

Newsletter No.8

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	3
イベント情報	10
これまでの領域活動	10
総括班よりお知らせ	10

領域代表より

横浜での領域会議・国際シンポジウムも無事終わりました。140人の登録があり、二日間とても盛況でした。スピーカーと参加者の方々に感謝するとともに、実際の会議ホームページ作成から当日の進行まで取りまとめてくれた吉田さん、会場の用意・当日の進行等に尽力してくださった村岡さん、水谷君、朴さん、当日手伝いをしてくださった樋口さん、スピーカーの招聘に尽力していただいた新学術領域のメンバー、そして全ての関係者の方にお礼を申し上げたいと思います。またホームページ関連の仕事をいただいたCSセンター、当日のハイブリッド会議を担当してくださったフジエンタープライズの二社にも大変お世話になりました。

オンラインベースの国際会議を実施してみても感じたことは、非常に高いレベルのスピーカーを比較的容易に呼ぶことができるということです。活躍されている先生は忙しい方も多くスケジュールを確保するだけでも大変なのですが、オンラインで行うことによりみなさんのスケジュールを合わせることができました。これからも学術会議はオンライン化の方向が進むだろうと感じられました。

これと同時に、実際に顔を合わせて話し合うことも大切だと痛感しました。ポスターセッションはいつも好評ですし、直接対面で話して共同研究が始まったという話も多く聞きます。実際に紙に書きながら打ち合わせしたので理解が深まったという話も聞きました。非常に広い範囲のエキスパートを持ったメンバーがブレインストーミングをしながら新しいサイエンスを作っていくというのが本領域の目指すところです。これからもオンラインで機動力を生かしたレベルの高いセミナー・シンポジウムを開くのと同時に、なるべくメンバーが対面で話し合える機会も確保していこうと考えています。次の大きなイベントは秋の領域会議になりますが、それまでも月1、2回のペースでオンラインセミナーを継続していきます。奮ってご参加ください。



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>

Twitterを2021年12月より開始。Facebookも継続中。

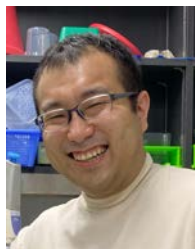
誰でも更新OKなので、希望者は事務局 (mol_movie@mfour.med.kyoto-u.ac.jp) にご連絡ください。

【Twitter】 <https://twitter.com/MolMovies>

【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



福田昌弘
東京大学大学院総合文化研究科
先進科学研究機構
特任助教

中間体構造解析による光感受性膜タンパク質の光エネルギー変換機構の解明

私はこれまで、膜タンパク質のダイナミクスに興味を持ち、X線結晶構造解析およびクライオ電子顕微鏡解析を中心とした構造生物学的研究に取り組んできました。自然界では多様な光感受性タンパク質が光エネルギーをイオン輸送や化学変化といった様々な仕事に変換していますが、近年私は光感受性の膜タンパク質が織りなす精巧なエネルギー変換機構に興味を抱いて研究を行なっています。本公募研究では、光感受性膜タンパク質の光エネルギー変換機構を、光反応中間体の時分割解析により解明することを目的とします。フェムト秒からマイクロ秒オーダーという超高速の微細な構造変化を捉えることを得意とするXFEL技術と、ミリ秒オーダー以上の反応中間体を解明する独自の光励起瞬間凍結装置を用いたクライオ電子顕微鏡解析を組み合わせる相乗効果により、領域内の多くの素晴らしい研究者の方々とともに分子動画法を一層発展させていきたいと考えています。これからどうぞよろしくお願いたします。



Robert E. Campbell
東京大学
大学大学院理学系研究科
教授

Next Generation Biosensors Enabled by High-speed Visualization of Dynamic Mechanisms

Genetically-encoded biosensors, engineered by inserting binding proteins into the green fluorescent protein (GFP), have revolutionized biomedical research by enabling in vivo imaging of many cellular activities. The fluorescent responses of these biosensors are optimized through the empirical process of protein directed

evolution. A growing number of biosensors have now been characterized by X-ray crystallography, but these static structures reveal little about the dynamic mechanisms by which these biosensors function. We now aim to uncover the dynamic mechanisms by performing high-speed structural analysis during photo-uncaging of the biosensor target molecules in protein crystals. We are eager to further discuss and collaborate with other members of the Molecular Movies team.



島田敦広
岐阜大学
応用生物科学部
准教授

迅速二液混合法とポンププローブ法を用いたシトクロム酸化酵素の未知中間体構造の解明

金属タンパク質の反応機構を解明するためには、反応過程での構成原子の空間座標変化だけでなく、金属中心の電子状態変化の情報も必要です。私はこれまで金属膜タンパク質であるシトクロム酸化酵素 (CcO) の反応機構を解明するために、吸収スペクトルによって金属中心の電子状態を評価することで目的の CcO 結晶を調製し、SACLA や SPring-8 にてその構造決定を行なってきました。この方法によって、CcO の比較的安定な反応中間体構造や、阻害剤との複合体構造を決定することに成功しています。

本研究では、CcO の安定な反応中間体間の構造変化過程を捉えることを目的とし、CcO の微結晶溶液と基質である酸素の飽和した溶液を混合することで反応を開始する迅速二液混合法を利用して、時分割 SFX 実験を行います。さらに、CcO の反応過程における構成原子の空間座標変化と金属中心の電子状態変化の情報を同時に得るため、時分割 SFX 実験において X 線回折だけでなく X 線発光分光の同時測定も行いたいと考えています。



松尾和哉
京都工芸繊維大学
分子化学系
助教

光薬理学リガンドを駆使したタンパク質の光機能化

光を駆使した分子ツールを開発し、それを駆使し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、タンパク質リガンドにアゾベンゼンなどのフォトクロミック分子を巧く組み込むことで、タンパク質の活性を光で可逆的に制御できるリガンド（光薬理学リガンド）を開発しています。これまでに、自ら開発した光薬理学リガンドを駆使し、モータータンパク質の動きや細胞分裂などのダイナミックに動く生命現象を光操作する方法論を開発してきました。

2020年度の公募研究において、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も着目し、「光」と「熱」に応答する光薬理学リガンドを開発することに成功しています。2022年度の公募研究では、これまでに開発した光薬理学リガンドを駆使し、タンパク質自体を光機能化させる手法を開発します。これにより、非光感受性タンパク質を、光感受性へと変換するための汎用性の高い方法論を確立し、高速分子動画法に応用できるタンパク質を大幅に拡張することを目指します。



山元淳平
大阪大学大学院基礎工学研究科
准教授

二元機能性青色光受容タンパク質の光応答機構

化学構造が変化したDNAを元の構造に戻すDNA修復反応の原子レベルでの反応機構解析を目指しています。中でも、光によってDNA修復反応を進める光回復酵素と呼ばれるフラビントタンパク質に着目して、その補酵素活性化機構・DNA認識機構・DNA修復機構および集光分子認識機構を明らかにしてきました。一方で、光回復酵素はヒトには存在せず、全く異なる機能を果たすクリプトクロムと呼ばれるシグナル伝達タンパク質へと進化し、生体内の概日リズム形成などに重要な役割を果たしています。これらは同一のタンパク質ファミリーを形成し、高い構造類似性およびアミノ酸配列相同性を示すことから、各々のタンパク質機能の理解は分子進化の起源に迫ることができると考え

られます。

本領域公募研究では、光回復酵素とクリプトクロムの二つの機能を一つのタンパク質で成し遂げる、クラミドモナス由来動物類縁型クリプトクロムによる光応答反応を動的構造解析によって明らかにしたいと考えています。また、領域計画研究班と連携して分光測定および計算科学の共同研究を進め、様々なアプローチから上記研究テーマを深掘りできれば、と期待しています。



島扶美
神戸大学大学院
科学技術イノベーション研究科
教授

光制御型 Ras を用いたがん化シグナル伝達機構の原子スケールでの解明

がん遺伝子産物 Ras は細胞内において活性型の GTP 結合型 (Ras-GTP) と不活性型の GDP 結合型 (Ras-GDP) を相互変換しながら、細胞増殖シグナルを制御する分子スイッチ機能を担っています。また、Ras-GTP は State1 と State2 と呼ばれる 2 種類の構造の平衡状態にあり、State1 では薬剤結合可能ポケットが開いた構造をとります。一方、Ras は内因性 GTP 加水分解作用があるため、これまでの活性型 Ras に関する構造科学研究の多くは、非加水分解型 GTP アナログである GppNhp を用いた静的構造解析に注力されています。したがって、Ras の生理的な機能制御の理解の上では本来必須である、(1) 天然 GTP 結合型 Ras の構造情報、(2) 天然 GTP 結合型 Ras の State 遷移に関する構造変化、(3) Ras の GTP 加水分解反応に伴う不活性化メカニズムの詳細は、Ras の未解決課題となっています。

島班では、2020-2021 年度の先行研究において、Ras の酵素触媒反応の新たな駆動領域「アロステリック領域」を、光制御可能な Ras の基質である NPEcagedGTP を活用した時分割構造解析により見出しました。

本年度からは、量子収率のより高い新たな光反応性 GTP を活用するとともに、Ras に非天然光応答性アミノ酸を導入した光応答性 Ras を設計・使用することで、さらに詳細な Ras の酵素触媒反応に基軸を置いた分子動画作成を通じて、がん化シグナル伝達機構を原子スケールでの可視化を目指します。

本研究において、アロステリック領域が Ras の不活性化のための駆動領域であることが明確になれば、当該領域をターゲットとした「Ras のアロステリック阻害剤 (GTP 加水分解促進剤)」という独創的かつ革新的がん創薬のシーズ開拓に繋がることが期待されます。



日野智也
鳥取大学
大学院工学研究科
准教授

高速分子動画でTRPチャンネルの温度センサー部位を見極める

本研究で対象とするTRPチャンネルは、環境の温度変化を感知し、その変化に対する生体応答システムを動作するシグナル発生の役割を担っており、とっても身近な温度感覚のみならず、味覚の調節、免疫の活性化、皮膚のバリア機能維持、創傷治癒の促進などなど、温度に関わる様々な生理作用に関わっています。近年のクライオ電子顕微鏡の技術革新により、多くのTRPチャンネルの立体構造は解析し尽くされた感がありますが、それでもなお、「TRPチャンネルの温度センサー部位はどこか？」という温度感知の真髄を突く疑問は解決されていません。

本新学術領域の中心的技術であるSACLAを用いた時分割X線結晶構造解析は、熱刺激と同様に可視化が困難な物理刺激である「光」を感知するタンパク質の刺激受容後の構造変化を動画として捉えることを可能とし、局所的な光センサー部位からタンパク質各所へ構造変化が伝播する様を見事に明らかにしました。これは逆に考えると、初発構造変化領域が物理刺激のセンサー部位であるとも捉えられます。であれば、TRPチャンネルに熱刺激を加えたのちに起こる構造変化の瞬間をSACLAにより動画撮影することができれば、温度センサー部位を見極めることができるのではないかとというのが本研究の着想に至った経緯です。言うは易し行は難しを地で行く研究内容ではありますが、領域内の先生方と連携して本研究課題の解決を目指すとともに、SACLAを用いた分子動画撮影法の発展に寄与できるよう尽力して参りたいと思います。



菅倫寛
岡山大学
異分野基礎科学研究所
教授

酸素非発生型の光合成反応中心-アンテナ超複合体の高速分子動画解析

私は光合成の膜タンパク質の微小結晶をSPring-8やSACLAを用いて構造解析して、光励起によるタンパク質の構造変化を明らかにする研究を進めておりま

す。これまでに光合成の水分解反応を触媒する光化学系IIの構造と機能の研究を中心に取り組んできました。その間、構造解析の対象は安定な反応開始状態から、準安定な反応中間体状態へ、そして一過的な反応途中の状態へと変化してきました。構造生命科学のダイナミクス研究を展開したいと思っています。また最近はいネのケイ酸輸送体LsiIなどの生体膜を隔てた物質輸送に関する構造機能研究も行っています。

本領域では酸素非発生型の光合成反応中心と集光アンテナ超複合体の分子動画解析を行うことを目指します。そのために微小結晶の品質を改善して光化学反応に伴うタンパク質の立体構造変化を可視化することに取り組んでいます。また光感受性タンパク質の微細な立体構造変化を検出する解析方法の開発も行っています。



村川武志
大阪医科薬科大学
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基づく銅含有アミン酸化酵素の触媒機構の解明

酵素タンパク質が、自身が触媒する化学反応を効果的かつ特異的に進めるには、反応各過程における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主反応を行う)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、酵素微小結晶溶液と基質溶液の二液混合による時分割SFX測定を実施し、時系列に沿った反応過程の構造変化を明らかにします。得られたデータについては、領域内での計算化学を専門とする研究班と積極的に共同研究を実施し、より詳細かつ別視点からの解析を行います。これにより、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

非天然アミノ酸を用いた汎用かつ簡便なタンパク質光感受化法

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、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、コドン拡張法により天然には存在しない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。この手法により多様な非天然アミノ酸を導入することができ、例えば、蛍光性を側鎖部分に持つアミノ酸をチャンネルが構造変化する箇所に導入すれば、その導入位置近傍の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。これにより標的タンパク質の活性測定などでは直接観察することが難しい局所の構造変化を捉えることが可能となります。

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タンパク質を創出・解析します。非天然アミノ酸導入法は対象となるタンパク質を選ばず任意の位置に導入できるので、多様なタンパク質に光感受性を付与できると期待されます。また、創出した光応答性イオンチャネルを高速分子動画法により解析することで、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
技師

大腸菌無細胞合成系を利用した光反応性非天然型アミノ酸導入タンパク質調製法の開発

所属研究室で保持する大腸菌無細胞合成系によるタンパク質の調製技術は、微量での発現チェックから構造解析に向かう超大量の調製に対応できる系である。実際に SACLA での時分割構造解析研究に用いたクロライドイオンポンプロドプシンはこの大腸菌無細胞合成系を用いて行った。加えて、非天然型アミノ酸をタ

ンパク質の任意の位置に、ほぼ 100%の効率で導入でき、構造解析や機能解析に応用することも可能であり、世界的に見ても非常にユニークな技術といえる。

本申請課題では、この系を改良し、ケージドアミノ酸、もしくは光異性化アミノ酸導入系の開発を行う。これにより、タンパク質を光により時間・空間的に制御するための強力なツールとして利用できることを示し、SACLA などを用いた時分割構造解析実験や、光による機能制御可能なタンパク質の生産など、タンパク質反応機構を見る応用研究へ進めることを目的としている。得られた技術については、領域内外の研究者と積極的な共同研究を行うことで、本領域に貢献していきたいと考えています。



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

金属酵素活性中心による一酸化窒素還元反応の高速分子動画撮影

高効率に化学反応を触媒することで、生体内の様々な生理反応に関わっている金属酵素の反応機構に興味を持って研究を進めています。本課題では、地球上での窒素循環において、窒素原子間の結合 (N-N 結合) の形成を触媒する膜結合型一酸化窒素還元酵素 (NOR) を対象とし、ヘム鉄と非ヘム鉄からなる活性中心で行われる化学反応機構の全容解明を目指します。これまでの溶液試料を用いた研究から、NOR の反応を追跡するためには、照射により基質となる NO を発生するケージド NO を利用した時間分解計測系が有効であることを示してきました。また、ケージド NO の低温での光解離と昇温を組み合わせることで、NOR の短寿命な反応中間体を捕捉できることも明らかにしてきています。このような NOR とケージド NO の反応は、嫌気条件下で行う必要があるため、ケージド NO を用いた手法を結晶試料に適用し、SACLA を利用した時間分解構造解析を行うためには、結晶試料を嫌気条件下に保つことが必須となります。そこで、結晶試料を酸素バリア性が高いフィルムで封じ込め、酸素分子と触れることなく X 線回折実験を行うための方法を開発してきました。本領域研究では、これまでに得られてきた知見を結集し、NOR の短寿命反応中間体の構造解析を行い、反応機構を決定します。本課題を通じて得られる嫌気下での回折実験手法に関する知見は、他の酵素反応系にも適用可能であり、酵素反応研究への貢献が期待できます。

B01 動画撮影基盤



鈴木明大
北海道大学
電子科学研究所
准教授

散漫X線散乱による動的構造解析に向けた高感度計測システムの実現

私の主な研究内容の一つとして、クリーン環境でのフォトリソグラフィ技術を基盤にしたX線イメージング用試料ホルダ開発が挙げられます。本公募研究では、新学術領域「高速分子動画」の一員として、動的構造解析の高感度化を目的に、今まで培ってきた試料ホルダ作製技術をX線結晶構造解析へと展開させます。第1期の公募研究では、低バックグラウンドノイズ測定の実現のため、収差補正電子顕微鏡による観察結果をフィードバックしながら、コンタミネーションフリーなグラフェン合成条件の探索を進めました。さらに、計画班（B01 動画撮影基盤グループ 山本班）との共同研究として、SPring-8 理研ビームラインにおいて、真空環境でのX線結晶構造解析が可能な新規計測システムを立ち上げました。真空環境に結晶を配置することで、空気散乱を低減し、結晶構造解析の高感度化が期待されます。これから始まる第2期の公募研究では、この共同研究をさらに推進し、高感度X線結晶構造解析の実証を目指すとともに、その先にある、非常に微弱な散漫散乱を利用した動的構造解析の基礎検討もスタートします。加えて、計画班（C01 反応精密分析グループ宮下班）との共同研究で、X線レーザー測定において実験的に避けられないバックグラウンドノイズを解析的に除去するデータ処理方法の開発も進めます。



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

Direct visualization of the excited state structural dynamics of a synthetic Cu(I)-phenanthroline complex by TR-SFX method

We are investigating various chemical reactions promoted within crystalline protein scaffold. Such studies are useful not only for elucidating reaction mechanisms, but also for developing functional biomaterials. We use protein scaffolds like ferritin, hen egg white lysozyme, in-cell polyhedral crystals etc. for the studies which provide either confined reaction space or porosity in the crystal. Then, we fix various synthetic chemical reaction centers within the scaffold which exhibit new bond formation or bond breaking. We used such protein crystals for X-ray crystallographic structure determination including time-resolved serial femtosecond crystallography which enable capturing intermediates in ultrashort intervals. Such studies are useful for visualizing chemical reaction with real-space structural changes. Currently, we are investing the mechanism of a CO releasing reaction with TR-SFX method. Photoinduced CO release is a common small molecule reaction and mostly studied by ultrafast spectroscopic methods. However, real-space structural changes with progress of reaction remained unclear due to lack of any suitable method. We immobilized the light-sensitive $\text{Mn}(\text{CO})_5$ reaction center into a porous HEWL crystal, studied the reaction progress with TR-SFX and determined the real-time formation of a bicarbonyl intermediate and the effect of surrounding protein environment.

In addition to such studies, we use the metal functionalized protein as well as protein crystals for promoting various catalytic reactions towards developing artificial metalloenzymes. We immobilized single as well as dual synthetic organometallic catalysts into a single ferritin scaffold for promoting catalytic cascade reactions. The confined protein environment facilitate the reaction with enhanced activity and selectivity.

Overall, our studies are important for both understanding the fundamentals of chemical reaction promoted by small synthetic molecules as well as atomic level understanding of protein-based bionanomaterials.

C01 反応精密分析



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

この研究では、分子シミュレーションから実験で得られる高速分子動画を補完する1分子の立体構造変化の情報を得ることで、生体分子の振る舞いをより多面的に解明することを目指しています。我々が開発した超並列計算に適したシミュレーション法である PaCS-MD/MSM 法等を駆使することで、生体分子の構造変化のアンサンブルを生成します。具体的には、まず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立体構造空間探索を効率的に実行し、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します。これによって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と経路ごとの流量が計算できます。さらに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目指します。

昨年度までに引き続き、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、生体分子の機能に関わるダイナミクスの理解を深めていきたいと考えています。どうぞよろしくお願ひ致します。

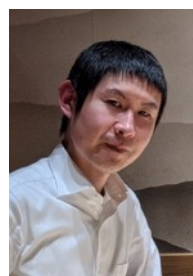


林重彦
京都大学
理学研究科
教授

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

多くのタンパク質では、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、遠位のリガンド・タンパク質結合部位と大規模なタンパク質構造変化を通して相関することにより、顕著な分子機能が発現しています。従って、タンパク質分子機能の理解やそれに基づく機能制御を目指す創薬に向けて必要となるの

は、精密に制御されている活性部位での化学反応活性メカニズムを明らかにすると共に、その活性部位での構造変化とタンパク質の大域的な構造変化との相関を明らかにすることです。最近の X 線自由電子レーザーによる時間分解シリアルフェムト秒結晶構造解析 (TR-SFX) は、このような機能発現過程の分子ダイナミクスを、原子レベルから観測することを可能にしています。また、その理論解析はこれまで困難でしたが、我々の開発した新規の方法論である QM/MM RWFE-SCF 法を用いることにより、非経験的手法を用いた反応活性部位の構造変化の精確な記述と、それに相関する長時間のタンパク質の熱揺らぎや大規模構造変化のシミュレーションの両立が可能となっています。本研究では、本領域で実験的研究が進められている発光タンパク質や光受容タンパク質の機能制御機構について、QM/MM RWFE-SCF 法を用いた機能活性化状態のモデリング及びエナジेटクス解析を行うことにより、その分子機構を明らかにします。



小野純一
早稲田大学
理工学術院総合研究所
次席研究員

高速分子動画と大規模励起状態分子動力学の共創が拓く光生命化学現象の解明

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主な対象として、光によって駆動される機能発現機構を理論的に解明することを目指します。これまでの公募研究では、高速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分子系全体を量子的に取り扱う大規模量子分子動力学 (MD) 計算を行ってきました。今回の公募研究では、これまでの基底状態の応用研究を継続するとともに、本手法を基底状態から励起状態へと新たに拡張し、スーパーコンピュータ「富岳」などを用いて分子動画に基づいた先駆的な応用を実行します。微生物型ロドプシンは、光反応サイクルの初期過程である光異性化において、照射射前の基底状態から励起状態、円錐交差を経て新たな基底状態へと至るまで高速・高効率・特異的に多段階の変遷を辿ります。そのような動的挙動を計算機上で追跡し、微生物型ロドプシンの光異性化における高速性・高効率性・部位特異性の微視的起源を構造変化・電子状態変化・エネルギー緩和の観点から解明することを目指します。本領域内での緊密な連携によって、高速分子動画法と大規模励起状態 MD 法との融合を図り、光生命化学現象の解明や光遺伝学などへの貢献に挑戦したいと考えています。



片山哲郎
徳島大学
ポスト LED フォトニクス研究所
助教

フェムト秒顕微過渡吸収測定法によるたんぱく質微結晶の非破壊計測とその機構解明

顕微鏡下で紫外-近赤外域の時間分解電子スペクトル計測(過渡吸収分光)法を開発し、単一微結晶の励起状態ダイナミクス、エネルギー移動、電子移動反応ダイナミクスの計測に応用展開しています。たんぱく質結晶は色素が退色しやすく、また余剰な光エネルギーの熱化過程によりその結晶性が壊れやすい特徴を持ちます。そのため励起光だけでなく観測光に対しても十分に注意を払い、励起光、観測光の総光子数を抑えて計測を遂行する必要があります。また、多くの生体分子系は同種の色素をタンパク質内に含みますが、通常の過渡吸収分光を用いた場合、同種分子間のエネルギーや電子伝達は通常の過渡吸収スペクトル計測では判別がつかず、その反応経路の因子を明らかにすることはできません。そこで本研究では、三次元に分子の配列した生体分子内の、同種分子を含む励起状態や電荷分離状態を局所的に選択的観測可能とする方法論を開発し、生体分子結晶系における未解明な反応を微弱パルス光を用いて非破壊に明らかにします。



光武亜代理
明治大学
理工学部
准教授

分子シミュレーションを駆使したオレキシン受容体の機能機構の解明

我々はこれまで、化学物理の理論に基づく分子シミュレーションのアルゴリズム開発を重点的に行ってきました。サンプリング手法である拡張アンサンブル法という方法や、分子シミュレーションから得られたデータからレアイベントを抜き出せる動的解析手法である緩和モード解析を生体高分子に適用、開発してきました。また、統計力学の液体論に基づく3D-RISM理論の有効性を示してきました。我々は、溶媒和自由エネルギーを高速に精度よく計算できるRISM理論のアルゴリズムを所有しています。最近、これらの手法を駆使して、タンパク質の安定性やダイナミクスと機能の関係について調べる研究を進めています。分子シミュレーション

レーションを駆使することにより、何らかの予測ができればと考えています。

本提案研究では、膜タンパク質であるGタンパク質共役受容体(GPCRs)のダイナミクスと機能に関して、原子レベルでの知見を得たいと思っています。GPCRsはリガンドと細胞外側で結合すると、膜中のヘリックスの配置の違いが生じて不活性構造から活性構造に変化して、細胞内側でGタンパク質などのタンパク質と結合することによりシグナルを細胞内に伝えます。近年、X線結晶構造解析やクライオ電子顕微鏡法でGタンパク質との複合体として活性構造が解かれはじめています。しかし、活性化メカニズムなどについて未知のことが多いです。特に、睡眠機能に関係するオレキシン受容体は、クラスA GPCRsに分類されるオレキシン系に含まれます。オレキシン系は、2つのリガンドペプチドと2つのGPCRsがあります。これらリガンドと受容体の結合親和性の違いのメカニズムを、分子シミュレーションを用いて解明できたらと考えています。



八木清
理化学研究所 開拓研究本部
杉田理論分子科学研究室
専任研究員

非断熱 QM/MM 分子動力学計算による光駆動タンパク質の反応ダイナミクス

私は理論・計算化学を専門としています。最近、QM/MM法を分子動力学(MD)計算プログラムGENESISに実装し、様々な応用計算を展開しています。QM/MM法は興味ある領域を高精度な量子化学計算で扱い、周囲の溶媒やタンパク質環境を古典力場で扱うハイブリッド法です。本課題では、非断熱遷移を考慮する電子励起状態ダイナミクス法を開発します。通常のMD計算は1つの電子状態を追跡しますが、非断熱MDでは2つ電子状態が近接する領域で確率論的に状態間の遷移を許します。この方法により、QM/MM法を様々な光化学反応へ応用することが可能になります。開発した方法をロドプシンへ応用します。XFELにより明らかにされたバクテリオロドプシンのレチナル異性化反応[Science 361, 145 (2018)]を理論計算により追試します。計算の詳細設定などを確立し、これを他のロドプシン(Cl⁻, Na⁺イオンポンプなど)へ展開します。ロドプシンにおいて、タンパク質や水分子の運動とプロトン・イオンの運動がどのように結合し、選択的なイオン透過という機能を発現しているのか、その根源的要因を明らかにしたいと考えています。



イベント情報

2022年6月7日(火)～9日(木)	第22回日本蛋白質科学会年会・ワークショップ共催(つくば国際会議場)
2022年6月30日(木)～7月1日(金)	第48回生体分子科学討論会・共催(とりぎん文化会館)
2022年11月9日(水)～11日(金)	第95回日本生化学会大会(名古屋国際会議場)

2022年1月以降の領域活動

2022年5月12日(木)～13日(金)	新学術領域「高速分子動画」国際シンポジウム・令和4年度領域会議(横浜, オンラインハイブリッド開催)
2022年4月28日(木)	第26回総括班会議(Web)
2022年4月26日(火)	第20回新学術「高速分子動画」オンラインセミナー(講演者:八木清先生・理研, 福田昌弘先生・東京大)
2022年3月31日(木)	第19回新学術「高速分子動画」オンラインセミナー(講演者:松永康佑先生・埼玉大, 溝端栄一先生・大阪大)
2022年3月29日(火)	第25回総括班会議(Web)
2022年2月28日(月)	第24回総括班会議(Web)
2022年2月17日(木)	第18回新学術「高速分子動画」オンラインセミナー(講演者:北尾彰朗先生・東京工業大, 古谷祐詞先生・名古屋工業大)
2022年1月25日(火)	第17回新学術「高速分子動画」オンラインセミナー(講演者:中根崇智先生・大阪大, 永澤秀子先生・岐阜薬科大)
2022年1月24日(月)	第23回総括班会議(Web)
2022年1月7日(金)～9日(日)	第35回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム(オンライン開催)

総括班よりお知らせ

学術調査官

- 田中 良和
東北大学・大学院生命科学研究科・教授
- 鈴木 大介
信州大学・学術研究院繊維学系・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/twitter 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	SPring-8・KEK 併設企画、学会での展示企画