



創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム
Basis for Supporting Innovative Drug Discovery and Life Science Research

日本農芸化学会 2024年度東京大会
分野融合連携シンポジウム **3A-J**
東京農業大学 世田谷キャンパス

先端技術支援で 加速する タンパク質科学研究

2024年3月26日(火) 9:30-12:00

概要

日本農芸化学会と日本蛋白質科学会による合同シンポジウム。タンパク質の研究において最先端技術の導入は不可欠であり、生命現象の探究においても農芸化学的観点の研究は重要な貢献をしてきた。BINDSの支援のもとで、両学会で得られた顕著な学術的成果について紹介する。

世話人

伏信 進矢 (東京大学大学院農学生命科学研究科)、吉田 彩子 (東京大学大学院農学生命科学研究科)

講演

- 井上 豪 (大阪大学大学院薬学研究科/BINDS Phase II PS) 「挨拶」
- 難波 啓一 (大阪大学大学院生命機能研究科・日本電子YOKOGUSHI協働研究所) 「生命科学・創薬を支えるクライオ電子顕微鏡構造解析の高速化」
- 吉田 彩子 (東京大学大学院農学生命科学研究科) 「Cryo-EM構造で明らかになった活性制御タンパク質によるCoA転移酵素の調節機構」
- 胡桃坂 仁志 (東京大学定量生命科学研究所) 「ゲノム機能制御装置としてのクロマチン構造とダイナミクス」
- 南後 恵理子 (東北大学多元物質科学研究所) 「X線自由電子レーザーによる時分割実験の現状と展望」
- 伏信 進矢 (東京大学大学院農学生命科学研究科) 「水素細菌由来複合体タンパク質のクライオ電子顕微鏡解析」

日本農芸化学会 2024年度東京大会 創立100周年記念 大会ホームページはこちら

<https://www.jsbba.or.jp/2024/>

お問い合わせ



国立研究開発法人 日本医療研究開発機構 創薬事業部 医薬品研究開発課
〒100-0004 東京都千代田区大手町 1-7-1 読売新聞ビル 22 階
TEL: 03-6870-2219 FAX: 03-6870-2244
E-mail: 20-DDLSG-16@amed.go.jp URL: <https://www.amed.go.jp/>

創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム

Basis for Supporting Innovative Drug Discovery and Life Science Research

binds.jp

or



■挨拶

3AJ-01 難波 啓一 大阪大学大学院生命機能研究科・日本電子 YOKOGUSHI 協働研究所

1980 年大阪大学大学院基礎工学研究科博士課程修了。米国 Brandeis 大学、Vanderbilt 大学博士研究員を経て 1986 年 JRDC ERATO 超分子系構造プロジェクトグループリーダー、1992 年松下電器国際研究所リサーチディレクター、2002 年大阪大学大学院生命機能研究科教授、2017 年より同特任教授

■生命科学・創薬を支えるクライオ電子顕微鏡構造解析の高速化

生体高分子の立体構造は生命科学のみならず医学・創薬に必須な基盤情報である。複雑な生体機能メカニズムを解明するには生体高分子の立体構造とその動態や分子間相互作用を様々な状態で可視化することが必須で、可視化すべき立体構造の数は数億にも上る。クライオ電子顕微鏡法は最近の技術進歩により構造生物学の基盤技術である X 線結晶解析法や NMR を補足する役割を超え、高分解能構造解析法として極めて強力なツールとなった。安定性と制御性の高い電子光学系、冷陰極電界放出型電子銃、エネルギーフィルター、高速・高感度の CMOS 型直接電子検出カメラ等を装備したクライオ電子顕微鏡や高速コンピューターと画像解析ソフトなどハード・ソフトの開発により、わずか数 μg の水溶液試料から立体構造を 2 日程度で決定することが可能になった。分子モデル構築に必要な原子レベル分解能の構造解析に要する数千枚の電子顕微鏡像の撮影に以前は数日を要したが、最近の技術進歩により数時間、場合によっては 1 時間以内に完了するまで高速化した。クライオ電子顕微鏡による生体高分子の立体構造解析法の最近の進歩と生命科学や創薬科学への今後の貢献について展望を述べる。

3AJ-02 吉田 彩子 東京大学大学院農学生命科学研究科 助教

2011 年東京大学大学院農学生命科学研究科博士課程修了、博士 (農学) 取得、東京大学生物生産工学研究センター特任助教、日本学術振興会特別研究員 (RPD) 等を経て、2020 年 10 月より現職

■Cryo-EM 構造で明らかになった活性制御タンパク質による CoA 転移酵素の調節機構

CoA transferase (CoAT) はアシル CoA と短鎖脂肪酸の変換に関わり、多くの生物種に広く分布している。高度好熱菌 *Thermus thermophilus* の CoAT はアセチル CoA から様々な短鎖脂肪酸への CoA 転移に関わる。我々はこれまでに CoAT が酵素活性を持たないアラニン脱水素酵素ホモログタンパク質 (ADLP) と相互作用し、ADLP と NAD⁺ の共存下で CoAT 活性が阻害されることを見出している。ADLP は NADH も結合するものの CoAT 活性には影響を与えないことから、ADLP が細胞内の NAD⁺/NADH 比を感知して CoAT 活性を調節する制御タンパク質として機能することが分かっている。しかしながら ADLP と NAD⁺ による CoAT 活性調節機構の構造基盤は明らかにできていなかった。本発表では AMED-BINDS の支援でクライオ電子顕微鏡法により決定した CoAT-ADLP 複合体の構造を報告する。NAD⁺ の存在下、非存在下における CoAT-ADLP 複合体構造の比較から、NAD⁺ の結合により ADLP と CoAT の結合が安定化されることが明らかとなり、ADLP と結合することで CoAT の活性中心付近の可動性が制限され活性が阻害されることが示唆された。

3AJ-03 胡桃坂 仁志 東京大学定置生命科学研究科 教授

1989 年東京薬科大学薬学部卒、1995 年埼玉大学大学院理工学研究科博士後期課程修了 博士 (学術)、1995 年米国 NIH 博士研究員、1997 年理化学研究所 研究員、2003 年早稲田大学理工学部 助教授・准教授、2008 年同大教授、2018 年より東京大学定置生命科学研究科 教授

■ゲノム機能制御装置としてのクロマチン構造とダイナミクス

真核生物では、ゲノムはクロマチン構造を形成して細胞核に収納されている。クロマチンの基盤構造はヌクレオソームで、4 種類のヒストン H2A、H2B、H3、H4 からなるヒストン 8 量体におよそ 150 塩基対の DNA が結合した構造体である。ヌクレオソームは、DNA 結合タンパク質群の DNA 結合に対して阻害的である。そのため、転写、複製、修復、組換えなどのゲノム DNA の機能発現の際には、DNA 結合タンパク質はヌクレオソーム構造の障壁を乗り越える必要がある。しかし、真核生物がゲノム機能発現の際に、どのようにヌクレオソームの阻害効果を乗り越えているのかに関しては、いまだ不明瞭である。我々はこの長い間の疑問に対して、生化学的およびクライオ電子顕微鏡を用いた構造生物学的アプローチによる解析方法を確立してきた。今回、我々の最新の研究結果を紹介し、ゲノム DNA が機能する際のヌクレオソームの構造変動の役割について議論したい。

3AJ-04 南後 恵理子 東北大学多元物質科学研究所 教授

東京工業大学理学部化学科卒、同大学院理工学研究科博士課程単位取得退学、日本学術振興会特別研究員 DC1 (2001-2003)、東京工業大学にて助教 (2004-2010)、理化学研究所で研究員などを経て (2010-2018)、京都大学助教及び特定准教授 (2019)、2020 年より東北大学多元物質科学研究所教授、2021 年より理化学研究所放射光科学研究所センターチームリーダー兼任

■X 線自由電子レーザーによる時分割実験の現状と展望

我々は、X 線自由電子レーザー (XFEL) を用いたタンパク質構造解析手法の一つであるシリアルフェムト秒結晶構造解析の技術開発に取り組んでいる。XFEL とポンププローブ法を組み合わせることにより、光励起性タンパク質が光により変化する様子を原子レベルで“動画”のように捉える時分割実験技術は既に確立され、多くのユーザー実験で利用されている。この手法はその時間分解能から、これまで原子分解能で追うことのできなかった化学反応などの早い反応の追跡に適している。また、上記の方法を更に応用し、最近では光非励起性タンパク質の動画解析も可能になってきている。その方法の一つとして、基質やリガンドのような低分子と微結晶を迅速にマイクロ流路内で混合する二液混合法があげられ、実際に酵素反応の過程を捉えることにも成功している。これらの時分割実験技術は、従来は得ることができなかったタンパク質の反応や構造変化を原子レベルで解明することにより、生命科学の深化に深く貢献すると期待される。本発表では、我々が取り組んできた時分割実験の技術開発とそれを用いた実際の解析例について紹介する。

3AJ-05 伏信 進矢 東京大学大学院農学生命科学研究科 教授

1996 年東京大学大学院農学生命科学研究科修士課程修了、1997 年同大学院助手、1999 年農学博士 (東京大学)、2006 年米国アイオワ州立大学 Visiting Scientist、2011 年同大学院准教授、2012 年より現職

■水素細菌由来複合体タンパク質のクライオ電子顕微鏡解析

Hydrogenophilus thermoluteolus TH-1 と *Hydrogenobacter thermophilus* TK-6 はいずれも好熱性の化学独立栄養性水素細菌であり、水素酸化を利用してエネルギー生産を行い、二酸化炭素固定により有機物を合成する。我々は水素細菌のシャペロニン GroELS と Rubisco-activase 複合体のクライオ電子顕微鏡解析を行った。大腸菌の GroELS では GroEL₁₄ の二重リングの片方に GroES₇ リングが結合した弾丸型複合体が優性種であることが知られているのに対し、TH-1 株の GroELS は大部分が 2 つの GroES リングが結合したフットボール型複合体であった。TK-6 株の GroELS は、AMP-PNP 存在下で測定を行ったところ、弾丸型、半フットボール型に加えて、これまでシャペロニンで観測されていなかった非対称フットボール型複合体が存在していた。非対称フットボール型複合体では片方の GroES₇ リングが GroEL₁₄ 二重リングよりやや離れており、GroEL のアピカルドメインが上に開くことによりシャペロニン内のチャンバーが広がっていた。この状態は GroES₇ リングが会合 / 解離する途中の段階を示していると考えられる。本講演では TH-1 株の Rubisco と、AAA+ ATPase (CbbQ) とアクセサリータンパク質 (CbbO) からなる再活性化因子 (CbbQO) との複合体のクライオ電子顕微鏡構造についても紹介する。