

(様式 2)

議事録番号

提出 2018 年 7 月 24 日

## 会合議事録

研究会名：第 9 回 放射光構造生物学研究会

日 時：平成 30 年 6 月 28 日 18:00 - 19:30

場 所：朱鷺メッセ 新潟コンベンションセンター C 会場（3 階中会議室）

出席者：(議事録記載者に下線)

計 33 名

田中良和（東北大），米倉功治（理研播磨），沼本修孝（東京医科歯科大），西澤知宏（東京大），栗栖源嗣（大阪大），山下恵太郎（東京大），熊坂崇（JASRI），竹下浩平（播磨理研），梅名泰史（岡山大），安井典久（岡山大），前川あゆ美（沖縄プロテイントモグラフィィー(株)），寿野良二（京都大），重松秀樹（理研播磨），中島啓介（沖縄科学技術大学院大学），山本旭麻（大阪大），杉本宏（理研播磨），河村高志（JASRI），野澤佳世（東京大），山本直樹（自治医科大），河合聡人（藤田保険衛生大），島田敦広（岐阜大），三瀬武史（沖縄プロテイントモグラフィィー(株)），米原涼（大阪大），柴田祐介（住友ゴム工業），溝端栄一（大阪大），大出真央（慶応大），伊藤進也（京産大），于龍江（岡山大），日野智也（鳥取大），Nipawan Nuemket（JASRI），佐藤優花里（東北大），仲村勇樹（JASRI），尾瀬豊之（北海道大）

議題：複合的アプローチによる結晶構造生物学の現状と今後

プログラム：

1. 開会挨拶：

2. 話題提供 1：

「プロトン駆動力変換チャンネル ExbBD の作動機構の解明 --- クライオ EM と放射光の相補的利用」

理化学研究所放射光科学研究センター 生体機構研究グループ

米倉功治 グループディレクター

3. 話題提供 2：

「X線結晶構造解析とクライオ電顕で明らかとなった酸素運搬蛋白質の立体構造」

東北大学生命科学研究科応用生命分子解析分野

田中良和 教授

4. 総合討論と動向調査

議事内容：

第9回放射光構造生物学研究会は、新潟の朱鷺メッセで開催された第18回日本蛋白質科学会年会の会期後に、同会場にて開催された。

近年、シンクロトロンにおけるマイクロフォーカスビームラインなどの発展に伴い、結晶構造解析技術は大きな進展を見せており、膜タンパク質や超分子複合体などの高難易度な研究ターゲットに関する多くの知見が得られるようになってきている。一方で、構造生物学として生物学の本質に迫るためには、結晶構造解析と組み合わせて、動的構造解析を指向した自由電子レーザーによる時分割結晶構造解析、分光学や機能解析を組合せた相関構造解析など、単に静的原子構造からの議論にとどまらない研究が盛んに進められている。今回の研究会では、近年、特に進展が目覚ましい技術であるクライオ電子顕微鏡(クライオEM)を、結晶構造解析と組み合わせることで、分子の本質に迫る研究を行っている2名の演者に話題提供していただき、最新の研究成果について知見を深めると同時に、今後の構造生物学についての動向調査として議論を行った。

最初の演者の理化学研究所の米倉功治グループディレクターからは、クライオEMと放射光の相補的利用について発表された。講演では、細菌の栄養素の輸送におけるプロトン駆動力を供給する、プロトン駆動力変換チャネル ExbBD 複合体を、放射光とクライオEMを組み合わせで明らかにした構造が紹介された。最初に、これまでのクライオEMの発展の概要の説明があり、ExbBDは分子量が大きくない膜蛋白質のために従来はクライオEMによる単粒子解析の適用が難しかったが、ブレイクスルーとなった電子直接検出カメラの登場により解像度が劇的に改善した経緯が説明された。クライオEMで得られた構造から、結晶構造だけでは分かり得なかった成果として、この膜蛋白質がダイナミックに形態を変える活性化機構を持つことが説明された。その後、具体的なクライオEMにおける構造解析手法の工夫に加えて、薄い三次元の結晶の電子線回折から荷電状態を解析する新しい手法、高分解能単粒子解析と電子線三次元結晶構造解析の両者に適するようデザインした新型クライオ電子顕微鏡システムなど、クライオEMの今後についても発表された。質疑応答では、電子線三次元結晶構造解析

の問題と将来の可能性について質問があり、回折斑点に対する位相決定が難しいことや、測定精度や完全性に技術的な課題が残っており、これから改善すべき問題について説明があった。

次に、東北大学の田中良和教授は、X線結晶構造解析とクライオ電顕で明らかとなった酸素運搬蛋白質のスルメイカの酸素運搬蛋白質ヘモシアニンの構造解析について講演された。ヘモシアニンは、分子量約 380 kDa のサブユニットが 10 個会合した、総分子量 3.8 MDa の超巨大な円筒状の蛋白質会合体として知られている。各サブユニットには、約 50 kDa の配列の類似した機能ドメインが 8 個繰り返して存在しており、そのうち 6 つが円筒の外壁領域を、残りの 2 つが内部ドメインを形成している。田中氏らは、2015 年にスルメイカヘモシアニンの結晶構造を決定し、D5 の対称性を持つ外壁領域と、C5 の対称性で配置した 5 つの内部ドメインから構成されると報告した。しかし、内部ドメインの電子密度は不鮮明であった。その後、正確な内部構造を明らかにするために、クライオ EM を用いて構造解析を行い、結晶構造では分かり得ない内部構造を明らかにした。クライオ EM の構造から、スルメイカヘモシアニンは、対称性を持つ分子で構成される外壁領域と非対称性に配置した分子の内部ドメインが混在していることが明らかになった。X線結晶構造解析が難しい非対称な構造に対する、クライオ EM の有用性を示す研究例として紹介された。その後の質疑応答においては、5 回軸の対称操作を行う外壁構造と内部ドメインを切り分けた構造解析を具体的に示され、クライオ EM の構造精密化におけるテクニカルな側面について注目が集まった。

公演後の総合討論において、研究会の発起人の一人である東京大学の西澤氏から、将来における放射光と電子顕微鏡それぞれの共用利用のあり方について議題提供が行われた。演者の米倉氏からは、国家プロジェクトとなる大規模な放射光と比べて、電子顕微鏡は拠点ごとへの導入が比較的容易であるので、それぞれが独自に運用されるであろうと述べられた。しかし現状は、まだ装置自体が少ないことから、クライオ EM 全体としての方向性は定まっていないとも述べられた。一方、参加者から、電子顕微鏡へのアクセスが限られている問題が指摘された。また、参加者への口頭でのアンケートでは、電子顕微鏡の潜在的な利用希望者が多いことが明らかになった。JASRI の熊坂氏からは、共用化の歴史がまだ浅いことから、现阶段は問題提起をするスタートアップのレベルであり、しばらくは共同研究ベースの利用になるのではないかと述べられた。また、共用利用の歴史が長い放射光と調和した関係が形成される事で、アクセスをしやすい研究基盤としての電子顕微鏡になる可能性も述べられた。参加者への別のアンケート

トでは、クライオ EM の利用を将来的に希望するユーザーでも、放射光結晶構造解析を完全に手放すのではなく、あくまで相補的な利用に留まることが明らかになった。演者の米倉氏からもクライオ EM には得手不得手があることや、現状の利用環境の視点かから理解を示された。一方、米倉氏からは、新しい研究としての微小結晶を使った電子線結晶構造解析の可能性を述べられ、まだ装置の制限や測定手法の課題などが残されているが、放射光構造生物学との調和を想像させる話題として紹介され、本研究会の総合討論が締め括られた。