

I SPring-8 蛋白質結晶構造解析ビームラインの高度化研究

Research and Development for SPring-8 Structural Biology Beamlines

山本雅貴
Yamamoto, M.

タンパク質結の高精度構造解析のために SPring-8 構造生物学用ビームラインでは、微小結晶や超分子複合体の巨大格子結晶など解析対象の拡大と構造決定の簡便・迅速化を目指したビームライン高度化研究を進めている。微小結晶構造解析では、新規に 1 μ m 集光ビームを実現した「ターゲットタンパク研究プログラム」用の超高輝度マイクロビームビームライン(BL32XU)を建設して微小結晶構造解析の研究・実用化を進めている。また、より簡便な構造解析のため SPring-8 外部からビーム来を利用可能にするリモートアクセス技術の開発を進めている。

II 蛋白質結晶構造解析での新規解析手法の開発

Research and Development for Protein Crystallography

山本雅貴
Yamamoto, M.

SPring-8 の超高輝度放射光は、タンパク質微小結晶からの構造解析やタンパク質の機能理解に向けたサブアトム分解能での精密構造解析を可能にした。しかし、超高輝度放射光による放射線損傷がタンパク質結晶の精密構造解析にとって最大の障害となっている。そこで、放射線損傷の低減と高精度データ収集を目指した、X線 CMOS 検出器を用いた連続回転データ収集法の開発と実用化を進めている。さらに、微小結晶構造解析の実用化に重要な、壊れやすい微小結晶を安全かつ簡便に取り扱うための光ピンセットによる非接触微小結晶ハンドリング技術の開発も進めている。

III 脂質メディエータの構造生物学的研究

Structural study of proteins involving in lipid-mediators

吾郷日出夫
Ago, H.

生体膜に含まれる脂質の酵素的代謝産物である脂質性情報伝達物質は、その強い生理活性によって幅広い生理機能の調節に関わると同時に、その代謝異常が病気の症状の原因も成りうる。本研究では、脂質代謝に関与する蛋白質の構造研究を通して、脂質性情報伝達物質の代謝機構について理解を深めることを目的とする。主としてヒトを含む哺乳類のアラキドン酸代謝に関わる蛋白質を対象とし、膜蛋白質であるロイコトリエン C₄ 合成酵素、プロスタグランジン E₂ 合成酵素 1 等について結晶構造解析、酵素活性の生化学的解明、阻害剤探索を推進している。

発表論文 List of Publications

- I -1 M. Yamamoto, K. Hirata (理研), A. Nisawa (理研), G. Ueno (理研), Y. Kawano (理研), T. Hikima (理研), N. Shimizu (JASRI), T. Kumasaka (JASRI), T. Tanaka (理研), S. Takahashi (JASRI): Protein micro-crystallography with a new micro-beam beamline at Spring-8” 2009 Meeting of the American Crystallographic Association (ACA 2009), (Toronto, Canada), 2009
- I -2 G. Ueno (理研), K. Hirata (理研), A. Nisawa (理研), Y. Kawano (理研), N. Shimizu (JASRI), T. Kumasaka (JASRI), T. Tanaka (理研), S. Takahashi (JASRI), K. Takeshita (JASRI), H. Ohashi (JASRI), S. Goto (JASRI), H. Kitamura (理研), M. Yamamoto : New micro-beam beamline at Spring-8, targeting at protein micro-crystallography, 10th International conference on synchrotron radiation instrumentation(SRI09) (Melbourne, Australia), 2009
- I -3 Y. Kawano (理研), N. Shimizu (JASRI), S. Baba (JASRI), K. Hasegawa (JASRI), M. Makino (JASRI), N. Mizuno (JASRI), T. Hoshino (JASRI), L. Ito (JASRI), I. Wada (JASRI), K. Hirata (理研), G. Ueno (理研), T. Hikima (理研), H. Murakami (理研), D. Maeda (理研), A. Nisawa (理研), T. Kumasaka (JASRI), M. Yamamoto : Present status of SPring-8 macromolecular crystallography beamlines”, 10th International Conference on Synchrotron Radiation Instrumentation (SRI2009) (Melbourne, Australia), 2009
- I -4 K. Hirata (理研), G. Ueno (理研), A. Nisawa (理研), N. Shimizu (JASRI), T. Kumasaka (JASRI), Y. Kawano (理研), T. Hikima (理研), T. Tanaka (理研), S. Takahashi (JASRI), K. Takeshita (JASRI), H. Yumoto (JASRI), K. Takeshita (JASRI), H. Ohashi (JASRI), S. Goto (JASRI), H. Kitamura (理研), T. Ohata (JASRI), Y. Furukawa (JASRI), M. Yamamoto: A new beamline at Spring-8 dedicated to protein microcrystallography, Joint Conference of the Asian Crystallographic Association and Chinese Crystallography Society (AsCA'09) (Beijing, China), 2009
- I -5 M. Yamamoto : Protein micro-crystallography with a new micro-beam beamline at SPring-8, 2nd Workshop on FEL Science: Emerging X-ray Applications in Biological Systems (Kenting, Taiwan), 2009
- I -6 M. Nakasako (慶応大学), M. Yamamoto, Y. Nishino (理研), K. Yonekura (理研), K. Maeshima (遺伝研), K. Shirahama (慶応大学), K. Nanba (大阪大) : Apparatus for cryogenic coherent diffraction imaging of noncrystalline mm-particles, 2nd Workshop on FEL Science: Emerging X-ray Applications in Biological Systems, (Kenting, Taiwan), 2009

- I -7 M. Yamamoto : The roles of High-Brilliant Synchrotron radiation in macromolecular crystallography, 2nd International Conference on Drug Discovery and Therapy (Dubai, UAE), 2010
- I -8 山本雅貴 : イメージを写す II (イメージングプレート)、放射光 **Vol.22** 4 210-217 (2009)
- I -9 平田邦生 (理研)・清水伸隆(JASRI)・上野 剛 (理研)・熊坂 崇(JASRI)・山本雅貴 : 高難度蛋白質をターゲットとした放射光X線結晶構造解析技術の開発 蛋白質微小結晶構造解析 : その極限でめざすもの, 蛋白質 核酸 酵素 **Vol.54**, 1477-1483 (2009)
- I -10 熊坂 崇(JASRI)・長谷川和也(JASRI)・清水伸隆(JASRI)・馬場清喜(JASRI)・水野伸宏(JASRI)・牧野正知(JASRI)・星野武司(JASRI)・伊藤 廉(JASRI)・和田いづみ(JASRI)・上野 剛 (理研)・引間孝明 (理研)・河野能顕 (理研)・平田邦生 (理研)・村上博則 (理研)・二澤宏司 (理研)・前田大輔 (理研)・山本雅貴 : SPring-8構造生物ビームラインの現状、日本結晶学会年会2009年度年会(西宮)、2009
- I -11 平田邦生 (理研)・上野 剛 (理研)・二澤宏司 (理研)・河野能顕 (理研)・引間孝明 (理研)・清水伸隆(JASRI)・熊坂 崇(JASRI)・湯本博勝(JASRI)・田中隆次 (理研)・高橋 直(JASRI)・竹下邦和(JASRI)・大橋治彦(JASRI)・大端 通(JASRI)・松下智裕(JASRI)・古川行人(JASRI)・後藤俊治(JASRI)・北村英男 (理研)・山本雅貴 : タンパク質微小結晶構造解析を実現するSPring-8新規マイクロビームラインの開発, 日本結晶学会年会2009年度年会 (西宮)、2009
- I -12 平田邦生 (理研)・上野 剛 (理研)・二澤宏司 (理研)・河野能顕 (理研)・引間孝明 (理研)・清水伸隆(JASRI)・熊坂 崇(JASRI)・湯本博勝(JASRI)・田中隆次 (理研)・高橋 直(JASRI)・竹下邦和(JASRI)・大橋治彦(JASRI)・大端 通(JASRI)・松下智裕(JASRI)・古川行人(JASRI)・後藤俊治(JASRI)・北村英男 (理研)・山本雅貴 : 理研ターゲットタンパクビームラインBL32XUの開発状況、第23回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム(姫路)、2010
- I -13 前田大輔 (理研)・上野 剛 (理研)・引間孝明 (理研)・長谷川和也(JASRI)・古川行人(JASRI)・熊坂 崇(JASRI)・山本雅貴 : SPring-8構造生物ビームライン/リモートデータ測定システムの開発、第23回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム (姫路) 、2010
- II -1 K. Hasegawa (JASRI), K. Hirata (理研), T. Shimizu (理研), N. Shimizu (JASRI), T. Hikima (理研), S. Baba (JASRI), T. Kumasaka (JASRI), M. Yamamoto: Development of a shutterless continuous rotation method using an X-ray CMOS detector for protein crystallography, *J. Appl. Cryst.* **42**, 1165-1175 (2009).
- II -2 S. Abe (京都大), K. Hirata (理研), T. Ueno (京都大), K. Morino (名古屋大), N. Shimizu (JASRI), M. Yamamoto, M. Takata (理研), E. Yashima (名古屋大), Y. Watanabe (名古屋大) : Polymerization of Phenylacetylene by Rhodium Complexes within a Discrete Space of apo-Ferritin, *J. Am. Chem. Soc.* **131**, 6958-6960 (2009)
- II -3 T. Ueno (京都大), M. Abe (名古屋大), K. Hirata (理研), S. Abe (京都大), M. Suzuki (名古屋大), N. Shimizu (JASRI), M. Yamamoto, M. Takata (理研), Y. Watanabe (名古屋大) : Process of Accumulation of Metal Ions on the Interior Surface of apo-Ferritin: Crystal Structures of a Series of apo-Ferritins Containing Variable Quantities of Pd(II) Ions, *J. Am. Chem. Soc.* **131**, 5094-5100 (2009)
- II -4 S. Tagami (東京大), S. Sekine (東京大), K. Thirumananseri (東京大), M. Yamamoto, S. Yokoyama (理研) : Crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of

- Thermus thermophilus transcription elongation complex bound to Gfh1" *Acta Cryst. F* **66**, 1 64-68 (2010)
- II-5 K. Hasegawa (JASRI), K. Hirata (理研), N. Shimizu (JASRI), S. Baba(JASRI), T. Kumasaka (JASRI), M. Yamamoto: Starting routine operation of an X-ray CMOS detector at a SPring-8 protein crystallography beamline, 2009 Meeting of the American Crystallographic Association (ACA 2009), (Toronto, Canada), 2009
- II-6 T. Hikima(理研), T. Shimizu(理研), M. Yamamoto : Development of the protein microcrystal handling technique using a laser tweezers, 25th European Crystallographic Meeting(ECM25), (Istanbul, Turkey), 2009
- II-7 嶋田 睦 (理研)・寺田貴帆 (理研)・白水美香子 (理研)・山本雅貴・永山國昭 (岡崎統合バイオ)・末次志郎 (東京大)・竹縄忠臣 (神戸大)・横山茂之 (理研) : EFC/F-BAR ドメインタンパク質の構造, 機能と制御, 第47回日本生物物理学会年会 (徳島)、2009
- II-8 清水伸隆(JASRI)・清水哲哉 (理研)・馬場清喜(JASRI)・長谷川和也(JASRI)・山本雅貴・熊坂 崇(JASRI) : 紫外可視分光法によるタンパク質結晶の放射線損傷の評価、日本結晶学会2009年度年会(西宮)、2009
- II-9 引間孝明 (理研)・河野能顕 (理研)・上野 剛 (理研)・村上博則 (理研)・山本雅貴 : 光ピンセットを用いたタンパク質微小結晶ピックアップシステムの開発、日本結晶学会年会2009年度年会(西宮)、2009
- II-10 上野 剛 (理研)・村上博則 (理研)・平田邦生 (理研)・引間孝明 (理研)・二澤宏司 (理研)・河野能顕 (理研)・前田大輔 (理研)・長谷川和也(JASRI)・馬場清喜(JASRI)・熊坂 崇(JASRI)・山本雅貴 : SPring-8構造生物学ビームライン/理研構造ゲノムビームライン I&II(BL26B1&B2)の現状, 第23回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム(姫路)、2010
- II-11 村上博則 (理研)・上野 剛 (理研)・清水伸隆(JASRI)・河野能顕 (理研)・牧野正知(JASRI)・虻川 勇 (理学相原)・山本雅貴 : SPring-8構造生物学ビームライン/自動サンプルチェンジャーSPACEのマグネット用サンプルピン対応, 第23回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム(姫路)、2010
- II-12 長谷川和也(JASRI)・平田邦生 (理研)・馬場清喜(JASRI)・清水伸隆(JASRI)・引間孝明 (理研)・熊坂 崇(JASRI)・山本雅貴 : Spring-8構造生物学ビームライン/CMOS検出器を用いた回折強度データ測定、第23回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム (姫路)、2010
- II-13 引間孝明 (理研)・河野能顕 (理研)・上野 剛 (理研)・村上博則 (理研)・山本雅貴 : SPring-8構造生物学ビームライン/光ピンセットによるタンパク質微小結晶ハンドリング技術の開発, 第23回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム(姫路)、2010
- III-1 T. Kumasaka(JASRI), K. Aritake (大阪バイオサイエンス研究所), H. Ago, D. Irikura (理研), T. Tsurumura (大阪バイオサイエンス研究所), M. Yamamoto, M. Miyano (理研), Y. Urade (大阪バイオサイエンス研究所), and O. Hayaishi (大阪バイオサイエンス研究所) : Structural Basis of the Catalytic Mechanism Operating in Open-Closed Conformers of Lipocalin Type Prostaglandin D Synthase. *J. Biol. Chem.* **284**, 22344-22352 (2009)
- III-2 齊野廣道(理研)・吾郷日出夫・金岡禎秀(ハーバード大、ブリガム婦人病院)・Austen K.F.(ハーバード大、ブリガム婦人病院)・宮野雅司(理研) : ロイコトリエン C₄ 合成酵素-グルタチオン複合体の高分解能 X 線結晶構造解析、第 22 回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポ

ジウム(東京)、2009

- III-3 吾郷日出夫：システインロイコトリエン研究の新知見、日本学術振興会回折構造生物第169委員会第30回研究会(東京)、2009
- III-4 吾郷日出夫・井田 孝(理研)・浮田陽子(理研)・齊野廣道(理研)・宮野雅司(理研)：プロスタグランジン E₂ 合成酵素 1 の大量発現精製と結晶化、日本結晶学会年会 2009 年度年会(西宮)、2009
- III-5 齊野廣道(理研)・宮野雅司(理研)・吾郷日出夫：ロイコトリエン C₄ 合成酵素 - 基質・阻害財複合体の結晶構造解析、日本結晶学会年会 2009 年度年会(西宮)、2009

科学研究費補助金等

- 1 文部科学省 ターゲットタンパク研究プログラム(平成19~23年度)
研究課題 高難度タンパク質をターゲットとした放射光 X 線結晶構造解析技術の開発
研究分担者 山本雅貴
- 2 文部科学省 X 線自由電子レーザー利用推進研究(平成19~22年度)
研究課題 生体単粒子解析用クライオ試料固定照射装置の開発
研究分担者 山本雅貴
- 3 科学研究費補助金(平成20~22年度) 基盤研究(B) 課題番号:20370042
研究課題 膜貫通型蛋白質マイクロゾーマルプロスタグランジン E₂ 合成酵素の X 線結晶構造解析
研究代表者 吾郷日出夫