

京都大学教育研究振興財団助成事業
成 果 報 告 書

2022 年 4 月 23 日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団

会 長 藤 洋 作 様

所 属 部 局 理学研究科

職 名 助教

氏 名 中曾根 祐介

助 成 の 種 類	令和 3 年度 ・ 研究活動推進助成			
申請時の科研費 研究 課 題 名	光で制御・観測する生物学的相分離と機能			
上記以外で助成金 を 充 当 した 研 究 内 容	光センサーBLUFタンパク質の反応解析			
助成金充当に関 わる共同研究者	横浜市立大学 古川亜矢子 博士 立教大学 小田隆 博士			
発表学会文献等	1. Shibata K, Nakasone Y, Terazima M. <i>J Phys Chem B</i> . (2022) 126:1024-1033. 2. Tokonami S, Onose M, Nakasone Y, Terazima M. <i>J Am Chem Soc</i> . (2022) 144:4080-4090. 3. Nakasone Y, Terazima M. <i>Photochem Photobiol Sci</i> . (2022) Online ahead of print.			
成 果 の 概 要	研究内容・研究成果・今後の見通しなどについて、簡略に、A4版・和文で作成し、添付して下さい。(タイトルは「成果の概要／報告者名」)			
会 計 報 告	交付を受けた助成金額	1,000,000	円	
	使用した助成金額	1,000,000	円	
	返納すべき助成金額	0	円	
	助成金の使途内訳	費 目	金 額	
		備品費(レーザー電源等)	679,771円	
		消耗品費(レーザーヘッド等)	282,477円	
		その他(学会参加費等)	37,752円	
当財団の助成に つ い て	(今回の助成に対する感想、今後の助成に望むこと等お書き下さい。助成事業の参考にさせていただきます。) 科研費不採択の落胆時にこの制度を知り、多大な勇気をもらいました。おかげさまで研究経費を確保でき、それまでの研究を中断することなく進めることができました。心より感謝いたしますとともに、この制度が今後も続くことを切に願います。ご支援ありがとうございました。			

研究背景・目的

生体分子の流動的で可逆的な自己集合である液-液相分離（以下「相分離」）は、膜を持たないオルガネラとして細胞内の区画化や効率的な反応場の構築を担う。また相分離の異常はパーキンソン病など重篤な神経変性疾患を引き起こすことが知られており、医学・薬学の分野からも相分離機構の理解が求められている。しかし、相分離は現象論としての発見は相次いでいるものの、その分子機構は未解明な点が多い。相分離性タンパク質は、取りうる構造や会合様式が多彩で、これが時空間的に絶えず変化するため、従来の構造解析法の適用が困難なためである。そこで申請者らは、相分離機構の解明を目指し、分子の構造変化や複合体の離合集散を時間分解で検出可能な独自の分光法（過渡回折格子法）を開発してきた。本研究では、これを顕微鏡に組み込むことで、相分離ダイナミクス解析に特化した顕微分光法を開発することを目的とした。

新規顕微分光法の開発および評価系の構築

従来の過渡回折格子法は通常の凸レンズを用いて光を集光するため、空間分解能は1 mm程度である。まず空間分解能を高めるために、対物レンズや非球面レンズを用いた測定法の改良を行った。簡便な評価法により、水平方向の空間分解能を約7 μmまで高めることに成功しており、これは過渡回折格子法の原理的な限界値に近い値である。その空間分解能を正確に評価し、微細な空間内での反応解析を実践するために、京都大学ナノハブ拠点において石英ガラスの微細加工を行った（図1）。今後は微小空間内部での化学反応を検出することで、空間分解能の決定や、測定の再現性・信頼性の確保、そして解析法の確立を進める予定である。

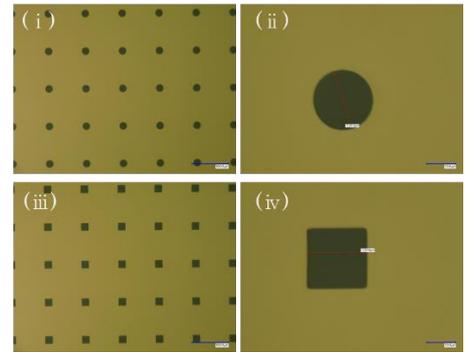


図1 石英微細加工の画像。(i), (iii)はそれぞれ円形・正方形の微細加工であり、(ii), (iv)は拡大図（穴径20 μm）。

光反応性タンパク質の反応・構造解析

こうした測定系の開発研究と並行して、測定対象である光依存的に分子集合するタンパク質の研究を推進した。光照射下での分子集合過程を濁度測定で検出したほか、その構造解析や会合様式を明らかにするために、光照射 NMR 法や時間分解 SAXS 法の開発を進めた。これまでに NMR 解析により光受容ドメインの構造変化を残基レベルで検出可能であることを示したほか、光誘起される分子集合過程について時間分解 SAXS により予備的データを得ている（共同研究）。さらに過渡回折格子法により、光受容を担う BLUF ドメインの反応解析を精力的に進め、発色団の反応に加えてタンパク質部分の構造変化や会合反応を時間分解で検出した¹⁻³。こうして蓄積される知見は、新規顕微鏡で捉える相分離ダイナミクスを的確に解釈するために必須であり、今後の研究の発展に大きく寄与するものである。

発表論文

1. Shibata K, Nakasone Y, Terazima M. *J Phys Chem B*. (2022) 126:1024-1033.
2. Tokonami S, Onose M, Nakasone Y, Terazima M. *J Am Chem Soc*. (2022) 144:4080-4090.
3. Nakasone Y, Terazima M. *Photochem Photobiol Sci*. (2022) Online ahead of print.