

## 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 $\mu$ m 集光ビームを実現した BL32XU において微小結晶の高速自動センタリングシステム (SHIKA) を開発し、2~3 ミクロンの微小タンパク質結晶からシャッターレスデータ収集・処理方法の研究を進めている。また、高速検出器を用いたシャッターレス回折データ収集では、放射線損傷低減の鍵となるヘリカルデータ収集と組み合わせた迅速高精度測定法による膜タンパク質等ミクロン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と大容量化した試料交換ロボットによる効率的な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 線を活用し、既存の放射光を使った構造解析では放射線損傷の影響が無視できないタンパク質について、分子機能を反映した無損傷結晶構造が決定できる無損傷 X 線結晶構造解析法を開発した。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。

## 発表論文 List of Publications

### 外国語論文

- I -1 J., Wang (Tsinghua Univ.) , C., Yan (Tsinghua Univ.) , Y., Li (Tsinghua Univ.) , K., Hirata (理研) , M., Yamamoto, N., Yan (Tsinghua Univ.) , Q., Hu (Tsinghua Univ.) : Crystal structure of a bacterial homologue of SWEET transporters, *Cell Research* **24**, 1486-1489, (2014)
- I -2 H., Tanabe (理研) , K., Motoyama (理研) , M., Ikeda (理研) , M., Wakiyama (理研) , T., Terada (理研) , N., Ohsawa (理研) , T., Hosaka (理研) , M., Hato (理研) , Y., Fujii (理研) , Y., Nakamura (理研) , S., Ogasawara (京大) , T., Hino (京大) , T., Murata (千葉大) , S., Iwata (京大) , M., Okada-Iwabu (東大) , M., Iwabu (東大) , K., Hirata (理研) , Y., Kawano (理研) , M., Yamamoto, T., Kimura-Someya (理研) , M., Shirouzu (理研) , T., Yamauchi (東大) , T., Kadowaki (東大) and S., Yokoyama (理研) : Expression, purification, crystallization, and preliminary X-ray crystallographic studies of the human adiponectin receptors, AdipoR1 and AdipoR2, *J Struct Funct Genomics* **16**, 11-23 (2015)

### 国際会議

- I -3 M., Yamamoto, K., Hirata (理研) , G., Ueno (理研) , Y., Kawano (理研) , K., Yamashita (理研) , H., Ago, K., Hasegawa (JASRI) , H., Okumura (JASRI) , T., Kumasaka (JASRI) : Macromolecular crystallography at SPring-8 and SACLA, The 4th Asia Pacific Protein Association Conference 2014, Jeju, Korea, May (2014)
- I -4 G., Ueno (理研) , H., Murakami (理研) , K., Hirata (理研) , K., Yamashita (理研) , K., Hasegawa (JASRI) , T., Hikima (理研) , Y., Kawano (理研) , N., Mizuno (JASRI) , S., Baba (JASRI) , H., Okumura (JASRI) , T., Kumasaka (JASRI) , M., Yamamoto : Automation of macromolecular crystallography beamlines at SPring-8, American Crystallographic Association Annual Meeting, Albuquerque, USA, May (2014)
- I -5 Y., Kawano (理研) , T., Hikima (理研) , K., Hirata (理研) , S., Baba (JASRI) , H., Murakami (理研) , K., Yamashita (理研) , T., Kumasaka (JASRI) , M., Yamamoto : Processing of Protein Crystals using by Deep-UV Pulsed Laser, 23rd Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography, Montreal, Canada, Aug. (2014)
- I -6 K., Yamashita (理研) , K., Hirata (理研) , Y., Kawano (理研) , G., Ueno (理研) , K., Hasegawa (JASRI) , T., Kumasaka (JASRI) , M., Yamamoto : SHIKA: a fast and accurate spot finder for raster scan on microfocus beamlines, 23rd Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography, Montreal, Canada, Aug. (2014)
- I -7 K., Hirata (理研) , Y., Kawano (理研) , K., Yamashita (理研) , G., Ueno (理研) , T., Hikima (理研) , H., Murakami (理研) , S., Baba (JASRI) , K., Hasegawa (JASRI) , T., Kumasaka (JASRI) , M., Yamamoto : Current status of protein micro-crystallography at SPring-8, 23rd Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography, Montreal, Canada, Aug. (2014)
- I -8 K., Hasegawa, H., Okumura, N., Mizuno, K., Hirata, K., Yamashita, G., Ueno, H., Murakami, H., Yumoto, Y., Senba, H., Ohashi, M., Yamamoto, T., Kumasaka : Upgrade of a high flux MX beamline BL41XU at SPring-8, 23rd Congress and General Assembly of the

International Union of Crystallography, Montreal, Canada, Aug. (2014)

- I-9 E., Yamashita, A., Higashiura, M., Yoshimura, K., Hasegawa, Y. Furukawa, T., Ohata, T., Kumasaka, G., Ueno, M., Yamamoto, A., Nakagawa : IPR Beamline for Macromoleculatr Assemblies at SPring-8 (BL44XU), 23rd Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography, Montreal, Canada, Aug. (2014)
- I-10 G., Ueno (理研) , T., Hikima (理研) , K., Hirata (理研) , K., Yamashita (理研) , Y., Kawano (理研) , H., Murakami (理研) , H. Ago, N., Mizuno (JASRI) , K., Hasegawa (JASRI) , Y., Furukawa (JASRI) , T., Kumasaka (JASRI) , M. Yamamoto : Data acquisition system for macromolecular crystallography at SPring-8, 10th New Opportunities for Better User Group Software Conference (NOBUGS2014), つくば市, 日本, Oct. (2014)

#### 和文論文

- I-11 山本雅貴:放射光によるタンパク質結晶構造解析の新展開, 日本放射光学会誌「放射光」Vol.27, No.6, 282-289, (2014)

#### 国内会議

- I-12 山下恵太郎 (理研)・平井秀憲 (阪大)・安井典久 (岡大)・田畑早苗 (阪大)・高木淳一 (阪大)・禾晃和 (横浜市大)・山本雅貴 : フラグメントの制約付き実空間探索による不明瞭な電子密度へのモデルのアサイン, 第14回日本蛋白質科学会年会, 横浜市, 6月 (2014)
- I-13 平井秀憲 (阪大)・安井典久 (岡大)・田畑早苗 (阪大)・山下恵太郎 (理研)・山本雅貴・高木淳一 (阪大)・禾晃和 (横浜市大) : リーリン -ApoER2 複合体の結晶構造解析, 第14回日本蛋白質科学会年会, 横浜市, 6月 (2014)
- I-14 平田邦生 (理研)・河野能顕 (理研)・山下恵太郎 (理研)・上野剛 (理研)・長谷川和也 (JASRI)・熊坂崇 (JASRI)・山本雅貴 : タンパク質微小結晶構造解析の現状と展望, SPring-8 シンポジウム2014, 東京, 9月 (2014)
- I-15 加藤健一 (理研)・笠井秀隆 (理研)・高田昌樹 (理研)・田中義人 (理研)・大浦正樹 (理研)・山本雅貴 : 理研物質科学ビームラインBL44B2の現状と今後, SPring-8 シンポジウム2014, 東京, 9月 (2014)
- I-16 篠田雄大 (理研)・新屋直子 (理研)・伊東夏織 (理研)・大沢登 (理研)・寺田貴帆 (理研)・平田邦生 (理研)・河野能顕 (理研)・山本雅貴・木村 (染谷) 友美 (理研)・横山茂之 (理研)・白水美香子 (理研) : ウェルシュ菌内毒素Clostridium perfringens enterotoxinによる、密着結合内クロードンアッセンブリーの破壊機構の構造基盤, 第87回日本生化学会大会, 京都, 10月 (2014)
- I-17 河野能顕 (理研)・引間孝明 (理研)・山下恵太郎 (理研)・松本直記 (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現状, 平成26年度日本結晶学会年会及び総会, 東京都, 11月 (2014)
- I-18 山下恵太郎 (理研)・平田邦生 (理研)・河野能顕 (理研)・上野剛 (理研)・長谷川和也 (JASRI)・熊坂崇 (JASRI)・山本雅貴 : SHIKA: 回折データ収集のための微小結晶探索効率化ソフトウェアの開発, 日本結晶学会2014年度年会, 東京都, 11月 (2014)
- I-19 新屋直子 (理研)・篠田雄大 (理研)・伊東夏織 (理研)・桂 (石塚) 芳子 (理研)・大沢登 (理研)・寺田貴帆 (理研)・平田邦生 (理研)・河野能顕 (理研)・山本雅貴・富田泰輔 (東大)・石橋洋平 (理研)・平林義雄 (理研)・染谷友美 (理研)・白水美香子 (理研)・横山茂之 (理研) :

無細胞タンパク質合成技術を利用した結晶構造解析用ヒト膜タンパク質生産の体系的手法, 日本結晶学会2014年度年会, 東京都, 11月 (2014)

- I -20 馬場清喜 (JASRI)・水野伸宏 (JASRI)・奥村英夫 (JASRI)・長谷川和也 (JASRI)・上野剛 (理研)・山本雅貴・熊坂崇 (JASRI)・八木直人 (JASRI): タンパク質結晶の構造と機能の解析に向けたSPring-8 BL38B1の取り組み, 日本結晶学会2014年度年会, 東京都, 11月 (2014)
- I -21 長谷川和也 (JASRI)・奥村英夫 (JASRI)・馬場清喜 (JASRI)・水野伸宏 (JASRI)・平田邦生 (理研)・山下恵太郎 (理研)・村上博則 (理研)・上野剛 (理研)・古川行人 (JASRI)・仙波泰徳 (JASRI)・湯本博勝 (JASRI)・小山貴久 (JASRI)・竹内智之 (JASRI)・山崎裕史 (JASRI)・大橋治彦 (JASRI)・山本雅貴・熊坂崇 (JASRI): 高精度迅速測定を目指したSPring-8 BL41XUの高度化, 日本結晶学会2014年度年会, 東京都, 11月 (2014)
- I -22 山下恵太郎 (理研)・吉村政人 (NSRRC)・平田邦生 (理研)・河野能頭 (理研)・上野剛 (理研)・長谷川和也 (JASRI)・水野伸宏 (JASRI)・引間孝明 (理研)・熊坂崇 (JASRI)・山本雅貴: 生体高分子結晶回折データ自動処理システムの開発, 第28回放射光学会年会, 草津市, 1月 (2015)
- I -23 上野剛 (理研)・村上博則 (理研)・引間孝明 (理研)・長谷川和也 (JASRI)・馬場清喜 (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28回日本放射光学会年会, 草津市, 1月 (2015)
- I -24 水野伸宏 (JASRI)・馬場清喜 (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 BL38B1の現状と高度化, 第28回日本放射光学会年会, 草津市, 1月 (2015)
- I -25 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・月原富武・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28回日本放射光学会年会, 草津市, 1月 (2015)
- I -26 吉村政人 (NSRRC)・上野剛 (理研)・村上博則 (理研)・Yu-Shan Huang (NSRRC)・山本雅貴: SPring-8 BL12B2(台湾ビームライン)蛋白質結晶構造解析ステーションの現状, 第28回日本放射光学会年会, 草津市, 1月 (2015)
- I -27 長谷川和也 (JASRI)・奥村英夫 (JASRI)・馬場清喜 (JASRI)・水野伸宏 (JASRI)・平田邦生 (理研)・山下恵太郎 (理研)・村上博則 (理研)・上野剛 (理研)・古川行人 (JASRI)・仙波泰徳 (JASRI)・湯本博勝 (JASRI)・小山貴久 (JASRI)・竹内智之 (JASRI)・山崎裕史 (JASRI)・大橋治彦 (JASRI)・山本雅貴・熊坂崇 (JASRI): 高精度迅速測定を目指したSPring-8 BL41XUの高度化, 第28回日本放射光学会年会, 草津市, 1月 (2015)
- I -28 山本雅貴: マイクロビームが拓く放射光タンパク質結晶解析の最先端, PDIS最先端セミナー/創薬につながる日本の創薬基盤技術, 東京, 2月 (2015)
- I -29 山本雅貴: タンパク質結晶構造解析技術の最前線~SPring-8・SACLAの取り組み, 第3回先進科学技術活用養成講座 FMO 計算法の創薬への応用, 神戸市, 2月 (2015)
- I -30 山本雅貴: SPring-8/SACLAによる構造生物研究の新展開, 独立行政法人日本学術振興会 回折構造生物第169委員会 第46回研究会, 東京, 3月 (2015)
- I -31 山本雅貴: Macromolecular crystallography at SPring-8 and SACLA, WINTech2015, 神戸市, 3月 (2015)

- II-1 R., Xu (UCLA) , H., Jiang (Shandong Univ.) , C., Song (理研) , J.A., Rodriguez (UCLA) , Z., Huang (UCLA) , C.-C., Chen (UCLA) , D., Nam (理研) , J., Park (理研) , M., Gallagher-Jones (理研) , S., Kim (理研) , S., Kim (理研) , A., Suzuki (阪大) , Y., Takayama (理研) , T., Oroguchi (慶応大) , Y., Takahashi (阪大) , J., Fan (Shandong Univ.) , Y., Zou (UCLA) , T., Hatsui (理研) , Y., Inubushi (理研) , T., Kameshima (JASRI) , K., Yonekura (理研) , K., Tono (JASRI) , T., Togashi (JASRI) , T., Sato (理研) , M., Yamamoto, M., Nakasako (慶応大) , M., Yabashi (理研) , T., Ishikawa (理研) & J., Miao (UCLA) : Single-shot three-dimensional structure determination of nanocrystals with femtosecond X-ray free-electron laser pulses, *Nature Communications* **5**, 4061 (2014)
- II-2 K., Hirata (理研) , K., Shinzawa-Itoh, N., Yano, S., Takemura, K., Kato, M., Hatanaka, K., Muramoto, T., Kawahara, T., Tsukihara, E., Yamashita (阪大) , K., Tono (JASRI) , G., Ueno (理研) , T., Hikima (理研) , H., Murakami (理研) , Y., Inubushi (理研) , M., Yabashi (理研) , T., Ishikawa (理研) , M., Yamamoto, T., Ogura, H., Sugimoto (理研) , J. R., Shen (岡山大) , S., Yoshikawa and H., Ago : Determination of damage-free crystal structure of an X-ray-sensitive protein using an XFEL. *Nature Methods* **11**, 734-746 (2014)
- II-3 Y., Sekiguchi (慶応大) , M., Yamamoto, T., Oroguchi (慶応大) , Y., Takayama (理研) , S., Suzuki (慶応大) , M., Nakasako (慶応大) : IDATEN and G-SITENNO: GUI assisted software for coherent X-ray diffraction imaging experiments and data analyses at SACLA, *J. Synchrotron Rad.* **21**, 1378-1383 (2014)
- II-4 M., Suga (岡山大) , F., Akita (岡山大) , K., Hirata (理研) , G., Ueno (理研) , H., Murakami (理研) , Y., Nakajima (岡山大) , T., Shimizu (岡山大) , K., Yamashita (理研) , M., Yamamoto, H., Ago, and J.-R., Shen (岡山大) : Native structure of photosystem II at 1.95 Å resolution viewed by femtosecond X-ray pulses. *Nature* **517**, 99-103 (2015)

#### 国際会議

- II-5 H., Ago : “Intact structure determination of highly radiation sensitive protein at SACLA”, The 2<sup>nd</sup> Ringberg Workshop on Structural Biology with FELs from first results to future perspectives, Kreuth, Germany, Feb. (2015)
- II-6 H., Ago, K., Hirata (理研) , K., Shinzawa-Itoh, N., Yano, T., Tsukihara, E., Yamashita (阪大) , G., Ueno (理研) , H., Murakami (理研) , S., Yoshikawa, M., Yamamoto : “Intact structure determination of a highly radiation sensitive protein at SACLA”, The 23<sup>rd</sup> Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography (IUCr2014), Montreal, Canada, Aug. (2014)
- II-7 M., Yamamoto, K., Hirata (理研) , K., Shinzawa-Itoh, N., Yano, S., Takemura, K., Kato, T., Tsukihara, E., Yamashita (阪大) , G., Ueno (理研) , H., Murakami (理研) , T., Ogura, H., Sugimoto (理研) , J.-R., Shen (岡山大) , S., Yoshikawa and H., Ago : “Determination of damage-free crystal structure of an X-ray sensitive protein using SACLA”, American crystallographic association annual meeting, Albuquerque, U.S.A., May (2014)
- II-8 H., Ago, K., Hirata (理研) , K., Shinzawa-Itoh, N., Yano, T., Tsukihara, E., Yamashita (阪大) , G., Ueno (理研) , H., Murakami (理研) , S., Yoshikawa and M., Yamamoto : Determination of damage-free crystal structure of an X-ray sensitive protein using SACLA. RD8 2014 workshop, X-ray Radiation Damage to Biological Crystalline Samples, Hamburg, Germany, Apr. (2014)-

## 和文論文

- II-9 平田邦生 (理研)・吾郷日出夫・岩田想 (京大)・山本雅貴: 最先端X線利用によるタンパク質結晶構造解析, 実験医学増刊 Vol.32, No.10, 1937-1939, (2014)

## 国内会議

- II-10 吾郷日出夫: フェムト秒観察でみたX線損傷のないタンパク質の構造 -タンパク質機能構造解析におけるSACLAの可能性-, 第三回 SACLA利用に関するワークショップ, 佐用, 10月 (2014)
- II-11 菅倫寛 (岡山大)・秋田総理 (岡山大)・清水哲哉 (岡山大)・中島芳樹 (岡山大)・上野剛 (理研)・村上博則 (理研)・平田邦生 (理研)・山下恵太郎 (理研)・山本雅貴・吾郷日出夫・沈建仁 (岡山大): XFELを用いた光化学系II複合体の無損傷結晶構造解析, 日本結晶学会2014年度年会, 東京都, 11月 (2014) (口頭、ポスター)
- II-12 島田敦広・平田邦生 (理研)・山下恵太郎 (理研)・吾郷日出夫・山本雅貴・上野剛 (理研)・伊藤・新澤恭子・吉川信也・月原富武: X線自由電子レーザーを用いて得られた回折イメージ処理法の検討, 日本結晶学会2014年度年会, 東京都, 11月 (2014)
- II-13 関口優希 (慶応大)・小林周 (慶応大)・荳口友隆 (慶応大)・中迫雅由 (慶応大)・乾弥生 (東理大)・松永幸大 (東理大)・市川雄一 (早稲田大)・胡桃坂仁志 (早稲田大)・清水光弘 (明星大)・高山裕貴 (理研)・山本雅貴: XFEL低温コヒーレントX線回折イメージングによる細胞内小器官の構造研究, 第28回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム, 滋賀, 1月 (2015)
- II-14 真崎悠 (慶応大)・小林周 (慶応大)・関口優希 (慶応大)・荳口友隆 (慶応大)・中迫雅由 (慶応大)・山口圭一 (岐阜大)・桑田一夫 (岐阜大)・亀田啓 (鳥取大)・福井直也 (鳥取大)・河田康志 (鳥取大)・高山裕貴 (理研)・山本雅貴: XFEL低温コヒーレントX線回折イメージングによるアミロイド繊維凝集体の構造研究, 第28回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム, 滋賀, 1月 (2015)
- II-15 吾郷日出夫: タンパク質の構造解析におけるXFELの可能性 -無損傷X線結晶構造解析から高速時分割解析への展望-, 第28回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム, 滋賀, 1月 (2015)
- II-16 吾郷日出夫: X線損傷のないタンパク質の構造~SACLAの可能性、文部科学省「地域イノベーション戦略支援プログラム 関西ライフイノベーション戦略プロジェクト」先進科学技術活用力養成講座 (第3回), 神戸, 2月 (2015)

## 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 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
- 4 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