

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K15051

研究課題名（和文）重水素化支援中性子小角散乱と超遠心分析の複合解析による時計蛋白質複合体の構造解析

研究課題名（英文）Structural analysis of clock protein complex by combined deuterium-assisted small-angle neutron scattering and analytical ultracentrifugation

研究代表者

守島 健（Morishima, Ken）

京都大学・複合原子力科学研究所・助教

研究者番号：40812087

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：シアノバクテリアの時計蛋白質（KaiA, KaiB, KaiC）による概日振動の制御機構を理解するためには、これらの蛋白質が形成する複合体の構造と動態を明らかにする必要がある。本研究では特にKaiCのリン酸化を促すKaiA-KaiC複合体（AC複合体）の形成挙動とその溶液構造を、超遠心分析と中性子/X線小角散乱の統合手法によって解析した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により解明されたAC複合体の溶液構造は、概日時計システムにおいて重要なKaiCのリン酸化亢進メカニズムの理解に寄与する。また、本研究の独自手法である「AUC-SAS法」はKaiA-KaiC相互作用のように解離-会合速度が速い平衡系における複合体構造解析に大変有用であることが示された。したがって同様の複合体系の溶液構造解析にも応用されることが期待される。

研究成果の概要（英文）：To understand the mechanism of circadian oscillations by cyanobacterial clock proteins (KaiA, KaiB and KaiC), it is necessary to clarify the structure and dynamics of the complexes formed by these proteins in solution. In this study, the formation behavior and solution structure of the KaiA-KaiC complex (AC complex), which promotes the phosphorylation of KaiC, were analyzed by an integrated method of analytical ultracentrifugation and small-angle neutron/X-ray scattering.

研究分野：生物物理

キーワード：時計タンパク質複合体 コントラスト同調中性子小角散乱（CM-SANS） X線小角散乱（SAXS） AUC-SAS

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

地球上の全ての生物は生命活動を昼夜の環境に同調させるため生物時計機構を有する。シアノバクテリアが有する生物時計機構は、3種類の蛋白質 (KaiA・KaiB・KaiC) とアデノシン三リン酸 (ATP) を試験管内で混合するだけで再現できる最も単純なモデルである。この機構の基盤蛋白質である KaiC の特定のアミノ酸残基 (合計 12 箇所) は、ATP と KaiA、KaiB の作用を受けてリン酸化・脱リン酸化する。既往研究では、リン酸化亢進過程では KaiA-KaiC (AC) 複合体が形成され、脱リン酸化過程では KaiB-KaiC (BC) 複合体が形成されることが示唆されており、これらの複合体形成が KaiC のリン酸化度の増減を制御すると考えられている。しかしながらそれらの複合体の形成がどのようなメカニズムでリン酸化の増減を制御しているのかということは十分に解明されていなかった。

2. 研究の目的

本研究ではリン酸化亢進を促す AC 複合体に焦点をあてる。特に、(a) 「AC 複合体全体の構造」(KaiA と KaiC の間の相対配置や化学量論比等) と、(b) 「AC 複合体中の KaiA 及び KaiC の部分構造」(リン酸化残基付近の構造や環状構造の広がり等) を、X線/中性子小角散乱 (SAXS/SANS) と超遠心分析 (AUC) の統合解析によって解明することを目的とした。

3. 研究の方法

SAXS 及び SANS (総称して SAS と呼ぶ) は溶液中の蛋白質の三次元構造の強力な測定法である。SAS 測定で AC 複合体の構造解析を行うためには、AC 複合体のみに由来する散乱データ (散乱プロファイル) が必要である。一方、AC 複合体は解離-会合平衡下 ($\text{KaiA} + \text{KaiC} \leftrightarrow \text{AC 複合体}$) で形成しており、溶液中では少なくとも KaiA・KaiC・AC 複合体の三成分が共存する。そこで、サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) 等で AC 複合体を単離して SAS 測定することが必要となるが、解離-会合速度が速い平衡のため、SEC で単離を行ってもすぐに一部の複合体が解離してしまい AC 複合体の単離溶液を得られず、結果として AC 複合体のみに由来する散乱プロファイルが得られない。この点が AC 複合体の構造解析の最大の問題点であった。

本研究では、申請者が最近開発した超遠心分析 (AUC) と SAS の複合解析法「AUC-SAS 法」で上記の問題の解決を図る。KaiA・KaiC・AC 複合体が共存する解離-会合平衡下の溶液に対する SAS 測定データは、それぞれの重量分率に応じた各成分の散乱プロファイルの足し合わせである。AUC-SAS 法では、AUC で得られる溶液中の各成分の重量分率を用いて、解離-会合平衡下の溶液に対する SAS 測定データから AC 複合体の散乱プロファイルのみを抽出する。このアプローチにより AC 複合体を試料として単離することが不可能という問題を回避することができる。AC 複合体の散乱プロファイルは、SAXS 測定を用いた AUC-SAS 法により得られる。(= AUC-SAXS)

次に注目する「AC 複合体中の KaiA 及び KaiC の部分構造」に対応する散乱プロファイルは、AUC-SAXS で求めた AC 複合体の散乱プロファイルから得ることは出来ない。そこで、コントラスト同調中性子小角散乱 (CM-SANS) を用いてこの発展的な課題に挑む。中性子散乱では軽水素と重水素の散乱能力 (散乱長) の違いを利用し、重水素ラベルで蛋白質の散乱長を変化させることができる。測定される中性子散乱強度は蛋白質と溶媒の散乱長の差 (散乱コントラスト) の 2 乗に比例するため、散乱コントラストがゼロになるように調整した重水素体蛋白質は中性子散乱プロファイル上で不可視化することができる。特に、75%重水素化タンパク質は非干渉性散乱由来のバックグラウンドが低い 100%D₂O 中で散乱コントラストがゼロとなり不可視化できるため、軽水素化タンパク質からの散乱を選択的に観測することができる (= 逆転コントラスト同調法 (iCM))。したがって、iCM-SANS データに対して AUC-SAS 法を適用することで、AC 複合体中の KaiA ないし KaiC のみの部分散乱プロファイルを抽出することができる (= AUC-iCM-SANS)。

4. 研究成果

図 1 に様々な混合比の KaiA+KaiC 混合溶液 (KaiC 濃度は 2.5 mg/mL に固定) に対する AUC 測定結果 (沈降係数 $s_{20,w}$ の重量濃度分布) を示す。3.6 S に観測されたピークは遊離 KaiA に相当する。一方、解離会合速度が非常に速いため、遊離 KaiC と AC 複合体は一つのピークとして 11.2 - 12.3 S の間に観測された。このピーク位置は遊離

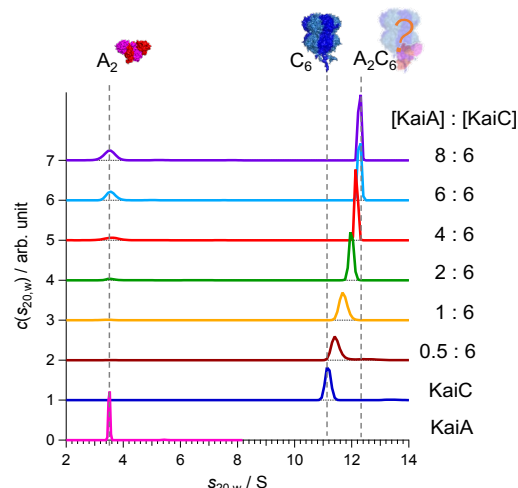


図 1. 様々な混合モル比における KaiA+KaiC 溶液の AUC 測定結果。

KaiC と AC 複合体の存在比率に依存する。したがって、ピーク位置の混合比率依存性より、解離定数 K_D を決定し、任意の混合比率における各成分の濃度を求めることができた。

遊離 KaiA・遊離 KaiC・AC 複合体の三成分からなる溶液の散乱プロファイルは $I(q) = c_{AiA}(q) + c_{CiC}(q) + c_{ACiAC}(q)$ のように表される (q は散乱ベクトルの絶対値、 c_j と $i_j(q)$ はそれぞれ成分 j の濃度と濃度あたりの散乱プロファイル)。ここで、 $i_A(q)$ と $i_C(q)$ はそれぞれ単体の KaiA、KaiC 溶液の SAXS 測定によって求められる。したがって、AUC で求められた各成分の濃度を用いることで、混合溶液の散乱プロファイル $I(q)$ から AC 複合体の SAXS プロファイル $i_{AC}(q)$ を導出することに成功した (図 2)。

さらに、75%重水素体 KaiA (75d-KaiA) と軽水素体 KaiC (h-KaiC) を 100%D₂O 中で SANS 測定し、得られた SANS プロファイルから遊離 KaiC の寄与を AUC-SAS によって除くことで、AC 複合体中の KaiC の部分散乱プロファイルが得られた。得られたプロファイルは単体の散乱プロファイルと一致したことから、KaiC は複合体形成によって大きな構造変化を示さないことが明らかとなった。

SAXS、SANS 測定で得られたデータを基に得られた *Ab initio* モデルを図 3 に示す。また、粗視化分子動力学計算によって得られた候補構造から、AUC-SAXS の散乱プロファイルを良く再現した構造も併せて示す。両者の計算機解析結果から、KaiA は KaiC の C 末端 tail に結合し、両者は重心位置が比較的離れていることが確認された。天然変性領域である KaiC の C 末端 tail の運動性によって KaiA は KaiC に対してフレキシブルに揺らいでいると推察され、この運動性が KaiC のリン酸化に必要な ATP の取り込みに有利に働いていると推察される。

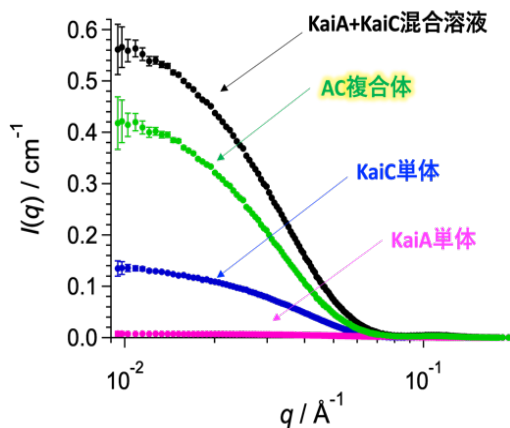


図 2. KaiA+KaiC 混合溶液 (黒丸)、KaiA 単体 (マゼンタ丸)、KaiC 単体 (青丸) の SAXS プロファイルと、AUC-SAS 法によって導出された AC 複合体の SAXS プロファイル (緑丸)。

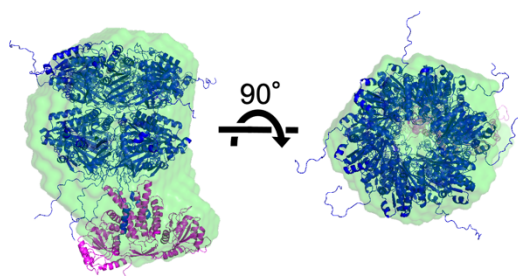


図 3. AUC-SAXS で得られた散乱プロファイルあるから計算された AC 複合体の *Ab initio* モデル (緑色エンベロープ) と、粗視化分子動力学計算によって得られた候補構造の中から AUC-SAXS の散乱プロファイルを最もよく再現した AC 複合体構造。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Yunoki Yasuhiro, Matsumoto Atsushi, Morishima Ken, Martel Anne, Porcar Lionel, Sato Nobuhiro, Yogo Rina, Tominaga Taiki, Inoue Rintaro, Yagi-Utsumi Maho, Okuda Aya, Shimizu Masahiro, Urade Reiko, Terauchi Kazuki, Kono Hidetoshi, Yagi Hirokazu, Kato Koichi, Sugiyama Masaaki	4. 巻 5
2. 論文標題 Overall structure of fully assembled cyanobacterial KaiABC circadian clock complex by an integrated experimental-computational approach	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 184
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-022-03143-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Shimizu Masahiro, Okuda Aya, Morishima Ken, Inoue Rintaro, Sato Nobuhiro, Yunoki Yasuhiro, Urade Reiko, Sugiyama Masaaki	4. 巻 12
2. 論文標題 Extracting time series matching a small-angle X-ray scattering profile from trajectories of molecular dynamics simulations	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 9970
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-13982-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoshikawa Yuki, Yuzu Keisuke, Yamamoto Naoki, Morishima Ken, Inoue Rintaro, Sugiyama Masaaki, Iwasaki Tetsushi, So Masatomo, Goto Yuji, Tamura Atsuo, Chatani Eri	4. 巻 27
2. 論文標題 Pathway Dependence of the Formation and Development of Prefibrillar Aggregates in Insulin B Chain	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 3964-3964
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules27133964	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 柚木康弘, 松本淳, 守島健, Anne Martel, Lionel Porcar, 佐藤信浩, 與語理那, 富永大輝, 矢木真穂, 井上倫太郎, 河野秀俊, 矢木宏和, 加藤晃一, 杉山正明	4. 巻 32
2. 論文標題 時計タンパク質複合体の構造解析を通して明らかとなった中性子小角散乱法の強み	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 波紋	6. 最初と最後の頁 158-164
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Hirano Rina, Arimura Yasuhiro, Kujirai Tomoya, Shibata Mikihiro, Okuda Aya, Morishima Ken, Inoue Rintaro, Sugiyama Masaaki, Kurumizaka Hitoshi	4. 巻 4
2. 論文標題 Histone variant H2A.B-H2B dimers are spontaneously exchanged with canonical H2A-H2B in the nucleosome	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 191
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-021-01707-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kurokawa Nina, Midorikawa Rio, Nakamura Manami, Noguchi Keiichi, Morishima Ken, Inoue Rintaro, Sugiyama Masaaki, Yohda Masafumi	4. 巻 22
2. 論文標題 Oligomeric Structural Transition of HspB1 from Chinese Hamster	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 10797
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms221910797	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 守島健, 佐藤信浩, 井上倫太郎, 杉山正明	4. 巻 32
2. 論文標題 多分散・多成分溶液中の生体高分子の構造解析のための小角散乱と各種成分分離手法の複合的アプローチ	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 波紋	6. 最初と最後の頁 16-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Chatake Toshiyuki, Yanagisawa Yasuhide, Murakami Risa, Ohsugi Tadanori, Sumi Hiroyuki, Takata Takumi, Okuda Aya, Morishima Ken, Inoue Rintaro, Sugiyama Masaaki	4. 巻 174
2. 論文標題 Characterization of K-binding factor involved in water-soluble complex of menaquinone-7 produced by Bacillus subtilis natto	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 383 ~ 389
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvad051	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Morishima Ken, Inoue Rintaro, Sugiyama Masaaki	4. 巻 56
2. 論文標題 Derivation of the small-angle scattering profile of a target biomacromolecule from a profile deteriorated by aggregates. AUC?SAS	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Applied Crystallography	6. 最初と最後の頁 624 ~ 632
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1107/S1600576723002406	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ishida Hisashi, Matsumoto Atsushi, Tanaka Hiroki, Okuda Aya, Morishima Ken, Wade Paul A., Kurumizaka Hitoshi, Sugiyama Masaaki, Kono Hidetoshi	4. 巻 435
2. 論文標題 Structural and Dynamic Changes of Nucleosome upon GATA3 Binding	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 168308 ~ 168308
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jmb.2023.168308	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

[学会発表] 計66件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 14件)

1. 発表者名 A. Okuda, M. Shimizu, K. Morishima, R. Inoue, N. Sato, Y. Yunoki, R. Urade, M. Sugiyama
2. 発表標題 Solution Structure Analysis of the Multi-domain Protein, ER-60 by Small Angle Scattering
3. 学会等名 XVIII International Small Angle Scattering Conference (SAS2022) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 M. Shimizu, A. Okuda, K. Morishima, N. Sato, R. Inoue, Y. Yunoki, R. Urade, M. Sugiyama
2. 発表標題 Domain Conformation of Multi-domain Protein ER-60 Studied with Hybrid Approach of Coarse-grained Simulations and Small-angle X-ray Scattering.
3. 学会等名 XVIII International Small Angle Scattering Conference (SAS2022) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 K. Morishima, A. Okuda, N. Sato, M. Shimizu, Y. Yunoki, R. Inoue, R. Urade, M. Sugiyama
2. 発表標題 Integrated Method with Analytical Ultracentrifugation and Small-Angle Scattering (AUC-SAS) for the Structural Analysis of a Biomacromolecule in a Polydisperse Solution.
3. 学会等名 XVIII International Small Angle Scattering Conference (SAS2022) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 . Kokuo, K. Yuzu, N. Yamamoto, K. Morishima, R. Inoue, M. Sugiyama, J. Hayashi, J. A. Carver, E. Chatani
2. 発表標題 The chaperone function of B-crystallin through the formation of a complex with the amyloid precursor of insulin B-chain.
3. 学会等名 The 4th Proteostasis and Disease Research Symposium (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 守島健、奥田綾、佐藤信浩、井上倫太郎、清水将裕、柚木康弘、裏出令子、杉山正明
2. 発表標題 小角散乱と超遠心分析を組み合わせた多分散溶液中の蛋白質構造解析法の開発
3. 学会等名 第22回蛋白質科学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 杉山正明、守島健、柚木康弘、井上倫太郎、佐藤信浩、矢木宏和、加藤晃一
2. 発表標題 Kai時計タンパク質の概日振動のシステム解析
3. 学会等名 第22回蛋白質科学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 柚佳祐、今村比呂志、野崎拓郎、藤井悠生、守島健、奥田綾、井上倫太郎、杉山正明、茶谷絵理
2. 発表標題 ウシ由来インスリンのアミロイド核形成に見られるオリゴマーおよびプロトフィブリル形成機構
3. 学会等名 第22回蛋白質科学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 清水将裕、奥田綾、守島健、柚木康弘、井上倫太郎、佐藤信浩、裏出令子、杉山正明
2. 発表標題 X線小角散乱プロファイルと粗視化分子動力学計算に基づく4ドメインタンパク質 ER-60 の構造 研究
3. 学会等名 第22回蛋白質科学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 柚木康弘、松本淳、守島健、Anne Martel、Lionel Porcar、佐藤信浩、與語理那、富永大輝、井上倫太郎、矢木真穂、奥田綾、清水将裕、裏出令子、寺内一姫、河野秀俊、矢木宏和、加藤晃一、杉山正明
2. 発表標題 生物物理と計算科学の統合手法による時計タンパク質KaiABC複合体全長の溶液構造の解明
3. 学会等名 第22回蛋白質科学会年会（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 奥田綾、清水将裕、守島健、井上倫太郎、佐藤信浩、柚木康弘、裏出令子、杉山正明
2. 発表標題 X線小角散乱法による酸化的フォールディング酵素ER-60の溶液構造解析
3. 学会等名 第22回蛋白質科学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 杉山正明、井上倫太郎、守島健、眞弓皓一、小田達郎
2. 発表標題 JRR-3で最先端の生体高分子の中性子溶液散乱を！
3. 学会等名 日本中性子科学会第22回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 守島健、柚木康弘、清水将裕、奥田綾、井上倫太郎、佐藤信浩、矢木宏和、加藤晃一、杉山正明
2. 発表標題 超遠心分析と小角散乱の複合手法による時計タンパク質複合体の溶液構造解析
3. 学会等名 日本中性子科学会第22回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 井上倫太郎、守島健、奥田綾、佐藤信弘、杉山正明
2. 発表標題 高濃度環境下の α -クリスタリンのサブユニット交換
3. 学会等名 日本中性子科学会第22回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 奥田綾、井上倫太郎、守島健、柚木康弘、清水将裕、佐藤信浩、裏出令子、杉山正明
2. 発表標題 逆転コントラスト同調中性子小角散乱解析を目指したER-60の重水素化試料調製
3. 学会等名 日本中性子科学会第22回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 眞弓皓一、小田達郎、橋本慧、Li Xiang;、土肥侑也、守島健、井上倫太郎、杉山正明
2. 発表標題 JRR-3小角中性子散乱装置SANS-Uの現状
3. 学会等名 日本中性子科学会第22回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小田隆、井上倫太郎、富永大輝、中川洋、守島健、石野良純、佐藤衛、杉山正明
2. 発表標題 好熱性古細菌由来天然変性タンパク質の生理的溫度における動的構造とダイナミクス
3. 学会等名 日本中性子科学会第22回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 守島健
2. 発表標題 京大複合研KUMASANSの現状及び重水素化試料作成と周辺測定による統合的生体高分子研究について
3. 学会等名 中性子小角散乱研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 茶谷絵理、國尾祐貴、柚佳祐、山本直樹、守島健、奥田綾、井上倫太郎、杉山正明、Junna Hayashi、John A. Carver
2. 発表標題 アミロイド前凝集体を標的とした分子シャペロン B-クリスタリンの線維形成阻害様式
3. 学会等名 第14回タンパク質の異常凝集とその防御・修復機構に関する研究会（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 柚佳祐、今村比呂志、野崎拓郎、藤井悠生、守島健、奥田綾、井上倫太郎、杉山正明、茶谷絵理
2. 発表標題 アミロイド核形成段階におけるウシ由来インスリンの多段階凝集メカニズム
3. 学会等名 第14回タンパク質の異常凝集とその防御・修復機構に関する研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 加賀澤悠太、守島健、井上倫太郎、杉山正明、高田匠
2. 発表標題 B2-クリスタリン異常凝集に関与するギリシャ鍵モチーフ中のトリプトファン残基
3. 学会等名 第14回タンパク質の異常凝集とその防御・修復機構に関する研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 守島健、井上倫太郎、奥田綾、佐藤信浩、清水将裕、柚木康弘、裏出令子、杉山正明
2. 発表標題 多分散溶液中の生体高分子の構造解析のための超遠心分析と小角散乱による統合アプローチ
3. 学会等名 第60回生物物理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 杉山正明、守島健、柚木康弘、井上倫太郎、佐藤信浩、矢木宏和、加藤晃一
2. 発表標題 Orchestration of proteins in a Kai clock system
3. 学会等名 第60回生物物理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名	會澤直樹、清水将裕、横田幸紀、守島健、柚木康弘、奥田綾、佐藤信浩、井上倫太郎、大田ゆかり、裏出令子、杉山正明
2. 発表標題	X線小角散乱と全原子分子動力学シミュレーションによる α -glucosidaseの溶液構造研究
3. 学会等名	2022年度量子ビームサイエンスフェスタ
4. 発表年	2023年

1. 発表者名	K. Morishima, R. Inoue, M. Shimizu, A. Okuda, N. Sato, R. Urade, M. Sugiyama
2. 発表標題	AUC-SAS: Integrated analysis of biomacromolecular structure with analytical ultracentrifugation (AUC) and small-angle scattering (SAS)
3. 学会等名	XXV General Assembly and Congress of the International Union of Crystallography - IUCr 2021 (国際学会)
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	R. Inoue, Y. Sakamaki, T. Takata, K. Morishima, K. Wood, N. Sato, A. Okuda, M. Shimizu, R. Urade, N. Fujii, M. Sugiyama
2. 発表標題	Subunit dynamics in alpha-crystallin through deuteration-assisted small-angle neutron scattering
3. 学会等名	XXV General Assembly and Congress of the International Union of Crystallography - IUCr 2021 (国際学会)
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	A. Okuda, R. Inoue, K. Morishima, Y. Yunoki, M. Shimizu, N. Sato, R. Urade, M. Sugiyama
2. 発表標題	Establishment of basic techniques related to protein sample preparation for neutron scattering
3. 学会等名	XXV General Assembly and Congress of the International Union of Crystallography - IUCr 2021 (国際学会)
4. 発表年	2021年

1. 発表者名 S. Shimizu, A. Okuda, K. Morishima, N. Sato, R. Inoue, R. Urade, M. Sugiyama
2. 発表標題 Dynamics of multi-domain protein ER-60 revealed by small-angle X-ray scattering data and molecular dynamics simulations
3. 学会等名 XXV General Assembly and Congress of the International Union of Crystallography - IUCr 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 清水将裕、奥田綾、守島健、柚木康弘、佐藤信浩、井上倫太郎、裏出令子、杉山正明
2. 発表標題 X線小角散乱データと粗視化分子動力学計算に基づく生体分子の構造ダイナミクスの解明
3. 学会等名 第59回生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 柚佳祐、今村比呂志、野崎拓郎、藤井悠生、守島健、奥田綾、井上倫太郎、杉山正明、茶谷絵理
2. 発表標題 インスリンの由来種に依存したアミロイド核形成メカニズム
3. 学会等名 第59回生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 守島健、井上倫太郎、杉山正明、齋尾智英、吉澤拓也、七浦仁紀、菊池壮太郎、森英一朗
2. 発表標題 超遠心分析 (AUC) を用いたKap 2-PRポリペプチド複合体の解析
3. 学会等名 第5回LLPS研究会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 柚佳祐、今村比呂志、野崎拓郎、藤井悠生、守島健、奥田綾、井上倫太郎、杉山正明、富永圭介、茶谷絵理
2. 発表標題 アミロイド核形成に先立つインスリンの由来種に依存した初期凝集メカニズム
3. 学会等名 第94回日本生化学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 眞弓皓一, Li Xiang, 小田達郎, 守島健, 井上倫太郎, 杉山正明
2. 発表標題 JRR-3 小角中性子散乱装置SANS-Uの現状
3. 学会等名 日本中性子科学会第21回年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤信浩, 裏出令子, 奥田綾, 柚木康弘, 清水将裕, 守島健, 井上倫太郎, 杉山正明
2. 発表標題 重水素化小麦タンパク質の中性子小角散乱測定
3. 学会等名 日本中性子科学会第21回年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 奥田綾, 清水将裕, 守島健, 柚木康弘, 井上倫太郎, 佐藤信浩, 裏出令子, 杉山正明
2. 発表標題 コントラスト同調中性子小角散乱解析を目指したタンパク質ドメインライゲーシヨンの確立
3. 学会等名 日本中性子科学会第21回年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 守島健, 柚木康弘, 清水将裕, 奥田綾, 佐藤信浩, 井上倫太郎, 裏出令子, 矢木宏和, 加藤晃一, 杉山正明
2. 発表標題 超遠心分析と中性子小角散乱の統合手法(AUC-SANS)による生体高分子の構造解析
3. 学会等名 日本中性子科学会第21回年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 矢木宏和、渡辺大輝、Ganser Christian、金明美、吉田早希、佐藤匡史、梅澤芙美子、柚木康弘、守島健、杉山正明、内橋貴之、加藤晃一
2. 発表標題 高速原子間力顕微鏡を用いた糖転移酵素の分子構造動態解析
3. 学会等名 第30回日本バイオイメーjing学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 M. Yohda, R. Midorikawa, A. Kanno, K. Morishima, R. Inoue, M. Sugiyama
2. 発表標題 Study on the temperature-dependent oligomer dissociation mechanism of the small heat shock proteins using those from Methanogenic archaea
3. 学会等名 第21回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 K. Yuzu, H. Imamura, T. Nozaki, K. Morishima, A. Okuda, R. Inoue, M. Sugiyama, and E. Chatani
2. 発表標題 Early aggregation kinetics preceding the nucleation in distinct amyloid formation pathways between bovine and human insulin
3. 学会等名 第21回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2021年

1 . 発表者名 T. Oda, R. Inoue, K. Morishima, R. Oi, Y. Ishino, M. Sato, M. Sugiyama
2 . 発表標題 Analysis of flexible structure of multi-domain protein by SANS using segment deuteration technique.
3 . 学会等名 26th Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography - IUCr 2023 (国際学会)
4 . 発表年 2023年

1 . 発表者名 M. Sugiyama, K. Morishima, Y. Yunoki, R. Inoue, N. Sato, H. Yagi, K. Kato
2 . 発表標題 Oscillation system of cyanobacterial circadian clock system revealed by an integral approach with SAXS, SANS and AUC.
3 . 学会等名 26th Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography - IUCr 2023 (国際学会)
4 . 発表年 2023年

1 . 発表者名 K. Morishima, Y. Yunoki, M. Shimizu, N. Sato, R. Inoue, H. Yagi, K. Kato, M. Sugiyama
2 . 発表標題 Structural analysis of clock protein complex in solution by the integrated approach with analytical ultracentrifugation and small-angle scattering
3 . 学会等名 26th Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography - IUCr 2023 (国際学会)
4 . 発表年 2023年

1 . 発表者名 R. Inoue, T. Oda, K. Morishima, T. Tominaga, H. Nakagawa, N. Aizawa, Y. Kawakita, M. Sato, M. Sugiyama
2 . 発表標題 Dynamics of multi-domain protein
3 . 学会等名 8th International Symposium of Quantum Beam Science (ISQBS2023) (国際学会)
4 . 発表年 2023年

1. 発表者名 守島健、井上倫太郎、杉山正明
2. 発表標題 ラボ光源を用いたSAXSとAUC-SAXSについて
3. 学会等名 SPring-8研修会 タンパク質溶液散乱研修会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 井上倫太郎、守島健、杉山正明
2. 発表標題 SANSによるタンパク質溶液構造解析
3. 学会等名 SPring-8研修会 タンパク質溶液散乱研修会(招待講演)（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 清水将裕、守島健、奥田綾、井上倫太郎、西山晃史、松本壮吉、杉山正明
2. 発表標題 天然変性タンパク質における“変性状態”の理解を目指した溶液散乱研究
3. 学会等名 第61回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 國尾祐貴、柚佳祐、山本直樹、守島健、奥田綾、井上倫太郎、杉山正明、茶谷絵理
2. 発表標題 Bクリスタリンによる早期アミロイド形成阻害の分子機構
3. 学会等名 第61回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 杉山正明、守島健、柚木康弘、井上倫太郎、佐藤信浩、矢木宏和、加藤晃一
2. 発表標題 Orchestration of proteins in a Kai clock system 2
3. 学会等名 第61回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 守島健、清水将裕、柚木康弘、Lionel Porcar、Anne Martel、井上倫太郎、杉山正明
2. 発表標題 Structural analysis of clock protein KaiA-KaiC complex in solution
3. 学会等名 第61回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 柚佳祐、今村比呂志、野崎拓郎、藤井悠生、守島健、奥田綾、井上倫太郎、杉山正明、茶谷絵理
2. 発表標題 ウシ由来インスリンのアミロイドオリゴマーおよびプロトフィブリル形成のモデリング
3. 学会等名 第61回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 眞弓皓一、小田達郎、Li Xiang、橋本慧、土肥侑也、守島健、井上倫太郎、杉山正明
2. 発表標題 小角中性子散乱装置SANS-Uの現状
3. 学会等名 日本中性子科学会第23回年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 守島健、清水将裕、柚木康弘、Lionel Porcar、Anne Martel、井上倫太郎、杉山正明
2. 発表標題 時計タンパク質複合体の溶液構造解析
3. 学会等名 日本中性子科学会第23回年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小田隆、井上倫太郎、守島健、會澤直樹、大井里香、石野良純、奥隆之、佐藤衛、杉山正明
2. 発表標題 区分重水素化タンパク質を用いた中性子小角散乱解析
3. 学会等名 日本中性子科学会第23回年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 會澤直樹、清水将裕、横田幸紀、守島健、奥田綾、佐藤信浩、井上倫太郎、裏出令子、大田ゆかり、杉山正明
2. 発表標題 小角散乱と全原子分子動力学シミュレーションによる α -glucosidaseの溶液構造研究
3. 学会等名 日本中性子科学会第23回年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 佐藤信浩、守島健、大場洋次郎
2. 発表標題 中性子ビーム実験装置の現状と展開:小角散乱
3. 学会等名 次世代中性子ビーム実験装置の連携と展開(日本中性子科学会第23回年会サテライトミーティング)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 守島健、井上倫太郎、杉山正明
2. 発表標題 小角散乱と超遠心分析による多分散溶液中の目的蛋白質の散乱プロファイルの選択的導出
3. 学会等名 第23回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 杉山正明、守島健、柚木康弘、井上倫太郎、佐藤信浩、矢木宏和、加藤晃一
2. 発表標題 Kai時計タンパク質の概日振動のシステム解析
3. 学会等名 第23回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 柚佳祐、今村比呂志、野崎拓郎、藤井悠生、守島健、奥田綾、井上倫太郎、杉山正明、茶谷絵理
2. 発表標題 ウシ由来インスリンのアミロイド核形成に見られるオリゴマーおよびプロトフィブリル形
3. 学会等名 第23回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 真野広大、野井健太郎、守島健、井上倫太郎、杉山正明、山田晃世、養王田正文
2. 発表標題 Synechococcus sp. NKBG15041c由来のMoxR family ATPaseの機能と構造
3. 学会等名 第23回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小田隆、井上倫太郎、守島健、會澤直樹、富永大輝、中川洋、大井里香、石野園子、石野良純、奥 隆之、佐藤 衛、杉山正明
2. 発表標題 X線/中性子散乱によるマルチドメインタンパク質Hefの構造/ダイナミクス研究
3. 学会等名 2023年度量子ビームサイエンスフェスタ
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 杉山正明、守島健、柚木康弘、佐藤信浩、井上倫太郎
2. 発表標題 統合解析によるシアノバクテリア概日時計の振動システムの研究
3. 学会等名 2023年度量子ビームサイエンスフェスタ
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 清水将裕、守島健、井上倫太郎、西山晃史、松本壮吉、杉山正明
2. 発表標題 小角散乱測定と分子動力学計算による天然変性タンパク質の局所構造解析
3. 学会等名 2023年度量子ビームサイエンスフェスタ
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 守島健、清水将裕、柚木康弘、坂本璃月、井上倫太郎、杉山正明
2. 発表標題 超遠心分析と小角散乱を用いた時計タンパク質複合体の溶液構造解析
3. 学会等名 2023年度量子ビームサイエンスフェスタ
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 守島健、清水将裕、柚木康弘、Lionel Porcar、Anne Martel、井上倫太郎、杉山正明
2. 発表標題 超遠心分析と小角散乱を用いた時計タンパク質複合体の溶液構造解析
3. 学会等名 第58回京都大学複合原子力科学研究所学術講演会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 小田隆、井上倫太郎、富永大輝、中川洋、守島健、岩瀬裕希、小沼剛、池上貴久、石野園子、石野良純、奥隆之、佐藤衛、杉山正明
2. 発表標題 超好熱性古細菌由来天然変性タンパク質の高温下でのコンパクト化
3. 学会等名 第58回京都大学複合原子力科学研究所学術講演会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 會澤直樹、小田隆、守島健、清水将裕、奥田綾、井上倫太郎、杉山正明
2. 発表標題 統合的溶液散乱測定によるマルチドメインタンパク質の溶液構造及びダイナミクス解析
3. 学会等名 第58回京都大学複合原子力科学研究所学術講演会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 茶竹俊行、柳澤泰任、高田匠、奥田綾、守島健、井上倫太郎、杉山正明
2. 発表標題 納豆菌由来水溶性ビタミンK2の研究
3. 学会等名 第58回京都大学複合原子力科学研究所学術講演会
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

AUC-SAS解析ソフト
<http://www.rri.kyoto-u.ac.jp/NSBNG/activity.html>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
フランス	Institut Laue-Langevin (ILL)			