

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。さらに、BL32XU で開発した微小結晶構造解析技術を共用の構造生物学ビームライン I (BL41XU)に展開して、タンパク質結晶構造解析のレベル向上に努めている。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活用したユーザー利用実験を進めている。

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・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ため、ヘリカルデータ収集法および最適な測定条件を提案するユーザー支援ソフトウェアを開発して、高輝度放射光に最適化したビームライン測定環境を構築した。さらに、微小結晶構造解析の普及を目指して、超高速 2 次元検出器を利用した視認不可能な微小結晶の高速 X 線センタリング技術の開発を進めている。また、X 線自由電子レーザー施設 SACLA の超高輝度極短パルス X 線を生かし、SPring-8 と異なる切り口の無損傷結晶構造解析法を開発して、チトクロム酸化酵素の無損傷構造解析に成功した。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 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・山本雅貴
Ago, H., Yamamoto, M.

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をはじめ創薬関連の構造科学研究にも参画している。

発表論文 List of Publications

- I -1 K., Hasegawa (JASRI), N., Shimizu (JASRI), H., Okumura (JASRI), N., Mizuno (JASRI), S., Baba (JASRI), H., Kunio (理研), T., Takeuchi (JASRI), H., Yamazaki (JASRI), Y., Senba (JASRI), H., Ohashi (JASRI), M., Yamamoto, T., Kumasaka (JASRI): SPring-8 BL41XU, a high-flux macromolecular crystallography beamline, *J. Synchrotron Rad.* **20**, 910-913 (2013)
- I -2 A., Nisawa (理研), Y., Yoneda (JAEA), G., Ueno (理研), H., Murakami (理研), Y., Okajima (JAEA), K., Yamamoto (理研), Y., Senba (JASRI), K., Uesugi (JASRI), Y., Tanaka (理研), M., Yamamoto, S., Goto (JASRI), T., Ishikawa (理研) : Sagittal focusing of synchrotron radiation X-rays using a winged crystal, *J. Synchrotron Rad.* **20**, 219-225 (2013)
- I -3 K., Hasegawa (JASRI), N., Shimizu (JASRI), H., Okumura (JASRI), N., Mizuno (JASRI), S., Baba (JASRI), H., Kunio (理研), T., Takeuchi (JASRI), H., Yamazaki (JASRI), Y., Senba (JASRI), H., Ohashi (JASRI), M., Yamamoto, T., Kumasaka (JASRI): SPring-8 BL41XU, a high-flux macromolecular crystallography beamline, 4th International Symposium on Diffraction Structural Biology (ISDSB2013), Nagoya, Japan, May (2013)
- I -4 M., Yamamoto, K., Hirata (理研), Y., Kawano (理研), G., Ueno (理研), H., Murakami (理研), T., Hikima (理研), T., Kumasaka (JASRI) : The protein micro-crystallography at SPring-8, the 2013 ACA annual meeting, Hawaii USA, July (2013)
- I -5 M., Yamamoto : Macromolecular crystallography beamlines at SPring-8, 4th International Meeting on Frontiers of Physics (IMFP 2013), Kuala Lumpur, Malaysia, August (2013)
- I -6 M., Yamamoto, K., Hirata (理研), Y., Kawano (理研), G., Ueno (理研), T., Hikima (理研), H., Murakami (理研), K., Hasegawa (JASRI), T., Kumasaka (JASRI) : The micro-beam beamline at SPring-8 open protein micro-crystallography, 11th International Conference Biology and Synchrotron Radiation 2013(BSR2013), Hamburg Germany, Sep. (2013)
- I -7 K., Hasegawa (JASRI), H., Okumura (JASRI), K., Hirata (理研), T., Takeuchi (JASRI), H., Yamazaki (JASRI), Y., Senba (JASRI), H., Ohashi (JASRI), M., Yamamoto, T.,

- Kumasaka(JASRI) : The upgrade project of the high flux MX beamline BL41XU at SPring-8, 11th International Conference Biology and Synchrotron Radiation 2013(BSR2013), Hamburg Germany, Sep. (2013)
- I -8 長谷川和也 (JASRI)・奥村英夫 (JASRI)・平田邦生 (理研)・仙波泰徳 (JASRI)・湯本博勝 (JASRI)・竹内智之 (JASRI)・山崎裕史 (JASRI)・大橋治彦 (JASRI)・山本雅貴・熊坂崇 (JASRI) : SPring-8 構造生物学I ビームラインBL41XU の高度化, 第27回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム、広島、1月(2014)
- I -9 水野伸宏 (JASRI)・馬場清喜 (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27回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム、広島、1月(2014)
- I -10 引間孝明 (理研)・佐藤広美 (理研)・村上博則 (理研)・佐々木園 (京都工繊大)・八木直人 (JASRI)・山本雅貴 : 理研構造生物学ビームラインI の現状, 第27回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム、広島、1月(2014)
- I -11 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)・古川行人 (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27回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム、広島、1月(2014)
- I -12 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 (兵庫県大)・月原富武 (兵庫県大)・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27回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム、広島、1月(2014)
- II -1 N., Shimizu (JASRI), T., Shimizu (理研), S., Baba (JASRI), K., Hasegawa (JASRI), M. Yamamoto, T., Kumasaka (JASRI) : Development of an online UV-visible micro-spectrophotometer for a macromolecular crystallography beamline”, *J. Synchrotron Rad.* **20**, 948-952 (2013)
- II -2 K., Yonekura (理研), M., Watanabe (理研), Y., Kageyama (理研), K., Hirata (理研), M. Yamamoto, S., Maki-Yonekura (理研) : Post-Transcriptional Regulator Hfq Binds Catalase HPII: Crystal Structure of the Complex, *PLOS ONE* **8**, e78216 (2013)
- II -3 M., Nakasako (慶応大), Y., Takayama (理研), T., Oroguchi (慶応大), Y., Sekiguchi (慶応大), A., Kobayashi (慶応大), K., Shirahama (慶応大), M. Yamamoto, T., Hikima (理研), K., Yonekura (理研), S., Maki-Yonekura (理研), Y., Kohmura (理研), Y., Inubushi (JASRI), Y., Takahashi(阪大), A., Suzuki (阪大), S., Matsunaga (東京理大), Y., Inui (東京理大), K., Tono (JASRI), T., Kameshima (JASRI), Y., Joti (JASRI), T., Hoshi(神津精機): KOTOBUKI-1 apparatus for cryogenic coherent X-ray diffraction imaging”, *Rev. Sci. Instrum.* **84**, 093705 (2013)
- II -4 Y., Takahashi (阪大), A., Suzuki (阪大), N., Zettsu (信州大), T., Oroguchi (慶応大), Y., Takayama (理研), Y., Sekiguchi (慶応大), A., Kobayashi (慶応大), M. Yamamoto, M., Nakasako (慶応大) : Coherent Diffraction Imaging Analysis of Shape-Controlled Nanoparticles with Focused Hard X-ray Free-Electron Laser Pulses, *NANO Letters* **13**, 6028-6032 (2013)
- II -5 H., Ago K., Hirata (理研), G., Ueno (理研), H., Murakami (理研), T., Tosha (理研), T., Hisano (理研), M., Kubo (理研), H., Sugimoto (理研), Y., Shiro (理研), M. Yamamoto, E., Yamashita

- (阪大), J.-R., Shen (岡山大), K., Shinzawa-Ito (兵庫県大), K., Kato (兵庫県大), M., Hatanaka (兵庫県大), S., Takemura (兵庫県大), N., Yano (兵庫県大), T., Ogura (兵庫県大), S., Yoshikawa (兵庫県大), T., Tsukihara (兵庫県大) : High-resolution femtosecond crystallography at SACLA, a challenge of reducing the X-ray radiation damage on super molecular assemblies. 11th International Conference Biology and Synchrotron Radiation 2013(BSR2013), Hamburg Germany, Sep. (2013)
- II-6 M., Yamamoto : High resolution femtosecond crystallography at SACLA, The 6th International Workshop on FEL Science , Tainan, Taiwan, Nov. (2013)
- II-7 H., Ago : “Femtosecond crystallography at SACLA targeting high-resolution crystal structure determination of large biological macromolecules free of radiation damage”, The 12th Conference of the Asian Crystallographic Association. Hong Kong, Dec. (2013)
- II-8 中迫雅由 (慶応大)・山本雅貴 : 先端的X線光源による細胞の空間階層イメージング、パリティ Vol.28, No.7, 16-19 (2013)
- II-9 中迫雅由 (慶応大)・荳口友隆 (慶応大)・関口優希 (慶応大)・小林周 (慶応大)・橋本早紀 (慶応大)・白濱圭也 (慶応大)・山本雅貴・高山裕貴 (理研)・米倉功治 (理研)・眞木さおり (理研)・引間孝明 (理研)・高橋幸生 (阪大)・鈴木明大 (阪大)・松永幸大 (東京理大)・乾弥生 (東京理大)・登野健介 (JASRI)・亀島敬 (JASRI)・城地保昌 (JASRI)・犬伏雄一 (JASRI)・星貴彦 (神津精機) : X線自由電子レーザーを用いた非結晶粒子のコヒーレントX線回折イメージング実験、日本結晶学会誌 Vol.56, No.1, 27-35 (2014)
- II-10 吾郷日出夫・平田 邦生(理研)・上野 剛(理研)・山本 雅貴 : X線自由電子レーザーを用いたフェムト秒タンパク質X線結晶構造解析、日本放射線化学会誌 No96(2013)
- II-11 吾郷日出夫・平田邦生(理研)・上野 剛(理研)・村上博則(理研)・山本雅貴・山下栄樹(阪大)・伊藤(新澤)恭子(兵庫県大)・加藤公児(兵庫県大)・畑中美樹(兵庫県大)・武村修平(兵庫県大)・矢野直峰(兵庫県大)・吉川信也(兵庫県大)・月原富武(兵庫県大) : SACLA によるウシ心筋チトクロム酸化酵素の無損傷高分解能結晶構造解析、平成25年度日本結晶学会年会、熊本、10月(2013)
- II-12 引間孝明 (理研)・村上博則 (理研)・河野能顕 (理研)・上野 剛 (理研)・平田邦生 (理研)・水野伸宏 (JASRI)・熊坂 崇 (JASRI)・山本雅貴 : 微小タンパク質結晶自動凍結システムの開発、平成25年度日本結晶学会年会、熊本、10月(2013)
- II-13 河野能顕 (理研)・引間孝明 (理研)・平田邦生 (理研)・熊坂 崇 (JASRI)・山本雅貴 : 深紫外レーザーを用いたタンパク質結晶加工機の開発、平成25年度日本結晶学会年会、熊本、10月(2013)
- II-14 中迫雅由 (慶応大)・荳口友隆 (慶応大)・関口優希 (慶応大)・小林 周 (慶応大)・橋本早紀 (慶応大)・山本雅貴・引間孝明 (理研)・米倉功治 (理研)・高山裕貴 (理研)・眞木さおり (理研)・高橋幸生 (阪大)・鈴木明大 (阪大)・松永幸大 (東京理大)・乾弥生 (東京理大)・胡桃坂仁志 (早稲田大)・市川雄一 (早稲田大)・星 貴彦 (神津精機) : クライオ試料照射装置”壽壱号”を用いた SACLA でのコヒーレントX線回折イメージング実験の現状、第27回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム、広島、1月(2014)
- II-15 高橋幸生 (阪大)・鈴木明大 (阪大)・是津信行 (信州大)・荳口友隆 (慶応大)・高山裕貴 (理研)・関口優希 (慶応大)・小林 周 (慶応大)・山本雅貴・中迫雅由 (慶応大) : XFEL コヒーレント回折イメージングによる金属ナノ粒子の組織と粒度分布の複合解析、第27回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム、広島、1月(2014)
- III-1 F., Shima (神戸大), F., Yoshikawa (神戸大), Y., Ye (神戸大), M., Araki (神戸大), M., Matsumoto(神戸大), S., Liao (神戸大), J.L., Hu (神戸大), L.Z., Sugimoto (神戸大), T., Ijiri (神戸大)

- 大), Y., Takeda (神戸大), A., Nishiyama (神戸大), Y., Sato (神戸大), C., Muraoka (神戸大), S., Tamura (神戸大), A., Osoda (神戸大), T., Tsuda (神戸大), K., Miyakawa (神戸大), T., Fukunishi (神戸大), H., Shimada (神戸大), T., Kumasaka (JASRI), M., Yamamoto. T., Kataoka (神戸大) : In silico discovery of small-molecule Ras inhibitors that display antitumor activity by blocking the Ras-effector interaction” , *Proc. Nat. Acad. Sci the USA* **110**, 8182-8187 (2013)
- III-2 H., Eguchi (横浜市大), K., Hirata (理研), R., Kurotani (横浜市大), H., Fukumura (横浜市大), D., Singh (横浜市大), M., Yamamoto (横浜市大), I., Sato (横浜市大), M., Umemura (横浜市大), M., Yamamoto. M., Sato (横浜市大), Y., Ishikawa (横浜市大) : Controlled drug delivery and magnetic resonance imaging with intrinsic ferromagnetic nano-particle compound”, *J. Pharmacological Sciences* **121**, 125P (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 (平成24~28年度)
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 (平成24~28年度)
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 (平成24~28年度)
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