

医学科・生命科学科 1 年生ウォーミングアッププログラム開催通知 記入様式

分野等名	生体防御医学研究所 構造生物学分野	電話番号	092-642-6968/6833
担当者名	神田大輔（こうだだいすけ）	メールアドレス	kohda@bioreg.kyushu-u.ac.jp

**【タイトル】**

生体防御医学研究所・構造生物学分野の研究室訪問

**【概要・趣旨】**

構造生物学とは「タンパク質などの生体高分子の立体構造決定をX線結晶解析法、NMR法、クライオ電子顕微鏡を用いて行い、得られた立体構造から分子機能を解明する」研究分野です。生体機能素子としてのタンパク質分子の多彩な機能がどのように発揮されるのかを知りたい人は、ぜひ原子分解能で研究することを勧めます。研究室、実験室、大型研究機器（結晶化スクリーニングロボット、NMR分光計、クライオ電子顕微鏡）の見学、および、当研究室で行われている研究の概略を、生命科学科出身の先輩大学院生がわかりやすく説明します。

**【開催日時】**

平日（金曜日を除く）の18：00以降。ただし、他の時間帯および土曜日開催希望の場合は相談して下さい。日曜日と祝日は原則として開催しません。

**【開催場所】**

病院地区 総合研究棟 7階 構造生物学研究室スタッフルーム

**【対象】**

生命科学科 1 年生

**【受入可能人数】**

1 人～4 人

**【問合せ・参加申込先】**

生体防御医学研究所，構造生物学分野

田口裕也（たぐち ゆうや） 学術研究員，生命科学科出身

y-taguchi@bioreg.kyushu-u.ac.jp, 092-642-6833

または，

川崎由貴（かわさき ゆき） システム生命科学府博士（5 年一貫制）5 年，生命科学科出身

y-kawasaki@bioreg.kyushu-u.ac.jp, 092-642-6833

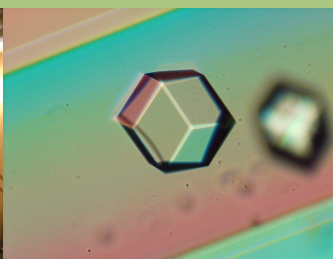
**【備考・関係ホームページ】**

<http://vsb.bmr.kyushu-u.ac.jp/VSB/index.html>

**【添付 PDF】**

生医研構造生物学分野研究室紹介 2018 (4 ページ)

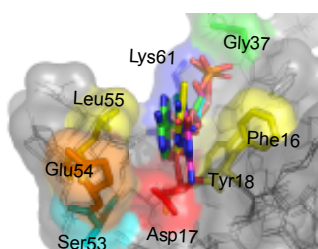
# 構造生物学分野



九州大学・馬出病院キャンパス・生体防御医学研究所

## 生体高分子（蛋白質，核酸，脂質膜，糖鎖）の分子機能の構造基盤を解明

X線結晶解析法，核磁気共鳴法，クライオ電子顕微鏡を用いて生体高分子の構造と機能を解析する。生体高分子は一定の立体構造を持つことで機能を発揮するので，立体構造決定を行うことは生体高分子の機能を説明，予測，設計することを可能にする。生体高分子とリガンドの相互作用の詳細を多様な物理化学的手法を用いて総合的に調べる。単なる立体構造決定を超えた斬新な構造生物学研究を目指す。



私たちの研究室では生体高分子（多くは蛋白質）の立体構造を原子レベルの精度で決定し，それをもとに構造と機能の関

連を明らかにすることを目標としています。日本全国に構造解析を標榜する研究室は多数あります。私たちの研究室は其中で特色ある研究を展開します。1) X線結晶解析法と核磁気共鳴（NMR）法の2つの手法の融合を目指します。クライオ電子顕微鏡による単粒子解析の手法を導入します。2) 複合体の立体構造解析や多様な相互作用解析法を駆使して，分子認識の詳細な構造的基盤を解明します。3) 構造を起点に新しい生物学の分野を切り開くことで，次世代の構造生物学研究を開拓します。4) 構造に基づいた創薬研究を支援します。

構造生物学研究はいまや総合力です。自ら試料を調製しデータ測定と解析，そして機能の解析を行います。研究効率を考えれば，分担制にすればよいでしょう。しかし，一人の人間が最初から最後まで担当することで，生化学，細胞生物学，結晶学，NMR分光法，クライオ電子顕微鏡，バイオインフォマティクス等のスキルや知識が会得できます。1つの蛋白質の構

造決定には時間がかかる地道なプロセスです。対象に愛着を持つことで，単なる立体構造決定（これは研究ではなく技術です）に終わらせずに，得られた構造をもとに生化学，分子生物学，細胞生物学研究を展開することができたら本物です。

### 研究環境

構造生物学研究には大型研究設備が必要です。核磁気共鳴装置（ページトップ，左側から2番目），X線結晶回折装置（ページトップ，一番右側），クライオ電子顕微鏡（右下図），結晶化ロボット（左下図），ITC熱量計，円二色性CD装置，LC-MSMS装置などがあります。また，蛋白質大量調製のために大型シェーカー，遠心機，AKTA，HPLC，UPLC装置を使用します。こうした装置を身近に利用して，背景にある原理や理論を学ぶことを勧めます。



Bruker社製核磁気共鳴装置は蛋白質専用のクライオプローブを装備しています。放射光施設であるSPring-8（兵庫県播磨，下図）やPhotonFactory（茨城県つくば）に出張して，月1回程度，結晶回折測定を行います。また，共同研究として，X線溶液小角散乱測定や高速AFM（原子間力顕微鏡）測定を行っています。



## 研究室

研究室は九州大学馬出病院キャンパスの総合研究棟の7階にあります。過去の大学院生（入学および編入）は九州大学薬学部・農学部・工学部・理学部・医学部・21世紀プログラム，静岡大学，福岡女子大学，立命館大学，宮崎大学，大阪大学，吉林大学（中国），久留米工業高等専門学校，福岡大学です。



九州大学医学部生命科学科の卒業研究生を受け入れています。

教育組織としてシステム生命科学府に属すと同時に研究組織として，生体防御医学研究所に属しています。

## あなたに求めること

研究室のカラーはそれぞれです。私たちは「楽しんで研究」します。でも決して「楽しんで研究」するものではありません。現在，いろいろなジャーナルにきれいな立体構造があふれていますが，論文を書くことは簡単なことではありません。手を動かして実験をすること，機器測定すること，プログラミングをすることがとにかく好きだと思っているあなたが一番です。注意や興味が研究にいつも集中していることを求めます。

研究室には多様性が最も重要です。あなたが数学や物理が不得意でも，コンピュータ音痴でも構いません。反対に生物学を知らなくても大丈夫です。構造生物学は幅広い分野をカバーしているのであなたの興味や適性にあてはまるテーマが必ず見つかります。

生体高分子には階層構造があります。



単量体のユニットが鎖状につながったのが生体高分子です。これが局所的な構造，3次元的な構造，それが複数組み合わせられたサブユニット構造を持つことが，生体高分子が機能を発揮するのに必須です。

生体高分子の立体構造を決定するための3つの方法

X線結晶解析，核磁気共鳴法，そして電子顕微鏡です。大型の装置と専用のプログラムを駆使します。



# 研究紹介

こうだ だいすけ  
神田 大輔 (教授)

蛋白質は他の蛋白質や低分子を識別して結合します。その中でも結合が弱く特異性が広い相互作用は研究手法が限定されています。X線結晶解析, 核磁気共鳴法, 電子顕微鏡, その他の多様な物理化学的手法を駆使して, このような「ゆるい相互作用」を研究します。ゆるい相互作用には生物学の基本現象が多くあります。相互作用の標的として, ミトコンドリアのシグナル配列, N型糖鎖合成前駆体などを認識する蛋白質を扱います。分子認識機構の研究は, 生物現象の基本に関わるだけに教科書に載るような重要性があります

キーワード: 蛋白質細胞内輸送, ドメイン構造, 超分子複合体, ゆるい相互作用



## 日本語研究解説:

ミトコンドリア行きシグナルを識別するためのソフトな分子認識 生化学 第80巻第10号 (2008); 共有結合を用いた平衡シフトによる過渡的タンパク質複合体からの構造情報の取得 生化学 第83巻 第10号 (2011); N型糖鎖生合成の主役: オリゴ糖転移酵素の構造生物学 実験医学増刊号 第31巻 第10号 (2013); N型糖鎖修飾におけるアスパラギン側鎖アミド基の活性化機構の構造基盤 生物物理 第54巻 第3号 (2014)

## 日本語一般解説:

第3章 構造生物学の意義と役割, 分子生物学 (柳田, 西田, 野田編, 東京化学同人 第2版, 2009); いきなり始める構造生物学, 学研メディカル秀潤社 (2011); 生化学の論理: 物理化学の視点から, 共立出版 (2018)

英語論文: Cell 72, 953 (1993); Cell 86, 767 (1996); Cell 100, 551 (2000); Nat Struct Biol 8, 526 (2001); EMBO J. 21, 4268 (2002); J Mol Biol 328, 495 (2003); EMBO J 26, 2584-2593 (2007); EMBO J 26, 4777-4787 (2007); EMBO J 27, 234-243 (2008); JBC 285, 4941-4950 (2010); JBC 286, 13255-13260 (2011); Biochemistry 50, 5487-5496 (2011); Structure 21, 32-41 (2013); PNAS 110, 17868-17873 (2013); Carbohydr Res 387: 30-36 (2014); Protein Sci 25: 754-768 (2016); JBC 291:11042-11054 (2016); Biochemistry 56: 602-611 (2017); Glycobiology 27, 701-712 (2017); Commun Biol 1:150 (2018)

## 研究例 1

ミトコンドリアへ輸送される蛋白質には, N末端にプレ配列と呼ばれる余分な配列が存在します。プレ配列には目印となる情報が含まれていて, ミトコンドリア表面に存在するTom20と呼ばれる蛋白質がこれを認識します。Tom20とプレ配列の複合体のNMR構造を決定しました (図1)。これは, シグナル配列を認識するタンパク質としては初めての構造決定例となり, 現在, 4冊の英語教科書に引用されています (図2)。一連の成果をレビューにまとめました (Biophys Rev, doi: 10.1007/s12551-017-0365-4)。

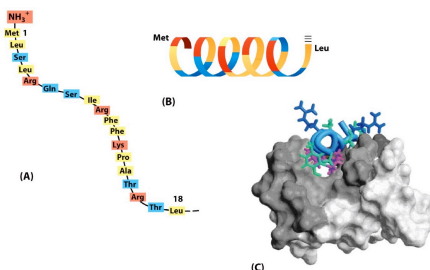


図1 ミトコンドリア行きを指定するアミノ酸配列は, Tom20と呼ばれるタンパク質によってらせん構造 ( $\alpha$ ヘリックス) として認識されることを明らかにしました。NMR構造は(c)です。この図はMolecular Biology of the Cell, 2008, 5版, p714に掲載されています。

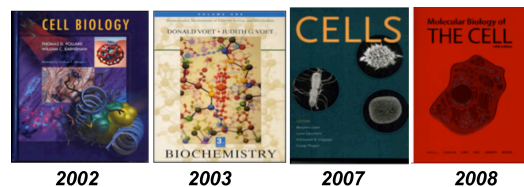


図2 ミトコンドリアへの輸送シグナルを認識するTom20蛋白質の絵が英語教科書 (4冊) に採用されています。

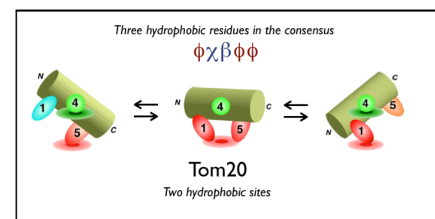


図3 Tom20のMultiple-mode recognition model. プレ配列 (円筒で表す) の3つの疎水性残基はTom20の2つの疎水性部位で認識されている。数の不一致は分子フラストレーションを生じ, そのためプレ配列は複数の状態の速い動的平衡にある。これがTom20の広い特異性を持つためのメカニズムであることを提唱している (Biophys Rev 10, 421-433, 2018)。

その後の結晶解析とNMR動的解析によって、Tom20はプレ配列を「複数の結合様式の動的平衡」で認識しているモデルを提案しました(図3)。現在は蛋白質結晶中に「結晶コンタクト効果がない空間」を創ることでこの仮説を証明しようとしています(Protein Sci 25: 754-768, 2016)。

## 研究例 2

タンパク質の翻訳後修飾のなかでアスパラギン結合型糖鎖修飾は最も重要な修飾です。オリゴ糖転移酵素 (OST) はタンパク質中のAsn-X-Thr/Serというコンセンサス配列のアスパラギン残基に糖鎖を転移します。その生物学的重要性にもかかわらず、構造生物学研究は意外にも行われて来ませんでした。それはタンパク質の調製が大変困難なためです。私達は好熱性古細菌由来のOSTを用いることで、構造生物学研究を展開しています。ArchaeoglobusのOST酵素全長を活性のある状態で大腸菌の膜画分に発現し、精製後、結晶を得て、立体構造を決定しました(図4)(PNAS 110, 17868-17873, 2013)。膜タンパク質は扱いが困難ですが、現在の構造生物学のホットなターゲットとなっています。

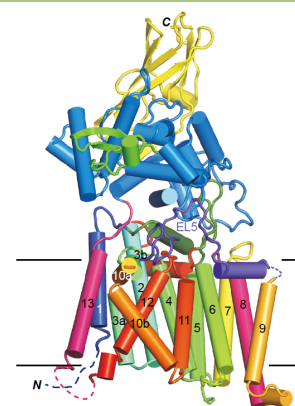


図4 古細菌OST酵素の結晶構造  
13本の膜貫通ヘリックスをもつ。

しまだ あつし  
嶋田 睦 (准教授)

エンドサイトーシスや細胞遊走などの生命現象は、細胞膜の変形や細胞骨格の再編成を伴うダイナミックな生命現象で、外界からの刺激を細胞の対応する形態変化につなげるシグナル伝達経路によって制御されています。シグナル伝達経路の構成タンパク質には、脂質膜を変形するタンパク質などが含まれています。X線結晶構造解析や生化学的手法を用いて、シグナル伝達経路の構成タンパク質の原子分解能レベルでの構造と機能を解明することで、真核細胞の活動を支えるこれらの生命現象の巧妙な仕組みの解明を目指して研究を進めています。

英語論文: Sci Rep 6:19565 (2016)

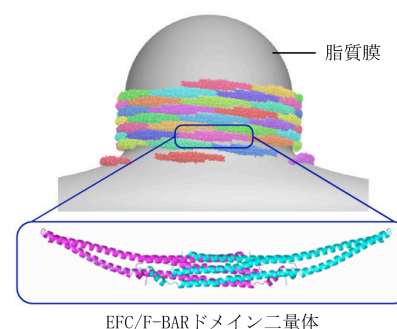


図5 エンドサイトーシスにおける細胞膜陥入を担う、EFC/F-BARドメイン二量体による脂質膜変形機構

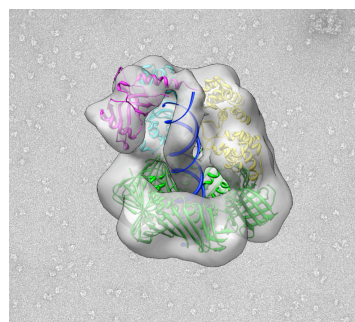


図6 単粒子解析によるDNAリガーゼ-PCNA-DNA複合体の構造。背景は解析に用いた電子顕微鏡像

まやなぎ こうた  
真柳 浩太 (助教)

電子顕微鏡による単粒子解析法では、試料の結晶化等を必要とせず、X線やNMRでは解析困難な超分子複合体を生理的条件下で立体構造解析できます。DNAの複製、修復、組換え等に働く超分子複合体を中心に解析を進めています。これらの複合体を構成する因子は、個々の結晶構造やNMR構造が明らかになっていても、機能構造であるDNAとの共結晶が得にくく、また複合体中では全く異なる形態をとるものも多く、単粒子解析の良いターゲットです。

英語論文: Sci Rep 8:16209 (2018)

九州大学大学院システム生命科学府  
生命医科学講座・構造生命科学

九州大学生体防御医学研究所  
分子機能制御学部門・構造生物学分野

〒812-8582 福岡市馬出3-1-1  
Tel 092(642)6968, 6833  
Fax 092(642)6833

<http://www.bioreg.kyushu-u.ac.jp/vsb/>  
<http://www.sls.kyushu-u.ac.jp>  
mail: kohda@bioreg.kyushu-u.ac.jp