

令和 4 年 6 月 10 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06587

研究課題名(和文)真空紫外円二色性と直線二色性法による膜結合蛋白質の精密構造解析

研究課題名(英文)Structural analysis of membrane-bound proteins using synchrotron-radiation circular-dichroism and linear-dichroism spectroscopy

研究代表者

松尾 光一(Matsuo, Koichi)

広島大学・放射光科学研究センター・准教授

研究者番号：40403620

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：タンパク質と生体膜との相互作用は、様々な生命現象と密接に関連している。これら生命現象のメカニズムの理解には、膜に結合したタンパク質の構造解析が重要である。本研究では、リポソーム生体膜存在下など様々な条件下で構造解析が可能な真空紫外円二色性(VUVCD)法を用いて、 α 1酸性糖タンパク質、ミエリン塩基性タンパク質、抗菌性ペプチドの構造-機能相関について調査した。VUVCD法は、生体膜に結合したタンパク質の構造を調べる上で有効であり、他の実験的(直線二色性や蛍光異方性等)・理論的(分子動力学等)手法を組み合わせることで、膜結合タンパク質の構造-機能相関の理解に重要な知見を与えることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、蛋白質が細胞膜と相互作用することで起こる健康や疾患に関係する様々な生命機能のメカニズムを分子レベルで追跡する手法の構築に寄与した点で、学術的意義がある。本手法は、細胞内への物質輸送やパーキンソン病などの疾病メカニズムを解明するための基礎的なデータを提供することができ、将来は健康促進や治療戦略に貢献すると期待される点で社会的意義がある。

研究成果の概要(英文)：Interaction of proteins with lipid membranes plays a key role in the manifestations of various biological phenomena such as myelin formation around neuron cell and antimicrobial activity in immune system. To elucidate the molecular mechanisms underlying the phenomena, it is important to characterize the membrane-bound conformation of proteins in the presence of bilayer liposomes. In this study, vacuum-ultraviolet circular dichroism (VUVCD) spectroscopy was used to characterize the conformations of three types of membrane-bound proteins (α 1-acid glycoprotein, myelin basic protein, and magainin 2 peptide). All the findings suggested that VUVCD and its combination with experimental (linear dichroism and fluorescence) and theoretical (molecular dynamics simulation) methods can provide useful information on the interaction mechanism between proteins and lipid membranes, revealing the structure-function relationships at molecular level.

研究分野：生物物理学

キーワード：放射光 円二色性 タンパク質 生体膜 ミエリン 抗菌性ペプチド 直線二色性 分子動力学

1. 研究開始当初の背景

水溶性蛋白質の生体膜（リン脂質）との相互作用は、蛋白質毒素の膜透過や膜上でのアミロイド線維形成など、様々な生命機能発現の起点となる。これら膜を介した機能発現機構の解明には、水溶性蛋白質の天然構造から膜結合構造への構造変化を精密に観測することが重要である。円二色性(CD)は、キラルな光学活性物質の立体構造を敏感に反映するため、蛋白質の重要な構造解析法となっている。通常光源を用いた市販のCD装置では、水溶液試料で190nm程度の短波長までしか測定できず、獲得できる構造情報に限界がある。広島大学放射光科学研究センターの放射光を光源とした真空紫外円二色性(VUVCD)法は、生体膜存在下などの様々な溶媒条件下で160nmまでCD測定ができるため、天然構造は固より膜結合構造のような非天然構造の蛋白質の構造情報(二次構造の含量、本数・配列情報)を高精度で決定することができる[1]。さらに、VUVCD装置を用いて計測できる蛋白質の直線二色性(LD)からは、膜に結合した蛋白質構造の配向を精密に解析できる[2]。これらの偏光技術は、生体膜存在下での蛋白質の構造解析におけるVUVCDの有効性を示しており、LDによる配向構造の解析技術に加え、膜蛋白質の構造情報を組み込んだ計算科学技術との融合によるVUVCD法の高度化は、これまで困難であった膜結合蛋白質の精密な構造-機能解析を可能にする期待できる。

2. 研究の目的

本研究では、膜結合蛋白質(内在性・表在性膜蛋白質)の二次構造が精密解析できるVUVCD法に、配向構造が解析できるLD法や実験だけでは獲得困難な膜結合蛋白質の局所(膜結合部位)構造を解析できる分子動力学(MD)法を融合し、①膜内への薬物輸送に関わる α_1 -酸性糖蛋白質(AGP)、②髄鞘の安定化に寄与するミエリン塩基性蛋白質(MBP)、③膜孔形成に寄与する抗菌性ペプチドのマガイニン2(M2)の構造・機能解析を展開する。これらの研究により構造生物学の生体膜-蛋白質相互作用研究におけるVUVCD、LD、MD法の有効性について議論する。

3. 研究の方法

本研究で対象とするAGP、MBP、M2の膜結合構造の解析に使用した方法は、AGPではVUVCD法を、MBPではVUVCDとMD法、そしてM2ではVUVCDとLD法である。ここでは使用したVUVCD、MD、LD法について述べる。

3.1 真空紫外円二色性(VUVCD)法

水溶性タンパク質やペプチドであるAGP、MBP、M2に、エクストルージョン法により作成された粒径100nmのリボソーム生体膜を加えて、測定用の試料を調製した。測定は、光路長10と50 μ mの光学セルを用いた。測定時には、生体膜などによる光散乱を抑えるため、試料セルと検出器である光電子増倍管との距離を10mm以内になるように設置した。VUVCDスペクトルを用いた二次構造解析には、SELCON3プログラムを使用した。本プログラムで解析した二次構造は、ヘリックスのregular領域とdistorted領域(両末端4残基分に相当)、ストランドのregular領域とdistorted領域(両末端2残基分に相当)、ターン、ランダムコイルの6成分であった。ヘリックスとストランドのdistorted領域の含量情報から二次構造の本数情報を得た。アミノ酸配列情報から二次構造を予測するNeural Network(NN)法と組み合わせたVUVCD-NN法を用いて、実験データを考慮しながら二次構造の位置解析を行った(VUVCD-NN法の予測精度は、ヘリックス、ストランド、その他(ターン+ランダムコイル)の3種の構造に対する予測精度 Q_3 が、水溶性タンパク質について約75%、膜タンパク質について約73%)。現在のアミノ酸配列に基づいた二次構造予測法よりも精度が劣るが、二次構造含量と本数の実験データを反映できるため、生体膜との相互作用によるタンパク質の構造変化を追跡する手法として有効である。

3.2 直線二色性(LD)

LDに使用するM2と生体膜の混合溶液は、VUVCD測定と同様に調整された。LD(直交する直線偏光の差)スペクトルは、HiSORのVUVCD装置に設置されたFlow型LD測定システムにより得た。二次構造の遷移モーメントは波長によって特定の方向をもつが、水溶液中では均一に分散しているためLDを示さない。しかし、蛋白質が結合した生体膜やアミロイド線維などの高分子をフロー環境下に置くと、二次構造由来のLDを示す。例えば、球形のリボソーム(生体膜)にヘリックスが貫通している場合は、直交する2つの直線偏光の吸収に差が生じないのでLDが観測されないが、フロー環境下ではリボソームは楕円形に変化するため、2つの直線偏光の吸収に差が生じLDが観測される。この符号からヘリックスの生体膜表面に対する配向についての情報を得ることができる。このように、各波長のLDの正負信号から、ヘリックスやストランドの配向に関する構造情報を獲得した。

3.3 分子動力学(MD)

VUVCD-NN 法による二次構造の位置解析により、MBP の膜結合部位として重要となる領域を予測することができる。これらのペプチド領域を対象とし、生体膜との相互作用や親和性を MD 法によるシミュレーションで評価した。生体膜を含んだシミュレーション系は、CHARMM GUI interface⁴⁴ を用いて構築した。GROMACS(Groningen Machine for Chemical Simulation)パッケージと CHARMM36m 力場を用いて、250ns 間のシミュレーションを行った。

4. 研究の成果

3.1 α_1 -酸性糖蛋白質の膜結合構造解析の成果[3]

血漿蛋白質 AGP は、中性または塩基性の薬物と強く結合するが、リポソーム (生体膜) との相互作用により構造変化 ($\alpha \rightarrow \beta$ 転移) を起こしその結合能が減少する。これにより膜表面での薬物濃度が増加し、膜内への薬物輸送が促進すると知られている。本研究では、VUVCD 法を用いて、リポソームの膜表面電荷や脂質頭部の種類(ホスファチジルイノシトール:PI, ホスファチジルエタノールアミン:PE, ホスファチジルコリン:PC, ホスファチジルセリン:PS, スフィンゴミエリン:SM)に依存した AGP の膜結合構造を解析すると共に、膜と相互作用可能な部位の構造と位置を特定し、相互作用を決定する要素について考察した。

5 種類のリン脂質分子で作成された粒径 100 nm のリポソーム脂質二重膜を作成し、これらリポソーム存在下で、AGP の VUVCD スペクトルを 260~170 nm の範囲で測定した (図 1)。リン脂質と AGP の濃度比は、1 : 60 とした。スペクトルを SELCON3 プログラムにより解析した結果、AGP のヘリックスやストランド含量及びそれらの本数は、リポソームの成分脂質の種類の違いにより大きく変化することが分かった。NN 法を組み合わせた二次構造の位置解析から、AGP の膜結合構造は、いくつかの長いヘリックスと短いストランドから形成することが分かった。

各ヘリックス領域のアミノ酸配列から、ヘリックスの特徴を調査したところ、PI リポソーム存在下では AGP の N 末端と C 末端領域がそれぞれ両親媒性ヘリックスと正に帯電したヘリックスであることが分かった。静電的相互作用を弱めるため塩添加で VUVCD 実験を行った結果、N 末端のヘリックスの長さは変化しなかったが、C 末端のヘリックスの長さが短くなった。このため、N 末端領域は両親媒性ヘリックスであり、疎水性相互作用と静電的相互作用で膜と結合でき、C 末端領域のヘリックスは静電的相互作用のみで膜と結合していることがわかった (図 2)。N 末端領域は、薬物結合サイトが多数存在し、このような強い相互作用による構造変化が、薬物の結合を強く阻害すると考えられる。

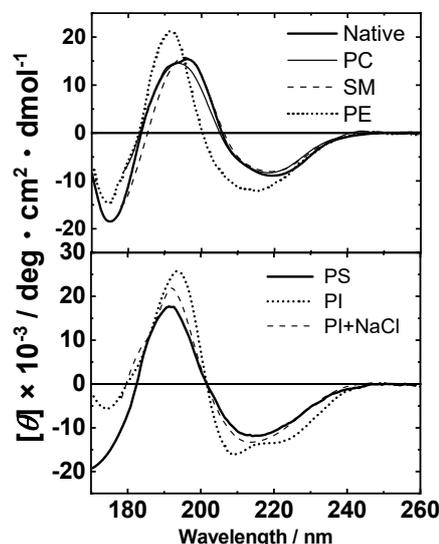


図 1 リポソーム存在下での AGP の VUVCD スペクトル

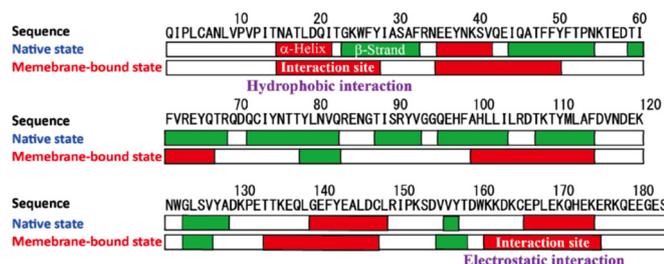


図 2 PI リポソーム存在下での AGP の二次構造配列及び膜結合部位と相互作用の種類

3.2 ミエリン塩基性蛋白質の膜結合構造解析の成果[4]

MBP は、中枢神経系の軸索周辺に形成されるミエリン(リン脂質や糖脂質が主成分)に多く含まれ、ミエリンの構造安定性や軸索のミエリン化に大きく関わる。本研究ではミエリン膜を構成するリン脂質成分からリポソームを作成し MBP の膜結合部位の構造と位置を VUVCD により解析した。さらに、MD 法を用いて膜結合部位の詳細な構造や相互作用機構をアミノ酸残基レベル明らかにし、MBP によるミエリン膜の安定化メカニズムについて考察した。

実験で使用した生体膜は、MBP の膜結合で重要となる PI、ホスファチジルイノシトールリン酸 (PIP)、ホスファチジルイノシトール二リン酸 (PIP2) 脂質分子であり、これら分子から作成した粒径 100 nm のリポソームを生体膜として、MBP の膜結合構造の解析を行った。各リポソーム存在下での MBP の VUVCD スペクトルを図 3 に示す。これにより、MBP はリポソーム非存在下ではランダム構造を形成するのに対し、リポソーム存在下ではヘリックス構造を形成することが分かった。また、二次構造解析の結果、脂質分子の負電荷の数の増加は構造形成に寄与すること (PI < PIP = PIP2)、また膜結合構造ではヘリックス含量が約 40%、ヘリックス数が 8 本あることが分かった (図 4)。これら 8 本のヘリックスを *in silico* で作成し、MD 法により膜結合性を調査した結果、膜結合部位として、8 本の内、2 本が両親媒性ヘリックス、3 本が非両親媒性ヘリックスとして膜と結合できること

が分かった。さらに、各アミノ酸残基と脂質分子のリン酸基との距離を解析した結果、非両親媒性ヘリックスは膜表面と静電的相互作用し、両親媒性ヘリックスは静電的・疎水的相互作用により膜表面より内部に侵入していることが分かった。MBPのこれらヘリックス領域が生体膜と強く結合し、ミエリン膜の構造安定化に寄与することが示唆された。

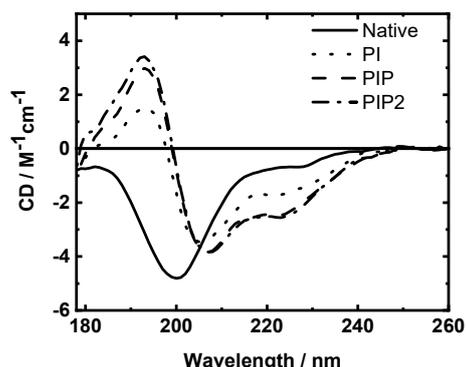


図3 リポソーム存在下でのMBPのVUVCDスペクトル

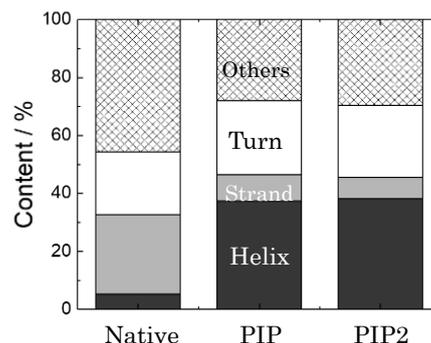


図4 PIP膜と結合したMBPの二次構造含量

3.3 マガイニン2の膜結合構造解析の成果[5]

M2は、アフリカツメガエルの皮膚から発見された23個のアミノ酸からなる抗菌ペプチドであり、その抗菌作用は、M2の細胞膜との結合と膜を貫通する孔の形成に起因するとされる。本研究では、M2と生体膜の相互作用のメカニズムを、VUVCDとLD、膜の安定性が観測できる蛍光異方性を用いて明らかにし、M2の膜結合構造とその活性との関係について検討した。

生体膜は、緑膿菌等の細胞膜に存在するジパルミトイルホスファチジルグリセロール脂質分子から粒径100 nmのリポソームを調製し利用した。VUVCD測定の結果、M2は脂質対ペプチド (L/P) 比の増加に伴い、中間状態を経由してランダムコイル構造からヘリックス構造に変化することが分かった (図5)。得られたVUVCDデータを用いて吸着モデルを基にしたglobal fitting解析を行った結果、L/P比の減少に伴い、M2は生体膜上でヘリックスの単量体から、中間状態であるストランド構造の多量体に変化することが分かった (図6)。中間状態を多く含むL/P比で、フロー状態にあるM2のLDを測定した結果、ストランドに由来するLDが観測された。解析の結果、生体膜表面に対してストランド軸が垂直の配向していることが分かった。さらに、このストランドを含む中間体状態での生体膜安定性を蛍光異方性で調べた結果、多量体はDPPGリポソームの脂質二重層構造を不安定化させることが分かった。カルセインを用いた漏出実験においてもリポソーム内から色素の漏出が観測された。以上の結果から、生体膜上でのM2のシート多量体形成が、抗菌作用において重要な要素であることが示唆された。

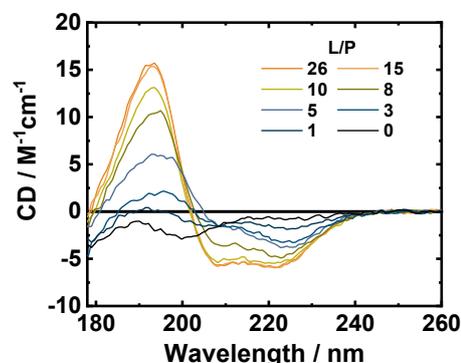


図5 L/P比に依存したM2のVUVCDスペクトル

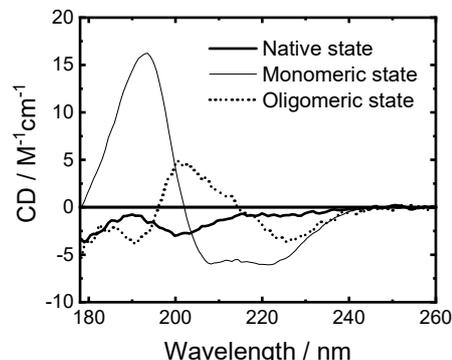


図6 M2の中間体(オリゴマー)の計算CDスペクトル

以上の結果は、VUVCD法が生体膜に結合したタンパク質の構造を調べる上で有効であり、またVUVCDと実験的(LDや蛍光異方性等)・理論的(MD等)手法を組み合わせることで、膜結合タンパク質の構造-機能相関の理解に重要な洞察を与えることを示している。

参考文献

1. K. Matsuo, K. Gekko (2019) Circular-dichroism and synchrotron-radiation circular-dichroism spectroscopy as tools to monitor protein structure in a lipid environment. *Methods Mol. Biol.*, **2003**, 253–279.
2. K. Matsuo, H. Namatame, M. Taniguchi, K. Gekko (2016) Conformation of membrane-bound proteins revealed by vacuum-ultraviolet circular-dichroism and linear-dichroism spectroscopy. *Proteins*, **84**, 349–359.

3. K. Matsuo, M. Kumashiro, K. Gekko (2020) Characterization of the mechanism of interaction between alpha(1)-acid glycoprotein and lipid membranes by vacuum-ultraviolet circular-dichroism spectroscopy. *Chirality*, **32**, 594–606.
4. M. Kumashiro, Y. Izumi, K. Matsuo (2021) Conformation of myelin basic protein bound to phosphatidylinositol membrane characterized by vacuum-ultraviolet circular-dichroism spectroscopy and molecular-dynamics simulations. *Proteins*, **89**, 1251–1261.
5. M. Kumashiro, R. Tsuji, S. Suenaga, K. Matsuo (2022) Formation of β -strand oligomers of antimicrobial peptide magainin 2 contributes to disruption of phospholipid membrane, *Membranes*, **12**, 131 (15pages)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計19件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 J Maruyama, S Maruyama, Y Kashiwagi, M Watanabe, T Shinagawa, T Nagaoka, T Tamai, N Ryu, K Matsuo, M. Ohwada, K. Chiba, T. Yoshii	4. 巻 14
2. 論文標題 Helically aligned fused carbon hollow nanospheres with chiral discrimination ability	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nanoscale	6. 最初と最後の頁 3748 - 3757
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D1NR07971A	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 M Kumashiro, R Tsuji, S Suenaga, K Matsuo	4. 巻 12
2. 論文標題 Formation of α -Strand Oligomers of Antimicrobial Peptide Magainin 2 Contributes to Disruption of Phospholipid Membrane	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Membranes	6. 最初と最後の頁 131 (15pages)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/membranes12020131	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 T. Matsuo, K. Nakatani, T. Setoguchi, K. Matsuo, T. Tamada, Y. Suenaga	4. 巻 11
2. 論文標題 Secondary structure of human De Novo evolved gene product NCYM analyzed by vacuum-ultraviolet circular dichroism	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Front. Oncol.	6. 最初と最後の頁 688852 (10page)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fonc.2021.688852	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 M. Kumashiro, Y. Izumi, K. Matsuo	4. 巻 89
2. 論文標題 Conformation of myelin basic protein bound to phosphatidylinositol membrane characterized by vacuum-ultraviolet circular-dichroism spectroscopy and molecular dynamics simulations.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proteins	6. 最初と最後の頁 1251-1261
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/prot.26146	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 D. Salem, M. Sallam, G. Labib, T. Youssef, K. Matsuo	4. 巻 496
2. 論文標題 Studies on saccharide benzimidazoles: 2-(-D-gulofuranosyl)benzimidazole and 2-(-D-glucofuranosyl)benzimidazole C-nucleoside analogs; synthesis, anomeric configuration and antifouling potency	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Carbohydr. Res.	6. 最初と最後の頁 108073(12page)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.carres.2020.108073	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 T. Masuda, S. Baba, K. Matsuo	4. 巻 688
2. 論文標題 The high-resolution crystal structure of lobster hemocyanin shows its enzymatic capability as a phenoloxidase	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Arch. Biochem. Biophys	6. 最初と最後の頁 108370 (12page)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.abb.2020.108370	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 T. Umezawa, N. Mizutani, K. Matsuo, Y. Tokunaga, F. Matsuda, T. Nehira	4. 巻 26
2. 論文標題 Assignment of Absolute Configuration of Bromoallenes by Vacuum-Ultraviolet Circular Dichroism (VUVCD)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 1296(12page)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules26051296	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 K. Matsuo, M. Kumashiro, K. Gekko	4. 巻 32
2. 論文標題 Characterization of the mechanism of interaction between alpha1-acid glycoprotein and lipid membranes by vacuum-ultraviolet circular-dichroism spectroscopy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chirality	6. 最初と最後の頁 594-604
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/chir.23208	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 Matsuo Koichi, Gekko Kunihiro	4. 巻 124
2. 論文標題 Vacuum Ultraviolet Electronic Circular Dichroism Study of d-Glucose in Aqueous Solution	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry A	6. 最初と最後の頁 642 ~ 651
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpca.9b09210	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 T. Kawasaki, Y. Izumi, G. Ohori, H. Kitahara, T. Furuya, K. Yamamoto, K. Matsuo, M. Tani, K. Tsukiyama	4. 巻 40
2. 論文標題 Study on irradiation effect of mid-infrared free electron laser on hen egg-white lysozyme by using terahertz-time domain spectroscopy and synchrotron radiation vacuum-ultraviolet circular-dichroism spectroscopy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Infrared, Millimeter, and Terahertz Waves	6. 最初と最後の頁 998-1009
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10762-019-00626-9	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 Matsusaki Motonori, Okuda Aya, Matsuo Koichi, Gekko Kunihiro, Masuda Taro, Naruo Yurika, Hirose Akiho, Kono Keiichi, Tsuchi Yuichiro, Urade Reiko	4. 巻 294
2. 論文標題 Regulation of plant ER oxidoreductin 1 (ER01) activity for efficient oxidative protein folding	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 18820 ~ 18835
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA119.010917	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 Matsuo Koichi, Gekko Kunihiro	4. 巻 2003
2. 論文標題 Circular-Dichroism and Synchrotron-Radiation Circular-Dichroism Spectroscopy as Tools to Monitor Protein Structure in a Lipid Environment	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 253 ~ 279
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-9512-7_12	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 -

〔学会発表〕 計48件（うち招待講演 8件 / うち国際学会 16件）

1. 発表者名 Munehiro Kumashiro, Ryoga Tsuji, Shoma Suenaga, Koichi Matsuo
2. 発表標題 Orientation Analysis of Antimicrobial Peptide Magainin 2 Bound to Phospholipid Membrane by Synchrotron-Radiation Linear Dichroism Spectroscopy
3. 学会等名 The 26th Hiroshima International Symposium on Synchrotron Radiation (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ryoga Tsuji, Munehiro Kumashiro, Koichi Matsuo
2. 発表標題 Membrane-Bound Conformations of Magainin 2 depending on the Inherent Characteristics of Membrane Revealed by Synchrotron-Radiation Circular Dichroism Spectroscopy
3. 学会等名 The 26th Hiroshima International Symposium on Synchrotron Radiation (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Satoshi Hashimoto, Koichi Matsuo
2. 発表標題 Development of Time-Resolved Vacuum-Ultraviolet Circular Dichroism Spectroscopy and its Application to the Interaction Analysis between α -Lactoglobulin and Lipid Membrane
3. 学会等名 The 26th Hiroshima International Symposium on Synchrotron Radiation (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 熊代 宗弘、末永 翔磨、松尾 光一
2. 発表標題 放射光円二色性・直線二色性・蛍光異方性によるマガイニン2の膜誘起凝集体形成の解析
3. 学会等名 第35回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 辻 怜河, 熊代 宗弘, 松尾 光一
2. 発表標題 脂質分子の特性に依存するマガイニン 2 の膜結合構造
3. 学会等名 第59回 日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 熊代 宗弘, 末永 翔磨, 松尾 光一
2. 発表標題 放射光円二色性・直線二色性・蛍光異方性により明確化された生体膜に誘起された マガイニン 2 凝集体の特徴
3. 学会等名 第59回 日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今浦 稜太, 熊代 宗弘, 河田 康志, 松尾 光一
2. 発表標題 真空紫外円二色性と直線二色性による シヌクレインの生体膜相互作用研究
3. 学会等名 第22回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 熊代宗弘, 末永翔 磨, 松尾光一
2. 発表標題 放射光円二色性・直線二色性・蛍光異方性による抗菌ペプチドマガイニン 2 の膜結合 により誘起された -sheet 凝集体の研究
3. 学会等名 Molecular Chirality 2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松尾光一
2. 発表標題 放射光円二色性分光法と 生体分子の構造研究
3. 学会等名 サントリー-生命科学財団 オンラインセミナー (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shun Sawada, Munehiro Kumashiro, Ryota Imaura, Koichi Matsuo
2. 発表標題 Desiccation-Induced Conformational Change of Group 3 LEA Protein in the presence of Membrane Characterized by Vacuum-Ultraviolet Circular Dichroism Spectroscopy
3. 学会等名 The 26th Hiroshima International Symposium on Synchrotron Radiation (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 M. Kumashiro, K. Matsuo
2. 発表標題 Circular Dichroism Study of Magainin 2-Membrane Interaction: Evidence for beta-Strand Formation upon Membrane Association
3. 学会等名 The 25th Hiroshima International Symposium on Synchrotron Radiation (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 R. Tsuji, M. Kumashiro, K. Matsuo
2. 発表標題 Study of Membrane-Bound Conformation and Pore Formation of Magainin2 using Vacuum-Ultraviolet Circular Dichroism Spectroscopy
3. 学会等名 The 25th Hiroshima International Symposium on Synchrotron Radiation (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松尾 光一
2. 発表標題 真空紫外円二色性分光法を用いた生体分子の構造研究
3. 学会等名 日本分光学会 関西支部支部、紫外フロンティア分光部会 合同講演会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松尾光一、魚見彩乃、清水健、泉雄大、月向邦彦
2. 発表標題 真空紫外円二色性法を用いたグルコースの構造と水和に関する研究
3. 学会等名 第34回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 熊代宗弘、辻怜河、松尾光一
2. 発表標題 放射光円二色性分光によるマガイニン 2 の膜孔形成過程における脂質自発曲率と膜流動性の寄与の研究
3. 学会等名 第34回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松尾 光一
2. 発表標題 加速器で健康を科学する
3. 学会等名 広島大学・KEK-day 加速器のすゝめ（招待講演）
4. 発表年 2020年

1 . 発表者名 M. Kumashiro, K. Matsuo
2 . 発表標題 Effect of Lipid Spontaneous Curvature and Membrane Fluidity on Magainin 2-induced Pore Formation Characterized by Synchrotron Radiation Circular Dichroism Spectroscopy
3 . 学会等名 Molecular Chirality Asia 2020 (国際学会)
4 . 発表年 2020年

1 . 発表者名 S. Suenaga, M. Kumashiro, K. Matsuo
2 . 発表標題 Effect of Membrane Thickness on Magainin 2-Induced Pore Formation Characterized by Vacuum-Ultraviolet Circular-Dichroism and Linear-Dichroism Spectroscopy
3 . 学会等名 第20回日本蛋白質科学会年会
4 . 発表年 2020年

1 . 発表者名 R. Imaura, M. Kumashiro, Y. Kawata, K. Matsuo
2 . 発表標題 Study on Membrane-Interaction Site of alpha-Synuclein using Vacuum-Ultraviolet Circular-Dichroism Spectroscopy and Molecular Dynamics Simulation
3 . 学会等名 第20回日本蛋白質科学会年会
4 . 発表年 2020年

1 . 発表者名 K. Matsuo, M. Kumashiro, K. Gekko
2 . 発表標題 Interaction Mechanism between alpha1-Acid Glycoprotein and Membrane Characterized by Vacuum-Ultraviolet Circular-Dichroism Spectroscopy
3 . 学会等名 第20回日本蛋白質科学会年会
4 . 発表年 2020年

1. 発表者名 Koichi Matsuo
2. 発表標題 Characterizations of Biomolecule Structures in Aqueous Solution Using Synchrotron-Radiation Circular-Dichroism Spectroscopy
3. 学会等名 Materials Science workshop (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Koichi Matsuo
2. 発表標題 Synchrotron-Radiation Circular-Dichroism Spectroscopy for Monitoring Biomolecule Structures in Various Environments
3. 学会等名 MIRAI: Moving together towards a sustainable future (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Koichi Matsuo
2. 発表標題 Synchrotron-radiation circular-dichroism spectroscopy as a tool to monitor protein structure in a lipid environment
3. 学会等名 International Young Researchers Workshop on Synchrotron Radiation Science 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takeru Shimizu, Yudai Izumi, Koichi Matsuo
2. 発表標題 Effects of Mono-Saccharides on Structural Stabilization of Apo-Myoglobin Studied by Synchrotron-Radiation Circular-Dichroism Spectroscopy
3. 学会等名 Japanese-Korean Students Workshop (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Koichi Matsuo, Kunihiko Gekko
2. 発表標題 Interaction Mechanism between α 1-Acid Glycoprotein and Membrane Characterized by Synchrotron-Radiation Circular-Dichroism Spectroscopy
3. 学会等名 International Conference on Chiroptical Spectroscopy (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松尾光一
2. 発表標題 放射光円二色性による糖類の構造ダイナミクスと水和に関する研究
3. 学会等名 第25回HiSOR研究会 小型放射光リングによる多彩な量子ビームの発生と応用 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Koichi Matsuo, Hirotsugu Hiramatsu, Robert W. Woody
2. 発表標題 Structural Characterization of α 2 Microglobulin Core Fragments in Amyloid Fibrils using Circular Dichroism Theory and Molecular Dynamics
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 熊代宗弘、泉雄大、松尾光一
2. 発表標題 真空紫外円二色性分光によるミエリン塩基性タンパク質のホスファチジルイノシトール生体膜相互作用研究
3. 学会等名 第19回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 末永翔磨、熊代宗弘、松尾光一
2. 発表標題 放射光真空紫外円二色性によるマガイニン2の生体膜相互作用に関する研究
3. 学会等名 第33回日本放射光学会年会 放射光科学合同シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 清水健、熊代宗弘、Frank Wien、泉雄大、松尾光一
2. 発表標題 放射光円二色性法を用いた単糖類の分子特性とアポミオグロビンの構造安定化についての研究
3. 学会等名 第33回日本放射光学会年会 放射光科学合同シンポジウム
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 松尾 光一, 熊代 宗弘	4. 発行年 2022年
2. 出版社 (株)技術情報協会	5. 総ページ数 564 (内 p136-p145)
3. 書名 疾患の原因遺伝子・タンパク質の解析技術と創薬/診断技術への応用 (第2章第3節 真空紫外円二色性法による疾患原因タンパク質の構造解析)	

1. 著者名 築山光一 / 星野翔麻・編著	4. 発行年 2021年
2. 出版社 株式会社講談社サイエンティフィック	5. 総ページ数 320 (内 p183-p202, p227-p238)
3. 書名 紫外可視・蛍光分光法 (第4章 円偏光分光法 4.1旋光分散計と円二色性、4.4円二色性分光法の実際)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

熱ダメージで毛髪タンパクが構造変化する過程の高精度観察に世界で初めて成功
<http://www.hsrb.hiroshima-u.ac.jp/research/result/54.html>
神経ネットワークの形成に必要な「糊」タンパク質の構造の初観測
多発性硬化症やパーキンソン病などの研究への応用に期待
<http://www.hsrb.hiroshima-u.ac.jp/research/result/57.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			
エジプト	Alexandria University			
フランス	Synchrotron SOLEIL			