

構造ダイナミクス

「原子から化学の目で生命を理解する」

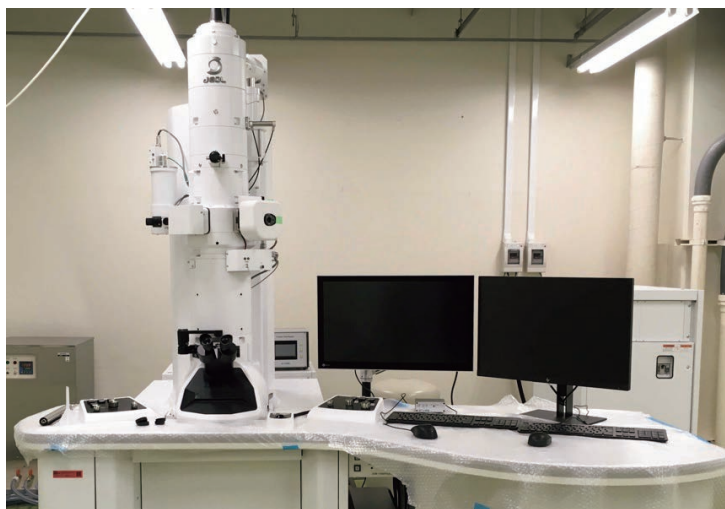
生命は、タンパク質や DNA、RNA、脂質、ホルモンなど様々な分子から構成されています。タンパク質は、基本的にはわずか 20 種類のアミノ酸から構成されており、化学者にはまねのできない温和な条件で巧みな化学反応を行う酵素を作ります。この仕組みを理解するためには、生体分子の構造を原子の座標として理解することが必須になります。そうして初めて電子の状態から生命の仕組みを理解することができるようになります。また、生体分子の構造を明らかにすることで、薬の開発に役立てることが出来ます。このような背景をもとに病気の原因となる、分子、ウイルス等の構造をクライオ電子顕微鏡、X 線結晶構造解析を行っています。

Living organisms are made up of such components as proteins, DNA, RNA, lipids, and hormones. Although proteins are essentially made from a maximum of only 20 amino acids, they form various kinds of enzymes that can catalyze a variety of chemical reactions under very subtle conditions that cannot always be imitated by chemists. To understand the functions of proteins, it is essential to determine their atomic coordinates. Once we know these coordinates we can understand and explain the mechanisms of proteins—their electronic states—from a chemist's perspective. Moreover, the structures of biological molecules are useful for drug discovery through the process of structure-based drug design (SBDD). From this perspective, we have been studying disease-causing molecules—including viruses—by using cryo-EM and x-ray crystallography.

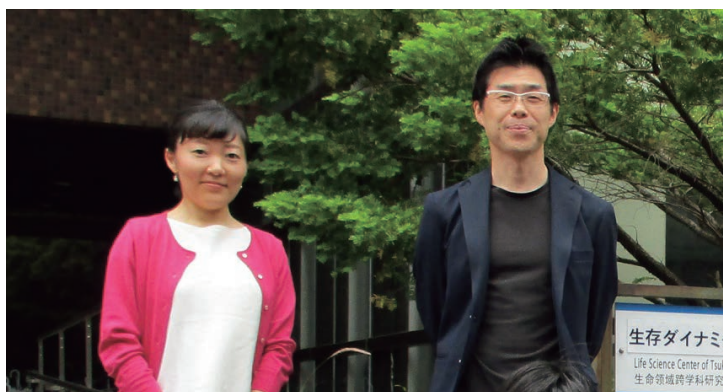
プロジェクトメンバー

教授
岩崎 憲治

秘書
宮本 真実



2018 年度導入された透過型電子顕微鏡システム



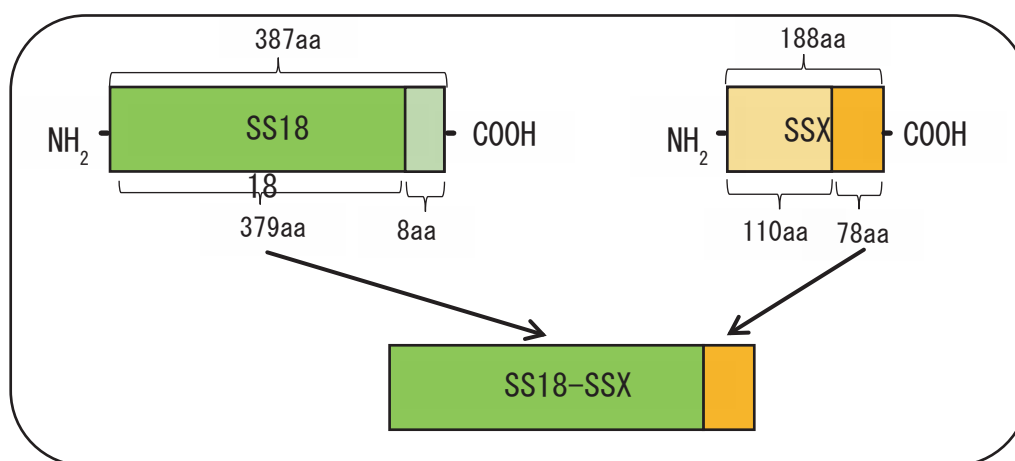
2018 年度メンバー

研究概要

【創薬を目指した疾患関連分子の構造解析】

軟部肉腫の原因となる融合タンパク質の構造研究

悪性腫瘍である滑膜肉腫は、軟部肉腫の一つであり、全軟部肉腫の約 10%を占める。このような症例の少なさゆえ、予後不良であるにもかかわらず治療法開発の進展がないままである。SS18-SSX1、SS18-SSX2 は、滑膜肉腫の確定診断に使われている融合遺伝子である。18 番目の染色体と X 染色体との転座 $t(X;18)(p11.2;q11.2)$ によって生じ、滑膜肉腫のドライバー遺伝子であることが予測されている。その産物である融合タンパク質については、クロマチンリモデリング因子と結合し、そのエピジェネティクス調節に異常をきたすことが報告されている。従って、本融合タンパク質をターゲットとして創薬研究を行う合理性があることから、2018 年度 10 月 1 日に着任後、研究室の主要な課題として掲げた。本研究は、大阪大学大学院医学研究科器官制御外科竹中聡博士との共同研究として開始し、本年度は、発現用の遺伝子の準備を行った。



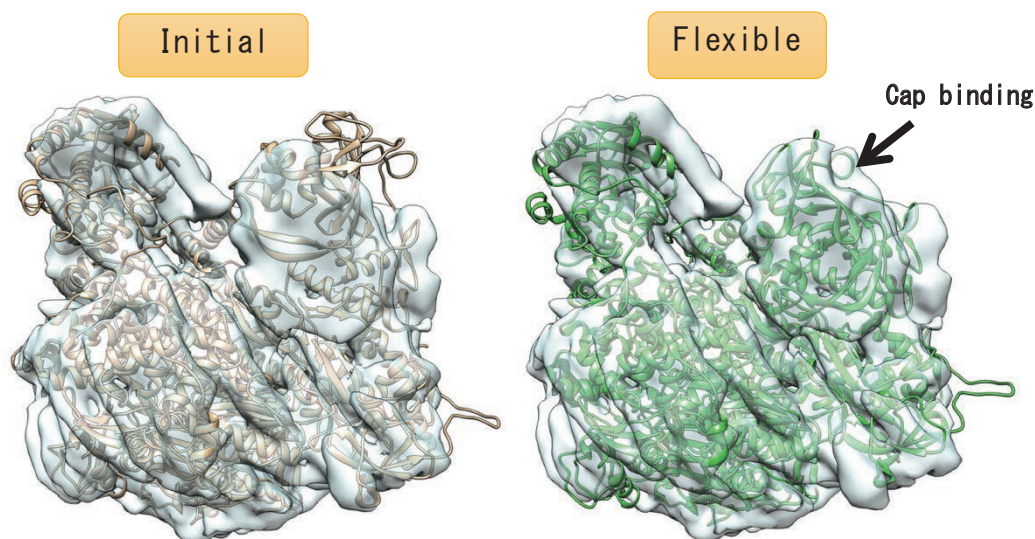
SS18-SSX 融合タンパク質は転座 $t(X;18)$ によって生じる

インフルエンザ A 型 RNA ポリメラーゼの動的構造研究

ヒトに感染するインフルエンザウイルスには、A、B、C 型とあるが、その中で大流行して、多くの感染者・死亡者を出すのは A 型のみである。A 型のみが、ヒト以外の哺乳動物や鳥類に感染できる、いわゆる人獣共通感染症の原因となる。自然界では、カモなどの水鳥が A 型インフルエンザを貯蔵する自然宿主であることが明らかになっている。しかし、ヒトで重症化する鳥インフルエンザ（パンデミックインフルエンザ）が出現するには、ウイルス遺伝子の変異による鳥インフルエンザの哺乳動物への適応が必要であり、そのメカニズムはわかっていない。その謎を解く鍵の一つが、インフルエンザウイルス粒子に内包する RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ（以下 RdRp）である。パンデミックインフルエンザでは、RdRp

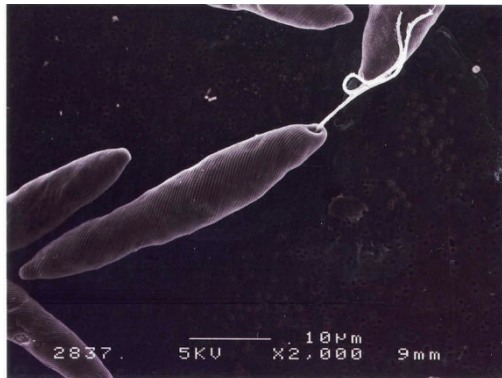
に共通の適応変異がみられることが報告されている。最近これまでとは違って RdRp をターゲットにした薬剤が上市されたように RdRp の詳細な解析は、インフルエンザ A 型による重症化の突破口になると考えられている。

インフルエンザウイルスは、マイナス鎖 RNA ウイルスである。RdRp は、宿主 pre-mRNA からキャップ構造をもつ短鎖 RNA を切り取り（キャップスナッチング）、それをプライマーとして転写を行う。一方で、ウイルスゲノムの複製も子孫ウイルスを作るためには必要だが、それにはプライマーは必要ないとされている。この 2 つの機構を担う RdRp は、3 つのサブユニット、PA、PB1、PB2 からなる。PB2 が、宿主のキャップ構造をもつ pre-mRNA に結合し、PA サブユニットのエンドヌクレアーゼに受け渡すのであるが、これまでの研究から、この時 PB2 のキャップ結合ドメインが大きく動くことが示唆されている。しかし、実際にヒトインフルエンザの RdRp を用いてその動きを観察した例はない。さらに、パンデミックインフルエンザでは、PB2 キャップ結合ドメインから大きく離れた位置にある 627 番目の Glu が Lys に変異することが知られている。点変異が引き起こす重症化は構造学的視点からどのように説明できるのか。キャップスナッチング機構に注目し、キャップ結合、PA サブユニットのエンドヌクレアーゼへの受け渡し、という二つの段階にフォーカスすることで、キャップスナッチング機構を化学的視点から解明し、パンデミックインフルエンザが出現するメカニズムに迫る。そのため、ヒトインフルエンザの RdRp を用いて、(1) ウイルスゲノムのない状態（アポ体）の RdRp、(2) キャップ構造をもつ mRNA を加えた状態の RdRp をクライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析を行う。本年度は、(2) の状態の RdRp 低分解能構造が得られたので、理化学研究所宮下治博士に原子モデルの構築を依頼した。コウモリ A 型インフルエンザの RdRp からモデリングしたヒト A 型 RdRp を計算機シミュレーションによって変形させたものが適切に当てはまり、PB2 cap-binding ドメインが内転していることが示唆された。本研究は、筑波大学人間総合化学研究科の川口敦史博士との共同研究である。



【光センサー器官の光応答メカニズムの解明】

ミドリムシ光センサーPFBの光応答のメカニズム解明



ミドリムシの光応答に関しては、その行動から大きく3種類に分類でき、1世紀以上研究されてきた。しかし、その分子がPFBと呼ばれる細胞小器官から単離され生化学的に明らかにされたのは、2002年であり、日本人の手によるものだった。それは、光驚動反応と呼ばれる光応答のうちさらにステップアップ光反応と呼ばれる現象を担っているフラビン分子だった。PACと名付け

られたこの光センサー分子は、青色光に応答して、アデニル酸シクラーゼ活性を上昇させる。しかし、その三次元構造は未だ不明である。発現系の構築に複数のグループが挑んだが、確かな成功例はなく、そのため野生型ミドリムシから単離精製するしかない。しかし、ミドリムシは高密度培養が困難であることはよく知られた事実である。大阪大学蛋白質研究所の廣瀬未果特任研究員、杉田征彦特任研究員との共同研究によって、10から3 μ g精製できるまでに培養法および精製法の改良に成功し、ついにクライオ電子顕微鏡解析に挑めるようになった。本年度は、初めてその原子モデルの初期構造を構築することに成功した。

2018 年度研究業績

原著論文（全て査読あり）

Naoyuki Miyazaki, Kenji Iwasaki, Junichi Takagi (2018)

A systematic survey of conformational states in $\beta 1$ and $\beta 4$ integrins using negative-stain electron microscopy. **J. Cell. Sci.**, 131, 1018. doi:10.1242/jcs.216754.

Zuben P. Brown, Takao Arimori, Kenji Iwasaki, Junichi Takagi (2018)

Development of a new protein labeling system to map subunits and domains of macromolecular complexes for electron microscopy. **J. Struct. Biol.**, 201, 247-251. doi: 10.1016/j.jsb.2017.11.006.

総説

岩崎憲治（2018）

クライオ単粒子解析法におけるハード面での進歩. 実験医学, 2018 年 5 月号, Vol. 36, No. 8, pp. 1305-1311.

宮崎直幸, 廣瀬未果, 常住規代, 東浦彰史, 中川敦史, 岩崎憲治. (2018)

創薬等ライフサイエンス用クライオ電子顕微鏡単粒子解析支援システム. 顕微鏡, vol53, No1, pp8-12.

分担著書

Atsushi Matsumoto, Kenji Iwasaki(2018)

Chapter12 2DHybrid Analysis. Integrative Structural Biology with Hybrid Methods. Eds. Haruki Nakamura, Gerard J. Kleywegt, Stephen K. Burley, John L. Markley. Springer, pp181-196.

学会発表等（国際学会＊、招待講演＊＊）

岩崎憲治

“多階層構造への電子顕微鏡の展開”

生命の機能とかたち 筑波大-KEK 連携セミナーシリーズ 第五回, 筑波大学 総合研究棟 A110 公開講義室, Mar 28, 2019.

＊＊岩崎憲治, 杉田征彦, 廣瀬未果, 宮崎直幸

“生命科学における多階層構造解析技術”

オールジャパン構造解析ワークショップ 2019～微細構造解析研究基盤構築の現状と展望～,

イイノホール&カンファレンスセンター, Mar 25, 2019.

＊ ＊ 岩崎憲治

“クライオ電子顕微鏡による原子分解能解析”

日本農芸化学会 2019 年度大会 AMED/BINDS ワークショップ, 東京農業大学 世田谷キャンパス A3 会場, Mar 24, 2019.

＊ ＊ 岩崎憲治

“創薬等ライフサイエンス研究のための多階層構造生命科学解析技術の支援と高度化”

国立研究開発法人日本医療研究開発機構 公開シンポジウム「オールジャパンでの医薬品創出プロジェクト」革新的な新薬創出への挑戦, イイノホール, Mar 4, 2019.

＊ ＊ 岩崎憲治, 川口敦史

“多様なコンフォメーションの解析を可能にするクライオ電子顕微鏡解析”

第 41 回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜, Nov 28, 2018.

＊ ＊ 岩崎憲治

“構造多形の解析を目指したクライオ電顕解析”

日本学術会議 薬学委員会 化学・物理系薬学分科会シンポジウム「創薬の加速化を担う構造生物学の最前線 ～分子レベルから原子レベルでの新しい解析技術の発展と応用～, 日本学術会議・講堂, Nov 21, 2018.

山田等仁, 吉田徹, 光岡薫, 川本晃大, 岩崎憲治, 津下英明

“クライオ電子顕微鏡によるウェルシュ菌イオタ毒素の単粒子構造解析”

2018 年度生理研研究会「クライオ電子顕微鏡によるタンパク質の高分解能単粒子構造解析～これであなたも高分解能～」, 岡崎コンファレンスセンター, Nov 14-15, 2018.

角田潤, ソンチホン, 薬師寺 Lica Fabiana, 村田武士, 上野博史, 宮崎直幸, 岩崎憲治, 高木淳一, 飯野亮太, 村田和義

“Single Particle Analysis of EhV-ATPase by Volta Phase-Plate cryo-electron microscopy”

2018 年度生理研研究会「クライオ電子顕微鏡によるタンパク質の高分解能単粒子構造解析～これであなたも高分解能～」, 岡崎コンファレンスセンター, Nov 14-15, 2018.

宮崎直幸, 内山淳平, 松崎茂展, 村田和義, 岩崎憲治

“クライオ電子顕微鏡による黄色ブドウ球菌ファージ S13’ の近原子分解能単粒子解析”

2018 年度生理研研究会「クライオ電子顕微鏡によるタンパク質の高分解能単粒子構造解析
～これであなたも高分解能～」，岡崎コンファレンスセンター，Nov 14-15, 2018.

岡本健太, Ricardo Ferreira, 村田和義, 岩崎憲治, 宮崎直幸

“正二十面体様の二本鎖 RNA ウイルスの機能的な構造獲得 Acquired functional capsid
structures in icosahedral dsRNA viruses”

2018 年度生理研研究会「クライオ電子顕微鏡によるタンパク質の高分解能単粒子構造解析
～これであなたも高分解能～」，岡崎コンファレンスセンター，Nov 14-15, 2018.

Chihong Song, Reiko Todaka, Kei Haga, Akira Fujimoto, Masaru Yokoyama, Naoyuki
Miyazaki, Kenji Iwasaki, Kazuhiro Katayama, Kazuyoshi Murata

“Structural Study of Mouse Norovirus Capsid by Cryo-Electron Microscopy”

2018 年度生理研研究会「クライオ電子顕微鏡によるタンパク質の高分解能単粒子構造解析
～これであなたも高分解能～」，岡崎コンファレンスセンター，Nov 14-15, 2018.

ソチホン, 戸高玲子, 三木元博, 芳賀圭, 藤本陽, 横山勝, 宮崎直幸, 岩崎憲治, 片山
和彦, 村田和義

新学術領域「ネオウイルス学」第 5 回領域班会議, 淡路夢舞台, Nov 11-13, 2018.

＊ ＊Kenji Iwasaki

“From Isolated Protein Structures to in situ Structures Using EM”

The Cryo-EM Revolution and Future Breakthroughs, 東京大学 本郷キャンパス 理学部 2
号館, Oct 25, 2018.

＊ ＊岩崎憲治

“分子構造を見るためのクライオ電子顕微鏡”

一般社団法人近畿化学協会第 40 期研修塾第 4 回講座, 大阪科学技術センター 7 階 701 号
室, Oct 6, 2018.

Naoyuki Miyazaki, Jumpei Uchiyama, Shigenobu Matsuzaki, Kazuyoshi Murata, Kenji
Iwasaki

“The near-atomic resolution cryo-EM structure of the infectious Staphylococcus
bacteriophage S13’ ”

第 56 回日本生物物理学会年会, 岡山大学 津島キャンパス, Sep 15-17, 2018.

Jun Tsunoda, Chihong Song, Fabiana Lica Yakushiji, Takeshi Murata, Hiroshi

Ueno, Naoyuki Miyazaki, Kenji Iwasaki, Junichi Takagi, Ryota Iino, Kazuyoshi Murata
“位相差クライオ電子顕微鏡単粒子解析法を用いた腸球菌 V-ATPase の構造解析 Single Particle Analysis of EhV-ATPase by Phase-Plate electron cryo-microscopy”
第 56 回日本生物物理学会年会, 岡山大学 津島キャンパス, Sep 15-17, 2018.

Chihong Song, Reiko Todaka, Kei Haga, Akira Fujimoto, Masaru Yokoyama, Naoyuki Miyazaki, Kenji Iwasaki, Kazuhiko Katayama, Kazuyoshi Murata
“マウスノロウイルス MNV-S7 のクライオ電顕単粒子構造解析 Capsid Structure of Murine Norovirus S7 revealed by cryo-electron microscopy”
第 56 回日本生物物理学会年会, 岡山大学 津島キャンパス, Sep 15-17, 2018.

岩崎憲治, 松本淳, 川口敦史.
“蛋白質の複雑なコンフォメーション変化の解明を目指して-ハイブリッドアプローチ”
第 56 回日本生物物理学会年会, 岡山大学 津島キャンパス, Sep 15-17, 2018.

＊ ＊ 岩崎憲治

“創薬に向けた最先端のクライオ電子顕微鏡施設とその取り組み”
JASIS2018, 幕張メッセ国際展示場, Sep 5-7, 2018.

＊ ＊ 岩崎憲治

“最先端電顕イメージング法”
第 27 回バイオイメーシング学会学術集会, 産業技術総合研究所つくばセンター共同講堂,
Sep 2-4, 2018.

＊ ＊ 岩崎憲治

“クライオ電顕による次世代の構造解析”
第 34 回創薬セミナー, ハヶ岳ロイヤルホテル, Jul 11-13, 2018.

村田和義, ソンチホン, 戸高玲子, 芳賀圭, 藤本陽, 横山勝, 宮崎直幸, 岩崎憲治, 片山和彦
“マウスノロウイルスキャプシドのクライオ電子顕微鏡単粒子構造解析”
日本顕微鏡学会 第 74 回学術講演会, 久留米シティプラザ, May 29-31, 2018.

吉川雅英, 岩崎憲治, 千田俊哉
“AMED 事業 BINDS による国内電顕ネットワークの充実”
日本顕微鏡学会 第 74 回学術講演会, 久留米シティプラザ, May 29-31, 2018.

宮崎直幸，内山淳平，松崎茂展，村田和義，岩崎憲治

“クライオ電子顕微鏡による黄色ブドウ球菌ファージ S13’ の近原子分解能単粒子解析”

日本顕微鏡学会 第 74 回学術講演会，久留米シティプラザ，May 29-31，2018.

石谷隆一郎，糟谷豪，中根崇智，横山武，西澤知宏，草木迫司，宮崎直幸，川本晃大，岩崎憲治，包明久，柳澤春明，白水美香子，吉川雅英，濡木理

“浸透圧感受性チャネルの立体構造解析”

日本顕微鏡学会 第 74 回学術講演会，久留米シティプラザ，May 29-31，2018.

角田潤，ソンチホン，薬師寺 Lica Fabiana，村田武士，上野博史，宮崎直幸，岩崎憲治，高木淳一，飯野亮太，村田和義

“位相差クライオ電子顕微鏡による腸球菌 V-ATPase の単粒子解析”

日本顕微鏡学会 第 74 回学術講演会，久留米シティプラザ，May 29-31，2018.

特記すべき事項

2018 年度 10 月 1 日筑波大学に赴任. 同時に大阪大学客員教授として大阪大学における AMED の BINDS 事業に従事.

学会および社会的活動

岩崎憲治

日本学術振興会 第 169 委員会委員 (H29 年 9 月 1 日～)

日本顕微鏡学会 理事 (H29 年 6 月 1 日～H31 年 5 月 31 日)

日本顕微鏡学会 代議委員 (H29 年 4 月 1 日～H30 年 3 月 31 日)

ナノ高度学際教育研究訓練プログラム平成 30 年度「社会人教育プログラム」コース 4, ナノ構造・機能計測解析学，「画像解析・電子線トモグラフィーの基礎」，大阪大学 中之島センター，Nov 29，2018.

科学研究費補助金・外部資金獲得状況

なし (大阪大学にて科研費，AMED 予算，共同研究費を執行)