

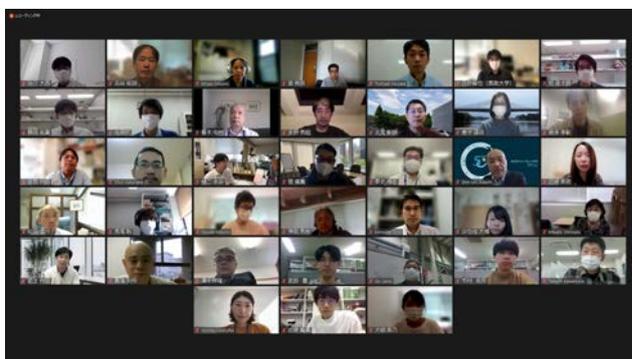
令和三年度 新学術領域研究「高速分子動画」シンポジウム開催報告

開催日：2021年11月1日-2日

会場：淡路夢舞台国際会議場+Online

<開催報告>

2021年11月1-2日に淡路夢舞台国際会議場にてシンポジウムと領域会議を開催しました。昨年に続き、新型コロナウイルス COVID-19 対策として、会場とオンラインのハイブリッドで開催しました。計算科学、ケミカルバイオロジー、分光学、構造生物学等の分野から会場 53 名、オンライン 63 名（2日目は 48 名）の方にご参加いただきました。ポスターセッションでは、30 件のポスター参加があり積極的な意見交換が行われました。



<講演要旨>

シンポジウム①

時分割構造解析による Cl イオンポンプロドプシンのイオン輸送機構の解明 (Online)

保坂 俊彰 (理化学研究所)

光駆動性のクロライドイオンポンプロドプシンである NM-R3 について、SACLA での時分割構造解析を行った。時分割実験準備として、微結晶中での分光実験により、微結晶中でも構造変化が起こり、O 中間体が蓄積することが明らかとなった。SACLA の測定・解析では、レチナールの構造変化から、アニオンの移動、周辺アミノ酸の構造変化を観察することができた。特に、アミノ酸の構造変化により、イオン輸送経路を一時的に閉じる機構が見えるなど、本酵素のイオン輸送メカニズムの一端を明らかとすることができた。

(6-4)光回復酵素による DNA 修復過程の捕捉に向けて

山元 淳平 (大阪大学)

変異原性が高い紫外線損傷 DNA である(6-4)光産物を、太陽光中の青色光を用いて修復する(6-4)光回復酵素は、1993年に発見されてから現在に至るまで、いまだにその DNA 修復反応機構が明

らかになっていない。そこで本研究では、時分割シリアルフェムト秒 X 線結晶構造解析によって中間体の構造を捉え、DNA 修復反応機構を明瞭にすることを目的とした。様々な DNA 配列および(6-4)光回復酵素を用いて共結晶化を試みたところ、クラミドモナス由来動物類縁型クリプトクロムにおいて再現性良く微結晶を得、SACLA において 2.2 Å の分解能で構造を解くことができた。修復活性を担うアミノ酸側鎖が常温では揺らいでおり、その揺らぎの重要性について計算結果から議論する。

立体選択性が異なる 2 種類の Diels-Alder 反応酵素がデカリン骨格を構築する分子メカニズム 永野真吾 (鳥取大学大学院工学研究科)

Phm7 と Fsa2 は立体選択的な分子内 Diels-Alder 反応を行い、鏡像異性の関係にあるデカリン骨格を構築し、抗 HIV 活性をもつフォマセチンとエキセチンの生合成にかかわる酵素である。これらの酵素の X 線結晶構造に基づいた分子動力学シミュレーションを行い、2 種類の基質は折れ曲がった擬似的な鏡像異性のコンフォメーションで酵素に結合することで、立体選択的な Diels-Alder 反応を行うことが示された。さらに、基質結合部位の Ala 置換変異体の活性は推定された結合コンフォメーションを支持しており、密度汎関数理論計算から Phm7 では酸触媒の働きで反応を促進していることが明らかとなった。

シンポジウム②

時分割 SFX における課題と展望

南後 恵理子 (東北大学)

時分割シリアルフェムト秒結晶構造解析 (時分割 SFX) は、タンパク質が起こす構造変化や反応を実時間且つ原子分解能で捉える唯一の方法である。従来、反応開始方法として光励起が用いられてきたが、最近では基質等と微結晶を迅速に混合する二液混合法も使用されるようになった。このように様々なタンパク質に時分割 SFX は適用されつつあるが、過度の励起光が引き起こす影響や、構造精密化の煩雑さ、二液混合法における試料消費量などが障壁となっている。本講演では、時分割 SFX における課題点とその改善並びに今後の展開についてご紹介する。

階層的クラスタリングを用いた回折データ分類による構造多様性解析法の検討

松浦滉明 (理化学研究所)

多数の結晶から得られた回折データを利用する構造解析においては、同型性の高いデータを抽出するために階層的クラスタリング(HCA)を用いたデータ分類を行っている。HCA を不均質な結晶の回折データに対して適用し、異なる構造情報に由来する回折データを分類できれば、平均化の影響を減らし、構造多型を抽出できると考えられる。そこで、現在 HCA によってどのようなデータが分類できるかについて、実サンプルおよびシミュレーションデータを用いて検討を進めている。本発表では、このような HCA を用いた構造多様性解析法の現状について紹介する。

シンポジウム③

酸素バリア性フィルムを用いた嫌気環境の構築：金属酵素の反応機構解明に向けて

當舎武彦（理化学研究所 放射光科学研究センター）

生体内において様々な生理反応に関与する金属酵素の反応機構の解明は、生命現象の理解に重要である。金属酵素の反応では、還元状態の金属酵素が基質と結合することで反応が開始される場合が多く、嫌気環境を構築することが高速分子動画撮影において必要となる。本研究では、嫌気条件下での計測に向けて、酸素分子を透過させない酸素バリア性フィルムを用いることを考えた。酸素バリア性が非常に高いフィルムを発見し、そのフィルムを用いたフィルム状結晶化プレートで結晶化を行い、フィルムごと X 線回折実験が行える系を確立した。今後は、酸素バリア性フィルムで包まれた結晶試料を用いて嫌気条件下での高速分子動画撮影に挑戦する。

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

林 重彦（京都大学）

多くのタンパク質の分子機能は、化学反応活性部位や活性制御部位での高い反応選択性を有する高度に制御された基質分子の局所的構造変化が、分子機能を与える大きな揺らぎを伴う遅く大規模なタンパク質構造変化と相関する、空間的にも時間的にもマルチスケールな現象である。本発表では、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シミュレーションを組み合わせるハイブリッド分子シミュレーション法を用いた、光遺伝学タンパク質ツールであるチャネルロドプシンと発光タンパク質であるイクオリンの分子機能活性化過程に関する理論的研究を紹介する。

新学術領域「高速分子動画」領域会議 (Closed)

シリアルフェムト秒結晶構造解析による銅含有アミン酸化酵素の触媒機構の解明

村川 武志(大阪医科薬科大学)

細胞分裂関連タンパク質を光操作する技術の開発

松尾 和哉（京都工芸繊維大学）

カルシウム結合による発光タンパク質イクオリンの初期構造変化

中津 亨(和歌山県立医科大学)

以上