

Title	クライオ電顕画像から蛋白質の動的構造を描写するための新規計算科学手法の確立と応用
Sub Title	Development and application of computational methods to illustrate the structural dynamics of proteins using cryoEM
Author	中迫, 雅由(Nakasako, Masayoshi)
Publisher	
Publication year	2024
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2023.)
JaLC DOI	
Abstract	クライオ電顕により酵素 - 補酵素複合体の構造解析を行い、補酵素結合に適した構造と補酵素結合経路を明らかにした。酵素 - 補酵素 - 基質複合体についても、初期状態で四、定常状態で七の準安定構造を解明し、構造に基づいた反応サイクルを描き出した。また、点変異酵素の構造解析から、構造変化に不可欠な相互作用を同定した。 機械学習水和構造予測法を開発し、クライオ電顕で困難な水和構造予測を実用化した。予測精度向上のために学習を高度化し、経験的水和構造予測との融合による膜蛋白質水和構造予測を可能にした。 電顕画像解析に関連し、X線回折で開発した構造解析達成指標の原理的重要性と応用に関して原理の構築と応用研究を実施した。 The structure analyses for enzyme-cofactor and enzyme-cofactor-ligand complexes were conducted using cryoEM. From the structures of enzyme-cofactor complex, we identified structures suitable for cofactor-binding and the pathway of cofactor to approach the final finding-site. We visualized the four and seven structures of the ternary complex in the initial and steady stages of the reaction and proposed structure-based reaction cycle. In addition, structure analysis for the ternary complex of a point-mutated enzyme revealed the interactions necessary for the structural changes. We developed a neural-network to predict the hydration structures of proteins. The machine learning process was optimized, and the combinational use of the neural-network and empirical hydration prediction method enabled us to predict the hydration structures of membrane proteins. In addition, for image processing, we proposed a metric used in X-ray diffraction imaging and applied to structure analyses.
Notes	研究種目：基盤研究 (B) (一般) 研究期間：2021～2023 課題番号：21H01050 研究分野：生物物理
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_21H01050seika

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

令和 6 年 5 月 30 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H01050

研究課題名（和文）クライオ電顕画像から蛋白質の動的構造を描写するための新規計算科学手法の確立と応用

研究課題名（英文）Development and application of computational methods to illustrate the structural dynamics of proteins using cryoEM

研究代表者

中迫 雅由（Nakasako, Masayoshi）

慶應義塾大学・理工学部（矢上）・教授

研究者番号：30227764

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,800,000 円

研究成果の概要（和文）：クライオ電顕により酵素 - 補酵素複合体の構造解析を行い、補酵素結合に適した構造と補酵素結合経路を明らかにした。酵素 - 補酵素 - 基質複合体についても、初期状態で四、定常状態で七の準安定構造を解明し、構造に基づいた反応サイクルを描き出した。また、点変異酵素の構造解析から、構造変化に不可欠な相互作用を同定した。

機械学習水和構造予測法を開発し、クライオ電顕で困難な水和構造予測を実用化した。予測精度向上のために学習を高度化し、経験的水和構造予測との融合による膜蛋白質水和構造予測を可能にした。

電顕画像解析に関連し、X線回折で開発した構造解析達成指標の原理的重要性と応用に関して原理の構築と応用研究を実施した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

クライオ電顕による酵素 - 補酵素複合体や酵素 - 補酵素 - 基質複合体の構造解析は、酵素反応や蛋白質 - リガンド相互作用がどのようなメカニズムで生じているのかを探る端緒を与えるものであり、分子動力学計算やX線結晶構造解析では不可能な、水溶液中かつ反応中にある蛋白質の立体構造の可能性を高めたといえる。

近年、クライオ電顕構造解析が発展しているが、水和水分子の同定は依然として困難な課題である。機械学習水和構造予測法については、その精度を向上させ、膜蛋白質水和構造予測を可能にした。その結果、蛋白質相互作用や蛋白質運動における水分子の役割を描き出すことができ、創薬や蛋白質動力学研究の発展に寄与できると期待される。

研究成果の概要（英文）：The structure analyses for enzyme-cofactor and enzyme-cofactor-ligand complexes were conducted using cryoEM. From the structures of enzyme-cofactor complex, we identified structures suitable for cofactor-binding and the pathway of cofactor to approach the final finding-site. We visualized the four and seven structures of the ternary complex in the initial and steady stages of the reaction and proposed structure-based reaction cycle. In addition, structure analysis for the ternary complex of a point-mutated enzyme revealed the interactions necessary for the structural changes.

We developed a neural-network to predict the hydration structures of proteins. The machine learning process was optimized, and the combinational use of the neural-network and empirical hydration prediction method enabled us to predict the hydration structures of membrane proteins.

In addition, for image processing, we proposed a metric used in X-ray diffraction imaging and applied to structure analyses.

研究分野：生物物理

キーワード：クライオ電子顕微鏡 蛋白質水和構造 機械学習 ニューラルネットワーク 酵素反応 蛋白質動力学 画像解析 X線回折イメージング

1. 研究開始当初の背景

クライオ電子顕微鏡(cryoEM)の急速な発展によって、結晶化が不可能な蛋白質やその複合体の立体構造が、比較的容易に決定できるようになった。得られる三次元ポテンシャルマップは、急速凍結された分子の投影像から再構成されるので、溶液中の運動が平均化される。これを回避するため、特定部分に着目した様々なクラス分け法が考案されてきた。しかしながら、クラス分けされた蛋白質の構造を結びつける手立てが用意されているわけではない。さらに、酸素原子の電子に対する散乱断面積は窒素や炭素に比べて小さく、0.24 nm 分解能でさえその位置を特定できない。このようなクライオ電子顕微鏡の弱点を補って、より蛋白質の動的構造研究に活用するには、測定対象をどのように選ぶか検討すること、水和構造の解明には何らかの計算科学的アプローチが必要な状況であった。

2. 研究の目的

本申請では、蛋白質の動的構造と機能発現の理解発展に資するべく、独自に考案した計算科学的手法により、生の電子顕微鏡像に基づいた立体構造変化経路と自由エネルギーなどを描くための解析基盤を構築・実用化し、酵素蛋白質や光受容蛋白質の運動解析に適用する。また、非結晶試料のX線回折散乱による構造解析を並行して進め、画像回復問題について、電子顕微鏡での構造解析の考え方などを導入する。

3. 研究の方法

[試料作製]

試料蛋白質は、すでに構築してある大腸菌発現系を用いて発現し、主としてアフィニティ液体クロマトグラフィーを用いて精製した。クライオ電子顕微鏡観察や低温 X 線回折実験で使用する試料試料作製には、初年度に購入した凍結装置(VitRobot, Thermofisher)を用いた。

[構造解析]

本課題の構造解析では、cryoEM、X線結晶構造解析、X線小角散乱(small-angle X-ray scattering: SAXS)、X線回折イメージング(X-ray diffraction imaging: XDI)を主たる構造解析研究手法として用いた。cryoEM 観察は、SPRING-8 キャンパスに設置された CRYO ARM300 (加速電圧 300 keV) と Gatan K3-summit 検出器を用いて実施した。X線結晶構造解析とX線小角散乱データは、それぞれ SPRING-8 BL26B2 と BL38B2 にて施設で開発された装置を用いてデータを収集した。X線回折イメージング実験は、SPRING-8 BL29XUL および SACLAL BL3 において、申請者が開発した回折装置を用いて実施した。構造解析計算や機械学習では、既設のワークステーションとスーパーコンピュータを用い、初年度に購入した GPU ボードは、主として、機械学習に利用した。

4. 研究成果

(1) 酵素反応構造ダイナミクスの可視化

多くの蛋白質の機能発現や酵素反応は、速度論によって記述できる。そこで仮定されている状態、例えば、酵素反応におけるミカエリス複合体は、様々な立体構造の複合状態であることが、酵素の局所振動を調べる赤外分光学研究から示唆されてきた。しかしながら、酵素全体の構造や基質結合過程を水溶液中で観察した研究は少ない。本研究では、酵素 - 補酵素複合体の形成過程や反応溶液中の構造を可視化して、動作中蛋白質の構造ダイナミクスの一端を探るべく、cryoEMを用いて研究を展開した。

本研究では、酵素反応における構造ダイナミクス可視化研究の対象として高度好熱菌由来グルタミン酸脱水素酵素(Glutamate dehydrogenase: GDH)を用いた。GDH は、分子量 46k のサブユニットで形成されたホモ六量体である。各サブユニットは、補酵素結合ドメイン(N-domain)と六量体形成ドメイン(C-domain)に折りたたまれている。これらドメイン間には、大きな活性クレフトが形成されており、補酵素 NADP 存在下でグルタミン酸を 2-オキソグルタル酸に変換する反応が触媒される。これまでの補酵素・基質非結合状態に関するX線結晶構造解析と SAXS、MD 計算と原子間力顕微鏡観察、cryoEM による研究を通じて、N-domain が C-domain に対して 1 nm 以上のドメイン運動(主にヒンジ運動)をすることが明らかになっていた。本研究では、補酵素存在下、補酵素・基質存在下で、GDH の立体構造を近原子分解能で明らかにし、酵素反応での構造ダイナミクスを描き出すことを目的とした一連の構造解析研究を展開した。

酵素 - 補酵素複合体 [1]

酵素活性測定によって、GDH の酵素反応は ordered bi ter と呼ばれるスキームに従って進行す

ることが明らかになった。このスキームでは、補酵素が基質よりも先に GDH に結合して、基質結合を促進すると考えられている。どのようにして補酵素が酵素の活性クレフトに結合するのか？例えば、最終結合位置に直接結合するのか、あるいは、活性クレフトのどこかに結合してから、最終位置に結合するのかは、酵素反応を構造面から検討するうえで、興味ある問題である。

まず、酵素 - 補酵素(NADP)混合溶液を急速凍結し、cryoEM 観察で得た画像について六量体内の D3 対称性を課した三次元再構成によって静電ポテンシャルマップを得た。C-domain のマップは、結晶構造モデルでよく説明できたが、N-domain 領域では、ヒンジ運動軸から離れるにしたがってマップの乱れが大きく、複数の N-domain 構造が混在していることが予想された。このため、N-domain 周辺に焦点を当てた画像分類を行い、五つの NAD-domain 運動準安定構造を見いだした。各準安定構造の活性クレフトには、補酵素と解釈できる大きなマップが存在し、これら準安定構造に補酵素が様々に結合しているものと解釈した。補酵素の結合は大きく分けて、予想最終結合位置に近い状態にあるものと、基質結合位置に補酵素が弱く入り込んだ状態にあるものが確認された。N-domain 運動の準安定状態は、活性クレフトが半開きであり、そのような構造が補酵素結合に適していると考えられた。さらに、補酵素の結合位置から補酵素結合経路の存在が示唆された。なお、本研究の成果は *FEBS J.* 誌に掲載され、構造解析経過図が同誌の表紙に採用された。

酵素 - 補酵素 - 基質（生成物）複合体 [2]

次に、酵素 - 補酵素 - 基質混合溶液を急速凍結して準安定構造を明らかにし、酵素反応サイクル中にどのような構造変化が生じているのかを調べた。通常、酵素反応の解析では、初期反応速度が用いられていることから、酵素、補酵素、基質溶液の混合後速やかに急速凍結を行った。また、十分な時間経過の後に定常状態に至るので、この状態の溶液も急速凍結して準安定構造を調べた。構造解析では、GDH-補酵素複合体と同様に、六量体内の D3 対称性を課した三次元再構成後、N-domain に着目した画像分類を行った。なお、これらの構造解析で不可欠な準安定構造を得る画像分類では、試行回数を増やし、試行毎あるいは試行間で得られる画像間相関係数を検討し、高雑音かつ低コントラスト画像の分類を検定する新手法を考案した。

まず、反応初期段階での cryoEM 画像分類解析からは、四つの異なる N-domain 運動の準安定構造が見いだされた。これらは、活性クレフトが大きく開いた状態(Preopen: PROP)、GDH-補酵素複合体と同様に半開きのも(half-open: HLOP)、HLOP よりも閉じた状態(Precomplex: PRCM)と完全にクレフトが閉じて触媒反応が可能な(complex: CMPX)である。全ての状態で補酵素が結合しており、HLOP、PRCM の反応中心には基質または水分子が見いだされた。CMPX では、反応前と反応後の状態を見ることができた。これら構造に分類されたサブユニットの出現頻度は、CMPX が最も多く、反応が順調に進行していたことが示唆される。一方で、これら四つの状態間には準安定な構造が見いだせず、また、補酵素や基質（生成物）が結合していない状態は見いだせなかったことから、補酵素の結合が瞬時に生じることが示された。さらに、GDH - 基質複合体も検出できなかったため、ordered bi ter スキームで仮定されているように、GDH には補酵素が先に結合し、その後で基質が結合していることが確かめられた。

すでに MD 解析で得られている N-domain のヒンジ運動とズリ運動ベクトルによって張られた平面に四つの準安定構造を投影した。PROP、HLOP、PRCM はすでにリガンド非結合状態の GDH で観測された構造に類似のものが存在したが、CMPX の N-domain 構造は分子動力学計算の範囲外に存在した。このことから、補酵素と基質の両方が結合した後で、瞬時に CMPX が形成される可能性が強く示唆された。

定常状態に関しても、初期状態と同様の解析を行い、その結果、反応中に HLOP や PRCM から派生した準安定状態が生じていることが判明した。また、CMPX、PROP、HLOP、PRCM 状態の出現頻度は、初期状態とは大きく異なっていた。これら、初期状態と定常状態で明らかとなった準安定状態を ordered bi ter 反応スキームにあてはめながら、立体構造に基づいた反応サイクルを描くことに成功した。

酵素点変異体 - 補酵素 - 基質複合体 [3]

GDH のドメイン運動では、クレフト内に存在するアミノ酸残基と水和水分子が大きな役割を果たすと考えられる。アミノ酸側鎖では Trp89 が活性クレフトの開閉に応じて構造多型を示すため、この残基の役割を知ろうと Phe に置換した Trp89Phe 点変異体を作出した。この変異体では、野生型と同様に ordered bi ter スキームで酵素反応が進行する。興味深いことに、補酵素や基質に対する親和性は低下しないが、活性中心から離れているにも関わらず、反応頻度が野生型の 1/38

に低下する。このような低下がどのようなメカニズムで生じているのかを調べるために、リガンド非結合状態の分解能 2Å の結晶構造を得るとともに、酵素反応定常状態の溶液を急速凍結して cryoEM 構造解析を行い、野生型と比較した。

野生型と同様に三次元再構成後に画像分類を行った結果、四つの準安定構造が見いだされた。野生型の PROP、HLOP、PRCM に対応あるいは類似する構造は存在したが、CMPX 状態の構造を見出せなかった。このことから、Trp89Phe 変異は、CMPX 状態の存在確率を著しく低下させることが明らかとなった。Trp89 や Phe89 近傍の構造を比較したところ、近傍に存在する Gln13 の側鎖と Trp89 側鎖が van der Waals 相互作用および水素結合のネットワークを形成して、Gln13 が CMPX 形成を阻害しないように制御していること、Trp89Phe 置換はこのネットワークを壊し、Met9 が N-domain の開運動を阻害している可能性が示唆された。このようなメカニズムで、補酵素や基質の親和性が低下せず、反応効率のみが低下することを説明できた。

(2) 機械学習による水和構造予測法の開発 [4]

三次元畳み込みフィルターを用いた水和構造予測ニューラルネットワークの開発

申請者は、これまでに、Protein Data Bank(PDB)の高分解能構造解析モデルに含まれる水と水分子について経験的分布関数(empirical hydration distribution function: EHDF)を構築し、それを利用した水和構造予測法を開発してきた。しかしながら、この方法では、定まった水和パターンが形成されない非極性原子表面の疎水水和を予測できなかった。本研究では、具体的な水和構造分布を機械学習し、任意の蛋白質表面での水和分布確率を予測可能な三次元畳み込みフィルター(3D convolution filter: 3DCF)を利用する Neural Network (NN)を開発・実用化した。このような水和予測法は、水分子の同定が困難な cryoEM の欠点を補うために、極めて重要である。

構築した 3D-CF_NN は、畳み込みブロックと全結合ブロックで構成される。畳み込みブロックの各ユニットは、二つの畳み込み層、プーリング層、ドロップアウト層)から成る。全結合ブロックは一次元データの線形変換、非線形関数による一律演算を行う。最終出力は損失関数を用いて評価し、ネットワークに含まれるパラメータの最適化に用いられる。

学習においては、分子量 100k 以上の水溶性蛋白質の中から高分解能 X 線結晶構造モデル 2145 個を選び、それらに含まれる水分子について、5,310,762 パターンの蛋白質分子内原子の分布を用いた。畳み込み層数などを変化させて 8 つの異なる 3DCF-NN を構築し、その中から、結晶構造モデルの水和サイトを最も良く再現できるものを選択した。

選ばれた 3DCF-NN は、学習対象ではない水溶性蛋白質について、表面の極性原子周辺のみならず、非極性原子集団表面(疎水性表面)の水和構造をよく再現する分布関数を与えた。その性能を、同時期に開学で開発された NN 利用水和構造アルゴリズムと比較したところ、2023 年の時点で世界最高性能であることが明らかになった。

3DCF-NN の構築方法やその水和構造予測性能についての学術論文出版に際してのプレスリリース(https://www.riken.jp/press/2023/20230222_1/index.html)は、日刊工業新聞(2023 年 2 月 28 日朝刊 31 面)に掲載されるとともに、数多くのインターネットニュースに取り上げられた。また、論文の筆頭著者が、生物物理学会学生発表賞を受賞した。

なお、3DCF-NN の高度化と膜蛋白質の水和構造予測については、本年 7 月には論文投稿の予定である。また、これら水和構造予測の一部を含め、蛋白質の水和構造に関するこれまでの研究をまとめた教科書を Springer 社から出版した[5]

3DCF-NN の高度化と膜蛋白質の水和構造予測 [6,7]

最初に構築した 3DCF-NN 水和構造予測を詳細に調べると、予測水和確率分布関数の局所極大位置と、蛋白質結晶構造解析で得られる水と水分子位置の間に若干の差異が認められ、水と水分子位置の予測精度の向上が望まれた。このため、極性原子の電子状態に関して水和構造を分割した学習データを作成して 3DCF-NN に学習させた結果、極性原子周辺での水和分布予測精度が格段に向上した。また、ネガティブデータ学習対象を再検討し、疎水性水和の予測確率の改善を図ったことで、疎水性表面水和予測の精度も向上した。

開発した 3DCF-NN は疎水性表面の水和構造予測が可能であるが、これを膜蛋白質に適用すると、膜貫通領域にも水和分布を予測してしまう。膜蛋白質の脂質二重膜貫通領域には、水分子が浸透している場合もありうるが、おおむね、脂質の炭化水素鎖と親和性の高い疎水性アミノ酸残基が存在するが、3DCF-NN による膜貫通領域の水和予測は誤りである。これに対して、すでに開発してあった EHDF を利用した水和予測では、疎水性表面の水和構造予測が不可能であることを利用して、3DCF-NN とのハイブリッド型予測法を開発・実用化した。その結果、これまで

困難であった膜蛋白質の水和構造予測法が完成した。

(3) 光受容蛋白質の立体構造と光受容後の構造ダイナミクス [8]

植物の光形態形成を担う光受容蛋白質 phytochrome (phy) と phototropin2 (phot2) について、暗での非活性な状態の構造と、光平衡状態における非活性状態と光活性状態の混合状態からの構造分類で活性状態の構造を得べく、SAXS や cryoTEM を用いた構造研究を行ってきた。

これら蛋白質は凝集しやすいため、本研究においては、なるべく迅速に精製できるように従来のプロトコルを大きく変更し、高純度標品を2ステップのアフィニティクロマトグラフィーのみで得ることができるようになった。しかしながら、単分散状態にあるこれら蛋白質の電子顕微鏡像は雑音が多く、phytochrome B (phyB) 構造解析の分解能は 8 Å より低分解能にとどまっている。phototropin2 の水和凍結試料像に関しては、雑音が高く、三次元再構成に至っていない。

以上の状況に対処するべく、SAXS 法を用いた構造研究やモデル構築を並行して実施した。SAXS で得られる分子形状情報は、cryoEM 解析での構造分類に役立つ。phot2 に関しては、これまでの X 線小角散乱や結晶構造解析の成果に基づいて、非活性型と活性型の立体構造モデルを構築し、構造変化メカニズムを推定しており、それに基づいて、光励起によるキナーゼ活性の上昇メカニズムを検討している。phyB のホモログである phytochrome A (phyA) については、SAXS プロファイルに対して非経験的分子形状予測法を適用して得られた 500 以上の形状モデルに対して主成分分析(principal component analysis: PCA)を利用した分類から、最も確からしい形状を得ることができた。これによって、非活性な赤色光受容状態と、赤色光で活性化された近赤外光受容状態の間で、ドメイン運動が生じていることを明らかにした。

(4) X 線回折イメージングにおける新たな位相回復プロトコルの展開と応用 [9-12]

電顕画像解析に関連して、XDI における像回復アルゴリズムについて検討を行ってきた。XDI では、反復的位相回復アルゴリズムを用いて像回復を行っているが、回折パターンの信号対雑音比が悪い生体試料からの X 線回折パターンに適用した場合、正しい投影電子密度が必ずしも得られるわけではない。このため、PCA を用いた画像分類などを行ってきた。その後、画像のマンハッタン距離を定義すると、その距離が小さいものが正しい電子密度に収束する傾向が高いことが判明した。このため、マンハッタン距離の物理的意味を明らかにして、様々な生体試料の構造解析に適用するとともに、それを指標とした効率的位相回復プロトコルを考案した。今後も、電子顕微鏡の構造解析で用いられているアルゴリズムが適用できないかを検討する予定である。

参考文献（全て申請者が責任著者）

- [1] Wakabayashi *et al.* (2023) *FEBS J.* **290**, 5514–5535 (Cover illustration).
- [2] Wakabayashi *et al.* (2024) *Sci. Rep.* **14**, 11165(1-16).
- [3] Wakabayashi *et al.* (2024) in preparation
- [4] Sato *et al.* (2023) *Sci. Rep.* **13**, 2183(1–15).
- [5] Nakasako (2021) *Hydration Structures of Proteins – Atomic Details* (309 pages), Springer.
- [6] Sato *et al.* (2024) in preparation
- [7] Sato *et al.* (2024) in preparation
- [8] Oide *et al.* (2021) *Sci. Rep.* **11**, 2827(1–11).
- [9] Kobayashi *et al.* (2021) *Sci. Rep.* **11**, 3877(1–15).
- [10] Uezu *et al.* (2023) *Sci. Rep.* **13**, 1080(1–14).
- [11] Takayama & Nakasako (2024) *J. Synchrotron Rad.* **31**, 96–112.
- [12] Yoshida *et al.* (2024) *J. Synchrotron Rad.* **31**, 113–128.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Wakabayashi Taiki, Oide Mao, Nakasako Masayoshi	4. 巻 14
2. 論文標題 CryoEM-sampling of metastable conformations appearing in cofactor-ligand association and catalysis of glutamate dehydrogenase	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 11165(1-16)
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-024-61793-x	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 Yoshida Syouyo, Harada Kosei, Uezu So, Takayama Yuki, Nakasako Masayoshi	4. 巻 31
2. 論文標題 Protocol using similarity score and improved shrink-wrap algorithm for better convergence of phase-retrieval calculation in X-ray diffraction imaging	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Synchrotron Radiation	6. 最初と最後の頁 113-128
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1107/S1600577523009864	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 Takayama Yuki, Nakasako Masayoshi	4. 巻 31
2. 論文標題 Similarity score for screening phase-retrieved maps in X-ray diffraction imaging ? characterization in reciprocal space	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Synchrotron Radiation	6. 最初と最後の頁 95-112
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1107/S1600577523009827	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 Wakabayashi Taiki, Oide Mao, Kato Takayuki, Nakasako Masayoshi	4. 巻 290
2. 論文標題 Coenzyme - binding pathway on glutamate dehydrogenase suggested from multiple - binding sites visualized by cryo - electron microscopy	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The FEBS Journal	6. 最初と最後の頁 5514-5535
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/febs.16951	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 Uezu So、Yamamoto Takahiro、Oide Mao、Takayama Yuki、Okajima Koji、Kobayashi Amane、Yamamoto Masaki、Nakasako Masayoshi	4. 巻 13
2. 論文標題 Ultrastructure and fractal property of chromosomes in close-to-native yeast nuclei visualized using X-ray laser diffraction	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 10802(1-14)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-023-37733-6	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 Kochi、Oide Mao、Nakasako Masayoshi	4. 巻 13
2. 論文標題 Prediction of hydrophilic and hydrophobic hydration structure of protein by neural network optimized using experimental data	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 2183(1-15)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-023-29442-x	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 大出真央、中迫雅由	4. 巻 64
2. 論文標題 クライオ電子顕微鏡マップを用いた 生体高分子動態の自由エネルギー地形解析	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本結晶学会誌	6. 最初と最後の頁 300-305
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 高山裕貴、中迫雅由	4. 巻 64
2. 論文標題 SPRing-8におけるコヒーレントX線回折イメージングの展開	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本結晶学会誌	6. 最初と最後の頁 41-49
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Kobayashi Amane, Takayama Yuki, Hirakawa Takeshi, Okajima Koji, Oide Mao, Oroguchi Tomotaka, Inui Yayoi, Yamamoto Masaki, Matsunaga Sachihiro, Nakasako Masayoshi	4．巻 11
2．論文標題 Common architectures in cyanobacteria Prochlorococcus cells visualized by X-ray diffraction imaging using X-ray free electron laser	5．発行年 2021年
3．雑誌名 Scientific Reports	6．最初と最後の頁 3877(1-15)
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-83401-y	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 Oide Mao, Nakasako Masayoshi	4．巻 11
2．論文標題 Red light-induced structure changes in phytochrome A from Pisum sativum	5．発行年 2021年
3．雑誌名 Scientific Reports	6．最初と最後の頁 2827(1-11)
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-82544-2	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24件（うち招待講演 1件／うち国際学会 3件）

1．発表者名 若林大貴、大出真央、中迫雅由
2．発表標題 グルタミン酸脱水素酵素におけるリガンド結合解離動態のクライオ電子顕微鏡構造解析
3．学会等名 第13回 日本生物物理学会関東支部会
4．発表年 2024年

1．発表者名 原田康生、吉田翔庸、高山裕貴、中迫雅由
2．発表標題 低温X線回折イメージング・トモグラフィーを用いた非結晶粒子の三次元構造解析の現状と将来展望
3．学会等名 第37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 2024年

1．発表者名 吉田翔庸、原田康生、上江洲奏、高山裕貴、中迫雅由
2．発表標題 X線回折イメージングの像回復効率化プロトコルの開発
3．学会等名 第37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 2024年

1．発表者名 Kochi Sato, Mao Oide and Masayoshi Nakasako
2．発表標題 Prediction of hydration structures over membrane proteins using deep learning in combination with the empirical hydration distribution
3．学会等名 第61回 日本生物物理学会年会
4．発表年 2023年

1．発表者名 Taiki Wakabayashi, Mao Oide and Masayoshi Nakasako
2．発表標題 Conformational and ligand-association dynamics of glutamate dehydrogenase in the mixture with ligands visualized by cryo-EM
3．学会等名 第61回 日本生物物理学会年会
4．発表年 2023年

1．発表者名 中迫雅由
2．発表標題 コヒーレントX線回折イメージングCDIの概要
3．学会等名 令和5年度 日本結晶学会年会（招待講演）
4．発表年 2023年

1 . 発表者名 Syouyou Yoshida, So Uezu, Yuki Takayama and Masayoshi Nakasako
2 . 発表標題 Protocol to steer phase-retrieval calculation in X-ray diffraction imaging
3 . 学会等名 60 years of Synchrotron Radiation in Japan (JPSR60) (国際学会)
4 . 発表年 2023年

1 . 発表者名 Kochi Sato, Mao Oide and Masayoshi Nakasako
2 . 発表標題 Prediction of hydration structures of protein by convolutional neural network optimized using experimental data
3 . 学会等名 The 34th IUPAP Conference on Computational Physics (CCP2023) (国際学会)
4 . 発表年 2023年

1 . 発表者名 Taiki Wakabayashi, Mao Oide and Masayoshi Nakasako
2 . 発表標題 The binding process of substrate and coenzyme with glutamate dehydrogenase observed by using cryoEM
3 . 学会等名 第23回 日本蛋白質科学会年会
4 . 発表年 2023年

1 . 発表者名 佐藤航地、大出真央、中迫雅由
2 . 発表標題 深層学習と経験分布の融合的手法による膜蛋白質の水和構造予測
3 . 学会等名 第12回 日本生物物理学会関東支部会
4 . 発表年 2023年

1. 発表者名 若林大貴、大出真央、加藤貴之、中迫雅由
2. 発表標題 グルタミン酸脱水素酵素における補酵素結合過程のクライオ電子顕微鏡
3. 学会等名 第12回 日本生物物理学会関東支部会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉田翔庸、上江洲奏、高山裕貴、中迫雅由
2. 発表標題 X線回折イメージング位相回復の正解度向上プロトコル
3. 学会等名 第36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 2023年

1. 発表者名 Syouyou Yoshida, So Uezu, Yuki Takayama and Masayoshi Nakasako
2. 発表標題 Protocol for improving accuracy in phase-retrieval calculations in X-ray diffraction imaging
3. 学会等名 The Asia Oceania International Conference on Synchrotron Radiation Instruments 2022 (AO-SRI 2022). (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Taiki Wakabayashi, Mao Oide, Takayuki Kato, Masayoshi Nakasako
2. 発表標題 Cofactor binding pathway in glutamate dehydrogenase studied using cryoTEM
3. 学会等名 第60回 日本生物物理学会 年会
4. 発表年 2022年

1．発表者名 Kochi Sato, Mao Oide, Masayoshi Nakasako
2．発表標題 Prediction of hydration structures of membrane proteins using neural networks in combination with the empirical hydration distribution
3．学会等名 第60回 日本生物物理学会 年会
4．発表年 2022年

1．発表者名 上江洲奏、高山裕貴、大出真央、中迫雅由
2．発表標題 X線回折イメージング像回復効率化のための理論構築
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 Mao Oide, Masayoshi Nakasako
2．発表標題 Red-light induced structural changes in plant photoreceptor protein phytochrome A
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 So Uezu, Mao Oide, Takahiro Yamamoto, Masayoshi Nakasako
2．発表標題 X-ray diffraction imaging study on the distribution and fractal dimensions of chromosomes in yeast nuclei in G1 phase
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 Taiki Wakabayashi, Mao Oide, Takayuki Kato, Masayoshi Nakasako
2．発表標題 Search for binding pathway of co-enzyme around the active-site cleft of glutamate dehydrogenase
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 Kochi Sato, Mao Oide, Masayoshi Nakasako
2．発表標題 Prediction of hydration structures of proteins by using machine learning
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 Mao Oide, Masayoshi Nakasako
2．発表標題 Red-light induced structural changes in plant photoreceptor protein phytochrome A
3．学会等名 第21回 日本蛋白質科学会年会
4．発表年 2021年

1．発表者名 Taiki Wakabayashi, Mao Oide, Takayuki Kato, Masayoshi Nakasako
2．発表標題 Search for binding pathway of co-enzyme around the active-site cleft of glutamate dehydrogenase
3．学会等名 第21回 日本蛋白質科学会年会
4．発表年 2021年

1. 発表者名 So Uezu, Mao Oide, Takahiro Yamamoto, Masayoshi Nakasako
2. 発表標題 Structure and fractal dimension of chromatin assembly in yeast nuclei in G1 phase
3. 学会等名 第21回 日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kochi Sato, Mao Oide, Masayoshi Nakasako
2. 発表標題 Prediction of hydration structures of proteins by using machine learning
3. 学会等名 第21回 日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Masayoshi Nakasako	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 309
3. 書名 Hydration Structures of Proteins - Atomic Details	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------	---------