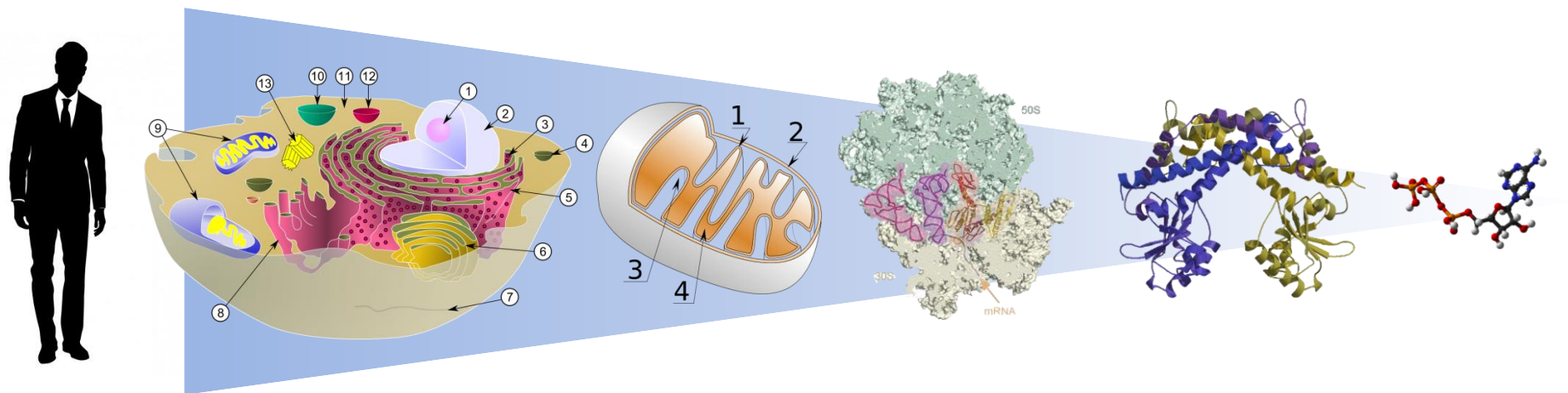


【生命科学】

【東大薬 清水敏之】

分子レベルから個体レベルまで ~あらゆる段階の可視化~



個体 (器官)
(1 m)

細胞
(10 μm)

オルガネラ
(1 μm)

超分子複合体
(100 nm)

蛋白質
(10 nm)

小分子
(1 nm)

イメージング

放射線生物

タンパク質結晶解析

BioSAXS

タンパク質結晶解析

～複雑系・困難系への挑戦～

超分子巨大複合体
膜タンパク質

～静的構造から動的構造へ～

酵素反応の可視化

～より速く ハイスループット化～

医学創薬研究

放射線生物

～放射線ストレスの影響を可視化～

医学への応用

～骨組織をはじめ各種組織、
臓器の細密な構造～

タンパク質結晶構造解析 — 背景 —

タンパク質構造を明らかにし、
生体分子に関わる
社会問題に挑戦できる基盤

干ばつ
高齢化



農業

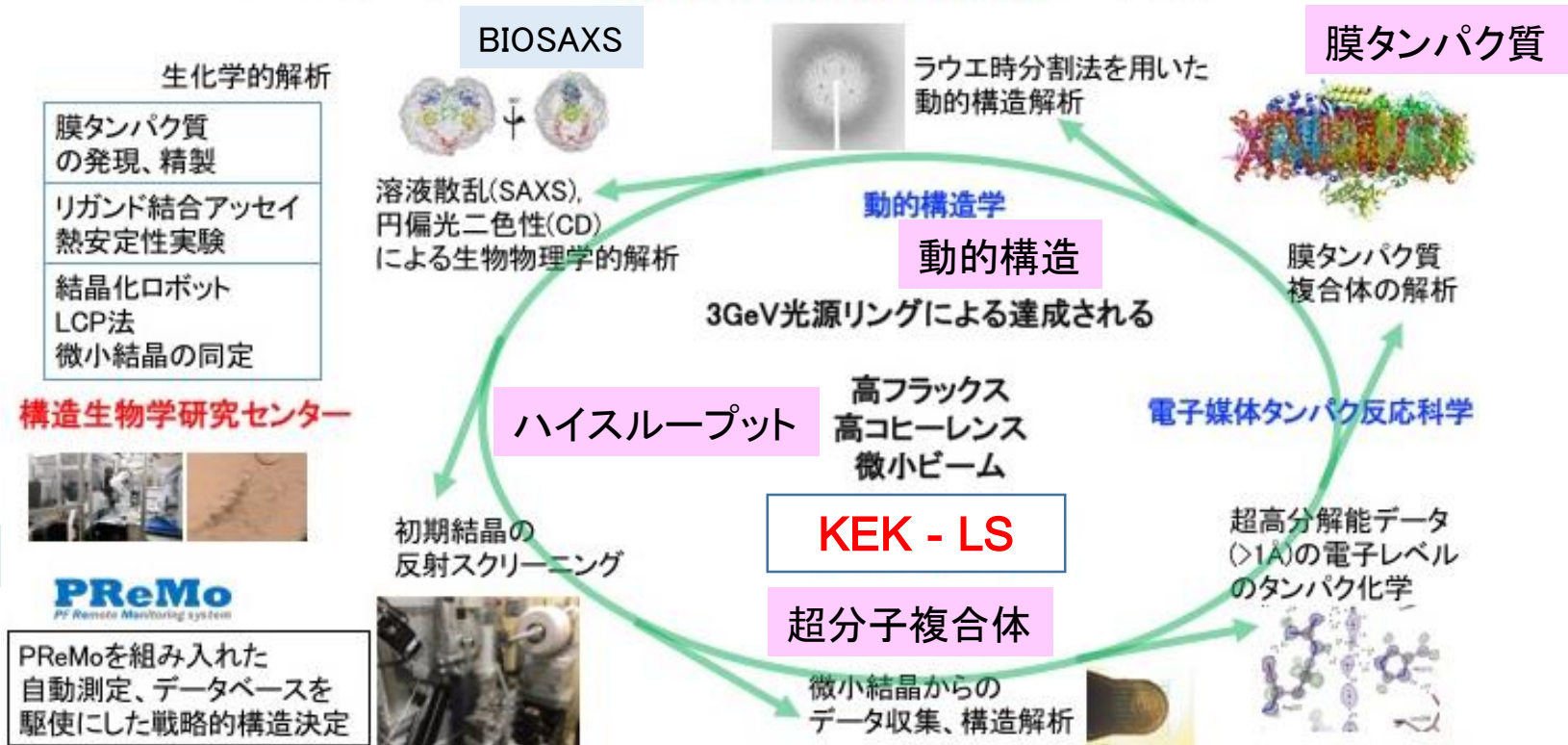


創薬



安全

3GeVリングを基軸とした“生体分子構造解析施設”の実現へ



PReMo
PF Remote Monitoring system

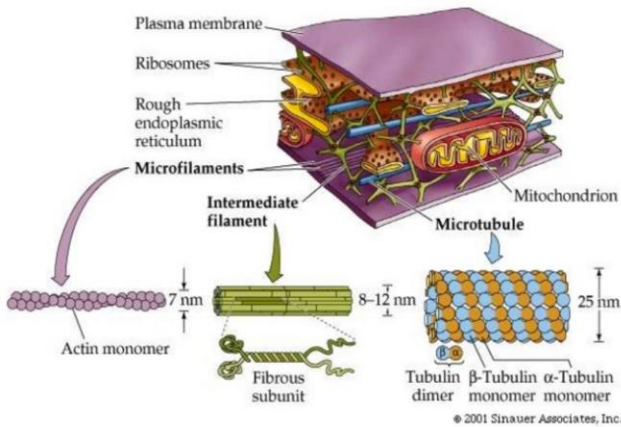
PReMoを組み入れた
自動測定、データベースを
駆使にした戦略的構造決定

超分子巨大複合体の立体構造解析

生体内のタンパク質は異なる機能を持つ分子が集まり、超分子複合体を形成することで、互いの機能を制御している。生体内での姿である超分子複合体として解析することがきわめて重要である。

ターゲットとする生命現象

細胞骨格 & 輸送



転写 & 複製・修復

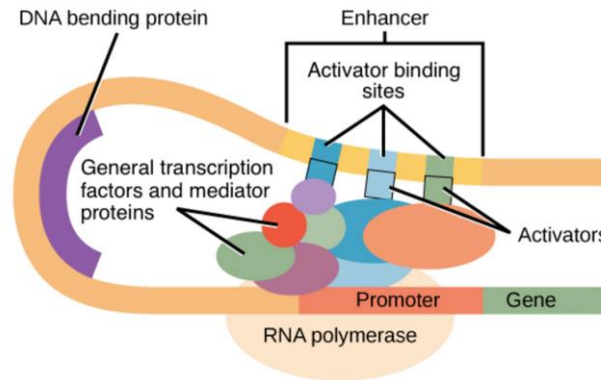
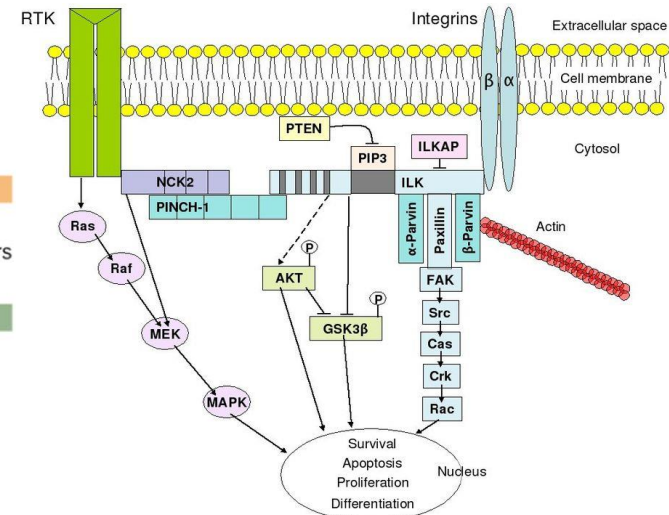


Image modified from "Eukaryotic Transcription Gene Regulation: Figure 1" by OpenStax College, Biology (CC BY 3.0).

シグナル伝達



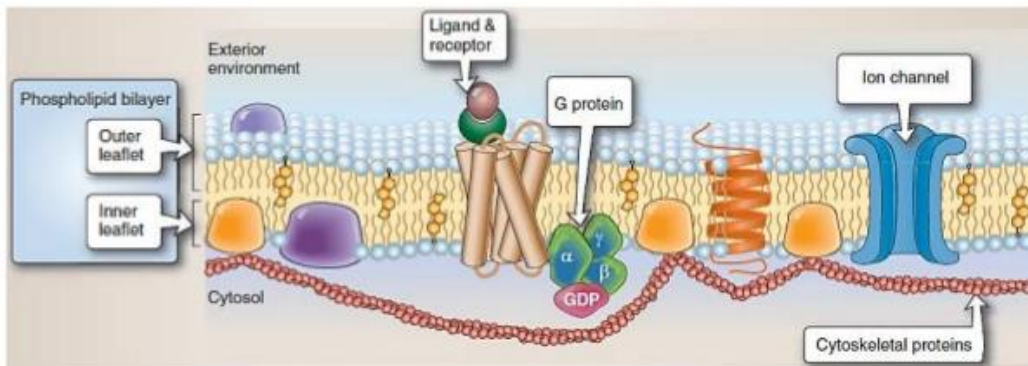
問題点

- ・ 結晶化に必要な量と質の精製標品を確保するのが難しい。
- ・ サブユニットの構成が不均一になりやすい。
- ・ 形状が不均一になりやすい。
- ・ 結晶が大きく成長しない。

必要性
高輝度マイクロビーム
他手法との相関構造解析

膜タンパク質の立体構造解析

ヒト遺伝子の20-30%の膜タンパク質 (5000-6000に相当)



物質輸送、シグナル伝達に必須なタンパク群

問題点

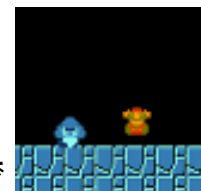
なぜ膜タンパク質の構造解析はむずかしいのか？

1. タンパク発現・精製

大量発現しない
精製が難しい
(膜を可溶化して取り出す際に失活する)

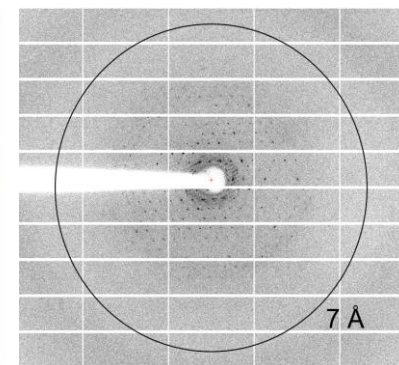
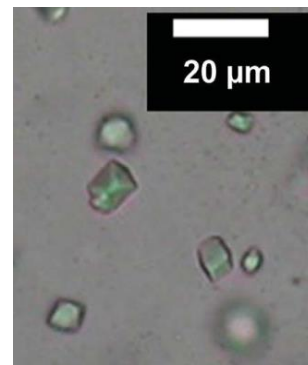


なんとか
クリアー



でも次の
ステージで

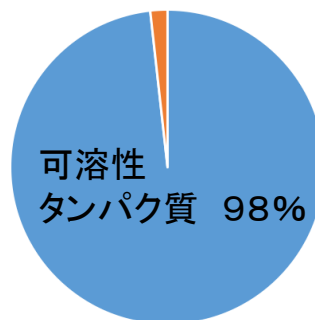
2. 結晶化



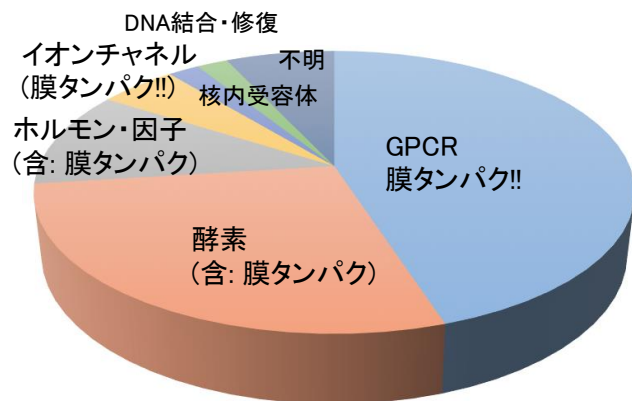
結晶が小さい。

反射が弱い。

膜タンパク質 2%



構造既知全タンパク質



50%以上の薬剤標的は膜タンパク

ヒト膜タンパク質はまだ約80個!!

超分子巨大複合体・膜タンパク質の立体構造解析に必要なされる ビームライン・実験設備

現状

ビームサイズ:
 $10 \mu\text{m} \times 15 \mu\text{m}$,



強度:
 $\sim 1 \times 10^{10}$ photon/sec

1. 微小で高輝度なビーム

- ビームサイズ: $0.5 \mu\text{m} \times 0.5 \mu\text{m}$ 程度,
- 強度: 10^{12} photon/sec

1,000 ~ 10,000倍の輝度!!!



微小結晶からのデータ収集



結晶化プレート
からのスクリーニング

2. 結晶化からデータ測定までのAll-in-oneの測定システム

- 自動微量結晶化ロボット
- 結晶回折実験 - データ処理を結びつける処理システムとデータベース
- 超低エネルギービームライン(4.6 keV) 天然タンパク質に含まれる硫黄原子を用いた SAD に用いる)
- BioSAXS 用ビームライン

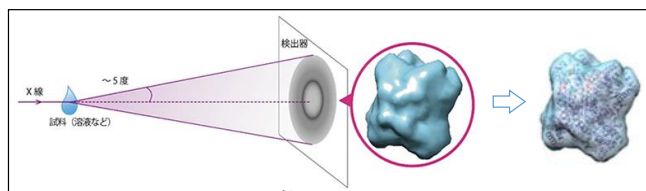
2. 結晶化からデータ測定までのAll-in-oneの測定システム

大量培養と精製



生化学・生物物理
手法を活用し、
構造解析可能な
超分子複合体の
サンプル調製

BioSAXS



溶液状態での品質確認
(DLS、SEC-MALS、DSF)

結晶化

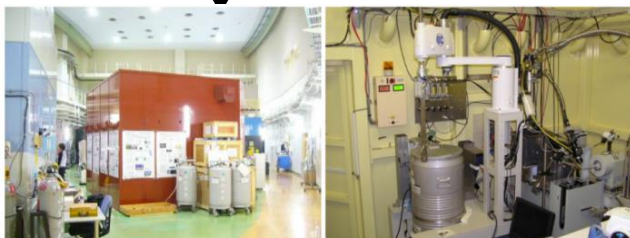


単粒子解析

Cryo-EM

PX

高輝度マイクロビーム
シリアル測定対応



原子レベル動的立体構造解析を基盤とした 酵素反応機構の解明

[背景]

酵素の反応機構を理解することは、生命の神秘を解き明かすとともに、合成化学の新しい方法論の提唱、人工触媒の設計、創薬やバイオマス発電などへの貢献が期待できる。

[現状・問題点]

多種多様な酵素それぞれの反応機構の詳細な解明には、

1. 水素原子を視覚化できる構造解析
2. 反応中間体の構造解析あるいは動的な構造解析(構造変化の可視化)
3. 酵素の反応進行状態を把握するため分光測定などと組み合わせた構造解析

が必要だが、

現存のKEKの装置では不十分である。

顕微分光装置がない。

より高輝度なビームが必要。

[要望]

1. 高輝度微小ビーム

現状:ビームサイズ 最細 10 μm (@BL-1A)

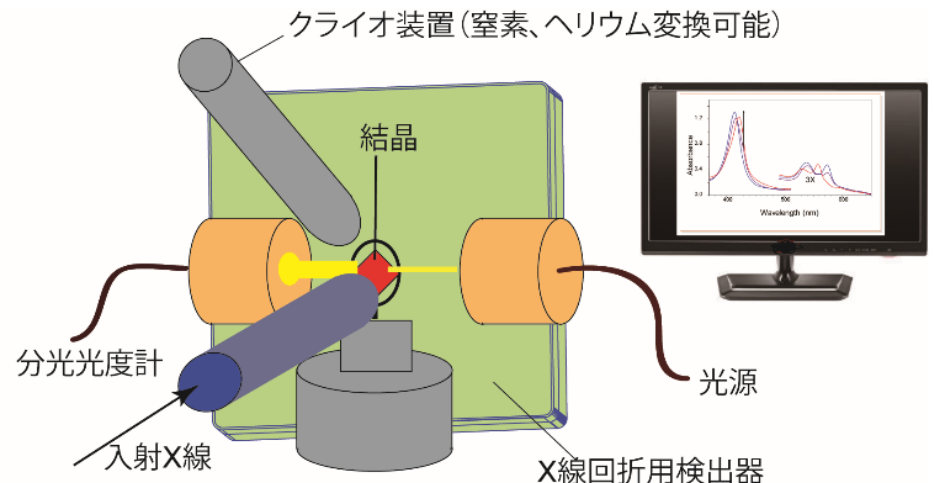
強度 10^{10} ph/sec

提案:ビームサイズ 1-100 μm

強度 10^{12} ph/sec以上 (12.4keV付近)

2. 新規設置装置

- ・オンライン分光光度計
(紫外可視、ラマン、赤外、X線吸収)
- ・極小のビームストッパー
- ・無損傷常温測定用試料ステージ
- ・パルス性白色X線(ラウエ回折実験時のみ)
- ・パルス性レーザー光装置



医学創薬研究のための生体高分子の構造学的基盤研究

背景

- ・多数の化合物とターゲットタンパク質複合体分子の結晶構造解析が必要



現状・問題点

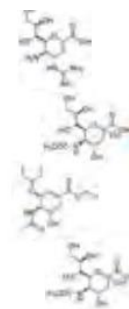
- ・熟練ユーザーでも十分なスループットが出せない。(1日あたり100データ)
- ・ユーザーの熟練度でスループットに差が出る
- ・12.4keV付近, 10^{10} ph/sec程度の強度、サイズ(10 μ m程度)



求めるもの

- ・1日あたり1000データのデータ収集/処理が可能なシステム
- ・人手の介在しない自動データ測定
- ・12.4keV付近, 10^{12} ph/sec以上の強度、サイズ可変(1-100 μ m)
- ・*in situ*測定
- ・結晶化支援システム

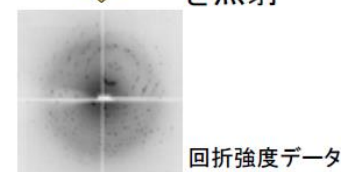
多数の
化合物



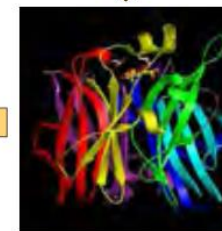
結晶



結晶にX線を照射



回折強度データ



立体構造

立体構造
に基づいた
創薬



切れ目のないビームタイム

現状

- ・年間1/3しか施設が稼働していない
 - 休止期間中はデータが撮れないため、結晶構造を基に発展させる研究全体が遅延する。
- ・ビームタイムスケジュールが数ヶ月前に決定する
 - 研究全体の進捗を踏まえた、フレキシブルなデータ測定が出来ない



分野としての理想

- ・結晶が得られたら、数日以内にX線照射実験を行いたい。
頂けるビームタイムは数時間で良い。



要望

- ・シンクロトロン放射光施設は、休止期間なく、稼働していて欲しい
- ・要望したらすぐにビームタイムが欲しい (数ヶ月前に決定するのは困る)