

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の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)を建設した。平成 22 年度よりユーザ利用を開始しミクロンオーダーの微小結晶からの構造解析技術の研究・開発を進めている。また、より簡便な構造解析のため SPring-8 外部からビームラインを利用可能にするリモートアクセス技術の開発を進め、一部のビームラインでユーザ利用を開始した。

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の精密結晶構造解析にとって最大の障害となっている。そこで、放射線損傷を低減した高精度データ収集法の研究開発を進めている。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等による微小結晶ハンドリング技術の開発を進めている。また、これらの新規技術を応用した様々な構造解析にも取り組んでいる。

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 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, *AIP Conference Proceedings* **1234**, 359-362 (2010)
- I -2 K. Hirata (理研) , G. Ueno (理研) , A. Nisawa (理研) , Y. Kawano (理研) , T. Hikima (理研) , N. Shimizu(JASRI), T. Kumasaka(JASRI), H. Yumoto(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 Microcrystallography, *AIP Conference Proceedings* **1234**, 901-904 (2010)
- I -3 A. Watanabe(大阪大), Hirata.K (理研) , Y. Hagiwara(大阪大), Y. Yutani(大阪大), M. Sugishima(大阪大), M. Yamamoto, K. Fukuyama(大阪大), K. Wada(大阪大): Expression, purification and preliminary X-ray crystallographic analysis of cyanobacterial biliverdin reductase, *Acta Cryst.* **F 67**, 313-317 (2011)
- I -4 山本雅貴・平田邦生 (理研)・引間孝明 (理研)・河野能顕 (理研)・上野 剛 (理研) : 放射光マイクロビームが可能にするタンパク質微小結晶解析、*薬学雑誌* **130**, 641-648 (2010)
- I -5 熊坂 崇(JASRI)・清水伸隆(JASRI)・馬場清喜(JASRI)・長谷川和也(JASRI)・上野 剛 (理研)・山本雅貴: SPring-8構造生物ビームライン、*薬学雑誌* **130**, 649-655 (2010)
- I -6 平田邦生 (理研)・山本雅貴・松垣直宏(KEK)・若槻壮市(KEK) : 高難度タンパク質をターゲットとした放射光ビームライン開発、*バイオインダストリー* **28**, 44-49 (2011)
- I -7 高田昌樹 (理研)・山本雅貴・石川哲也 (理研) : 放射光の現状と将来 : 光の性能へ高まる要望と技術革新、*アトモス* **52**, 530-535 (2010)
- I -8 K. Hasegawa(JASRI), G. Ueno (理研) , T. Hikima (理研) , Y. Furukawa(JASRI), D. Maeda (理研) , T. Kumasaka(JASRI), M. Yamamoto: Remote access data collection at SPring-8 protein crystallography beamlines, ACA 2010 Annual Meeting, (Chicago USA) 2010
- I -9 M. Yamamoto, K. Hirata (理研) , G. Ueno (理研) , Y. Kawano (理研) , T. Hikima (理研) , A. Nisawa (理研) , H. Murakami (理研) , N. Shimizu(JASRI), T. Kumasaka(JASRI), S. Takahashi(JASRI), T. Takeuchi(JASRI), H. Yumoto(JASRI), H. Ohashi(JASRI), S. Goto(JASRI), H. Kitamura (理研) : New micro-beam beamline at SPring-8, targeting at protein micro-crystallography, ACA 2010 Annual Meeting, (Chicago USA) 2010

- I -10 M. Yamamoto, Hirata (理研), A. Nisawa (理研), Y. Kawano (理研), K. Hashimoto (理研), T. Hkima(理研), G. Ueno(理研), N. Shimizu(JASRI), T. Kumasaka(JASRI): Protein Micro-Crystallography at SPring-83rd Workshop on FEL Science: Emerging X-ray Applications in Biological Systems-2, (Sapporo) 2010
- I -11 M. Yamamoto: The SPring-8 high-brilliant beamlines for macromolecular crystallography, AsCA 2010: The 10th Conference of the Asian Crystallographic Association, (Busan Korea) 2010
- I -12 平田邦生 (理研)・上野 剛 (理研)・河野能顕 (理研)・二澤宏司 (理研)・引間孝明 (理研)・清水伸隆(JASRI)・熊坂 崇(JASRI)・田中隆次 (理研)・高橋 直(JASRI)・竹下邦和 (JASRI)・湯本博勝(JASRI)・竹内智之(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の現状と展望、第10回日本蛋白質科学会年会 (札幌)、2010
- I -13 平田邦生 (理研)・河野能顕 (理研)・橋本浩一 (理研)・上野 剛 (理研)・引間孝明 (理研)・村上博則 (理研)・二澤宏司 (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)・竹内智之(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: マイクロビームを用いたタンパク質結晶構造解析の現状、平成22年度日本結晶学会年会および総会 60周年記念年会、(吹田) 2010
- I -14 長谷川和也(JASRI)・上野 剛 (理研)・引間孝明 (理研)・村上博則 (理研)・古川行人(JASRI)・熊坂 崇(JASRI)・山本雅貴: SPring-8構造生物学ビームラインにおけるリモートデータ測定システムの導入、平成22年度日本結晶学会年会および総会 60周年記念年会、(吹田) 2010
- I -15 平田邦生 (理研)・河野能顕 (理研)・橋本浩一 (理研)・上野 剛 (理研)・引間孝明 (理研)・二澤宏司 (理研)・村上博則 (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)・竹内智之(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: 高輝度マイクロビームビームラインBL32XUの現状、第24回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム (つくば)、 2011
- I -16 二澤宏司 (理研)・米田安宏 (原子力機構)・村上博則 (理研)・岡島由佳 (原子力機構)・上野 剛 (理研)・田中義人 (理研)・山本雅貴・後藤俊治: サジタル集光光学系における二次元集光の最適化、第24回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム (つくば) 、 2011
- I -17 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)・橋本浩一 (理研)・長谷川和也(JASRI)・熊坂 崇(JASRI)・山本雅貴: 理研構造ゲノムビームラインI & II (BL26B1 & B2) の現状、第24回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム (つくば)、 2011
- I -18 長谷川和也(JASRI)・上野 剛 (理研)・引間孝明 (理研)・村上博則 (理研)・古川行人(JASRI)・熊坂 崇(JASRI)・山本雅貴: ビームライン遠隔操作による回折データ収集を実現するSPring-8リモート測定システム、第24回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム (つくば)、 2011
- II -1 S. Tagami (東京大), S. Sekine(東京大), K. Thirumananseri (東京大), N. Hino (東京大), Y. Murayama (東京大), S. Kamegamori (東京大), M. Yamamoto, K. Sakamoto (理研), S. Yokoyama (理研) : Crystal structure of bacterial RNA polymerase bound with a transcription inhibitor protein, *Nature* **468**, 978-982 (2010)

- II-2 A. Shimada (理研), K. Takano (理研), M. Shirouzu (理研), K. Suetsugu (理研), T. Terada (理研), K. Toyooka (理研), T. Umehara (理研), M. Yamamoto, S. Yokoyama (理研), S. Suetsugu (理研) : Mapping of the basic amino-acid residues responsible for tubulation and cellular protrusion by the EFC/F-BAR domain of pacsin2/Syndapin II, *FEBS Letters* **584**, 1111-1118 (2010)
- II-3 T. Moriguchi (北里大), K. Ida (北里大), T. Hikima (理研), G. Ueno (理研), M. Yamamoto, H. Suzuki (北里大) : Channeling and conformational changes in the heterotetrameric sarcosine oxidase from *Corynebacterium* sp. U-96, *J. Biochem.* **148**, 491-505 (2010)
- 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 F. Shima (神戸大), Y. Ijiri (神戸大), S. Muraoka (神戸大), J. Liao (神戸大), M. Ye (神戸大), M. Araki (神戸大), K. Matsumoto (神戸大), N. Yamamoto (神戸大), T. Sugimoto (神戸大), Y. Yoshikawa (神戸大), T. Kumasaka (JASRI), M. Yamamoto, A. Tamura (神戸大), T. Kataoka (神戸大), Structural Basis for Conformational Dynamics of GTP-bound Ras Protein, *J. Biol. Chem.* **285**, 22696-22705 (2010)
- II-6 山本雅貴 : SPring-8でのタンパク質結晶解析の現状と将来、ターゲットタンパク研究プログラム平成22年度成果発表会 (東京)、2010
- II-7 藤橋雅宏 (京都大)・平木雅彦 (KEK)・上野 剛 (理研)・鈴木 守 (大阪大)・馬場清喜 (JASRI)・渡邊信久 (名古屋大)・山本雅貴・若槻壮市 (KEK)・中川敦史 (大阪大)・三木邦夫 (京都大)・田中 勲 (北大) : PF およびSPring-8 における共通結晶自動マウントシステムの開発、平成22年度日本結晶学会年会および総会60周年記念年会、(吹田) 2010
- II-8 村上博則 (理研)・上野 剛 (理研)・平田邦生 (理研)・河野能顕 (理研)・橋本浩一 (理研)・清水伸隆 (JASRI)・熊坂 崇 (JASRI)・山本雅貴: 蛋白質凍結結晶自動サンプルチェンジャーSPACEの高度化、平成22年度日本結晶学会年会および総会60周年記念年会 (吹田)、2010
- II-9 田上俊輔 (東京大)・関根俊一 (東京大)・T. Kumarevel (理研)・樋野展正 (東京大)・村山祐子 (東京大)・亀ヶ盛俊介 (東京大)・山本雅貴・坂本健作 (理研)・横山茂之 (理研) : RNAポリメラーゼの新規コンフォメーション状態、第12回日本RNA学会年会 / 第12回RNAミーティング (東京)、2010
- II-10 田上俊輔 (東京大)・関根俊一 (東京大)・T. Kumarevel (理研)・樋野展正 (東京大)・村山祐子 (東京大)・亀ヶ盛俊介 (東京大)・山本雅貴・坂本健作 (理研)・横山茂之 (理研) : RNAポリメラーゼの新規構造状態: トランスロケーションと転写制御のメカニズム解明への手掛り、第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会 (BMB2010) (神戸)、2010
- II-11 嶋田 睦 (理研)・山本雅貴・横山茂之 (理研) : BARドメインスーパーファミリータンパク質による脂質膜変形機構の構造的基盤、大阪大学蛋白質研究所セミナー「細胞表面受容体と細胞内輸送」(吹田)、2011
- III-1 H. Saino (理研), Y. Ukita (理研), H. Ago, D. Irikura (理研), A. Nisawa (理研), G. Ueno (理研), M. Yamamoto, Y. Kanaoka (Harvard Medical School / Brigham & Women's Hospital), B.K. Lam (Harvard Medical School / Brigham & Women's Hospital), K.F. Austen (Harvard Medical School / Brigham & Women's Hospital), and M. Miyano (理研) : The catalytic architecture of leukotriene C₄ synthase with two arginine residues, *J.*

- Biol. Chem.* **286**, 16392-16401(2011).
- III-2 M. Miyano (理研), H. Ago, H. Saino (理研), T. Hori (理研), K. Ida (理研): Internally bridging water molecule in transmembrane alpha-helical kink, *Curr Opin Struct Biol.* **20**, 456-463 (2010).
- III-3 吾郷日出夫・宮野雅司(理研): システインロイコトリエン研究の新知見、日本結晶学会誌、Vol.52, 69-75 (2010)
- III-4 吾郷日出夫: Synchrotron radiation structural biology of proteins functioning at biological membrane, 第 27 回 内藤コンファレンス 生体膜ダイナミクスと脂質生物学 [I] (札幌)、2010
- III-5 H. Saino(理研), Y. Ukita(理研), H. Ago, D. Irikura(理研), Y. Kanaoka (Harvard Medical School / Brigham & Women's Hospital), B.K. Lam (Harvard Medical School / Brigham & Women's Hospital), K.F. Austen (Harvard Medical School / Brigham & Women's Hospital), M. Miyano(理研): The distinct role of two arginine residues in the leukotriene A₄-specific glutathione S-transferase activity of LTC₄ synthase, Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology, Bioactive Lipids: Biochemistry and Diseases, (Kyoto Japan), 2010
- III-6 齊野廣道 (理研) ・宮野雅司 (理研) ・吾郷日出夫: プロスタグランジン E₂ 合成酵素 1 の結晶化 - 結晶の改善、日本結晶学会年会 2010 年度年会 (吹田)、2010

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