

Newsletter No.1

January.2020.

<抜粋版>

2019–2023 年度 文部科学省科学研究費助成事業  
Non-equilibrium-state molecular movies and their applications  
高速分子動画法によるタンパク質非平衡状態構造解析と  
分子制御への応用

目次

領域代表より	2
各班の紹介	2
イベント情報	10
これまでの領域活動	11
総括班よりお知らせ	12

## 領域代表より

新学術領域「高速分子動画」の構想は単純明快で、「百聞は一見にしかず」という事実をさらに時間軸方向に展開したものです。

私が構造生物学者になった理由は、どんなに間接的な証拠を積み上げて直接分子を見るのには敵わないと思ったからです。そして、それは分子の動きに関しても全く同じであり、それが「高速分子動画」の基本的なコンセプトです。'分子の動きを原子分解能で実際のタイムスケールでみる'という単純明快なプロジェクトです。

これは、誰でもそれができればいいと思うことですが、X線自由電子レーザーの10fs程度の非常に強力なパルス光源を用いて分子を直接ストロボ撮影できる技術により初めて可能となりました。しかし現時点ではこの方法を用いて分子の動きを追跡するためには、結晶にしなければならない、光によって反応を開始させなければならない、など数々の制限があります。

本研究領域の第一の目標は、「高速分子動画」法からこれらの制限をできるだけ取り除き、より多くの生体高分子観察に適用できる普遍的な方法として確立することです。そのために、ビームラインのエンジニアリング、タンパク質工学、ケミカルバイオロジーなどの技術を最大限に活用していきます。そして第二の目標は、その結果を新しい生体高分子の制御法の開発に生かしていくことです。実際に観察された「高速分子動画」を計算科学や分光学の手法を用いて定量的、理論的に理解します。これをもとに新しい機能性タンパク質や生体高分子を制御できる新規化合物などを創生することにより、イメージング、光遺伝学、光薬理学といった幅広い分野に貢献したいと考えています。

このプロジェクトは一つの目標に向かってみんなで研究を進めるものではありません。幅広い異なる分野の研究者の共同研究から、予想しなかった全く新しいパラダイムを生み出すことを目指しています。公募班も含めて積極的に若いアクティブな研究者を取り込んでいきたいと思えます。是非、このプロジェクトがなかったら絶対に自分が関わらなかったであろう、全く新しい世界に勇気を持って踏み出してみてください。

領域代表 岩田 想 (京都大学医学研究科)

## 各班の紹介

### A01 タンパク質の反応機構解明・制御

#### A01 岩田班 光動作タンパク質の時分割構造解析と合理的改変



岩田 想  
京都大学  
大学院医学研究科  
教授

我々はプロテインエンジニアリングやケミカルバイオロジー等を駆使して、光感受性でないタンパク質や、人工触媒を高速分子動画法適応可能な状態に持つていくことを目指しています。それによりこれらの分子の働きを実時間観察できるようにすると同時に、新しい機能を持ったタンパク質や化合物を創出したいと考えています。例えば、光によってインバースアゴニスト

からアゴニストにスイッチできる化合物をデザインしそれにより、光感受性でない受容体の活性化の初期過程を観察したり、人工触媒化合物に対する抗体を作成し共結晶化し触媒反応を可視化したりすることを目指します。これらは、タンパク質の活性化の過程や触媒分子の反応過程を可視化できると同時に、光遺伝学や光薬理学のツールや新規の人工触媒の開発に役立つと考えられます。また、班の中だけでこのような開発を行うのではなくオープンコンペティションのような形で広く世界中のグループと協調を保ちながら競争を進めていくことによって新しい学問領域を切り開いていきたいと考えています。



近藤 美欧  
大阪大学  
大学院工学研究科  
准教授

現在人類が直面するエネルギー・環境問題を背景に、太陽光などの再生可能エネルギーを貯蔵可能なエネルギー源へと変換可能な技術の開発への要請が高まっています。このような技術として、天然の光合成反応を模倣した人工光合成反応の開発は極めて重要です。そして人工光合成を担う反応はすべて、多電子移動を伴う小分子変換反応（多電子酸化還元）となります。そこで現在、金属錯体を基盤とした多電子酸化還元に対する触媒開発について研究を行っています。

この領域内では、我々がこれまでに開発した人工触媒分子の反応機構を原子レベルで理解することを目的とし、さまざまなアプローチで反応を可視化することを目指します。特に、人工触媒とタンパク質との複合体を形成し、複合体の時分割 XFEL 構造解析を行うことで、分子性触媒の反応機構解析一般に適用可能な新たなプラットフォームの創出を目指したいと考えています。



野村 紀通  
京都大学  
大学院医学研究科  
准教授

膜タンパク質機能を制御する人工バインダー分子の創出とその構造学的検証を主な目標として研究を進めています。①抗体・非抗体タンパク質・中分子ペプチドなど種々の分子骨格を利用した機能制御因子の探索・デザイン、②得られた人工バインダーの膜タンパク質との複合体構造の解析（X線結晶解析・クライオ電顕単粒子解析）を通じて合理的創薬を目指しています。単一分子・複合体の精密構造解析と、細胞や個体の階層での複雑系生命システムの理解・人為的制御の谷間を繋ぐ架け橋のような仕事をいつか成し遂げてみたいと常々思っています。

この領域内では、高速分子動画の知見に基づいた高性能の光遺伝学ツールの合理的開発に取り組み、XFEL 構造生物学の知見を細胞機能制御に活かす試みに挑戦します。また一方で、これまでに培った抗体作製・結晶化技術を用いて、有用小分子錯体触媒の反応過程を XFEL 時分割構造解析により追跡するという基礎化学的な研究の支援も意欲的に行います。



山下 恵太郎  
東京大学  
大学院理学系研究科  
助教

SPring-8 マイクロビームビームラインや SACLA、クライオ電子顕微鏡を用いて微小結晶から高分解能回折データを収集する技術の開発を行っています。微小結晶では放射線損傷の問題から1つの結晶を用いて完全かつ高分解能なデータを得ることは難しく、かわりに多数の結晶を利用してシグナルを積算し、完全なデータを得る必要があります。私は測定・解析に関するソフトウェア開発を通じて、微小結晶像解析を推進しています。

この領域内では濡木研究室に蓄積されたタンパク質微小結晶作製技法やこれまでの SACLA における結晶回折測定の実験を活かし、光動作タンパク質を対象としたポンプ・プローブ法による時分割構造解析を行います。

#### 研究協力者

濡木 理  
東京大学 理学系研究科 教授  
光応答性膜イオンチャネルの時分割構造解析

水野 秀昭  
ベルギー・ルーヴェンカトリック大学 教授  
フォトクロミック蛍光タンパク質の時分割構造解析

志甫谷 渉  
東京大学 理学系研究科 日本学術振興会特別研究員  
光応答性膜イオンチャネルの時分割構造解析

## A01：清中班 タンパク質の非平衡状態構造解析を可能にするケミカル光制御法の開発

清中 茂樹  
名古屋大学  
大学院工学研究科  
教授

私の専門分野はケミカルバイオロジー研究であり、細胞内でタンパク質を部位特異的に修飾できる小分子化合物の開発、および活性制御するための化学的な方法論の開発を行っています。また、動物や組織において細胞選択的に狙ったタンパク質や受容体を特異的に活性制御することを目的とした研究も展開しており、それを実現するために化学的方法と遺伝子工学を組み合わせた化学遺伝学的手法の開発を進めています。

この研究領域においては、タンパク質の機能を光で活性制御できるような新たな化学制御技術の開発を行っていききたいと思います。最近になり、時分割 XFEL 構造解析により、バクテリオロドプシンなど光で活性化するタンパク質に関する時間分解構造解析が実現されました。しかし、光応答性を持たないタンパク質への適用は困難な状態です。そこで、光非感受性のタンパク質に対しても光駆動で活性制御できるような化学的手法を開発していきしたいと思います。

古田 寿昭  
東邦大学  
理学部生物分子科学科  
教授

光でトリガーを掛けるための手法としてケージド化合物の設計と合成を行っています。主に生物系・基礎医学系で使用することを想定して、1光子、および、2光子励起効率の高いもの、任意の細胞種あるいは組織にターゲティングできるものの開発を進めています。これまでに、神経伝達物質、細胞内シグナル伝達物質、酵素や受容体の阻害剤や活性化剤等の低分子量化合物、および、プラスミド DNA や mRNA 等の高分子化合物のケージド化合物を合成してきました。

この領域では、時分割解析のトリガーに適した性質を持つケージド化合物を合成して提供すること、その過程で新しいケージド化合物を開発することで貢献を目指します。皆さんと密接に連絡を取りながら、作って試して、また作ってを繰り返して、より目的に合うものを選び出していければと考えています。ケージド化合物の性質は、用いるケージンググループの構造に依存します。光反応の量子収率、光反応速度、励起波長、および、水溶液中の安定性に着目して性質を整理し、領域内で情報共有していきます。

永澤 秀子  
岐阜薬科大学  
薬化学研究室  
教授

私達の研究室では、がん微小環境を標的とする創薬・ケミカルバイオロジー研究として、細胞のストレス（低酸素、酸化ストレスなど）を標的とするイメージングプローブ（二価鉄蛍光プローブ）や生理活性化合物（小分子、サイクリックペプチドなどの中分子）、低酸素応答性プロドラッグなど種々の機能性分子の設計、合成を行っています。

そこで本領域では、まず、がん細胞で高発現している GPCR（PAR1、CDCR4 など）を標的とするペプチド型アロステリックモジュレーターである pepducin の分子認識能に着目し、それを基盤とする蛋白標識法の開発と、GPCR への部位特異的光応答性トリガーの導入を目指します。さらに、最近、酸化ストレス、活性酸素（ROS）刺激による細胞内シグナル制御機構解明のための、ケージドヒドロパーオキシドの開発に着手したところです。この研究を発展させて ROS や酸化修飾によって制御されるタンパク質（TRP チャネルなど）やレドックス応答性タンパク質の構造制御に展開したいと考えています。

### 研究協力者

島本 啓子  
サントリー生命科学財団 生物有機科学研究所

## A01 : 朴班 光感受性タンパク質の多様な光反応機構解明

朴 三用  
横浜市立大学  
大学院生命医科学研究科  
教授

フラビン色素等の発色団を含む光感受性タンパク質は、光感知機能や集光機能、DNA 損傷修復機能など多彩な生命現象に関わっています。近年では、そのような光感受性タンパク質を光によって非侵襲的に制御する光遺伝学の試みが始まっており、新たな機能制御による生命現象の解明が進んでいます。しかし、光感受性タンパク質は新たな疾病治療法にもなりうると期待される一方で、その詳細な光応答機構は不明のままです。本研究班では、様々な発色団を含んだタンパク質をターゲットとし、XFEL (X線自由電子レーザー) を利用した高速分子動画法により、光感受性タンパク質の多様な光応答機構の解明を目指しています。生物の光応答を原子レベルかつ時分割で理解することにより、生命科学・医学・薬学などの分野において広範で多彩な応用展開が期待されています。

梅名 泰史  
岡山大学  
異分野基礎科学研究所  
特別契約職員准教授

私は光合成で働く蛋白質の結晶構造解析に基づく機能解明の研究を行っています。これまで水分解・酸素発生を行う光化学系II膜蛋白質 (Photosystem II, PSII) のブレイクスルーとなった高分解能な結晶構造をはじめとして、様々なPSIIの立体構造研究から光合成反応の解明に取り組んできました。近年は、X線分

光法など多様な手法を取り込んだ相関的な研究に取り組んでいます。

この領域ではPSIIに光エネルギーを供給するアンテナ蛋白質複合体フィコビリソームの構成単位蛋白質フィコシアニン (PC) を対象とします。高輝度・極短パルスのX線自由電子レーザー (XFEL) を用いたサブピコ秒のポンプ・プローブ時間分割結晶構造解析により、PCが光エネルギーを伝達する過程の分子動画撮影に取り組みます。これまで分光学的実験や理論化学計算で示されているPCのエネルギー伝達を動的構造解析で取り組むため、シミュレーションや理論化学計算による補完検証や、結晶の分光学的手法によるタイムコースの把握など、別分野の技能を持った班員と連携して研究を進めていきます。

## 研究協力者

別所 義隆  
Academia Sinica, Institute of Biological Chemistry(台湾) 客座教授  
構造生物学、タンパク質の構造解析

Jeremy R.H.Tame  
横浜市立大学 生命医科学研究科 教授  
構造生物学、タンパク質の構造解析

水谷 健二  
横浜市立大学 生命医科学研究科 助教  
分子生物学、タンパク質の精製、結晶化

## A01 : 永野班 酵素が巧みに織りなす化学反応過程のダイナミズムの撮像

永野 真吾  
鳥取大学  
大学院工学研究科  
教授

天然物の生合成・代謝にかかわるシトクロム P450 やフラビン依存性モノオキシゲナーゼ、2-オキソグルタル酸依存性ジオキシゲナーゼなど主に酸素添加酵素のX線結晶構造解析と反応メカニズムの解明を進めてきました。これらの研究の中でシトクロム P450 の反応中間体のX線結晶構造解析から、基質結合型などの休

止状態ではうかがい知ることができない重要な構造情報が得られることも身をもって経験しました。

本領域では、化学反応の遷移状態を安定化し反応を加速する酵素の仕組みを理解するため、これまで実験的にとらえることが困難であった光作動性ではない酵素が化学反応を進めつつある非平衡状態の構造変化を、「高速分子動画」として撮影することを目指します。立体選択的なディールスアルダー反応を触媒する酵素や酸素添加酵素などをターゲットに、ケージドリガンドや温度ジャンプなど光に依存しない反応開始手法も用いて結晶状態での反応を同期的に開始・進行させます。また、X線結晶構造と相補的な構造情報を得るため、久保班と協力し時分割分光解析を進めます。

中津 亨  
京都大学  
大学院薬学研究科  
准教授

ホタルやクラゲに見られる生物発光は非常に効率よく発光することが知られています。このときに用いられる発光酵素、発光蛋白質には様々な種類のタンパク質があります。しかし、どのような仕組みで効率よく光らせることができるのかはわかっていません。そこで、X線結晶構造解析を軸にタンパク質と発光体の詳細な関係を明らかにする研究を行なっています。そして発光反応の詳細を明らかにするためにはタンパク質の動きがどのように反応と関わっているのかを理解する必要があります。

本領域ではオワンクラゲの発光蛋白質で青色の発光を生じるイクオリンを主なターゲットとしています。このタンパク質はカルシウムが3つ結合することにより、イクオリンの立体構造が変化し発光が生じると考えられています。しかし、カルシウムがどのような順番で結合し、どのような構造変化によって発光が生じるのか、よくわかっていません。そこでSACLAを用いた実験を中心に、分光学、有機化学、量子化学計算などをうまく組み合わせることにより、発光反応途中の詳細な過程を明らかにし、効率の良い発光が生じるメカニズムを理解していこうというものです。

## B01 動画撮影基盤

B01：南後班 時分割実験のための多様な反応誘起システムの開発

南後 恵理子  
京都大学大学院医学研究科  
特定准教授  
(2020年4月より 東北大学多元  
物質科学研究所 教授)

私は、化学反応の可視化、特に酵素などのタンパク質が触媒する反応機構や受容体における活性化機構に興味を持ち、研究を行ってきました。元々は、化学科天然物化学の出身で生物有機化学を専門としていましたが、タンパク質の三次構造に興味を持った博士課程以降は、X線結晶学、構造生物学を主専門分野としています。現在は、X線自由電子レーザーを用いてタンパク質が機能する瞬間を捉える「高速分子動画法」の測定技術開発とタンパク質非平衡状態解析に取り組んでおります。

高速分子動画法は、タンパク質の動きを原子分解能かつ非常に高い時間分解能で捉えることができる画期的な手法ですが、分子の反応同期が容易な光励起性タンパク質以外では難しいが現状です。本領域では本法を汎用的な手法として確立するために、熱、低分子化

溝端 栄一  
大阪大学  
工学研究科  
講師

分子生物学の発展の歴史の中で、数多くの研究者が多種多様なタンパク質の構造機能相関の究明に取り組んで来ました。しかし、タンパク質が時々刻々と機能し動く様子を原子分解能で可視化できるようになったのは、X線自由電子レーザーを用いた高速分子動画法が登場したこの数年の出来事です。私は、植物光合成の律速酵素 Rubisco が、大気中の CO<sub>2</sub> または O<sub>2</sub> を固定する反応を、高速分子動画法により、他の計測技術で類例を見ない時間・空間分解能で映像化することに挑戦しています。これにより、Rubisco が発見されて以来の謎であった、CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub> 選択性の分子メカニズムをはじめとした、触媒反応過程の全貌を完全解明することを目指します。将来的には、高速分子動画法で得られた「動きの情報」に基づいて、高機能 Rubisco を分子設計し、これを農作物で機能させることで、窒素肥料を殆ど用いない農業の実現を見据えています。肥料生産にともなう莫大なエネルギー消費と CO<sub>2</sub> 排出の削減により、人類の持続的発展に貢献します。

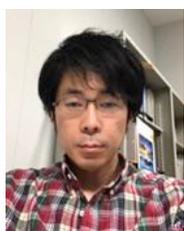
合物などのトリガーによる汎用的な反応開始技術の開発を推進し、結晶を用いた解析のみならず溶液状態のタンパク質構造解析法の確立も目指します。また各班とも連携して、様々なタンパク質における反応やその動きを捉えていきます。そうして得られた動的構造情報が、例えばタンパク質を“分子ツール”として応用するための設計などに活かされていくことを夢見ています。

清水 伸隆  
高エネルギー加速器研究機構  
物質構造科学研究所  
教授

放射光を活用した小角 X 線散乱 (SAXS) 研究を推進しています。タンパク質などの生体高分子の溶液試料による小角 X 線散乱解析では、溶液中の標的分子の性状、形状、動き、さらには構造分布などに関する情報を得ることができます。近年では、ゲル濾過と組み合わせた SEC-SAXS と呼ばれる新しい測定法なども開

発せられ手法の活躍の場が広がっており、新しい実験法の開発・高度化はもちろん、その様なデータを全自動で解析するためのソフトウェア開発も行なっています。

本領域研究では、機能発現に伴うタンパク質やタンパク質複合体の全体構造変化を解析するために、XFEL 施設 SACLA において時分割 SAXS 測定解析システムを開発することを第1の目標としています。放射光 X 線による時分割解析では放射線損傷の影響で得られる情報に制限がありますが、XFEL では損傷を受けないため、広い時間・空間スケールに渡って分子の構造変化に関する情報を取得できると期待されます。開発したシステムを活用しながら他の研究班とも連携し、タンパク質の織りなす多様な相互作用システムの理解を目指します。



大和田 成起  
高輝度光科学研究センター  
XFEL 利用研究推進室  
研究員

紫外~赤外・テラヘルツまでの波長領域のフェムト秒~ナノ秒のパルスレーザーを用いた時分割実験や、軟 X 線・硬 X 線のビームラインおよび XFEL を用いた研究手法・実験装置の開発・高度化に関する研究を中心にを行っています。物理化学分野の時分割実験では、光学レーザーを用いて直接ターゲット分子を励起する手法が主流ですが、タンパク質分子は光に対して不活性であるものが多く、光励起ではない手法、すなわち物理化学的な反応励起の手法の開発が必須です。本領域研究では、ケージド化合物による分子機能の on/off の切り替えや、赤外レーザーを用いた温度ジャンプなど

様々な励起手法を用いた時分割実験手法の開発を行っています。

#### 研究協力者

登野 健介  
高輝度光科学研究センター  
XFEL 利用研究推進室 グループリーダー  
X 線実験

城地 保昌  
高輝度光科学研究センター  
XFEL 利用研究推進室 チームリーダー  
データ解析

中根 崇智  
MRC 分子生物学研究所 博士研究員  
結晶解析法および単粒子解析法のデータ処理

鈴木 守  
大阪大学 蛋白質研究所 准教授  
シリアル結晶構造解析

榎田 哲哉  
京都大学 農学研究科 助教  
シリアル結晶構造解析

上久保 裕生  
奈良先端科学技術大学院大学 教授  
タンパク質複合系の溶液中動態解析

池口 満徳  
横浜市立大学 生命医科学研究科 教授  
計算構造生物学

#### B01 : 南後班 計算科学チーム



宮下 治  
理化学研究所  
計算科学研究センター  
上級研究員

様々な実験データをシミュレーションと融合させることによりタンパク質の構造や運動に関する情報を得るためのアルゴリズム「ハイブリッドアプローチ」の開発を行っています。これにより、例えば、クライオ電子顕微鏡の低解像度のマップと X 線結晶解析の高解像度情報に基づくシミュレーションを組み合わせることにより構造変化のモデルを構築することができ、機能

発現のメカニズムの理解に役立ちます。また、タンパク質構造と運動への結晶環境の影響に関する計算研究も行っています。

この領域内では、このようなアプローチを時分割 XFEL 構造解析のデータに応用することにより、データだけでは得られない運動に関する情報を導き出すことや、逆に、シミュレーションからの情報をもとに足りない重要なデータを得るための新しい実験を提案することができる様なアルゴリズムの開発を行っています。



庄司 光男  
筑波大学  
計算科学研究センター  
助教

生体内での化学反応は反応速度、耐久性、選択性、コストにおいて極めて優れています。その理由や仕組みについてはまだ解明されていない点が多いため、我々は生命から学ぶことが必要となっています。近年、時分割構造解析手法の驚くべき進展により、反応過程を直接観測できるようになりました。理論研究は実験研究と連携することで、反応過程での分子の構造変化や電子状態をより正確に特徴付け、時間発展での因果関係や普遍的反応の仕組みを解き明かすことが可能になっています。実験結果との対応や理論解析手法の発展に対し、新たな展開ができるように研究を推進いたします。



篠田 恵子  
東京大学  
先端科学技術研究センター  
特任助教

物理の相転移という現象に魅せられ研究者の道に入り、そこから統計力学に引き込まれ、計算機という道具を使って統計力学で扱う物理量が計算できる分子シミュレーションに出会って今に至ります。分子シミュレーションの中でも分子動力学シミュレーションは、構築した系の時間変化を追跡することができるため、

知りたい対象物のダイナミクスを観察することができます。ここ数年は先日役目を終えたスーパーコンピュータ「京」を活用して、創薬のための抗体や低分子化合物などを中心に、大規模で長時間の分子動力学シミュレーションを行ってきました。例えば抗体と抗原の結合メカニズムを明らかにすることによって、抗体と抗原の親和性を上げるための変異体を提案しました。現在は膜タンパク質を中心とした生体分子のダイナミクスを調べています。高速分子動画の1コマと1コマの間の世界を分子動力学シミュレーションで繋げ原子スケールで詳細な全体のダイナミクスを明らかにしていくことを目指しています。

### 研究協力者

高田 彰二  
京都大学 理学研究科 教授  
生体分子シミュレーション

重田 育照  
筑波大学 計算科学研究センター 教授  
量子ダイナミクス

Erik Lindahl  
Stockholm University, Professor  
Biophysics

## B01 : 足立班 金属錯体のフェムト秒時間分解分子構造・電子状態計測

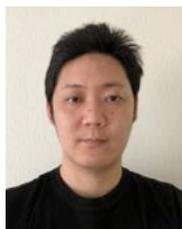


足立 伸一  
高エネルギー加速器研究機構  
物質構造科学研究所  
教授

「高速分子動画」の研究対象は、単にタンパク質分子だけに留まりません。タンパク質の中に取り込まれて活性中心を構成する補欠分子を取り出して、その動きを観測するといったことも、この新学術領域の重要なターゲットの一つです。例えば、タンパク質中に取り込まれた金属原子の周辺構造をモデル化した金属錯体の分子動画観測は、その最たるものです。我々のB01班では、「金属錯体のフェムト秒時間分解分子構造・電子状態計測」という目標を掲げて、主に時間分解X

線分光・X線散乱の手法を用いて、フェムト秒以上の時間オーダーで現れる金属錯体の過渡的な分子構造および電子状態の解明を目指します。

さらに、A01班における天然の光合成反応を模倣した人工光合成反応の開発研究と連携し、光触媒機能を示す金属錯体をターゲットとして、その光エネルギー変換のメカニズムを時間分解X線計測を駆使して明らかにすることを目指します。また、時間分解X線計測と相補的な役割を担う、C01班の時間分解分光および計算科学グループと密接に連携しながら研究を進めます。



片山 哲夫  
高輝度光科学研究センター  
XFEL 利用研究推進室  
研究員

X線自由電子レーザー (XFEL) SACLA を使ったフェムト秒領域の超高速 X 線科学の開拓を行なっています。ポンプ・プローブ分光法において、紫外~赤外の波長領域のレーザー光の代わりに XFEL をプローブ光として使うと、元素選択的な情報を得ることができます。この特性を生かし、金属錯体分子が光を吸収した際に起こる核波束や電子スピンの反転のダイナミクスを追跡しています。このような研究は、主に分子量の小さい分子を対象としており、多次元のポテンシャルエネルギー曲面上を分子がどのように移動しながら光反応が進むのか、を理解することが目標の一つです。

超高速 X 線分光は、電荷、格子、スピンの自由度が複雑に絡み合う超高速光反応の理解に役立ちます。

この領域内では、分子量が大きいタンパク質の内部にある重要な金属元素 (Fe、Mn 等) の価数が変化する様子を時分割 X 線分光で捉える、という研究テーマにも取り組んでいきます。時分割 XFEL 構造解析に X 線分光の情報を組み合わせることで、タンパク質の構造変化と電子の動きが如何にカップルしているのかを理解することが目標です。

#### 研究協力者

野澤 俊介  
高エネルギー加速器研究機構 物質構造科学研究所  
准教授  
装置開発、時間分解 X 線分光計測、データ解析

### B01 : 山本班 動的構造解析に資する固定ターゲット微小結晶解析法の開発



山本 雅貴  
理化学研究所  
放射光科学研究センター  
利用システム開発研究部門  
部門長

SPring-8 建設当初から構造生物学用ビームラインの建設および技術開発に関わり、解析ターゲットの拡大や使い勝手向上に向けた解析技術やビームライン装置等の高性能化および自動化に向けた技術開発を行っています。現在、膜タンパク質等の微小結晶構造解析を可能にするマイクロビームと自動データ収集システムを組み合わせたビームラインを標準的にユーザー利用可能にしています。また、生体機能解析に重要な構造ダイナミクス情報を得るために、動的結晶構造解析に加え X 線小角散乱やクライオ電子顕微鏡など様々な手法で得られる構造情報を統合的に取り扱う「相関構造解析」にも取り組んでいます。

この領域内では、現在の結晶構造解析における解析可能な結晶サイズの限界を広げる SNR を最大化する真空カメラを中心とした高効率高精度 X 線回折データ収集技術の研究開発を進めていきます。それにより、動的構造解析での解析ターゲットの拡大と結晶サイズにより制限される結晶場での反応同期問題の低減を進めていきます。



熊坂 崇  
高輝度光科学研究センター (JASRI)  
タンパク質結晶解析推進室  
室長

X 線結晶回折実験のための放射光ビームライン (BL) の開発と支援を行っています。大型放射光施設 SPring-8 にはタンパク質結晶回折用 BL が複数ありますが、われわれは共用 BL (BL41XU, BL45XU) と理研の BL26B1 について、試料交換ロボットや機器制御ソフトの開発などの基盤技術、微小結晶測定、室温測定、超高分解能測定、結晶化プレートスキャンなど回折実験機器の整備を進めています。

またこれまでに様々なタンパク質の構造研究も行ってきました。BL 建設の初期には異常分散測定を最適化した (今とは異なる) BL45XU を用いてウシ・ロドプシンの結晶解析にも加わりました。その後、Ras タンパク質などの細胞内情報伝達系や種々の酵素にも携わっています。

この領域内では、放射光のマイクロビームを利用した微小結晶からの高精度測定に、非凍結試料を多様な実験条件で行える測定法 (HAG 法) を組み合わせて、XFEL/SACLA で測定する試料の予備実験や数 100 ms 以上の遅い変化を捉えるための測定系を整備します。また HAG 法を活用した結晶化方法の開発も進めていきます。

## C01 反応精密分析

### C01：久保班 時間分解構造解析を補完する精密顕微分光計測



久保 稔  
兵庫県立大学  
大学院生命理学研究科  
教授

振動分光（赤外・ラマン）を中心とした時間分解分光を専門にしており、種々のタンパク質の反応機構を、活性部位の構造変化や電子状態変化を追跡することによって、明らかにしてきました。新しい時間分解分光装置の開発も手掛けてきました。最近、顕微タイプの時間分解紫外可視吸収測定装置を開発し、微結晶に適用することで、高速分子動画と分光研究とのコラボレーションを進めました。分光法は、結晶相での反応速度論解析や反応効率評価に有用ですし、分子動画を補足する微視的情報（化学構造や電子状態、プロトン化状態等）を得ることもできます。

この領域内では、顕微タイプの時間分解ラマン分光装置を開発し、DNA フォトリアーゼのような光駆動タンパク質やケミカルラベルされた酵素タンパク質等への適用を目指します。ストップフローラマン分光装置の開発も行います。結晶相・溶液相でのタンパク質ダイナミクスを時間分解観測し、分光ならではの情報的高速分子動画に肉付けします。



木村 哲就  
神戸大学  
大学院理学研究科  
講師

タンパク質の構造ダイナミクスや機能ダイナミクスを反応軸に沿ってリアルタイム観察するための種々の時間分解解析法の開発と応用を行っています。具体的にはマイクロ流路デバイスと顕微分光測定法を組み合わせることで、非平衡条件下におけるタンパク質の構造変化や化学状態変化を捉えることができ、機能発現の分子機構の理解を目指しています。

この領域内では、この様なアプローチによって、タンパク質微結晶の時間分解 XFEL 構造解析と相補的な

時間分解分光データを測定し、反応機構の速度論的解析を行うことで構造解析を補完します。特に、微結晶測定に最適化した蛍光分光測定や紫外・可視吸収分光測定により、化学発光や蛍光タンパク質、あるいは酵素の分子変換反応を追跡します。



古谷 祐詞  
名古屋工業大学  
大学院工学研究科  
准教授

振動分光法の1つである赤外吸収分光法を用いて、膜タンパク質の分子機構研究に取り組んでいます。光受容タンパク質であるロドプシン類をはじめ、イオンチャンネルやGPCRなどを主な研究対象としてきました。刺激誘起赤外差分分光法により、光異性化、イオン結合、リガンド結合などに誘起される赤外吸収スペクトルの変化を解析することで、タンパク質の構造変化、特にタンパク質内部の水素結合ネットワークに着目した研究を展開してきました。赤外差スペクトルに現れる未知のバンドを帰属することで、タンパク質内部での化学結合の変化が解明できることに魅力を感じています。

本新学術領域では、光誘起時間分解赤外分光法によるロドプシン類の構造変化の時分割計測や、急速溶液交換装置によるリガンド結合・解離の時分割計測などに取り組む予定です。また、微結晶試料を対象とした赤外分光計測にも取り組みたいと考えております。

#### 研究協力者

神取 秀樹  
名古屋工業大学 大学院工学研究科 教授

河野 能顕  
理化学研究所 放射光科学研究センター 専任技師

## イベント情報

2020年2月22日(土)13時00分～17時00分

第8回日本酸化ストレス学会東海支部学術集会

岐阜大学サテライトキャンパス多目的講義室実行委員長 永澤秀子（岐阜薬科大学）

2020年6月11日(木)～6月12日(金)

【予定】第47回生体分子科学討論会(姫路)

2020年7月6日(月)～7月10日(金)

【予定】第20回日本蛋白質科学会年会・蛋白質科学会ワークショップ共催(国際ワークショップ)(札幌)

## これまでの領域活動



令和元年度 新学術領域研究「高速分子動画」キックオフミーティング・膜タンパク質研究会  
(兵庫県淡路夢舞台国際会議場) 2019年10月7日～8日

2019年12月25日(水) XFEL 構造生物ミーティング(山下 貴之 先生・名古屋大)

2019年11月29日(金) 第4回総括班会議(Web)

2019年11月28日(木) 第1回高速分子動画のための光化学制御研究会

2019年11月27日(水) XFEL 構造生物ミーティング(上野 隆史 先生・東京工業大)



- 2019年11月7日(木) XFEL 構造生物ミーティング (Prof. Jasper van Thor・インペリアルカレッジ・ロンドン)
- 2019年10月23日(水) 第1回領域内 SACLA 実験見学会  
～10月25日(金)
- 2019年10月7日(月) 令和元年度 新学術領域研究「高速分子動画」キックオフミーティング・膜タンパク質研究会 (兵庫県淡路夢舞台国際会議場)・第3回総括班会議  
～10月8日(火)
- 2019年9月27日(金) 鳥取大でのセミナー・久保 稔 先生 (Skype 中継実施, 主催:永野先生)
- 2019年9月17日(火) 領域説明会 (京都大学)  
第2回総括班会議
- 2019年8月22日(木) 第1回総括班会議 (Web)

## 総括班よりお知らせ

### 学術調査官

- 東 雅大  
京都大学・大学院工学研究科・准教授
- 樋口 ゆり子  
京都大学・大学院薬学研究科・准教授

### 総括班評価者

- 上田 実 東北大学大学院生命科学研究科・教授
- 中川 敦史 大阪大学蛋白質研究所・教授
- 中村 春木 大阪大学蛋白質研究所・名誉教授
- 松田 道行 京都大学大学院医学研究科・教授

### 総括班の役割分担

	担当者	項目
班長	岩田	研究全体方針、企画調整、共同研究調整
庶務・会計	岩田/南後	会議開催、書類とりまとめ、会計
広報	岩田/宮下	HP作成、ニュースレター企画、facebook 企画
ワークショップ	清中/永野	ワークショップ企画、学会共催企画 (国内)
渉外	久保/朴	海外派遣企画、海外招聘企画、国際会議企画 (国外)
アウトリーチ	山本/足立	SPring-8・KEK 併設企画、学会での展示企画

### 第1回公募研究の募集

研究項目	応募上限額 (単年度当たり)	採択目安件数
A01 高速分子動画によるタンパク質の反応機構解明及び分子制御法の開発	500万円	7件
B01 高速分子動画撮影法の基盤構築	300万円	7件
C01 高速分子動画に資する反応精密分析		

