

「生物物理若手の会夏の学校」参加報告

20100910 大浅 翔

期間：9月3日～9月6日

場所：尾西グリーンプラザ（愛知県一宮）

URL：<http://bpwakate.net/summer/index.html>

<会の概要>

物理、化学、生物、医学、工学と農学など様々な分野で研究を行っている若手の研究者の交流や情報交換などを目的として開催された。四日間の日程の中でグループディスカッションや様々な講演が行われた。講演は、若手研究者に求める事など一般的な事から生物物理の最近の話題などについて行われた。参加者は、講師含めて、100名程度。若手の方は、学部2年生から助教まで幅広く参加されていて、学部生は20名程度参加されていた。

<グループディスカッション>

私の研究は、マイクロウェルという直径 $60\mu\text{m}$ 、奥行き $40\mu\text{m}$ の穴がたくさんあるシリコンゴム状デバイスを用いて、単一細胞を隔離し、lysis buffer を用いて細胞を溶解することで単一細胞内タンパク量を測定するという系を確立することである。今回はその系と FCS (Fluorescence Correlation Spectroscopy) 測定について概要を発表した。以下質問と回答について述べていく。

Q:FCS 測定では、どの程度の EGFP 濃度を測定ができるのか？

A:溶液の条件によりけりですが、nM オーダー（総分子数：約 7~6800(分子/cell)）での測定が可能だと考える。

Q:どのようにして単一細胞をマイクロウェルに生やしているのか？

A:100mm ディッシュがいっぱいになっている状態で、そのディッシュからチューブに細胞を取り出し、そこから細胞数が約6分の1程度の細胞溶液を作製し、その細胞溶液をマイクロウェルの上からかけることにより細胞をマイクロウェルの穴の中に入れて生やす。

Q:マイクロウェルをカバーガラスに押しつけてマイクロウェルの穴の中は密閉されているのか？

A:穴の中の EGFP を bleaching する実験を指導して下さっている方が以前に行っていて、穴が密閉されていないと、外部から EGFP が流入して蛍光強度が回復して行くはずなのですが、回復がみられないので密閉はされていると考える。

Q:今後、系を使って凝集タンパク質又はカスパーゼ総分子数の定量をしたいと考えているみたいですが、測定の結果としてどのような事を予想しているのですか？

A:凝集タンパクの方では、同じ条件で培養した細胞でも凝集体を作る細胞と作らない細胞がいると思うので、その二種類の状態の細胞を分けて測定するとなにか違いが見えてくるのではないかと予想する。また、カスパーゼに関しては、通常時とアポトーシス直前の細胞では、カスパーゼの活性だけでなく、カスパーゼの量がかなり増えているのではないかと予想する。

<興味を持った発表>

理研 Spring-8 堀川裕加さん

「先生方が感じる生物物理の魅力とは？生物物理が目指すべき道とは？」

軟X線を用いて液体や溶液中の分子の電子状態を直接計測する手法を確立した事について発表していた。今まで、気体や固体の電子状態を計測する手法として真空で行われるものがほとんどあり、真空では液体を測定できない事や複数の分子が混在している溶液試料では、信号を分離できなかったが、今回は溶液を直接測定する系を構築することになったと述べていた。発表の中では、系を確立した事についてと酢酸をアセトニトリルに溶かした溶液を使って電子状態を実際に計測した事について述べられていた。酢酸の結果から電子軌道が分子面に対して垂直(out of plane)の状態と平行(in plane)の状態での O_{1s} 軟X線発行スペクトルの偏光依存性を説明する理論から出された相互作用がないとされる気体の異方度予測値と一致又は減少をそれぞれ示した。堀川さんは、この事から溶媒との相互作用によって分子軌道の形を変化させる軌道と変化させない軌道があると考え、今後として相互作用と分子軌道の関係について明らかにしたいと述べていた。溶媒分子との相互作用によって分子軌道が乱される事は、なんとなく知っていたが相互作用によって分子軌道の形を変化させる軌道と変化させない軌道があることが非常に興味深く、もっと話を展開すれば、例えば生体分子とイオンの相互作用についても違った視点から議論することができるかもしれないと思い、将来的にかなり伸び代がある面白い手法だと思いました。

名古屋大学 安西高廣さん

「ミトコンドリア内ジスルフィド結合導入に関わる Tim40 と Erv1 の相互作用解析」

ミトコンドリアの膜間部分では、Tom40 によってミトコンドリア外からN末にシグナル配列を持った基質ペプチドが輸送され、膜間に輸送された基質ペプチドは、Tim40 と Erv1 によってフォールディングされる。安西さんは、NMR スピンラベル法を使って、Erv1 の 33 番目のシステインにラジカルをついた化合物をジスルフィド結合で結合させて Tim40 とどのように相互作用しているのかを NMR を使って解析し、相互作用の機構について発表していた。NMR スピンラベル法により、ラジカルの近くにある Tim40 の表面は、Tim40 だけのシグナルピークより小さくなる。ピークが小さくなっているところが相互作用している部分であると考え、また基質ペプチドがないと相互作用しないことから Tim40 と基質ペプチドがジスルフィド結合を作ってから、Erv1 が基質ペプチドから Tim40 を奪う形でジスルフィド結合を形成し、基質ペプチドは分子内ジスルフィド結合を形成するというフォールディング機構について発表していた。最近、NMR やタンパク質同士の相互作用について興味があったのでとても面白く聞く事ができた。特に、膜間からマトリックスに輸送するのに必要な Tim40 が膜間でのフォールディングに関与しているのは面白いと思う。ただ、Tim40 の標的とするペプチドについてとなぜスピンラベル法の標的を Erv1 の 33 番目のシステインにしたのかについてと他にも質問したのだがメモを取らなかったようでもっと詳しく書けないのが個人的に残念に思う。

名古屋大学 久嶋誠也さん

「AUF 指標と疎水性指標を用いたアミロイド形成タンパク質の配列情報解析」

久嶋さんは、アミノ酸配列情報からどの部分がアミロイド形成能を持っているのかをシミュレーションを使って解析を行い、今回はプリオンタンパクについて発表していた。実際には 5 分の発表を聞いただけなので、詳しくは説明できないがアミノ酸番号を横軸にし、疎水度を縦軸にしてプロットし疎水性の部分について議論することで、どの部分が原因なのかを議論していた。今回は、プリオンタンパクについての発表でしたが、一次配列から機能などが予測できるまでに発展したらシミュレーションも重要な手法の一つになるのではないかと思った。特に、タンパク質がフォールディング中にどの時点でミスフォールディングすると、凝集体を形成しやすいのかなどシミュレーションができれば面白いのではないかと思った。

<興味を持った講演>

大阪大学大学院生命機能研究室 特任教授 柳田敏雄先生

「厳密制御不能な超複雑システムを生体は如何に制御しているのか？」

－生命動システムを理解する新しい概念－

人の脳は、どのように超複雑系を制御しているのかについての講演だった。複雑化に伴い制御というのは破綻する方向に進む。人の脳は、機械にはない柔軟さによって制御をしていると柳田先生は述べていた。柔軟さとは、揺らぎからくるものであるとも述べていた。機械にとって、揺らぎ（ノイズ）は邪魔な物でしかないが、人にとっては必要なものである。つまり、生体は揺らぎ（ノイズ）を有効に利用しているということである。講演中は、猫の絵を使って、意識に上る過程は分子反応と同じように揺らぎで引き起こされていると述べていた。揺らぎが大きすぎてはどうなのかという質問に対して、揺らぎは、柔軟さを出すために必要であるが、大きすぎてもあまりよくないらしいと回答していた。柔軟な発想をする人というのは、揺らぎがかなり大きいのかと思ったが、そう単純なものではないと言う所に講演を聴いていて面白いと感じた。私が行っている単一細胞測定の研究もうまい測定方法を考えれば、単一細胞の揺らぎが測定できるのかもしれないと感じた。

東京大学大学院総合文化研究科 教授 金子邦彦

「生命とは何か？－複雑系生命科学によるアプローチ－

金子先生の講演もゆらぎについての講演だった。二つの遺伝子があったとして、そこから生産されるタンパクがもう一方の遺伝子を抑制するという簡易な系において、平衡状態になる点がある。しかし、生命は、常に非平衡状態のままであり、非平衡状態を作り出しているのが揺らぎであると述べていた。講演の中では、成長のゆらぎ（転写のゆらぎ、リポソームの成長のゆらぎ etc）や適応のゆらぎや進化のゆらぎという3つの部門について述べていた。私が興味を持ったのは、転写のゆらぎについてで、色々な因子が関わっていると思われるが、金子先生は細胞の体積のゆらぎについて述べていた。どうも細胞の体積の揺らぎは、転写のゆらぎに影響を与えるらしい。私の研究にも結構関係がありそうなトピックであるが、転写量の調節を調節因子などだけでなく細胞の体積のゆらぎにも関係している事が講演で聴けてとても面白かった。

<全体の感想>

今回、生物物理夏の学校に参加して、大変貴重な経験ができました。色々な講演を聞いた事もそうですが、他大学の学部4年生の人と話す機会があり、私が聞きたかったことに関してはあまり情報が集められなかったものの討論をする事ができた事がとても良い経験になりました。夏の学校に参加して、討論を通して感じたことは、まだまだ一歩踏み込んだ深い議論ができないと思ったので色々これから勉強していこうと思います。特に、シミュレーションと生物無機化学に興味を持ち、講演の先生からもお薦めの本などを教えていただいたのでまずそこから勉強していこうかと思っています。それから、今回の夏の学校の役員と北海道支部長には、とても御世話になりました。ありがとうございました。