

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：14301

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(B)）

研究期間：2019～2023

課題番号：19KK0071

研究課題名（和文）量子ビーム相関解析法による生体高分子構造・ダイナミクスの探求

研究課題名（英文）Correlated quantum beam analyzes to explore the structure and dynamics of biomacromolecules

研究代表者

井上 倫太郎（Inoue, Rintaro）

京都大学・複合原子力科学研究所・准教授

研究者番号：80563840

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 14,100,000円

研究成果の概要（和文）：フランス・ラウエランジュバン研究所に設置されている小角中性子散乱装置(SANS) D22の装置責任者として協働して溶液中の生体高分子の構造・ダイナミクス解析を行なった。具体的には、タンパク質複合体の運動性が極めて高い部分を含めた全体構造解析、SANS及び小角X線散乱(SAXS)の同時測定によるタンパク質複合体の動態観察、マルチドメインタンパク質(MDP)の機能に直結する特定のドメインのみを可視化するためにセグメント重水素化MDPを用いたSANS測定である。以上の研究より、当初の予定以上の研究成果が得られ更に若手研究者の今後の国際交流を活性化できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究により今で計測が困難であった特に運動性が高い生体高分子の溶液中の構造解析手法を確立することが可能となった。本手法は他の運動性が極めて高く且つ生物学的な機能とより密接に関係する生体高分子の溶液構造及びダイナミクス解析を可能にし、最終的にそれらの機能発現の機構解明に貢献可能と言える。また、生体高分子の動きを加味した構造解析の情報は、現在主流な構造予測となっているAlphaFoldなどからは未だ得ることができない。そのため、これらの情報は今後のより薬効の高い薬剤開発にも貢献可能であると強く期待できる。

研究成果の概要（英文）：We collaborated with the scientists, who are in charge of the Small-Angle Neutron Scattering Spectrometer (SANS) D22 at the Institut Laue-Langevin, France to analyze the structure and dynamics of biomacromolecules in solution state. To be more specific, we have performed the structural analysis of protein complexes, including those with extremely high mobility, observation of protein complex dynamics by simultaneous SANS and small-angle X-ray scattering (SAXS) measurements, and SANS measurements on segment deuterated multidomain proteins (MDPs) for selective analyzes for specific (or functionally-relevant) domains in MDP. The above studies have yielded more research results than originally planned and have further stimulated future international collaborations among young researchers.

研究分野：生物物理

キーワード：中性子散乱 重水素化

1. 研究開始当初の背景

これまでの構造生物学では、対象となる生体高分子を選択的に抽出・精製し、単分散系における構造解析(結晶構造解析・核磁気共鳴・クライオ電子顕微鏡)が行われてきた。しかしながら、生命現象は多くの分子が状況に応じて会合解離することで多段階に進行する協奏現象である。各段階において、生体高分子は構造変化とそれにより誘起される会合体形成・組替・解消により特徴的な機能を発現しており、これらの機能の集合こそが生命現象と言える。そのため、今後は独立して構造解析で得られた各分子の構造を基に実際にその変動の中で各分子の構造を解明していく方向に注目が集まっている。この目的のためには今後は単独手法ではなく種々の測定手法を有機的に組み合わせることで解析を進める「統合構造生物学」が主流になる。この統合構造生物学において、溶液中での分子の構造解析法である小角散乱は計算機シミュレーションと共同で解析をすることで、溶液中の分子の動態を解明する手法として注目を集めつつあった。その小角散乱の中で、特に小角 X 線散乱 (SAXS) を用いた研究が国内外で精力的に進められてきた。しかしながら、SAXS のみでは生体高分子の特定成分及びドメインを含めた特定部位の選択的計測、上述したような会合体形成に伴う複雑なダイナミクス計測は未だ困難である。その結果、計算機シミュレーションからの解析結果に一義性に関して、未だ議論の余地がある。

2. 研究の目的

中性子線をプローブとして用いる小角中性子散乱 (SANS) は特に、試料の重水素化と組み合わせる事で生体高分子の特定成分及びドメインを含めた特定部位の選択的計測、タンパク質複合体の解離会合に伴う溶液ダイナミクスの可視化が可能となる。しかしながら、日本国内の SANS 装置では十分な中性子強度を得ることができないため、これらの研究を展開するための足枷となっていた。そのような状況を打開するために、フランスグルノーブルにある世界最高強度の中性子強度を有するラウエランジュバン研究所に設置されている SANS 装置 D22 の装置責任者と若手研究者が協働することで、SANS と試料の重水素化技術を最大限に活用より達成される溶液中の生体高分子の構造及びダイナミクス解析を行なった。

3. 研究の方法

本研究課題においては、特に三つの研究対象に注目した。一つの研究対象は、24 時間の周期を制御する時計タンパク質 KaiA, KaiB, KaiC の三者複合体の全体構造解析である。単純な KaiA, KaiB, KaiC のみの混合のみでは、三者複合体のみならず凝集成分やそれぞれの成分の遊離成分が溶液中に共存するため、サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) と SANS を組み合わせた SEC-SANS 測定を三者複合体に対して行なった。なお、この三者複合体においては運動性の高い KaiA を特に選択的に計測するために軽水素化 KaiA, 75%重水素化 KaiB, 75%重水素化 KaiC (注: 重水中で不可視化される) を用いた。二つの研究対象は、同じく時計タンパク質のダイナミクス的一种である KaiA のサブユニット交換を SANS/SAXS 同時計測により追跡した。三つ目の研究対象は、酸化的フォールディングを担う MDP の一種である ER-60 に注目した。ER-60 は a, b, b', a' の四つのドメインから構成され、特に両端の a, a' のドメインが酸化的フォールディングに直接関与していると考えられている。そこで、この両端のドメインのみの選択的計測のため軽水素化 a, a' ドメイン及び 75%重水素化 b, b' ドメインから構成されるセグメント重水素化 ER-60 を調製した。このセグメント重水素化 ER-60 は、通常の ER-60 と比較して構造的に不安定であるため凝集及び分解物を含まないセグメント重水素化 ER-60 の選択的計測を行うために SEC-SANS 測定を行なった。

4. 研究成果

KaiA, KaiB, KaiC の三者複合体の全体構造解析

図 1(a) に軽水素化 KaiA, 75%重水素化 KaiB, 75%重水素化 KaiC の混合溶液の SEC-SANS 測定より得られた三者複合体の SANS プロファイルを示す、参照として三者複合体の SEC-SAXS 測定から観測された三者複合体の SAXS プロファイルを図 1(b) に示す。可視化部位の相違により、明確に観測された散乱プロファイルの相違が確認された。この散乱プロファイルの相違を定量的に示すために回転半径 (R_g) を算出したところ、KaiA のみが可視化される SANS プロファイルからは $78.1 \pm 1.0 \text{ \AA}$ 、SAXS プロファイルからは $69.5 \pm 0.2 \text{ \AA}$ と算出された。SANS 及び SAXS から得られ

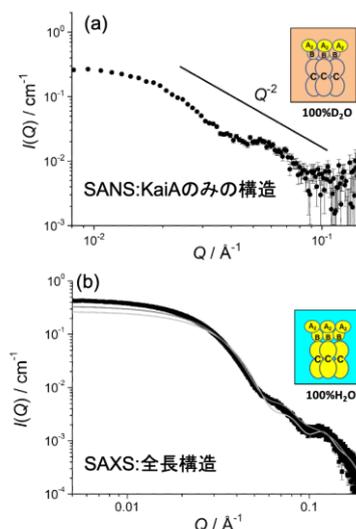


図 1 (a) 軽水素化 KaiA, 75%重水素化 KaiB, 75%重水素化 KaiC により構成された三者複合体の SANS プロファイル。(b) 三者複合体の SAXS プロファイル。

た構造を基に、rigid-body modeling と all-atom MD を組み合わせた計算機解析により KaiA, KaiB, KaiC の三者複合体の全長構造の解明を行なった。図 2(a)にその計算機解析から得られた構造、更に図 2(b)に構造揺らぎを平均化した構造を示す。SEC-SANS 測定で注目した KaiA が非常に揺らいでいる様子が明確であり、この高い運動性によりこれまでに行われた X 線結晶構造解析やクライオ電子顕微鏡観察では三者複合体の全長構造が解明に困難であることを如実に表している。即ち、タンパク質複合体の運動性の高い部位を含めた解析が SANS、SAXS 及び計算機解析を有機的に組み合わせる事で可能となった。

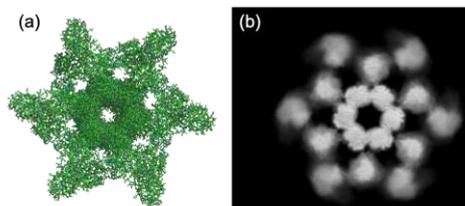


図 2 (a) 計算機解析により解明した KaiA, KaiB, KaiC の三者複合体の全長構造。(b) 構造揺らぎを平均化した構造。

SANS/SAXS 同時計測により時計タンパク質のサブユニット交換観測

SANS/SAXS 同時計測は、ラウエランジュバン研究所の SANS 装置 D22 に SAXS 装置を組み合わせることで実施した。中性子と X 線は互いに直交して試料に入射し、同一試料の同時測定を行った (図 3)。KaiA, KaiB, KaiC 三者複合体における KaiA のサブユニット交換を観測するために、図 4(a)のように(1) h-KaiA + 75d-KaiB + 75d-KaiC (重水中で KaiA のみ中性子散乱的に可視化) 及び、(2) 75d-KaiA + 75d-KaiB + 75d-KaiC (重水中で全て中性子散乱的に不可視化) からなる三者複合体を調製し、(1)と(2)を混合した後の散乱強度の変化を観測した (ここで、h は軽水素体、75d は 75%重水素体を示す)。図 5 には(1)と(2)を混合して 30 分後の(a)SANS 及び(b)SAXS プロファイルを描きつづし黒丸で示す。比較として、(1)のみの溶液の散乱プロファイルを描きつづし黒丸で示す (なお、SANS プロファイルでは h-KaiA の濃度で縦軸を規格化してプロットしている)。図 5(a)に示すように、(1)と(2)の混合溶液では、(1)のみの溶液と比較して SANS の原点散乱強度が減少した。図 4(c)のように h-KaiA と 75d-KaiA がヘテロに組み込まれた ABC 複合体が形成されると、散乱コントラストの減少に伴い原点散乱強度が減少するため、KaiA のサブユニット交換が示唆される結果が得られたといえる。なお、図 5(b)に示す SAXS プロファイルでは両者の違いは確認されておらず、複合体の分解や凝集は起きてはいることが裏付けられた。図 5(c)は(1)と(2)を混合した後の SANS の原点散乱強度の経時変化を示す。測定時間内において原点散乱強度の経時変化は観測されなかったため、KaiA のサブユニット交換は(1)と(2)を混合後速やかに (遅くとも 2 分以内に) 完了することが明らかになった。

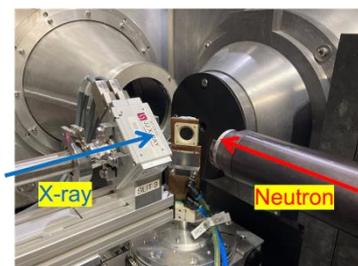


図 3. SANS/SAXS 同時計測における試料照射部。

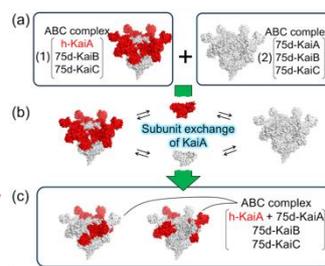


図 4. KaiA, KaiB, KaiC 三者複合体における KaiA のサブユニット交換の模式図。

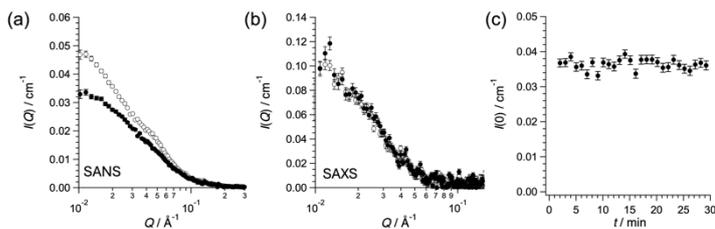


図 5. (a), (b) h-KaiA + 75d-KaiB + 75d-KaiC と 75d-KaiA + 75d-KaiB + 75d-KaiC の混合溶液 (塗りつづし黒丸) と、h-KaiA + 75d-KaiB + 75d-KaiC 溶液 (白抜き黒丸) の SANS 及び SAXS プロファイル。(c) h-KaiA + 75d-KaiB + 75d-KaiC と 75d-KaiA + 75d-KaiB + 75d-KaiC の混合後の SANS の原点散乱強度の経時変化。

セグメント重水素化 ER-60 の SEC-SANS 測定による特定ドメインの計測

ER-60 の a, a' のドメインのみに着目した選択的構造解析のために、軽水素化 a, a' ドメイン及び 75%重水素化 b, b' ドメインから構成されるセグメント重水素化 ER-60 (ha-75d(bb')-ha') を、酵素を用いたドメインライゲーション技術により調製した (図 6)。セグメント重水素化 ER-60 は中性子のコントラストマッチングにより 100%重水中で軽水素化 a, a' ドメインが散乱的に可視化、75%重水素化 b, b' ドメインが不可視される。比較として、全てのドメインが軽水素化されている wild type ER-60

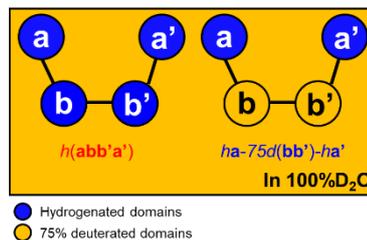


図 6. セグメント重水素化 ER-60。

($h(abb'a')$)との比較を行うこととした。また、ライゲーションした試料は安定性に課題があるため、凝集物及び分解物を含まない SANS プロファイルを得るために SEC-SANS 測定を行った。測定は Kai タンパク質と同様にラウエランジュバン研究所の SANS 装置 D22 で行われた。SEC-SANS システムは2台の HPLC およびオートサンプラー、フラクションコレクター、フローセル、セル部分の UV 検出器、SEC カラム (Superdex 200 Increase 5/150GL (Cytiva))、各種流路切り替えバルブから構成されている (図 7)。フローセルの容量は 200 μ L であり、SEC カラムからの溶出容積 (100 μ L) よりも大きいためセル内で試料が希釈される。十分な散乱強度を得るために、SEC カラムに試料を 5 mg/mL、100 μ L アプライし、ピークトップで試料濃度が 1.5 mg/mL 以上となるようにした。また、十分なデータを積算するため、SEC のピークトップでバッファフローを停止し計測を続けるストップモードでの測定を行った。結晶構造から予測される SANS プロファイルおよび SEC-SANS 測定の結果を図 8 に示す。 $h(abb'a')$ と $ha-75d(bb')-ha'$ の SANS プロファイルを比較すると、 $q=0.08\sim$

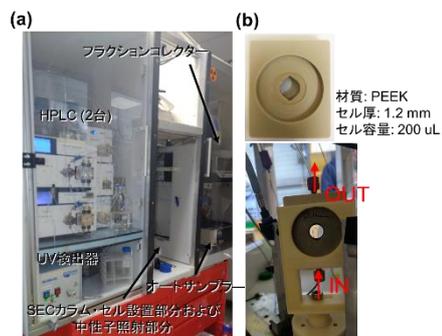


図 7. (a) SEC-SANS システム。
(b) SEC-SANS フローセル。

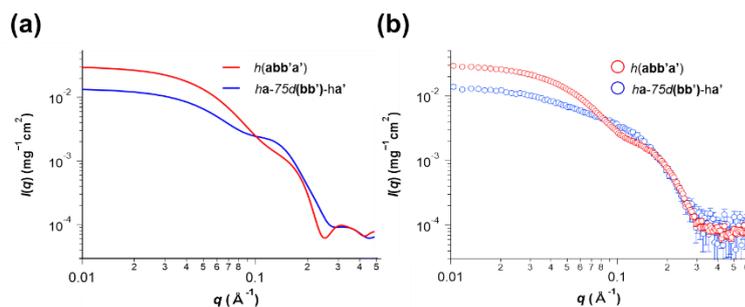


図 8. 軽水素化 wild type ER-60 ($h(abb'a')$, 赤) とセグメント重水素化 ER-60 ($ha-75d(bb')-ha'$, 青)の(a)結晶構造からの予測及び(b)実験から得られた SANS プロファイル。

0.2 \AA 付近に特徴的なバンプピークの形状が予測通り顕著に異なっていた。これは **a** および **a'** ドメインの構造相関を反映したものである。現在、さらなるドメインの構造相関の可視化とダイナミクス解析のために、分子動力学計算と組み合わせた構造解析を進めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計18件（うち査読付論文 18件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 14件）

1. 著者名 Inoue Rintaro, Oroguchi Tomotaka, Oda Takashi, Farago Bela, Martel Anne, Porcar Lionel, Sato Mamoru, Sugiyama Masaaki	4. 巻 5
2. 論文標題 Internal dynamics of multidomain protein as revealed by an optimized neutron spin echo measurement and all-atom molecular dynamics simulation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Physical Review Research	6. 最初と最後の頁 43154
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1103/PhysRevResearch.5.043154	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 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 Yamamoto Naoki, Inoue Rintaro, Makino Yoshiteru, Sekiguchi Hiroshi, Shibayama Naoya, Naito Akira, Sugiyama Masaaki, Chatani Eri	4. 巻 126
2. 論文標題 Tracking the Structural Development of Amyloid Precursors in the Insulin B Chain and the Inhibition Effect by Fibrinogen	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry B	6. 最初と最後の頁 10797 ~ 10812
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.2c05136	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 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 9970-1-13
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 Okuda Aya, Shimizu Masahiro, Inoue Rintaro, Urade Reiko, Sugiyama Masaaki	4. 巻 62
2. 論文標題 Efficient Multiple Domain Ligation for Proteins Using Asparaginyl Endopeptidase by Selection of Appropriate Ligation Sites Based on Steric Hindrance	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 e202214412-1-5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.202214412	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 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 Tominaga Taiki, Nakagawa Hiroshi, Sahara Masae, Oda Takashi, Inoue Rintaro, Sugiyama Masaaki	4. 巻 12
2. 論文標題 Data Collection for Dilute Protein Solutions via a Neutron Backscattering Spectrometer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Life	6. 最初と最後の頁 675 ~ 675
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/life12050675	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 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 1-12
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 Nakagawa Hiroshi, Saio Tomohide, Nagao Michihiro, Inoue Rintaro, Sugiyama Masaaki, Ajito Satoshi, Tominaga Taiki, Kawakita Yukinobu	4. 巻 120
2. 論文標題 Conformational dynamics of a multidomain protein by neutron scattering and computational analysis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biophysical Journal	6. 最初と最後の頁 3341 ~ 3354
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bpj.2021.07.001	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 Okuda Aya, Shimizu Masahiro, Morishima Ken, Inoue Rintaro, Sato Nobuhiro, Urade Reiko, Sugiyama Masaaki	4. 巻 11
2. 論文標題 Solution structure of multi-domain protein ER-60 studied by aggregation-free SAXS and coarse-grained-MD simulation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-85219-0	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 Inoue Rintaro, Sakamaki Yusuke, Takata Takumi, Wood Kathleen, Morishima Ken, Sato Nobuhiro, Okuda Aya, Shimizu Masahiro, Urade Reiko, Fujii Noriko, Sugiyama Masaaki	4. 巻 11
2. 論文標題 Elucidation of the mechanism of subunit exchange in B crystallin oligomers	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-82250-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 Okuda Aya, Inoue Rintaro, Morishima Ken, Saio Tomohide, Yunoki Yasuhiro, Yagi-Utsumi Maho, Yagi Hirokazu, Shimizu Masahiro, Sato Nobuhiro, Urade Reiko, Kato Koichi, Sugiyama Masaaki	4. 巻 18
2. 論文標題 Deuteration Aiming for Neutron Scattering	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biophysics and Physicobiology	6. 最初と最後の頁 16 ~ 27
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophysico.bppb-v18.003	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 Inoue Rintaro, Oda Takashi, Nakagawa Hiroshi, Tominaga Taiki, Saio Tomohide, Kawakita Yukinobu, Shimizu Masahiro, Okuda Aya, Morishima Ken, Sato Nobuhiro, Urade Reiko, Sato Mamoru, Sugiyama Masaaki	4. 巻 10
2. 論文標題 Dynamics of proteins with different molecular structures under solution condition	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-78311-4	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 Sato Nobuhiro, Yogo Rina, Yanaka Saeko, Martel Anne, Porcar Lionel, Morishima Ken, Inoue Rintaro, Tominaga Taiki, Arimori Takao, Takagi Junichi, Sugiyama Masaaki, Kato Koichi	4. 巻 169
2. 論文標題 A feasibility study of inverse contrast-matching small-angle neutron scattering method combined with size exclusion chromatography using antibody interactions as model systems	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 701-708
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvab012	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 Yanaka Saeko, Yogo Rina, Inoue Rintaro, Sugiyama Masaaki, Itoh Satoru G., Okumura Hisashi, Miyanoiri Yohei, Yagi Hirokazu, Satoh Tadashi, Yamaguchi Takumi, Kato Koichi	4. 巻 8
2. 論文標題 Dynamic Views of the Fc Region of Immunoglobulin G Provided by Experimental and Computational Observations	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Antibodies	6. 最初と最後の頁 39 ~ 39
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/antib8030039	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 Yamamoto Naoki, Akai Taiki, Inoue Rintaro, Sugiyama Masaaki, Tamura Atsuo, Chatani Eri	4. 巻 58
2. 論文標題 Structural Insights into the Inhibition of Amyloid Fibril Formation by Fibrinogen via Interaction with Prefibrillar Intermediates	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 2769 ~ 2781
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biochem.9b00439	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 Inoue Rintaro, Nakagawa Tatsuo, Morishima Ken, Sato Nobuhiro, Okuda Aya, Urade Reiko, Yogo Rina, Yanaka Saeko, Yagi-Utsumi Maho, Kato Koichi, Omoto Kazuki, Ito Kazuki, Sugiyama Masaaki	4. 巻 9
2. 論文標題 Newly developed Laboratory-based Size exclusion chromatography Small-angle x-ray scattering System (La-SSS)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-48911-w	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 Matsumoto Atsushi, Sugiyama Masaaki, Li Zhenhai, Martel Anne, Porcar Lionel, Inoue Rintaro, Kato Daiki, Osakabe Akihisa, Kurumizaka Hitoshi, Kono Hidetoshi	4. 巻 in press
2. 論文標題 Structural Studies of Overlapping Dinucleosomes in Solution	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biophysical Journal	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bpj.2019.12.010	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 -

〔学会発表〕 計20件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 10件)

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) (招待講演)
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
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
4 . 発表年 2023年

1 . 発表者名 A. Okuda, M. Shimizu, R. Inoue, R. Urade, M. Sugiyama
2 . 発表標題 Development of efficient multiple domain ligation method for proteins
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 INOUE, Rintaro; ODA, Takashi; NAKAGAWA, Hiroshi; TOMINAGA, Taiki; KAWAKITA, Yukinobu; SATO, Mamoru; SUGIYAMA, Masaaki
2 . 発表標題 Dynamics and Structure of Intrinsically Disordered Region of Hef as Studied by Solution Scattering
3 . 学会等名 SAS2022 (国際学会)
4 . 発表年 2022年

1 . 発表者名 SHIMIZU, Masahiro; OKUDA, Aya; MORISHIMA, Ken; SATO, Nobuhiro; INOUE, Rintaro; YUNOKI, Yasuhiro; URADE, Reiko; 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 SAS2022 (国際学会)
4 . 発表年 2022年

1 . 発表者名 MORISHIMA, Ken; OKUDA, Aya; SATO, Nobuhiro; SHIMIZU, Masahiro; YUNOKI, Yasuhiro; INOUE, Rintaro; URADE, Reiko; SUGIYAMA, Masaaki
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 SAS2022 (国際学会)
4 . 発表年 2022年

1 . 発表者名 OKUDA, Aya; SHIMIZU, Masahiro; MORISHIMA, Ken; INOUE, Rintaro; SATO, Nobuhiro; YUNOKI, Yasuhiro; URADE, Reiko; 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 SAS2022 (国際学会)
4 . 発表年 2022年

1 . 発表者名 Inoue, Rintaro; Sakamaki, Yusuke; Takata, Takumi; Morishima, Ken; Wood, Kathleen; Sato, Nobuhiro; Okuda, Aya; Shimizu, Masahiro; Urade, Reiko; Fujii, Noriko; Sugiyama, Masaaki
2 . 発表標題 Subunit dynamics in alpha-crystallin through deuteration-assisted small-angle neutron scattering
3 . 学会等名 IUCr 2021 (国際学会)
4 . 発表年 2021年

1 . 発表者名 R. Inoue and M. Sugiyama
2 . 発表標題 Subunit dynamics of a-crystallin studied by inverse-contrast small-angle neutron scattering
3 . 学会等名 第21回日本中性子科学会年会
4 . 発表年 2021年

1. 発表者名 Morishima, Ken; Inoue, Rintaro; Shimizu, Masahiro; Okuda, Aya; Sato, Nobuhiro; Urade, Reiko; Sugiyama, Masaaki
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 IUCR2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Okuda, Aya; Inoue, Rintaro; Morishima, Ken; Yunoki, Yasuhiro; Shimizu, Masahiro; Sato, Nobuhiro; Urade, Reiko; Sugiyama, Masaaki
2. 発表標題 Establishment of basic techniques related to protein sample preparation for neutron scattering
3. 学会等名 IUCR2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 井上倫太郎
2. 発表標題 コントラスト変調小角中性子散乱によるタンパク質複合体の解離会合現象の可視化
3. 学会等名 CBI学会2020 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 奥田綾, 井上倫太郎, 守島健, 清水将裕, 佐藤信浩, 裏出令子, 杉山正明
2. 発表標題 中性子散乱解析を目指したタンパク質試料調製技術の確立
3. 学会等名 量子ビームサイエンスフェスタ
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 守島健、宮本洋祐、清水将裕、柚木康弘、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X線小角散乱の統合手法 (AUC -SAXS) によるタンパク質複合体の構造解析
3. 学会等名 量子ビームサイエンスフェスタ
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 井上倫太郎、酒巻裕介、高田匠、Kathleen Wood, 守島健、奥田綾、清水将裕、佐藤信浩、裏出令子、藤井紀子、杉山正明
2. 発表標題 B-クリスタリンのサブユニット交換機構
3. 学会等名 量子ビームサイエンスフェスタ
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 奥田綾、清水将裕、守島健、佐藤信浩、井上倫太郎、裏出令子、杉山正明
2. 発表標題 中性子散乱解析を目指したタンパク質ライゲーションの技術戦略
3. 学会等名 第20回日本中性子科学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井上倫太郎、杉山正明
2. 発表標題 準弾性中性子散乱による溶液中におけるタンパク質の内部運動解析にむけて
3. 学会等名 第20回日本中性子科学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 R. Inoue, Y. Sakamaki, K. Wood1, K. Morishima, T. Takumi, N. Sato, A. Okuda, R. Urade, N. Fujii, M. Sugiyama
2. 発表標題 Subunit dynamics in a-crystallin through deuteration-assisted small-angle neutron scattering
3. 学会等名 J-PARC symposium 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 M. Sugiyama
2. 発表標題 Integrative approach to complex structure and system
3. 学会等名 3rd Asia-Oceania Conference on Neutron Scattering (AOCNS 2019) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

https://www.rri.kyoto-u.ac.jp/PSlab/

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
研究分担者	杉山 正明 (Sugiyama Masaaki) (10253395)	京都大学・複合原子力科学研究所・教授 (14301)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	守島 健 (Morishima Ken) (40812087)	京都大学・複合原子力科学研究所・助教 (14301)	
研究分担者	奥田 綾 (Okuda Aya) (80825646)	京都大学・複合原子力科学研究所・准教授 (14301)	

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