

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.

SPring-8 構造生物学用ビームラインにおいて、微小結晶構造解析や超高分解能解析を可能にする極限結晶構造解析にむけたビームライン開発や、データ収集の簡便化に向けた測定自動化技術の開発を進めた。微小結晶構造解析では、微小結晶からの微弱な回折強度の S/N を最大化する為に、マイクロオーダーの微小試料サイズと同等の大きさに放射光ビームを集光可能な「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) の研究開発を進めている。また、測定自動化システムでは、メールインデータ測定に加え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、20 ミクロン程度の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、超高輝度放射光はタンパク質結晶に重篤な放射線損傷を与え、そ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、放射線損傷の低減を目標として、複数結晶の独立な回折イメージにより強度データ収集法の開発を進めている。また、微小角振動法による高速かつ高 S/N データ測定を実現するために、X線 CMOS 検出器を用いた連続回転データ収集法を開発している。

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.

生体膜に由来する脂質の代謝産物である脂質メディエータは、生体の機能調節に預かり、その代謝の混乱は様々な病気の症状の原因になっている。本研究では、ヒト疾病に直接関与する脂質メディエータ代謝蛋白質の構造研究を通し、脂質メディエータの代謝機構についての理解を深め、ひいては疾病治療薬開発において最先端技術の使用に道を開く事を目的とする。この中で、ヒト由来膜貫通型タンパク質ロイコトリエン C₄ 合成酵素や、同じくヒト由来膜貫通型タンパク質プロスタグランジン E₂ 合成酵素 1 の結晶構造解析、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 T. Kumasaka (JASRI) , K. Hirata (理研) , N. Shimizu (JASRI) , M. Kawamoto (佐賀 LS) , K. Hasegawa (JASRI) , S. Baba (JASRI) , N. Okazaki (原子力機構) , Teh Aik (JASRI) , G. Ueno (理研) , T. Hikima (理研) , A. Nisawa (理研) , T. Shimizu (理研) , M. Yamamoto : Present status and future plan of structural biology beamlines at SPring-8, 2008 Meeting of the American Crystallographic Association (Knoxville, USA) 2008
- I -2 K. Hirata (理研) , A. Nisawa (理研) , G. Ueno (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 beamline to achieve protein micro-crystallography at SPring-8, International Union of Crystallography 2008 (Osaka Japan) 2008
- I -3 J. Jayaraman (NSSRC) , M. Yoshimura (NSSRC) , G. Ueno (理研) , Y. Huang (NSSRC) , C. Huang (NSSRC) , M. Yamamoto, K. Tsuei (NSSRC) , H. Ishii (NSSRC) : Installation of high throughput protein crystallography data collection at SPring-8 BL12B2, International Union of Crystallography 2008 (Osaka Japan) 2008
- I -4 E. Yamashita (大阪大) , M. Yoshimura (NSSRC) , M. Suzuki (大阪大) , T. Kumasaka (JASRI) , M. Yamamoto, S. Yoshikawa, T. Tsukihara, A., Nakagawa (大阪大) : IPR beamline for macromolecular assemblies at SPring-8, International Union of Crystallography 2008 (Osaka, Japan) 2008
- I -5 G. Ueno (理研) , K. Hasegawa (JASRI) , N. Okazaki (原子力機構) , H. Murakami (理研) , T. Hikima (理研) , S. Baba (JASRI) , K. Hirata (理研) , A. Nisawa (理研) , T. Kumasaka (JASRI) , M. Yamamoto : Beamline automation and mail-in data collection at SPring-8 structural biology beamlines, International Union of Crystallography 2008 (Osaka, Japan) 2008
- I -6 中迫雅由 (慶応大) ・山本雅貴 ・西野吉則 (理研) ・前島一博 (理研) ・白濱圭也 (慶応大) ・難波啓一 (阪大) : XFEL 生体単粒子解析用クライオ試料固定照射装置の開発" 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
- I -7 山崎裕史 (JASRI) ・清水康宏 (JASRI) ・清水伸隆 (JASRI) ・河野能顕 (理研) ・河本正秀 (佐賀 LS) ・三浦孝紀 (JASRI) ・仙波泰徳 (JASRI) ・熊坂 崇 (JASRI) ・山本雅貴 ・大橋治彦 (JASRI) ・後藤俊治 (JASRI) : SPring-8 分光器の安定化対策, 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
- I -8 清水康宏 (JASRI) ・山崎裕史 (JASRI) ・清水伸隆 (JASRI) ・河野能顕 (理研) ・

- 河本正秀 (佐賀 LS) ・三浦孝紀 (JASRI) ・仙波泰徳 (JASRI) ・熊坂 崇 (JASRI) ・山本雅貴 ・大橋治彦 (JASRI) ・後藤俊治 (JASRI) : SPring-8 BL41XU における分光器の安定化対策" 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
- I -9 湯本博勝 (JASRI) ・平田邦生 (理研) ・二澤宏司 (理研) ・上野 剛 (理研) ・佐藤真直 (JASRI) ・孫 珍永 (JASRI) ・小金澤智之 (JASRI) ・町田雅武 (JASRI) ・室 隆桂之 (JASRI) ・廣沢一郎 (JASRI) ・大橋治彦 (JASRI) ・山本雅貴 ・渡辺義夫 (JASRI) ・後藤俊治 (JASRI) : SPring-8 における高精度非球面ミラーによる硬 X 線マイクロ集光プローブの最適化光学設計、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
- I -10 平田邦生 (理研) ・二澤宏司 (理研) ・上野 剛 (理研) ・河野能顕 (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) ・大橋治彦 (JASRI) ・後藤俊治 (JASRI) ・山本雅貴 : SPring-8 マイクロビームライン BL32XU で可能にするタンパク質微小結晶解析、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
- I -11 吉村政人 (NSSRC) ・Jayaraman Jeyakanthan (NSSRC) ・上野 剛 (理研) ・Huang Yu-Shan (NSSRC) ・Huang Chi-Yi (NSSRC) ・山本雅貴 ・Tuei Ku-Ding (NSSRC) ・石井 啓文 (NSSRC) : SPring-8 BL12B2 蛋白質結晶構造解析ステーションのアップグレード、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
- I -12 山下栄樹 (大阪大) ・鈴木 守 (大阪大) ・吉村政人 (NSSRC) ・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 ・月原富武 ・中川敦史 (大阪大) : 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 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
- I -13 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) ・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/ビームライン自動化とメールイン・データ収集、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
- I -14 山本雅貴 ・平田邦生 (理研) ・引間孝明 (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、日本薬学会第 129 年会 (京都) 2009
- II -1 K. Ida (北里大) , M. Kurabayashi (北里大) , M. Suguro (北里大) , Y. Hiruma (北里大) , T. Hikima (理研) , M. Yamamoto, H. Suzuki (北里大) : Structural basis of proteolytic activation of l-phenylalanine oxidase from *Pseudomonas* sp.P-501, *J.Biol.Chem.* **283**, 16584-16590 (2008)
- II -2 M. Sugahara (理研) , Y. Asada (理研) , K. Shimizu (理研) , H. Yamamoto (理研) , L. Neratur (理研) , H. Mizutani (理研) , B. Bagautdinov (理研) , Y. Matsuura (理研) , M. Taketa (理研) , Y. Kageyama (理研) , N. Ono (理研) , Y. Morikawa (理研) , Y. Tanaka (理研) , H. Shimada (理研) , T. Nakamoto (理研) , M. Sugahara (理研) , M. Yamamoto, N. Kunishima (理研) : High-throughput crystallization-to-structure pipeline at RIKEN SPring-8 Center, *J. Structural and Functional Genomics* **9**, 21-28 (2008)
- II -3 K. Hirata (理研) , G. Ueno (理研) , K. Hasegawa (JASRI) , T. Shimizu (理研) , T.

- Kumasaka (JASRI) , M. Yamamoto : Evaluation of a novel rotation method to suppress absolute radiation damage to protein crystals, 5th International Workshop on X-ray Damage to Biological Crystalline Samples (Villigen, Switzerland) 2008
- II -4 K. Hirata (理研) , G. Ueno (理研) , K. Hasegawa (JASRI) , T. Shimizu (理研) , T. Kumasaka (JASRI) , M. Yamamoto : Evaluation of a novel rotation method to suppress absolute radiation damage to protein crystals" 2008 Meeting of the American Crystallographic Association (Knoxville, USA) 2008
- II -5 M. Kawamoto (佐賀 LS) , N. Shimizu (JASRI) , S. Baba (JASRI) , K. Hirata (理研) , K. Ishiji (佐賀 LS) , K. Sumitani (佐賀 LS) , T. Okajima (佐賀 LS) , H. Motoshima (佐賀大) , K. Watanabe (佐賀大) , T. Kumasaka (JASRI) , M. Yamamoto: Studies for S-SAD method using various wavelength at SPring-8 and SAGA-LA, International Union of Crystallography 2008 (Osaka, Japan) 2008
- II -6 T. Hikima (理研) , T. Shimizu (理研) , M. Yamamoto, Manipulating protein microcrystal with optical tweezers based on lensed fiber probes, International Union of Crystallography 2008 Osaka Japan 2008
- II -7 S. Tagami (東京大) , S. Sekine (東京大) , K. Thirumananseri (理研) , M. Yamamoto, S. Yokoyama (理研) : Crystallography of bacterial RNA polymerase complexed with transcription factors. International Union of Crystallography 2008 (Osaka, Japan) 2008
- II -8 T. Shimizu (理研) , T. Nakatsu (京都大) , N. Shimizu (JASRI) , M. Sato (横浜市大) , K. Kurihara (原子力機構) , K. Miyairi (弘前大) , T. Okuno (弘前大) , N. Niimura (茨城大) , M. Yamamoto, H. Kato (京都大) : Ultra-high resolution structure of endopolygalacturonase determined by X-ray and neutron diffraction, International Union of Crystallography 2008 (Osaka, Japan) 2008
- II -9 K. Hasegawa (JASRI) , K. Hirata (理研) , T. Shimizu (理研) , T. Kumasaka (JASRI) , M. Yamamoto : Shutter-less continuous rotation data collection from protein crystals with the X-ray CMOS detector, International Union of Crystallography 2008 (Osaka, Japan) 2008
- II -10 M. Yamamoto : Macromolecular crystallography and synchrotron radiation, SESAME-JSPS School (Cairo, Egypt) 2008
- II -11 嶋田 睦 (理研) ・外山光俊 (理研) ・寺田貴帆 (理研) ・田仲昭子 (理研) ・菅野純夫 (東京大) ・白水美香子 (理研) ・山本雅貴 ・末次志郎 (東京大) ・竹縄忠臣 (神戸大) ・横山茂之 (理研) : Cdc42-interacting protein 4 (CIP4)による Cdc42 認識機構の構造的基盤, 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会 (BMB2008) (神戸) 2008
- II -12 長谷川和也 (JASRI) ・平田邦生 (理研) ・清水伸隆 (JASRI) ・河野能顕 (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 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
- II -13 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(北海道大) : SPring-8 および PF における結晶自動マウント用共通カセットの開発, 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-1 Y. Kurahashi (同志社女子大), M. Sugahara (理研), H. Ago, S. Aoyama (京都女子大), N. Takahashi (理研), K. Takio (理研), M. Katsukawa (京都女子大), S. Yamamoto (京都女子大), M. Miyano (理研) : Crystallization and preliminary diffraction studies of prostaglandin E₂-specific monoclonal antibody Fab fragment in the ligand complex. *Acta Cryst.* **F64**, 1027-1030 (2008)
- III-2 T. Shimamura (理研), K. Hiraki (サントリー), N. Takahashi (理研), T. Hori (理研), H. Ago, K. Masuda (サントリー), K. Takio (理研), M. Ishiguro (サントリー), M. Miyano (理研) : Crystal structure of squid rhodopsin with intracellularly extended cytoplasmic region. *J. Biol. Chem.* **283**, 17753-17756 (2008)
- III-3 H. Ago, Y. Kanaoka (ハーバード大、ブリガム婦人病院), D. Irikura (理研), B.K. Lam (ハーバード大、ブリガム婦人病院), T. Shimamura (理研), K.F. Austen (ハーバード大、ブリガム婦人病院), M. Miyano (理研) : Crystal structure analysis of human membrane integrated protein leukotriene C₄ synthase. *XXI Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography (IUCr2008)*, (大阪), 2008
- III-4 吾郷日出夫・浮田陽子(理研)・入倉大祐(理研)・齋野廣道(理研)・金岡禧秀(ハーバード大、ブリガム婦人病院)・K.F. Austen(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合成酵素の変異体による酵素触媒機構の解析。第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会(神戸)、2008
- III-5 齋野廣道(理研)・吾郷日出夫・金岡禧秀(ハーバード大、ブリガム婦人病院)・K.F. Austen(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(JSR09)、2009
- III-6 吾郷日出夫・堀 哲哉(理研)・宮野雅司(理研) : 脂質メディエータ合成酵素の構造と機能; 最近の進展。分子血管病、6、617-624、(2008)
- III-7 宮野雅司(理研)・吾郷日出夫・堀 哲哉(理研) : 創薬標的膜タンパク質の結晶構造解析とSBDD: 直接の創薬標的へ、そして再びモデルへ。Medchem News、19、20-31、(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 19~20 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