

令和4年度 新学術領域研究「高速分子動画」シンポジウム・領域会議

<講演要旨>

シンポジウム①

蛍光タンパク質を使ったバイオセンサー群の現状と問題点

松田 道行 (京都大学)

演者らは蛍光バイオセンサーを開発し、生きた細胞、生きた動物で細胞と細胞がどのような会話をしているのかを可視化してきた。本領域会議では、フェルスター共鳴エネルギー移動 (FRET) に基づくバイオセンサーを始めとして、演者らの研究室で作成しているバイオセンサー群とそれを使った研究を紹介するとともに、現在我々が抱えている問題点をお話しして、分子構造の専門家の班員の方々のアドバイスをいただきたいと考えている。

非古典的ロドプシンの構造機能解析

志甫谷 渉 (東京大学)

微生物型ロドプシンは、バクテリオロドプシン(BR)やチャンネルロドプシン(ChR)を筆頭に大多数がイオンを輸送しており、光遺伝学に応用されている。しかし近年、微生物型ロドプシンの中でイオン輸送とは異なる機能を持つロドプシンが次々発見されている。このようなロドプシンを我々は非古典的なロドプシンと総称して、構造と機能に興味を持ち研究を進めている。本講演では、既存の微生物型ロドプシンとは反転したトポロジーをもつヘリオロドプシンの構造や TR-SFX 解析による光誘起構造変化の解明の取り組みについて紹介する。また、ヘリオロドプシンと既存の微生物型ロドプシンの中間に位置する内向きプロトンポンプ「シズロドプシン」の結晶構造を解明し、進化的な立ち位置や内向きプロトン輸送機構の一端を明らかにした。

酵素反応における構造変化の重要性

庄司光男 (筑波大学)

高速分子動画では銅含有アミン酸化酵素(CAO)における活性中心のコンフォメーション変化について村川武志先生と共同研究を進め、理論解析を実施し、論文出版するに至った。本講演ではQM/MM法によってCAOの反応素過程を理論解析した結果について実験結果と対応させながら紹介すると共に、コンフォメーション変化(動的構造変化)を起こす意味が初めて明らかになったので、その重要性について議論する。本新学術領域内で実施している他の共同研究の進捗状況についても概要を報告する。

分子シミュレーションによるトランスポータータンパク質の基質輸送メカニズムの解明

岡崎圭一（分子科学研究所）

トランスポータータンパク質は、結合サイトが膜の外側・内側に交互に露出（交互アクセス）するように構造変化をして基質輸送を行なっている。構造生物学の発展により、このような基質輸送過程における複数の構造状態が得られるようになってきた。しかしながら、構造解析のみでは限界もある。まず、基質輸送過程における全ての（準）安定構造が得られるわけではない。次に、安定状態間遷移の分子メカニズムは分からない。我々は、 Na^+/H^+ アンチポーターやシュウ酸トランスポーターを対象として、分子動力学シミュレーションを用いてこれらの問題に取り組んできた [1,2]。これらのトランスポーターの未知構造状態の探索と、構造状態間遷移ダイナミクスのシミュレーション、さらには、シミュレーション結果をもとにした改変についてお話ししたい。

[1] Okazaki et al., Nat. Commun. 10, 1742 (2019)

[2] Jaunet-Lahary et al., bioRxiv

シンポジウム②

SPRing-8 を用いたシリアル結晶構造解析

長谷川 和也（高輝度光科学研究センター）

SACLA などの XFEL 施設における Serial femtosecond crystallography (SFX)法の成功を受けて放射光ビームラインにおいてもシリアル結晶構造解析が行われている。我々は 2 次元ラスタースキャンとゴニオメータの回転を組み合わせた Serial Synchrotron Rotation Crystallography (SSROX)の評価を凍結微小結晶を用いて行い、試料の回転が効率的なデータ収集に有効であることを示した。さらにこの方法を室温データ測定に利用するため、ポリマーでコーティングした結晶を調湿気流下でデータ収集を行う humid air and glue-coating (HAG)法と組み合わせ rtHAG-SSROX 法を開発した。これに加え SACLA の SFX 法を補完するミリ秒オーダーの時分割構造解析を行うための環境整備も BL41XU で進めている。

マイクロ流体デバイスを用いた時分割測定技術の開発

真栄城正寿（北海道大学工学研究院）

タンパク質などの生体関連分子の時分割測定において、マイクロ流路を代表とするフロー測定は重要な技術である。一方で、フロー測定においては、高流量でサンプルを送液することが多く、サンプルの消費量が増大するなど、従来の測定法とは異なる課題がある。また、光以外のトリガ

ーによるタンパク質の構造変化やリガンドとの結合の様子を測定する手法の開発は、従来法と同様に大きな課題である。本研究では、我々が開発中の時分割測定への応用が可能なマイクロ流体デバイスについて紹介する。

振動分光法を基軸とした GPCR アロステリックリガンド作用機構解析

片山耕大 (名古屋工業大学)

GPCR のアロステリックリガンドは、生理活性リガンドの結合サイトとは異なる部位 (アロステリックサイト) に結合し、GPCR の活性を制御する。また、アロステリックサイトは GPCR サブタイプ間で保存性が低く特異性が高いことから、サブタイプ選択性の獲得が容易になり、副作用や毒性の回避が期待される。本研究では、赤外分光法を創薬の標的分子として重要な GPCR に適用し、リガンド結合に伴う水素結合変化やカルボン酸などのプロトン化状態の変化、さらに α -ヘリックスのペプチド骨格の変化といった、化学的相互作用の変化を分子振動の変化として捉えることで、①アロステリックサイト (結合機構) と②結合に伴う受容体の構造変化 (作用機序) に関する原子レベルの構造情報の取得を目指している。発表では、アロステリックリガンドの結合による生理活性リガンド (作動薬) の結合阻害および阻害薬の結合促進機構について議論する。

光合成光化学系 II の水分解反応の時間分割構造解析

菅 倫寛 (岡山大学異分野基礎研)

光合成の水分解反応は光化学系 II 複合体 (PSII) の Mn_4CaO_5/Mn_4CaO_6 クラスターによって Si-状態 ($I=0-4$) と呼ばれる 4 段階の酸化状態を経て触媒される。この水分解反応の分子機構を明らかにするため、我々は本領域メンバーの協力を得て、X 線自由電子レーザーを PSII の結晶に照射して時間分割の結晶構造解析を行った。最も安定な S1 状態から S2 状態へのおよび S2 状態から S3 状態に遷移する途中の構造を解析したところ、光合成の水分解反応の分子機構に関する、基質の水分子の取り込み、プロトンの排出、酸素分子の結合形成などの協調的な働きが見つかった。

シンポジウム③

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

北尾 彰朗 (東京工業大学生命理工学院)

我々は分子動力学 (MD: Molecular Dynamics) 法などの分子シミュレーションによって単一分

子のダイナミクス of 情報を得ることで、X 線結晶構造解析などで得られる分子動画と合わせて、多面的に生体高分子が機能する仕組みを明らかにすることを目指している。そのために MD 法に加えて、更に高度な PaCS-MD/MSM (Parallel Cascade Selection Molecular Dynamics/Markov State Model) 法を用いて立体構造変化のアンサンブルを生成し、立体構造変化と分子結合に関わる自由エネルギーランドスケープとパスウェイを調査している。今回は上記のシミュレーションを用いて名大清中グループとの共同研究で行っている、野生型と変異型の G タンパク質共役グルタミン酸受容体 mGlu1 に対する 2 つのリガンド FITM と FPET の活性阻害効果の違いを研究した成果を中心に発表を行う。

多角的時間分解計測によるタンパク質の反応ダイナミクスの理解

井上 圭一 (東京大学・物性研究所)

光受容タンパク質は、タンパク質内の発色団が光を吸収し、その化学的構造が変化することで、タンパク質の全体構造の変化を誘発し、多様な生物学的機能の発現をもたらす。この過程は 10 の 15 乗以上の時間スケールに渡って多段階的に進行するものであり、我々はその高次元時空間プロセスに興味を持ち、複数の時間分解計測法を組み合わせることで、発色団とタンパク質がどのようにカップルして機能発現に至るのか、その理解に向けた研究に取り組んでいる。今回はチャンネルロドプシンを例に、レーザーフラッシュフォトリス、時間分解共鳴ラマン分光およびレーザーパッチクランプを用いて、光によるチャンネル開閉過程を調べた結果について紹介する。

新学術領域「高速分子動画」領域会議 (Closed)

光反応性非天然アミノ酸を利用したイオンチャンネルの光感受化法

下村拓史(生理学研究所)

高速分子動画計測の現状と今後の課題

南後恵理子 (東北大多元研)

アデノシン A2A 受容体ケモジェネティクスおよび高速分子動画への展開

清中茂樹(名古屋大学工学研究科)