

Newsletter No.2

May.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
公募各班の紹介	2
ハイライト研究紹介	9
イベント情報	11
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」へようこそ！

新しく公募班に加わった方向けにメッセージを書こうと思います。

新学術領域「高速分子動画」の基本理念は単純明快で、「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も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のですが、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るなど結晶中の分子を同期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。

本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。この目標を達成するためには計画班、公募班にかかわらず、領域内そして領域外も含めてこれまでしてこなかったような共同研究を進めていくことが最も重要です。そのために、一人では研究を遂行するのが簡単ではない、若い研究者に的を絞って選考を行いました。公募班のメンバーには、この研究期間に是非自分の研究の枠を広げ、将来の自分のキャリア形成の礎になるような研究及び共同研究者を見つけることを最大の目的にしてもらえれば嬉しいです。



領域代表 岩田想（京都大学医学研究科）

ホームページを2019年9月より立ち上げ、事務局で更新中。記事や情報を募集中！

【HP】 <http://www.molmovies.med.kyoto-u.ac.jp>

Facebookを2019年9月より開始。だれでも更新OKなので、
希望者は事務局（mol_movie@mfour.med.kyoto-u.ac.jp）にご連絡ください。

【Facebook】 <https://www.facebook.com/MolMovies/>

公募各班の紹介

A01 タンパク質の反応機構解明・制御



松尾和哉
北海道大学
電子科学研究所
助教
タンパク質のリガンド結合・解離過程の高速分子動画

光に応答するフォトクロミック分子を用いたケミカルバイオロジー研究を展開しています。具体的には、タンパク質のリガンドにフォトクロミック分子を巧く組み込んだ化合物を設計・合成し、タンパク質の活性を光で可逆的に制御する手法を開発しています。さらに、開発した手法を駆使し、細胞の移動や分裂といったダイナミックな生命現象をピンポイントに光操作する方法論も開発しています。

本研究では、光だけではなく、フォトクロミック分子の熱的緩和機構に着目し、「光」と「熱」に応答するタンパク質リガンドを化学合成します。これを利用し、リガンドが結合・解離するタンパク質の動的プロセスを、自在に操作する手法を開発します。非光感受性タンパク質に、光・熱応答性リガンドを組み合わせることで、時分割 XFEL 構造解析を適用し、リガンド結合・解離過程の分子動画の撮像を目指します。



松井敏高
東北大学
多元物質科学研究所
准教授
ケージド中間体を用いた2種のヘム分解酵素の機構解明

私は金属酵素の反応機構解明に取り組んでおり、特にヘム分解酵素による特殊な酸素活性化メカニズムに興味を持って研究を進めてきました。研究手法としては比較的一般的な、しかし、多様な手法（嫌気反応、中間体合成、分光測定、結晶構造解析など）をうまく組み合わせることに重点を置いており、機構解明だけでなく、新たなヘム代謝反応の発見にも成功してきました。中でも結核菌 MhuD はヘムを異常に歪めて結合する興味深い酵素であり、立体的な歪みによって反応中間体の特性を劇的に変化させ、特殊な代謝物を与えていることを突き止めました。

本公募研究では、ケージド中間体を用いた光駆動反応を観測し、MhuD と通常型ヘム分解酵素 (HO) における対照的な鍵反応の解明を目指します。もともと計画していた研究ですが、どのように結晶反応の解析にまで発展させようか悩んでいたため、本領域の公募

に小躍りして応募しました。よろしくお願いいたします。



志甫谷 渉
東京大学
大学院理学系研究科
特任助教
XFEL を用いた非古典的ロドプシンのダイナミクス解明

ロドプシンはレチナールを発色団である膜タンパク質であり、光によって様々な機能を発揮します。プロトンポンプであるバクテリオロドプシンや、イオンを運ぶチャンネルロドプシンがその代表例です。こうしたイオン輸送型ロドプシンは良く研究されており、光遺伝学へ応用されています。2018年に、こうしたロドプシンとは配列相同性が15%以下の、ヘリオロドプシンという一群が発見されました。さらに酵素として機能するロドプシン等、新しいロドプシンが次々と発見されています。私はこうしたロドプシンを「非古典的なロドプシン」と命名して、その構造や機能を研究しています。

この領域内では、非古典的なロドプシンのX線結晶構造解析や時分割 XFEL 構造解析を行い、ロドプシンの動作原理を解明します。得られた知見をバクテリオロドプシンと比較することによって、ロドプシン一般の構造変化の多様性や普遍性についての理解を目指します。



片山 耕大
名古屋工業大学
大学院工学研究科
助教
明暗視をもたらす動物ロドプシンの構造ダイナミクス解明

私は赤外分光や紫外可視吸収分光、さらに蛍光分光などの分光計測手法を駆使することで、光応答性 GPCR、色覚タンパク質やロドプシンの光波長制御機構や光情報伝達機構の解明に向けた構造解析を行ってきました。これにより、発色団分子レチナールとの特異的な相互作用変化を原子レベルで抽出することで、光応答機能に直結する構造基盤を明らかにしてきました。また数年前より、両タンパク質の3次元構造を視覚化する必要性を感じ、とりわけ色覚タンパク質のX線結晶構造解析にも取り組んでいます。

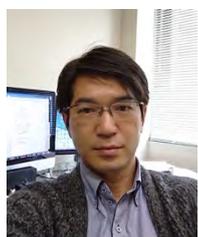
本提案研究では、ロドプシンに対する X 線自由電子レーザーを用いた時間分解 X 線結晶構造解析 (時分割構造解析) を最重要課題と位置づけ、一連の分光計測手法を踏襲した網羅的な構造機能相関研究を実行することで、ヒトの明暗視を担うロドプシンの“超高速・超感度”光反応を実現する分子機構の全容解明を目指していきます。



山元淳平
大阪大学
大学院基礎工学研究科
准教授
(6-4)光回復酵素による DNA 修復過程の分子動画撮影

太陽光の下で生命活動を営む我々生物にとって、光は様々な生命活動になくてはならない重要な環境因子である一方で、紫外線による DNA の化学構造の変化、つまり損傷 DNA の形成は避けられない影響です。私はこれまで、様々な損傷を有する DNA 断片 (オリゴヌクレオチド) の化学合成とそれをを用いた DNA 修復機構研究を行ってきました。中でも、紫外線損傷 DNA を太陽光中の青色光を用いて元の DNA 構造へと修復する光回復酵素に魅せられ、補酵素 FAD の光依存還元反応におけるタンパク質内電荷分離状態、DNA 認識様式、DNA 修復反応について、新たな知見を得てきました。

本領域公募研究では、変異原性の高い損傷である (6-4)光産物を選択的に修復する (6-4)光回復酵素に着目し、DNA 修復過程の分子動画を作成することで、逐次 2 光子 DNA 修復反応における中間体の構造を明らかにします。また、領域における核酸を用いた研究に貢献できれば、と考えています。



日野智也
鳥取大学
大学院工学研究科
准教授
高速分子動画撮影による TRP チャネルの熱刺激応答機構の解明

私はこれまで、X 線結晶構造解析による膜タンパク質の構造生物学研究に一貫して取り組んできました。幸いにも幾つかの膜タンパク質の立体構造を決定することができ、個々のタンパク質機能のある程度理解することができましたが、一方でダイナミックな動きに基づくタンパク質機能を明らかにできず、あーでもないこーでもないと思いを膨らますに留まり (これはこれで楽しいけれど)、フラストレーションが溜まることも多々ありました。

本領域での私の研究の達成目標は、そんなモヤモヤ課題の一つ、タンパク質の「温度」受容および応答機構の原子レベルでの解明です。物理情報である「温度」は可視化することが困難なため、刺激受容直後のタンパク質の構造変化を高い時空間分解能で捉えることが不可欠です。その具体的対象としてヒトの温度感覚に参与する TRP イオンチャネルを挙げ、その高速分子動画撮影などの研究を実施し、温度刺激受容機構の解明を目指します。



菅倫寛
岡山大学
異分野基礎科学研究所
准教授
光合成反応中心とアンテナ複合体の超複合体の高速分子動画解析

光合成の膜タンパク質の微小結晶を SPring-8 や SACLA を用いて解析して、光励起によるタンパク質の構造変化を明らかにすることを目指した研究を進めています。これまで水分解・酸素発生を行う光化学系 II の構造と機能の研究に取り組んできました。

本領域では、酸素を発生しない光合成を行う、光合成細菌の反応中心と集光アンテナ複合体の超複合体を用い、さまざまなタイムスケールで動画撮影することを目指します。動的構造解析をこれまでやってきて装置やメソッドへの期待や要望も増えてきました。例えばサンプルの励起をもっと改善できないか? 複数状態の混ざった X 線データの解析 (解釈) の信頼性をもっと改善できないか? などは一朝一夕に解決できるものではなく、様々なバックグラウンドを持つ研究者が知恵を出し合って取り組む必要があります。公募班として参画させて頂き、領域内での計算科学や新しいアプローチと融合することで自身の研究内容をより深く掘り下げて理解できるようになるのでは、と楽しみにしています。



村川武志
大阪医科大学
医学部 生化学教室
助教
シリアルフェムト秒結晶構造解析による銅含有アミノ酸化酵素の触媒機構の解明

酵素タンパク質が化学反応を効果的かつ特異的に進めるには、触媒各段階での活性部位環境の最適化が必須であり、これにより活性化エネルギーの低減や、反応特異性 (副反応の進行を抑え特異的な反応を行う) などが可能となります。タンパク質のダイナミクスに基づくこれらの視点は、触媒反応を明らかにするうえで、今後さらに重要性を増すと考えられます。しか

し、現時点では、高速で切り替わる各触媒過程を精密に観測することは難しく、これを実現するためには、抜本的な新規測定法の確立が必要となります。

本領域では、土壌細菌由来の銅含有アミン酸化酵素を題材とし、微結晶溶液と基質溶液の二液混合による時分割 SFX 測定を行い、反応過程の構造変化を時系列に解析します。得られたデータについては、計算化学を専門とする計画研究班と連携し、より詳細かつ別視点からの解析結果を加えることにより、酵素触媒の極めて速い反応過程を可視化することを目指します。



下村拓史
生理学研究所
神経機能素子研究部門
助教
光異性化アミノ酸導入による、リガンド依存性イオンチャネルの光制御化法の開発

電気生理学的手法を用いて、イオンチャネルの構造機能連関研究に取り組んでいます。これまで、原核生物の膜電位依存性 Na⁺チャネルや、Two-pore channel (TPC) という膜電位およびホスホイノシチドによって活性化されるカチオンチャネルを研究対象としてきました。最近では、様々なアミノ酸側鎖を持つ人工アミノ酸をタンパク質の任意の部位に導入する手法と組み合わせた解析を進めています。例えば、蛍光性を側鎖部分に持つアミノ酸をチャネルが構造変化する箇所に導入すれば、その局所的な構造変化を蛍光強度変化として観測することができます。

本研究領域では、この非天然アミノ酸導入法を用いて光応答性を側鎖に有するアミノ酸を導入し、光で活性をスイッチできるイオンチャネルを創出・解析します。高速分子動画法によりこの光応答性イオンチャネルを解析することで、イオンチャネルの状態遷移メカニズムをより高い時間分解能で解明することを目指します。



保坂俊彰
理化学研究所
生命機能科学研究センター
研究員
大腸菌無細胞合成系を利用した時分割 SFX 実験に適したサンプル調製法の開発

様々な微生物型ロドプシンの構造解析を行い、その構造から機能や構造変化に関する知見を得ることを目的とした研究を行っています。特に、クロライドイオンポンプロドプシン (CIP) については、SACLA を用

いた時分割実験を行い、その構造変化と基質移動について解明する研究に取り組んできました。

この領域内では、CIP の構造変化について、より詳細な動的構造解析を目指すため、シミュレーションや理論化学など、計算科学の方との共同研究の推進など連携研究を進めていきたいと希望しています。また、CIP の大量調製に用いている大腸菌無細胞合成系を改良して、ケージド化合物を付加した非天然アミノ酸を導入したタンパク質の合成を目指していきます。これにより、様々なタンパク質を光駆動により構造変化・酵素反応の開始などを制御できるタンパク質の創出を行い、時分割 XFEL 実験に供するような系の立ち上げを目指していきます。

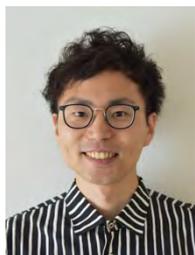


當舎武彦
理化学研究所
放射光科学研究センター
専任研究員
高速分子動画でみる金属酵素活性中心における NO 還元反応

生体内において様々な生理反応に関与し、高活性・高選択的な化学反応を触媒する金属酵素の反応機構の解明を目指しています。そのために、地球上での窒素循環の一翼を担う脱窒（硝酸から窒素分子への段階的還元過程）に関わる膜結合型一酸化窒素還元酵素

(NOR) を対象とし、一酸化窒素 (NO) 還元反応の理解のための時間分解分光計測系を構築しています。時間分解計測では、光照射により基質が放出されるケージド化合物を用いることで、マイクロ秒からミリ秒の時間領域で起こる金属活性部位での NO 還元反応を観測しています。本領域研究では、上述した手法を時間分解 XFEL 構造解析に適用することで、NOR の触媒反応途中に過渡的に形成される短寿命中間体の構造決定を行います。そのためには、結晶試料を嫌気条件下で保つ必要がありますが、ガスバリア性が高いフィルム樹脂を利用することで、嫌気条件下で X 線回折実験を行うための計測系を開発します。

B01 動画撮影基盤



鈴木明大
北海道大学
電子科学研究所
助教
高感度動的結晶構造解析のための超
低バックグラウンド試料セル

これまで、溶液中の生細胞や機能性ナノ粒子などを観察対象とした X 線レーザーイメージングに関する技術開発を行ってきました。本手法における重要な要素技術が、温度や pH を制御した溶液試料を真空中で保持できる独自の環境セルです。フォトリソグラフィプロセスを駆使して、1 つのチップに 500 以上の独立したマイクロ溶液槽を集積しています。本研究計画では、今まで培ってきた環境セル作製技術を足がかりに、X 線結晶構造解析の高感度化に向けた低バックグラウンド結晶導入法の実現を目指します。具体的には、XFEL 実験データや計算機シミュレーションを基にした結晶構造解析用新規環境セルの設計、ならびに、X 線入出斜窓として有力な候補であるグラフェン膜の合成条件探索から進める予定です。将来的には、環境セルをより複雑なマイクロ流路デバイスへと発展させ、光励起性によらない分子動画撮影へと繋げたいと考えています。

established the movement of gold ions in a crystalline protein scaffold to form nanocluster. In our future research plan, we will use XFEL to study non-enzymatic reactions promoted by synthetic metal complexes and organic molecules in designed protein scaffolds.



Basudev Maity
Tokyo Institute of Technology
School of Life Science and
Technology
Specially appointed Assistant
Professor

Time-resolved serial crystallography for dynamic observation of non-enzymatic reactions promoted inside crystalline protein scaffold

Highly ordered self-assembled protein structures have attracted significant attention in the field of biotechnology and biomaterials chemistry. From the viewpoint of diverse applications, it is necessary to know the details of protein structure and dynamic behavior in solution. We are currently working on observing dynamic biomolecular process which include protein cage assembly-disassembly etc. by high-speed AFM. Our current research also includes fixation of synthetic metal complexes or metal ions into protein scaffold for the promotion of catalytic reactions or biomaterials synthesis. We have

C01 反応精密分析



田中伊知朗
茨城大学
大学院理工学研究科
教授
光をトリガとしない高速酵素反応機構解明

リゾチームは細菌の細胞壁ペプチドグリカンを構成する多糖成分の間のグリコシド結合を加水分解する非常に有名な酵素です。現在、最も強く提唱されている反応機構は、リゾチームの中間体は共有結合を形成して反応が進行するというものです。これはリゾチームと共有結合を作りやすいフッ素系リガンドで行った不自然かつ共有結合を形成するのが当然な条件下での結果によるものです。

光をトリガとしない高速酵素反応機構解明をテーマとした本公募研究で、X線自由電子レーザー

(XFEL)での高速動画技術を駆使できた場合、このような加水分解反応の最初から最後までをスローモーションのように追跡することが可能となります。反応速度を制御することで、最初の10-12秒程度と非常に早い反応では、誰も成功していないゆがんだD鎖の環(オキソカルベニウムイオン)の観測が期待できます。また、後半の水が直接関与する加水分解のプロセスもリゾチーム酵素反応のフロンティアであり、中性子解析との相補的な構造情報から、これらの未知な領域を切り開くことが期待できます。



北尾彰朗
東京工業大学
生命理工学院
教授
高速分子動画を補完する構造変化の自由エネルギー地形と経路・流量の解析

我々が開発した高効率なシミュレーション法であるPaCS-MD/MSM法を駆使して、生体分子の構造変化のアンサンブルを生成します。この方法では、分散または並列計算を用いたPaCS-MDシミュレーションによって効率的な立体構造空間探索を実行し、次にマルコフ状態モデル(MSM)を使って得られた多数のシミュレーション結果を解析することで、生体分子の立体構造変化や分子の移動に関わる結合・輸送などの自由エネルギー地形や各構造変化経路の流量(flux)を計算することができます。得られた計算と実験の対応関係を調べることで、時分割実験で得られるアンサンブル平均的な時系列と、確率過程的に振る舞う個々の

タンパク質分子の振る舞いの関係を明らかにすることを計画しています。

この領域内の研究者と密接に連携して新しい方法の開発や新しい研究対象にチャレンジします。この機会を最大限に活用し、生体分子の振る舞いの理解を深めたいと考えています。



林重彦
京都大学
理学研究科
教授
ハイブリッド自由エネルギー最適化法によるタンパク質機能活性化の理論的解明

多くのタンパク質の分子機能は、化学反応活性部位における精緻な酵素反応や光化学反応が制御する大規模なタンパク質構造変化によって発現します。このような機能発現過程では、酵素反応活性部位での高い反応選択性を有する高度に制御された速くダイナミックな基質分子の局所的構造変化が、大きな揺らぎを伴う遅く大規模なタンパク質構造変化を引き起こす、空間的にも時間的にもマルチスケールな現象です。我々のグループでは、高精度な非経験的量子化学計算と長時間の古典的分子動力学(MD)シミュレーションを組み合わせたハイブリッド分子シミュレーション法や、分子機能に関わる大規模タンパク質構造変化のモデリングを可能にするMDシミュレーション法の開発を通して、生体分子機能の理論的な解明を行ってきました。本領域での研究では、それらの方法を更に組み合わせることにより、機能発現過程全体の分子機構の統一的な理解とそれに基づく分子機能制御の理論設計を目指します。更に、時分割シリアルフェムト秒結晶構造解析法などで得られた実験データを量子化学計算に基づいて同化する高精度な活性部位構造モデリングの方法論を開発し、機能にかかわる化学反応の分子ダイナミクスを明らかにします。



水野操
大阪大学大学院
理学研究科化学専攻
助教
イオン輸送を駆動する水素結合ネットワークの高速精密分光計測

振動分光法は、分子振動数からサブオングストロームのスケールで分子の化学結合変化を、結晶化によるパッキングの影響なくとらえられます。また時間分解計測により、その変化の過程をピコ秒から秒にわたる幅広い時間領域で追跡できます。このため、時間および空間スケールにおいてSFXによる高速分子動画像と直接比較しうるタンパク質ダイナミクスを取得できます。

微生物型イオンポンプロドプシンのレチナル発色団にあるプロトン化シッフ塩基は、タンパク質内イオン輸送において重要な役割を果たしていることが考えられ、これを含む水素結合ネットワーク変化を明らかにする必要があります。本研究でわたしは、イオンポンプのレチナル発色団の光異性化に対して、その周辺のアミノ酸残基・内部結合水・イオンとの水素結合ネットワーク変化を、時間分解共鳴ラマン分光法により明らかにします。本研究領域において、様々な研究方法から得られる多角的で精緻なタンパク質構造データを集結し、今後のタンパク質ダイナミクス計測の支柱となるような手法を創り出したいと考えています。



小野純一
京都大学
学際融合教育研究推進センター
特定研究員
分子動画に基づく大規模量子分子動力学による生体内プロトン輸送機構の解明

大規模量子分子動力学 (QMD) シミュレーションを用いて、生体系におけるプロトン輸送機能の発現機構を理論的に解明することを目指しています。具体的には、代表的な光受容膜タンパク質である微生物型ロドプシンを対象として、X線自由電子レーザーによって得られた分子動画の各スナップショットに脂質二重膜・水溶媒を加えた生体系全体を量子的に取り扱うQMDシミュレーションを実施しています。これにより、生体中におけるプロトンの動的挙動をすべて解析することが可能となり、構造変化と化学反応の双方が関与する機能発現機構の解明に繋がります。

本領域では、微生物型ロドプシンの分子動画に基づくQMDシミュレーションにより、生体内プロトン移動の経路やタイミング等に関する微視的知見を獲得します。その結果、微生物型ロドプシンにおけるプロトン輸送機構の原子・電子レベルでの解明と、膜タンパ

ク質由来の新規材料開発に向けた設計指針の確立を目指します。



杉本宏
理化学研究所
放射光科学研究センター
専任研究員
ヘム酵素が生成する酸化活性種の精密構造解析

好気生物は金属タンパク質の働きによって酸素分子 (O_2) をうまく利用しています。ヘム酵素では活性中心のFe(II)に O_2 が結合し、高酸化状態のFe(IV)を経由して酸化反応を触媒する例がいくつか報告されてきました。ヘム酵素であるペルオキシダーゼの場合は O_2 ではなく過酸化水素 (H_2O_2) を用いて物質を酸化しますが、その際にもFe(IV)状態の酸化活性種を反応中間体とする機構が提案されています。その構造と生成機構は、過去半世紀の分光解析と近年の低線量X線での結晶解析や中性子回折に基づいていますが、未だにFe(IV)-O結合の性質やプロトン化状態について厳密に理解できていません。本研究課題では、古くから分光的に捉えられているペルオキシダーゼの反応中間体について、XFELによる無損傷回折データから高い精度で構造決定を行い、その化学的性質を捉えることを提案しています。



櫻庭俊
量子科学技術研究開発機構
量子生命科学領域
主任研究員
タンパク質の大きな構造変化をさっと出す

生体分子の計算機上でのシミュレーションを、より高速に、より正確に、より定量的に実現する様々なシミュレーション手法の開発に取り組んでいます。実験的に得られた生体分子構造から機能発現のメカニズムを解析したり、機能改変のための予測を行ったりするため、高速・正確・定量的なシミュレーションが役立ちます。

本公募研究では、分子シミュレーションの持つ統計物理学的な正確さを維持しつつ、タンパク質の引き起こす大きな構造変化を計算機上で再現する手法の開発に取り組めます。分子シミュレーションには既知の構造から大きく外れる構造を探索したり、構造間の変化を解析したりするのが難しい、という弱点がありました。反応中間体などの準安定な構造を効率良く見つけ出すことで、シミュレーションの解析と予測の幅を広げることを目指します。

ハイライト研究紹介—永野構造生物学研究室

永野真吾（鳥取大院工・A01: 酵素班）



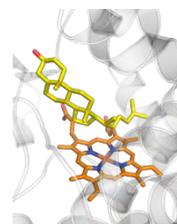
酵素班は大阪大学の溝端先生、京都大学の中津先生を分担者として、鳥取大学の永野が代表となり酵素反応の高速分子動画の撮影に挑んでいます。溝端先生は生物炭素固定の鍵酵素 Rubisco による CO₂ 固定化反応を、中津先生は発光タンパク質イクオリンによる発光過程をターゲットとしておられますが、これらの研究についてはそれぞれ分担の先生方が今後の研究紹介で詳しく説明していただけたと思いますので、本稿では酵素班で私が進める研究に加えて、私のラボで進めている天然物生合成酵素などの研究についてご紹介いたします。

有機合成において Diels-Alder (DA) 反応はジエンとジエノフィルから 6 員環構造を構築する有用な反応として盛んに利用されています。天然物の生合成系においても DA 反応を行う酵素が知られており、複数の不斉中心が生じる DA 反応では、酵素による立体化学の制御メカニズムが天然物の骨格構造と生物活性の多様性を生み出すメカニズムを明らかにするうえで興味を持たれます。私は、理研の高橋俊二先生、加藤直樹先生（現在摂南大学農学部）らと共同で抗 HIV インテグラーゼ活性を持つ天然物、フォマセチンとエキセチンの生合成において、いずれもほぼ共通の基質からデカリン骨格を構築するが生成物の立体化学が異なり、それぞれの反応を行う酵素 Phm7 と Fsa2 に注目し、その立体化学の制御メカニズムの解明を目指し、X 線結晶構造解析などを行っています。フォマセチンの生合成系でデカリン骨格を構築する Phm7 の結晶構造はすでに決定しており、疎水性低分子の運搬体として知られるリポカリンに類似した β サンドイッチドメインが 2 つ並んだ構造が明らかとなりました。これらのドメインの間に深いポケットが存在しており、ここを基質結合部位として DA 反応が進むと推定しています。酵素反応の高速分子動画を撮影するために解決すべき課題は、いかに結晶内で酵素反応を同期的に進行させるかにありますので、温度ジャンプ法などを駆使して

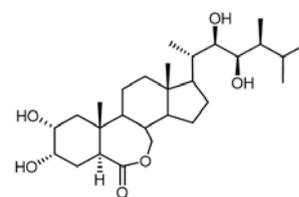
この解決を目指します。さらに、酵素反応の高速分子動画情報を活用した MD シミュレーションなどでコマ送りの情報を補完する研究も必須となります。これらの共同研究も今後進めていきたいと考えています。

この他にも私のラボでは様々な天然物生合成の構造解析と反応機構の解明の研究を進めています。例えば、植物の成長ホルモン「ブラシノステロイド」の生合成における初発・律速酵素であるシトクロム P450 CYP90B1 の基質結合型の構造を決定し、この酵素によって基質（カンペステロール）の 22 位を位置・立体選択的に水酸化する仕組みを明らかにしました (Fujiyama *et al.*, 2019 *Nat. Plants*)。また、この酵素の 2 種類の阻害剤結合型の結晶構造も決定し、植物の成長を制御する阻害剤、つまり農薬の分子設計に有用な構造情報を得ることもできました。すでに、静岡大学の轟先生と共同で構造に基づいた阻害剤の設計を進めています。

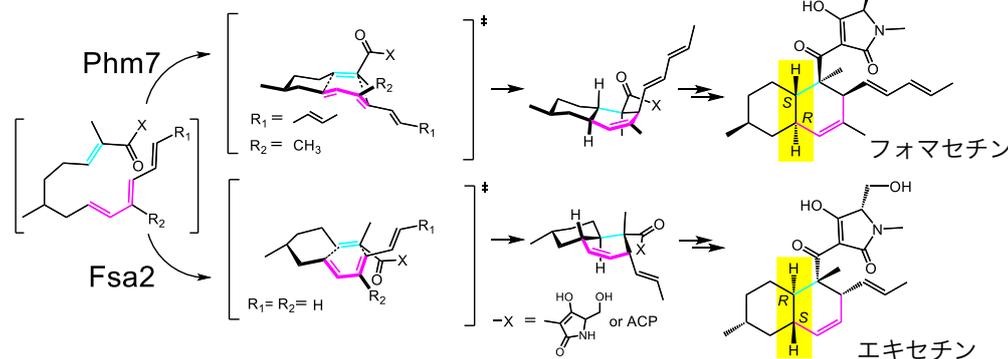
また、私がラボを立ち上げて間もなく参加してくれた日野先生が長年にわたり続けてきた温度センサーイオンチャンネル TRP の研究が、この原稿を書いている日に、当領域の公募研究として採択されたと通知が届きました。昨年末には新たに佐藤先生が講師として加わっていただき、スタッフ 3 名の体制が整ったところです。佐藤先生はユビキチンシグナリングの構造生物学的研究を進めておられ、鳥取で新たな展開を見せていただけると期待しています。これからが本当に楽しみなラボになってきたと実感しているところです。皆さんどうぞよろしくお願いいたします。



CYP90B1 の基質結合部位



最も活性が高いブラシノステロイド（ブラシノライド）の構造



Phm7 と Fsa2 による立体選択的な Diels-Alder 反応



Phm7 の全体構造

ハイライト研究紹介ー金属錯体のフェムト秒 X 線計測に取り組む面々 足立伸一（高エネルギー加速器研究機構・B01 班）



我々B01 班は、生体内の金属中心における超高速反応に着目し、時間分解 X 線分光法や X 線散乱法を活用した実験研究を行っている。以下に紹介する。

錚々たる、イカつい面々

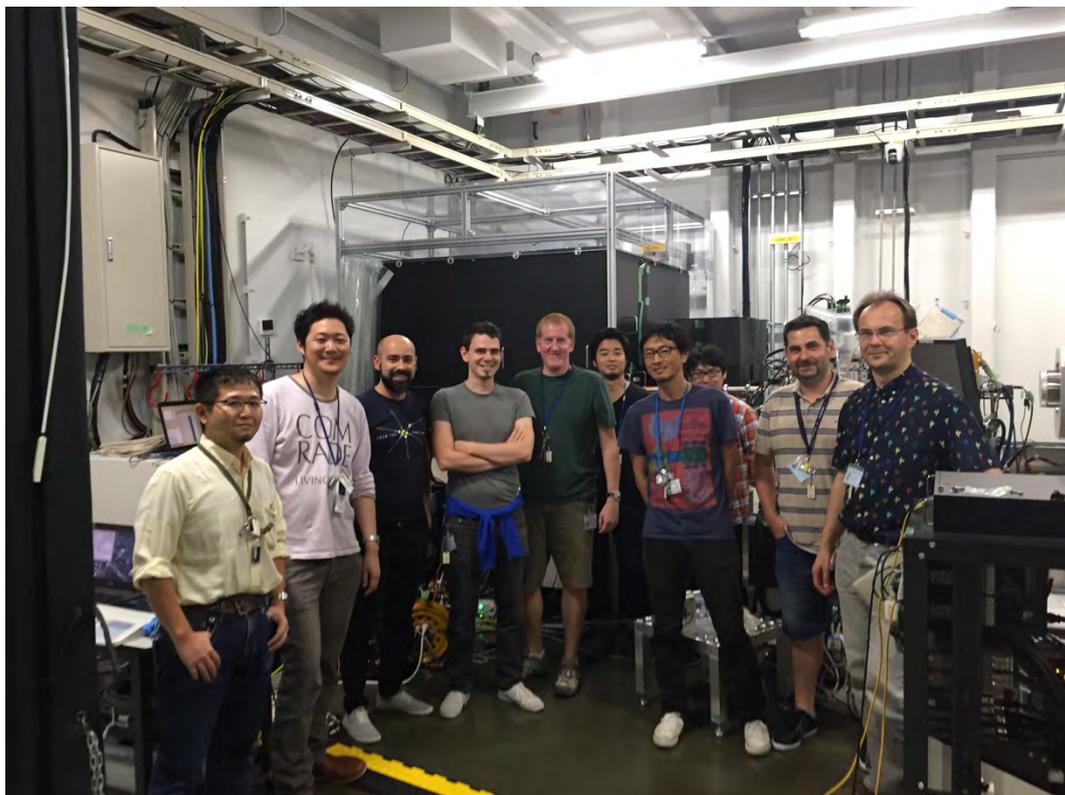
研究者コミュニティは基本的に、大なり小なり変わった人たちの集まりではあるが、中でも、フェムト秒の X 線パルスを使って世界中の誰もみたことがない分子の姿を見たいという研究者は、おそらく相当に変わっている。彼ら、彼女らは、何百億円もの国家予算をかけて建設された巨大な加速器「X 線自由電子レーザー施設」の最後段の実験装置に陣取り、ほぼ自分たちの実験（ビームタイム）だけのために運転されている巨大加速器から放射される光を駆使し、昼夜を問わずその実験装置に張り付いて、そこからなんとかして有意な実験結果を引き出そうと、悪戦苦闘している人たちである。自ずとその面構えもイカつくなるうというものである。下に示す、我々の研究グループの集合写真をご覧いただければ、それなりにご納得いただけるかと思う（ごめん、みんな）。

お前がやるなら、手伝うよ

大学の研究室での実験と違い、この手の実験は一人だけでやることはほぼ不可能で、いろんな特技を持つ超一

流のメンバーが集まって、メンバーの持つ力を結集しなければ成立しない。「同じ釜の飯を食った仲間」という表現が適切かどうかわからぬが、ビームタイムの修羅場を一緒にくぐってきた研究者たちの間には、国籍を問わず妙な連帯感が生まれる。その結果、誰かの実験を手伝うと、じゃあ次はお前の実験に参加して手伝うよ、といった共同研究の輪が自然発生的に生まれることがままある。こうして形成された共同研究チームが離合集散しつつ、今日もまた世界のどこかで実験をしている。実験をしながら、このチームって、荒波に立ち向かう船の乗組員のようなものだなあと、感じるのがよくある。「クルー」は个性的かつ有能な面々で、ビームタイムを取りまとめる「船長」には、サイエンスの実力だけでなく、個性派集団をまとめる「人間力」が問われることになるのだ。

我々の B01 班は、他の班と同様、数々のビームタイムを経験してきたメンバー（片山、野澤、一柳、深谷）と、厳しい修羅場を一緒にくぐってきた信頼できる国内外の仲間たちがいる。このチーム力が最大の強みとなって、「高速分子動画」全体の成果につながれば、大成功といえるだろう。共にこの分野を盛り上げましょう。



B01 班の片山博士（左から二人目）の SACLA ビームタイムのために、ドイツ、スイス、チェコ、英国、日本などから集まった、世界有数の時間分解 X 線分光実験のプロ達。心優しく、錚々たる面々です。



イベント情報

2020年5月26日(火) 13:30-
領域会議 (Web)

2020年7月6日(月)～7月10日(金)
第20回日本蛋白質科学会年会 (札幌での現地開催は中止)
<https://www2.aeplan.co.jp/wcps2020/>

2020年9月14日(月)～16日(水)
日本生化学会大会 (横浜)

2020年9月16日(水)～18日(金)
生物物理学会年会 (群馬)

2020年10月27日(火)～10月30日(金)
CBI学会2020年大会 (Web)
<https://cbi-society.org/taikai/taikai20/index.html>

2020年12月2日(水)～12月4日(金)
分子生物学会年会 (神戸)

第47回生体分子科学討論会(姫路)は延期されました。
<https://www.sci.u-hyogo.ac.jp/life/biophys2/biomol47/index.html>

XFEL 構造生物ミーティングを(ほぼ)月一で開催しています。

時間: 13:30～(14:30くらいに終了予定です)

時間配分: 話題提供 25分くらい(話の途中で質問ありです)

場所: SACLA2階 試料準備室4(理化学研究所 放射光科学研究センター)

参加者: SACLAスタッフ、理研やJASRI等の構造生物に興味のある人(研究者、エンジニア、技術者等)、その他の興味のある方

*日程等、興味をお持ちの方は田中里枝さん(rie.tanaka.hw@riken.jp)までご連絡ください。話題提供者の推薦もお待ちしております。

2020年1月以降の領域活動

2020年4月17日(金) 第7回総括班会議 (Web)

2020年3月19日(木) 第6回総括班会議 (Web)

2020年3月17日(火) XFEL 構造生物ミーティング (講演者: 竹内 佐年先生・兵庫県立大)

2020年2月26日(水) XFEL 構造生物ミーティング (講演者: 片山 耕大先生・名工大)

2020年1月29日(水) XFEL 構造生物ミーティング (講演者: 佐藤 裕介先生・鳥取大)

2020年1月20日(月) 第5回総括班会議 (Web)

2020年1月 ニュースレターNo.1 発行

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