を掲げます。寸評ですが、かなりの確にまとめられていて、主張したい事柄をより native な英語で表現してもらっている様に思いました。紹介している各論文については、paper - here と学術雑誌サイトへのリンクが張られています。大学・研究機関からですと、容易に論文にアクセスできて便利です。気のせいかもしれませんが、読んで科学雑誌に偏りがあるようで、*Nature* より *Proceedings of National Academy of Science U.S.A.* や *Journal of Physical Chemistry* が多いように思えます。



”Waters in Biology“のトップ画面  
(<http://waterinbiology.blogspot.com/>)



論文の紹介例 (松岳一 中迫の論文)

この blog は、情報発信のアンテナとして班員にも役立つのではないかと考え、機会を捉えて紹介させていただいた次第です。