構造解析ユニット

補助事業代表者（所属・職名）
山本　雅貴（理化学研究所　放射光科学研究センター・部門長）

生命科学と創薬研究に向けた相関構造解析プラットフォームによる支援と高度化

高度化における研究背景・目的

相関構造解析データベースPDB-IHMの構築と**構造解析支援の迅速高度化**に向けた解析技術の研究開発
結晶構造解析：解析自動化に向け**構造解析パイプライン**の高度化、**化合物スクリーニング**の効率化
　構造ダイナミクスに向けた時分割構造解析、**NanoTerasu**での解析環境整備、中性子回折の導入
Bio-SAXS：SEC-SAXSを含め多種多様な溶液条件に対応した**時分割・自動サンプリング計測システム**
クライオ電子顕微鏡：データ解析ワークフローの構築、**単粒子解析の測定環境の使い勝手向上**
　microED測定の導入、構造解析計算機クラスターシステムの導入
NMR:超高分子量複合体の高感度NMR測定法、動態解析法の開発、DNPによる超高感度化固体NMR法
中性子：SEC-SANS装置およびAUC-SANS法の開発、部位特異的標識法の開発

高度化の成果

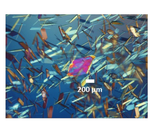
大型結晶作製：高度化(+支援)

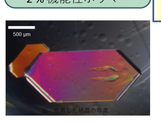
臨界クラスターポリマーを用いた良質・大型結晶作製（北大・尾瀬）

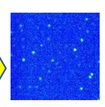
不凍タンパク質の中性子回折実験@J-PARC

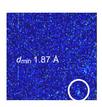
〈ポリマー無し〉
0.1 M HEPES pH6.8
30.0 % PEG3000

〈ポリマーあり〉
0.1 M HEPES pH6.8
30% PEG 3000
2 % 機能性ポリマー





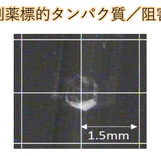




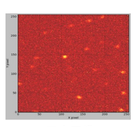
フルデータ収集完了⇒構造精密化へ

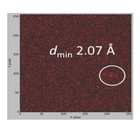
完全重水素化結晶作製：高度化

創薬標的タンパク質／阻害剤複合体



完全重水素化試料を温度応答性ポリマーを用いてマクロシーディングにより結晶大型化（0．22mm³）





中性子結晶解析にはこれまで1mm³程度の結晶が必要とされていたが、従来の1/5程度の小型の結晶から2.1Å分解能の回折データ収集に成功

NanoTerasu BL09U MX-ESの整備

SPring-8との連携のもと、3GeV高輝度放射光施設NanoTerasuに新しいタンパク質結晶構造解析実験ステーションを設置

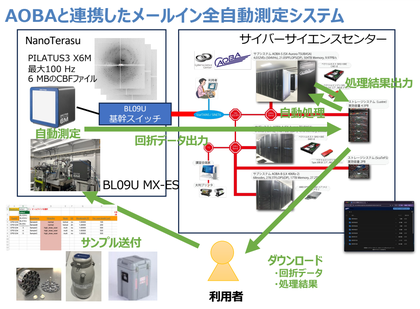
2024年度 ハッチ、測定装置設置
2025年度 コミッショニング、運用開始

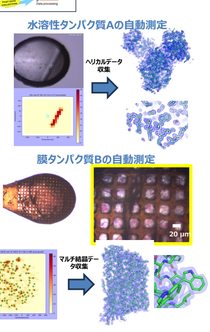






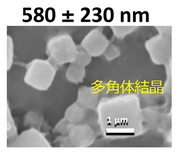
AOBAと連携したメールイン全自動測定システム

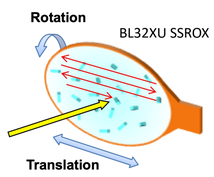




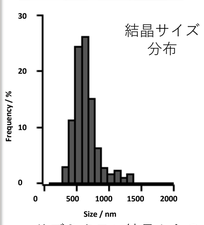
Serial Synchrotron Rotation Crystallography (SSROX)
生まれたものをすべてX線照射する

580 ± 230 nm

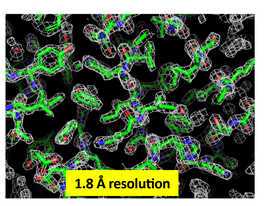


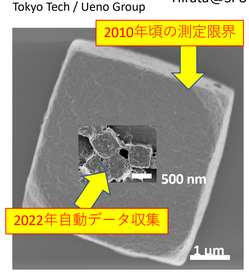


S. Abe
Tokyo Tech / Ueno Group
T. Ueno
Hirata@SP8



サブミクロン結晶からのデータ収集



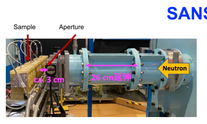


Abe *et al. Scientific Reports* **12**, 16031 (2022)

実験者が「結晶」と認識できないものでも測定を可能に！

中性子小角散乱装置 高強度・低BG化

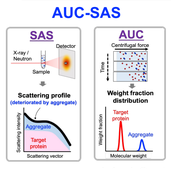
SANS-U (@JRR-3)

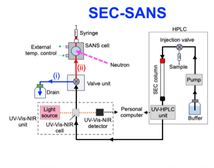


・測定時間の短縮（1 sample/1h）
・マシンタイム配分の迅速化（1か月以内）
・被支援者の中性子利用への誘導（４Gr.が独自にマシンタイムを申請・採択）

多分散・多成分系の測定法の開発

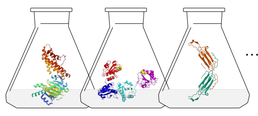
AUC-SAS　　SEC-SANS





J. Appl. Crystallogr. **56**, 624, (2023); *J. Appl. Crystallogr.* **58**, 595, (2025).

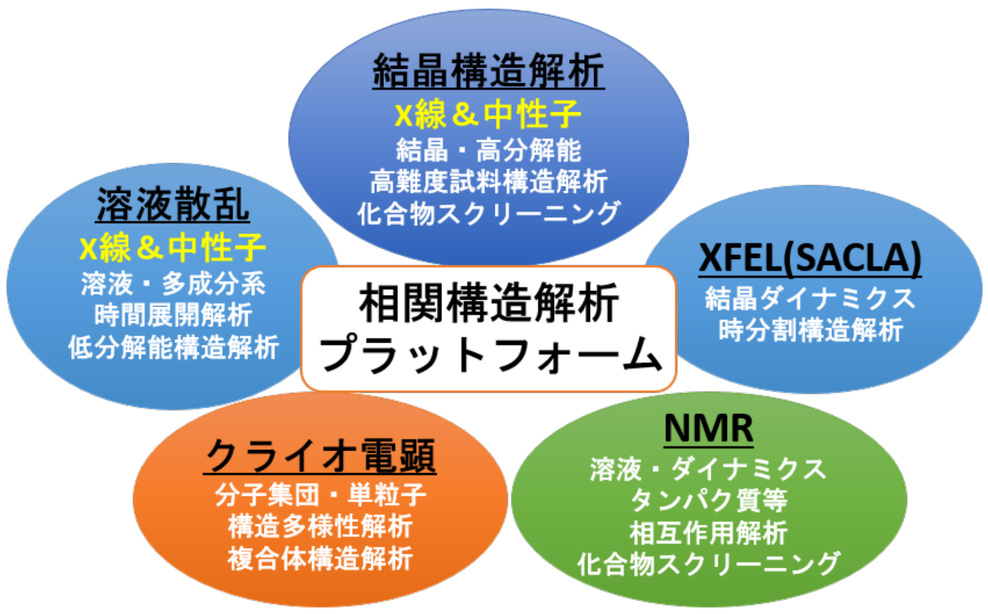
重水素化→同位体ラベル試料調製データ蓄積



様々な試料の重水素化に対応可能

・多くのグループ（様々なタンパク質の）重水素化を実現
・NMR用に^{2}Hに加えて、^{15}N, ^{13}Cのラベル試料の提供も開始
→博士学位の取得に貢献

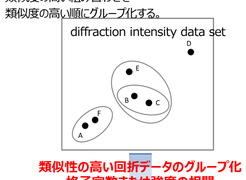
Biophys. Physicobiol. **18**, *16* (2021); *Angew. Chem. Int. Ed.* **62**, e202214412 (2023).



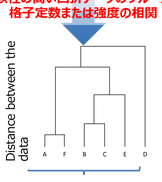
ZOOでの大規模データ収集による高度構造解析
構造多型解析に向けた階層的クラスタリング分析

大規模回折データの Hierarchical clustering Analysis (HCA)

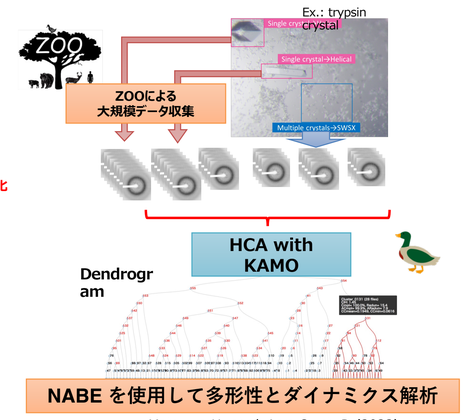
類似度の高い組み合わせを
類似度の高い順にグループ化する。



類似性の高い回折データのグループ化
格子定数または強度の相関



分類しクラスターごとに分析する



NABE を使用して多形性とダイナミクス解析

Matsuura H. *et al*, Acta Cryst. D (2023)

よりユーザの使いやすい解析環境を目指して（KEK/PF & 阪大・蛋白研）
Go to cloud projectから



BINDS GPU計算機
PREWSの整備

測定装置とCloud空間を結ぶことでCryo-EM等のIoT化を進めるのみならず、これらの運用を通じて、
アノテーションのついたBigデータを準備し高度な自動化を達成する

IoT of CryoEMs
(筑波大（TCEF）、北大など)

筑波大CRYOARM200での共同利用型MicroED基盤

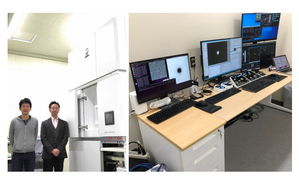
既存の低分子化合物の立体構造解析手法の守備範囲の穴を埋める **MicroED** をオンラインネットワークを通じて、 他技術と相補的に活用できる**共同利用型MicroED基盤**を構築する.

【沿革】
2022年3月　筑波大TARAにCRYOARM300II,200設置
2023年1月　CRYOARM200でMicroEDの予備実験開始
2023年6月　SerialEMのMicroED用Scriptを導入
2024年4月　トライアルユースでの利用料請求を開始

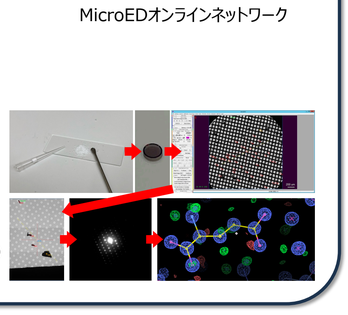
【主なメンバー】（敬称略）
電顕：安達, 寺内(技術員), 西本(M2), 田中(M1), 中嶋(M1), 原田, 岩崎
解析：山田(東北大 *MicroEDと放射光/PXRDの連携を推進)
外部：牧野(阪大), 中根(阪大), 柳澤(東大), 山下(東大), 荒牧(TVIPS)

【ユーザーについて】
2023年度：アカデミア16グループ, 企業1社,　82日利用
2024年度：アカデミア23グループ, 企業4社, 184日利用
2025年度：アカデミア28グループ, 企業9社, 273日利用
2026年度：アカデミア13グループ, 企業2社,　94日利用
内訳：東科大x6、京大x6、東大x5、筑波大x3、KEK x3、阪大x2、理科大x2、NIMS x2、広島大、微化研、静岡大、CROSS、千葉大、立命館、東北大、金沢大、岐阜医科大、SPring-8、上智大、自治医科大、鹿児大、兵庫県立大、兵庫県、名大、早大、お茶大、岩手大、埼玉大、インディアナ大、崇実大、ペンシルバニア大、企業x11社

【初期構造を決定できたサンプルの数】
248種類
（2023年度13, 2024年度68, 2025年度125, 2026年度42種類）
持ち込まれるサンプルの種類：有機低分子化合物、天然化合物、金属錯体、MOF、無機化合物、創薬候補化合物、色素、液晶材料、ペプチド、タンパク、細胞内結晶、など



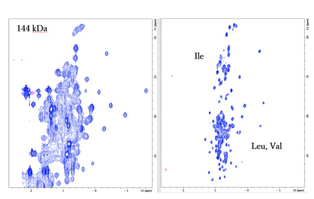
MicroEDオンラインネットワーク

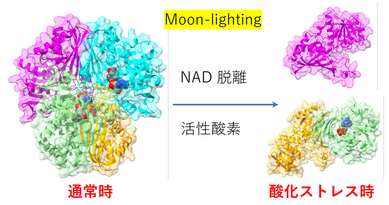


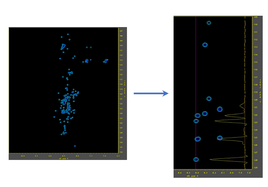
NMR高度化：部位特異的重水素化標識

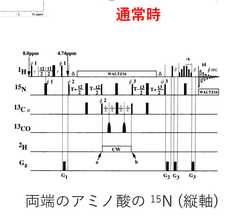
横浜市大高度化

Leu, Val, Ile, Met のメチル基のみを ^{1}H/^{13}C で、それ以外を ^{2}H/^{12}C で部位特異的標識した。
その結果、150 kDa 解糖系酵素 GAPDH の相互作用、および、サブユニット解離を検出した。









3D HN(CA)NNH パルス系列により **IDP の帰属が容易**になった。^{2}H, ^{15}N 標識の IDP と上記の ^{2}H, methyl ^{1}H/^{13}C 標識の高分子量蛋白質との相互作用がそれぞれの側から観測可能になった。

今後の発展

本課題が5年間の研究期間で確立した「相関構造解析プラットフォーム」**は、多様な構造解析手法についてそれぞれ技術開発・高度化を進めながら各手法の連携により「静的構造から動的ダイナミクスの解明」への道を拓き、次代の**製薬AI/DX**と**合理的創薬**を強力に先導する強固な礎となります。放射光ビームラインでの迅速かつ簡便な全自動測定から構造多型等の動的構造ダイナミクス解析やクライオ電子顕微鏡の単粒子解析やMicroEDの解析ネットワーク等の高度化技術は、これまで困難だった複雑な生体超分子の構造解明を劇的に加速し、創薬初期段階における高精度な化合物最適化に直接的に貢献してきました。これらの動的構造データや構造アンサンブル情報を蓄積し、PDB-IHM（ハイブリッド・相関構造データベース）等の新たな共通公開データベースの拡充・整備を進めることで、次世代の予測AI技術の精度向上と発展に寄与するとともに、生理環境下における**真のタンパク質機能解明に大きく貢献します。
今後の課題としては、SPring-8アップデートに向けた運転休止（ブラックアウト）に伴うKEK/PFやNanoTerasu等による**代替支援体制の維持・確保**、プラットフォームの根幹を支える**高度専門技術人材の持続的な雇用**、および**若手への確実な技術継承**が挙げられます。構築した大規模ネットワークと高速データ連携システムを、5年間のプロジェクト枠組みを超えて長期的・安定的に維持・運営する**持続可能な仕組みの構築**こそが、構造生命科学研究全体のさらなる発展に不可欠です。