

### --- 「2030年の生命分子科学を語る！1.0」 ---

**講演者：**倉持光 博士（理化学研究所 光量子工学研究センター 超高速分子計測研究チーム 研究員）

**演題：**極限的時間領域ラマン分光で迫る光応答性タンパク質の反応初期過程

**要旨：**光応答性タンパク質は我々生物が生命活動を維持する上で重要なだけでなく、生体イメージングにおけるプローブや、オプトジェネティクスにおける神経伝達の制御手段として用いられるなど、様々な研究分野におけるツールとしても欠かすことができない。こうした光応答性タンパク質の機能を正しく“理解”し、“使う”ためにはその精緻な動作機構を分子論的に明らかにすることが必須である。特に、光応答性タンパク質の機能は光反応に伴って時々刻々と変化するタンパク質の構造と密接に関わるため、その構造ダイナミクスを明らかにすることが欠かせない。しかしながら多くの光応答性タンパク質の反応初期過程であるフェムト～ピコ秒スケールにおける構造変化を捉えることは実験的な困難から容易ではなく、その知見は極めて限られている。このような背景のもと、最近我々はフェムト秒時間分解インパルスラマン分光法と呼ばれる時間分解“時間領域”ラマン分光法の開発・極限化に取り組み、光応答性タンパク質のフェムト秒構造ダイナミクス研究を実現した。この手法ではフェムト秒パルスで分子の光反応を開始させた後、任意の遅延時間において極短パルスを用い分子のコヒーレントな振動を誘起し、これを直接時間領域で観測することで分子の構造変化をフェムト秒の時間スケールで追跡することができる。講演では可視6フェムト秒パルスを用いた時間分解インパルスラマン分光装置の開発と、それを用いて明らかにしたイエロープロテインや GFP などにおける超高速構造ダイナミクスについて紹介する。

### --- 「2030年の生命分子科学を語る！1.1」 ---

**講演者：**大洞光司 博士（大阪大学大学院工学研究科助教）

**演題：**生体分子を基盤とする触媒や材料を指向したヘムタンパク質の化学的および遺伝子工学的改変

**要旨：**近年、金属タンパク質の遺伝子工学的あるいは化学的な改変により新規な生体材料や人工酵素を開発する研究が盛んに行われている。将来的には、単純な構造の材料や天然酵素では実現できない物性や反応性が期待されている。これらの研究に関して、我々のグループでは、ヘム（ポルフィリン鉄錯体）を補因子とするヘムタンパク質に注目している。ヘムタンパク質は同じ補因子にも関わらず、そのタンパク質マトリクスによって中心金属の反応性が巧みに制御され、ガス運搬・貯蔵から物質変換まで多岐の役割を担っている。これらの魅力的な性質に対して、化学的および遺伝子工学的改変を組み合わせたヘムタンパク質を基盤とする集合体と人工酵素に関する研究について取り組んでいる。具体的には、前者について、ヘムとヘムタンパク質の相互作用により超分子的に連なる集合体の調製を実施している。これまでに1次元、2次元、3次元状に広がる集合体の構築を達成しており、最近では、構造の精密な制御が可能になりつつある(1)。後者については、種々の金属錯体をヘムと入れ替えることで劇的に反応性が変化し、人工酵素として利用できることがわかってきている。我々のグループでは、過酸化水素を末端酸化剤とす

る C-H 結合の選択的水酸化や金属カルベン中間体を介したスチレンのシクロプロパン化などユニークな触媒活性を示すことを見出している(2,3)。

(1) K. Oohora & T. Hayashi, et al. J. Am. Chem. Soc. 2018, 140, 10145-10148.

(2) a) K. Oohora & T. Hayashi, et al. J. Am. Chem. Soc. 2013, 135, 17282-17285. b) K. Oohora & T. Hayashi, et al. J. Am. Chem. Soc. 2017, 139, 18460-18463.

(3) K. Oohora & T. Hayashi, et al. J. Am. Chem. Soc. 2017, 139, 17265-17268.

### --- 「2030年の生命分子科学を語る！1.2」 ---

**講演者**：西増弘志 博士（東京大学大学院理学系研究科助教）

**演題**：Structure, Mechanism & Engineering of CRISPR-Cas9

**要旨**：原核生物のもつ CRISPR-Cas 獲得免疫系に関する RNA 依存性 DNA エンドヌクレアーゼ

Cas9 はガイド RNA と複合体を形成し、ガイド RNA と相補的な 2 本鎖 DNA を認識・切断する。2013 年、CRISPR-Cas9 を用いたゲノム編集技術が報告され、基礎研究から臨床応用にいたるさまざまな分野において革新技術として利用されている。

CRISPR-Cas9 を利用した応用研究が急速な進展を見せる一方、Cas9 は既知タンパク質と類似性をもたない新規タンパク質であるため、その RNA 依存性の DNA 切断機構は謎に包まれていた。2014 年、われわれはゲノム編集に広く利用されている *Streptococcus pyogenes* 由来 Cas9 に関して、Cas9-ガイド RNA-標的 DNA 複合体の結晶構造を世界にさきがけ決定し、Cas9 がガイド RNA と協働して標的 DNA を切断する分子機構を解明した。さらに、異なる細菌に由来する Cas9 の結晶構造を決定し、CRISPR-Cas9 の作動機構の多様性を原子レベルで解明した。また、構造情報に基づき Cas9 の分子構造を改変することにより、標的範囲の拡張したゲノム編集ツールの開発にも成功してきた。本セミナーでは、CRISPR-Cas9 の構造解析から分子改変に関する研究成果に関して紹介したい。

### ---- 「2030年の生命分子科学を語る！1.3」 ----

**講演者**：中曽根祐介 博士（京都大学大学院理学研究科化学専攻助教）

**演題**：時間分解拡散法で捉える蛋白質反応

**要旨**：生命機能の分子論的理解には、蛋白質反応を時間分解で検出する必要がある。一般に用いられる過渡吸収法は発色団近傍の反応検出にとどまり、蛋白質部分の構造変化や分子間反応を捉えきれない。本研究ではタンパク質の高次構造に敏感な並進拡散係数に着目し、過渡回折格子法によりその時間変化を検出することで、光センサー蛋白質の反応ダイナミクスを明らかにした。また測定対象の拡大を目指した技術開発（高速混合法との融合）や、分子複合体の解析に向けた回転拡散係数測定法の開発も行っており、その現状や展望についても発表する。