

1 運動マシナリー・ディスカッション 領域代表から質問と領域メンバーによる議論

2 以下は、2012年7月から2017年3月にかけて行われた文科省科研費・新学術領域「運動超分子マシナリー  
3 が織りなす調和と多様性」において、メーリングリストや facebook で行われた議論を記録したものです。多くの  
4 場合、領域代表の宮田真人(大阪市立大学)からの質問に領域関係者が答えるという形になっています。

5 ---

## 6 【べん毛モーター固定子は回転対称体！】20141016

7 Q. 宮田

8 バクテリアのべん毛モーターの回転子は固定子との間で発生する力により回転します。回転子と相互作用する  
9 はずの"MotA"は4回転対称に並んでいるとのこと。

10 [http://www.frontiersin.org/files/Articles/70507/fmicb-04-00410-HTML/image\\_m/fmicb-04-00410-g001.jpg](http://www.frontiersin.org/files/Articles/70507/fmicb-04-00410-HTML/image_m/fmicb-04-00410-g001.jpg)

11

12 回転子は弧を描く動きをしている上に、固定子との相互作用は時計回りと反時計回りで異なるはず。その  
13 ため、固定子は、モータータンパク質がレールに接する時の様に、進行方向に対して極性を持った構造である  
14 方が機能しやすいように思えます。

15 回転対称である MotA は実際にはどのように機能していて、回転対称体である利点は何でしょう？

16

17 回転の出力特性は CCW と CW とで差はありますか？

18 MotB も含めれば固定子は2回転対称ということですね。それでも MotA が4分子存在するのはバックアップの  
19 ためですか？

20 どなたかにご教授いただければ幸いです。

21

22 A. 南野 徹(大阪大学大学院生命機能研究科)

23 10000 分の 4 秒間隔で撮影可能な高速カメラでサルモネラのべん毛モーターの回転動作を解析した結果、反  
24 時計回りと時計回りの双方向でステップの幅が 14°で同じであることが明らかとなりました。この結果は、固定  
25 子蛋白質 MotA と回転子蛋白質 FliG の相互作用が両方向に対称であることを意味します。MotA/B 固定子複  
26 合体がペプチドグリカン層に固定されていることを考慮すると、MotA の相対位置が FliG に対して大きく変化す  
27 るとは考えにくいです。そこで、我々は、回転方向に非対称な構造を持つ FliG の一部がギアを切り替えるよう  
28 に 180°反転することで、双方向に対称なモーターのステップ動作を可能しているというモデルを提案しました

29 Kazuhiro Nakamura, Shaun F. Morrison (2010)

30 A thermosensory pathway mediating heat-defense responses. **PNAS**. 107 (19) 8848-8853.

31 doi:10.1073/pnas.0913358107

32 <https://www.pnas.org/content/107/19/8848>

33 このモデルでは、固定子複合体が 2 回対称構造であることから、固定子複合体において FliG と相互作用でき  
34 る分子表面は 2 カ所あることとなります。したがって、一方の分子表面が CCW 方向の回転子と、もう一方が  
35 CW 方向の回転子と相互作用する可能性が考えられます。

36 本研究成果は、現在東北大学工学研究科助教の中村修一さんが、大阪大学大学院生命機能研究科の難波  
37 研究室で行ったものです。

38 Shuichi Nakamura, Nobunori Kami-ike, Jun-ichi P. Yokota, Tohru Minamino, Keiichi Namba. (2010)

39 Evidence for symmetry in the elementary process of bidirectional torque generation by the bacterial  
40 flagellar motor. **PNAS**. 107 (41) 17616-17620. doi:10.1073/pnas.1007448107.

41 <http://www.pnas.org/content/107/41/17616.long>

42 MotB を含めれば2回対称ということです。宮田領域で購入して頂いた高速カメラを用いて回転の素過程をきち  
43 んと計測できれば(サブステップなどが観測されれば)、MotA のストイキオメリーの意味が明らかになると考  
44 えています。

45 バーグさんのグループがCCW方向とCW方向とでべん毛モーターのトルク特性は異なることを示しています。

46 Junhua Yuan, Karen A. Fahrner, Linda Turner, Howard C. Berg. (2010)

47 Asymmetry in the clockwise and counterclockwise rotation of the bacterial flagellar motor. **PNAS**. 107  
48 (29) 12846-12849. doi:10.1073/pnas.1007333107.

49 <http://www.pnas.org/content/107/29/12846.long>

50

51 Q. 宮田

52 南野さん, わかりやすいお答えをありがとうございました.

53 もう一つの以前からの疑問ですが, プロトン駆動のバクテリアべん毛モーターでは H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>でも e<sup>-</sup>でもなく, H<sup>+</sup>が  
54 実際に流れていると考えられていますか?もしそうだとすると, 直接の証拠は何でしょう?「Na<sup>+</sup>駆動のものが  
55 あるから」は'直接'の証拠ではありません. べん毛研究の初期に議論されていそうですが私は知りません.

56

57 A. 神取秀樹(名古屋工業大学大学院工学研究科)

58 H<sup>+</sup>か H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>か(OH<sup>-</sup>か)e<sup>-</sup>か、と問われると、コメントしないわけにはいきません。

59 いちばんよくわかっているバクテリオロドプシンの研究者として BR についてコメントしますが、私もべん毛モ  
60 ターの研究者がどんなことを考えておられるか、たいへん興味があります。

61 まず BR についてわかっていること。

62 -----

63 膜内4か所の結合基を経由する5回の「プロトン」移動により外向き「プロトン」輸送が実現します。

64 これが教科書的記述ですが、それが H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>ではなくて H<sup>+</sup>である、というのは厳密には確定していません(BR  
65 ですら! )。

66 しかしながら、H<sup>+</sup>と比較してよほど重い H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>が実際に動くよりは、水素結合ネットワークを H<sup>+</sup>が玉突き的に  
67 動く(=グロッタス機構)方が、より起こりやすい(energetically preferable)と多くの BR 研究者は考えています  
68 し、中間体の立体構造による経路の「狭さ」もそれをサポートしています。

69 一方、宮田さんの問いの中にはありませんでしたが、OH<sup>-</sup>説という魅力的な説もあります。これは BR は外向き  
70 プロトン輸送ではなく、内向き OH<sup>-</sup>輸送である、という説です。2000 年頃に提案されたこの説も、実は未だに否  
71 定されていません。

72 pH 電極で測っても、膜電位で測っても、外向きの H<sup>+</sup>輸送と内向きの OH<sup>-</sup>輸送は同じような信号を出します。  
73 両者の唯一の違いは水が1個分動くわけで、アクアポリンの最初の実験のように細胞の容積変化が観測でき  
74 ればそれが直接的な証拠になりえますが、チャンネルではなくポンプなのでなかなか難しくそのような実験の報  
75 告はありません。

76 多くの BR 研究者は、先ほどの H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>の議論と同じで、H<sup>+</sup>より重い OH<sup>-</sup>が動くよりは、水素結合ネットワークを  
77 H<sup>+</sup>が玉突き的に動く(=グロッタス機構)方が、より起こりやすいと考えています。

78 一方、e<sup>-</sup>は否定できます。pH 電極で H<sup>+</sup>の濃度変化が現れたとき、OH<sup>-</sup>であれば(化学的に安定な)水分子が  
79 動けば説明できますが、e<sup>-</sup>であれば反対方向に水素原子(!)が動かないと等価になりません。

80 従って BR の場合、中間体の遷移過程において、e<sup>-</sup>は動かない。H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>は否定されないし、逆向きの OH<sup>-</sup>も否

81 定されないが、グロッタス機構で H+が動くと考えるのが現実的、ということになります。

82 -----

83 以上の記述は多くの場合、プロトン駆動べん毛モーターにも当てはまるかもしれません。

84 H3O+や(逆向きに)OH-が動いていく、というモデルも面白いですが、水分子が入り込むか、アミノ酸の側鎖を  
85 使って水素結合ネットワークを形成できれば、グロッタス機構を考えるのが自然のように思えます。

86

87 一方、光でプロトンの動きをつくりだす BR と違って、べん毛モーターの最大の不思議さは、プロトンやナトリウ  
88 ムイオンの流れが回転運動へとつながるところであり、これがいつも本間さんと議論するところになります。

89 H3O+や OH-ならではの回転運動をつくる機構があったとしたら面白いですね。

90 以上、何かのきっかけになれば幸いです。

91

92 Q. 宮田

93 BR の場合は、構造の情報がひとつの決め手になっているということですね。

94 私の記憶は不確かですが、BR でもプロトンではないものがありますね。その場合には大きさはむしろ H3O+の  
95 方が近いではありませんか？

96

97 A. 小嶋誠司(名古屋大学大学院理学研究科)

98 H3O+が流れているか H+なのか、正直に言ってわかっていないように思います。今度 BLAST に David (Blair)  
99 も来るそうなので、話をしてみます。

100 D2O ではモーターの回転が遅くなっているの、何かヒントになるのなと思っています。

101

102 A. 朱 世偉(名古屋大学大学院理学研究科)

103 今年 Gordon Conference (proton&pump) で確かに多くの発表者(Chicago University と Italia )が proton  
104 pump の場合には H3O+の話をしゃべったと記憶がありました。Proton は水がなければただ単に流れとか物  
105 理的に不可能だと聞きました。また proton が7個(8か)水分子で形成された不安定な水網で jump する話を  
106 じめて聞いてびっくりしました。

107 さらに、Chicago 大学のあるグループは石炭ナノ管で proton を固定されることにより、水分子が流れる  
108 simulation 結果も発表しました。おそらく、べん毛モーターで H3O+が細胞内に流れていくのではないかと予想  
109 します。

110

111 A. 難波啓一(大阪大学大学院生命機能研究科)

112 べん毛モーターでは、固定子のプロトンチャンネルに存在すると思われる固定子タンパク質 MotB の Asp33  
113 (サルモネラの場合)が Glu に変異すると最大回転速度が 300Hz から 30Hz 程度にまで下がり、Asn では回  
114 転しなくなることから、Asp33 への H+の結合解離が固定子と回転子の結合解離と共役していると考えられてい  
115 ます。おそらくこれが、H+が流れているであろうと考えられる唯一の手掛かりではないかと思えます。

116 固定子の立体構造がまだわからないので何とも言えませんが、BR のように H+の移動経路で多くのアミノ酸を  
117 リレーしている感じではないので、Asp33 に結合解離する前後の経路では、H3O+か(H2O)2H+かの形で移動  
118 していると考えてよいように思えます。

119 補足です。

120 昨夜は「Asp33 に結合解離する前後の経路では、H3O+か(H2O)2H+かの形で移動と書きましたが、水分子が

121 相互に水素結合しているかぎり、プロトンは水素結合のネットワークをリレーして動くグロータス (Grotthus) 機構  
122 で高速移動すると考えてよいと思います。

123

124 宮田

125 通り道に H<sub>2</sub>O が並んでいて、そこに H<sup>+</sup>がつきながらリレーされていくイメージでしょうか？そして途中にある  
126 Asp33 には側鎖に直接結合するのですね。皆さんから予想しなかったお答えをいただきました。聞いてみるも  
127 のです。ありがとうございます。

128

129 A. 本間道夫 (名古屋大学大学院理学研究科)

130 イオン透過の問題は、ナトリウムイオンとプロトンが同じように、べん毛モーター複合体の MotAB または  
131 PomAB を通過できるということから、最も興味をもって研究しているところです。

132 どのようにプロトンとナトリウムが識別されているかという点も興味深いです。しかし、どちらも、今回の皆さんが  
133 議論しているように良くわかりません。直接的なデータは、神取先生との共同でおこなった FTIR で、たしかに、  
134 PomB の Asp にナトリウムイオンが結合して移動しているのだらうということです。そういう意味では、MotAB も  
135 H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>で動いていると推測しています。運動するために、大きな構造変化を必要としていると推測しています。し  
136 たがった、単なる電荷が動くより、H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>が動くのではないかと想像しています。

137 どこかで、このテーマでシンポジウムをやって、いろいろな分野の人を集めて、議論したいですね。

138

139 A. 神取秀樹 (名古屋工業大学大学院工学研究科)

140 難波先生、ありがとうございます。

141 チャネル部分のプロトンの流れはコンセンサスが取れたとして、Asp33 のプロトン化状態 (=pK<sub>a</sub> of D33) に対  
142 するコンセンサスはどのようになっていますでしょうか？

143 ふつうに考えると、疎水的な膜内に存在する Asp33 は (最安定状態で) プロトン化している (pK<sub>a</sub> > 7) べきだと  
144 思えますが、だとすると外からプロトンが流れ込んで来る前に内側にプロトンを叩き出さないといけません。

145 一方、以下の記述 (Asp33 に結合解離する) によれば Asp33 はプロトン化していない (pK<sub>a</sub> < 7) ようにも思えま  
146 す。だとすると、安定化させる正電荷があるべきですね。

147 BR の場合はレチナールの異性化がプロトン化の向きを決めるので方向性の規定がわかりやすいですが (   
148 それでもメカニズムは複雑...)、べん毛モーターの研究者が Asp33 を介したプロトンのリレーと回転との共役  
149 をどのように考えているのか、引き続きたいへん興味があります。

150 このあたりはべん毛モーター研究者の常識かもしれませんが、私も本間さんと1つ論文を出しているので本来、  
151 知っているべき事実かもしれませんが、これを読む学生さんの参考にもなるでしょうし、よろしければ引き続きご  
152 教授いただけますと幸いです。

153

154 A. 小嶋誠司 (名古屋大学大学院理学研究科)

155 神取先生

156 in vivo で D32@E. coli (D33@Salmonella, D24@Vibrio) がどのようなイオン化状況なのかは、実験も議論も  
157 進んでいないように思います。Blair lab で D32 の変異体を解析していますが、私の仕事では proton 化してい  
158 る場合 (とはいっても、Asp->Asn の変異体での話)、D32N 変異体のトリプシン感受性の違いから固定子のう  
159 ち、A subunit の細胞質側の構造が変化するという仮説を立てていて、今のところある程度受け入れられてい  
160 と思っています。異論もあり、まだ確立していません。

161 Seiji Kojima, David F. Blair (2001)  
162 Conformational change in the stator of the bacterial flagellar motor. **Biochemistry**. 40(43):13041-50. doi:  
163 10.1021/bi011263o.

164 <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/bi011263o>

165 当時 David とは、A subunit の非常に良く保存された Pro(Pro173, Pro222)がヒンジのように働き、D32 の  
166 proton 化に伴い、周辺環境の変化がヒンジより細胞質側の power stroke のような動きを誘発し、  
167 それがトルク発生を起こすのではないかと議論していました。詳細を明らかにするには結局構造や in vitro の  
168 実験系が必要だと思っています。

169

170 A. 難波啓一(大阪大学大学院生命機能研究科)

171 神取さん

172 小嶋さんの言うとおり、Asp33 のイオン化状態についてはなにもわかっていません。MotAB や PomAB などの  
173 固定子複合体の構造が未解明のためチャンネルの中に並んでいるアミノ酸残基も不明です。

174 H+チャンネルなのでそれほど疎水的な環境ではないと思いますが Asp33 のすぐそばに Pro173 が存在すること  
175 は、ダブル Cys 変異体の SS 架橋実験などでわかっているため、Asp33 の pKa が普通より高い可能性はあり  
176 ます。

177 固定子 MotAB と回転子 FliG の結合解離がこの MotB の Asp33 への H+の結合解離と共役して起こるとする  
178 と、Asp33 が大半の時間プロトン化しているなら、例えば下記のようなトルク発生機構を考えることもできます。  
179 あくまでも私の妄想ですからご注意願います。

180 1. 固定子と回転子の結合の際に固定子が構造変化を起こして Asp33 からプロトンが解離し、チャンネル内の構  
181 造的非対称性により解離したプロトンは細胞内にリリースされる。

182 2. 細胞外から供給されるプロトンが Asp33 に結合すると固定子と回転子の複合体にトルク発生に関わる構造  
183 変化が起こり、回転子はステップ的に回転し、そののち固定子と回転子は解離する。

184 モーターの連続回転はこの繰り返しで起こりますが、Asp33 への H+の結合解離が上記のどちらの過程に共役  
185 するかは固定子の構造とその変化次第なので、逆のケースも十分に考えられます。

186 とにかく、固定子や回転子の立体構造とトルク発生に関わるその変化を解明することが必要です。

187

188 A. 神取秀樹(名古屋工業大学大学院工学研究科)

189 難波先生

190 小嶋先生

191 皆さま

192 いろいろと教えていただき、ありがとうございました。

193 特に難波先生の「妄想」は、いいですね。

194 これを読んで、(私も含めた)若い人がそれを証明するか、その反証を出す駆動力になるので、それだけでも宮  
195 田さんが投げかけられた問いの目的が果たされると思います。

196 固定子に存在する Asp33 の pKa が回転子との相互作用依存的に変化する結果、イオン輸送の方向性が  
197 回転の方向性に転換される、という描像は、(妄想というよりは)真実でしょう。どう証明するかは問題ですが...

198 2つのタンパク質の相互作用が重要な Asp の pKa を変化させるという図式はロドプシンでも起こります。

199 センサーロドプシン I (SRI)というタンパク質は、大腸菌 chemotaxis センサーと類似の HtrI というタンパク  
200 質に情報を伝達します。両者は光反応前から膜内で複合体を形成していますが、レチナールの正電荷を安定

201 化する Asp76 の pKa は Htrl がないと 7.2、Htrl と複合体を形成すると 8.5 です。  
202 BR の場合、同じ位置の Asp の pKa は 2.2 であり、常に負電荷をもつことはプロトンポンプにおけるレチ  
203 ナールからのプロトンのアクセプター(光反応の中で過渡的に pKa が上昇する)としてはたらく上できわめて  
204 重要です。

205 SRI では pH ユニットで1程度の変化ですが、複合体を形成すると Asp76 はほとんどプロトン化する結果、  
206 レチナールからのプロトンは逆の方向に流れることになり、これが走光性をもたらす構造変化につながります。  
207 残念ながら SRI-Htrl の構造は得られていませんが、Htrl と相互作用するのは SRI の7番目のヘリックスで  
208 あり、これは Asp76 がある3番目のヘリックスの向かい側です。タンパク質間の2つのヘリックスの相互作用  
209 が、第7と第3ヘリックスで構成する水素結合ネットワークに影響を与えて Asp76 の pKa が変化すると思わ  
210 れます。

211 べん毛モーターの場合、回転子と MotA が相互作用して、向かい側にある MotB の Asp33 の pKa を動  
212 かす、という意味では似た部分を感じました。ただしプロトン輸送の方向性(reprotonation switch)と共役してい  
213 ますので、もっと大きな変化かもしれません。このときプロリンが上手に使われているのかもしれませんがね。

214

215 A. 島袋勝弥(宇部工業高等専門学校物質工学科)

216 興味深いディスカッションを聞くことができ大変参考になります。私も、元 FoF1 の研究者としてプロトン透過機  
217 構に一言発言できると良いのですが、勉強不足のためお話についていくのが精一杯です。

218 本題からはずれませんが、ここまで盛り上がった議論を ML だけにとどめておくのはもったいないような気がしま  
219 す。報告記のような形で、運動マシナリーの Web にまとめられるといいのではと感じます。

220

221 **【生体運動の共通原理はクーロン力！？】 20141024**

222 Q. 宮田

223 最近、ケミストリーの先生方と接する機会があって、“分子マシン”を研究されている方々に“生体運動”をわかり  
224 やすく説明する短文を考えてほしいと言われて、以下の文を考えました。[カッコで囲んだ部分]について周囲の  
225 方々にご意見をうかがったところ、タイトルのようなご意見をいただきました。改めて皆さまのお考えをいただけ  
226 ばさいわいです。

227 **【生体分子マシン】**

228 生物は自身の移動と、輸送のためにタンパク質や核酸で出来た“生体”分子マシンを使っている。生体分子マシ  
229 ンはその目的と状況に適応するように様々な構造とメカニズムに進化しており、生物学では異なった構造を持  
230 つシステムは別のメカニズムであると理解される。しかし、生体分子マシンは直接のエネルギー源によって二つ  
231 に分けることができる。一つはすなわち、脂質二重膜の両側に形成された電位差によって生じるイオンの移動  
232 によるもの、もう一つは ATP や GTP などのヌクレオチドの加水分解のエネルギーを利用するものである。さら  
233 にこれらのメカニズムを詳細に見ると、[電荷の変化、すなわちクーロン力を原動力とし、その力を基にナノメ  
234 トルオーダーでデザインされた構造に極めて効率的に動きを誘発していることが見てとれる。]

235 吉田賢右先生に、Fo の回転について口頭でうかがったところ、「クーロン力よりも保存されたカルボキシル基  
236 にプロトンが結合することにより、膜の中に入って行けることが重要である」とのコメントをいただきました。  
237 よろしく申し上げます。

238

239 A. 上田太郎(早稲田大学先進理工学部)

240 鈴木さんの新学術「水を主役とした ATP エネルギー変換」では、水和水の変化やそれに伴うエントロピー変化  
241 に光を当てていました。結局僕には物理の素養がなく、領域の中にながらそうした議論を完全にはフォロー  
242 できていませんでしたが、ATP 駆動型の運動はクーロン力というのはちょっと違うと思います。

243 少しレベルが違うかもしれませんが、アクチンとミオシンの結合は主に疎水性相互作用で、ATP エネルギーは、  
244 ライガー結合の疎水性相互作用を引きはがすのに使われるといわれています。引きはがすためにはミオシン  
245 モーターが構造変化する必要があり、そのプロセスでクーロン力も大きな働きをすることは間違いありませんけ  
246 れども。

247 その辺の議論は、高野さんか若林(父)にお尋ねになられるともっとはっきりすると思います。

248 あまりお役に立てなくてどうもすみません。

249

250 A. 伊藤政博(東洋大学生命科学部)

251 べん毛は、固定子 MotAB の 3 番目と 4 番目の膜貫通領域の間を結ぶ部分に親水性のループに存在する荷  
252 電アミノ酸と回転子側の FliG の C 末端側の荷電アミノ酸残基の間で静電的相互作用(クーロン力)により回転  
253 していると提唱されています。

254 それぞれの論文で重要であるといっている関係を示している概略図(大腸菌、Vibrio 属細菌、枯草菌)を添付し  
255 ました。

256

257 (大腸菌の場合)

258 Jiadong Zhou, Scott A. Lloyd, David F. Blair (1998)

259 Electrostatic interactions between rotor and stator in  
260 the bacterial flagellar motor. **PNAS**. 95 (11) 6436-6441.

261 doi:10.1073/pnas.95.11.6436.

262 <https://www.pnas.org/content/95/11/6436>

263

264 (難波研の森本君が出している論文は、Blairたちが主張し  
265 た荷電アミノ酸残基の一部は、モーターの回転というよりも  
266 固定子がモーターに取り込まれるのに重要だと報告してい  
267 ます。)

268 Yusuke V Morimoto 1, Shuichi Nakamura, Nobunori

269 Kami-ike, Keiichi Namba, Tohru Minamino (2010)

270 Charged residues in the cytoplasmic loop of MotA are  
271 required for stator assembly into the bacterial

272 flagellar motor. **Mol. Microbiol.** 78(5):1117-29. doi:  
273 10.1111/j.1365-2958.2010.07391.x.

274 <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2958.2010.07391.x>

275 Yusuke V. Morimoto, Shuichi Nakamura, Koichi D. Hiraoka, Keiichi Namba, Tohru Minamino (2013)

276 Distinct roles of highly conserved charged residues at the MotA-FliG interface in bacterial flagellar motor  
277 rotation. **J. Bacteriol.** 195(3):474-81. doi: 10.1128/JB.01971-12.

278 <https://jb.asm.org/content/195/3/474.long>

279

280 (本間研の竹川君の Vibrio 属細菌の論文、2014 年にこの論文が出るまで、本間研では、Vibrio 属細菌の極べ  
281 ん毛 PomAB と FliG との静電的相互作用は、見られていませんでした。しかし、竹川君の論文で Vibrio 属細  
282 菌の場合、多数の荷電アミノ酸残基が回転に必要なではあるが静電的相互作用でべん毛が回転していると結論  
283 付けています。)

284 Norihiro Takekawa, Seiji Kojima, Michio Homma (2014)

285 Contribution of many charged residues at the stator-rotor interface of the Na<sup>+</sup>-driven flagellar motor to  
286 torque generation in Vibrio alginolyticus. **J. Bacteriol.** 196(7):1377-85. doi: 10.1128/JB.01392-13.

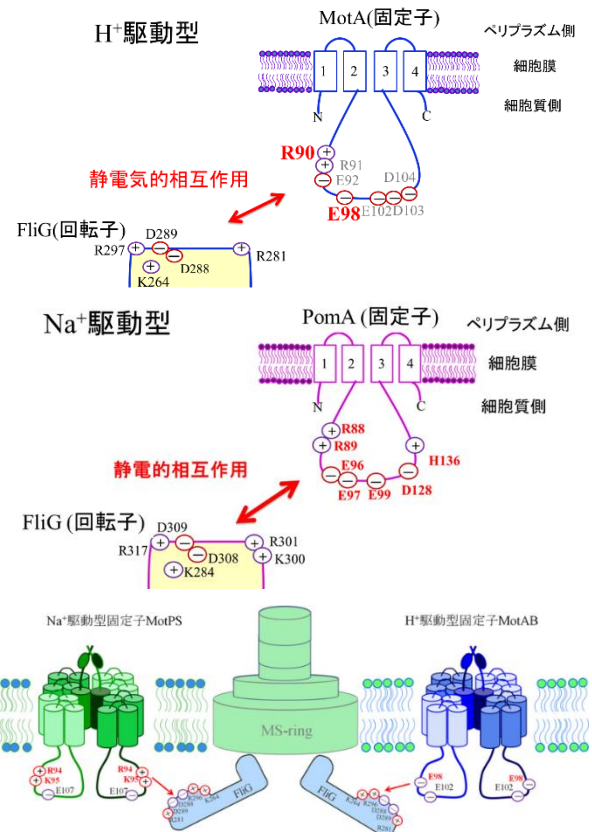
287 <https://jb.asm.org/content/196/7/1377>

288

289 (伊藤研、高橋さんの論文 2014 年 4 月にアクセプト、グラム陽性細菌の枯草菌は、1 つの FliG に対して 2 種  
290 類の固定子 H<sup>+</sup>型 MotAB と Na<sup>+</sup>型 MotPS を持つ。静電的相互作用で駆動するか変異実験を行った結果、大  
291 腸菌のモーターと近いデータが得られた。すなわち、少ない荷電アミノ酸残基で静電相互作用しているという結  
292 果です。)

293 Yuka Takahashi, Masahiro Ito (2014)

294 Mutational analysis of charged residues in the cytoplasmic loops of MotA and MotP in the Bacillus subtilis  
295 flagellar motor. **J. Biochemistry.** 156(4):211-20. doi: 10.1093/jb/mvu030.





296 <https://academic.oup.com/jb/article-abstract/156/4/211/2726278?redirectedFrom=fulltext>

297

298 A. 南野 徹(大阪大学大学院生命機能研究科)

299 固定子がクーロン力で動かされるとはどういう意味でしょうか？固定子のコンポーネントがイオン流に共役して  
300 動くというような証拠はいまのところありません。ヘリックスの相対位置の変化により擬似的に回転し、その結  
301 果べん毛モーターが回転するのではないかとするモデルが 10 数年前にシュミットさんにより提案されています。  
302 固定子と回転子との間の静電相互作用がべん毛モーターの力発生に重要であると考えられていますが、最近  
303 の解析から、この相互作用は固定子が回転子の周りにきちんと配置されるため、さらにイオンの流れと力発生  
304 のエネルギー共役効率を高めるために必要であることが解ってきました。さらに本間さんや伊藤さんのグルー  
305 プからはビブリオや枯草菌の固定子と回転子との間の静電相互作用は大腸菌やサルモネラに比べてさらに複雑  
306 であることもわかりましたが、実際にどのようにしてイオンの流れに共役して力が発生するのかはわかりません。

307

308 A. 本間道夫(名古屋大学大学院理学研究科)

309 イオンがカルボキシル基について動くのは、タンパク質のコンフォーメーションを変化させていると考えているの  
310 でクーロン力であるかは全く不明です。べん毛では、固定子と回転子間での静電相互作用(クーロン力)と考え  
311 ているのですが、本当に何が運動エネルギーに変換しているかは分かりません。F型ATPase では膜を横切る  
312 イオンのプラスとマイナス電荷の回転にともなうまい切り替え(マブチモーターの磁気の切り替えのような)が  
313 回転力を作っていると考えていると思います。そのため、古い教科書ではべん毛も同じような機構で動いている  
314 モデルが紹介されているものがありました。アクチン-ミオシンの本質的な相互作用の力についてもよく分かりま  
315 せんが、タンパク質間の非常に保存された複雑な相互作用力によって作られていると私は考えています。その  
316 相互作用の本質を解きたい為にその一歩として固定子の結晶構造を決めたいと思っています。

317

318 A. 片山栄作(大阪市立大学大学院理学研究科)

319 自然のさまざまな力のうち、微小な物体間の遠達力として作用できるのは静電相互作用だけです。したがって、  
320 作用要素間の距離が遠い段階では間違いなくクーロン力が主体です。しかし両者が近づけば他の力が働けま  
321 す。特にアクトミオシンモーターの場合には、上田さんが言われるように疎水的相互作用(疎水力とは言いませ  
322 せん)が主体として働くことは間違いのないと思います。

323 離れた段階で「方向性(近づけるか、遠ざけるか)」を決められる力は静電相互作用です。近くなれば他の力も  
324 働けます。

325 ちなみに、私の学位論文で、トロポミオシン・パラクリスタルの分子配列について議論しましたが、その際にも、  
326 位置決めについての最終的な要因は「静電反発力」であると結論しました。

327 E Katayama, Y Nonomura (1979)

328 Electron microscopic analysis of tropomyosin paracrystals. **J Biochem.** 86(5):1511-22.

329 doi: 10.1093/oxfordjournals.jbchem.a132669.

330 <https://academic.oup.com/jb/article-abstract/86/5/1511/798014?redirectedFrom=fulltext>

331

332 A. 高野光則(早稲田大学先進理工学研究科)

333 「プロトンかオキソニウムイオンか」の議論は多くの方が関心をもって聞いていたと思います(私もそのなかの 1  
334 人)。今回の「生体運動の共通原理はクーロン力!？」も前回と深く関連するテーマなので、少しコメントします(ち  
335 よつと長いですが)。

336 「共通原理」ということであれば、以下の3つが重要だと思います。

337 ・「非平衡状態」

338 アクトミオシンでいえば ATP の加水分解反応が平衡状態から外れていること、Fo で言えば、膜内外に電気化学ポテンシャル差があることです。

340 ・「非対称性」

341 アクトミオシンでいえば、アクチンとミオシンの運動方向における結合界面の形状と表面のアミノ酸分布(特に荷電アミノ酸)からきていて、Fo でも同様です(a-subunit と c-ring 間)。(もともと対称な場合でも、対称性の自発的破れを利用することもできますが、上記2つの系では最初から非対称性があります)。

344 ・「ブラウン運動」

345 アクトミオシンでは、1)アクチンとミオシンの結合・解離、2)分子内の構造変化、3)フィラメントに沿った方向の並進運動の3つです(結合・解離の重要性は旭川の領域会議で難波さんも指摘されていました)。Fo では a-subunit と c-ring 間の(相対的な)回転ブラウン運動が重要になります(むろんイオンのブラウン運動も)。

348 それでクーロンはどこに? というのですが、最初の2つの基盤になっています。

349 「非平衡状態」については、ATP の加水分解に関していえば、ATP(4-)が ADP(3-)と Pi(2-)とプロトン(+1)に変化(荷電状態が異なる化学種、さらに2価カチオンも参加)することからも容易に想像が付きまします。ただし、ATP の高エネルギーはどこに、という問いに答える必要があります(このテーマに真正面から取り組まれたのが鈴木先生の新学術領域でした)。水和を含めた慎重な議論が必要なので、単純化するのは危険ですが、あえて重要な因子の一つをあげると言われれば、私は 3 リン酸部分のクーロン斥力を挙げます。

354 この「原理」は原子力も同じです(原子核内のプロトン間のクーロン斥力)。電気化学ポテンシャルの方は自明です。

356 「非対称性」は表面(および分子内部)の荷電アミノ酸の分布に私は着目しています。その場合、立体構造は水素結合ネットワークの足場、という考え方です(神取先生の議論にもあったと思います)。

358 アクトミオシンでは、結合界面にあるミオシンやアクチンの荷電アミノ酸を中性化(もしくは反転)させると motility がなくなる(かなり落ちる)こと、塩濃度が上げると結合親和性が弱まることから、クーロン引力の関与が推測できます。ただ、クーロンが全てということとはたぶんなく、上田さん、片山さんのご指摘にもあるとおり、強結合には疎水性相互作用も関わってくると思います。一方、見方を変えると、motility(動きやすさ)という点では強結合よりも弱結合(クーロン力)の方が(生物は)使いやすいような気がします。

363 吉田さんのご指摘、「保存されたカルボキシル基にプロトンが結合することにより、膜の中に入って行けることが重要である」、ですが、これも広い意味でクーロンです。ただし、ご指摘の通り、関与しているのは通常の静電「相互作用」エネルギーではなく、静電「自己」エネルギーになります。難しいことは全くなく、電荷は誘電率の低い(膜もそう)ところを嫌う(エネルギーが高い)ということです。自己エネルギーの意味で、Fo にもクーロンがかなり深く関与していると言えます(W. Junge らの「half-channel モデル」の一部)。さらに言えば、a-subunit で必ず保存されている Arg と c-subunit で保存されている Glu (or Asp) の間のクーロン「相互作用」も回転機構に関与していることは十分にありえます。

370 というわけ、クーロン力が生体運動の共通原理というのはちょっと端折りすぎかもしれません。クーロン力は共通原理(あるとすれば)の下支えになっている、という感じでしょうか。

372 ご参考まで。

373

374 Q. 宮田

375 私は、「クーロン力」で、イオン化した残基による引力、斥力や、膜の内外にかかった電場をイオンが動く際に使

376 われる力などを思っていたのですが、原子内で生じる電荷による作用もクーロン力と呼んでよいのでしょうか？  
377 もしそうなら、「生体運動の基盤はクーロン力」と言うのは何も言っていないことに近いようにも思えて来ました。  
378

379 A. 高野光則(早稲田大学先進理工学研究科)

380 ご質問の「原子内で生じる電荷による作用もクーロン力と呼んでよいか」ですが、「原子内で生じる電荷による  
381 作用」が原子核と電子の相互作用ということであれば答えはむしろ yes です。つぎに「そうであれば“生体運動  
382 の基盤はクーロン力”と言うのは何も言っていないことに近い」について。ロジックをきちんとフォローできていま  
383 せんが、私なりに解釈して表現すると、自然界にある力は4つのみで、電磁力(クーロン力)はそのうちの一つ  
384 (他の3つは生物にとっては桁が違いすぎる)、その意味ではクーロン力が基盤というのはかなり自明では、と  
385 いうことでしょうか。

386

387 Q. 宮田

388 高野さん、ありがとうございます。私の言いたいことはそのとおりです。  
389 ところで他の3つの力は何でしょう？

390

391 A. 高野光則(早稲田大学先進理工学研究科)

392 他の3つは「強い相互作用」、「弱い相互作用」、「重力(万有引力)」です。最初の2つは素粒子間の相互作用  
393 で、これらは効いてくる空間スケールが桁違いに小さく(原子の半径よりもずっと小さい)、一方、重力は効いて  
394 くる範囲はクーロンと同じですが、大きさが桁違いに小さい、ということになります。

395

396 宮田

397 高野さん、ありがとうございます。とてもよくわかりました。

398

399 A. 鈴木 誠(東北大学大学院工学研究科)

400 先ほど高野さんや上田さんが指摘されましたように、個々の電荷にかかる力とタンパク質にはたらく力を同レベ  
401 ルで考えている感じがします。個々のクーロン力やファンデルワールス力を全部考えるということは分子動力学  
402 を計算するようなもので、結局ある程度大きな粒子にはたらく力を求めたい場合は、溶質粒子を構成する原子  
403 と溶媒を構成する粒子(分子)を総合的に(多体系の現象として)扱うことが大事、というのが「水を主役とし  
404 た・・・」の主張です。また後ほどコメントします。

405

406 Q. 宮田

407 それは端的に言うと、「ATP のエネルギーで電荷だけを強調して議論すると、現象の中で説明できない部分が  
408 生じる」という理解でよろしいでしょうか？

409

410 A. 鈴木 誠(東北大学大学院工学研究科)

411 電荷だけで議論すると説明できない現象がたくさんあって、木下正弘さんの水のエントロピーを軸とした熱力学  
412 論の有用性が示されました。たとえば、タンパク質の天然構造の予測に水のエントロピーが有効だった(計算例  
413 は小さな蛋白質)こと、蛋白質とリガンドの結合の現象で電荷だけでは説明が難しいところが、水のエントロピ  
414 ーを考慮したら説明できるとか、疎水性分子間にはたらく力ですら実は水分子の小さい粒子性にもとづく水の  
415 エントロピーが重要であること、最近では RNA アプタマーの天然変性構造体がタンパク質に結合するときやは

416 り水のエントロピーに基づく熱力学論で説明がつかないなど、局所的なクーロン力だけでなく、周りの水のエントロピー  
417 の重要性が示されました。ではなぜそうなのか、という MD を用いた統計力学的検討が松林さんによってな  
418 されました。

419 ちなみに、生物のように大自由度の系(たくさんの粒子からなる系)では、「実効的(統計的)な力」が生じます。  
420 「化学ポテンシャル」とよばれるものです。膜内外には「電気」化学ポテンシャルがありますが、もし「電気」がな  
421 かったとしても、粒子の濃度差(これが化学ポテンシャル)があれば粒子の実効的な力(自然に拡散しようとする  
422 力)によって仕事をすることができます。この力も生物は使っていると思われませんが、やはり「電気」の部分  
423 うまく使っているような気がします。

424

425 **【直接必要ない ATPase site の役割】 20141101**

426 Q. 宮田

427 以下の役割や、存在理由についての現在の一般的な理解をご教授いただけませんか？

428 1) ATP 合成酵素の  $\alpha$  サブユニット

429 2) ダイニンの他の5つのドメイン

430 3) 骨格筋ミオシンの2つの頭部

431 ミオシンについては、尾部だけの重鎖と頭部のある重鎖からなるヘテロな分子を確立するだけの進化的な圧力がこれまでに生じなかったため、と私は考えています。

433 私の勉強不足でお手数をおかけしますが、よろしくお願いします。

434

435 A. 渡邊力也(東京大学大学院工学系研究科)

436 ATP 合成酵素の  $\alpha$  サブユニットの役割に関してですが、大きく2つあります。

437 1, 触媒活性の増強

438 一般的に ATP 合成酵素の触媒部位は  $\beta$  サブユニットであると考えられていますが、実は  $\alpha$  サブユニットにも触媒に重要なアミノ酸残基が存在します。これは、アルギニン(リジン)フィンガーと呼ばれるもので、ATP 合成酵素だけでなく ATPase に広く保存されています。ちなみに、アルギニンフィンガーをアラニンに置換すると ATPase 活性が約 1,000 倍低くなることが知られており、すなわち、アルギニンフィンガーを有する  $\alpha$  サブユニットは ATP 加水分解活性の増強に貢献していると考えられています。

443 参考文献

444 1. Rikiya Watanabe, Yuki Matsukage, Ayako Yukawa, Kazuhito V Tabata, Hiroyuki Noji (2014)

445 Robustness of the rotary catalysis mechanism of F1-ATPase. **J Biol Chem.** 289(28):19331-40. doi: 10.1074/jbc.M114.569905.

447 [https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(20\)47698-7/fulltext](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(20)47698-7/fulltext)

448 2. Shigehiko Hayashi, Hiroshi Ueno, Abdul Rajjak Shaikh, Myco Umemura, Motoshi Kamiya, Yuko Ito, Mitsunori Ikeguchi, Yoshihito Komoriya, Ryota Iino, Hiroyuki Noji (2012)

450 Molecular mechanism of ATP hydrolysis in F1-ATPase revealed by molecular simulations and single-molecule observations. **J Am Chem Soc.** 134(20):8447-54. doi: 10.1021/ja211027m.

452 <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ja211027m>

453 3. Markus Dittrich, Shigehiko Hayashi, Klaus Schulten (2004)

454 ATP hydrolysis in the betaTP and betaDP catalytic sites of F1-ATPase. **Biophys J.** 87(5):2954-67. doi: 10.1529/biophysj.104.046128.

456 [https://www.cell.com/biophysj/fulltext/S0006-3495\(04\)73768-6](https://www.cell.com/biophysj/fulltext/S0006-3495(04)73768-6)

457

458 2, 活性化・不活性化の制御

459  $\alpha$  サブユニットには、触媒機能を持たない ATP の結合部位(non catalytic site)が存在します。Non catalytic site に ATP が結合しないと、ATP 合成酵素は頻繁に不活性状態に陥る性質があり、すなわち、活性・不活性化の制御因子としての役割を  $\alpha$  サブユニットは担っています。

462 参考文献

463 Yoko Hirono-Hara, Hiroyuki Noji, Masaya Nishiura, Eiro Muneyuki, Kiyotaka Y. Hara, Ryohei Yasuda, Kazuhiko Kinoshita Jr., Masasuke Yoshida (2001)

464

465 Pause and rotation of F(1)-ATPase during catalysis. **PNAS**. 98(24):13649-54.  
466 doi: 10.1073/pnas.241365698.  
467 <https://www.pnas.org/content/98/24/13649.long>

469 Q. 宮田

470 早速のお返事, ありがとうございます.

471 (1)は $\beta$ サブユニットの活性の増強で, (2)は $\alpha$ サブユニットにある Walker motif のサイトという理解で正しい  
472 ですか?

473

474 A. 渡邊力也(東京大学大学院工学系研究科)

475 おっしゃる通りです。 $\alpha$  サブユニット(non-catalytic site)と  $\beta$  サブユニット  
476 (catalytic site)にある Walker motif の配置図をメールに添付いたします。

477

478 宮田

479 とても明解に教えていただき, ありがとうございます.

480

481 A. 島袋勝弥(宇部工業高等専門学校物質工学科)

482 私も同様なことを考えていました。しかし、なぜアルギニンフィンガーが  $\alpha$  サ  
483 ブユニットにあるのでしょうかね。 $\beta$  サブユニットにあってもいいような気がしますが。ちと、本筋からそれました。

484

485 A. 上田太郎(早稲田大学先進理工学部)

486 3) 骨格筋ミオシンの2つの頭部

487 ミオシンについては、尾部だけの重鎖と頭部のある重鎖からなるヘテロな分子を 確立するだけの進化的な圧  
488 力がこれまでに生じなかったため、と私は考えています。

489 骨格筋ミオシンというより、双頭ミオシン全般のご質問と解して僕のイメージを述べます(すみません、宮田説は  
490 よく理解できません)。

491 まず、双頭構造であることには、いくつか自明なメリットがあります。

492 1. プロセッシブなモーターができる(ミオシン V)。単頭でプロセッシブなミオシンやキネシンはありますが、hand  
493 over hand メカニズムの方が高速で長距離のプロセッシブ運動ができる。

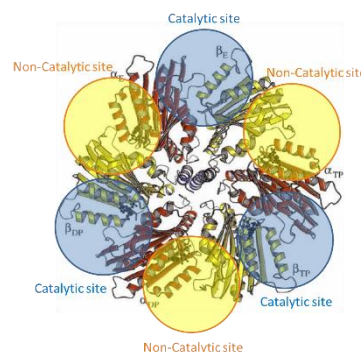
494 2. coiled coil を介して、双極性のフィラメントを形成できる(ミオシン II)。

495 しかし、単頭のミオシンもたくさんあることから、双頭構造が運動活性に必須ではないことも自明ですね。双頭ミ  
496 オシンは単頭ミオシンから進化したと考えるのが自然だと思いますが、分子系統樹を見ると、かなり早い段階で  
497 単頭と双頭がわかれているように見えます。ではなんのために双頭構造が進化したのか。上にあげた双頭構  
498 造の2つのメリットは、双頭ミオシンができたあとの進化の結果であって、これらの機能を実現するための進化  
499 的圧力で双頭構造ができたのではないでしょう。

500 最も考えやすいのは、2つのヘッドの間の協調性があると、運動効率が高くなることです。単純に考えても、ひ  
501 とつのヘッドがアクチンに結合すれば、引き続きもう一つのヘッドも結合しやすくなります。

502 またわれわれがこの新学術で主張しているように、ミオシンヘッドの結合がアクチンフィラメントの協同的構造変  
503 化を引き起こすなら、双頭構造は単純な物理的近さ以上に効率化を引き起こし得ることになります。

504 キネシンにも単頭と双頭のものがあるし、ダイニンにも二量体、三量体などがあることから、モーターが多量体



505 になることには一般的なメリットがあるはずで  
506 われわれはだいぶ以前、単頭のみオシン II(テール部分はダイマー、ヘッドは一つだけ)を作りアッセイしたとこ  
507 ろ、in vitro の運動速度が半分に落ち、連続的な運動を維持するのに必要なモーターの密度も二倍高くなりました  
508 た(ミオシンの密度ではなくモーターの密度として)。またこれは別グループの結果ですが、野生型の粘菌細胞  
509 でテールのみを発現し、細胞内で単頭のみオシン II ができるようにすると、ミオシン II がないのと同じ表現型にな  
510 ります。つまり、ミオシン II がミオシン II として機能するためには、双極性のフィラメント構造ができるだけでは不  
511 十分で、それぞれのダイマーに2つのヘッドがあることが不可欠のようなのです。

512

513 宮田

514 私の疑問は、'骨格筋'のみオシンが双頭である理由です。骨格筋ではないのみオシンの一群が双頭なのは、小胞  
515 輸送などを行う際にプロセッシブな動きを行うためと理解しています。そうするとプロセッシブではない骨格筋のみ  
516 オシンが双頭であることは謎です。

517 私の想像は、

518 骨格筋のみオシンは、小胞輸送など行うプロセッシブなのみオシンから進化し、フィラメント、さらには安定した骨格筋  
519 組織を形成するようになりました。そして組織の中で働き、速い収縮を行うためにプロセッシブではなくなり、ま  
520 た短いアクチン結合時間で反応するようになりました。そうすると双頭であることの本来の意味はもうありませ  
521 ん。しかし、のみオシンフィラメント形成は尾部のコイルドコイルを基にしていますから、尾部は二量体である必要  
522 があります。この矛盾を解決するために骨格筋のみオシンが尾部だけの重鎖と頭部のある重鎖から構成されるよ  
523 うに変化してもよさそうなのですが、その進化がまだ起こっていないか、あるいはそれを起こすような進化的な  
524 圧力がかかっていない、ということです。端的に言うなら「骨格筋のみオシンが双頭なのはのみオシン進化のなごり」と  
525 いうことになります。

526

527 A. 上田太郎(早稲田大学先進理工学部)

528 ずっとのみオシン II 中心史観でやってきたので、のみオシン II がのみオシン V から分岐したなんて考えたこともありませ  
529 んでした。

530 たしかにのみオシン V(とそれによく似た XI)は、植物、菌類、メタゾアにあるのに対して、のみオシン II は菌類とメタゾ  
531 アにはあるが植物にはないことから、まずのみオシン V が生じ、その後植物が分岐したあとでのみオシン II が生じた  
532 らしいです。

533 Florian Odronitz, Martin Kollmar (2008)

534 Drawing the tree of eukaryotic life based on the analysis of 2,269 manually annotated myosins from 328  
535 species. **Genome Biol.** 8(9):R196. doi: 10.1186/gb-2007-8-9-r196.

536 <https://genomebiology.biomedcentral.com/articles/10.1186/gb-2007-8-9-r196>

537 これは、のみオシン II がのみオシン V から派生したという宮田説と矛盾しませんが、必ずしもその説を支持するもの  
538 でもありません。

539 むしろ僕としては、

540 1. coiled coil がくっついて二量体化するなんていうことは様々なタンパク質の進化の過程でしょっちゅう起きて  
541 いることなので、のみオシンの二量体化が一回しか起きなかったと思う理由はない。

542 2. のみオシンの分類に使われるモータードメインの配列類似性は、のみオシン II が V から派生したという説を支持し  
543 ない。また両者は、モータードメインの配列だけではなく、軽鎖の数や組成も全く異なる。

544 3. 宮田説ですと、プロセッシビティがなければ二量体化の意味もないということになりますが、プロセッシビティ

545 はミオシン V の進化の究極の結果(duty 比が大きくなるなど)であって、単純に2つのヘッドが近くにある故の  
546 効率化だけでも十分に二量体化の意味はあると思います。実際、現存するミオシン II はプロセッシブではあり  
547 ませんが、前のメールでも書いたように双頭構造は生理的機能に必須なようです。  
548 といった理由から、ミオシン II が双頭構造をもつのはそれなりに意義があり(進化のなごりではない)、おそらく  
549 進化的にミオシン II と V は別物だろうと思っています。  
550



551 【生体分子の構造決定時に含まれている水】 20141115

552 Q. 宮田

553 構造決定されるタンパク質の結晶(a)にはどのくらいの水が含まれているのでしょうか？構造として示される以外  
554 にも水分子は存在しますか？電子顕微鏡の試料, すなわち, ネガティブ染色(b), 浸潤凍結(c), 加圧凍結(d),  
555 金属圧着(e), 樹脂包埋(f), はいかがでしょうか？もしこれらを並べれば, (e)>(d)>(c)>(a)>(b)>(f)の様な感じで含  
556 まれているという理解で正しいでしょうか？

557 ご教授いただければ幸甚です.

558

559 A. 難波啓一(大阪大学大学院生命機能研究科)

560 どなたからも返事がないようなので、答えられる範囲で答えます。

561 タンパク質の結晶(a)には少なくとも 50%以上、多いときは 90%ほど水が含まれています。構造としてタンパク  
562 質に配位して見える水分子はそのうちのごく一部です。

563 電子顕微鏡の試料の場合、ネガティブ染色(b)では基本的に試料をよく乾燥させるので、水分子は実質的にほ  
564 とんど残ってないと考えた方がよいと思いますが、染色剤の重原子が水分子を置き換えて立体構造を保護して  
565 いるのだと思います。

566 浸潤凍結(c)については言葉自体を聞いたことがないのでわかりません。

567 加圧凍結(d)では水は全部残っていますが、ディープエッチの際に飛ばしてしまうので、観察試料には水分子は  
568 残っていないと思います。

569 金属圧着(e)も加圧凍結(d)と同じです。

570 樹脂包埋(f)では、構造を架橋した後で水を有機溶媒に置き換え、それを樹脂に置き換えますから、最終的には  
571 水分子は残っていないはずです。

572 電子顕微鏡の試料で水分子がそのまま残っているのは、急速凍結氷包埋した試料のみです。

573 “急速凍結氷包埋”では試料はバルクの水分子で囲まれているので細胞やタンパク質の水の含有量が影響  
574 されることはありません。

575

576 宮田

577 難波先生、ありがとうございます。結晶にそんなに水が残っていると知りませんでした。

578 ごめんなさい。“浸潤凍結”は“浸漬凍結”の間違いです。多分、“急速凍結氷包埋”と同じですね。

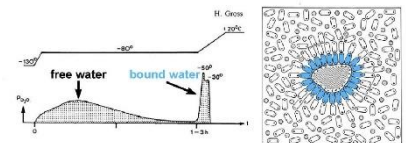
579 ろ紙で水を吸ったり、急速に凍結したりしても、細胞やタンパク質に直接含まれる水はもととあまり変化しないと  
580 いう理解ですね。

581

582 A. 片山栄作(大阪市立大学大学院理学研究科)

583 口をはさむつもりはありませんでしたが、多くの方に誤解がありそうなので、最低限の実験事実だけご紹介して  
584 おきます。その解釈はお任せします。他にも異論はありますが、どうしても想像が入るのでやめておきます。

585 加圧凍結というのはいわゆる High-Pressure Freezing のことだと思  
586 いますが、その手法で凍結した試料を通常のフリーズフラクチャー・ディ  
587 ープエッチングに供するには、技術的にさまざまな問題が生じるので実  
588 際に行われた例はほとんどないはずです。High Pressure Freezing  
589 で作成した試料は、ほぼ全てが凍結置換法で処理されていると思いま  
590 す。その場合には水を除くことがその目的であり、必須の過程なので、



The course of the sublimating specimen water during the freeze-drying procedure. The specimen water was sublimated with D<sub>2</sub>O allowing mass spectrometric differentiation between specimen water (D<sub>2</sub>O) and water vapor originating from the carrier H<sub>2</sub>O. The specimen water was heated at 143 K (-130°C). Under LHV conditions, the temperature was increased to 193 K (-80°C). After t = 3 h drying an equilibrium at a low sublimation rate was reached. Warming to room temperature resulted in a further sublimation of specimen water. For all noted spots a mass at least five atomic mass units greater than 221 k (-20°C) and 243 k (-10°C) were recorded. We believe that this stronger bound water is partly due to hydration shells (see Kellomäki, Chou, & Kim, 1982).

A protein molecule in aqueous solution. The water molecules form a hydration shell of gas water on the surface of the hydrophilic groups. With increasing distance from the surface, the order of the shell gradually decreases to reach that of the surrounding solution. The entire hydration shell (i.e. salt, metabolism) of the molecule.

**Time-Course of Water Sublimation during Freeze-Drying Process**

591 当然ながら水は残りません。

592

593 A. 岩崎憲治(大阪大学蛋白質研究所)

594 加圧凍結を用いて、得られた凍結試料をそのまま相転移が起きないようにして(表面からかなりの深さまでガラ  
595 ス状氷の層になっている)クライオミクロームで薄切する方法があり、CEMOVIS(Cryo-Electron Microscopy  
596 of Vitreous Sections)と呼ばれることもあります。日本ではあまりなじみのない方法かもしれませんが、この場  
597 合、細胞や組織の水分はそのまま維持されると考えるとよいと思います。

598

599 A. 今田勝巳(大阪大学大学院理学研究科)

600 蛋白質結晶中の水についての補足ですが、通常のを「蛋白質濃度」に換算すると 300mg/ml から  
601 800mg/ml の範囲になります。細胞内の蛋白質と核酸を合わせた濃度が大体 300-400mg/ml と言われていま  
602 すから、高分子濃度という面からは、蛋白質結晶の状態は意外に細胞内に近いです。

603

604 宮田

605 今田さん、ありがとうございます。大変に興味深いです。私はタンパク質の結晶は、2年前くらいまでは“食卓塩”  
606 の様なもの、少し前までは“冷蔵庫に放置された固形培地”の様なもの、と思っていました。

607

608 A. 若林健之(帝京大学医療技術学部)

609 皆さんのアンサーで十分だと思いますが、別の観点を書いてみます。

610 タンパク質結晶に含まれる水ですが、宮田さんが食塩みたいなものと思っておられたのは、結晶というイメージ  
611 として普通だと思います。タンパク質結晶は結晶のなかでは例外的なものです。食塩のイメージと違うことはメ  
612 チレンブルーなどの手近な色素に漬けてみると実感できます。食塩などの結晶には色素が浸入できませんの  
613 で、醤油に漬けたトコロテンの様に見えますが、タンパク質結晶では色素が中まで浸み込んで結晶全体が青く  
614 染まります。Izit Crystal Dye で検索してみてください。

615 <https://hamptonresearch.com/product-Izit-Crystal-Dye-33.html>

616 タンパク質の結晶は実体顕微鏡の下でマイクロナイフなどで、「触って」見ると柔らかいと感ずます。イメージとして  
617 は豆腐でしょうか。NMR 分光法で解いたタンパク質の原子構造は溶液内構造(Solution structure)とも呼ばれ  
618 て、X 線結晶解析で解いた結晶構造(Crystal structure)と対比されることがあります。この文脈では結晶構造  
619 は「非」溶液内構造のようにも読めてしまうので、食塩のイメージが復活するきっかけとなるようです。カルモジ  
620 ユリンなどは両方の解析法で原子構造が解かれていますので、比較してみると良いのではないのでしょうか。同  
621 じではないですが似て見えます。これも結晶内のタンパク質の環境が溶液内と同じではないけれども似ている  
622 ことを反映していると思います。

623

624 宮田

625 ダイニンについてはどなたからもコメントがいただけなかったので、法政大、昆 隆英先生の“ダイニン”から抜粋  
626 します。新しくいただいた本「原田慶恵, 石渡信一編, “1分子生物学”(化学同人)」にありました。

627 <http://www.kagakudojin.co.jp/book/b182505.html>

628 ①6個の AAA+モジュールのうち、ATP/ADP 結合能をもつのは AAA1-AAA4 のみで、AAA5 と AAA6 は構造  
629 的役割を担う、②ATP 加水分解活性をもつのは AAA1, AAA3, AAA4 の3か所である、③モーター駆動に必須  
630 な ATP 加水分解部位は AAA1 のみであり、この部位での ATP 加水分解サイクルがダイニンの微小管上の運

- 631 動を直接駆動する。ただし, AAA3 と AAA4 の機能がダイニンの運動メカニズムに無関係ということではない.
- 632 モータードメイン内の複数の ATP 加水分解サイクルは独立ではなく, AAA1 を中心とした共役ネットワークとしてダイニンの運動能を制御すると考えられている.
- 633
- 634

635 【生体運動のルースカップリング】 20141121

636 Q.宮田

637 ルースカップリングについて、JT 生命誌研究館の"Scientist Library"には以下の様に書かれています。

638 「ナノメートルの世界で活躍するタンパク質などで作られた生きものの分子機械は入力と出力の関係が一定で  
639 はないという考え方。生きものの分子機械は小さいために入力のエネルギーと熱揺らぎのエネルギーがほとん  
640 ど変わらないが、周りから絶縁することもなく水の中で常温で動く。分子機械が働く場合には周りの環境とエネ  
641 ルギーをうまくやりとりしていると考えられる。」

642 [https://www.brh.co.jp/s\\_library/j\\_site/scientistweb/no49/](https://www.brh.co.jp/s_library/j_site/scientistweb/no49/)

643 生体運動のルースカップリングは、1980 年代に大沢先生によって提唱されたと記憶しています。しかしその後  
644 のいろんな研究では、本当に1分子に注目した場合には、生体運動を起こす反応の入力と出力は全て、1対1  
645 に対応していたように私には思えました。ルースカップリングは、現象を遠くから見た場合にのみ見られるもの  
646 なのでしょうか？あるいは逆にそれは表面的な見方で、本質は別のところにあるのでしょうか？  
647 皆さまそれぞれの見解を教えてくださいませんか？

648

649 A. 西坂崇之(学習院大学理学部)

650 測定精度が上がったことによって、タイトカップリングを否定するデータを大きな声で主張する発表や論文は無  
651 くなったと思います。

652 そもそも測定には必ずエラーがあるわけなので、狭義のルースを証明するには、測定系の徹底したエラー検証  
653 がなされた上で、何%の確率でルースがありそうだ、という議論は避けられないはずで、ニュートリノが高速  
654 を超えたという騒動みたいに(極端なたとえですが)。

655 実験者や精製具合によって再現性の変わる生体分子を相手にして、かつ、熱揺らぎの下での測定を「きちんと」  
656 行っているような研究者達にしてみると、生物物理の分野において宇宙物理のような精度を実現することは、  
657 現実的ではない、と(漠然と)思われているのではないのでしょうか。

658 おそらくは、そんな背景で、ルースを標榜して大きな学問の流れを作ろうとしている研究グループは、皆無にな  
659 ってきていると思います。

660 (私自身も、プレゼンでルースという言葉を使ったことはありません、、、タイプしたのも、今が初めてです)

661 広義のルースについては、水分子まで入れた MD によって、教科書的な理屈では単純に説明できない振り舞  
662 いを生体分子がしてくれたときに初めて認められるのだと思います。

663

664 A. 上田太郎(早稲田大学先進理工学部)

665 僕はミオシン関係しかちゃんとフォローしていませんが、1999 年の喜多村さんたちの Nature 論文では、5 nm  
666 のステップが複数連続する様子が報告されています。

667 Kazuo Kitamura, Makio Tokunaga, Atsuko Hikikoshi Iwane, Toshio Yanagida (1999)

668 A single myosin head moves along an actin filament with regular steps of 5.3 nanometres. **Nature**.  
669 397(6715):129-34. doi: 10.1038/16403.

670 <https://www.nature.com/articles/16403>

671 これらの連続ステップの時間間隔は数ミリ秒と短いので、一回の ATP 加水分解に伴うものと考えられます(つ  
672 まり、ATPase サイクルとメカニカルステップの対応が1対複数で、対応関係がルース)。その後、早稲田の高野  
673 さんたちがそれを説明できるような MD シミュレーションの結果を発表されています。

674 Mitsunori Takano, Tomoki P Terada, Masaki Sasai (2010)

675 Unidirectional Brownian motion observed in an in silico single molecule experiment of an actomyosin  
676 motor. 107(17):7769-74. doi: 10.1073/pnas.0911830107.

677 <https://www.pnas.org/content/107/17/7769.long>

678 しかしこの喜多村論文については、喜多村さん達の論文以降 15 年たっても実験的な続報や検証実験の報告  
679 がないことは大いに気になるところではあります。

680 西坂さんがおっしゃる「測定精度が上がったことによって、タイトカップリングを否定するデータを大きな声で主  
681 張る発表や論文は無くなった」というのはそのとおりだと思いますが、これは主として一分子生理学的なアプ  
682 ローチのことを指すのだと思います。しかし多分子系でないとルースな共役は起きにくいという可能性はあり  
683 (喜多村実験は一分子系ですが)、僕としては心の中の小さな声で「ルース?、ルース?」とつぶやき続けてい  
684 きたいと思っています。

685

686 A. 難波啓一(大阪大学大学院生命機能研究科)

687 1999 年の喜多村さんたちによるミオシンが 5 nm ステップを複数連続する観測は、たしか数年まえに柳田研の  
688 学生さんが別の系でも確認したはずです。論文を見つけたらお知らせします。

689 私の個人的な意見ですが、F1-ATPase のように二つのタンパク質が結合したままで ATP の結合により構造変  
690 化を起こすようなモーターはタイトですが、ミオシン-アクチンやべん毛モーターの固定子と回転子のように結合  
691 解離を繰り返すモーターはルースだと思っています。

692 最近べん毛モーターで面白いデータが得られて、今はデータを整理してモデルを考えているところです。近いう  
693 ちにお見せしますので、皆さんで議論していただけるのを楽しみにしています。

694

695 A. 西山雅祥(京都大学白眉センター)

696 補足させていただきます。難波先生のご指摘の論文は下記の2本でしょう。

697 Takuya Okada, Hiroto Tanaka, Atsuko Hikikoshi Iwane, Kazuo Kitamura, Mitsuo Ikebe, Toshio Yanagida  
698 (2007)

699 The diffusive search mechanism of processive myosin class-V motor involves directional steps along  
700 actin subunits. **Biochem Biophys Res Commun.** 354(2):379-84. doi: 10.1016/j.bbrc.2006.12.200.

701 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006291X06028610?via%3Dihub>

702 Kazuo Kitamura, Makio Tokunaga, Seiji Esaki, Atsuko Hikikoshi Iwane, Toshio Yanagida (2005)

703 Mechanism of muscle contraction based on stochastic properties of single actomyosin motors observed  
704 in vitro. **Biophysics** (Nagoya-shi). 1:1-19. doi: 10.2142/biophysics.1.1.

705 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5036627/>

706

707 A. 徳楽清孝(室蘭工業大学大学院工学研究科)

708 昨日、上田さんがミオシンについて投稿されていたので私も細胞骨格系モーターに関して一言述べさせて頂き  
709 たいと思います。

710 少し前に、微小管上を微小管結合タンパク質である Tau が拡散運動することが報告されました。

711 Maike H Hinrichs 1, Avesta Jalal, Bernhard Brenner, Eckhard Mandelkow, Satish Kumar, Tim Scholz  
712 (2012)

713 Tau protein diffuses along the microtubule lattice. **J Biol Chem.** 287(46):38559-68.

714 doi: 10.1074/jbc.M112.369785.

715 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23019339>

716 私の研究室でも Tau とは別の微小管結合タンパク質(MAP4)が同様に微小管上を拡散運動することを確認し  
717 ております。これらはモータータンパク質ではありませんので方向性はありますが、微小管上を数  $\mu$ メートル  
718 程度の長距離にわたって解離することなく運動することが可能です。

719 細胞骨格系モータータンパク質のルースカップリングに見える一方向の運動がどのように生み出されているか  
720 私にはわかりませんが、「タイトカップリング」+「拡散」=「ルースカップリングに見える」ということはありえるかと  
721 考えています。

722 話は変わりますが、以前本領域のビデオアーカイブに以下の動画を投稿しました(10年前の生体運動研究合  
723 同班会議で発表したものです)。私は、ルースカップリング的な運動をよく表現しているモデル実験だと考えて  
724 います。すなわち、同じ草に同じエネルギー(振動)を与えても速度は刻々と変わっています。この動画では速  
725 度の変化は分かりにくいのですが、実際に坂道を上らせると(モーターに負荷を与えると)速度が落ちます。お  
726 そらく空回りする部分があるからだと思います。そうすると、「タイトカップリング」+「空回り」+「拡散」=「ルース  
727 カップリングに見える」ということかもしれません。

728 <http://bunshi5.bio.nagoya-u.ac.jp/~mycmobile/video/detail.php?id=158>

729 一方で、上記モデル実験では、草の毛が長いから速度が速いというわけではありませんでした。草の毛の長さ、  
730 角度、硬さに加えて振動の性質(周波数や振幅)も速度を決める重要な因子のようです。

731 実際のモータータンパク質で ATP のエネルギーが運動にどのように使われているかはわかりませんが、振動  
732 (熱)を生み出すだけでなく、レール側の協同的な構造変化の伝播等によって毛の長さ、角度、硬さのような  
733 働きも生み出されているのではないかと、またそれらがうまく調和したときに最大速度や、最大トルクが生み出さ  
734 れているのでは無いかとも妄想しております。

735

736 宮田

737 徳楽さん、ありがとうございます。皆さまの思い出が聞けて、質問してみた甲斐がありました。逆に、若い人た  
738 ちには新鮮に聞こえるようです。fb のアカウントがないと、書き込みといいね！ができないそうです。

739

740 A. 高野光則(早稲田大学先進理工学研究科)

741 上田さんが昨日書かれていたこととほぼ同じことを考えていましたが、徳楽さんのコメント(と動画)も興味深く  
742 拝見しました。関連して少しコメントさせてください。

743 草の実験ですが、以下のように考察できるかもしれません。毛が台に対して斜め前方に倒れているとします。  
744 そうすると滑りやすさ(摩擦係数)が前後で異なります(「ひっかかり」が後ろ向きに滑るときの方が強い)。振動  
745 を加えると、上下方向に揺らされ、同時に前後方向の揺らぎ成分も少しあると考えられます。これら2つ(摩擦  
746 の非対称性と上下・前後方向の揺らぎ)によって前方に滑っていく、というメカニズムです。

747 これはアクトミオシンの MD で見てきたことと本質的に同じように思います。この場合、ATP の役目は上下方  
748 向の「振動」(=非平衡な結合解離)です。前後方向の「振動」は熱揺らぎでまかなうことができます。一点、大き  
749 く異なるのは、草の場合、非対称性は「斥力」(滑りに対する摩擦力)によりますが、アクトミオシンの場合  
750 は「引力」による、ということです。この引力に「クーロン力」が効いてきているようです。『「タイトカップリング」+  
751 「拡散」(+「空回り」)=「ルースカップリングに見える」』についても本質を突いているように思いました(「逆回り」  
752 もあり得ますね)。タイト/ルースの議論では、入出力の定量的関係のことを言っている、ということに気をつけ  
753 る必要があり、アクトミオシンの場合は、ATP1 分子の結合・加水分解によって 1 サイクルが回る、という点では  
754 「タイト」ですが(ATP 結合により高確率で解離)、出力は可変(ルース)ということです。ただ、見方を変えると、

755 可変と言っても、出力の最大値は入力の値でおさえられているので、入力エネルギーを効率よく使うためには  
756 「入力」=「出力」の方が生物にとっては良い、という面もあると思います。そのときに生物は分子間の「協同性」  
757 を使っているのではないのでしょうか(ここは上田さんと異なるかもしれません)。協同性があると、一個一個はル  
758 ースでも、多分子で協同すればタイトに(無駄なく)働くことができます。ただし、協同しすぎると逆効果になるこ  
759 ともあるので、一個のルースさは大事になってくる、というのが私がもっている印象です。  
760

761 【サルモネラ菌？】 20141128

762 Q. 宮田

763 べん毛や化学走性の研究でよく使われている“サルモネラ菌”は全て *Salmonella enterica serovar*  
764 *Typhimurium* でしょうか？

765 <https://ja.wikipedia.org/wiki/%E3%82%B5%E3%83%AB%E3%83%A2%E3%83%8D%E3%83%A9>

766 もしそうなら、実験について述べる時、現在一般的に行われているように“サルモネラ菌”と呼ぶのは間違いで、  
767 “ネズミチフス菌”が正しいのでしょうか？そして結論として、「べん毛タンパク質のアミノ酸配列はサルモネラ属で  
768 共通しているので、この結果はサルモネラ属に一般化できるはずです。」というべきでしょうか？

769 最近、複数の方からご指摘をいただきました。

770 関係の皆さまからのご教示をお待ちしています。

771

772 A. 中山浩次(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科)

773 ご指摘のウィキペディアに記載されているように、属名で呼ぶときにはその後に菌を付けないというのがルール  
774 です。細菌学会内では属名の後に菌を付けるのをたいそう嫌がります。一方、種形容詞に菌を付けて呼ぶこと  
775 は一般的に行われています。種形容詞が同じで別属の菌がある場合がありますので気を付けなければなりません  
776 せんが。

777 また、サルモネラ属菌という言い方はありとされているようです。

778 しかし、社会的には「サルモネラ菌」と呼ぶ方が言葉の理解が容易ですし、あまり目くじらを立てる必要はないと  
779 思います。

780

781 A. 本間道夫(名古屋大学大学院理学研究科)

782 サルモネラ菌を使つての遺伝学をやつた飯野研の出身者としてコメントです。正しくは、*Salmonella*  
783 *typhimurium*, が *Salmonella enterica serovar Typhimurium* と名前が変わり、これは日本名はネズミチフス  
784 菌です。べん毛研究では使用しているのは、飯野研で使用していたのは、ほぼこの菌だけだと思います。大腸  
785 菌とも相同性が高いので、遺伝子相補もできます。私の感覚では、サルモネラ(属)菌のネズミチフス菌を使つ  
786 ているという感覚です。従つて、サルモネラ菌と呼んでも間違いではないと思います。たとえば、ビブリオ菌とい  
787 えば、ビブリオ属菌を示し、コレラ菌や腸炎ビブリオ菌を含めた名前として使つていると思います。

788

789 A. 南野 徹(大阪大学大学院生命機能研究科)

790 ASM press が出版している『*Escherichia coli and Salmonella*』のように、サルモネラは一般に属名で呼んで  
791 います。私の論文でも *Salmonella enterica serovar Typhimurium* は初めに述べるのみで、あとは *Salmonella*  
792 と略しています。レーダーバーグさんが P22 phage による形質導入を発見した際に用いた菌株が *Salmonella*  
793 *enterica serovar Typhimurium* LT2 株で、この株がモデルとして世界中で使われています。

794



795 **【Fo の回転を説明する"two channel model"】 20141205**

796 Q. 宮田

797 "two channel model"はプロトン駆動力(PMF)を使って ATP を合成することはよく説明できますが、逆反応を  
798 説明することは難しいではありませんか？特に液胞などで ATP を使って膜電位と濃度差に逆らってプロトン  
799 を輸送する場合には、回転子のカルボキシル基からプロトンが遊離しにくくなり、たとえ遊離しても電場のため  
800 にプロトンがチャンネル内にとどまる様に思います。

801 手元にある総説では説明されていません。

802 Ryota Iino, Hiroyuki Noji (2013)

803 Operation mechanism of FoF1 - adenosine triphosphate synthase revealed by its structure and dynamics.

804 **IUBMB Life**. 65(3):238-46. doi: 10.1002/iub.1120

805 <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/iub.1120/full>

806 Alastair G. Stewart, Meghna Sobti, Richard P. Harvey, Daniela Stock (2013)

807 Rotary ATPases, Models, machine elements and technical specifications. **Bioarchitecture**. 3(1): 2–12.

808 doi: 10.4161/bioa.23301

809 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3639240/>

810 どの様に考えればよろしいでしょう？

811 皆さまからのご教授をお待ちしています。

812

813 A. 渡邊力也(東京大学大学院工学系研究科)

814 質問に対する返信が遅くなってしまい申し訳ございません。

815 つきましては、pmf がある場合のプロトンポンプに関してですが、two channel model でも矛盾はしないと思  
816 います。

817 以下の総説が丁寧に two-channel model を紹介しています。

818 Peter Dimroth, Christoph von Ballmoos, Thomas Meier (2006)

819 Catalytic and mechanical cycles in F-ATP synthases. Fourth in the Cycles Review Series. **EMBO**

820 **Rep**.7(3):276-82. doi: 10.1038/sj.embor.7400646.

821 <https://www.embopress.org/doi/full/10.1038/sj.embor.7400646>

822

823 エネルギー的な観点では、ATP の加水分解によって 80pNm という大きなエネルギーが出力されるため、pmf  
824 が 150 mV 以下であればプロトンを輸送することはできます。実際に生化学的な計測によって、このことは証明  
825 されております。

826 Paola Turina, Dietrich Samoray, Peter Gräber (2003)

827 H<sup>+</sup>/ATP ratio of proton transport - coupled ATP synthesis and hydrolysis catalysed by CF<sub>0</sub>F<sub>1</sub>—liposomes.

828 **EMBO Journal**. 22:418-426.

829 <http://emboj.embopress.org/content/22/3/418.long>

830 Jan Petersen, Kathrin Förster, Paola Turina, Peter Gräber (2012)

831 Comparison of the H<sup>+</sup>/ATP ratios of the H<sup>+</sup>-ATP synthases from yeast and from chloroplast. **PNAS**. 109

832 (28) 11150-11155. doi:10.1073/pnas.1202799109.

833 <http://www.pnas.org/content/109/28/11150.short>

834

835 また、電場のためプロトンがチャンネル内にとどまるとのことに  
836 関してですが、これはプロトンの再結合の速さと回  
837 転速度の問題だと考えられます。Fo は回転分子モーター  
838 ですので、プロトンの脱着にともない構造変化し回転  
839 運動を行います。そして、この回転運動によって反応がリセ  
840 ットされる速度がプロトンが再結合する速度よりも速ければ、  
841 回転運動によってプロトンは再結合することができ  
842 なくなり、よってプロトンは実質上チャンネル内にとどまら  
843 ないことになるかと思えます。

840 ただ、あくまでも two channel モデルは仮説であるため、  
841 回転運動やイオン輸送などの 1 分子計測により実験  
842 的に実証してゆく必要があるかと思えます。

842 よろしく願い致します。

843

844 宮田

845 渡邊さん、ありがとうございます。お待ちしております。

846 いただいた総説をよく読んで、また質問します。

847

848 A. 神取秀樹(名古屋工業大学大学院工学研究科)

849 本件について、私も一筆啓上。

850 渡邊さんが書かれた内容と同様ですが、宮田さんの疑問は  
851 pH 差のレベルの問題であり、プロトン駆動力から  
852 ATP の合成と、ATP の分解からプロトンポンプは、2チャ  
853 ンネルモデルでも同様に考えられると思えます。

852 2チャンネルモデル仮説(あるいはその他)を検証するつも  
853 りもあって、数年前に村田武士さん、古谷祐詞さんと  
854 (村田さんの)V-ATPase に対してナトリウムイオン結合  
855 の赤外分光を行いました。このときの目論見は、全長  
856 とリングのみを比較することによって、アルギニンを含  
857 む固定子側の構造情報が得られるだろう、というもので  
858 す。

856 ところが驚いたことに、全長でも、K-ring だけでもほと  
857 んど同じスペクトル(=ナトリウムイオンの結合による構  
858 造変化)が得られました。この実験事実は、ナトリウムイ  
859 オンの着脱に伴う固定子側の構造変化が非常に小さい  
860 ことを示しています。

859 最初の論文ではほとんどメカニズムを考察できません  
860 でしたが、

860 Yuji Furutani, Takeshi Murata, Hideki Kandori (2011)

861 Sodium or lithium ion-binding-induced structural changes  
862 in the K-ring of V-ATPase from *Enterococcus hirae* revealed  
863 by ATR-FTIR spectroscopy. **J Am Chem Soc.** 133(9):2860-3.  
864 doi: 10.1021/ja1116414.

863 <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ja1116414>

864 たまたま総説を書く機会があったので、村田さんの結晶  
865 構造解析から引き出されたモデルと合わせて議論して  
866 います。

866 Hideki Kandori, Yuji Furutani, Takeshi Murata (2015)

867 Infrared spectroscopic studies on the V-ATPase. **Biochimica et Biophysica Acta – Bioenergetics.**  
868 1847(1) 134-141. doi: 10.1016/j.bbabi.2014.07.020

869 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0005272814005581>

870 結論として、2チャンネルモデルでよさそうだと、  
871 ということです。

871 トランスポーターやポンプは両側のアクセスを変える  
872 ために helix opening のような「大きな」構造変化が  
873 必要ですが、ATPase は回転を使うことで上手に運んで  
874 いる、というのが私の印象です。

873

874 Q. 宮田

875 神取先生, お答えありがとうございます. 少し質問があります.

876 1) V-ATPase もプロトンポンプかと思うのですが, ナトリウムイオン結合を測るのはなぜですか?

877 2) “全長”と“K-ring”だけを少し説明してください.

878 お手数かけます.

879

880 A. 高野光則(早稲田大学先進理工学研究科)

881 宮田さんのご質問に対して渡邊さん、神取さんと少し違った角度からコメントします。

882 電荷  $q$  が電場  $E$  に逆らって動く距離を  $d$  とすると、それに必要なエネルギーは  $qEd$  となります。もし  $qEd$  が熱  
883 エネルギー  $kT$  よりずっと大きければ電荷はほとんど遊離できません。これが宮田さんのご指摘の状況だと思  
884 います。しかし、 $qEd$  が  $kT$  と同程度かそれ以下であれば、電荷は電場にトラップされずに遊離(拡散)できます。  
885 ただし、 $F_0$  中の電場がどうなっているかはよく分かっておらず、研究すべきところですが、膜に垂直な方向の一  
886 様電場を仮定してラフに見積ると、膜厚の4分の1くらい(10 Å程度)はブラウン運動で動けそ  
887 うです。

888 プロトンのカルボキシル基からの遊離ですが、 $F_0$  はうまくクーロン力を使っている可能性が高そうです。2本の  
889 half-channel を仮定すると、2本のちょうど間に固定子 a-subunit のアルギニンが配置して  
890 いると考えられています。回転子(c-subunit)のプロトン化したカルボキシル基が逆回転して a-subunit のアル  
891 ギニン(正電荷)に接近するとカルボキシル基の H(正に分極)との間にクーロン斥力が働き、H+が解離します  
892 (別の言い方をすれば、アルギニンへの接近にともない、カルボキシル基の pKa が低下)。ATP 加水分解エネ  
893 ルギーが pmf に勝れば、次々にプロトンが解離して、クーロン斥力で玉突きのようにプロトンを押し出す機構も  
894 考えられます(プロトンであればグロータス機構も考えられます)。

895 ご参考まで。

896

897 宮田

898 高野さん, ありがとうございます. 生物学は本当に楽しいです.

899

900 A. 神取秀樹(名古屋工業大学大学院工学研究科)

901 説明、不十分の点について;

902 1) 村田さんの V-ATPase はナトリウムポンプです。F型にしろ、V型にしろ、プロトン ATPase も測定したいの  
903 ですが、全反射赤外差スペクトル分光法で検出される信号の問題でプロトン型はなかなか難しい点があります。  
904 V-type Na<sup>+</sup> ATPase でナトリウムイオン有無の測定をすると、輸送される膜内部位への結合だけを見ることが  
905 できます。一方、H<sup>+</sup> ATPase でプロトン有無(=pH変化)の測定をすると、見たい膜内の結合部位だけでなく表  
906 面近傍のさまざまなプロトン化過程が見えてしまい、データの解釈が困難になります。

907 実際に我々は、全反射赤外の測定系を構築して使えそうだとわかったときから、いろんな膜タンパク質を試して  
908 きたのですが、いちばん難しいのが水チャンネル、次がプロトンチャンネルです。プロトンの有無は pH 差でなんと  
909 かなるとしても(それでもデータ解釈困難)、水の有無は...

910 2) 全長は文字通り、ATP 加水分解の部位や膜貫通部位などすべてを含むものです(Fig. 2 のすべて)。K-ring  
911 は膜内で回転する部分です(Fig. 2 の NtpK ring)。従って、前者はナトリウムイオンの輸送経路を保っている  
912 一方、後者は回転するリングがむき出しになったものです。

913 赤外差スペクトルはかなり感度がいいので、リングだけに比べて全長では、ナトリウムイオンが結合した際の固  
914 定子側(Fig. 2 の NtpI)の構造変化を捉えることができるだろうと思っていたのですが、スペクトルがほぼ一致

915 して驚いた、という話になります。

916 ちなみにこれらの計測は実時間でのダイナミックなものではなく、スタティックなものですが、ナトリウムイオンの

917 着脱に伴う構造変化、という機能する際に意味のある状態を捉えている、と考えられます。

918 振動分光学はなかなか理解してもらいにくいところがあるので、説明が少し長くなってしまいました。

919

920 宮田

921 神取先生、

922 ありがとうございます。よくわかりました。

923 振動分光学では、プロトンが別のイオンになっているものが特に有用ですね。

924

925 【バクテリアのアクチンにウサギミオシン?】 20141210

926 Q. 宮田

927 電子顕微鏡下で真核生物のアクチン繊維を見つけるために、骨格筋ミオシンを結合させて、“矢じり構造”を形  
928 成させることが古くからおこなわれてきました。この方法は MreB などバクテリアのアクチンに適用することは可  
929 能でしょうか？言い換えると、アクチン上のミオシン結合部位は、どのくらい保存されているのでしょうか？そのよ  
930 うなことを述べた論文はすぐには見つかりませんでした。

931 皆さまからのご教授をお待ちしています。

932

933 A. 上田太郎(早稲田大学先進理工学部)

934 今度のご質問は僕の守備範囲だと言いたいところですが、僕の理解では、真核アクチンと原核アクチンの一次  
935 構造上の相同性はかなり低く、三次元構造の比較から初めてそれと認識されるようになったと記憶しています。  
936 一方で、真核アクチンの配列は、酵母と骨格筋でも85%だかの同一なので、そもそもほとんどの残基が保存さ  
937 れてしまっており、ミオシン結合部位の配列保存性を議論することにはあまり意味がないのに対して、ミオシン  
938 結合部位はおそらく原核アクチンには保存されていないと思います。

939 この点を確認すべく、今僕が持っているいくつかの原核アクチンの総説 PDF をざっと見てみたのですが、両者  
940 の配列のアライメントがひとつもありません。おそらく意味のあるアライメントを作れない程度の配列相同性なの  
941 ではないでしょうか(これは推測です;明日以降、調べてみます)。

942 もし MreB の極性を電顕で見られるようにしたい、ということなら、まず MreB 結合タンパク質を探し、そのタンパ  
943 ク質を結合させただけでは矢じり状の構造が形成されないなら、必要に応じて棒状のドメインを付加するなど  
944 のアプローチが良いのではないかと思います。

945

946 宮田

947 上田さん、早速のお返事をありがとうございます。

948 結合するために必須のアミノ酸残基があるので、立体構造が似ていても結合の可能性は低いという理解です  
949 ね。

950

951 A. 片山栄作(大阪市立大学大学院理学研究科)

952 MreB よりも多くの文献がある ParM は見かけ上、アクチンにそっくりですので、S1 との結合実験はすぐに思い  
953 つくはずです。しかし、そのような話が出ている文献は1つもないことから、恐らく実験しても結合しない、という  
954 ことだと思われます。

955

956 A. 塩見大輔(立教大学・理学部)

957 上田先生の仰るとおり、バクテリアのアクチン MreB と真核アクチンの構造は非常によく似ていますが、  
958 sequence identity は 15%ほどです。MreB の構造の論文に MreB と酵母アクチンのアライメントがあります。

959 Fusinita van den Ent, Linda A. Amos, Jan Löwe (2001)

960 Prokaryotic origin of the actin cytoskeleton. **Nature**. 413(6851):39-44. doi: 10.1038/35092500.

961 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11544518>

962 また、MreB フィラメントに関しては今年 ELife に論文が出ていまして、タイトルの通りですが、二本のフィラメント  
963 が antiparallel に存在すると言われています。

964 Fusinita van den Ent, Thierry Izoré, Tanmay Am Bharat, Christopher M Johnson, Jan Löwe (2014)

965 Bacterial actin MreB forms antiparallel double filaments. **Elife**. 3:e02634. doi: 10.7554/eLife.02634.  
966 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24843005>  
967

968 **【光合成の光化学系Ⅱ (PSII)】 20141229**

969 Q. 宮田

970 領域内で、PSII の内部には何が通っているかが領域内で話題になったので、大阪市立大学の川上さんにきい  
971 てみました。

972

973 川上恵典(大阪市立大学複合先端研究機構)

974 先ほどの PSII のお話ですが、酸素発生中心部位である OEC は PSII 内部に存在しており、またその周りには  
975 多数の水分子が存在しています。OEC で水分解が起こってそこから電子が PSII 内部のコファクターを介して  
976 別の膜蛋白質へと電子伝達されています。一方、水分解反応時に形成されたプロトンは、OEC 周りの水分子  
977 やアミノ酸側鎖を介してプロトンリレー反応によって PSII の外(脂質二重膜の内側)に放出され、プロトン濃度  
978 勾配を形成すると考えられています。

979 [http://www.spring8.or.jp/ja/news\\_publications/publications/news/no\\_59/#topic](http://www.spring8.or.jp/ja/news_publications/publications/news/no_59/#topic)

980

981 「PSII の内部には何が通っているか」ということで、小さな分子であれば結構内部まで入っていきます。イオン  
982 においては、塩素イオンは酸素発生中心(OEC)の近傍に存在していてプロトン放出に機能しています。そして、  
983 塩素イオンと同族元素である臭素・ヨウ素イオンといったイオン半径のやや大きめのものでも入っていきます。  
984 これらイオンは水の流入経路を利用して OEC の近傍へと入って行くと考えられています。

985 また、結晶凍結に利用している抗凍結剤溶液(一般的にはグリセリンやエチレングルコールなど)も PSII のあ  
986 る程度内部にまで侵入していて、本来水が存在するであろう場所に存在しています。現在の結晶構造では、  
987 OEC 直近にこれら低分子化合物は存在していません。この理由として、これら化合物は水の流入経路のサイ  
988 ズよりも大きいためだと考えられます。そのため、水とほぼ同じサイズのもの OEC 直近にまで侵入できると  
989 考えられ、実際に水と同様に小さなサイズで強力な還元剤であるヒドロキシルアミン(NH<sub>2</sub>OH)は、OEC 直近  
990 にまで侵入し、OEC を還元して壊します。

991 グリセリンも現在の結晶構造の OEC 直近には存在していませんが、もし水分解反応時に PSII 内部でダイナミ  
992 ックな構造変化が起こるとするならば(水の流入経路が大きく開くなど)、OEC 直近にまで侵入して作用するか  
993 もしれません。

994

995 PSIIの重要な機能は、アンテナで光エネルギー吸収を行い、反応中心にエネルギー伝達反応中心での電荷分  
996 離・電子伝達反応と、還元物質(プラストキノール; PQH<sub>2</sub>)の形成、膜内外でのプロトン濃度勾配の形成なの  
997 だと思います。陸生植物や多くの藻類は H<sub>2</sub>O を分解して電子を得ますが、光合成細菌(酸素非発生型細菌の総  
998 称)は H<sub>2</sub>S を分解して電子を得ます(そのため光合成細菌は O<sub>2</sub> は発生せず、S を形成します)。電荷分離反  
999 応が起こった後に反応中心で形成された正孔を埋めるため、H<sub>2</sub>O または H<sub>2</sub>S が分解されます。電子供与体  
1000 (H<sub>2</sub>O でも H<sub>2</sub>S でも)となるものであれば実は何でも良かったのかもしれない。

1001

1002 宮田

1003 川上さん、ありがとうございます。PSII はトランスポーターとはだいぶ異なりますね。

1004

1005 **【タンパク質分子の質感(硬さ)】 20150313**

1006 Q. 宮田

1007 先月に金沢大の古寺さんに大阪市大でセミナーをしていただいた際に、“タンパク質は皆が思っているより硬い”  
1008 という話題が出ました。それで、以前に北陸先端大(現、山形大)の川上 勝さんに、模型と本当のタンパク質の  
1009 硬さの差について尋ねたことを思い出しました。当時のお答えは以下の様な内容でした。

1010 「大きさが異なるので単位面積当たりの弾性率、ヤング率で考えると、タンパク質のヤング率は数ギガ Pa から、  
1011 柔らかいものでも数百メガ Pa で、シリコーン樹脂のヤング率は 10 メガ Pa だから、タンパク質の方が 10-100  
1012 倍、硬いという事になります。他の素材で、タンパク質と同等のヤング率のものは、テフロン樹脂、ポリプロピレ  
1013 ン(百貨店でよくあるプラスチック商品)などです。」

1014 私たちはタンパク質分子を考えると、どのような質感(硬さ)を想定するのがよいのでしょうか？プラスチックで  
1015 できたドメインが、人工関節でつながった感じでしょうか？だとしたら、構造をとらずに揺らいでいる部分(天然変  
1016 性?)はどんな感じでしょう？

1017 ご教授いただければ幸いです。

1018

1019 A. 川上 勝(山形大学工学部)

1020 宮田先生から提起されていますタンパク質の硬さについてですが、以前私が宮田先生にお伝えした内容に関  
1021 して、これは私が東工大猪飼先生の結果や、AFM、光ピンセットの一分子力学のこれまでの文献値を調べて  
1022 述べた内容です。

1023 ところが最近、NICT の大岩先生も同様のコメントをされていることを知りました。(タンパク質 ヤング率 でグ  
1024 グった結果です)本当に偶然ですがそっくりのコメントで、驚いています。

1025 大岩和弘 (2005)

1026 「いきもの」に新たな技術の種を見出す NiCT News

1027 <http://www.nict.go.jp/publication/NICT-News/0512/p01.html>

1028 しかし硬いかどうかの基準は、結局人が指で押してみ、そのひずみの大きさで「押し測って」いるにすぎず、  
1029 熱揺らぎのエネルギーが、模型のスケールでは我々が指で押すよりもはるかに大きな力に換算されるというこ  
1030 とを示唆しているように思います。

1031 ※ソフトボール大のポリスチレン球を数%押し縮めるのに必要な力を連想してください。

1032 ちなみに1分子力学で得られた球状タンパク質1分子のバネ定数は、0.5-10nN/nm です。

1033 0.5 はヘリックスだけからなるタンパク質、アポミオグロビン 10 はベータバレルからなるタンパク質の、ベータシ  
1034 ート方向に沿った硬さです。

1035 我々は 2010 年にミオシンロッド(coiled-coil)のバネ定数を最大でも 0.5nN/nm (1nm あたり)と実測していま  
1036 す。4nm の長さだと 0.1nN/nm 程度となり、かなり柔らかくなりますが、依然として模型のゴムよりはまだまだ硬  
1037 いということになります。

1038

1039 A. 古寺哲幸(金沢大学理工研究域数物科学系)

1040 興味深い疑問を上げていただいてありがとうございます。

1041 天然変性領域(Intrinsically Disordered Region, IDR)の“感じ”に関してですが、安藤研からの論文で、関連す  
1042 る結果が発表されていますのでお知らせします。

1043 その論文は、安藤研の卒業生の宮城君によるもので、FACT というクロマチンリモデリングに関わる天然変性タ  
1044 ンパク質(Intrinsically Disordered Protein, IDP)の高速 AFM 観察を行い、IDR の機械的な特徴について調べ



1045 たという内容です。

1046 Atsushi Miyagi, Yasuo Tsunaka, Takayuki Uchihashi, Kouta Mayanagi, Susumu Hirose, Kosuke Morikawa,  
1047 Toshio Ando (2008)

1048 Visualization of Intrinsically Disordered Regions of Proteins by High - Speed Atomic Force Microscopy.  
1049 **ChemPhysChem**. 9(13) 1859-1866. doi:10.1002/cphc.200800210.  
1050 <https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cphc.200800210>

1051 彼は、FACT の IDR の Microscopic な剛直長(アミノ酸鎖の曲がりやすさと考えられる)を測定したのですが、  
1052 その値は 1.1~1.2 nm(アミノ酸の平均長は 0.35 nm くらいですから 3 個くらいは真直ぐに並んでいたいという  
1053 性質を表している)という風に見積もられました。

1054 また、コネクチン(タイチン)のランダムコイルと考えられている PEVK 領域のそれは、いろいろな報告値(0.4~  
1055 2.5 nm)があるのですが、平均すると 0.93 nm となるそうです。

1056 一方、構造を持っている代表的なタンパク質(GFP など)の値は、0.36~0.5 nm ということが報告されています。  
1057 これらの値は IDR のそれよりも短いので、アミノ酸鎖がすぐに曲がって構造をとろうとしていることを反映してい  
1058 る長さといえるのだと思います。

1059 さらに、宮城君は AFM 測定から FACT の IDR のヤング率を見積もっていて、その値は 9~58 MPa と見積も  
1060 られたそうです。川上先生のお話にあるように、通常の構造を持っているタンパク質のヤング率は数 GPa~数  
1061 100 MPa なので、IDP のそれは 1~2 ケタ小さいと言えるようです(川上先生のとえを使えば、IDR はシリコ  
1062 ーン樹脂くらいの柔らかさといえる)。変性剤を入れたときのタンパク質のヤング率が 2~6 MPa と報告されて  
1063 いますので、IDP はそれよりもちょっとひずみにくいというイメージなのかと思います。

1064 また最近、いくつかの IDP を AFM 観察する機会があるのですが、安藤先生が IDR に共通の面白い性質を見  
1065 つけました。観察した限りでは、どの IDP の IDR の Microscopic な剛直長が、1.1~1.2 nm となるということ  
1066 です。アミノ酸配列が全然違うのに、このような性質があつてとても面白いと思っています。

1067 Toshio Ando, Noriyuki Kodera (2012)

1068 Visualization of mobility by atomic force microscopy. **Methods Mol Biol**. 896:57-69. doi: 10.1007/978-1-  
1069 4614-3704-8\_4.  
1070 [https://link.springer.com/protocol/10.1007%2F978-1-4614-3704-8\\_4](https://link.springer.com/protocol/10.1007%2F978-1-4614-3704-8_4)

1071 まとめて、IDR はびんとしていて畳まりにくいために、構造を持っているタンパク質よりひずみやすいという感  
1072 じなのかなあと想像しています。逆に考えると、構造を持っているタンパク質は畳まろう畳まろうとしていて硬く  
1073 なっているというイメージです。

1074 先日のセミナーでは、これらを根拠に応答させてもらいました。

1075 長文ですみません。

1076

1077 Q. 宮田

1078 川上さん、古寺さん、明解なお答えをありがとうございます。以前からの疑問が解決しました。タンパク質は、  
1079 「ポリスチレンの塊からシリコン樹脂のひもが伸びている」感じですね。ドメイン間のつながりの硬さについて  
1080 は場合に依存するということでしょうか？

1081

1082 A. 水谷泰久(大阪大学大学院理学研究科)

1083 神取さんから、運動マシナリーのメールディスカッションを転送していただきました。

1084 関連した問題を以前考えたことがあります。

1085 「押してどれくらい凹むか？」という点でタンパク質の柔らかさを考えてみます。この柔らかさの指標には圧縮率  
1086 がよい物理量になります。そこで等温圧縮率を、室温のデカン(無極性液体)、水(極性液体)、ヘモグロビン(タ  
1087 ンパク質)で比較してみます。

1088 等温圧縮率 / GPa<sup>-1</sup>

1089 デカン 1.1

1090 水 0.5

1091 ヘモグロビン 0.15

1092 であり、ヘモグロビンの圧縮率は液体のそれに比べてかなり小さいことがわかります。実はヘモグロビンはタン  
1093 パク質の中でも圧縮率が大きい方で、私が数十のタンパク質を調べた限りでは平均はさらに小さかったです。  
1094 つまり、タンパク質は「押しても凹みにくい」物質なのです。

1095 このように考えるとタンパク質は硬い物質であるように思え、よく言われるタンパク質の柔軟性と矛盾しているよ  
1096 うに思えます。しかし、私は圧縮率が小さいことがタンパク質のアロステリック効果には重要なのではないかと  
1097 考えています。タンパク質の圧縮率が小さいのは、タンパク質内に原子が密にパックされていることに起因して  
1098 います。このような条件であれば、タンパク質内のある場所で起きた構造変化は隣接した原子の変位を次々と  
1099 生み出すので、離れた場所に構造変化を伝えることができます。逆に、もしタンパク質内が隙間の多い構造を  
1100 もっていると、ある場所で構造変化が起きてもそれによって生じた歪みは簡単に吸収されてしまうので遠くには  
1101 伝わりません。

1102 私のタンパク質のイメージは、堅めのプラスチック球(スーパーボールとか)が寄り集まったものです(例えば、  
1103 球の中に磁石が入っていて、寄り集まっている)。その集合体の中心に向かって押してもあまり凹まないけれど、  
1104 特定の方向に力を加えれば全体が変形するという様子をイメージしていただければでしょうか。

1105 「タンパク質内では原子が密にパックされていること」は、「タンパク質が一般に単一の立体構造に折れ畳まれ  
1106 るという性質をもつ」と関係しています。上に述べたようなことを考えますと、「タンパク質内では原子が密に  
1107 パックされていること」は機能の点でも構造形成の点でも重要な性質であるように思えます。

1108 どの程度言いたいことが伝わっているか不安ですが、議論の種になれば幸いです。

1109

1110 掲載していただいてありがとうございます。

1111 これまでの議論も興味深く読みました。弾性という観点ではこれまで考えたことがなかったので、考えてみます。  
1112 その後考えてみて、私が書いた柔らかさというのは、最初の宮田さんの質問にある質感とは少し違う内容かな  
1113 という気がしました。

1114 よい機会ですのもう少し考えてみます。

1115

1116 A. 川上 勝(山形大学工学部)

1117 補足です。「押した場合」のヤング率を先ほど述べましたが、AFM で一分子の両端を持って引っ張ったバネ  
1118 定数で 同様にヤング率を見積もってみると、半径 2nm の球状蛋白(ミオグロビンを想定)、その実測された  
1119 バネ定数が 0.5N/m だとして、ヤング率を出すと、約 0.2GPa です。先の書き込みでミオシンロッドが柔らか  
1120 いといいましたが、それは紐状の形態だからであり、ヤング率を計算すると(単位面積を考慮すると)、その  
1121 値は約 1GPa 程度となり、実は球状蛋白よりも高い数値になります。

1122

1123 宮田

1124 それでは、水谷先生のおっしゃるような模型を 3D プリンターで作れないでしょうか？

1125 ドメインのはっきりしたタンパク質を少しデフォルメしたものを 3D プリンターで出力して、ネオジム磁石かゴムひ  
1126 もでつないで、塊にまとめます。それで、この部分を押したら、ドメインがずれて分子内側に存在していた重要な  
1127 側鎖が外側へ向く、みたいなことです。川上さんがすでに試されているかもしれませんね。  
1128

1129 【べん毛モーター固定子の予測構造】 20150423

1130 Q. 宮田

1131 今週、神取先生らが企画された分子研研究会に参加させていただき、以下のことを私なりに感じて来ました。

1132 1) 膜輸送研究の世界では、高解像度の構造と、変異体のデータを基にメカニズムの真髄に踏み込んでいる

1133 2) ストーリーを作るにあたっては、構造と変異体の情報が補完する関係である

1134 3) 膜輸送を理解する鍵は膜貫セグメントなどタンパク質内部の解離基の  $K_a$  である

1135 4) 高解像度の議論では分光学や中性子散乱の結果が有効になる

1136 5) 膜輸送のタンパク質は概して構造変化が小さく、運動タンパク質とは異なる

1137 (1)と(2)からバクテリアべん毛モーター固定子を考えた場合、本当の構造を得ることは難しくても、変異体のデ  
1138 ータを積み重ねることは可能なように思います。膜貫通セグメントを中心に構造を予測して、判断を迷う部分は  
1139 変異体を作ってよさそうな方を選択すれば、正解に近い予測構造が得られてモーターのメカニズムに迫れるの  
1140 ではないかと思いました。北尾先生に次にお会いした時にきいてみようと思います。

1141 運動マシナリーの皆さまに、この戦略についての限界や問題点をご教示いただければさいわいです。よろしく  
1142 お願いします。

1143

1144 A. 小嶋誠司（名古屋大学大学院理学研究科）

1145 まずは、分子研研究会、お疲れさまでした。興味深い内容の発表が多くて内容の濃い会だったと思います。議  
1146 論も活発で盛況だったと思います。

1147 神取先生を始め、世話人の方々に感謝申し上げます。

1148 「(1)と(2)からバクテリアべん毛モーター固定子を考えた場合、本当の構造を得ることは難しくても、変異体のデ  
1149 ータを積み重ねることは可能なように思います。膜貫通セグメントを中心に構造を予測して、判断を迷う部分は  
1150 変異体を作ってよさそうな方を選択すれば、正解に近い予測構造が得られてモーターのメカニズムに迫れるの  
1151 ではないかと思いました。北尾先生に次にお会いした時にきいてみようと思います。」

1152 北尾先生のお話にあった、MotAB の構造モデルは非常に興味深く、変異体を作成して機能への影響を調べる  
1153 時期に来たと思います。共同研究を始める際に、上記のような変異体へフィードバックする話をしていましたの  
1154 で、これから進められると思います。

1155 ところで、同じような手法を、かつて LacY で Ron Kaback さんが行っていました。

1156 H. Ronald Kaback, Miklós Sahin-Tóth, Adam B. Weinglass (2001)

1157 The Kamikaze approach to membrane transport. **nature reviews molecular cell biology**. 2(8):610-20.  
1158 10.1038/35085077.

1159 <https://www.nature.com/articles/35085077>

1160 Paul L. Sorgen, Yonglin Hu, Lan Guan, H. Ronald Kaback, Mark E. Girvin (2002)

1161 An approach to membrane protein structure without crystals. **PNAS**. 99(22):14037-40. doi:  
1162 10.1073/pnas.182552199.

1163 <https://www.pnas.org/content/99/22/14037>

1164 Kaback さんのラボでは、LacY の膜貫通部位のすべての残基の変異体を作成してあり、クロスリンクやスピン  
1165 ラベルの実験が行われて、その膨大なデータをもとに構造のモデルを出していました。このモデルの論文が出  
1166 て9ヶ月後の 2003 年 8 月に、岩田先生との共同研究で結晶構造が発表されることとなります。結晶の論文を  
1167 見ると、モデル構造は大まかには合っていることが書かれています。ただし残基間の距離は、架橋実験では小  
1168 さめに評価していて、10-15Å ほど短くなっているようです。とにかくものすごい量の変異体の作成が必要になる

1169 ので、なかなかまねはできないですね。すっきり結晶構造を解く方が近道な気がしますね。

1170

1171 A. 塚崎智也(奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科)

1172 以下は YidC の構造予測例です。

1173 Stephan Wickles, Abhishek Singharoy, Jessica Andreani, Stefan Seemayer, Lukas Bischoff, Otto  
1174 Berninghausen, Johannes Soeding, Klaus Schulten, Eli O van der Sluis (2014)

1175 A structural model of the active ribosome-bound membrane protein insertase YidC. **eLife**. 3:e03035. doi:  
1176 10.7554/eLife.03035.

1177 <http://elifesciences.org/content/3/e03035>

1178 彼らは、我々が報告をする前に、YidC の構造モデルを構築し、添付の論文にて、電子顕微鏡の像と共に議論  
1179 しています。膜貫通領域の順番はありましたが、この方法では傾いたヘリックスの予測は困難であると思  
1180 います。ここでは膜貫通領域を垂直と仮定して配置しています。しかしながら、構造情報が無い状態で、膜貫通  
1181 ヘリックスの配置が正しく予測できていたのは興味深いです。

1182

1183 **【千倍に巨大化した大腸菌】 20150525**

1184 Q. 宮田

1185 “ウレアプラズマ”と命名されているマイコプラズマの種類は、どれも細胞が小さく、種によっては直径が 100nm  
1186 以下の球状とのことです。

1187 <https://services.cbib.u-bordeaux.fr/molligen4/#!/phylo>

1188 大腸菌を直径 1micron, 長さ 3micron の円筒状とすると, ウレアプラズマと大腸菌の体積比は 4500 倍になり  
1189 ます. ウレアプラズマは培地で生育できるグラム陽性菌で, 数日で固形培地上のコロニーが得られます. もしウ  
1190 レアプラズマが生育に必須な反応を行うための最小体積ですませているならば, なぜ大腸菌, あるいはそれ以  
1191 外のバクテリアは大きいのでしょうか? ウレアプラズマのゲノムは 800kbp で大腸菌の5分の1もありますから,  
1192 “染色体を格納するために必要”は理由になりません.

1193 染色体分配, ペプチドグリカン合成, 運動, その他のマシナリーに“フレーム”を提供するためでしょうか? それ  
1194 が正しいとすると, 大腸菌は付加的な(?)マシナリー構築のために, 代謝と複製に必須のサイズから千倍も巨  
1195 大化していることになります.

1196 少しサイトを検索してみましたが, それらしい議論は見つかりませんでした.

1197 ご教授いただければ幸いです.

1198

1199 A. 片山 勉(九州大学薬学研究院)

1200 大変重要でありながら、未だ解析情報が非常に限られている 難しい質問と思います。

1201 私の本来の専門とは違いますが、以前から興味持っていたものですので、できる範囲で考えてみたいと思いま  
1202 す。大腸菌のサイズは何のために必要か、という問いを考えるために、大腸菌のサイズを遺伝子変異により小  
1203 さくできるか、もし可能ならそこで何が阻害され何が阻害されないかという問いを考えたいと思います。まず細  
1204 胞サイズのある程度の縮小化は可能です。下記の論文(1)では、脂質合成系の変異体で、LB 培地での細胞  
1205 サイズ(体積)が野生型の 30%程度になることが報告されています。長軸、短軸とも短縮されているため竿状  
1206 の形態は保たれています。細胞膜合成の速度が落ちることが縮小化の原因と推測しています。またこの細胞  
1207 では、少なくとも転写・翻訳に阻害が生じると思われ、増殖速度が2分の1になっています(脂質合成阻害の間  
1208 接的帰結かもしれませんが)。DNA 複製・分配、鞭毛形成・運動がどうなっているかは不明ですが、興味ある  
1209 ところです。細胞分裂は均等分裂になっているようです。最少培地でも縮小化と増殖速度の低下は起こりま  
1210 す。LB に比べてその程度は相当緩和されています。

1211 加えて、収縮環を形成する FtsZ の過剰発現(2)により、あるいは、FtsZ 阻害遺伝子の欠損(3)により細胞が 10-  
1212 25%短縮するとありますが、この程度の小さい変化では他に大きな欠損は出ないようです。

1213 ここからは、かなり想像を含みますが、まず染色体 DNA の複製開始タイミングは、細胞サイズにより(ある程度)  
1214 決定されるという説があり、その分子機構は不明ですが、現象論的には否定できないと思います。細胞サイズ  
1215 の極端な縮小化は染色体複製開始を阻害する可能性があると思います。分子機構については、活性型の複  
1216 製開始蛋白質 ATP-DnaA の細胞内レベルの制御が重要であることはまちがいでなく、私たちが行なっている  
1217 ATP-DnaA 産生の制 御機構の解析が、やがて、細胞サイズの認識機構と結びつくかもしれないと期待しては  
1218 います。ある程度の細胞サイズは、DMA の収納のみならず、染色体 DNA の構造的自由度、あるいは、機能  
1219 的なマクロドメイン形成のため必要なのかもしれません。それが限定されると、多数の遺伝子の転写(および転  
1220 写と共役した翻訳)を活発に行なうことや DNA 複製を高速(37°Cなら1秒に 1kb)で行なうこと、あるいは、その  
1221 ように高速に合成される DNA 鎖を順次スムーズに運搬し分配すること等のプロセスが阻害され、高い増殖速  
1222 度を達成できないののかもしれません。転写、DNA 複製、DN 運搬(あるいは DNA 凝集と分配)のマシナリーの

1223 運動は、かなり広範囲にわたって DNA 鎖の構造(超らせん構造や folding)に変化を与えることは、あり得ること  
1224 と思います。ですので、増殖速度がかなり低いものは、これらのプロセスも緩慢でよいとため DNA の構造的自  
1225 由度や機能的マクロドメイン形成の要求性も低く、細胞サイズも小さくてもよいのかもしれませんが。ただ、これの  
1226 みが、ある程度大きい細胞サイズが必要とされる唯一の原因というわけではないのは、間違いないと思います。  
1227 例えば細胞の表面積が大きい方が栄養分の取り込み有利とか、単にリボソームを多数もつための容積が必要  
1228 ということもあるかもしれません。DNA の分配に膜蛋白が関わる可能性も指摘されており、そのような複合マ  
1229 シナリーの形成のためという可能性もあると思います。未だ解析情報が少なく、ちゃんとした答えは難しいです  
1230 が、いろいろな意見が聞ければ幸いに思います。

1231 (1) Zhizhong Yao, Rebecca M Davis, Roy Kishony, Daniel Kahne, Natividad Ruiz (2012)  
1232 Regulation of cell size in response to nutrient availability by fatty acid biosynthesis in Escherichia coli.  
1233 **PNAS**. 109(38):E2561-8. doi: 10.1073/pnas.1209742109.

1234 <https://www.pnas.org/content/109/38/E2561.long>

1235 (2) J E Ward Jr, J Lutkenhaus (1985)  
1236 Overproduction of FtsZ induces minicell formation in E. coli. **Cell**. 42(3):941-9.  
1237 doi: 10.1016/0092-8674(85)90290-9.

1238 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2996784/>

1239 (3) Norbert S Hill, Paul J Buske, Yue Shi, Petra Anne Levin (2013)  
1240 A Moonlighting Enzyme Links Escherichia coli Cell Size with Central Metabolism. **PLoS Genetics** 9(7):  
1241 e1003663. doi:10.1371/journal.pgen.1003663

1242 <https://journals.plos.org/plosgenetics/article?id=10.1371/journal.pgen.1003663>

1243

1244 宮田

1245 片山先生、お返事ありがとうございます。

1246 結論を得るのは難しいとしても、大腸菌が代謝と複製のみに必要な最小サイズよりずっと大きいことが、研究  
1247 者間での共通認識ということですね。

1248 私は大腸菌は最小ではなくても、せいぜいその 10 倍くらいだろうと、なんとなく思っていたので、ウレアプラズマ  
1249 の大きさを聞いた時は衝撃でした。

1250

1251 A. 上田太郎(早稲田大学先進理工学部)

1252 生物の大きさは千差万別ですよ。近縁種でも 10 倍くらいは違う例はいくらでもあります。

1253 一般論として、環境との関係や、他種との競争、同種他個体との競争では体の大きさ大小それぞれにメリット  
1254 があるはず。バクテリアの場合、バクテリア同士で食うか食われるかということはないのかもしれませんが、栄養を  
1255 巡る競争関係では、大きさによる有利不利はあるのではないのでしょうか。環境条件がコントロールされた純粋培  
1256 養では見えてこない要素もあるのではないかとおもいます。

1257 身も蓋もないつまらないコメントですみません。

1258

1259 A. 片山 勉(九州大学薬学研究院)

1260 そのように思います。

1261 ウレアプラズマの場合は、DNA 濃度からいえば、例えば枯草菌の孢子(芽胞)よりも高濃度になっているよう  
1262 すね。そのような状態で複製、転写できることが特殊なのかもしれません。そのような生物の複製装置、転写装

1263 置の研究もおもしろいかもしれませんね。

1264 では大腸菌研究会でお話できるのを楽しみにしております。

1265



1266 **【世界中に大腸菌】 20150601**

1267 Q. 宮田

1268 世界の至る所からマイコプラズマは単離されるのですが、世界のどこでも同じ種が単離され、それらは皆似た  
1269 ようなゲノムを持っています。

1270 目に見えるような動植物の場合、海などで遺伝的に隔離されると、すぐに別のものに進化するので、それぞれ  
1271 の島や地域には異なった生き物が棲息しています。マイコプラズマの場合は目に見える動植物よりライフサイ  
1272 クルが短いので、さらに短時間で別の生き物になってもおかしくありません。

1273 ヒトを宿主とするマイコプラズマの場合は、宿主が飛行機で移動するので、世界中で感染が起こっているとも考  
1274 えられますが、ヒト以外の宿主の場合にはこれでは説明できません。微生物のゲノムには必然性がある、地  
1275 理的隔離を起こしても変化できないのでしょうか？あるいは、マイコプラズマは小さいので、風に乗って地球全  
1276 体を自由に行き来しているのでしょうか？

1277 私はマイコプラズマ以外の微生物の単離状況をあまり知らないのですが、多分、世界中どこでも同じような大  
1278 腸菌や、サルモネラや、枯草菌や、ビブリオや、菌周病菌や、磁性細菌や、酵母や、その他が単離されている  
1279 のではないですか？もしそうだとするとこれはどのように理解されるのでしょうか？

1280 皆さまのご理解をお聞きしたいです。

1281 あるいは今週の大腸菌研究会にその機会があるのかもしれませんが。

1282

1283 A. 春田 伸(首都大学東京大学院理工学研究科)

1284 Lourens Baas Becking(1895-1963)が、"Everything is everywhere, but the environment selects"  
1285 と提唱しています。今でもこの考えは古くありません。

1286 地球全般への拡散は、

1287 ・細菌は成層圏でも検出される

1288 ・黄砂の細菌は米国西海岸にも届く

1289 ことなどからも不思議ではありません。地下水を介していると考えられる事例もあります。

1290 また、環境中で微生物は活発に増殖しているわけではなく、その世代時間は、数年以上のもものもあります。それ  
1291 らは、大陸が分かれる前から、あまり変化しないままに世界に分布していると考えられる方もいらっしゃいます。

1292 一方で、地理的隔離が説明しやすい温泉細菌についてしてみると、同種に分類されるほど近縁(16S rRNA 遺  
1293 伝子はほぼ同一)でも、ゲノムワイドに解析すると、国や地域による違いは見られます。

1294 根粒菌でも宿主特異性が見られるものは、地域性を示唆するような結果も報告されています。

1295 ぶどう表面に生息しワイン醸造で働く *Saccharomyces cerevisiae* も系統分類的には同種でも、各ワイナリー  
1296 (ぶどう畑)で異なっており、他地域の酵母を畑に散布しても定着しなかったという報告もあります。

1297 回答になっていないかもしれませんが、なにかの参考になれば幸いです。

1298 なお、私も編者のひとりを務めた「環境と微生物の事典」(朝倉書店)も参考にさせていただけると思います。

1299 <http://www.asakura.co.jp/books/isbn/978-4-254-17158-7/>

1300

1301 宮田

1302 春田さん、ありがとうございます。勉強になります。

1303 “微生物は小さいので空を飛んで行ける”は、「そんなことない、あるはずない」と思いながら書いてみたのです  
1304 が、まさか本当とは思いませんでした。長年の疑問が晴れたように思えて来ました。あっけない幕切れです。

1305

1306 【膜電位, 10 万ボルト/cm】 20150616

1307 Q. 宮田

1308 領域会議ではお世話になりました.

1309 一昨日に, 阪大蛋白研の中川淳史先生のセミナーを拝聴しているうちに, 以前からの疑問を思い出しました.

1310 細胞膜には-50 mV/5 nm という急勾配の電位がかかっています. これは何のためでしょう? 神経の様な興奮

1311 性の細胞や, 魚の発電器官などの場合には, 目的は明白です. しかし, この膜電位は, 細胞に一般化されるも

1312 ので, さらに大腸菌などにもあてはまったように記憶しています. もちろん, 膜の内外で電解質の組成が異なれ

1313 ば膜電位は自然に生じるはずですが, その場合は, 膜電位は生き物や組織に固有の数字になるはずです.

1314 ひとつすぐに思いつくのは, “細胞が膜電位をエネルギーの預金としてもちいている”です. イオンとカップルして

1315 機能するタンパク質を膜上にならべておけば, ATP も作れますし, 運動もできますし, タンパク質を輸送すること

1316 もできます. もうひとつは, “全ての細胞が実は興奮性である”です.

1317 最終的な正解はないように思いますが, 関係の皆さまのご意見や, 以前にあった議論など, ご教示いただけれ

1318 ば幸甚です.

1319

1320 A. 南野 徹(大阪大学大学院生命機能研究科)

1321 これが生物が生きている証なのではないのかといつも思っています. 膜電位の消失=生命活動の停止=死では

1322 ないのでしょうか?

1323

1324 宮田

1325 南野さん, では, 膜を完全に透過化して死んでしまったマイコプラズマを, どうにかして生き返らせたなら皆さんに

1326 褒めてもらえそうですね?

1327

1328 A. 南野 徹(大阪大学大学院生命機能研究科)

1329 生き返らせれたら, 凄いことだと思います. ATP とリピッドを入れたら, 復活するのでしょうか?

1330

1331 A. 岡田康志(独立行政法人理化学研究所)

1332 生理学の教科書などでは,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase で  $\text{Na}^+$  の電位を維持することが, glucose や amino acid など

1333 の active transport の energy source としているとなっていたかと思います. eg  $\text{Na}^+/\text{glucose}$  symporter

1334

1335 宮田

1336 早速のお返事, ありがとうございます.

1337 生理学の教科書の記述は, 膜電位が現在の生物で有効に使われているという事実 に過ぎません. 膜輸送の

1338 エネルギー源の選択肢は, 他にもあったはずで. あるいは, 全ての生物の起源は電子伝達系を持つ細胞で,

1339 その時に獲得した膜輸 送装置を現在も使っているということかもしれません.

1340

1341 A. 南野 徹(大阪大学大学院生命機能研究科)

1342  $\text{Na}^+$  world という仮説が存在します.  $\text{Na}^+$  が  $\text{H}^+$  よりも先にエネルギーに使われた. その後,  $\text{H}^+$  が使われるよう

1343 になったという仮説です.

1344 大腸菌の会で西山さんが発表された仮説は上記の仮説と非常に似ています.

1345 Armen Y Mulkidjanian, Michael Y Galperin, Kira S Makarova, Yuri I Wolf, Eugene V Koonin (2008)

1346 Evolutionary primacy of sodium bioenergetics. Biol Direct. 3:13. doi: 10.1186/1745-6150-3-13.  
1347 <https://biologydirect.biomedcentral.com/articles/10.1186/1745-6150-3-13>  
1348 Armen Y Mulikidjanian, Kira S Makarova, Michael Y Galperin, Eugene V Koonin (2007)  
1349 Inventing the dynamo machine: the evolution of the F-type and V-type ATPases. Nat Rev Microbiol.  
1350 5(11):892-9. doi: 10.1038/nrmicro1767.  
1351 <https://www.nature.com/articles/nrmicro1767>  
1352 私は、この仮説が気に入って、べん毛輸送装置の進化の論文を昨年書いて送ったのですが、お前の論文で進  
1353 化なんか語るなという感じでリジェクトをくらいました。  
1354 Mulikidjanian AY と Koonin EV は Bioenergetics の進化について今も考えているようです。  
1355 D. V. Dibrova, M. Y. Galperin, E. V. Koonin, A. Y. Mulikidjanian (2015)  
1356 Ancient Systems of Sodium/Potassium Homeostasis as Predecessors of Membrane Bioenergetics.  
1357 Biochemistry. 80(5):495-516. doi: 10.1134/S0006297915050016.  
1358 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5898217/>  
1359  
1360 Q. 宮田  
1361 “膜電位”はつまらなかったかな？と少し心配しましたが、皆さんからお返事いただきました。関係もわかるよう  
1362 にして FB に載せておきました。膜電位変化の一般性ははどうですか？たとえば森本さんからのコメントはありま  
1363 せんか？バクテリアの Myxococcus は膜興奮しますか？  
1364  
1365 A. 西山雅祥(京都大学白眉センター)  
1366 領域ではいつもお世話になりありがとうございます。  
1367 表題の件について、コメントさせていただきます。  
1368 Subject には【膜電位, 10 万ボルト/cm】とあります。確かにこの表現は、数値的には正しいのですが、少し単  
1369 位を変換するとより本質が見えやすくなります。  
1370 少し古い書籍ですが、徳永万喜洋先生が、膜電位差を nm, pN といった単位系を使って変換する話を紹介され  
1371 ています。  
1372 ---  
1373 ナノピコスペースのイメージング—生物分子モーターのメカニズムを見る (生物物理から見た生命像 (3))  
1374 徳永万喜洋「第9章 ゆらぎで働くメカニズム」p. 136  
1375 <https://www.amazon.co.jp/%E3%83%8A%E3%83%8E%E3%83%94%E3%82%B3%E3%82%B9%E3%83%9A%E3%83%BC%E3%82%B9%E3%81%AE%E3%82%A4%E3%83%A1%E3%83%BC%E3%82%B8%E3%83%B3%E3%82%B0%E2%80%95%E7%94%9F%E7%89%A9%E5%88%86%E5%AD%90%E3%83%A2%E3%83%BC%E3%82%BF%E3%83%BC%E3%81%AE%E3%83%A1%E3%82%AB%E3%83%8B%E3%82%BA%E3%83%A0%E3%82%92%E8%A6%8B%E3%82%8B-%E7%94%9F%E7%89%A9%E7%89%A9%E7%90%86%E3%81%8B%E3%82%89%E8%A6%8B%E3%81%9F%E7%94%9F%E5%91%BD%E5%83%8F-3-%E6%9F%B3%E7%94%B0-%E6%95%8F%E9%9B%84/dp/4842702648>  
1383 ---  
1384 上記の文献とは少し異なりますが、  
1385 >

1386 > 細胞膜には-50 mV/5 nm という急勾配の電位がかかっています。  
1387 宮田先生が挙げられた数字を使うと下記のように計算できます。  
1388 膜電位差が 50mV の時、膜内の1価の電荷に働く力は、  
1389  $1\text{eV} = (1.6 \times 10^{-19} \text{ C}) \times (1 \text{ Nm/C}) = 160 \text{ pN nm} (=39\text{kBT})$   
1390 なので、幅5nmにわたって、一様な電場だと近似すると、  
1391  $(50\text{meV}) / (5\text{nm}) = (50 \times 10^{-3} \times 160 \text{ pN nm}) / (5 \text{ nm}) = 1.6 \text{ pN}$   
1392 となります。膜電位と細胞膜の厚さにもよりますが、概ね~1pN 程度の力がかかっていることとなります。  
1393 以上、ご参考になれば幸いです。

1394

1395 A. 森本雄祐(独立行政法人理化学研究所)

1396 ご指名ありがとうございます。いろいろと書きたいことがあったので、何を返信しようかと思って考えていてレス  
1397 ポンスが遅れました。

1398 大沢先生がよく言われていることですが、生物が効率的な細胞運動などを行うために自発的なゆらぎを利用し  
1399 ているとされています。分子レベルで自発的な on/off 状態を生み出すのは、open/close の状態を持つイオン  
1400 チャネルであり、そのチャネルの開閉ゆらぎが膜電位ゆらぎとなって、細胞運動などのマクロな行動につながる  
1401 と考えられています。

1402 Fumio Oosawa (2007)

1403 Spontaneous activity of living cells. Biosystems. 88(3):191-201. doi: 10.1016/j.biosystems.2006.05.006.

1404 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0303264706002164?via%3Dihub>

1405 真核生物においては大沢先生たちがゾウリムシを用いて、膜電位ゆらぎと運動の関係を詳しく研究されていま  
1406 す。バクテリアにおいては、大腸菌にも自発的な膜電位ゆらぎが存在し、自発的な発火がべん毛モーターの回  
1407 転と関連していることが示されています。

1408 Joel M Kralj, Daniel R Hochbaum, Adam D Douglass, Adam E Cohen (2011)

1409 Electrical spiking in Escherichia coli probed with a fluorescent voltage-indicating protein. Science. 2011  
1410 Jul 15;333(6040):345-8. doi: 10.1126/science.1204763.

1411 <https://science.sciencemag.org/content/333/6040/345.long>

1412 また、東北大の中村さんが扱われている、らせん菌 *Leptospira* などでも膜電位と走化性運動の関係性が示唆  
1413 される報告がされています。Myxococcus についてはわかりませんが、おそらく膜電位変化は起こっていると思  
1414 っています。

1415 このように広く膜電位ゆらぎが細胞運動、シグナル伝達に関わっていると考えられることが、僕の今の研究の  
1416 強いモチベーションになります。

1417 膜電位については、神経細胞についてばかりやられているだけで、普通の細胞に膜電位プローブを付けてみ  
1418 ようとする人があまりいないだけだと思っています。

1419

1420 A. 安永卓生(九州工業大学)

1421 進化の初期を考える議論に戻る必要があるのでしょうかね。

1422 こんな論文もあります。

1423 Motoko Yoshizaki, Takazo Shibuya, Katsuhiko Suzuki, Kenji Shimizu, Kentaro Nakamura, Ken Takai,  
1424 Soichi Omori and Shigenori Maruyama (2009)

1425 H2 generation by experimental hydrothermal alteration of komatiitic glass at 300°C and 500 bars: A

1426 preliminary result from on-going experiment. **Geochemical Journal**, Vol. 43 (No. 5), pp. e17-e22,  
1427 <https://www.terrapub.co.jp/journals/GJ/pdf/2009e/43050e17.pdf>  
1428 [https://www.jamstec.go.jp/j/about/press\\_release/20090910/](https://www.jamstec.go.jp/j/about/press_release/20090910/)

1429

1430 あとは、私の妄想です。かなり酸性条件の海で生命が生まれたとすれば、外部に水素イオン濃度が高く、外部  
1431 に低い、プロトン濃度勾配を最初は自然に利用できる環境で過ごす生物が生まれ、その環境に適した代謝系  
1432 ができあがった。

1433 ATP 代謝も然り。核酸も酸として振る舞うには、細胞内部はプロトン濃度が低い方がよいだろうし、アミノ酸の静  
1434 電的性質の違いも酸性条件よりは多彩な反応が可能だったでしょう。

1435 やがて、そうでない海に変わる、あるいは、そうした環境へ進出していく中で、自らそうしたプロトン濃度勾配を  
1436 つくることができる必要があった。ミトコンドリアにみられるプロトン濃度勾配がスタート。自分が持てないものは、  
1437 共生までして。

1438 やがて、カチオン濃度勾配を進化させ、情報伝達にも利用するようになった。

1439 進化と複雑性に論じた、下記の論文は大好きで、学生にも授業で紹介しています。http://www.nul.nagoya-  
1440 u.ac.jp/~ysu.../docs/cas/schuster.html (リンク切れなので更新をお願いします。宮田)

1441 なぜ、その膜電位なのか、もしかしたら、過去の海の状況を反映しているのかも知れませんね。

1442

1443 **【アクチン-ミオシンの相互作用】 20150616**

1444 Q. 本間道夫

1445 金沢では、お世話になりました。べん毛モーターの運動原理を考えているのですが、アクチン-ミオシンの相互  
1446 作用による力発生機構の理解は不可欠であると思いました。どなたか、最新の良いアクチン-ミオシンの相互  
1447 作用の論文や総説を教えてくださいませんか？どのようなデータをもとに議論されているのかを確認した  
1448 いと思います。力発生(タンパク質間相互作用)の本質をどのように理解したらいいのかを考えたいと思いまし  
1449 た。

1450

1451 A. 須河光弘(東京大学・総合文化研究科)

1452 アクチン-ミオシンの相互作用による力発生機構を考えるにあたって、ご存知かもしれませんが、やはり  
1453 Claudia Veigel らの研究例が取っ掛かりに良いと思います。最新の論文ではない上に、本間先生が求めている  
1454 ものと違うようでしたら、ご容赦下さい。

1455

1456 1: Veigel C, Molloy JE, Schmitz S, Kendrick-Jones J (2003)

1457 Load-dependent kinetics of force production by smooth muscle myosin measured with optical tweezers.

1458 **Nat Cell Biol.** 5(11):980-6. doi: 10.1038/ncb1060.

1459 <https://www.nature.com/articles/ncb1060>

1460

1461 2: Veigel C, Schmitz S, Wang F, Sellers JR (2005)

1462 Load-dependent kinetics of myosin-V can explain its high processivity. **Nat Cell Biol.** 7(9):861-9. doi:

1463 10.1038/ncb1287

1464 <https://www.nature.com/articles/ncb1287>

1465

1466 【べん毛タンパク質輸送のために流れるカチオン】 20150813

1467 Q. 宮田

1468 先日、東大駒場キャンパスで集中講義をした際に質問を受けたのですが、べん毛モーター回転時に流れるイ  
1469 オンと、タンパク質輸送時に流れるイオンとは同じものでしょうか？

1470 どのイオンを用いるかは環境への適応で決まっているので、同じである様に私は思うのですが、いかがでしょ  
1471 う？そして、きっと TypeIII 以外の分泌装置もそれぞれの種で統一されているのでしょうかね。

1472 用いるイオンとタンパク質の変異を対応づければ、それぞれのシステムでどの部分がイオン透過性にかかわっ  
1473 ているか、さらに言うと、イオン選択の原理が明らかになりそうですね。

1474 関係の皆さまから現況の説明や、可能性についてのご意見がいただければ幸いです。

1475

1476 A. 小嶋誠司（名古屋大学大学院理学研究科）

1477 べん毛回転時に流れるイオンは、サルモネラ菌の場合プロトンで、べん毛輸送装置もプロトン駆動力を利用し  
1478 ています。共役イオンは同じプロトンですが、輸送装置のどこをプロトンが流れているのかはまだ明らかになっ  
1479 ていません。可能性が高いのは FlhA と思われませんが、決着はついていないと思います。

1480 森さんが進めておられる蛋白質輸送装置の SecDF の場合、ビブリオ菌ではプロトンを用いるものと Na を用い  
1481 るものがあります。

1482 用いるイオンとタンパク質の変異を対応づければ、それぞれのシステムでどの部分がイオン透過性にかかわっ  
1483 ているか、さらに言うと、イオン選択の原理が明らかになりそうですね。

1484 イオン選択性ですが、この間の分子研研究会でも思いましたが、私の中ではまだじっくり来ていないです(勉強  
1485 不足もありますが)。イオンを結合した状態の構造が明らかになり、これからもっと進むのではないかと思いま  
1486 す。

1487

1488 宮田

1489 領域会議の前に塩見さんからメールいただいたのに掲載するのを忘れていました。Enjoy it!です。

1490 A. 塩見大輔(立教大学理学部)

1491 大腸菌研究会の時に少しお話しさせて頂いたように、Kevin Young という人が様々な総説を書いています。

1492 とくに、下の総説はバクテリアの形と外部環境についてよく論じています。すこし古いですが、大変参考になると  
1493 思います。

1494 Kevin D. Young (2006)

1495 The Selective Value of Bacterial Shape. **Microbiol Mol Biol Rev.** 70(3):660-703.

1496 doi: 10.1128/MMBR.00001-06.

1497 <http://mibr.asm.org/content/70/3/660.long>

1498

1499 A. 南野 徹(大阪大学大学院生命機能研究科)

1500 べん毛 III 型輸送装置についてですが、輸送装置は 6 種類の膜蛋白質からなる輸送ゲート複合体と3種類の  
1501 可溶性蛋白質からなる ATPase 複合体からなります。輸送装置は ATP とプロトン駆動力をエネルギーとして利  
1502 用してべん毛蛋白質を輸送します。ATPase 複合体による ATP の加水分解反応で生じるエネルギーは輸送ゲ  
1503 ートを活性化するために使われます。一旦輸送ゲートが活性化されると、輸送装置はプロトン駆動力の膜電位  
1504 のみを利用して連続的にべん毛構成蛋白質を送り出すことができます(数十マイクロメートルの長さのべん毛作  
1505 るのに必要な ATP の量はかなり少ないと思われます)。面白いことに、ATPase 複合体が壊れて機能しなくな

1506 ると、輸送ゲートは膜電位に加えて  $\Delta\text{pH}$  もエネルギー利用します。このため、プロトン駆動力が一定に保たれ  
1507 ていても、ATPase 複合体が働かない場合には、 $\Delta\text{pH}$  成分が消失すると、べん毛蛋白質は輸送されません。で  
1508 すので、膜電位と  $\Delta\text{pH}$  の使われ方が異なります。D2O を用いた実験から、 $\Delta\text{pH}$  の勾配に沿ってプロトンが外  
1509 から細胞内へ移動することにもなって、べん毛蛋白質は細胞外方向へ輸送されることが強く示唆されました。  
1510 しかしながら、小嶋さんが書かれていますように、プロトンの通り道は今まだ分かっていません。2011 年姫路で  
1511 開催された日本生物物理学会の年会で、私は ATPase 複合体が働かない条件下では、輸送ゲートは  $\text{H}^+$  に加  
1512 え  $\text{Na}^+$  も共役イオンに利用できることを報告しました。興味深いことに、ATPase 複合体が存在すると、 $\text{Na}^+$  は  
1513 不要になります。このことは、ATPase 複合体が働くことで、輸送ゲートのナトリウムイオンの透過経路が閉じる  
1514 ことを強く示唆しています。昨年論文を投稿しましたが、なかなか信じてもらえないために、未だ論文は未発表  
1515 の状態です。しかしながら、最近 FlhA が  $\text{Na}^+$  イオンを流しているらしいと強く示唆している結果を得られました  
1516 ので、現在そのデータを加えて論文を投稿しました。FlhA の研究をすすめれば、III 型輸送装置のイオン選択  
1517 性などの生物学的な重要な課題を解決できるかもしれません。  
1518 SecDF については森さんが直接説明される方が良いと思いますので、私からの発言は控えさせていただきます。  
1519  
1520

1521 A. 森 博幸(京都大学ウイルス研究所)

1522 ご指名ですので、タンパク質輸送に関する使用イオンについて簡単に説明します。

1523 我々は Sec system と呼ばれるタンパク質膜透過装置の研究を行っています。この輸送装置は、べん毛 III 型  
1524 輸送装置のような特定の因子の運搬に特化した装置ではなく、自分自身の身体の構成成分も含めて多様な  
1525 タンパク質の輸送を司る普遍的な装置であり必須の因子群です。

1526 来月の生物物理学会のシンポジウムでもお話させて頂く予定ですが、Sec system による膜透過の駆動には、  
1527 ATP 加水分解エネルギーと、PMF(プロトン駆動力)の2つが利用されている事が知られています。ATP は必須  
1528 のエネルギー源であり、SecA ATPase により使用されています。

1529 一方、PMF が働く場所は 2 カ所あると考えられています。

1530 1つは、SecYEG translocon(輸送されるタンパク質が通過する為の穴を形成)に作用して、膜透過し易い状態  
1531 にトランスロコンの構造を変化をさせるという働きです。このトランスロコンの構造変化においては、PMF の構  
1532 成成分の  $\Delta\text{pH}$  と  $\Delta\psi$  は等価であると報告されています。しかしながら、この構造変化の実態についてはあまり  
1533 明確になっていません。

1534 これに対して第 2 の PMF の作用点は、SecDF タンパク質です。SecDF の役割は長らく不明でしたが、我々  
1535 は、奈良先端大の塚崎さん、東大の濡木先生達との共同研究として、「この膜タンパク質複合体は、一価カチ  
1536 オンを取り込みと共役してタンパク質をひっぱり出す仕事を行っている。」との作業課仮説を提案しています。  
1537 上記、トランスロコンの構造変化とは異なり、SecDF が運ぶ一価陽イオンは、厳密に規定されているようで、大  
1538 腸菌や好熱菌の場合にはプロトンが利用されています。小嶋さんのメールにもありましたが、海洋性ビブリオ菌  
1539 を含むビブリオ属細菌は、2 種類の SecDF パラログを保持しており、べん毛モーターの場合と同様に一方は  
1540  $\text{Na}^+$  駆動型、他方は  $\text{H}^+$  駆動型と考えられます。高塩環境で生息する海洋性ビブリオ菌の場合、 $\text{Na}^+$  駆動型の  
1541 SecDF を恒常的に発現しており、環境中に豊富に存在する  $\text{Na}^+$  を利用して膜透過を駆動しています。

1542 一方、塩濃度の低下と言った環境変化により  $\text{Na}^+$  駆動型の SecDF の機能が低下すると、 $\text{H}^+$  駆動型 SecDF  
1543 パラログの発現が誘導され、一転してプロトン濃度勾配を利用して膜透過能を維持する巧妙な仕組みを持つ事  
1544 が明らかになって来ています。

1545 上でも述べたように、トランスロコンの構造変化は、 $\Delta\text{pH}$  と  $\Delta\psi$  のどちらでも同等に起こる事から、SecDF パラ



1546 ログのリモデリングは、様々な塩環境でビブリオ菌が効率よく膜透過能を維持する為の、洗練された戦略と理  
1547 解する事が出来ます。

1548 東洋大の伊藤さん、京都産業大の千葉さん達との共同研究により、あるグラム陽性菌の SecDF は、Na<sup>+</sup>を利用  
1549 している事を示唆する結果が得られつつあります。種々の菌由来の SecDF の使用イオンを地道に解析する  
1550 事により、SecDF のイオン選択性に関する何らかの手がかりが得られるものと期待しています。加えて、既存  
1551 の2種の SecDF パラログの変異解析や生物物理学的解析により、イオン選択性の問題に取り組む事も、本領  
1552 域での我々の重要な研究課題と考えています。

1553 ご意見、ご質問等頂戴できれば幸いです。宜しくお願い致します。

1554

1555 Q. 宮田

1556 早速にお返事いただきありがとうございます。

1557 FlhA が輸送のためのイオンを流していることを示唆する結果はどのようなものですか？「変異を入れたら輸送  
1558 が止まった」では言えませんね。

1559 バクテリアの他タイプの分泌システムについてはあまり調べられていないのですね。長崎大の皆さんや久堀さ  
1560 んのご意見はいかがですか？

1561

1562 A. 久堀智子(大阪大学微生物病研究所)

1563 興味深いディスカッションをありがとうございます。

1564 第一線の研究の最新の状況をお教えいただき、大変勉強になりました。

1565 私たちの研究対象としているレジオネラを含め、IV 型分泌系では基質輸送に必要なイオン選択性や ATPase  
1566 の役割については殆ど全くわかっていません。

1567 私の知る限り、cccp を入れると輸送が止まる、という報告があるのみです。ですので、プロトンが必要であるこ  
1568 とは示されていると言えます。

1569 IV 型分泌系は構造についても機能についても、15 年前の III 型の状況に今立ち向かっているところで、研究  
1570 者の数が増えてくれることが切望されます。

1571 IV 型分泌系はタンパク質だけでなく核酸も基質として輸送しますし、基質のバリエーションがとても広いので輸  
1572 送機構にも独自のものがあるのかもしれませんが。

1573 面白いことに、レジオネラの IV 型分泌系には3つの異なる ATPase があります。それらがどう使い分けられて  
1574 いるのかとても興味のあるところです。

1575 最近の IVA 型の構造解析では6量体の ATPase がフィットし得る二本足の細胞 内膜部分構造体が見られて  
1576 いますので、ATPase 複合体がカセットのように切り替わって本体に相互作用するのかもしれませんが(単なる私  
1577 の妄想ですが、、、)。

1578 III 型、IV 型分泌系に共通して言えることとして、病原細菌の輸送系は細菌の 内外膜に加えて、宿主細胞の膜  
1579 を乗り越えて基質を輸送しなければならないという障壁があります。宿主細胞膜上に形成される(であろう)ゲ  
1580 ートを通す際にもエネルギー源が必要なかもしれません。その意味でも、「菌体外コンポーネント」の同  
1581 定は急がれる課題です。

1582 やるべきことは山のようにあります、、、。

1583 またいろいろとご教示、ご提案をいただければ幸いです。

1584

1585 A. 南野 徹(大阪大学大学院生命機能研究科)

1586 FlhA と ATPase 複合体のコンポーネントのひとつである FliJ が相互作用すると、輸送ゲートはプロトン駆動力  
1587 の膜電位のみを利用して効率よく輸送できることから、FlhA がべん毛蛋白質輸送のエネルギー変換に重要で  
1588 あることが示唆されました。この内容は Minamino et al. の Nature Communications の論文に記載されていま  
1589 す。原くんは FlhA の膜貫通領域および膜近傍領域に保存されている荷電アミノ酸にさまざまな変異を導入しま  
1590 した。その結果、膜貫通ドメインの cis-site 近傍に保存されている 208 番目のカルボン酸が PMF に依存したべ  
1591 ん毛蛋白質輸送に必須であることを見出しました。このカルボン酸はプロトンの結合に関わっているのかどうか  
1592 はわかっていません。

1593 べん毛蛋白質輸送のために流れるカチオンの役割を明らかにすることが私の現在の目標です。

1594

1595 A. 中山浩次(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科)

1596 IX 型分泌系については柴田君が *Porphyromonas gingivalis* の gingipain の分泌が cccp で抑えられるか  
1597 ついて実験してくれましたが、明確な結論がまだ出ていない段階です。

1598 明確な結果を得るためにはもう少しこの菌についての遺伝学的な手法を開発する必要があると思っています。

1599 IX 型分泌系に密接な関係のある滑走運動は *Flavobacterium johnsoniae* の研究ですが cccp によく反応し、  
1600 可逆的に運動の阻害がかかります(同時に菌体表面の SprB タンパク質のラセン運動も止まります。中根君の  
1601 データ)。

1602 ということでいまのところ、IX 型分泌系については不明です(何とかして知りたいと思っています)。

1603

1604 【なぜ ATP がエネルギーの通貨？】 20150919

1605 9/14 のシンポジウムでの名大の阿部さんの問いは、多くの方が普段から考えていることのように思います。地  
1606 球上でアデニンが最初にできた、ピリミジンだとエネルギーが供給できない、細胞中では実は GTP も使ってい  
1607 る、などの議論があったように記憶しています。これらが現在考慮すべき全てでしょうか？そしてどれがより  
1608 重要なファクターでしょうか？皆さまのご意見をお寄せください。東北大の鈴木 誠先生のお考えはいかがでしょう  
1609 か？

1610

1611 A. 鈴木 誠(東北大学大学院工学研究科)

1612 お訊ねいただきながら、きちんと答えることがとてもできませんので、私の考えている範囲で書いてみます。  
1613 アデニンは、塩基とトリリン酸部の間に糖が入っているので ATP の  $\beta$  リン酸と  $\gamma$  リン酸の結合部の加水分解エ  
1614 ネルギーに大きくは関わらないだろうというのが「水と ATP」新学術領域での見方だったと思います。加水分  
1615 解エネルギーを計算するためにアデノシンの代わりにアルキル鎖など単純な基をつけて計算する試みなど  
1616 もなされていました。もちろん ATP を対象に加水分解計算も進んでいます。  
1617 塩基の部分はやはり、タンパク質の中で複数の水素結合による分子認識サイトとして必要なのだろうと思いま  
1618 す。F0F1ATPase などが ATP を合成する際にアデニンをしっかりつかんでジリン酸にさらにリン酸を結合させ  
1619 るわけですが、このしくみをもったあたりが、その後 ATP がエネルギー通過として用いられることになったのか  
1620 など、想像しています。GTP/GDP 系もあるわけですが、アデニンとは異なる塩基をもつヌクレオチドが、ATP 系  
1621 (エネルギー利用)とは独立にはたらく情報伝達系として必要だったのかなと思います。

1622 この「独立にはたらく」というのが私の想像ですので、これを証明するようなことは可能でしょうか？

1623 皆様のお考えもぜひお聞きしたいところです。

1624

1625 A. 岡田 康志(独立行政法人理化学研究所)

1626 生物物理にも書いていただきましたが、北大の玉置研では、アデニンとリボース部分をアゾベンゼンアミドに置  
1627 き換えたアゾベンゼン三リン酸を、キネシンの基質として微小管を滑走させることに成功しています。

1628 玉置 信之(2015)

1629 見て、判断して、行動する分子ロボットの構築、**生物物理** 55 巻 4 号 p. 203-205,

1630 doi:10.2142/biophys.55.203

1631 [https://www.jstage.jst.go.jp/article/biophys/55/4/55\\_203/\\_pdf/-char/ja](https://www.jstage.jst.go.jp/article/biophys/55/4/55_203/_pdf/-char/ja)

1632 構造から後知恵で考えると、キネシンは ATP のアデニン環を  $\pi$  スタッキングで啜えて、リボース部分は浮いて  
1633 いるからベンゼン環があって、適当なスペーサの後に三リン酸という構造ならば何でもよいということなのでし  
1634 ょう。

1635 実際、キネシンは ATP に対する選択性が低く、GTP で ATP と同程度の速度で走るだけでなく、CTP, ITP, UTP  
1636 でも ATP の 1/2~1/3 程度の速度で走ります。

1637 一方、たとえば GTP が生理的基質であると考えられている微小管の場合は、GTP に対する選択性が高く  
1638 ATP はほとんど結合しません。この性質は、バクテリアの tubulin と考えられている FtsZ でも保存されていま  
1639 す。さらに面白いことに、FtsZ の ts mutant の中に、point mutation で FtsZ が GTPase としての活性を失い  
1640 ATPase 活性を示すようになるものが報告されています。

1641 鈴木先生のお考えに対する、進化的な一つの傍証くらいにはなるかもしれません。

1642

1643 A. 鈴木 誠(東北大学大学院工学研究科)

1644 岡田さん、ありがとうございます。

1645 そういえば、藤目(東)杉江さんが以前アクトミオシンで塩基の異なるヌクレオチドで滑り速度を測定した論文を  
1646 発表されていました。

1647 Sugie Higashi-Fujime, Tetsu Hozumi (1996)

1648 The Mechanism for Mechanochemical Energy Transduction in Actin-Myosin Interaction Revealed by in  
1649 Vitro Motility Assay with ATP Analogues, **BBRC** 221, 773-778.

1650 [https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0006291X96906725?token=B2ADC613EF6CBA79CAE797D](https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0006291X96906725?token=B2ADC613EF6CBA79CAE797D999E7F7014574323FAA9730E8EEAA9FFFD1C60F3542E82F5AB49EFA7EDACF6BAF15AC5EC6&originRegion=us-east-1&originCreation=20210419045922)  
1651 [999E7F7014574323FAA9730E8EEAA9FFFD1C60F3542E82F5AB49EFA7EDACF6BAF15AC5EC6&or](https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0006291X96906725?token=B2ADC613EF6CBA79CAE797D999E7F7014574323FAA9730E8EEAA9FFFD1C60F3542E82F5AB49EFA7EDACF6BAF15AC5EC6&originRegion=us-east-1&originCreation=20210419045922)  
1652 [iginRegion=us-east-1&originCreation=20210419045922](https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0006291X96906725?token=B2ADC613EF6CBA79CAE797D999E7F7014574323FAA9730E8EEAA9FFFD1C60F3542E82F5AB49EFA7EDACF6BAF15AC5EC6&originRegion=us-east-1&originCreation=20210419045922)

1653 塩基によって速度が変化することを示されました。アデニンが一番速くウラシルは活性が最大だけど遅いなど、  
1654 興味深い内容でした。アデノシンをアゾベンゼンアミドに置換してキネシンが動いたことは岡田さんのご解釈の  
1655 ようにリン酸部とグリップの間が適当な長さで柔軟なら良いのかなと思います。

1656 微小管が ATP でなく GTP を選んだ時期はいつごろなのかな、進化的には微小管系がアクチン系より先に現  
1657 れたのでしょうか？真核が生まれる頃生きる上でどちらが必須だったのかな、とかつい考えてしまいます。

1658

1659 **【1日に 40 kg の ATP を合成】 20151203**

1660 Q, 宮田

1661 2015/9/14 の前人未到シンポジウムで、吉田賢右先生がヒトは1日に 40kg の ATP を合成していると言われた  
1662 ように思ったのですが、2015/4/20-21 の分子研研究会だったかもしれません。その根拠を知ろうとして、京大  
1663 の西山さんに尋ねたところ、私(宮田)の好きな教科書、Stryer の Biochemistry に書かれていることを教えてく  
1664 れました。

1665 Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. (2002)

1666 14.2The Oxidation of Carbon Fuels Is an Important Source of Cellular Energy. **Biochemistry. 5th edition.**  
1667 **Section.**

1668 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22527/>

1669 さらに Stryer が引用している原典を見ようと思ったのですが、どれが原典かはすぐにはわかりません。

1670 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22478/>

1671 この計算の根拠に興味があります。生きていくのに必要なエネルギーの全てが ATP として使われているわけ  
1672 ではないので、単純に乗除のみでは見積もれないはず。具体的にいうと、毎日摂取しているエネルギーが  
1673 体内でどの様に割り振られているのか知りたいのです。ヒトが1日に必要なエネルギー2000kcal の全てが呼吸  
1674 で失われるはずはなく、多くの部分が化合物の形で体内に残るはず。呼吸で取り出されたエネルギーも、  
1675 その一部は膜電位から直接、膜輸送や体温維持に使われるでしょう。これらの流れを議論した論文や書物をご  
1676 存じありませんでしょうか？あるいは、年輩の方や栄養学の分野などでは常識なのかもしれません。ご教示い  
1677 ただければ幸いです。

1678

1679 A. 岩城雅代(名古屋工業大学しくみ領域神取研究室)

1680 先生がおさがしの原典とは異なるかもしれませんが、Peter Rich さんが 2003 年 Nature で「人は一日当たり  
1681 ATP を 65 kg 合成する」(英国人の標準かな?)という試算をされています。先日、名古屋工業大学で講演され  
1682 たときもこのお話をされていました。Rich さんの試算は、安静時、人は一時間当たりおよそ 100 kcal のエネ  
1683 ルギーを必要とする、というところから出発されています。それをまかなうために必要な ATP 量を計算すると「65  
1684 kg」となり、さらにそれをまかなうためにチトクロム酸化酵素がいくらいるか、という計算が続きます。ご参考まで、  
1685 文献を添付します。

1686 先生が疑問に思われているように、実際の体の中のエネルギー収支、分配の実態はここまで単純ではないで  
1687 しょうね。モデル計算ができる(すでにだれかがやっている?)のかもしれませんがね。

1688 Peter Rich (2003)

1689 Chemiosmotic coupling: The cost of living. **Nature**. 421(6923):583. doi: 10.1038/421583a.

1690 <http://www.nature.com/.../journal/v421/n6923/full/421583a.html>

1691

1692 Q. 宮田

1693 早速のお返事ありがとうございます。

1694 そういえば真核生物の場合は細胞膜で呼吸しないので、酸素消費量から、解糖も含めたおおよその ATP 合成  
1695 量を見積もることが可能ですね。長年バクテリアの研究を続けるうちに自分がバクテリアのような気分になっ  
1696 ていました。

1697 それと、お恥ずかしいことに、つい最近までミトコンドリアの膜電位も細胞膜と同じ-60mV くらいと思いこんで  
1698 ました。あちこち書いてあるのに注意力不足です。

1699 そしてさらに皆さまに質問してしまうのですが、呼吸するバクテリアの膜電位も-200mV くらいなのですか？液  
1700 胞はどうですか？リソソームは？葉緑体は？ゴルジ体は？まとめて書いてあるような文献はありますか？  
1701 か？

1702

1703 A. 森本雄祐(独立行政法人理化学研究所)

1704 大腸菌の膜電位については、生育条件等により変わりますが-100~-150mV 程度と計測されています。

1705 これに対し、ミトコンドリアは-180~-200mV 程度と、少し膜電位が大きいです。

1706 膜電位のオルガネラによる違いについては、それぞれ測定した論文はあるのですが、きれいに一覧にした文献  
1707 を知りません。どなたかご存知でしょうか。

1708 代わりにですが、オルガネラごとに pH が異なるという文献は多くあります。

1709 Joseph R. Casey, Sergio Grinstein, John Orłowski (2010)

1710 Sensors and regulators of intracellular pH. **Nat Rev Mol Cell Biol** 11(1):50-61. doi: 10.1038/nrm2820.

1711 <https://www.nature.com/articles/nrm2820>

1712

1713 つまり、オルガネラごとに膜電位も異なります。

1714 ただ、ATP 合成に使われるプロトン駆動力は、プロトンの濃度勾配による化学ポテンシャルと膜電位の総和で  
1715 す。

1716 よくあげられる例として、葉緑体のチラコイド膜の電位勾配はゼロに近いですが、チラコイド膜を介した  $\Delta\text{pH}$  が  
1717 非常に大きいため、トータルのプロトン駆動力ではミトコンドリアと同程度になると考えられています。

1718 ご質問から少しそれた回答になるかもしれませんが、ご参考までに。

1719

1720 Q. 宮田

1721 お返事ありがとうございます。

1722 細胞を回路と捉えてそれぞれの部位の電位を表示すると、細胞のエネルギー分布がわかっておもしろいかもし  
1723 れません。

1724 オルガネラに電極をさすのは難しそうですから、オルガネラの膜電位も脂質二重層に取り込まれるような色素  
1725 で測定することになりますね？外からそのような色素を加えると多分、細胞膜もラベルされるので、光学的に目  
1726 的の位置にフォーカスを当てて測定することになりますでしょうか？あるいは、オルガネラに局在するような膜タ  
1727 ンパク質に膜電位で変化するような蛍光ラベルを入れることが可能でしょうか？

1728 どなたか詳しい方に分野の動向をご教示いただけませんか？

1729

1730 **【生体運動合同会議】**

1731 以下は 2000 年ころにどなたかが書かれた会議の趣旨(?)です。私が 2011 年に大阪市立大学でお世話をさ  
1732 せていただいた際にも案内文として使いました。

1733 ---

1734 「生体運動研究合同班会議」は学問分野横断的、学会横断的、年齢層縦断的に、1955 年ごろから続いている  
1735 伝統の会議です。日本中の生体運動研究者が年のはじめに集い、1 会場で3日間にわたって研究交流を行  
1736 います。形式にとらわれず、実を尊ぶ空気に包まれた会合です。特に、若い研究者(とその卵)たちには、発表と  
1737 質疑応答への積極的な参加を、そして研究室主宰者の方々には必要に応じて小レビューの発表を期待致しま  
1738 す。また、ご退職の方々も年に一度の会議に参加され、後進へのご助言をいただければ幸いです。

1739 ---

1740 1970-80 年代には京大教授でコネクチン(タイチン)の発見者である、丸山工作博士が生物関係の書物を多数  
1741 出版されていました。その中でも岩波新書の「筋肉のなぞ」は、生体運動の当時の研究動向とその直近の歴史  
1742 が熱く述べられており、学部生の私にとってそこに記載された“研究班”は憧れの対象でした。丸山先生はのち  
1743 に、千葉大学長、大学入試センター長などを歴任されました。

1744 ---

1745 この「筋収縮機序の化学的研究班」は、まさに、はげしい討論の連続であった。「何をしようとしているのか」、  
1746 「それはどんな意義を持っているのか」の二つが問われた。しばしば指摘されたのは、「だれその追試にすぎ  
1747 ないのではないか」ということであった。「わが国では初めての成果である」という答は、失笑を招くだけであった。  
1748 こうして、「本邦初演」の言葉は禁句となった。(丸山工作著、『筋肉のなぞ』(岩波書店、1980 年)より)

1749 ---

1750 2005 年ころまでは、生体運動合同会議は“利権の絡むアダルトな会議”だったかもしれません。地味な研究しか  
1751 できていない若手研究者の私は、この会で存在をアピールすることのみが、将来に生体運動コミュニティで  
1752 生き残るための道であると信じていました。昼休みにには文科省科研費の特定領域や重点領域のクローズな会  
1753 が催され、参加できない私は“はげしい討論が連続するアダルト利権の会議”に想像を巡らせるしかありません  
1754 でした。

1755 2005 年ころを過ぎると、生体運動はより多様な観点から研究されるようになり、世の中の“アダルト利権会議”  
1756 は生体運動合同会議だけではなくなりました。それと共に、本会の従来の趣旨は急速に不明瞭になり、エキス  
1757 パート研究者たちの記憶の彼方だけに存在するものになりました。

1758 私は、もし自分が何かの間違いで“研究費の代表”みたいなものになれば、「生体運動合同会議」にもう一度  
1759 “箔”をつけてみようと、かねてから考えていました。自分はここで育てていただきましたし、遠い分野で行われて  
1760 いる生体運動の研究者が集まって会合を持つことは意義があるからです。偉大な先人たちを真似して  
1761 いますが、私の迫力不足から、時代の流れには逆らえていないかもしれません。

1762 会場の片づけをしながら、京大の原田慶恵教授が言われたことが私の記憶に残りました。「この会は本当はお  
1763 金もらうための会だったのにね。みんな、忘れちゃったよねー。」

1764 宮田

1765

1766 **【40 億 55 歳】20161203**

1767 Q. 宮田

1768 多分、私(宮田)の現年齢は 40 億 55 歳です。領域の総説を書くために、運動マシナリーの発生や、バクテリア  
1769 のべん毛がインテリジェント・デザインの根拠にされていることなどを考えていたら、教養の講義を行っている時  
1770 に気づきました。

1771 死んだ生き物は通常では生き返りませんし、物質から細胞が発生することも極めてまれです。これらのことは、  
1772 私たち人間を含めて現存の生物を形作っている細胞が、生命誕生時の 40 億年前から一度も死んだことがな  
1773 いことを意味しています。すなわち原始的な細胞が遺伝子に変異をためながら、分裂と増殖を繰り返して、その  
1774 細胞が少しずつ変化して、現在の多様な細胞と生き物になったのです。インテリジェント・デザインで主張される  
1775 「サルを飼っていてもヒトにならない」は、くだらない論理の最たるものだと私たちは信じていますが、彼らの主  
1776 張は間違いであっても、その論理は、案外私たちと共通なのかもしれません。仮に生命誕生時を 40 億年前と  
1777 しますと、私たちの細胞は 40 億年生き続けていることとなります。デーモン小暮は現在 10 万 54 歳、弥勒菩  
1778 薩は 5 億 7600 万年の寿命を持つとのことで、長寿を少しうらやましく思っていました。よく考えれば彼らの  
1779 方が短命です。

1780 DNA がどんなに静的な分子であったとしても、私たちの体に 40 億年前の生命誕生当初の原子がそのまま残  
1781 っているとは、考えられません。しかし DNA 複製直前の塩基対合の“履歴”を 40 億年前までたどって行けば、  
1782 絶滅したものを含めてこの地球上の全ての生き物に行きつくことができます。言い換えるとこの地球上の全て  
1783 の生き物と私たちそれぞれはかつて、“全ゲノム DNA における塩基対形成”をつうじて実際に結合していた  
1784 のです。なぜなら、よく言われるように地球上の生物は一系統で、このことは細胞の営みの根幹部分が全ての  
1785 生物で共通であることから見てとれるからです。

1786 さらに興味深いことに、40 億年を生き抜いた私たち、あるいは私たちの細胞は今まさに、その長い生涯を終え  
1787 ようとしています。なぜなら、私たちの体のほとんどが体細胞で出来ていて、それらが次世代に伝わる可能性  
1788 はないからです。毎年、家でカブトムシを飼育していて、「この人(?)たちは生涯のほとんどをイモムシで暮ら  
1789 していて、なんだか気の毒だな」と思っていました。生涯の最後の一瞬だけ開花してその後に灰塵に戻ることが  
1790 生き物の定めなのかもしれません。

1791 何か皆さまからのコメントをいただければ幸甚です。学会誌“生物物理”の巻頭言にでも採用していただければ  
1792 嬉しいのですが、無理かも知れません。

1793

1794 A. 西坂崇之(学習院大学理学部)

1795 素晴らしい視点と明快な文章だと思います。

1796 一か所だけ、読んでいてスーッと頭に入らないことばがあります。『あるいは私たちの細胞は今まさに、その長  
1797 い生涯を終えようとしています』というところです。このフレーズだけクローズアップすると、『現存の生物を形作  
1798 っている細胞が、生命誕生時の 40 億年前から一度も死んだことがない』とつながりません。普通感覚であ  
1799 れば、『一度も死んだことがない』ものが、今まさに死ぬのであれば、まとめて絶滅してしまうことを意味するよう  
1800 に感じるからです。

1801 これだけ短い文章ですから、『一度も死んだことがない』という新しい視点だけで、十分に読み手の心に突き刺  
1802 さると思います。もう1つの『その長い生涯を終えようとしています』という視点は、そもそも削るべきではないで  
1803 しょうか。私の勘違いで、そっちの方が宮田さんのメインであるなら、むしろ、前者の表現をもう少し柔らかくす  
1804 べきだと思います。

1805 別の言い方をすると、



1806 「生命の捉え方として、別の個体としてまだまだ生きながらえる存在であることを生涯と呼べるのなら、ある個体  
1807 が滅びるときに『長い生涯を終える』という表現は当てはまらないのでは？」という批判です。

1808

1809 宮田

1810 西坂さん、コメントいただけてうれしいです。

1811 40 億年死んだことがないこともですが、その寿命がもうすぐ尽きることもとても重要と思っています。

1812 私たちを形作っている細胞は本当に 40 億年生きてきたのですが、それらは私たちのパーソナリティとい  
1813 っしょに本当に近い将来に死んでしまうのです。生き残るのは生殖細胞のうち、運よく次世代になれたものだけ  
1814 です。もっと伝わりやすく書き換えた改訂版をお送りします。

1815

1816 A. 西坂崇之(学習院大学理学部)

1817 なるほど、良く分かります。新しいバージョン、楽しみにしてます。

1818 すごく個人的には、パーソナリティの死滅は不可欠なことで、それは、各個体のパーソナリティまで記録していく  
1819 方法もメリットも生物は許容していないからです。それよりも、種の保存や進化を生命は優先させている、と、何  
1820 となくですが、私は捉えています。

1821 実際、各個体の生きざまを 40 億年取っておくとすると、ぜんぜん別のシステムが必要ですよね。せいぜい数  
1822 10 個隊の間で(人間でいうと家族や友達)、なんとなく生きざまを記憶しておいて、それが数世代を経ると、もは  
1823 や存在さえあやふや、という健全さが私は好きです。もっとも、人間であれば、最近では記憶媒体に「生まれてか  
1824 ら死ぬまでの全生きざま」を記録するのが、実際には可能です。

1825 そういう意味では、情報としての人間の個体の存在は、(文明が滅びるまでは)不死になりました。

1826

1827 A. 上田太郎(早稲田大学先進理工学部)

1828 宮田さんの論点からは少しずれると思いますが、二つコメントします。

1829 まず、最初の生命体の DNA そのものが今は残っていないだろうという点ですが、その本質は、物質としての  
1830 DNA の不安定性にあるのではなく、希釈と絶滅にあると思います。半保存的複製を繰り返している限り、原初  
1831 の DNA 分子は希釈されこそすれその分子そのものが今も残っていても良いことにはなりますが、大半の生物  
1832 は、個体としては子孫を残すことなく死ぬか、最終的には種として途中で絶滅しているので、原初 DNA 分子が  
1833 その死んだ個体に含まれていた場合は、その時点で原初 DNA 分子は分解されてしまいますね。また原初  
1834 DNA が仮に多細胞生物への系譜に引き継がれたとしても、宮田さんもお指摘のように、生殖系列の細胞に入  
1835 らない限りは、やはり個体の死とともに分解されてしまいます。

1836 いつも思うのですが、進化というのはとても残酷な歴史だと思います。たとえば原人が旧人に進化したという  
1837 話を聞くと、なんとなく原人全員が仲良く旧人に進化したようなイメージを持ちますが、当然のことながら、大半  
1838 の旧人は死に絶え、その中のごく少数のグループだけが旧人に進化しているわけですからね。

1839 それから私たちの DNA が死に絶えようとしているということですが、よく言われるように、ヒトは、DNA に加え  
1840 て、文字を使って文化を伝承できるようになりました。だから、宮田さんの科学的業績や思想は世代を超えて残  
1841 り得ることになります。しかし心配なのは最近の文書のオンライン化です。ロゼッタストーンとかパピルスの時代  
1842 から技術が進歩するとともに、文化の継承の永続性がのぞむべくもなくなってきたことは皮肉としか言い様があ  
1843 りません。せっかく生物物理の巻頭言に良いことを書いても数十年もしたら消えてなくなってしまうだろうとい  
1844 のは寂しい限りです。この辺のことをちくりと書けば巻頭言にふさわしくなるかも？

1845

- 1846 **【回答者一覧(五十音順)】**
- 1847 伊藤政博(東洋大学生命科学部)
- 1848 今田勝巳(大阪大学大学院理学研究科)
- 1849 岩城雅代(名古屋工業大学しくみ領域神取研究室)
- 1850 岩崎憲治(大阪大学蛋白質研究所)
- 1851 上田太郎(早稲田大学先進理工学部)
- 1852 岡田康志(独立行政法人理化学研究所)
- 1853 片山栄作(大阪市立大学大学院理学研究科)
- 1854 片山勉(九州大学薬学研究院)
- 1855 川上恵典(大阪市立大学複合先端研究機構)
- 1856 川上勝(山形大学工学部)
- 1857 神取秀樹(名古屋工業大学大学院工学研究科)
- 1858 久堀智子(大阪大学微生物病研究所)
- 1859 小嶋誠司(名古屋大学大学院理学研究科)
- 1860 古寺哲幸(金沢大学理工研究域数物科学系)
- 1861 塩見大輔(立教大学理学部)
- 1862 島袋勝弥(宇部工業高等専門学校物質工学科)
- 1863 朱 世偉(名古屋大学大学院理学研究科)
- 1864 須河光弘(東京大学・総合文化研究科)
- 1865 鈴木 誠(東北大学大学院工学研究科)
- 1866 高野光則(早稲田大学先進理工学研究科)
- 1867 塚崎智也(奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科)
- 1868 徳楽清孝(室蘭工業大学大学院工学研究科)
- 1869 中山浩次(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科)
- 1870 難波啓一(大阪大学大学院生命機能研究科)
- 1871 南野 徹(大阪大学大学院生命機能研究科)
- 1872 西坂崇之(学習院大学理学部)
- 1873 西山雅祥(京都大学白眉センター)
- 1874 春田 伸(首都大学東京大学院理工学研究科)
- 1875 本間道夫(名古屋大学大学院理学研究科)
- 1876 水谷泰久(大阪大学大学院理学研究科)
- 1877 森 博幸(京都大学ウイルス研究所)
- 1878 森本雄祐(独立行政法人理化学研究所)
- 1879 安永卓生(九州工業大学)
- 1880 若林健之(帝京大学医療技術学部)
- 1881 渡邊力也(東京大学大学院工学系研究科)
- 1882
- 1883

1884 **【運動マシナリーその後-20210330-1】**

1885 ご無沙汰しています。大阪市大の宮田です。

1886 ご存じの方も多いと思いますが、運動マシナリー領域事務局でお世話になった名古屋大の本間道夫教授が今  
1887 月で退職されます。

1888 今後は名古屋大学の小嶋誠司さんの研究室の一研究員として活躍されるとのこと です。

1889 それに伴い、運動マシナリー領域の情報共用方法を以下の様に変更します。

1890 1) 領域ウェブサイトは、基本的に今後は情報の追加を行いませんが、アーカイブとして公開を続けます。

1891 サーバーは以下に引っ越しました。

1892 <https://www.motility.sci.osaka-cu.ac.jp/>

1893 2) 今後、情報の共有はこの facebook「運動マシナリー・ディスカッション」を用いて行います。

1894 論文発表、異動、などの情報を宮田までお寄せください。

1895 miyata@osaka-cu.ac.jp (2021 年 4 月からメールアドレスが変更されました。以前の miyata@sci.osaka-  
1896 cu.ac.jp 宛のメールも当面は受信できますが、できればこちらにお送りください。)

1897

1898 **【運動マシナリーその後-20210330-2】**

1899 1) 運動マシナリー領域のその後ですが、現在は名古屋大学の成田哲博さんを代表として関連するテーマを学  
1900 術変革領域に申請中とのことです。

1901 立ち上がったなら私も公募班に応募するつもりでいます。

1902 2) 上の領域は主にタンパク質機能発現のメカニズムに焦点を当てていますが、運動能の多様性や進化に関  
1903 しては、宮田を代表とする CREST 研究「合成細菌 JCVI syn3.0B とゲノム操作を用いた細胞進化モデルの  
1904 構築」で進めています。

1905 主たる共同研究者に、立教大の塩見大輔さん、岡山大の Robert Robinson さん、名古屋大の成田哲博さん  
1906 らがいます。

1907 [https://www.jst.go.jp/kisoken/crest/project/1111100/1111100\\_2019.html](https://www.jst.go.jp/kisoken/crest/project/1111100/1111100_2019.html)

1908 3) メーリングリストで私からの問いと皆さまからいただいたお答え(これらを神取さんが「領域代表からの質問  
1909 メール」と名付けてくれた)を pdf にまとめて、共有する予定でいます。

1910 確認をお願いしたいので、近いうちに皆さまに原稿をお送りします。

1911 4) 領域のまとめとして約 1 年前に発表した論文, Tree of motility – A proposed history of motility systems  
1912 in the tree of life の引用回数は今のところ 20 回です。

1913 <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/gtc.12737>

1914 無理にとは言いませんが、皆さまの論文の Introduction などで引用していただければ、助かります。

1915 細胞の進化に伴い運動がどのように生じたかを議論して行くきっかけになるものと信じています。

1916 5) それぞれの研究内容について短くまとめていただいた文章も発表しようと思っていたのですが、機を逸した  
1917 との周囲の声から断念しました。

1918 内容は Tree of motility 論文の中に記述しているのでご容赦ください。もし、やはりやりたい、とのご意見をいた  
1919 だければ再検討します。数論文が集まれば可能と思います。

1920 6) 急速凍結レプリカ電子顕微鏡法については、別の予算で続けています。この方法は細菌のペプチドグリカ  
1921 ン層、細菌の膜小胞、酵母の表面構造、などの研究に特に向いていることがわかってきました。これまでに 7  
1922 論文が発表済み、2 論文が審査中です。2025 年 3 月までは維持できるので、希望がある方は連絡ください。

1923 質量分析装置もオーバーホールにより購入時以上のパフォーマンスを発揮しているので、いつでもご相談くだ  
1924 さい。  
1925 以上です。ご意見、ご質問、などいつでもお寄せください。  
1926 今後もよろしく申し上げます。  
1927 ハム大  
1928 宮田真人  
1929