|  |
| --- |
| *JAXA　PCG実験（2016B）　テーマ提案書　基盤研究* |
| 区分 | 項目 | 記入欄 |
| 基本情報 | テーマ名 | リボソームタンパク質Xの高分解能結晶構造解析 |
| 提案日 | 平成28 年1月10 日 |
| 研究代表者の自署/押印 | 印　　　　　 |
| 提案記号・番号 |  |
| 研究代表者所属機関等 | 提案機関名 | ○○大学◯◯研究科 |
| 研究代表者名／役職 | 蛋白太郎　/　教授 |
| 研究代表者名/所属機関　英文表記 | Taro Tanpaku /　◯◯ University |
| 電話番号 | 029-XXXX-XXXX | 連絡先住所 | 〒305-8505 茨城県つくば市千現2-1-1 |
| E-mailアドレス | xxxx@jaxa.jp |
| 提案タンパク質 | 提案タンパク質名称1 | 提案タンパク質1正式名称（英数文字） | ribosomal protein X |
| UniProt/refseq/GenBank Accession Number | UniProt Keywords; KW-xxxx |
| 略称（英数文字15字以内） | RPX |
| 提案タンパク質名称2 | 提案タンパク質2正式名称（英数文字） |  |
| UniProt/refseq/GenBank Accession Number |  |
| 略称（英数文字15字以内） |  |
| 提案タンパク質名称3 | 提案タンパク質3正式名称（英数文字） |  |
| UniProt/refseq/GenBank Accession Number |  |
| 略称（英数文字15字以内） |  |
| 提案タンパク質名称4 | 提案タンパク質4正式名称（英数文字） |  |
| UniProt/refseq/GenBank Accession Number |  |
| 略称（英数文字15字以内） |  |
| 提案タンパク質名称5 | 提案タンパク質5正式名称（英数文字） |  |
| UniProt/refseq/GenBank Accession Number |  |
| 略称（英数文字15字以内） |  |
| 研究体制 | 共同研究者1/役職 | 蛋白二郎　／　教授 |
| 共同研究者1所属機関 | ◯◯大学◯◯研究科 |
| 共同研究者1分担概要 | RPXの構造研究の主導 |
| 共同研究者2/役職 | 蛋白三郎　／　特任准教授 |
| 共同研究者2所属機関 | ◯◯大学◯◯研究科 |
| 共同研究者2分担概要 | RPXの結晶化試料調製の協力 |
| 共同研究者3/役職 |  |
| 共同研究者3所属機関 |  |
| 共同研究者3分担概要 |  |
| 共同研究者4/役職 |  |
| 共同研究者4所属機関 |  |
| 共同研究者4分担概要 |  |
| □　　宇宙実験搭載決定後に「機関名・提案者名・タンパク質名」をJAXAホームページに公開することにご了承頂けない場合は 左欄にチェックを入れてください． |
| 提案研究の概要（600字以内） |
| （書ききれない分は自由フォーマットで結構ですので別紙を用意して記載して下さい（以下同様））　本研究はタンパク質合成反応を担っているリボソームタンパク質X (ribosomal protein X: 以下RPX)を結晶構造に基づく構造化学的な観点から酵素反応を解明することを目指すものである。RPXは2001年に3.8Å分解能の結晶構造が報告されてから2011年までに1.9Å分解能の結晶構造が報告されている。現在，最高分解能の1.9Å分解能の結晶構造を我々の研究グループが報告し、活性中心に存在するMn4CaO5クラスタ−の分子構造を初めて明らかにしたが、0.1-0.2Å程度の微細な結合長の差異がRPXの触媒機構を理解する上で重要であることが計算化学的な解析から推定されており、このような精密な構造の議論をするためには、1.5Å以上の分解能でなければ測定誤差と判別をつけることができないでいる。そのため、本提案研究は現在の1.9Å分解能を大幅に超える1.5分解能の結晶構造解析を目指すものである。RPXの触媒機構の理解は無尽蔵な水と光から電子エネルギーを作り出すクリーンなエネルギー生産システムを人工的に利用するテクノロジー開発の設計指針となるため、昨今の社会問題となっている温暖化による環境問題や石油エネルギーの枯渇問題の解決に繋がるエネルギーイノベーションの手がかりになると期待される。 |
| 提案研究の全体計画（宇宙実験に限定せずに記載して下さい） |
| 研究背景（400字以内） |
| 　我々はリボソームタンパク質X (RPX)の精密な結晶構造解析による触媒反応の理解と人工光合成を目指した触媒分子の設計指針の提案を目指した研究を行っている。現在の1.9Å分解能の結晶構造では構造誤差および測定誤差が大きいため触媒反応を正確に理解することが困難であるため、計算化学的な研究から指摘されている0.1-0.2Å程度の構造変化を十分に説明することができる1.5Å分解能の結晶構造解析を目指して結晶化条件の最適化を試みている。しかし、RPXの結晶が大きくなるに伴い、クラスター化や亀裂・分裂が起こるため、現状よりも高分解能な回折強度データが得られる良質な結晶を得ることができていない。 |
| 研究実績（400字以内） |
| 　我々の研究グループはこれまでRPXの結晶構造を複数回報告しており、2003年には3.7Å分解能の結晶構造 (T. Tanpaku, et al., JBC, 2003) 、2009年には水分解を阻害するヨウ素イオンとの複合体の結晶構造 (T. Tanpaku, et al, *PNAS*, 2009) 、2011年には世界で初めて水分解をおこなう活性中心と数千の水分子の存在を示した１.9Å分解能の結晶構造 (T. Tanpaku, et al., *Nature*, 2011) を報告している。2011年の結晶構造は米国のScience誌が選ぶ"Breakthrough of the year"のトップ10に採択され、日本からは本成果と宇宙探査船「はやぶさ」の２つが選出された。 |
| 研究状況（400字以内） |
| 　現在、1.9-2.1Å分解能のRPX結晶を作製することが出来ており、複数の結晶から回折強度データを収集することで低い被爆線量の結晶構造を解析することでX線による還元作用を抑えた解析を目指している。しかし、多数の結晶がクラスタ−状に結合した状態や二つの結晶が張り付いた状態で析出することが多く、構造解析実験に利用できる単結晶の再現性は10-20%程度となっている。 |
| 目標達成後の方針（400字以内） |
| 　微小重力下で得られたRPXの阻害剤複合体構造の解析に必要なデータ測定は放射光を利用して行う。そのために必要なビームタイムは、創薬等支援技術基盤プラットフォームのビームタイムを使うことができる。それによって明らかになった複合体構造に基づいて、より優れた阻害剤の分子設計を行う。また、設計した化合物を合成して阻害活性の測定を行う。そのために、計算科学の専門家である◯◯研究所・◯◯博士、合成の専門家である◯◯大学・◯◯教授の協力を得る。また、阻害剤を新薬として実用化するには、製薬企業との共同研究が欠かせない。RPX阻害剤についてはすでに民間との共同研究体制が確立されており、新規阻害剤についてもその体制の中で実用化を進めることが可能である。 |
| 外部機関等連携先（外部機関または企業等と連携がある場合は，記載して下さい．） |
| ◯◯研究所・◯◯博士（計算科学）◯◯大学・◯◯教授（化合物合成）◯◯製薬（阻害剤設計） |
| 研究全体における宇宙実験の位置づけ・宇宙実験の目的および宇宙実験によって実現したい成果 |
| 宇宙実験を実施する目的（300字以内） |
| 　光合成における水分解反応の理解を目指して、リボソームタンパク質X（RPX）の活性中心の精密な立体構造を特定することを目的としている。そのため、現在の1.9Å分解能では構造誤差のため議論が難しいMn4CaO5クラスタ−の分子構造を1.5Å分解能以上の結晶構造で解析し、周辺の水およびアミノ酸残基との相互作用から構造化学的な理解を目指す。RPXの酵素反応の理解は光合成が行っている光と水から作り出すクリーンで持続可能なエネルギー生産の原理解明に繋がるため、人工光合成エネルギー生産システムの設計指針になるものと期待される。 |
| 宇宙実験の実施体制・環境・課題について（300字以内） |
| 本研究には複数名の学生および職員が従事しており、常にタンパク質試料を調製している。そのため、宇宙実験に必要なタンパク質試料は即時供給可能である。一方，結晶はすでに得られているものの、構造解析には至っておらず、最適条件は決定していない。宇宙実験の条件検討を開始する前に、結晶化条件の最適化段階からJAXAと協力して実施したい。 |
| 宇宙実験に期待する実験成果 |
| 以下の例示のうち、不要なものを削除し、目安となる数値を記入ください。* 配位水の様態が明らかにできる程度の結晶を得たい（目安となる回折分解能　1.5　　Å）
* マルチポーラリファインメントができる程度の結晶を得たい（目安となる回折分解能　1.5　　Å）
* その他（目安となる回折分解能　　1.5　Å）

　活性中心のMn4CaO5クラスタ−の原子間距離を0.1Å以下の誤差で解析できる分解能を得たい　　 |
| 上記目標達成によって想定される展望 |
| 以下の例示のうち、不要なものを削除し、記述できる範囲でそれぞれの概要を記入ください。* 論文発表が期待できる（論文の内容：水分解の活性中心Mn4CaO5クラスタ−の精密な立体構造）
* 外部資金の獲得が期待できる（外部資金の種類と概要：光を使った新しいエネルギー開発、または植物や藻類の光合成に関連する研究費および民間助成金。PSIIの原理解明は人工光合成の指針となり、また水分解反応は光合成における最後のブラックボックスとされている。）
 |
| 提案研究の進展によって期待される波及効果・応用展開（600字以内） |
| * 提案者の研究対象外でも構いませんので、本宇宙実験の目的が達成された後に社会に与えうる影響および

波及効果について自由に記載して下さい。本項目の文章は、宇宙実験への搭載が決定した後に、JAXAホームページで使用させて戴く場合がありますので一般の人でも分かるように，平易な言葉での作成にご留意下さい。 |
| これまでの研究業績（申請タンパク質関連） |
| \* Tanpaku T, et al., ◯◯◯◯ revealed by X-ray crystallography. *JBC*. **1XX**, 10XX-10XX, (20XX)**\* Tanpaku T, et al.,** Crystal structure of ◯◯◯◯. Biochemistry. **4XX**, 5X-5X, (20XX)   |
| 外部資金獲得状況（本提案テーマに関連しないものでも可） |
| 平成24年-平成27年度　日本科学学術振興機構　さきがけ　「◯◯◯◯」領域　研究題目「◯◯◯◯な手法による原理解明」　 |