

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、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)を利用して、膜タンパク質等マイクロオーダーサイズの高難度微小結晶からの構造解析および測定・解析手法の研究開発を進めている。また、遠隔地からの SPring-8 利用を促進するために、リモートアクセス技術を開発して一部のビームラインでのユーザ利用を開始している。

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・吾郷日出夫
Yamamoto, M., Ago, H.

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解明に向けた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タンパク質の放射線損傷は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回折強度測定を可能にするヘリカルデータ収集法等の研究開発を進めている。さらに、微小結晶構造解析の普及を目指して、壊れやすい微小結晶を安全かつ簡便に取り扱う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、SACLA の超高輝度極短パルス X 線を生かし、SPring-8 と異なる切り口の新しい蛋白質 X 線結晶構造解析の開発も手がけている。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 蛋白質結晶構造解析の疾病関連蛋白質への応用

Structural study of proteins involving in human diseases

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と成りうる。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。また、B 型肝炎治療法の開発を目指した研究にも参画している。

発表論文 List of Publications

- I -1 JL. Smith (U. Michigan) , RF. Fischetti (ANL) , M. Yamamoto : Micro-crystallography comes of age, *Current Opinion in Structural Biology* 22, 602-612 (2012)
- I -2 H. Kunio (理研), Y. Kawano (理研), G. Ueno (理研), K. Hashimoto (理研), H. Murakami (理研), K. Hasegawa (JASRI), T. Hikima (理研), T. Kumasaka (JASRI), M. Yamamoto : Achievement of protein micro-crystallography at SPring-8 beamline BL32XU, *Journal of Physics: Conference Series* 425, 012002 (2013)
- I -3 H. Kunio (理研), K. Hashimoto (理研), G. Ueno (理研), K. Hasegawa (JASRI), H. Okumura (JASRI), Y. Kawano (理研), T. Kumasaka (JASRI), M. Yamamoto : Achieved protein micro-crystallography at the micro-focus beamline BL32XU at SPring-8, 11th International Conference on Synchrotron Radiation Instrumentation / SRI2012 (Lyon French) 2012
- I -4 M. Yamamoto, H. Kunio (理研), Y. Kawano (理研), K. Hashimoto (理研), G. Ueno (理研), T. Hikima (理研), H. Murakami (理研), T. Kumasaka (JASRI): The micro-beam beamline at SPring-8 opens a new field of protein micro-crystallography, *ACA 2012 Annual Meeting, (Boston USA) 2012*
- I -5 M. Yamamoto, The roles of SPring-8 and SACLA in macromolecule structure analysis, *Workshop on Innovation and Pioneering Technology 2012 (WINPTech2012), (Kobe Japan)2013*
- I -6 平田邦生(理研)・河野能顕(理研)・上野 剛(理研)・村上博則(理研)・長谷川和也(JASRI)・奥村英夫(JASRI)・引間孝明(理研)・熊坂 崇(JASRI)・山本雅貴：タンパク質微小結晶の迅速・高精度構造解析に向けた技術開発、平成24年度日本結晶学会年会、(仙台) 2012
- I -7 平田邦生(理研)・河野能顕(理研)・上野 剛(理研)・村上博則(理研)・引間孝明(理研)・長谷川和也(JASRI)・熊坂 崇(JASRI)・山本雅貴：理研・マイクロビームビームラインBL32XUの新展開、第26回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム、(名古屋) 2013
- I -8 長谷川和也(JASRI)・馬場清喜(JASRI)・水野伸宏(JASRI)・奥村英夫(JASRI)・宮野菜央(JASRI)・平田邦生(理研)・河野能顕(理研)・山本雅貴・熊坂 崇(JASRI)：SPring-8 共用PXビ

- ームラインの現状と高度化、平成24年度日本結晶学会年会、(仙台) 2012
- I-9 引間孝明(理研)・佐藤広美(理研)・村上博則(理研)・佐々木園(京大)・八木直人(JASRI)・山本雅貴：理研構造生物学ビームラインI(BL45XU)の現状、第26回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム、(名古屋) 2012
- I-10 上野 剛(理研)・村上博則(理研)・引間孝明(理研)・二澤宏司(理研)・長谷川和也(JASRI)・水野伸宏(JASRI)・熊坂崇(JASRI)・山本雅貴：理研構造ゲノムビームラインI & IIの現状、第26回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム、(名古屋) 2012
- I-11 長谷川和也(JASRI)・奥村英夫(JASRI)・馬場清喜(JASRI)・水野伸宏(JASRI)・宮野菜央(JASRI)・平田邦生(理研)・河野能顕(理研)・山本雅貴・熊坂 崇(JASRI)：SPRING-8構造生物学IビームラインBL41XUの現状と高度化、第26回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム、(名古屋) 2012
- I-12 馬場清喜 (JASRI)・水野伸宏 (JASRI)・宮野菜央 (JASRI)・奥村英夫 (JASRI)・長谷川和也 (JASRI)・上野 剛 (理研)・村上博則 (理研)・山本雅貴・熊坂 崇(JASRI)：SPRING-8構造生物学IIIビームラインBL38B1の現状、第26回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム、(名古屋) 2012
- I-13 山下栄樹(阪大)・東浦彰史(阪大)・吉村政人(NSRRC)・長谷川和也 (JASRI)・熊坂 崇 (JASRI)・古川行人 (JASRI)・大端 通 (JASRI)・上野 剛 (理研)・山本雅貴・吉川信也 (兵庫県立大)・月原富武 (兵庫県立大)・中川敦史 (阪大)：SPRING-8生体超分子複合体構造解析ビームライン(大阪大学蛋白質研究所) BL44XUの現状、第26回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム、(名古屋) 2012
- II-1 H. Murakami(理研), G. Ueno(理研), N. Shimizu(JASRI), T. Kumasaka(JASRI), and M. Yamamoto: Upgrade of automated sample exchanger SPACE, *J. Appl. Cryst.* 25, 234-238 (2012)
- II-2 T. Hikima(理研), K. Hashimoto(理研), H. Murakami(理研), G. Ueno(理研), Y. Kawano(理研), K. Hirata(理研), K. Hasegawa(JASRI), T. Kumasaka(JASRI), Yamamoto M.: 3D Manipulation of Protein Microcrystals with Optical Tweezers for X-ray Crystallography, *J. Physics: Conference Series*, 425, 012011 (2013)
- II-3 M. Makino (JASRI), I. Wada (JASRI), N. Mizuno (JASRI), K. Hirata (理研), N. Shimizu (JASRI), T. Hikima (理研), M. Yamamoto, T. Kumasaka (JASRI) : Fine-needle capillary mounting for protein microcrystals, *J. Appl. Cryst.* 45, 785-788 (2012)
- II-4 S. Muraoka (神戸大), F. Shima (神戸大), M. Araki (神戸大), T. Inoue (神戸大), A. Yoshimoto (神戸大), Y. Ijiri (神戸大), N. Seki (神戸大), A. Tamura (神戸大), T. Kumasaka (JASRI), M. Yamamoto, T. Kataoka (神戸大): Crystal structures of the state 1 conformations of the GTP-bound H-Ras protein and its oncogenic G12V and Q61L mutants, *FEBS Lett.* 586, 1715-1718 (2012)
- II-5 M. Fujihashi (京大), M. Hiraki (KEK/PF), G. Ueno (理研), S. Baba (JASRI), H. Murakami (理研), M. Suzuki (阪大), N. Watanabe (名大), I. Tanaka (北大), A. Nakagawa (阪大), S. Wakatsuki (KEK/PF), M. Yamamoto, K. Miki (京大) : Crystal sample pins and a storage cassette system compatible with the protein crystallography beamlines at both the Photon Factory and SPRING-8, *J. Appl. Cryst.* 45, 1156-1161 (2012)
- II-6 T. Hikima(理研), K. Hashimoto(理研), H. Murakami(理研), Y. Kawano(理研), G. Ueno(理研), K. Hirata(理研), E. Nango(理研), K. Hasegawa(JASRI), T. Kumasaka(JASRI), and M.

- Yamamoto : Development of Automatic Protein Microcrystal Pick-up System with an Optical Tweezers, 11th International Conference on Synchrotron Radiation Instrumentation/SRI2012 (Lyon French) 2012
- II-7 H. Ago: X-ray Protein Crystallography Free from Radiation Damage at SACLA, 17th Sagamore Conference (Hokkaido, Japan) 2012
- II-8 嶋田 睦 (九大)・末次志郎 (東大)・松永笑子 (理研)・外山光俊 (理研)・寺田貴帆 (理研)・白水美香子 (理研)・竹縄忠臣 (神戸大)・山本雅貴・横山茂之 (理研) : Cdc42によるCIP4のクラスリン被覆ピットへの局在機構の構造的基盤, 第12回日本蛋白質科学会年会、(名古屋) 2012
- II-9 水野伸宏 (JASRI)・牧野正知 (JASRI)・和田いづみ (JASRI)・平田邦生 (理研)・引間孝明 (理研)・山本雅貴・熊坂崇 (JASRI)、Fine-needle キャピラリーを用いたタンパク質マウント法、平成24年度日本結晶学会年会、(仙台) 2012
- III-1 H. Ago, N. Okimoto (理研), Y. Kanaoka (Harvard), G. Morimoto (理研), Y. Ukita (理研), H. Saino (理研), T. Makoto (理研) and M. Miyano (理研) : A leukotriene C₄ synthase inhibitor with the backbone of 5-(5-methylene-4-oxo-4,5-dihydrothiazol-2-ylamino) isophthalic acid, *J. Biochem.* **153**, 421-429 (2013)

科学研究費補助金等

- 1 文部科学省 創薬等支援技術基盤プラットフォーム (平成24~28年度)
 - 研究課題 創薬等支援のためのタンパク質立体構造解析総合技術基盤プラットフォームによる支援と高度化
 - 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重点戦略研究課題
 - 研究課題 SACLAにおける低温X線回折イメージング実験の展開と標準化 (クライオ試料固定照射装置の半自動化とイメージング実験)
 - 研究分担者 山本雅貴
- 3 科学研究費補助金 (平成23~25年度) 基盤研究 (C) 課題番号: 11014101
 - 研究課題 α ヘリックスの構造変化が不可欠な活性型プロスタグランジン E₂合成酵素1の構造研究
 - 研究代表者 吾郷日出夫
- 4 文部科学省 X線自由電子レーザー重点戦略研究課題
 - 研究課題 無損傷・動的結晶構造解析による生体エネルギー変換過程の可視化
 - 研究代表者 吾郷日出夫
- 5 厚生労働科学研究費補助金 B型肝炎創薬実用化等研究事業
 - 研究課題 次世代生命基盤技術を用いたB型肝炎制圧のための創薬研究
 - 研究分担者 吾郷日出夫