

平成 30 年度 iBIX-JAXA-KEK-QST 合同タンパク質研究会 テーマ「茨城発、世界へ！タンパク質の構造を解き明かす」

主催：茨城県中性子利用研究会

宇宙航空研究開発機構 (JAXA) きぼう利用センター

高エネルギー加速器研究機構 (KEK) 物質構造科学研究所

量子科学技術研究開発機構 (QST) 量子ビーム科学研究部門高崎量子応用研究所

共催：中性子産業利用推進協議会

J-PARC MLF 利用者懇談会

新世代研究所 水和ナノ構造研究会

開催日時：平成 30 年 8 月 10 日(金)9:50-17:00

場所：研究社英語センター

〒162-0825 東京都新宿区神楽坂 1-2 TEL 03-3269-4331

http://www.kenkyusha.co.jp/modules/11_meetingroom/index.php?content_id=1

参加費：無料

主旨：茨城県内には、タンパク質の構造研究に関する研究機関が整っている。

茨城県生命物質解析装置 iBIX は、世界最高性能のタンパク質単結晶用飛行時間型中性子回折装置である。タンパク質の水素・プロトンが観測される中性子の長所を生かし、科学的意義があり、独自性のある研究 1. 多種のプロトン互変異性の存在、2. 水素結合の存在、3. 骨格構造から決定できないアミノ酸残基の側鎖の水素原子の配向等の研究を推進する。

宇宙航空研究開発機構(JAXA)は、長年にわたり微小重力環境を利用したタンパク質結晶化技術の開発を推進し、「きぼう」での宇宙実験を通してより高分解能のタンパク質の構造解析、あるいは初めての結晶化の成功など多くの実績を挙げている。近年では製薬企業の利用を推進し、創薬標的タンパク質と医薬品候補物質との複合体構造の高精度構造解析に貢献している。

高エネルギー研究機構物質構造科学研究所は、構造生物学研究センターと放射光施設であるフォトンファクトリー(PF)を有し、30年にわたり日本の構造生物学をリードしてきた。昨年度には、クライオ電子顕微鏡が導入され、さらに構造解析の幅が広がっている。産学官と多くの共同研究を推進しながら、構造情報利用を新しい分野へと拡大すべく活動している。

量子科学技術研究開発機構(QST)は、日本原子力研究開発機構の一部と放射線医学総合研究所が統合し平成 28 年に発足した新しい研究機関である。タンパク質の構造研究については、従来の原子レベルから一歩踏み込んだ量子レベルでの機能解明を目指し、複合量子ビーム利用 (X 線・中性子、回折・散乱、など) を積極的に推進している。

これらの機関が一堂に会し、タンパク質に代表される生体物質の構造解析の更なる飛躍を目指して、多くの分野の方々と結晶化方法の探索、異なった視点から立体構造解析の意義、タンパク質と化合物の疎水的相互作用の重要性、酵素と反応中間体の構造から見える反応機構について議論し、生体分野への貢献をすべく研究会を開く。

「茨城発、世界へ！タンパク質の構造を解き明かす」をテーマとして、各機関の紹介を行うと同時に、最近のトピックス成果を紹介し、2 件の特別講演を行う。

研究会主査：今野美智子(茨城県)、千田俊哉(KEK)、玉田太郎(QST)、吉崎 泉(JAXA)

プログラム

午前の部 9:50~11:45 司会：千田俊哉（KEK）

9:50-9:55 開会挨拶 今野美智子(茨城県)

9:55-10:15 茨城県生命物質解析装置 iBIX の特長を生かした研究の紹介
日下勝弘（茨城大学）

J-PARC の加速器出力が本年度夏以降には 800~1000kW への増強が予定され、タンパク質用中性子構造解析装置 iBIX による中性子の特長を生かしたタンパク質の研究の加速が期待される。これまでの中性子の特徴を生かして水素が見えることで初めて得られたプロトン互変異性の観測（代表アスパラギンのイミド酸型の観測）、水素結合の観測、重原子近傍のプロトンの観測、またその成果について報告すると同時に、今後 10 年間に、中性子の特徴を生かしたどのような課題があるか示したい。

10:15-10:50 iBIX を利用したヒト α -トロンビン活性部位の水素結合様式の解明
山田太郎（茨城大学）

一般にセリンプロテアーゼの活性部位は水素結合した Ser195-His57-Asp102 が存在すると考えられている。しかし、単独の *Achromobacter* Protease I の中性子結晶構造解析では Ser195-His57 との間には水素原子は観測されない。またこれまでのセリンプロテアーゼの X 線結晶構造解析結果は、これらの Ser と His が水素結合形成に最適な配置をとらないことが分かった。今回、基質・阻害剤フリー状態モデルであるヒト α -トロンビン・N-アセチルヒルジン断片複合体について X 線・中性子結合精密化を行なったところ Ser195 側鎖に乱れ (A:B=6:4) が存在し B 型は水素結合を形成する結果が得られた。これらについて考察する。

10:50-11:10 JAXA における高品質タンパク質結晶生成に向けた取り組み

吉崎 泉、山田 貢（JAXA きぼう利用センター）

JAXA では、国際宇宙ステーション・「きぼう」日本実験棟を利用した微小重力環境において高品質なタンパク質結晶を生成するプロジェクトを推進しており、精密な構造情報を得ることで成果を社会に還元することを目的としている。2009 年の実験開始以降、大学や研究機関、民間企業から多数の依頼をいただき、打ち上げ前の性状確認や結晶化条件検討のプロセスも含めて、分解能向上の成果が多く出ている。講演では、本プロジェクトの概要、結晶化方法、提供するサービス、これまでに得られた成果などについて紹介する。

11:10-11:50 表面ループの構造的可塑性は酵素機能とどう関わるか、を見る

日 弁隆雄（福井県立大学生物資源学部）

構造の「柔らかさ」は、酵素の機能発現に必要なであるとされ、ランダム変異を用いた分子進化工学的研究では、活性中心から離れた表面ループへの変異導入が機能改変に有効な例が報告されてきた。従来、表面ループ変異による機能改変の分子機構については、多重コンフォメーションの平衡や残基間相互作用ネットワークへの影響等が検討されたが、酵素分子設計につながる理論の構築には至っていない。講演者は、遷移状態アナログの設計や微小重力実験などを通じて酵素の可塑性を捉えようと努めてきた。本講演では、表面ループの変異体酵素の構造解析に基づいて、構造的可塑性が活性中心の水分子などに与える影響について考察する。

11:50~13:00 昼 食

午後の部（前半）13:00-14:50 司会：玉田太郎（QST）

13:00-13:50 イェロープロテインの構造と光反応

—巨大結晶化、中性子結晶構造解析、時間分解結晶構造解析
片岡 幹雄（CROSS）

イェロープロテイン（PYP）は、好塩性光合成細菌 *Halorhodospira halophila* から見出され

た光受容タンパク質であり、負の光走性の受容体と考えられている。情報伝達に関わるタンパク質に多く見られる PAS ドメイン、LOV ドメインのモデルタンパク質でもある。我々は PYP に関して総合的な研究を展開してきている。ここでは、中性子結晶構造解析のための巨大結晶化、中性子結晶構造解析による異常なプロトン化状態の発見および第三世代シンクロトロン放射光 (APS) を用いた 100 ピコ秒時間分解能の動的結晶構造解析の結果を紹介する。また、中性子結晶構造解析の可能性、有効性について議論する。

13:50-14:10 KEK・物構研・構造生物学研究センター紹介

千田俊哉 (KEK 物構研 SBRC)

高エネルギー加速器研究機構・物質構造科学研究所に設置されている構造生物学研究センターは、設置以来、放射光を使った結晶構造解析を最大の武器として、研究活動を行ってきた。現在は、結晶化から構造解析までの自動化を目指し、長波長 X 線を用いた Native SAD 法や全自動結晶化ロボット、データベースシステム、先進的な X 線小角散乱など、国際的にも特色ある技術を国内外の研究者に提供するとともに、独自の構造生物学研究も展開している。昨年度にはクライオ電子顕微鏡も導入し、研究の幅を広げつつある。講演では、これらの技術を概説するとともに、広範で強力な共同研究体制にも言及しながらセンターの現状を紹介する。

14:10-14:50 高エネ機構における膜タンパク質の構造解析に向けた取り組み

田辺 幹雄 (KEK 物構研 SBRC)

細胞は脂質二重膜によって細胞内と外界を厳密に隔てる事により、自らが制御できる領域を構築し生存を可能にしている。膜タンパク質は膜を挟んだ内外の物質輸送やシグナル伝達等の生命の維持に必須な活動において主要な役割を担い、生物学に留まらず創薬においても非常に重要な分子群である。構造をベースとした膜タンパク質研究は、これまでタンパク質自身の取り扱いの難しさから、水溶性タンパク質よりも遅れていたが、精製手法や安定化技術、また放射光施設等基盤施設の性能の向上により、近年飛躍的に進んできている。本会では高エネ機構での膜タンパク質の構造解析の取り組みと最近解析に成功した薬剤排出輸送体の構造も併せて報告したい。

14:50-15:05 休憩

午後の部 (後半) 15:05-17:00 司会 吉崎 泉 (JAXA)

15:05-15:55 立体構造解析により実現した細胞の GTP エネルギー検知機構の発見

竹内 恒 (産業技術総合研究所)

細胞内エネルギー物質の濃度を検知し、適切な応答を行うことは、細胞の生存において不可欠な機能である。我々は、ATP とは独立に細胞内に GTP 濃度を検知する機構が存在すると考えその探索を行い、構造生物学的と逆遺伝学的手法を組み合わせた“構造逆遺伝学”により、イノシトールリン脂質キナーゼ PI5P4K8 が細胞内 GTP エネルギーセンサーであることを証明した。さらに、PI5P4K8 の GTP センサー機能が、がんの増殖に必要であったことから、立体構造に基づく PI5P4K8 阻害剤の探索や、シグナル伝達機構の解明を目指している。

15:55-16:15 量子科学技術研究開発機構における研究紹介

玉田太郎 (QST 高崎量子応用研究所)

量子科学技術研究開発機構 (QST) は、日本原子力研究開発機構 (JAEA) の量子ビーム部門の一部および核融合部門と放射線医学総合研究所が統合し平成 28 年に発足した新しい研究機関である。JAEA が保有していた量子ビームプラットフォームを継承し、量子ビームを駆使した生命・物質科学研究を展開している。タンパク質の構造研究については、高崎量子応用研究所東海量子ビーム応用研究センターにおいて、2020 年に予定されている JRR-3 の再稼働に向けて保有する 2 台中性子回折計の高度化と、J-PARC への新たな中性子回折計の設置

をJ-PARCセンターと共同で取り組んでいる。同時に、従来の原子レベルから一步踏み込んだ量子レベルでの機能解明を目指し、複合量子ビーム利用(X線・中性子、回折・散乱、など)を積極的に推進している。

16:15-16:55 ヒト酸化ヌクレオチド加水分解酵素の構造学的研究

~水素原子レベルでの酵素反応機構の解明を目指して~

中村照也(熊本大学大学院先導機構)

ヒト酸化ヌクレオチド加水分解酵素は、幅広い基質特異性により酸化ヌクレオシド三リン酸を加水分解する活性を有しており、がん細胞の生存にも寄与するため、新規抗がん剤ターゲットとして注目されている。我々は、本酵素の高分解能X線構造解析を行い、基質結合部位の2つのアスパラギン酸残基のプロトネーション状態が基質に応じて変化するという幅広い基質特異性発現機構を提案した。本発表では、本酵素の基質特異性の構造学的基盤について報告する。さらに、提案した基質認識機構の実証と加水分解反応機構の解明を目的に進めている中性子構造解析、時分割X線構造解析による酵素反応過程の可視化の現状についても報告する。

16:55-17:00 閉会挨拶 千田俊哉(KEK)

交流会 : 17:30~19:30

近くの地ビールダイニング「ラ・カシエット」で交流会を開催します。参加費は3,000円です。施設側とユーザーのざっくばらんな意見の交換の場になります。是非ご参加ください。詳細は文末をご参照ください。参加希望者はできるだけ事前に登録してください。当日も受け付けます。会費は当日いただきます。なお、事前に登録されて当日キャンセルされた場合には会費を申し受けます。

<参加申込み先>

参加を希望される方は下記までお申し込みください。

申し込み: 茨城県中性子利用促進研究会 事務局 田中志保

E-mail: tanaka@ibaraki-neutrons.jp

(1)名前, (2)所属, (3)連絡先(電話番号, E-mail address)

(4)交流会への参加の有無(領収書を発行します)

をご記入の上、メールにてお申込みください。

<会場へのアクセス>

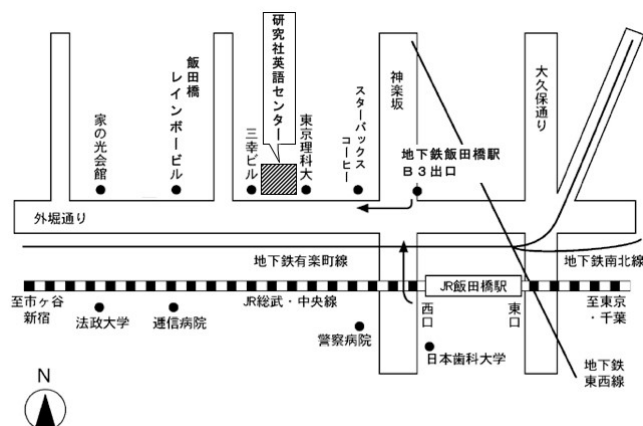
研究社英語センター

所在地：〒162-0825 東京都新宿区神楽坂 1-2

TEL：03-3269-4331

JR総武線飯田橋駅西口徒歩約5分

東京メトロ南北線・有楽町線飯田橋駅 B2a, B3 出口徒歩約 7 分



<交流会場のご案内>

会費：3,000 円

時間：17:30～19:30

会場：神楽坂 ラ・カシェット (<http://la-cachette.co.jp/>)

美味しい地ビールを楽しめるところです。

〒162-0825 東京都新宿区神楽坂 1-10 三経第 22 ビル 3F

TEL: 03-3513-0823

