

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「生命現象の解明と応用に資する新しい
計測・分析基盤技術」
研究課題「タンパク質完全結晶創成」

研究終了報告書

研究期間 平成17年10月～平成23年3月

研究代表者: 森 勇介
(大阪大学大学院工学研究科、教授)

§ 1 研究実施の概要

本研究では、我々がこれまでに開発した新しいタンパク質結晶化技術である①フェムト秒レーザー照射による結晶核発生技術、及び②溶液攪拌による高品質化技術に関しての高度化を行うとともに、③膜タンパク質や水溶性タンパク質をはじめとする難結晶化タンパク質の高品質大型結晶育成技術の確立と汎用化を目的としていた。

フェムト秒レーザー照射による結晶核発生技術においては、レーザー集光点からのキャビテーション発生が結晶核発生の促進に重要であることが明らかとなった。キャビテーションは膨張と収縮を繰り返しながら最後には崩壊するが、その収縮時に、キャビテーション周辺に数倍程度タンパク質濃度が高まる領域が生じ、この高濃度化が結晶核発生を促進することが示唆された。一方で、キャビテーションの“崩壊”は、生成されたタンパク質高濃度化領域の崩壊に繋がることが懸念される。そこで、溶液の高粘性化を試みたところ、キャビテーションの収縮を保ちつつ、その崩壊を抑制することに成功し、結晶核発生確率が向上する結果が得られた。さらに、レーザー集光点が壁等に近いと、キャビテーションは壁側に移動することを利用して、キャビテーション周囲に形成された高濃度タンパク質を壁面に塗布したゲル中に注入するという新しいタンパク質高濃度化技術を提案し、実際に結晶核発生確率の向上を確認した。

溶液攪拌による大型高品質結晶育成技術においては、溶液流れは成長表面へのタンパク質分子供給、及び吸着を促進することを確認した。様々な成長機構のリゾチーム成長表面におけるステップ成長速度の計測から、ステップ成長速度は溶液の流速に依存し、経験的に得られていた最適な溶液攪拌条件での流速領域においては、流速の増加とともに、ステップ成長速度が増す傾向であることが分かった。このことから適切な溶液攪拌は不純物の影響による結晶性の低下が抑制されることが示唆された。膜タンパク質 AcrB 等、幾つかのタンパク質結晶の転位密度、及びマイクロ欠陥密度と X 線構造解析分解能の評価から、溶液攪拌により、結晶中の転位密度が増加し、マイクロ欠陥密度が減少することが、X 線構造解析分解能が向上することに繋がるという結果が得られた。

膜タンパク質や各種複合体、水溶性タンパク質をはじめとする、難結晶化タンパク質の結晶化に関しては、汎用性の高い溶液条件下での試行を行うとともに、添加試薬等の検討も含めた幅広い溶液条件探索による結晶化を試みた。

難結晶化タンパク質高品質結晶化に関しては、中性子回折測定用大型 HIV protease-KNI272 複合体、RNA アプタマー-IgG 複合体、Tomato mosaic virus 130K、機能性 Biotin 誘導体-Avidin 複合体等の結晶化と構造解析の成功など、14 個の成功例を示せたとともに、新しい結晶化技術の有効性が実証出来た。

また、開発したタンパク質結晶化技術を有機低分子化合物にも展開したところ、BODIPY 系蛍光プローブ分子、ダブルカリックスアレーン系有機レジスト材料の結晶化と構造解析にも成功している。

これまでの研究開発によって、①フェムト秒レーザー照射による結晶核発生技術、及び②溶液攪拌による高品質化技術に関して、原理解明と技術の高度化を実現するとともに、本結晶化技術は、様々な難結晶化タンパク質、及び難結晶化有機低分子化合物においても、高い確率で大型化・高品質化を実現できることを実証出来き、技術の汎用化・実用化に関しても知見が得られた。

§ 2. 研究構想

(1) 当初の研究構想

本研究は、我々がこれまでに開発した新しいタンパク質結晶化技術である①フェムト秒レーザー照射による結晶核発生技術、及び②溶液攪拌による高品質化技術に関しての高度化を行うとともに、③膜タンパク質や水溶性タンパク質をはじめとする難結晶化タンパク質の高品質大型結晶育成技術の確立と汎用化を目的として開始したものである。

まずは、①フェムト秒レーザー照射による結晶核発生技術、及び②溶液攪拌による高品質化技術の原理を解明することから開始した。レーザー照射核発生技術においては、レーザー波長、レーザー強度、照射パターン、そして溶液の圧力、粘性等をパラメータとして考え、キャビテーション挙動を観察するとともに、結晶核発生確率との相関を調査した結果、「§ 1 研究実施の概要」で述べた成果が得られた。

溶液攪拌による結晶高品質化技術においては、流速と結晶成長表面の相関をモデルタンパク質であるリゾチームで詳細に評価することから始めた。次に、モデルタンパク質だけでなく、膜タンパク質 AcrB 等の実際に溶液攪拌によって X 線構造解析結果が向上した難結晶化タンパク質をサンプルとして用いて、結晶欠陥と X 線構造解析結果の相関を調べた。これは、そもそもモデルタンパク質は既に高品質結晶が得られていたので、溶液攪拌の効果が明確に見えがたいということ、及び結晶成長学で議論される結晶性（転位、欠陥等）と構造生物学で議論される結晶性（X 線構造解析）の物理的意味が同じなのか異なるのかを解明するために開始したテーマである。その結果、溶液攪拌は、結晶成長学で定義される転位密度等は増大させるものの、構造生物学で最重要となる X 線構造解析分解能は向上させることが分かってきた。従来、溶液の流れは成長表面への不純物供給を促進させるため、転位等が増大し、結晶品質が劣化すると考えられてきたが、転位等の増加が X 線構造解析の分解能向上に寄与していることを示唆する今回の結果は、我々が経験的に示してきた溶液攪拌技術の有効性を明らかにするものと考えている。

本研究においては、本技術の汎用性を明らかにすることが大きな目的であった。様々な研究機関で高品質結晶化に成功していない難結晶化タンパク質に関して共同研究をさせて頂き、本プロジェクトで結晶化から構造解析までを実施していった。これまでに他機関では結晶化が極めて困難であったタンパク質、及び有機低分子化合物の高品質結晶化に挑戦し、20 種類のサンプルにおいて成功しており、かなりの汎用性があることが示せたかと思われる。これらの技術に関しては、通常の研究者でも実施できるように、技術のマニュアル化、及び結晶化キットの実用化にも取り組んだ。

(2) 新たに追加・修正など変更した研究構想

研究課題「タンパク質完全結晶創成」からも分かるように、本研究はタンパク質結晶の高品質化技術開発を目的としていたが、①フェムト秒レーザー照射による結晶核発生技術、及び②溶液攪拌による高品質化技術は、原理的に様々な難結晶化材料の高品質結晶化に活用できるのではないかと考えるに至り、育成条件が室温付近と結晶化条件が類似している有機低分子化合物の高品質結晶化に関しても、研究テーマとして取り上げることにした。

§ 3 研究実施体制

(1) 「工学研究科（現阪大）」グループ

① 研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
森 勇介	工学研究科電気電子情報工学専攻	教授	H17.10～H23.3
井上 豪	工学研究科応用化学専攻	教授	H17.10～H23.3
高野 和文	工学研究科生命先端工学専攻	准教授	H17.10～H23.3
松村 浩由	工学研究科応用化学専攻	准教授	H18.4～H23.3
佐崎 元	工学研究科電気電子情報工学専攻	特任教授	H19.8～H23.3
溝端 栄一	工学研究科応用化学専攻	助教	H21.4～H23.3
金久 展子	工学研究科電気電子情報工学専攻	特任研究員	H18.4～H23.3
杉山 成	工学研究科電気電子情報工学専攻	特任研究員	H19.4～H23.3
新山 真由美	工学研究科電気電子情報工学専攻	特任研究員	H20.4～H23.3
垣之内 啓介	工学研究科電気電子情報工学専攻	特任研究員	H20.7～H23.3
	工学研究科応用化学専攻	M2	H17.10～H19.3
丸山 美帆子	工学研究科電気電子情報工学専攻	特任研究員	H21.4～H23.3
村井 良多	工学研究科電気電子情報工学専攻	特任研究員	H22.4～H23.3
		D3	H17.10～H22.3
岡田 詩乃	工学研究科電気電子情報工学専攻	特任研究員	H22.4～H23.3
			H19.4～H19.8
	人材派遣	技術員	H18.2～H19.3
西浦美也子	人材派遣	技術員	H22.4～H23.3
高島 康秀	工学研究科応用化学専攻	D2	H21.4～H23.3
石川 沙枝	工学研究科応用化学専攻	M2	H20.4～H23.3
甲斐 章寛	工学研究科応用化学専攻	M2	H20.4～H23.3
山口 桂史	工学研究科応用化学専攻	M2	H20.4～H23.3
中西 泰夫	工学研究科応用化学専攻	M2	H21.4～H23.3
中村 真利子	工学研究科電気電子情報工学専攻	M2	H20.4～H23.3
奥田 卓馬	工学研究科応用化学専攻	M1	H21.4～H23.31
久保田 洋史	工学研究科応用化学専攻	M1	H21.4～H23.31
中村 太一	工学研究科応用化学専攻	M1	H21.4～H23.3
波来谷 綾子	工学研究科応用化学専攻	M1	H21.4～H23.3
倉田 将輝	工学研究科電気電子情報工学専攻	M1	H21.4～H23.3
青木 裕介	工学研究科電気電子情報工学専攻	B4	H22.4～H23.3
木津奈都子	工学部応用化学自然コース	B4	H22.11～H23.3
妻鳥陽子	工学部応用化学自然コース	B4	H22.11～H23.3
畑中聖加	工学部応用化学自然コース	B4	H22.11～H23.3
宮崎祐満	工学部応用化学自然コース	B4	H22.11～H23.3
斉藤 諭	工学研究科電気電子情報工学専攻	技術補佐員	H21.10～H23.3
船木 えり子	工学研究科電気電子情報工学専攻	事務補佐員	H18.7～H22.4
大本 智世	人材派遣	技術員	H17.10～H17.12
中村 真理子	人材派遣	技術員	H17.10～H17.12
高田 陽子	工学研究科電気電子情報工学専攻	技術補佐員	H17.12～H18.3
全 賢基	工学研究科生命先端工学専攻	D3	H17.10～H18.3
原田 美那子	工学研究科電気電子情報工学専攻	事務補佐員	H18.4～H18.5
内田 陽子	工学研究科電気電子情報工学専攻	特任研究員	H18.6～H18.8

酒井 裕也	人材派遣	技術員	H18.12～H19.2
吉川 亜沙子 (旧姓小林)	工学研究科電気電子情報工学専攻	特任研究員	H18.8～H19.11
吉川 洋史	工学研究科電気電子情報工学専攻	特任研究員	H18.4～H19.11
牧 祥	工学研究科電気電子情報工学専攻	特任研究員	H18.4～H19.12
高橋 義典	工学研究科電気電子情報工学専攻	特任研究員	H20.4～H22.3
北谷 友也	工学研究科電気電子情報工学専攻	特任研究員	H18.4～H21.3
柏井 将文	医学系研究科外科臨床医学専攻	大学院生	H17.10～H20.3
徳岡 啓司	工学研究科応用化学専攻	D3	H17.10～H20.3
中田 慎也	工学研究科電気電子情報工学専攻	M2	H18.4～H20.3
前川 順子	工学研究科電気電子情報工学専攻	特任研究員	H20.4～H20.5
山上 恵	人材派遣	技術員	H19.10～H20.9
川原 寿人	工学研究科電気電子情報工学専攻	M2	H19.4～H21.3
長谷中 仁志	工学研究科電気電子情報工学専攻	M2	H19.4～H21.3
田村 はるか	工学研究科応用化学専攻	D3	H17.10～H21.3
小西 佐季	工学研究科応用化学専攻	M2	H20.4～H21.3
前田 貴行	工学研究科応用化学専攻	M2	H20.4～H21.3
武田 慶彦	工学研究科応用化学専攻	B4	H20.4～H21.3
長山 武史	工学研究科応用化学専攻	B4	H20.4～H21.3
家藤 奈津子	工学研究科生命先端工学専攻	M2	H20.4～H22.3
清水 典子	工学研究科電気電子情報工学専攻	M2	H20.4～H22.3
菊池 洋	工学研究科応用化学専攻	M2	H20.4～H22.3
田邊 佳奈	工学研究科応用化学専攻	M2	H20.4～H22.3
門 祐示	工学研究科応用化学専攻	D3	H17.10～H22.3

②研究項目

タンパク質完全結晶創成のための要素技術の開発と実証研究

本研究では、フェムト秒レーザー照射による核発生技術や溶液攪拌による結晶高品質化技術などの新しいタンパク質結晶化手法の高度化、及び結晶核発生や結晶成長に影響を及ぼす新しい物理的パラメータの探索を行い、膜タンパク質や水溶性タンパク質をはじめ、様々な難結晶化タンパク質の完全結晶育成技術創成のための要素技術開発とその実証研究を行う。

(2)「産研（現東工大）」グループ

①研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
村上 聡	東京工業大学・大学院生命理工学 研究科	教授	H17.10～H23.3
藤井 満美子	東京工業大学大学院・生命理工学 研究科	M2	H21.4～H23.3
黒田 泰士	東京工業大学・生命理工学部	B4	H21.4～H22.3

②研究項目

膜タンパク質完全結晶創成

膜タンパク質の結晶化は、数あるタンパク質の中でもとりわけ困難であり、構造生物学分野での最後の開拓地であると表現されている。我々がこれまで開発してきた高品質結晶

化支援のための技術を、膜タンパク質に対して適用させる為に、より多くの膜タンパク質結晶化に対して結晶化を実施し、技術の一般化を目指す。大腸菌多剤排出トランスポーターAcrBをサンプルとして、結晶化技術を改良すると共に、他の膜タンパク質標品の大量精製の為の遺伝子組み換え実験や、生化学実験を行う。

(3)「創晶」グループ

①研究参加者

安達 宏昭	株式会社創晶	代表取締役社長	H18.4～H23.3
元山 朋子	株式会社創晶	研究員	H18.4～H23.3
溝口 良美	株式会社創晶	研究員	H20.4～H22.1
金 美沙	株式会社創晶	チームリーダー	H20.4～H22.8
新納 愛	株式会社創晶	チームリーダー	H18.4～H20.1
山田 さやか	株式会社創晶	研究員	H19.2～H20.3
河野 啓子	株式会社創晶	研究員	H22.4～H23.3
斎藤 諭	株式会社創晶	研究員	H21.11～H23.3
船木 隆文	株式会社創晶	研究員	H21.11～H22.1
北谷 友也	株式会社創晶	研究員	H22.2～H23.3
森永 学	株式会社創晶 (人材派遣)	技術員	H22.8～H23.3
海谷 美貴子	株式会社創晶	技術員	H22.10～H23.3
石井 由利江	株式会社創晶	事務補佐員	H22.4～H23.3

②研究項目

タンパク質・有機低分子化合物結晶化受託

依頼されたタンパク質・有機低分子化合物の結晶化を、レーザー核発生技術や溶液攪拌技術などを駆使して行うとともに、本 CREST で開発された技術の実用化を積極的に進める。

大型結晶育成キットの実用化（社会還元）

本 CREST 研究で開発した溶液攪拌技術などを駆使した結晶大型化技術を、一般の研究者が活用できるように、大型タンパク質結晶育成キットの実用化に取り組む。

§ 4 研究実施内容及び成果

4. 1 タンパク質完全結晶創成のための要素技術の開発と実証研究 (「工学研究科 (現阪大)」グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

本研究では、フェムト秒レーザー照射による核発生技術や溶液攪拌による結晶高品質化技術などの新しいタンパク質結晶化手法の高度化、及び結晶核発生や結晶成長に影響を及ぼす新しい物理的・化学的パラメータの探索を行い、膜タンパク質や水溶性タンパク質をはじめ、様々な難結晶化タンパク質の完全結晶育成技術創成のための要素技術開発とその実証研究を行った。

4. 1-1 レーザー核発生技術

図 1 に本研究で構築したフェムト秒レーザー照射システムの概要を示す。フェムト秒レーザーは Cyber Laser 社の IFRIT-SA10 を用いた。本レーザーの基本波長は 780 nm であり、波長変換により 260 nm のレーザー光を発振することが可能である。また、パルス時間幅は 200 ~ 2000 fs の間で選択できる。集光点の様子は高速度カメラ (HyperVision HPV-2, 島津製作所、Photon MAX 512B, Princeton Instruments) によりマイクロ秒オーダーの時間分解能で観察することが可能である。

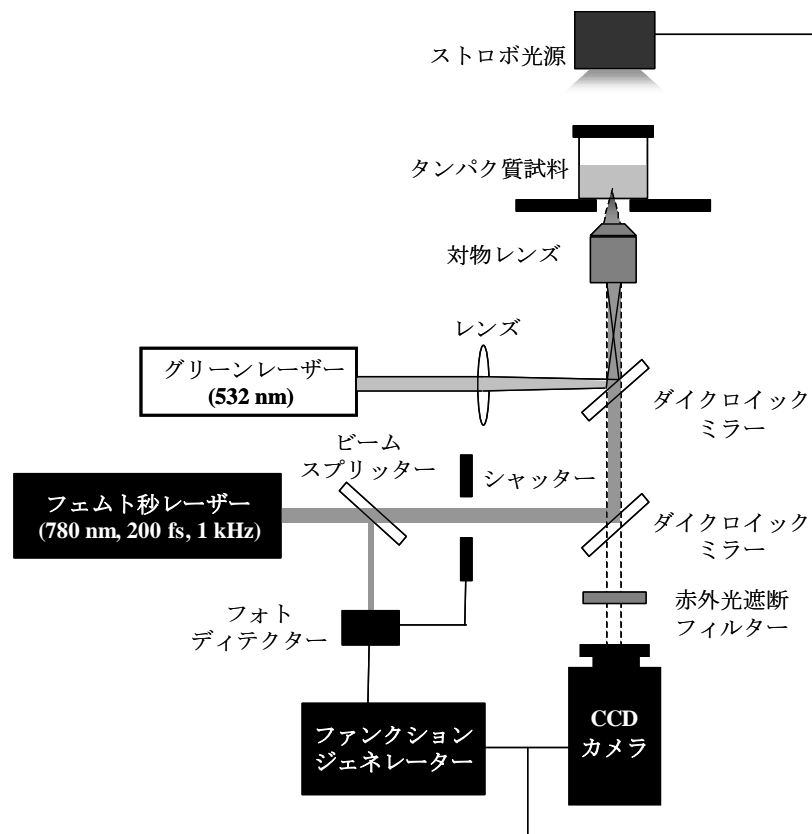


図 1 フェムト秒レーザー照射システム概略図

【レーザー照射条件の検討と核発生促進メカニズムの解明】

核発生に適したレーザー照射条件を明らかにするため、核発生確率のレーザー照射条件（光強度、パルス時間幅、波長）依存性を調べた。試料にはモデルタンパク質であるリゾ

チームを使用した。2種類のパルス時間幅（200 fs・2000 fs、共に波長 780 nm）を用いて核発生確率を調べた結果、核発生促進には、あるエネルギーしきい値（200 fs: 0.7 $\mu\text{J}/\text{pulse}$, 2000 fs: 1 $\mu\text{J}/\text{pulse}$ ）以上でレーザーを照射する必要があることがわかった（図 2）。パルス時間幅が長くなると、核発生に要するしきい値が増加することから、フェムト秒レーザーによる非線形吸収をトリガーとして核発生が誘起されると考えられる。また、波長を 260 nm に変えても、核発生促進が起こるレーザーエネルギー強度には同様にしきい値が見られた（図 3）。波長 260 nm のレーザー光を照射した時には、レーザー光の吸収効率が高いため、集光点にタンパク質の変性と思われる沈殿が生じた（図 4）。沈殿は核発生促進が起こらないような条件でも見られたことから、光化学的に生成されたタンパク質変性物は、本手法における核発生のメイントリガーではないと考えられる。

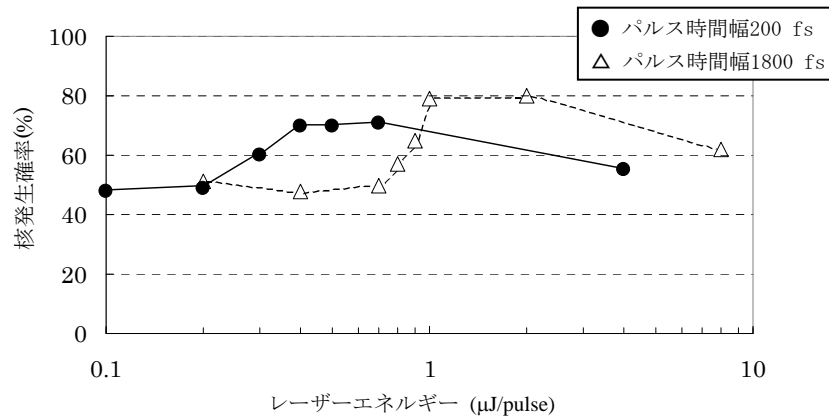


図 2. リゾチーム核発生確率の照射レーザーエネルギー依存性

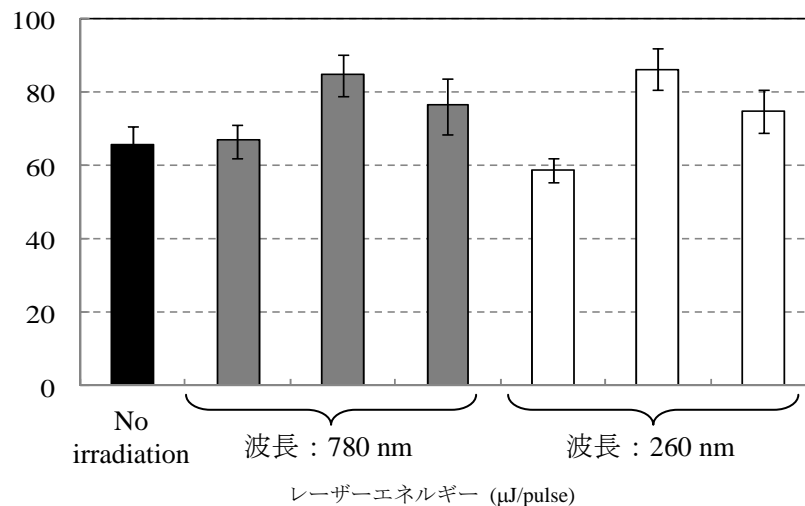
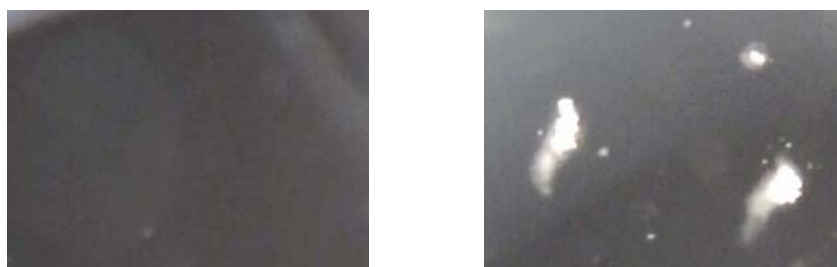


図 3. リゾチーム核発生確率のレーザー波長依存性

※核発生促進のしきい値が図 2 と異なるのは、使用した対物レンズの N.A.が異なるため



(a) レーザー波長：780 nm (b) レーザー波長：260 nm

図 4. 260 nm 光吸収により生成した沈殿

そこで、フェムト秒レーザー光の吸収に追従して誘起される一連の現象を理解するため、高速度カメラを用いてリゾチーム溶液の様子を観察した。その結果、レーザー照射後数マイクロ秒以内に集光点からキャビテーションが発生し、膨張と収縮を繰り返しながら数十マイクロ秒程度で崩壊し、細かいバブルが残ることが明らかとなった（図 5）。また、キャビテーション発生時に衝撃波が発生することを液中圧力センサーを用いて確認している。この時のキャビテーション直径のレーザー光強度依存性から、キャビテーション発生のにしきい値（200 fs: 0.2 $\mu\text{J}/\text{pulse}$, 2000 fs: 0.7 $\mu\text{J}/\text{pulse}$ ）を定量的に決定したところ、リゾチームの核発生のしきい値と同程度であることが明らかになった（図 6）。

また、この観察結果から見積もられるキャビテーションの最大膨張および収縮速度（ $\sim 60 \mu\text{m}/\mu\text{s}$ ）は、溶質の自由拡散速度（リゾチーム $\sim 0.015 \mu\text{m}/\mu\text{s}$ ）よりも 2 桁以上大きいことが明らかとなった。このような高速膨張・収縮挙動は、溶液中に局所的な濃度ゆらぎを生じさせると考えられ、核発生のトリガーとなりうると考えられる。

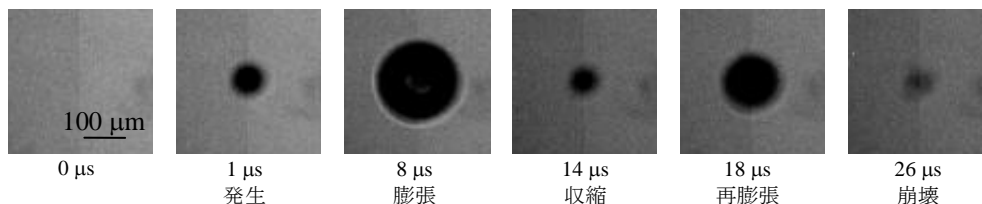


図 5. キャビテーション経時変化

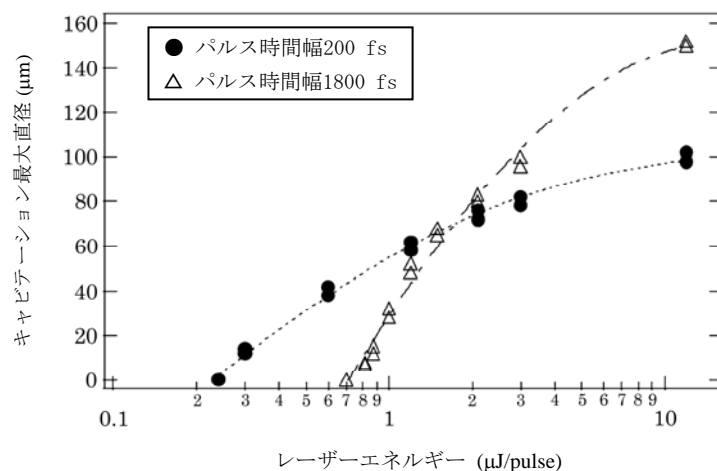


図 6. キャビテーション直径の照射レーザーエネルギー依存性

そこで、我々は、蛍光分子をラベルしたリゾチームの溶液を用いて、キャビテーション周囲の濃度ゆらぎの直接観察を試みた。実験では、高感度カメラ（EMCCD）を組み込んだ顕微システムを構築し、溶液中の高速蛍光像観察を行った。その結果、キャビテーションの収縮時に周囲の領域より数倍程度強い蛍光を発する領域が生じることを観測した（図 7）。また、有色の水溶性タンパク質チトクロム C を用いて、溶液の濃度分布を画像の明度分布として観察した結果、キャビテーションの発生前後でチトクロム C の濃度分布が変化し、集光点付近に低濃度領域が、その周囲に高濃度領域が形成されるのを見出した（図 8）。

以上の結果から、キャビテーションの膨張、収縮によって周囲の分子が強制的に移動させられ、局所的に高タンパク質濃度領域が形成されることで核発生の促進が起これと考えている。光を利用した結晶化手法には、光電場による分子配列や紫外光吸収によるタンパク質変性を核とした結晶化なども報告されているが、本手法は過飽和度という核発生の本質的な部分に作用するものである。そのため、サンプルの種類・物性によらず核発生の誘起が可能となることが期待される。

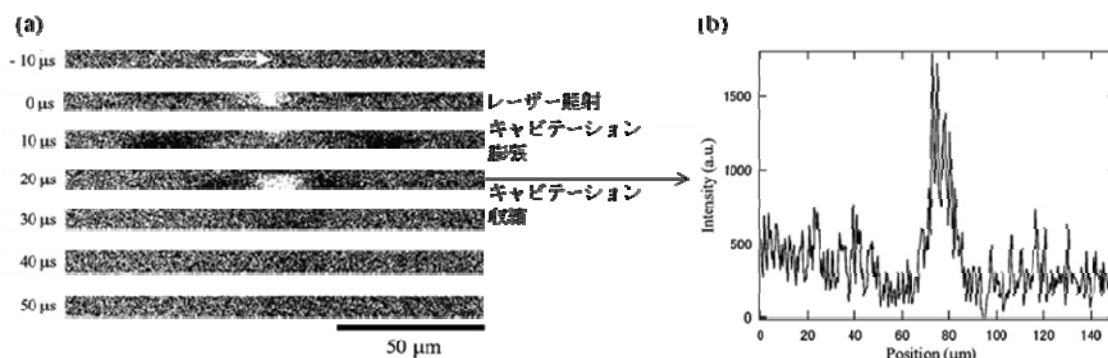


図 7. レーザー照射時の蛍光リゾチーム分子挙動
(a) 集光点の顕微画像 (b) 蛍光強度プロファイル (20 μs)

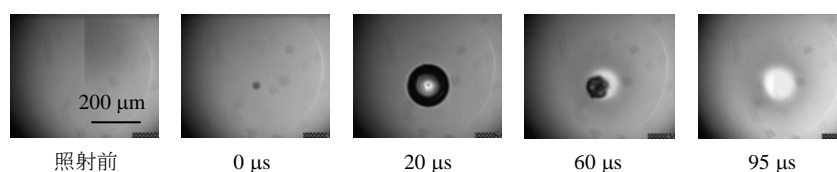


図 8. チトクロム C を用いたタンパク質濃度分布の時間挙動観察

【溶液粘性とキャビテーション挙動の制御による核発生誘起効率の向上】

そこで、高タンパク質濃度領域の緩和時間を長くして核発生確率を高めるため、溶液の高粘性化による分子拡散の抑制を試みた。1 wt%（リゾチームモノマーの拡散定数は 50 ~ 80% まで低下）のアガロースを添加して溶液をゲル化し、レーザー照射を行った結果、リゾチームの結晶化において、従来では結晶核の発生が見られなかった過飽和度 ($\sigma = ((\text{タンパク質濃度}) - (\text{溶解度})) / (\text{溶解度})$) 1.3 以下の低過飽和溶液 ($\sigma = 0.3, 1.0$) において核発生を誘起することに成功した（図 9）。また、細胞増殖必須因子 SAT や膜タンパク質 AcrB といった難結晶化タンパク質においても、溶液をゲル化してレーザー照射を行うことにより、より低過飽和度で核発生を誘起することに成功した。

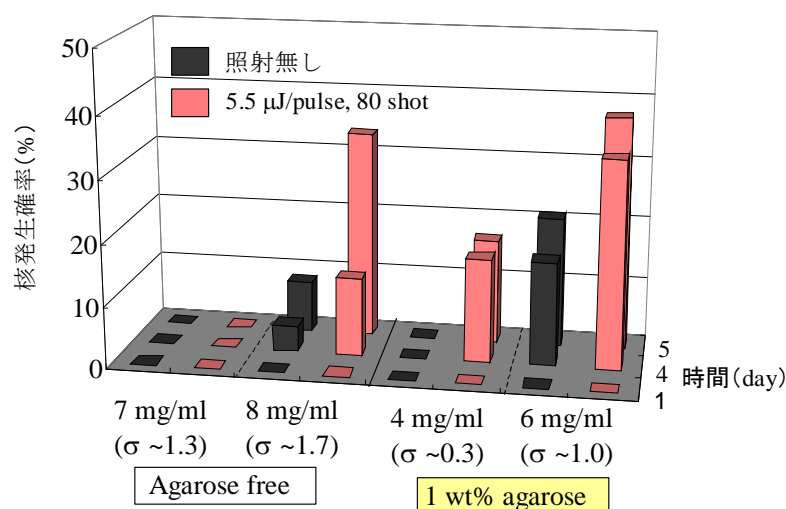


図 9. リゾチームレーザー誘起核発生確率

H22 年度は、さらなる核発生誘起効率の向上を目指して、溶液粘性や照射エネルギー、照射位置を変化させながらキャビテーション挙動およびタンパク質結晶核発生への影響を調べた。アガロースを添加してゲル化したリゾチーム溶液にフェムト秒レーザーを照射し、高速度カメラを用いてマイクロ秒オーダーでキャビテーションの観察を行った。キャビテーションは通常、膨張と収縮を繰り返して崩壊する。照射するレーザーエネルギーが大きくなるにつれて膨張・収縮回数は多くなり、キャビテーションの最大半径は大きくなった。アガロースを添加して溶液をゲル化すると、キャビテーションの最大半径は小さくなり、0.5 wt%以上の濃度では崩壊が抑制されることが明らかになった。また、レーザー照射位置が溶液壁面に近い時、キャビテーションが壁面に向かって大きく移動し、収縮せずに崩壊することが明らかになった (図 10)。このようなキャビテーションの移動・崩壊は、集光点と壁面の距離がキャビテーション最大半径の 2 倍以下の時に顕著に見られた。リゾチームを用いて核発生確率を調べると、キャビテーションが収縮せずに崩壊するような条件下では、照射レーザーエネルギーが同じであっても、核発生誘起効率に減少が見られた。また、レーザー照射位置を容器壁面から 300 μm に固定し、核発生確率のキャビテーションサイズ依存性を調べた。その結果、核発生の誘起効率はキャビテーションの移動が起こらない半径 50-100 μm 程度の時に最大となった。これより、キャビテーションの移動と崩壊は高濃度領域の形成の抑制につながると考えられる。以上の結果は、結晶育成容器 (および溶液ボリューム) が核発生に適したレーザーエネルギーを決める一つの要素になり得る事を示唆している。

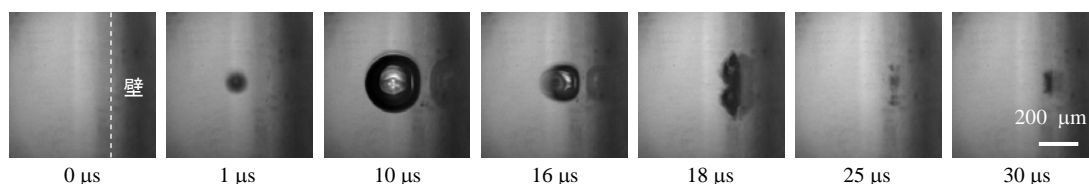


図 10. 固体界面付近で発生したキャビテーションの挙動

さらに、このキャビテーションの移動を利用した新しい核発生誘起手法を考案した。図 11 にその概略を示す。溶液とゲルの界面付近にレーザーを照射すると、ゲル界面に対して垂直に向かう流れが発生する。そのため、レーザー照射直下にタンパク質が輸送され、局所的に高タンパク質濃度領域が形成され、核発生を促進することが期待される。特定部位へのタンパク質分子の注入というのは全く新しい概念の結晶核発生技術である。従来のレーザー照射による核発生手法では、タンパク質分子濃度圧縮できるのが本質的なポイントとなるが、キャビテーション表面での高濃度化には限界がある。しかしながら、本手法によるタンパク質分子のゲル中への注入では、半導体中へのイオン注入と同じ原理で、平衡状態では実現できないレベルの高濃度状態が実現できる可能性がある。

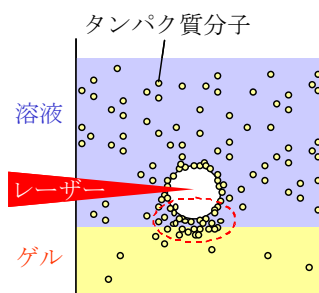


図 11. レーザー照射による局所的なタンパク質分子注入

グルコースイソメラーゼを用いて核発生実験を行った結果、図 12 のように通常核発生が起らない濃度条件においてレーザー照射による核発生が確認された。興味深いことに、核発生が誘起されたのは、溶液の下に敷いたゲルの濃度が 2 wt% の時のみであり、ゲル濃度が 4 wt% の時には核発生は起こらなかった。この結果は、単純にレーザー照射により核発生が誘起されたのではないことを示している。また、ゲル濃度の低い 2 wt% の条件で核発生が促進されていることから、ゲルによって核発生が促進された結果ではないと考えられる（1 wt% を越えるゲル濃度では、濃度が高い方が核発生は起こりやすいため）。以上のことは、レーザー照射によりゲル中への分子注入が誘起されていることを示唆しており、今後核発生に適したゲル条件、レーザー照射条件について詳細に検討を進める予定である。本技術は低粘性溶液とゲルとの界面を活用するため、溶液攪拌と組み合わせることが可能であり、溶液の高粘性化だけでは実現不可能なレベルの高品質結晶化が期待できる。

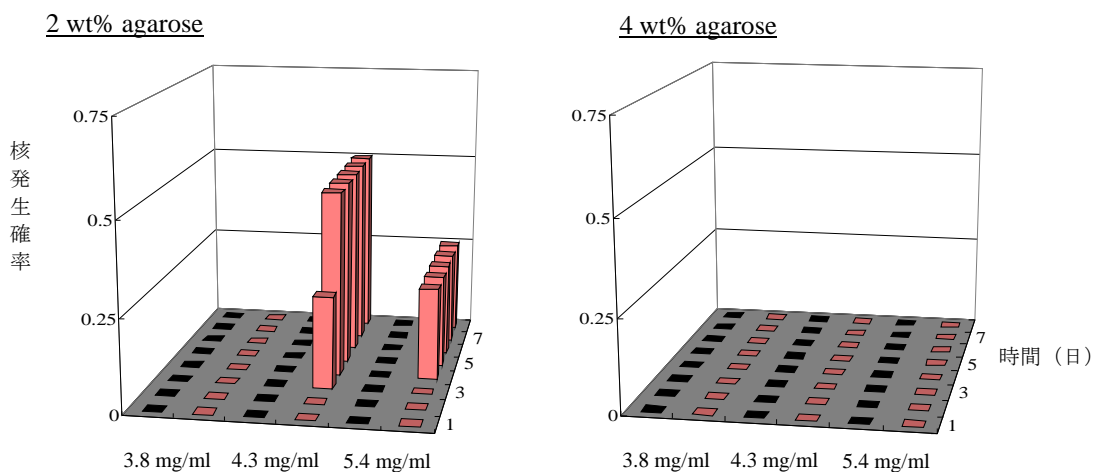


図 12. レーザー分子注入法によるグルコースイソメラーゼの核発生確率

4. 1-2 溶液攪拌技術

我々がこれまでに開発した新しいタンパク質結晶化手法の一つである溶液攪拌技術は、タンパク質の雑晶の核形成を抑え、品質の良い大型結晶が得られる有効な技術である。本研究では、なぜ溶液攪拌がタンパク質結晶の品質を向上させるかの原理を解明し、その知見をもとに最適攪拌条件の検討を行い、本技術の更なる高度化を目指した。

原理解明のために行った後述実験から、不純物に起因するマイクロ欠陥が結晶品質に悪影響を与えることが分かるとともに、攪拌によってこのようなマイクロ欠陥が減少することが明らかになった。一方、転位は結晶品質には悪影響を与えておらず、むしろ品質を向上している可能性が示唆された。溶液攪拌によって生じる流れは、タンパク質分子の供給だけでなく、マイクロ欠陥の原因となる不純物分子の供給も促進する。ステップ移動速度の測定より、数 $\mu\text{m/s}$ ~ 20 $\mu\text{m/s}$ 程度の流れであれば、不純物の影響を受けにくくより高品質な結晶が得られることが分かった。この条件は、ロータリーシェーカーでは 50 ~ 100rpm の回転速度に対応している。実際に 50 ~ 100rpm の攪拌条件において種々のタンパク質および有機低分子化合物の育成を行ったところ、これまでに 16 種類の物質において結晶品質の向上および結晶の大型化に成功した。攪拌技術を微量・高粘性タンパク質溶液にも応用するために、シリンジを用いた新規攪拌技術の開発を行った。また、中性子構造解析のための数 mm オーダーのタンパク質結晶を育成するために、タンパク質をつり下げて攪拌する技術も開発した。これらの技術により、溶液攪拌によってさらに多くのタンパク質の品質向上および大型化が期待できる。詳細については、以下に記す通りである。

溶液攪拌によって結晶の品質が向上する原理を解明するためには、結晶の成長界面において、分子レベルで何が起きているのかの成長過程を理解することが不可欠である（図 13）。そこで、結晶に取り込まれるタンパク質分子と、結晶に悪影響を及ぼす不純物の挙動に着目して 3 つの実験を行った。

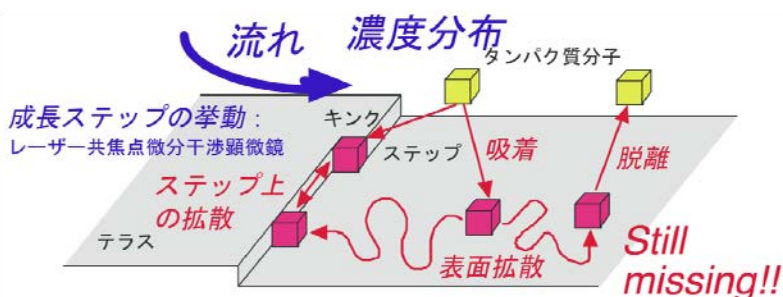


図 13. 分子レベルで考える結晶成長の素過程

【蛍光ラベル化タンパク質による分子取り込み過程の観測】

リゾチーム単斜晶表面において、蛍光ラベル化リゾチームを用いた蛍光一分子顕微鏡法により個々の蛍光分子の吸着・脱離過程を観察したところ（図 14）、溶液の流れは結晶成長面における分子の吸着密度を増加させることが明らかになった（図 15）。これは、溶液流れは、結晶近傍の溶質枯渇帯を低減し、分子供給・吸着を促進することを示唆している。

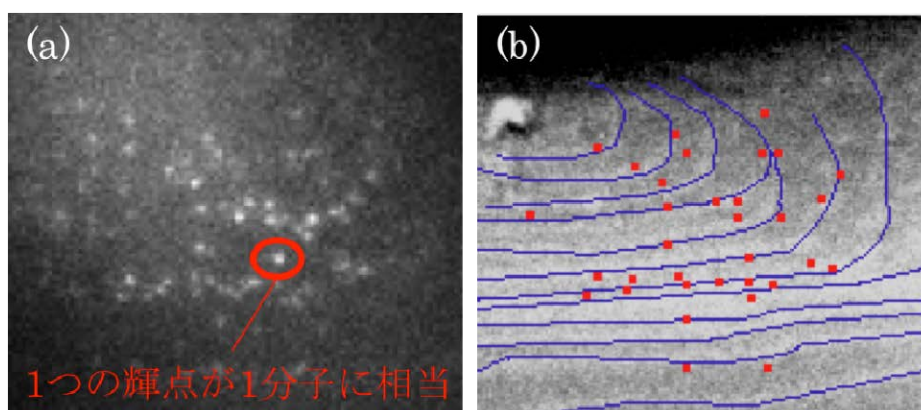


図 14. (a) 蛍光ラベル化リゾチームの観察像. (b) 結晶表面の構造と対応づけた蛍光リゾチーム分子の分布. 分子はステップに沿って吸着する.

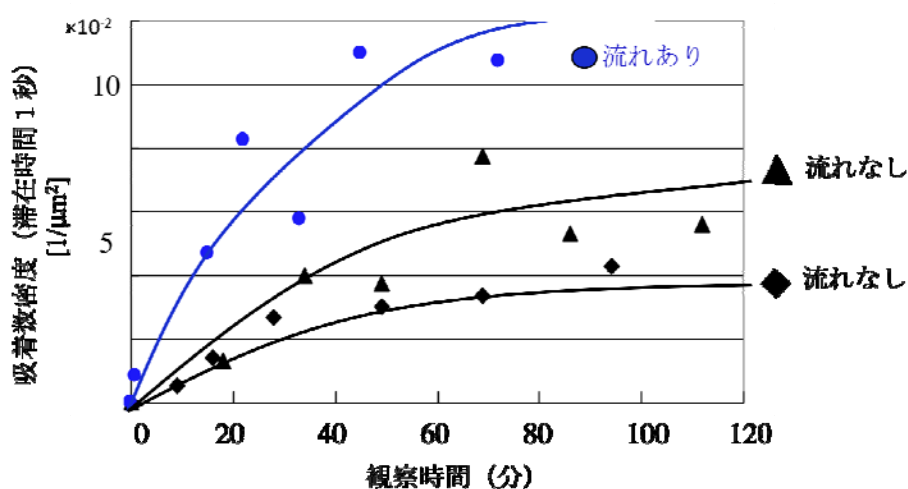


図 15. 観察時間と分子の吸着数密度の関係.

【レーザー共焦点微分干渉顕微鏡を用いたステップ前進速度の測定】

次に、レーザー共焦点微分干渉顕微鏡 (LCM-DIM) を用いて、リゾチーム結晶表面のステップ前進速度測定を行った。蛍光ラベル化タンパク質を用いた観察はリゾチームタンパク質 1 分子の挙動を視覚化しているのに対し、ステップ移動の観察は、タンパク質分子と不純物分子の相互作用の結果を視覚化することに対応する。これにより得られた知見を蛍光ラベル化タンパク質の実験と合わせることで、結晶表面での分子相互作用をより具体的に明らかにすることが目的であった。

リゾチームの 2 種類の晶系 (正方晶・単斜晶) について観察を行った。代表的な結晶成長機構として二次元核成長、渦巻き成長、付着成長が知られているが、リゾチーム正方晶は二次元核成長および渦巻き成長機構で、単斜晶は渦巻き成長機構で成長する (図 16)。それぞれの表面でステップ成長速度を測定したところ、晶系、成長様式に応じてステップ成長速度には異なる流速依存

性があることが示された(図 17)。特に、低速度領域(数 $\mu\text{m/s}$ ~ 20 $\mu\text{m/s}$ 程度)では、流速の増加に応じてステップ成長速度が増す傾向が多くみられた。これは、数 $\mu\text{m/s}$ ~ 20 $\mu\text{m/s}$ 程度の流れ下ではタンパク質分子の供給が不純物分子の供給よりも効率良く行われている可能性を示唆している。この流れ下で結晶を育成することで、不純物の影響が少ない良質の結晶を得られると期待できる。なお、この流速領域は我々が溶液攪拌に用いているロータリーシェイカーで生じる流速に極めて近いものであった。

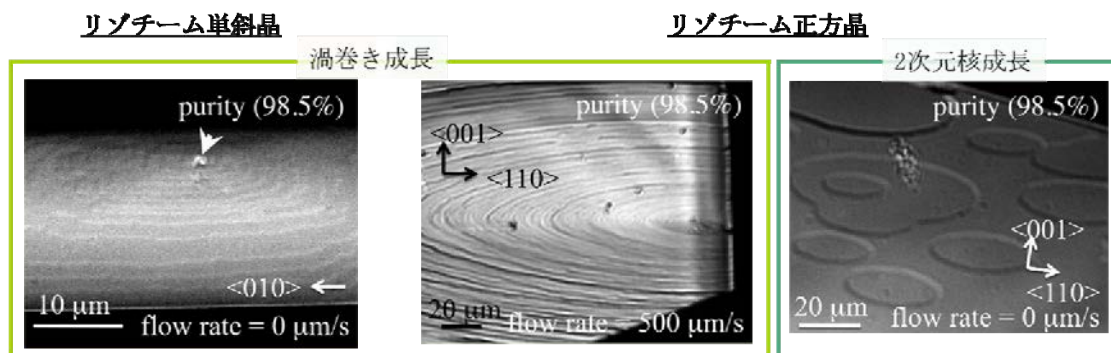


図 16. (a)リゾチーム単斜晶の成長表面。渦巻き成長機構で成長する。(b)リゾチーム正方晶の渦巻き成長する表面。(c)リゾチーム正方晶の二次元核成長。

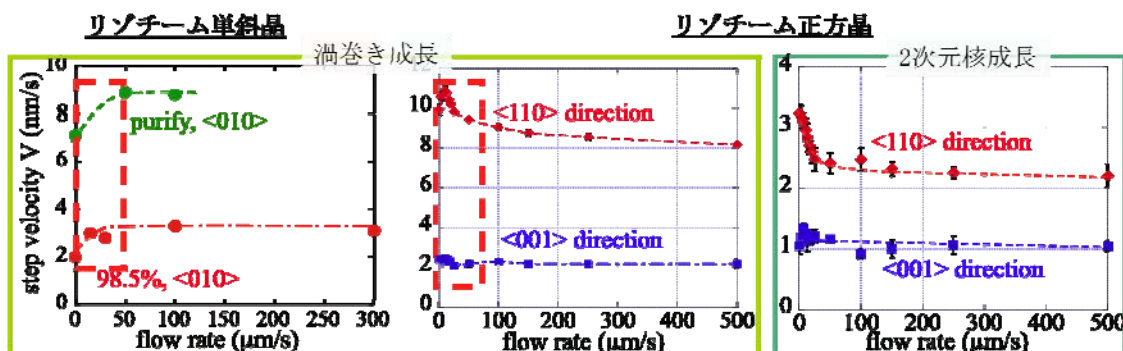


図 17. (a)渦巻き成長するリゾチーム単斜晶ステップ速度の流速依存性。(b)渦巻き成長するリゾチーム正方晶ステップ速度の流速依存性。~20 $\mu\text{m/s}$ の領域で成長が促進されている。(c)二次元核成長するリゾチーム正方晶ステップ速度の流速依存性。

【欠陥密度の攪拌条件依存性の評価】

結晶の品質と深い関わりがあると考えられる格子欠陥が、攪拌によってどのような影響を受けるかを明らかにするため、欠陥密度の攪拌条件依存性の調査を行った。モデルタンパク質であるリゾチームの正方晶・単斜晶およびグルコースイソメラーゼ (GI) 斜方晶の他、細胞増殖必須因子のスペルミジンアセチルトランスフェラーゼ (SAT)、膜タンパク質である大腸菌多剤排出トランスポーター (AcrB) を対象とした。攪拌無し、有り (50rpm、100rpm) の各条件下でそれぞれの結晶を育成した後、適切な条件で結晶をエッチングし、結晶表面に出現した欠陥由来のピットの形状・密度について観測した (図 18)。

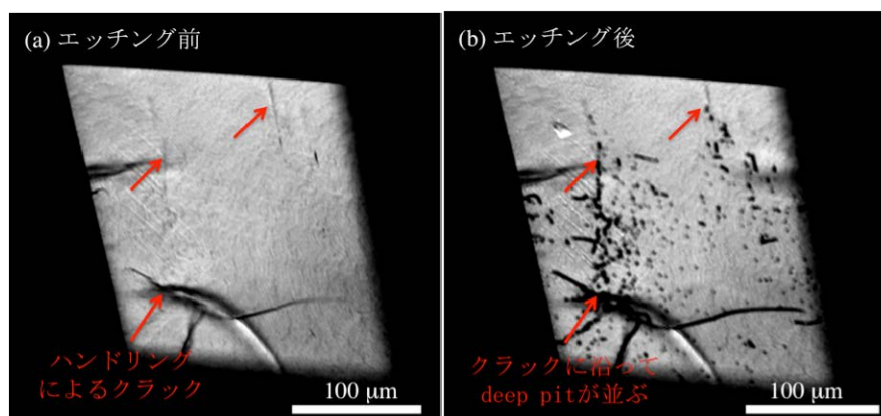


図 18. (a)エッチング前の AcrB の結晶表面. (b)エッチング後の AcrB 結晶表面. ハンドリングなどによって生じたクラックに沿って転位が集中している.

その結果、結晶内には少なくとも 2 種類の格子欠陥（「転位」、「マイクロ欠陥」）が存在することが確認された。マイクロ欠陥については、攪拌によって密度が減少する傾向が確認された（マイクロ欠陥の評価はリゾチーム単斜晶と GI 斜方晶のみ）。一方、転位についてはリゾチーム・GI・AcrB において、攪拌によって密度が増加する傾向が確認された（図 19）。以上の結果と、これまで得られている溶液攪拌によって結晶の X 線による結晶品質評価が向上するという結果を合わせると、2 種類の格子欠陥のうちマイクロ欠陥の方が結晶品質に悪影響を与えると考えられる。結晶品質が向上しているにも関わらず転位密度が増加しているという事実は、転位は結晶品質に無関係、もしくは品質向上に寄与するという可能性を示唆している。これを支持する結果の一つとして、SAT の例が挙げられる。SAT は溶液攪拌によって品質が向上しなかったタンパク質の一つだが、今回調査したタンパク質結晶の中で、唯一攪拌によって転位密度が低下していた。

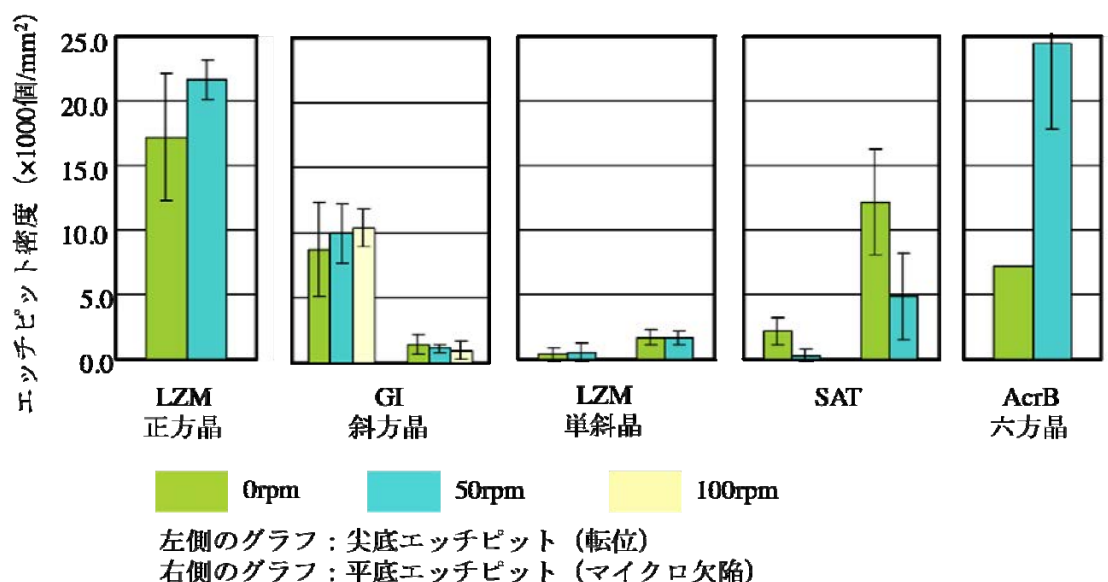


図 19. 格子欠陥密度の攪拌条件依存性. 左よりリゾチーム正方晶,GI 斜方晶,リゾチーム単斜晶,SAT, AcrB. リゾチーム正方晶および AcrB 結晶では、転位密度評価のみ.

転位の増加がどのように結晶品質の向上につながるかを明らかにするために、AcrB を対象として転位密度と結晶サイズの関係、および転位密度と成長メカニズムの関係を調べた（図 20）。その結果、攪拌による転位密度の増加は結晶サイズが小さい時に顕著であり、結晶の成長に伴って転位密度が低下していくことが分かった。また、二次元核成長と渦巻き成長の転位密度を比較すると、渦巻き成長では顕著に転位密度が小さかった。これらの結果と、攪拌した方が渦巻き成長の頻度が高いという事実（本研究で確認された）から、溶液を攪拌すると、転位が発生して成長モードが二次元核成長から渦巻き成長機構（同じ成長条件であれば、二次元核成長よりも不純物の影響を受けにくいと考えられている）へと切り替わり、最終的には転位密度が低下することが結晶品質向上の一因だと考えられる。

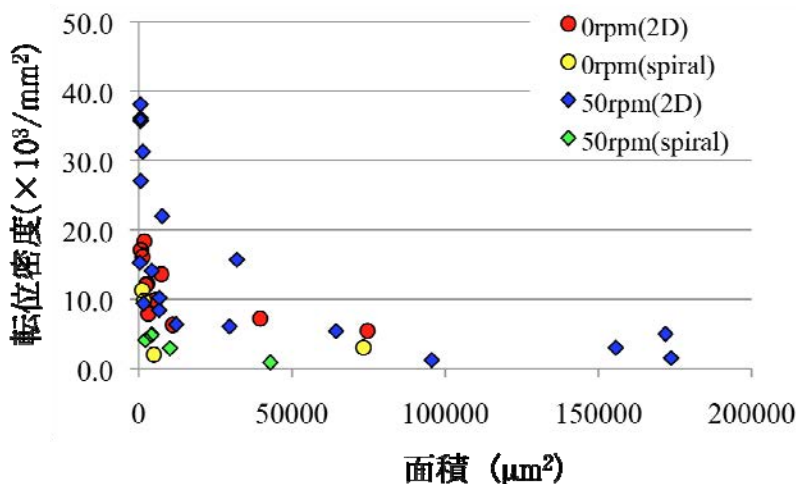


図 20. AcrB の転位密度と結晶サイズの関係.

本プロジェクトで得られた上述の知見は、モデルタンパク質を用いた基礎的実験に加え、精製および結晶化の困難な膜タンパク質（AcrB）や SAT を用いて同様の実験を行うことができたために明らかになったものである。成長している結晶表面の視覚化や、結晶表面のエッチングを安定して行えるようになるまでには、相当量のタンパク質の継続的な入手が不可欠である。本プロジェクトでこれが実現したのは、工学研究科（現阪大）グループと産研（現東工大）グループの密接な異分野連携による。ここで示した欠陥密度の評価に加え、膜タンパク質の結晶成長その場観察は世界で初めての成果である。

【微量かつ高粘性のタンパク質溶液の攪拌技術の開発】

一次元管内で往復運動する溶液中では速度勾配を有する非定常流れが容易に発生することに着目し、この原理に基づく新規溶液攪拌システムを開発した。本システムに組み込んだシリンジポンプにより溶液を管内（内径 0.5mm）で往復運動させたと、100 nl 以下の微小液滴でも、長時間（24 h 以上）、一数十 μ m/s の緩やかな流れを安定に誘起することに成功した。ナビエ・ストークス運動方程式の三次元数値解析からも溶液中の流れの存在を確認した。

実際に本装置を用い、5.0 μ m/s の流速下でリゾチームの育成を行ったところ、約 0.3 mm のバルク結晶を得ることに成功した。この結果は、本装置が微量・高粘性タンパク質溶液の高効率攪拌に有効であることを明示している。

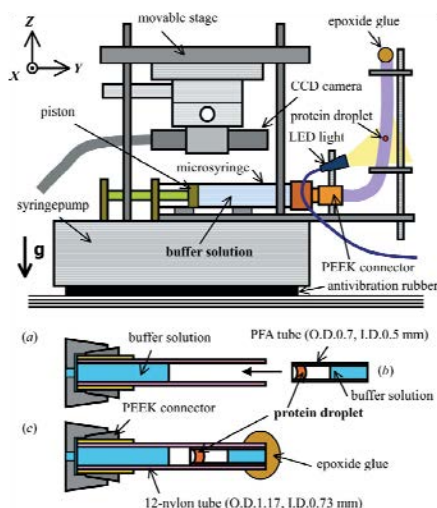


図 21. シリンジポンプを利用した溶液攪拌装置

【大型タンパク質育成技術の開発】

タンパク質結晶ハンドリング技術として、粘着剤で直接結晶を固定する方法を開発した。柔軟な粘着剤を使用することで結晶への物理的ダメージの軽減化に成功し、世界で初めてタンパク質種結晶を吊り下げることで大型結晶化を可能にする新しい育成法を開発した (TSSG)。TSSG にさらにロータリーシェイカーやマグネティックスターラーによる攪拌を組み合わせたのが、新たに開発した TSSG-FAST である。図 22 に示したように、不活性溶液であるフロリナート（下層）とタンパク質溶液（上層）の 2 層を作り、下層をスターラーなどで攪拌することでタンパク質溶液も攪拌される（詳細については Shimizu et al., *Crystal Growth & Design*, 2009, 9 (12), pp5227-5232 を参照）。この手法で、 11.52 mm^3 サイズのリゾチーム巨大結晶の育成に成功している。また、中性子回折測定用大型 HIV protease 結晶を育成したところ、従来の静置法では $0.8 \times 0.1 \times 0.02 \text{ mm}$ (0.0016 mm^3) 以下の結晶しか得られなかったが、TSSG では $3.6 \times 2 \times 0.5 \text{ mm}$ (3.6 mm^3) と、体積比で約 2250 倍の大型化に成功している。新たな溶液攪拌法である TSSG-FAST では、TSSG よりさらに 2.5 倍速い結晶成長速度を実現しており、より短時間での大型高品質結晶育成が可能になった。

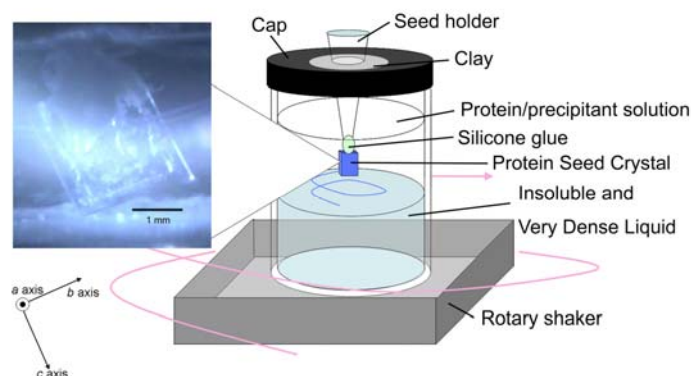


図 22. 単結晶大型化のために開発された TSSG-FAST の概念図と、実際に育成された HIV protease 結晶。

(2)研究成果の今後期待される効果

4. 1-1 レーザー核発生技術

本研究により、原理解明が進み、高度化のためには、溶液の高粘性化やゲル中へのタンパク質の分子注入が核発生効率の向上に効果的であることが明らかとなった。これはリゾチームやグルコースイソメラーゼなどのモデルタンパク質のみではなく、膜タンパク質 AcrB といった難結晶化タンパク質の結晶化においても有効であることが明らかになりつつある (図 23)。このことから、高粘性溶液、及びゲル等を利用した新しいレーザー誘起核発生法は、結晶化が一層困難である様々な難結晶化タンパク質の高品質結晶化に貢献する技術になることが期待される。

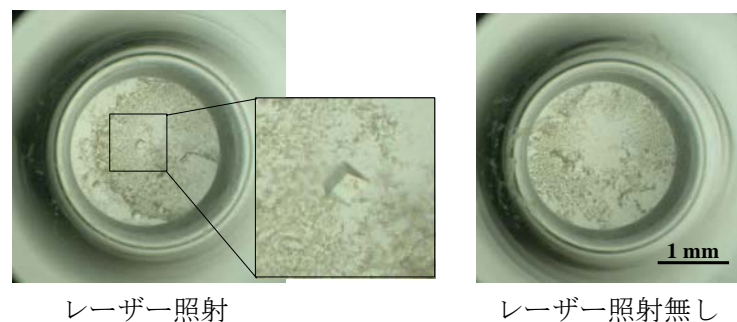


図 23. ゲル中への分子注入法により析出した AcrB 結晶
(レーザー照射条件：20 $\mu\text{J/pulse}$, 1 pulse, 5 shots)

4. 1-2 溶液攪拌技術

溶液攪拌によるタンパク質高品質結晶育成技術を汎用化、及び高度化するためには、原理解明と並んで、より多くのタンパク質結晶育成に適用し、どのようなタンパク質や結晶化条件で溶液攪拌の効果が得られるのかという知見を集約することが重要となる。次に述べる、「難結晶化タンパク質の完全結晶育成技術創成のための要素技術開発とその実証研究」にも記述しているように、これまでに溶液攪拌によって結晶品質が向上したタンパク質の結晶化条件などの共通点に着目すると、結晶化溶液の粘性が一つの重要なパラメータである可能性が示唆された。今後、溶液攪拌の条件と結晶化溶液の粘性の関係を調査し、各粘性に対して数 $\mu\text{m/s}$ ~ 20 $\mu\text{m/s}$ 程度の流速 (本プロジェクトで得られた効果的な流速) を実現する溶液攪拌技術を開発できれば、まだ高品質化が実現されていない様々な難結晶化タンパク質においても品質向上が期待できる。

4. 2 難結晶化タンパク質の完全結晶育成技術創成のための要素技術開発とその実証研究（「工学研究科（現阪大）」グループ）

本研究では、我々の技術の汎用性を様々なタンパク質において検証し、その知見を結晶化手法の高度化へとフィードバックすることを目的とし、多種にわたる生体高分子について、国内外の大学や公的研究機関との共同研究を展開しながら高品質結晶化に取り組んでいる。現在、複合体を含む14種類の難結晶化共同研究サンプルにおいては、初めて高品質結晶化に成功し、その中の6種類のタンパク質については高分解能構造解析に成功している。

【HIV protease－KNI-272 複合体結晶の大型化と構造解析（日本原子力研究開発機構・黒木チームとの共同研究）】

中性子回折測定を目的とした HIV protease－KNI-272 複合体は、従来の静置法では $0.8 \times 0.1 \times 0.02 \text{ mm}$ (0.0016 mm^3) 以下の結晶しか得られなかったが、我々の結晶化技術（二液攪拌法、徐冷法、TSSG 法）を活用した結果、 $3.2 \times 1.9 \times 0.6$ (3.6 mm^3) の結晶を得ることに成功した（図 24）。得られた大型結晶を用いて、原子力研究所にて中性子回折実験を行ったところ、 1.9 \AA 分解能の中性子回折強度データを収集することができた（図 25）。

さらに、図 26 に示すように、得られたデータから中性子線構造解析にも成功し、KNI-272 との相互作用に重要なプロトンの位置とその役割を明確に示すことを可能にした。

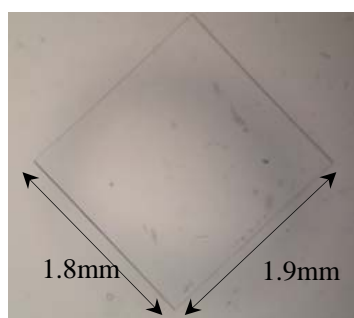


図 24. HIV protease 大型結晶

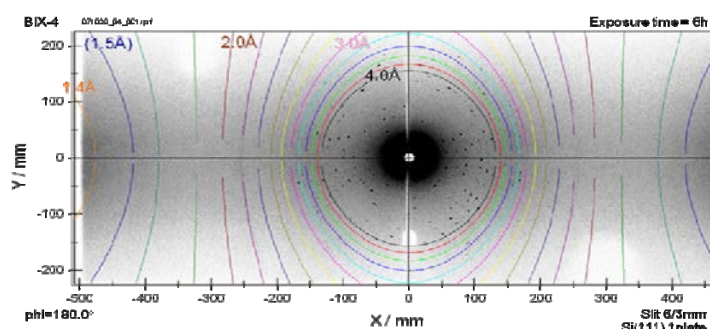


図 25. 得られた大型結晶の中性子線回折像

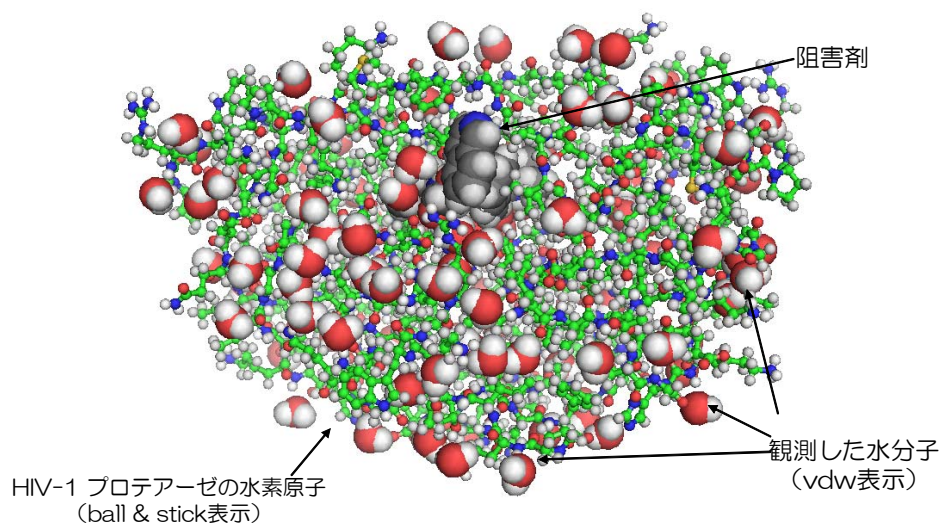


図 26. 中性子回折法により得られた HIV protease の構造

【RNA アプタマー-IgG 複合体の結晶化と構造解析 (東京大学医科学研究所・中村義一先生、千葉工業大学・坂本泰一先生との共同研究：平成 17 年度 CREST「生命現象の解明と応用に資する新しい計測・分析基盤技術」採択課題)】

ヒト IgG と RNA アプタマーとの複合体を用いて、溶液攪拌技術を適用したところ、攪拌を行わない場合は 2.8 Å 分解能までの反射を持つ結晶が得られたのに対して、溶液攪拌技術により育成した場合 (図 27)、2.15 Å 分解能まで飛躍的に向上した。さらに、X線回折の異方性の改善が見られ、独立反射数も 13,985 から 36,180 と大幅に増大し、その結果、構造解析の成功に寄与することができた (図 28,29)。

解析によって得られた立体構造情報から、東大・中村グループにおいて RNA アプタマーがヒト IgG にのみ高い特異性と親和性を持つ理由が明らかにされつつある。さらに、この認識メカニズムの解明は、RNA アプタマーの異常な特異性を持つ理由を明らかにし、抗体医薬に次ぐ新しいアプタマー医薬の開発に繋がることが期待される。



図 27. 溶液攪拌技術により育成した RNA アプタマー-IgG 複合体結晶

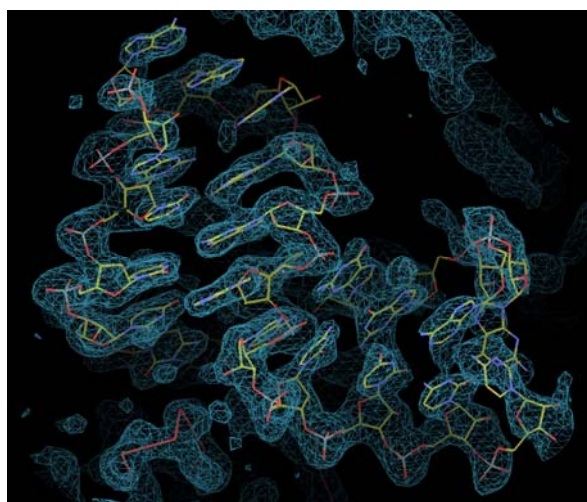
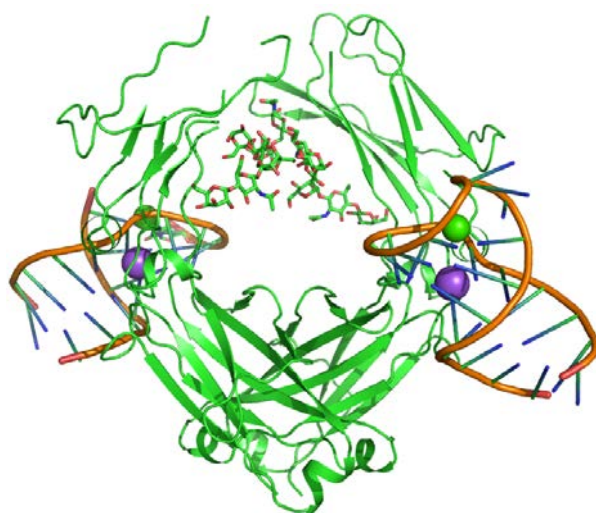


図 28. RNA アプタマーの電子密度図



Resolution range (Å)	40.0-2.15
No. of unique reflections	36,180
Rcryst(%) / Rfree(%)	23.67 / 27.38
RMSD bond length (Å)	0.009
RMSD bond angle (°)	1.4
Protein atoms	3998
Suger	153 (13mer)
Water molecules	243
Metals	3x Ca ²⁺ , 2 x Na ⁺

図 29. RNA アプタマー-IgG 複合体の立体構造と精密化パラメータ

【Methyl-CpG-binding domain 4 (MBD4) のメチル化 DNA 結合領域と DNA の複合体の結晶化（京都大学工学部・白川昌宏先生との共同研究）】

核内で機能する MBD4 のメチル化 DNA 結合領域と DNA の複合体の結晶化を行い、レーザーと攪拌技術を併用した条件最適化の結果、従来 0.05 mm 程度の大きさしか析出しなかった結晶を約 0.2 mm の大きさのバルク状結晶まで成長させることに成功した（図 30）。

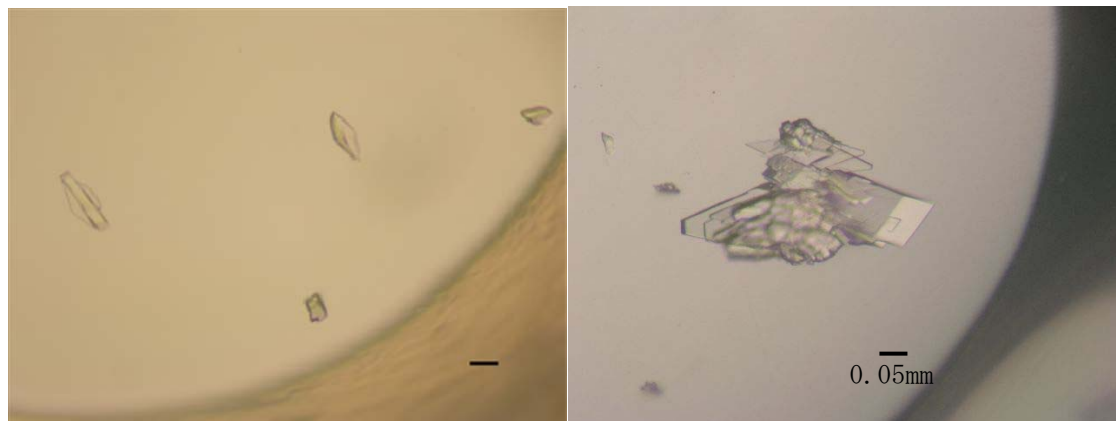


図 30. 従来法による結晶（左）とレーザーと溶液攪拌技術による結晶（右）

【細胞増殖必須因子 Spermidine acetyltransferase（SAT）の結晶化と構造解析（千葉大学・五十嵐一衛先生と千葉科学大学・柏木敬子先生との共同研究）】

細胞増殖必須因子であるポリアミンの代謝系に関与しているタンパク質 SAT の結晶化に初めて成功した。しかし、それらの結晶は当初、全く反射が得られない低品質結晶であったため、サンプル評価から見直しを行い、発現と精製方法を改良した。その結果、2.6 Å 分解能の X 線強度データを得ることのできる高品質結晶の作製に成功し（図 31）、構造解析を可能にした（図 32）。

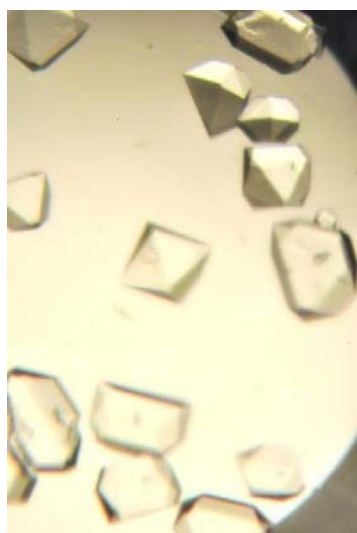


図 31. SAT の高品質結晶

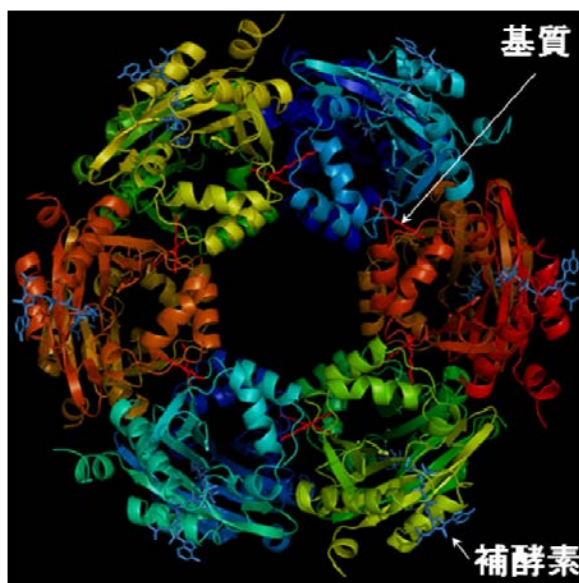


図 32. SAT の立体構造

【Tomato mosaic virus 130K タンパク質の結晶化と構造解析（農業生物資源研究所・加藤悦子先生との共同研究）】

植物ウイルス感染病であるトマトモザイク病に関与している 130K タンパク質の結晶化実験を試みたところ、溶液攪拌を行わない場合は 2.1 Å 分解能までの反射を持つ結晶が得られたのに対して、溶液攪拌技術により育成した場合には、X線回折の異方性が大きく改善され 1.8 Å まで分解能が向上した（図 33）。また、SeMet 化した 130K タンパク質結晶の高品質化にも成功した。さらに、それらの結晶を用いて SAD 法によって立体構造解析に成功した（図 34）。



図 33. 高品質化に成功した 130K 結晶

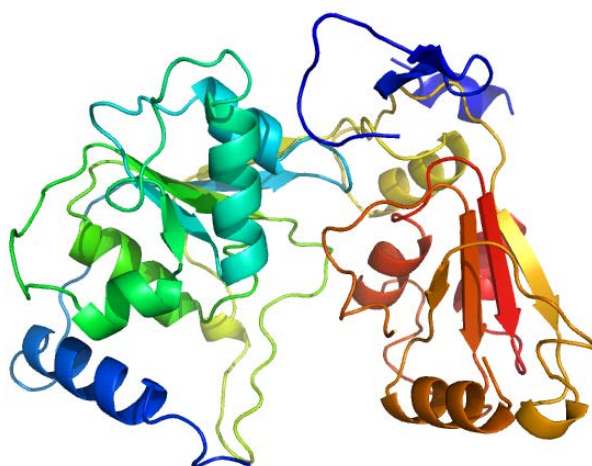


図 34. 130K タンパク質の立体構造

【機能性 Biotin 誘導体の開発を目指した Avidin との複合体の結晶化と構造解析（東京大学大学院薬学系研究科・長野哲雄先生との共同研究）】

従来、汎用されてきた Biotin-Avidin 複合体反応にもう一つ Avidin 結合性が大きく変化するような機能を有する Biotin 誘導体を開発するために、4 種類の Biotin 誘導体-Avidin 複合体の構造解析を行った。しかし、当初得られた全ての結晶は X 線回折実験の結果、異方性が激しい低品質結晶であった。そのため、溶液攪拌法を適用したところ異方性が大きく改善され全ての結晶において 1.8 Å 分解能を超える高品質結晶を得ることに成功した。さらに高分解能構造解析にも成功し Avidin に結合した Biotin 誘導体構造を精密に解析することが可能となった（図 35）。

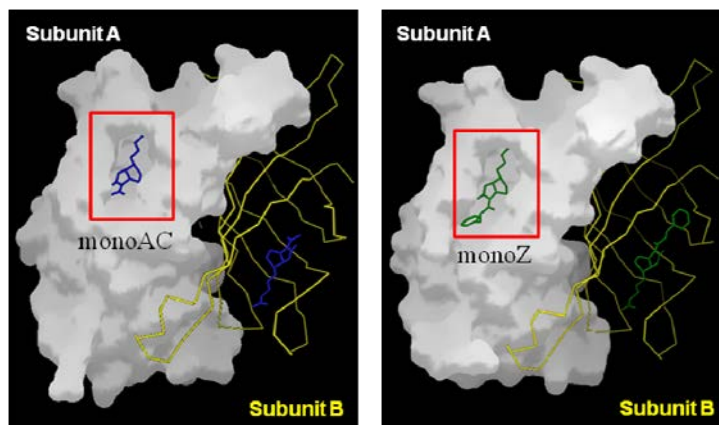


図 35. Avidine-Biotin 誘導体との複合体構造

【Na,Ca-exchanger (NCX1)の Ca²⁺ binding domain の結晶化と構造解析（大阪薬科大学・友尾幸司先生との共同研究）】

溶液攪拌法を用いることによって、心臓の細胞膜に存在し細胞内 Ca²⁺濃度調節に寄与している NCX1 -Ca²⁺ binding domain の非 Ca²⁺結合型の結晶化に成功し、世界に先駆けて構造解析可能な結晶を得ることができた。現在、大阪薬科大学にて構造解析に成功した。

【RNA アプタマー(AML34)－AML-1 複合体の結晶化と構造解析（東京大学医科学研究所・中村義一先生、千葉工業大学・坂本泰一先生との共同研究：平成 17 年度 CREST「生命現象の解明と応用に資する新しい計測・分析基盤技術」採択課題）】

急性骨髄性白血病に関与している AML-1 と RNA アプタマー(AML34)との複合体結晶化に初めて成功した。また従来法ではX線構造解析の分解能は 10 Å分解能までの低品質結晶であったが、溶液攪拌法を適用したことによって分解能が 3.0 Åと飛躍的に向上した。

【Soybean vacuolar sorting receptor (VSR) タンパク質の結晶化（京都大学大学院農学研究科・丸山伸之先生との共同研究）】

21 世紀の食糧問題に対処しうる新規な食糧素材の開発ターゲットである、ダイズ種子タンパク質の貯蔵液胞への選別輸送を決定するレセプターVSR タンパク質の結晶化に初めて成功した。従来法では、X線構造解析の分解能は主に 20 Å分解能までであったが、キャピラリー法を適用することによって分解能が 4.5 Åと飛躍的に向上した。さらに、2 種類のペプチド (RAFY と ILRAFY) との複合体結晶を作製することによって、それぞれ分解能が 4.1 Åと 3.1 Å分解能まで向上し、構造解析可能な高品質結晶を得ることに成功した。

【Polyamine ABC transport protein (PotA)の結晶化（千葉大学・五十嵐一衛先生と千葉科学大学・柏木敬子先生との共同研究）】

大腸菌の細胞増殖に関与しているポリアミンの ABC トランスポータータンパク質 PotA の結晶化に初めて成功し、攪拌技術によって 3.0 Å分解能までのX線回折データが得られている。

【抗酸化タンパク質 Peroxiredoxin (Prx) 結晶の大型化（(独)産業技術総合研究所・中村努先生と日本原子力研究開発機構・黒木チームとの共同研究）】

中性子回折測定を目的とした過酸化水素を水に還元する抗酸化タンパク質 Prx 結晶の大型化は、従来法では多結晶化するために大型結晶育成は困難であったが、我々の結晶育成技術（気液界面育成法）により、2.5×2.5×1.0 mm (6.2 mm³)の良質な大型結晶を得ることに成功し、3.5 Å分解能の中性子回折強度データを収集することができた。

【Calmodulin 結晶の大型化（日本原子力研究開発機構との共同研究）】

中性子回折測定のために重水素化したサンプルと各種溶液を用いた Calmodulin 結晶の大型化は、従来の静置法では細い針状結晶しか得られなかったが、我々の結晶育成技術（リザーバー溶液の濃度制御による結晶育成）により、2.0×1.0×0.2 mm の大型結晶を得ることに成功した。

【Minichromosome Maintenance (MCM) タンパク質と DNA 複合体の結晶化と構造解析（イギリス ケンブリッジ大学との共同研究）】

DNA の複製過程（開始および伸長過程）で DNA 開裂を担う MCM タンパク質と DNA 複合体の高品質結晶化に成功した。これまで低分解能（～4.5 Å）かつ低品質（mosaicity : 1.0°以上）の結晶しか得ることができなかったが、溶液攪拌技術を用いることによって解析可

能な高品質結晶を得ることに成功し、高分解能（3.1 Å 分解能、mosaicity : 0.2-0.4°）の回折強度データを収集した。

【HIV protease－抗 HIV 薬リトナビル複合体結晶の大型化（日本原子力研究開発機構・黒木チームとの共同研究）】

中性子線構造解析を目指したタンパク質 HIV-1 protease－抗 HIV 薬複合体結晶の大型化は、それぞれ 2.7×0.6×0.4 mm まで育成させることに成功した。

(2)研究成果の今後期待される効果

多くの難結晶化タンパク質の結晶化に成功し、我々の結晶化技術が多くのタンパク質に有効かつ汎用性をもつ技術であることを示した。本研究結果から、より多くのタンパク質三次元構造情報が解明可能となることは、創薬応用や生命現象の解明といった分野の今後の進展に寄与することが期待される。また、こうした成果が公知のものとなることで我々の開発した新技術が広く認知され、現在も多く存在する結晶化が困難な多くのタンパク質の高品質結晶化に適用されていくことが今後期待できる。

4. 3 膜タンパク質完全結晶創成（「産研（現東工大）」グループ）

(1)研究実施内容及び成果

タンパク質結晶化のなかでも、とりわけ困難である膜タンパク質の高品質結晶化は、構造生物学分野における最後の難問と言われている。我々がこれまで開発してきたレーザー核発生技術、及び溶液攪拌技術による高品質結晶化技術や、溶解度制御技術は難結晶膜タンパク質の結晶核発生や、高品質結晶化の為に基盤技術となりうる。本プロジェクトでは、大腸菌多剤排出トランスポーターAcrBに加えて、クローニングが完了した新規膜タンパク質に対して、これら開発中の結晶化技術を系統的に適用し、技術の高度化と高精度結晶構造解析を目指すと共に、難溶解性タンパク質結晶化技術の汎用化を目指した。

【膜タンパク質 AcrB の大量精製、及び結晶化】

レーザー核発生技術および溶液攪拌技術の原理解明および高度化に向けて、レーザー核発生技術による低過飽和度領域での結晶核発生および、溶液攪拌技術による結晶の高品質化に対してポジティブな効果が顕著に見られた大腸菌 AcrB をモデル膜タンパク質として選択した。結晶化実験に利用可能なクオリティーの膜タンパク質標品は、リゾチームや、グルコースイソメラーゼと相反して市販のリソースからの入手が不可能であるため大量の利用が困難である。そこで、結晶化実験用高品質膜タンパク質標品の安定供給に向けた大腸菌 AcrB の大量精製のために、熟練が必要な精製プロセスを許される範囲で簡略化し、膜タンパク質精製に不慣れた技術員や研究者にも比較的簡便にサンプル調整が可能にした。このようなプロセス簡略化は、当該プロジェクトのような異分野連携を効果的に行う上では重要であると考えている。

大腸菌 AcrB を用いたレーザー核発生技術および溶液攪拌技術による結晶化実験は、工学研究科グループとの協同で行い、得られた結晶の X 線回折実験は産研グループ（現東工大グループ）で行った。これまで、大腸菌 AcrB の結晶構造解析は、結晶学的三回対称軸を持つ三方晶系（R32）型結晶と、それを持たない単斜晶系（C2）型結晶で報告されている。このうち、三方晶の結晶化には、レーザー核発生技術および溶液攪拌技術が、極めて有効であることが分かったが、一方単斜晶では、レーザー核発生技術による結晶核発生の促進に

対しては効果が見られるものの、結晶性の向上には効果が見られず、溶液攪拌技術においても結晶性の向上が見られないことが分かった。

同一サンプルにおいても結晶化条件が異なる事でこのような差違が生まれるため、その理由を理解することで、ここで扱う結晶成長技術の結晶性向上原理の本質的理解や、その適応範囲の拡大にも繋がることが期待出来た。そのため、上述の手法により精製された高純度膜タンパク質標品を大量に供給することで、工学研究科グループとの連携により、結晶成長中の表面観察や、欠陥・転位密度の測定などを積極的にすすめた。詳しくは工学研究科グループの報告を参照されたいが、膜タンパク質において、成長中の表面観察が詳細に行われた事はこれまで例がなく、世界で最初の例となった。

また、工学研究科グループの研究により、溶液粘性がレーザー核発生に影響を及ぼすという事が見出されたので、膜タンパク質に対する有効性を検討するために、大腸菌 AcrB の結晶化溶液に加えるグリセロール等の量を検討し、結晶化を行ったところ、膜タンパク質 AcrB においても、効果があることが明らかとなった。

【薬剤排出トランスポーターのクローニング及び精製・結晶化条件の検討】

1. 緑膿菌 MexB の結晶化

多剤排出トランスポーターAcrB と異なる膜タンパク質の結晶化を試み、結晶化技術の汎用化をめざすために、膜タンパク質 AcrB のホモログやオルソログをクローニングし、精製法の確立を行った。具体的には、大腸菌 AcrB など、多剤耐性化に関わる薬剤排出トランスポーターで、大腸菌やその他のグラム陰性細菌の持つ同種の薬剤排出トランスポーターのクローニングを約 40 種類行った。これらを、大量発現、細胞膜への移行性、細胞膜からの界面活性剤を用いた適切な可溶化、高度精製、会合状態の観察による結晶化能、の各段階でふるいをかけて残ったものについて結晶化条件の検討を行った。その結果、院内感染の主たる原因菌である緑膿菌（MDRP）の持つ最も強力な薬剤排出トランスポーターである MexB について、結晶核発生に成功した（図 36）。院内感染は今や社会問題であり、我が国に於ける今夏のアウトブレイク事例は耳に新しいが、院内感染の克服へ向けた応用展開も可能な同タンパク質の結晶構造解析には大きな期待が寄せられている。



図 36. 緑膿菌多剤排出トランスポーターの MexB 結晶

MexB の立体構造情報に基づく機能解析や、阻害剤デザインには少なくともタンパク質に結合する水分子の可視化が可能なレベルでの解像度が必要となるため、今後、レーザー核発生技術や溶液攪拌技術の膜タンパク質結晶化への適用性を調べながら、高精度構造解析を実現する。さらに、工学研究科グループで水溶性タンパク質の結晶化において溶液粘性がレーザー核発生技術や、溶液攪拌技術による結晶の高品質化に影響を及ぼすことが見出

されているが、これらの新しい知見を膜タンパク質の結晶化にも適用し、結晶化技術の高度化と汎用化を目指す。

2. 大腸菌 AcrB ホモログの結晶化

大腸菌のゲノム中には少なくとも5種類以上のAcrBホモログが存在し、抗生物質や色素性毒素などの排出活性を持つことが知られている。それらの基質特異性はAcrBのそれと異なる。この特異性を構造学的に理解することは、多基質認識機構の解明に繋がるばかりでなく、排出されにくい薬剤の開発などの応用展開にも資する情報となりうる。我々はこのような目的のほか、微量溶液攪拌やフェムト秒レーザー照射による新奇結晶化技術の適用範囲の拡大を目指し、このような難結晶化標品の大量調整と、初期結晶化条件の検索を行った。大腸菌AcrBや、緑膿菌MexBを代表とするRND型トランスポーターと呼ばれる膜タンパク質を多く持つ、グラム陰性細菌を対象として21種類のトランスポーターの大量発現系の構築および精製系の確立を行った。それらの中にはいくつか結晶を与えるものがり、現在、X線結晶構造解析を行っている。

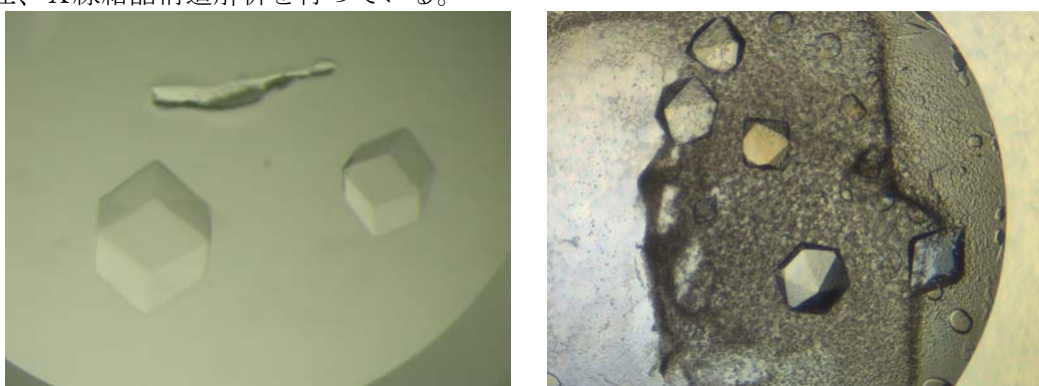


図 37. 多剤排出トランスポーター・ホモログの結晶

(2) 研究成果の今後期待される効果

産研（現東工大）グループがここで扱ったタンパク質標品は、全て難結晶化性タンパク質である膜タンパク質である。生物化学的重要性のほか、医薬品のターゲットとしての重要性などから膜タンパク質の構造研究の重要性は今後益々高まることが予想されているが、ここでもやはり結晶化の困難さが大きなハードルとなっている。本研究により膜タンパク質標品にも、微量溶液攪拌など本CREST研究で扱った新奇結晶化技術の有用性が示され、またそれを用いることによる結晶成長時における微視的な効果も観察できた。このことは世界初の成果である。さらなる研究により、これら技術の結晶性向上の原理解明に繋がることが期待出来る。またそれは原理に基づく高度化の可能性を拓き、高難度タンパク質標品の結晶化に於ける手法のひとつとして、本CREST研究で生まれた種々の結晶成長技術を提案できることが期待される。

また、新奇多剤排出トランスポーターの結晶が得られ、今後X線結晶構造解析が進むことで、多剤排出トランスポーターの多基質認識とそれに続く、多剤排出メカニズムが明らかになることが期待できる。市中感染や、院内感染において現代の医療現場における最大の脅威のひとつである多剤耐性化問題の根本的理解と、その解決策の開発に門戸を拓くことが期待できる。とりわけ、緑膿菌の多剤排出トランスポーターは、今夏の高度医療機関における院内感染アウトブレイク事例においても中心的な問題となった病原菌の多剤耐性化の主因となるタンパク質であり、その根本的理解に基づく阻害は、広く人類の安全安心な暮らしのために大変重要な課題であるといえる。本CREST研究によりその礎となる結晶を得て、さらに高品質化の術を得たことで、病原菌の多剤耐性化問題克服へ向けて応用研究展開も期待が集まることである。

4. 4 タンパク質・有機低分子化合物結晶化受託（「創晶」グループ）

(1) 研究実施内容及び成果

これまで大阪大学で研究開発してきたレーザー核発生技術や溶液攪拌技術などの結晶化技術の汎用化を目的として、タンパク質・有機低分子化合物結晶化受託を実施した。これまでの経験で最適と考えられる条件で結晶化スクリーニングを実施し、本結晶化技術の汎用性の検証を行った。

【*Penicillium chrysogenum* 31B 株由来 エキソ型アラビナナーゼの高品質結晶化（大阪府立大学・多田俊治教授との共同研究）】

本サンプルは、これまでに結晶が得られていなかったが、レーザー核発生技術により結晶化条件が見つかった。レーザー核発生技術と溶液攪拌技術を組み合わせた結果、X 線回折測定で 1.14 Å の極めて高い分解能のデータを得ることができた（ $P2_12_12_1$ 、 $a = 66.6$ 、 $b = 76.9$ 、 $c = 79.3$ Å、完全性 99.7%、SPRING-8・BL41XU にて液体窒素温度で測定）。その結果、立体構造解析に成功した。

【ユグレナ（生物）のミトコンドリアに存在する酵素（分子量：130kDa x 4mer = 520 kDa）の結晶化（大阪府立大学・中澤昌美助教との共同研究）】

従来法でも結晶が得られるものの品質が非常に悪いため、レーザー核発生技術と溶液攪拌技術による結晶化を試みたところ、結晶形状の改善と大型化を実現できた（図 38）。

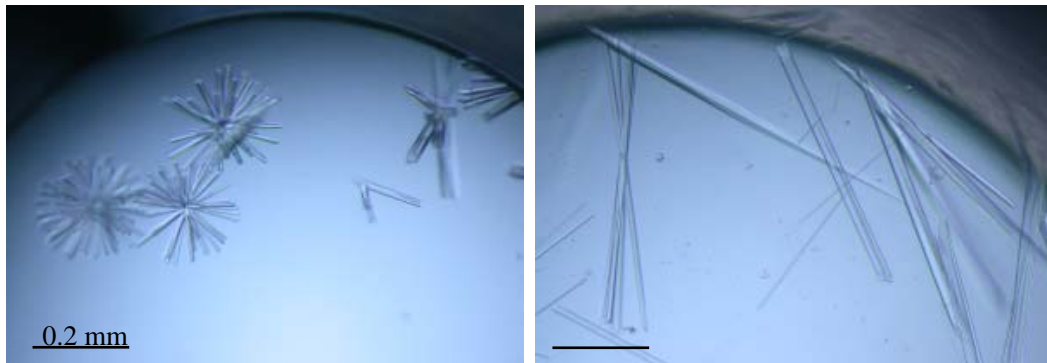


図 38. レーザー核発生技術による結晶化（左）、及び溶液攪拌技術による大型化（右）

【好熱菌由来酵素タンパク質（スレオニン分解経路に関わる物質）の結晶化（鳥取大学・和泉好計教授との共同研究）】

レーザー核発生技術により、いくつかの条件で結晶が得られ、溶液攪拌技術による高品質結晶化を試みたところ、大型結晶化に成功した。

【細菌の情報伝達系タンパク質である HK11 細胞内ドメインのタンパク質（21kDa）の結晶化（大阪大学産業科学研究所・岡島俊英准教授との共同研究）】

本タンパク質は、過去に 1 度だけ良質な結晶が得られただけで、それ以降は再現性が得られず、回折データを収集できないタンパク質である。レーザー核発生技術により、いくつかの照射条件で結晶が得られた。その中で結晶の析出状態が良いものを選出し、溶液攪拌技術による高品質結晶化を試みたところ、大型結晶が得られた。SPRING-8 での回折測定により、2.3 Å の分解能データが取得でき、立体構造解析に成功した。

当初計画では想定されていなかった新たな展開として、有機低分子化合物の高品質結晶化を実施した。創薬応用や生命現象の解明のためには、種々の有機低分子化合物の高品質結晶化も重要な課題である。本研究では、国内の大学との共同研究において、我々の結晶化技術を種々の有機低分子化合物の結晶化にも展開し、高品質結晶の育成・結晶構造解析に取り組んだ。

【新規アザ環状化合物の結晶化（東京工業大学・土井隆行准教授（現東北大学教授）との共同研究）】

有機低分子化合物（分子量 1012：新規アザ環状化合物）の結晶化実験を行った。レーザー核発生技術により初めて結晶化に成功し（図 39）、X線結晶構造解析で立体構造が初めて決定できた。

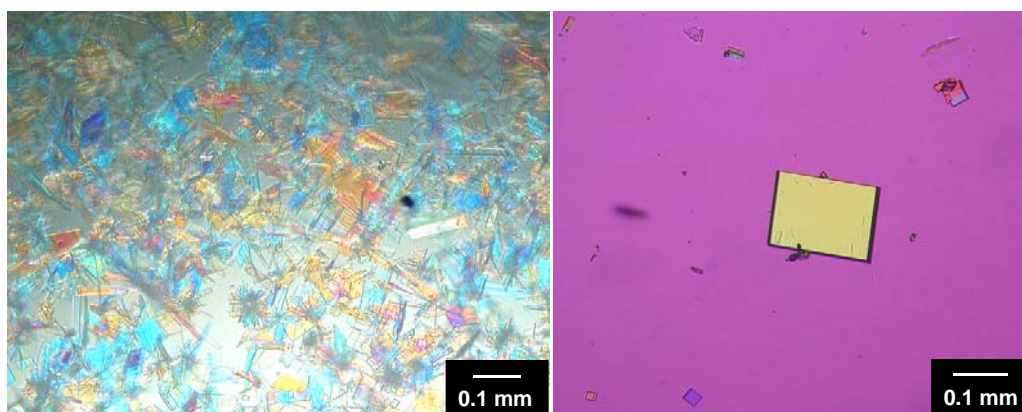


図 39. レーザー核発生技術による初期スクリーニングで結晶化に成功（左）
結晶化条件を最適化して得られた大型結晶（右）

【BODIPY 系蛍光プローブ分子の結晶化と構造解析（東京大学大学院薬学系研究科・長野哲雄先生との共同研究）】

絶対配置決定を目的として、BODIPY (boron-dipyrromethene) 系蛍光プローブ分子とそのヨウ素誘導体計 6 種の結晶化を実施した。従来法（過飽和溶液から自然核を析出させる方式）にて得た結晶はクラック様の欠陥を結晶内に多数含んでいたのに対し、溶液攪拌技術を導入して得た結晶は、6 種のうち 4 種にて形状、透明度、内部の光学的均一性の良好なものが多く得られた（図 40）。うちヨウ素誘導体 1 種にて結晶構造解析に初めて成功(R 値 5.1%)し、絶対配置の決定に至った（図 41）。高品質化の理由として、この結晶の場合、貧溶媒滴下により溶液の過飽和度を高めることで結晶が得られる傾向にあったが、溶液攪拌技術が 2 種の溶媒の混合状態（=溶液状態）を均質にしたためであると考えている。

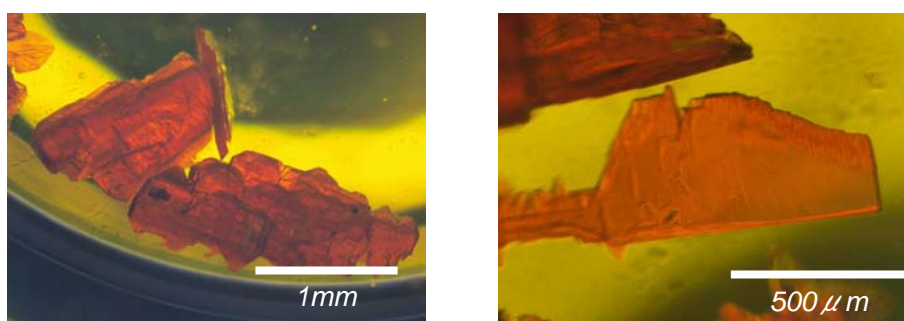


図 40. 従来法による結晶（左図）と溶液攪拌技術による結晶（右図）

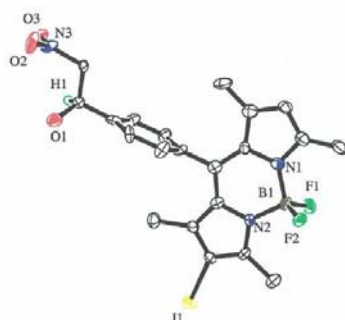


図 41. BODIPY 系蛍光プローブ分子の立体構造

【カリックスアレーン系有機レジスト材料の結晶化と構造解析（神奈川大学工学部・西久保忠臣先生との共同研究）】

結晶化溶液を低過飽和状態にすることは、高品質結晶を得るうえでまず配慮すべき重要な点である。本研究では、半導体微細加工用分子レジスト材料であるカリックスアレーン誘導体について、溶媒蒸発量により過飽和度を厳密に制御し、5 種の誘導体の結晶化に初めて成功した（図 42）。うち 4 種については、X 線回折データの取得、骨格構造の解明に成功した。

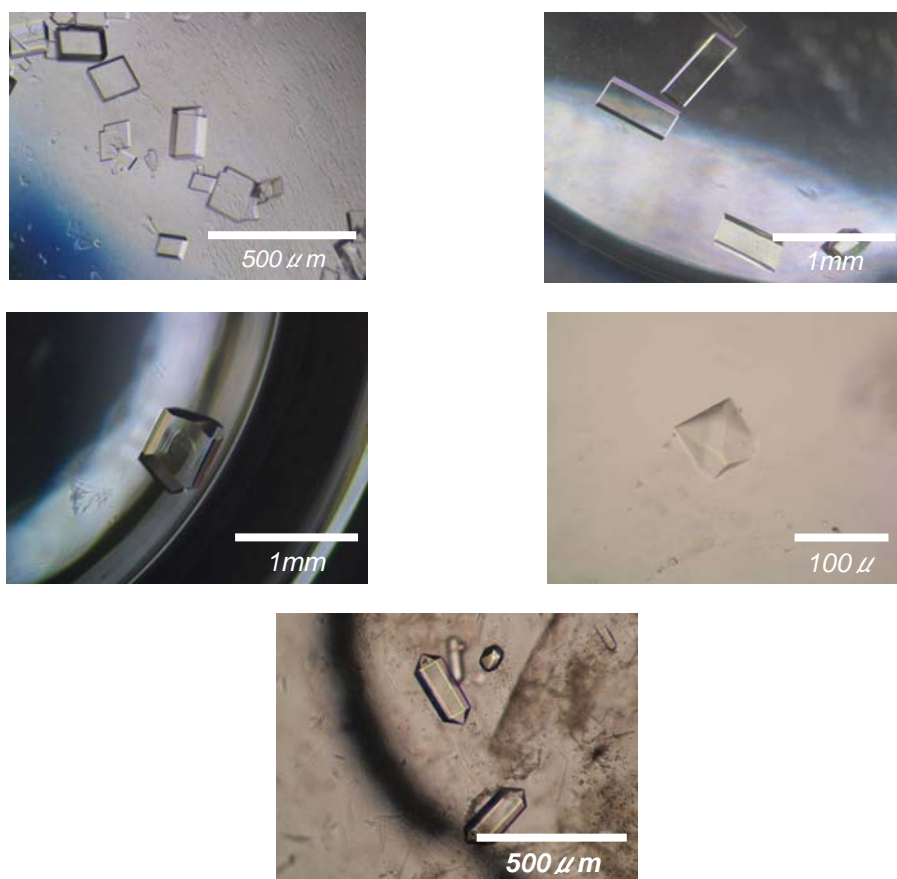


図 42. カリックスアレーン誘導体結晶

（上段左：C6-Dimer-EE（分子量 2683）、上段右：C8-Dimer-EE（分子量 2795）、中段左：double-calix-SiMe3（分子量 2859）、中段右：pyro-Noria-OSiMe3（分子量 4496）、下段：C5-Trimer-EE（分子量 3940））

表 1. 本研究において高品質結晶化に成功したタンパク質・有機低分子化合物

No	サンプル名	共同研究先	結晶化方法と得られた結晶		溶液粘性	撈拌効果
			従来法	撈拌、レーザー、大型化技術		
1	HIV protease－KNI272 複合体	黒木チーム (原研)	体積 0.0016mm ³ 以下の結晶	体積 3.6 mm ³ の大型結晶	低	○
2	IgG-RNA aptamer 複合体	中村先生 (東大)	2.8 Å 分解能結晶	2.1 Å 分解能結晶 (構造解析に成功)	中	○
3	Na ⁺ /Ca ²⁺ exchanger, Ca ²⁺ binding domain	友尾先生 (大阪薬大)	低分解能結晶	3.0 Å 分解能結晶 (構造解析に成功)	高	△
4	Spermidine acetyltransferase	五十嵐先生 (千葉大)	2.5 Å 分解能結晶 構造解析に成功	変化なし	高	×
5	Tomato mosaic virus 130K	加藤先生 (農業資源研)	低分解能結晶	1.8 Å 分解能結晶 (構造解析に成功)	低	—
6	Avidin-Biotin analog 複合体	長野先生 (東大)	低分解能結晶	1.8 Å 分解能結晶 (構造解析に成功)	低	○
7	AML1-AML38 or 34 aptamer 複合体	中村先生 (東大)	低分解能結晶	3.0 Å 分解能結晶	低	○
8	Soybean vacuolar sorting receptor	丸山先生 (京大)	低分解能結晶	3.0 Å 分解能結晶	中	△
9	Polyamine transport protein A	五十嵐先生 (千葉大)	低分解能結晶	3.0 Å 分解能結晶	低	△
10	Peroxiredoxin	中村先生 (産総研)	小型クラスター結晶	大型結晶	低	○
11	Calmodulin	黒木チーム (原研)	小型クラスター結晶	大型結晶	低	△
12	Minichromosome Maintenance	MRC (ケンブリッジ大)	低分解能結晶	3.0 Å 分解能結晶	低	○
13	Methyl-CpG-binding domain 4	白川先生 (京都大)	0.05mm の微結晶	0.2mm のバルク結晶	—	—
14	HIV protease -Ritonavir 複合体	黒木チーム (原研)	小型クラスター結晶	大型結晶	低	○
15	Penicillium chrysogenum 31B 株由来 エキソ型アラビナナーゼ	多田先生 (大阪府大)	結晶化せず	1.14 Å 分解能結晶 (構造解析に成功)	低	○
16	ユーグレナのミトコンドリアに存在する酵素	中澤先生 (大阪府大)	低分解能結晶	結晶形状改善、大型結晶	高	○
17	好熱菌由来酵素タンパク質	和泉先生 (鳥取大)	結晶化せず	大型結晶	高	○
18	HK11 細胞内ドメインのタンパク質	岡島先生 (阪大)	結晶化せず	2.3 Å 分解能結晶 (構造解析に成功)	低	○
19	新規アザ環状化合物	土井先生 (東京工大)	結晶化せず	高分解能結晶 (構造解析に成功)	低	—
20	BODIPY 系分子 (有機低分子)	長野先生 (東大)	低分解能結晶	高分解能結晶 (構造解析に成功)	低	○

4. 5 社会還元（「創晶」グループ）

社会還元予算

【大型結晶育成キットの実用化】

本 CREST 研究で開発した溶液攪拌技術などを駆使した結晶大型化技術を、J-PARC など中性子線回折装置のユーザーとなる研究者が活用できるように、大型タンパク質結晶育成キットの実用化を目指して、研究開発を行った。

これまでのタンパク質結晶大型化のための育成法としては、①種結晶育成法、②2液法、③溶液攪拌などが挙げられる（②、③は本 CREST のオリジナル技術；図 43）。

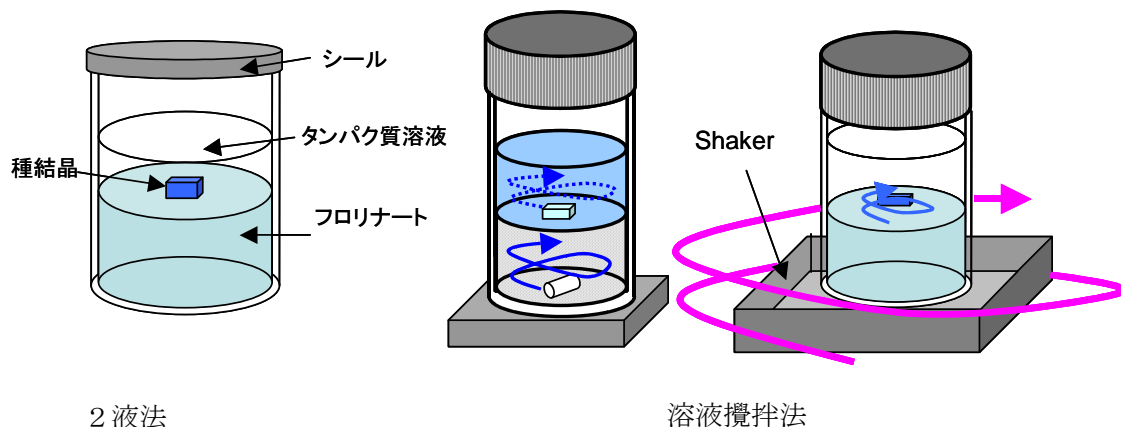


図 43. 大型結晶の育成に関する本 CREST のオリジナル技術

大きなタンパク質結晶を育成するためには、1ヶ月以上の長い期間を要し、育成途中で雑晶が発生する場合が多く、目的とする結晶の成長を阻害するため、本研究では、その解決法を研究開発した。その結果、以下で説明する2つの対応策が有効であることが分かった。

【溶液交換型 TSSG-FAST 法：S-Cell】

発生した雑晶との癒着を防ぐため、無機材料で用いられる種結晶を溶液中に吊り下げて育成する TSSG (Top-seeded solution growth) 法をタンパク質の育成においても活用できることを初めて示した。また結晶成長速度の向上、および結晶品質改善の観点から我々の独自技術である溶液攪拌との組合せを考案し、TSSG-FAST 法 (Top-seeded solution growth with the floating and solution-stirring method；図 44) を開発した。

この手法は大型結晶の育成に大変有効であるが、タンパク質溶液が多量に必要となり、精製等が困難で多量に得られないタンパク質等では簡単には利用できない手法であった。そのため、タンパク質利用効率が高く、簡便に利用できるキットを開発した。

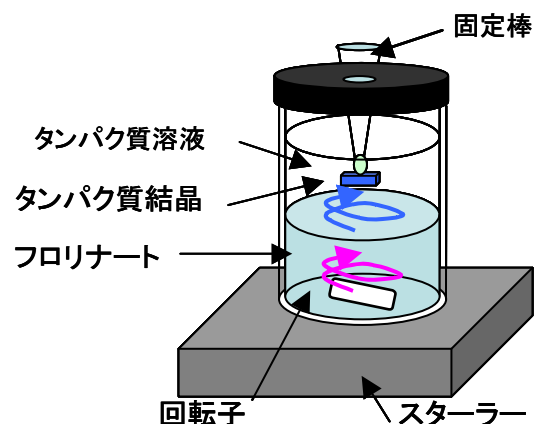


図 44. TSSG-FAST 法

通常、タンパク質溶液は希少性が高いため、より少量のサンプルで効率的に結晶育成ができることを実現するため、より小さい内容量の結晶育成容器でも長期間の育成を可能とすることが必要である。そのために、溶液の補充が簡単となる、シリンジタイプの育成キット（S-Cell）を開発することに成功した（図 45）。



図 45. S-Cell 試作品

S-Cell を用いることで、一般の研究者でも比較的容易にミリオーダーサイズのタンパク質結晶が育成可能になると考えている。本予算にて、量産試作までの検討が完了する見込みであり、予算終了後に速やかに商品化する予定である。

【大型ハンギングドロップ法：Fuji-Well】

現在、最も普及しているタンパク質の結晶育成法のひとつであるハンギングドロップ蒸気拡散法は、育成溶液の液滴を吊り下げた状態で結晶を育成するため、結晶がフリーな状態で成長し、高品質な結晶が得られる。ただし、地上での結晶育成では、表面張力に限界があり、溶液量を原理的に増やすことが困難であるため、大型結晶の育成には不向きな方法であった。

そこで、吊り下げる液適量を増やすため、堰き立てを設けた育成容器を開発した（Fuji-Well；図 46）。堰き立ての大きさと形状を変化させることで、吊り下げる液適量を大容量化できることから、今回、大きさの異なる様々な Fuji-Well を試作した。液適量はそれぞれ 70～80 μ L（中型タイプ）、190～200 μ L（大型タイプ）とし、3 mm サイズの結晶を育成できるスペックとなっている。プラスチック一体成型の量産試作品が出来上がる予定であり、予算終了後に速やかに商品化する。

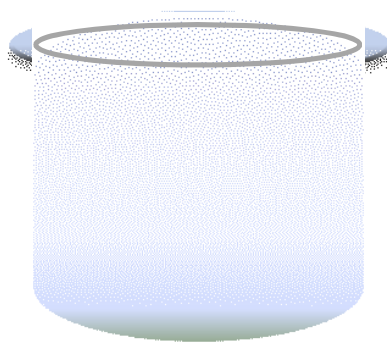


図 46. Fuji-Well

S-Cell 同様、長期間の育成を可能とするためには、溶液の補充・交換（図 47）と雑晶の除去（図 48）が必要であるが、Fuji-Well を用いることで、液底が開いているために、十分に対応可能である。Fuji-Well を用いて、長期育成した結果、中性子線構造解析に供する ApTPx の大型結晶の育成に成功した（図 49）。

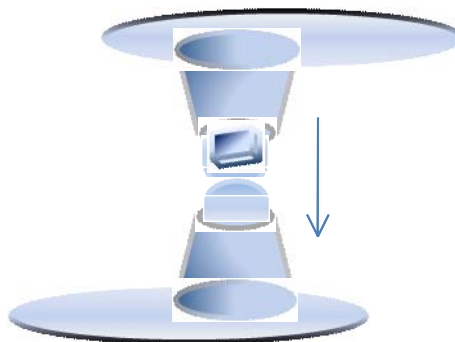


図 47. 溶液の補充(左)・交換(右)

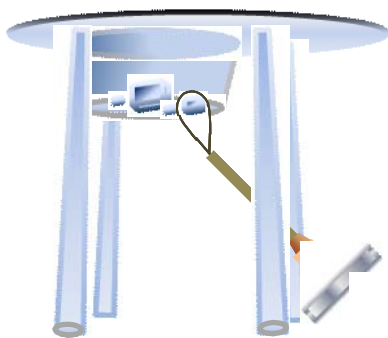


図 48. 雑晶の除去

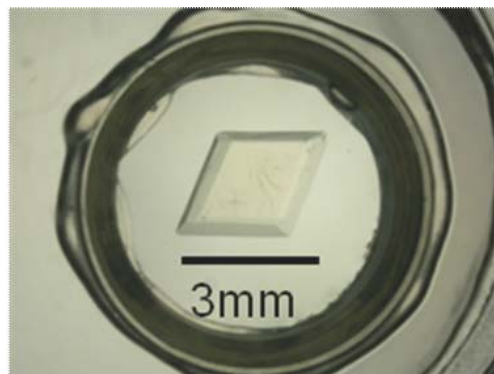


図 49. ApTPx の大型結晶

(2)研究成果の今後期待される効果

本研究にて開発した結晶の大型化技術を、より多くの方が使用できるように、キットの開発を行った結果、**S-Cell** と **Fuji-Well** の開発に成功した。これらの結晶化キットを市販化することで、一般の研究者もタンパク質の大型結晶を育成することができるようになる。これにより、X線および中性子線の構造解析がより効率的に実施できるようになり、創薬やライフサイエンスなどの研究が加速すると期待できる。特に、現在、2013 年のフル出力に向けて開発中の大強度陽子加速器施設 (**J-PARC**) においては、測定対象となる大型結晶の作製がボトルネックとなっており、本キットの販売がその解決の一助となる。

§ 5 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内(和文)誌 3件、国際(欧文)誌 49件)

1. “Purification, crystallization and preliminary X-ray diffraction of SecDF, a translocon-associated membrane protein, from *Thermus thermophilus*”
T. Tsukazaki, H. Mori, S. Fukai, T. Numata, A. Perederina, H. Adachi, H. Matsumura, K. Takano, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori, T. Sasaki, D. G. Vassilyev, O. Nureki and K. Ito
Acta Crystallogr. F62 (2006) 376-380
DOI: 10.1107/S1744309106007779
2. “Crystallization and preliminary X-ray analysis of the tRNA thiolation enzyme MnmA from *Escherichia coli* complexed with tRNA Glu”
T. Numata, Y. Ikeuchi, S. Fukai, H. Adachi, H. Matsumura, K. Takano, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori, T. Sasaki, T. Suzuki and O. Nureki
Acta Crystallogr. F62 (2006) 368-371
DOI: 10.1107/S174430910600738X
3. “Crystallization and preliminary X-ray analysis of rat SHPS-1”
A. Nagata, H. Ohnishi, M. Yoshimura, A. Ogawa, S. Ujita, H. Adachi, M. Okada, T. Matozaki, A. Nakagawa
Acta Crystallogr. F62 (2006) 189 – 191
DOI: 10.1107/S1744309106001941
4. “Solution-Stirring Method Improves Crystal Quality of Human Triosephosphate Isomerase”
H. Adachi, A. Niino, T. Kinoshita, M. Warizaya, R. Maruki, K. Takano, H. Matsumura, T. Inoue, S. Murakami, Y. Mori and T. Sasaki
J. Biosci. Bioeng. 101 (2006) 83-86
DOI: 10.1263/jbb.101.83
5. “Effect of Laser Irradiation on Enzyme Activity”
S. Murakami, M. Kashii, H. Kitano, H. Adachi, K. Takano, H. Matsumura, T. Inoue, Y. Mori, M. Doi, K. Sugamoto, H. Yoshikawa and T. Sasaki
Jpn. J. Appl. Phys. 44 (2005) 8216-8218
DOI: 10.1143/JJAP.44.8216
6. “Processing of Membrane Protein Crystal Using UV Laser Irradiation”
H. Kitano, S. Murakami, H. Adachi, H. Matsumura, K. Takano, T. Inoue, Y. Mori, M. Doi and T. Sasaki
J. Biosci. Bioeng. 100 (2005) 50-53
DOI: 10.1263/jbb.100.50
7. “Semiautomatic Protein Crystallization System Featuring Crystallization Solution Preparation Function”
H. Adachi, H. Matsumura, T. Inoue, A. Niino, K. Takano, S. Murakami, Y. Mori and T. Sasaki
Jpn. J. Appl. Phys. 44 (2005) 6302-6303
DOI: 10.1143/JJAP.44.6302
8. “Structural Basis of Compound Recognition by Adenosine Deaminase”
T. Kinoshita, I. Nakanishi, T. Terasaka, M. Kuno, N. Seki, M. Warizaya, H. Matsumura, T. Inoue, K. Takano, H. Adachi, Y. Mori, and T. Fujii
Biochemistry 44 (2005) 10562-10569
DOI: 10.1021/bi050529e
9. “Femtosecond Laser Processing of Protein Crystals in Crystallization Drop”
M. Kashii, H. Kitano, Y. Hosokawa, H. Adachi, Y. Mori, T. Sasaki, H. Masuhara, K. Takano, H.

- Matsumura, T. Inoue, S. Murakami, K. Sugamoto and H. Yoshikawa
Jpn. J. Appl. Phys. 44 (2005) L873-L875
DOI: 10.1143/JJAP.44.L873
10. "Temperature-Screening System for Determining Protein Crystallization Conditions"
H. Adachi, A. Niino, K. Takano, H. Matsumura, S. Murakami, T. Inoue, Y. M. and T. Sasaki
Jpn. J. Appl. Phys. 44 (2005) 4080-4083
DOI: 10.1143/JJAP.44.4080
 11. "Solution stirring initiates nucleation and improves the quality of adenosine deaminase crystals"
H. Adachi, K. Takano, A. Niino, H. Matsumura, T. Kinoshita, M. Warizaya, T. Inoue, Y. Mori and T. Sasaki
Acta Cryst. D61 (2005) 759-762
DOI: 10.1107/S0907444905013466
 12. "Protein Crystal Growth Using Laser-Processed Seed Crystals"
K. Takeuchi, H. Kitano, H. Adachi, Y. Mori, T. Sasaki, H. Matsumura, T. Inoue, S. Murakami, M. Doi, Y. Koga, K. Takano and S. Kanaya
Jpn. J. Appl. Phys. 44 (2005) 3177-3179
DOI: 10.1143/JJAP.44.3177
 13. "Cooling-rate screening system for determining protein crystal growth conditions"
R. Murai, S. Nakata, M. Kashii, H. Adachi, A. Niino, K. Takano, H. Matsumura, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori and T. Sasaki
J. Cryst. Growth 292 (2006) 433-436
DOI: 10.1016/j.jcrysgro.2006.04.050
 14. "Effect of ultrasonic irradiation on protein crystallization"
K. Kakinouchi, H. Adachi, H. Matsumura, T. Inoue, S. Murakami, Y. Mori, Y. Koga, K. Takano and S. Kanaya
J. Cryst. Growth 292 (2006) 437-440
DOI: 10.1016/j.jcrysgro.2006.04.051
 15. "Crystallization and preliminary crystallographic analysis of orotidine 5'-monophosphate decarboxylase from human malaria parasite *Plasmodium falciparum*"
S. R. Krungkrai, K. Tokunaka, Y. Kusakari, T. Inoue, H. Adachi, H. Matsumura, K. Takano, S. Murakami, Y. Mori, Y. Kai and T. Horii
Acta Crystallogr. F62 (2006) 542-545
DOI: 10.1107/S1744309106015594
 16. "Application of Femtosecond Laser Ablation for Detaching Grown Protein Crystals from a Glass Capillary Tube"
M. Kashii, R. Fujisawa, H. Adachi, Y. Mori, T. Sasaki, Y. Koga, K. Takano, S. Kanaya, H. Matsumura, T. Inoue, S. Murakami, K. Sugamoto and H. Yoshikawa.
J. Biosci. Bioeng. 102 (2006) 372-374
DOI: 10.1263/jbb.102.372
 17. "Structure of amyloid β fragments in aqueous environments"
K. Takano, S. Endo, A. Mukaiyama, H. Chon, H. Matsumura, Y. Koga, and S. Kanaya.
FEBS J. 273 (2006) 150-158
DOI: 10.1111/j.1742-4658.2005.05051.x
 18. "Crystal structures of a multidrug transporter reveal a functionally rotating mechanism"
S. Murakami, R. Nakashima, E. Yamashita, T. Matsumoto and A. Yamaguchi.

- Nature 443 (2006) 173-179
DOI: 10.1038/nature05076
19. “Femtosecond laser-induced cleaving of protein crystal in water solution”
M. Kashii, Y. Hosokawa, H. Kitano, H. Adachi, Y. Mori, K. Takano, H. Matsumura, T. Inoue, S. Murakami, K. Sugamoto, H. Y. Yoshikawa, T. Sasaki, and H. Masuhara.
Appl. Sur. Sci. 253 (2007) 6447–6450
DOI: 10.1016/j.apsusc.2007.01.106
 20. “Femtosecond Laser-induced Crystallization of Protein in Gel Medium”
K. Nakamura, Y. Sora, H. Y. Yoshikaw, Y. Hosokawa, Y. Mori, T. Sasaki, and H. Masuhara
Appl. Sur. Sci. 253 (2007) 6425–6429
DOI: 10.1016/j.apsusc.2007.01.046
 21. “Development of Protein Crystallization and Processing : Femtosecond Laser, All Solid-State 193 nm Laser, and Solution Stirring Techniques”
Y. Mori, K. Takano, H. Adachi, T. Inoue, S. Murakami, H. Matsumura, M. Kashii,
H. Y. Yoshikawa, S. Maki, T. Kitatani, S. Okada and T. Sasaki
Proceedings of SPIE Vol. 6460, p.646008 (1-10)
DOI: 10.1117/12.714332
 22. “Drug Development Value Chain Constructed by Collaboration Between The SOSHO Project and The NPO BIOGRID”
T. Inoue, Y. Kado, K. Tokuoka, H. Matsumura, Y. Kai, Y. Mori, H. Adachi, K. Takano,
S. Murakami, Y. Fukunishi, H. Nakamura, T. Kinoshita, I. Nakanishi, Y. O., S. Minakata and
T. Sakata
AIP (American Inst. of Physics) CONFERENCE PROCEEDINGS 902 (2007) 85-88
DOI: 10.1063/1.2723629
 23. “フェムト秒レーザーによるタンパク質結晶化の制御”
吉川洋史、村井良多、牧祥、北谷友也、杉山成、安達宏昭、高野和文、松村浩由、
村上聡、井上豪、佐々木孝友、森勇介
レーザー学会第 367 回研究会報告 No. RTM-07-40 (2007) 7-11
 24. “革新技术による有機分子・タンパク質の結晶化”
安達宏昭、森勇介
MEDCHEM NEWS 17 (2007) No.2 p.12-15
 25. “タンパク質のレーザー誘起結晶化”
安達宏昭
高分子 56 (2007) 515
 26. “New Technique of Manipulating a Protein Crystal Using Adhesive Material”
T. Kitatani, S. Sugiyama, H. Matsumura, H. Adachi, H. Y. Yoshikawa, S. Maki, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori and K. Takano
Appl. Phys. Express 1 (2008) 037002
DOI: 10.1143/APEX.1.037002
 27. “Effect of solution flow by rotary shaker on protein crystallization”
R. Murai, H. Y. Yoshikawa, H. Kawahara, S. Maki, S. Sugiyama, T. Kitatani, H. Adachi,
K. Takano, H. Matsumura, S. Murakami, T. Inoue, T. Sasaki and Y. Mori
J. Cryst. Growth 310 (2008) 2168-2172
DOI: 10.1016/j.jcrysgro.2007.11.229

28. "Protein crystallization in a 100 nl solution with new stirring equipment"
S. Maki, R. Murai, H. Y. Yoshikawa, T. Kitatani, S. Nakata, H. Kawahara, H. Hasenaka,
A. Kobayashi, S. Okada, S. Sugiyama, H. Adachi, H. Matsumura, K. Takano, S. Murakami,
T. Inoue, T. Sasaki and Y. Mori
J. Synchrotron Rad. 15 (2008) 269 – 272
DOI: 10.1107/S0909049508001842
29. "Multidrug efflux transporter, AcrB-the pumping mechanism"
S. Murakami
Current Opinion in Structural Biology 18 (2008) 459-465
DOI: 10.1016/j.sbi.2008.06.007
30. "Laser energy dependence on femtosecond laser-induced nucleation of protein"
H. Y. Yoshikawa, R. Murai, S. Maki, T. Kitatani, S. Sugiyama, G. Sasaki, H. Adachi, T. Inoue,
H. Matsumura, K. Takano, S. Murakami, T. Sasaki and Y. Mori
Appl. Phys. A 93 (2008) 911-915
DOI: 10.1007/s00339-008-4790-x
31. "Crystallization and preliminary X-ray diffraction studies of an RNA aptamer in complex with
the human IgG Fc fragment"
S. Sugiyama, Y. Nomura, T. Sakamoto, T. Kitatani, A. Kobayashi, S. Miyakawa, Y. Takahashi,
H. Adachi, K. Takano, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori, Y. Nakamura and H. Matsumura
Acta Crystallogr. F 64 (2008) 942-944
DOI: 10.1107/S1744309108028236
32. "Crystallization and preliminary neutron diffraction studies of HIV-1 protease cocrystallized
with inhibitor KNI-272"
H. Matsumura, M. Adachi, S. Sugiyama, S. Okada, M. Yamakami, T. Tamada, K. Hidaka,
Y. Hayashi, T. Kimura, Y. Kiso, T. Kitatani, S. Maki, H. Y. Yoshikawa, H. Adachi, K. Takano, S.
Murakami, T. Inoue, R. Kuroki and Y. Mori
Acta Crystallogr. F 64 (2008) 1003-1006
DOI: 10.1107/S1744309108029679
33. "Crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of Ca^{2+} -free primary
 Ca^{2+} -sensor of $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger"
M. Mima, C. Kawai, K. Paku, K. Tomoo, T. Ishida, S. Sugiyama, H. Matsumura, T. Kitatani,
H. Y. Yoshikawa, S. Maki, H. Adachi, K. Takano, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori, S. Kita and T.
Iwamoto
Acta Crystallogr. F 64 (2008) 1125-1127
DOI: 10.1107/S1744309108032934
34. "Evaluation and Improvement of a Technique to Manipulate Protein Crystals in Solution"
T. Kitatani, H. Adachi, S. Sugiyama, H. Matsumura, R. Murai, Y. Takahashi, S. Murakami,
T. Inoue, Y. Mori and K. Takano
Jpn. J. Appl. Phys. 47 (2008) 8995-8997
DOI: 10.1143/JJAP.47.8995
35. "Femtosecond laser-induced nucleation of protein in agarose gel"
H. Y. Yoshikawa, R. Murai, S. Sugiyama, G. Sasaki, T. Kitatani, Y. Takahashi, H. Adachi,
H. Matsumura, S. Murakami, T. Inoue, K. Takano, Y. Mori
J. Cryst. Growth 311 (2009) 956–959
DOI: 10.1016/j.jcrysgro.2008.09.137
36. "Chiral Tetraazamacrocycles Having Four Pendant-Arms"
S. Kamioka, T. Takahashi, S. Kawauchi, H. Adachi, Y. Mori, K. Fujii, H. Uekusa, T. Doi

Org. Lett. 11 (2009) 2289-2292
DOI: 10.1021/ol9005954

37. "Protein crystallization in Agarose Gel with High Strength: Developing an Automated System for Protein Crystallographic Processes"
S. Sugiyama, K. Tanabe, M. Hirose, T. Kitatani, H. Hasenaka, Y. Takahashi, H. Adachi, K. Takano, S. Murakami, Y. Mori, T. Inoue, H. Matsumura
Jpn. J. Appl. Phys. 48 (2009) 075502
DOI: 10.1143/JJAP.48.075502
38. "Femtosecond Laser Processing of Agarose Gel Surrounding Protein Crystals for Development of an Automated Crystal Capturing System"
S. Sugiyama, H. Hasenaka, M. Hirose, N. Shimizu, T. Kitatani, Y. Takahashi, H. Adachi, K. Takano, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori, H. Matsumura
Jpn. J. Appl. Phys. 48 (2009) 105502
DOI: 10.1143/JJAP.48.105502
39. "Femtosecond laser processing of protein crystals grown in agarose gel"
H. Hasenaka, S. Sugiyama, M. Hirose, N. Shimizu, T. Kitatani, Y. Takahashi, H. Adachi, K. Takano, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori, H. Matsumura
J. Cryst. Growth 312 (2009) 73-78
DOI: 10.1016/j.jcrysgro.2009.09.031
40. "A Manipulating Tool for Protein Microcrystals in Solution Using Adhesive Materials
T. Kitatani, H. Adachi, S. Sugiyama, H. Matsumura, R. Murai, Y. Takahashi, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori, K. Takano
Jpn. J. Appl. Phys. 48 (2009) 118001"
DOI: 10.1143/JJAP.48.118001
41. "Growth of large protein crystals by top-seeded solution growth together with floating and solution-stirring technique"
N. Shimizu, S. Sugiyama, M. Maruyama, H. Y. Yoshikawa, Y. Takahashi, H. Adachi, K. Takano, S. Murakami, T. Inoue, H. Matsumura, Y. Mori
Cryst. Growth Des. 9 (2009) 5227-5232
DOI: 10.1021/cg900740n
42. "Promotion of Crystal Nucleation of Protein by Semi-Solid Agarose Gel"
K. Tanabe, M. Hirose, R. Murai, S. Sugiyama, N. Shimizu, M. Maruyama, Y. Takahashi, H. Adachi, K. Takano, S. Murakami, Y. Mori, E. Mizohata, T. Inoue, H. Matsumura
Appl. Phys. Ex. 2 (2009) 125501
DOI: 10.1143/APEX.2.125501
43. "Enhancement of femtosecond laser-induced nucleation of protein in a gel solution"
R. Murai, H. Y. Yoshikawa, Y. Takahashi, M. Maruyama, S. Sugiyama, G. Sasaki, H. Adachi, K. Takano, H. Matsumura, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori
Appl. Phys. Lett. 96 (2010) 043702
DOI: 10.1063/1.3294622
44. "Molecular resolution investigation of tetragonal lysozyme(110) face in liquid by FM-AFM"
K. Nagashima, M. Abe, S. Morita, N. Oyabu, K. Kobayashi, H. Yamada, M. Ohta, R. Kokawa, R. Murai, H. Matsumura, H. Adachi, K. Takano, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori
Appl. Phys. J. Vac. Sci. Technol. B28 (2010) C4C11-C4C14
DOI: 10.1116/1.3386383
45. "Growth of large protein crystals by a large-scale hanging-drop method"

- K. Kakinouchi, T. Nakamura, T. Tamada, H. Adachi, S. Sugiyama, M. Maruyama, Y. Takahashi, K. Takano, S. Murakami, T. Inoue, R. Kuroki, Y. Mori and H. Matsumura
J. Appl. Cryst. 43 (2010) 937–939
DOI: 10.1107/S0021889810015967
46. “Crystal Growth Procedure of HIV-1 Protease-Inhibitor KNI-272 Complex for Neutron Structural Analysis at 1.9 Å Resolution”
N. Shimizu, S. Sugiyama, M. Maruyama, Y. Takahashi, M. Adachi, T. Tamada, K. Hidaka, Y. Hayashi, T. Kimura, Y. Kiso, H. Adachi, K. Takano, S. Murakami, T. Inoue, R. Kuroki, Y. Mori and H. Matsumura
Cryst. Growth Des. 10 (2010) 2990-2994
DOI: 10.1021/cg100054s
47. “Estimated effects of silicone glue on protein crystal growth”
M. Maruyama, N. Shimizu, S. Sugiyama, Y. Takahashi, H. Adachi, K. Takano, S. Murakami, T. Inoue, H. Matsumura, Y. Mori
J. Cryst. Growth 312 (2010) 2771–2774
DOI: 10.1016/j.jcrysgro.2010.06.025
48. “Conformational plasticity of RNA for target recognition as revealed by the 2.15 Å crystal structure of a human IgG-aptamer complex”
Y. Nomura*, S. Sugiyama*, T. Sakamoto, S. Miyakawa, H. Adachi, K. Takano, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori, Y. Nakamura and H. Matsumura
Nucleic Acids Research 38 (2010) 7822-7829
DOI:10.1093/nar/gkq615
(*The authors wish it to be known that, in their opinion, the first two authors should be regarded as joint First Authors.)
49. “Approach for growth of high-quality and large protein crystals”
H. Matsumura, S. Sugiyama, M. Hirose, K. Kakinouchi, M. Maruyama, R. Murai, H. Adachi, K. Takano, S. Murakami, Y. Mori and T. Inoue
J. Synchrotron Radiat., 18 (2011)16-19
DOI:10.1107/S090904951003445X
50. “Laser-Induced Nucleation in Protein Crystallization: Local Increase in Protein Concentration Induced by Femtosecond Laser Irradiation”
N. Iefuji, R. Murai, M. Maruyama, S. Sugiyama, H. Adachi, H. Matsumura, S. Murakami, Y. Mori, T. Inoue, K. Takano and S. Kanaya
J. Cryst. Growth, 318 (2010) 741-744
DOI:10.1016/j.jcrysgro.2010.10.068
51. “Effect of evaporation on protein crystals grown in semi-solid agarose hydrogel”
S. Sugiyama, M. Hirose, N. Shimizu, M. Niiyama, M. Maruyama, G. Sazaki, R. Murai, H. Adachi, K. Takano, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori, and H. Matsumura
Jpn. J. Appl. Phys., 50 (2011) 025502
DOI: 10.1143/JJAP.50.025502
52. "In Situ Evaluation of Kinetic Resolution Catalysts for Nitroaldol by Rationally Designed Fluorescence Probe"
T. Matsumoto, Y. Urano, Y. Takahashi, Y. Mori, T. Terai, and T. Nagano
J. Org. Chem., in press
DOI: 10.1021/jo1020344

(2)その他の著作物（総説、書籍など）

1. 高野和文
「アルツハイマー病原因タンパク質の構造解析」
化学 Vol. 61、2006 年 1 月
2. 高野和文
「タブー破る方法でタンパク質を結晶化 大学発ベンチャーを設立し企業家に成功」
（独）科学技術振興機構 J S T 基礎研究最前線 No. 11、2006 年 2 月
3. 安達宏昭、森勇介、佐々木孝友
「異分野連携による大学発ベンチャー企業の創成」
レーザー研究 34 (2006) 257-259
4. 森勇介
「異分野連携で広がる結晶の世界」
生産と技術 58 (2006) 59-61
5. 森勇介
「不可能と言われるものだからこそ、挑戦します」
MRIC メールマガジン情報集 2006 年<1 月～6 月> p.73-75
6. 安達宏昭、森勇介、佐々木孝友、高野和文、松村浩由、井上豪、村上聡
「フェムト秒レーザー照射によるタンパク質・有機低分子の結晶化」
酵素工学ニュース 56 (2006) 9-13
7. 安達宏昭、高野和文、森勇介
「タンパク質・有機分子の新しい結晶化技術」
ファルマシア 42 (2006) 1237-1240
8. 安達宏昭、森勇介、佐々木孝友、高野和文、井上豪、松村浩由、村上聡
「タンパク質光結晶化技術」
光学 36 (2007) 10-14
9. 森勇介
「レーザー照射&溶液攪拌による新しいタンパク質結晶成長技術～発想の原点～」
日本結晶成長学会誌 34 (2007) 11-16
10. 安達宏昭
「革新技術を用いた結晶化受託サービス」
Medical Science Digest 33 (2007) 1089-1091
11. 森勇介
「結晶から展開した産学連携・異分野連携とベンチャー起業」
応用物理 77 (2008) 49-54
12. 高野和文監修
森勇介、井上豪、村上聡、松村浩由、佐崎元、安達宏昭、杉山成、牧祥、北谷友也、
高橋義典、吉川洋史、村井良多 他執筆
「タンパク質結晶の新展開 ～新しい育成技術から構造解析・応用研究へ～」
シーエムシー出版 2008 年 5 月 30 日発行

13. 安達宏昭
「革新技術を用いた結晶化受託サービス」
BIO Clinica 2008 年 6 月臨時増刊号 23 (2008) 667
14. 井上豪、安達宏昭、村上聡、高野和文、松村浩由、森勇介、福西快文、中村春木、
木下誉富、仲西功、奥野恭史、南方聖司、下条真司、坂田恒昭
「膜タンパク質の結晶化技術の新展開及び創薬バリューチェーンの紹介」
YAKUGAKU ZASSHI 128 (2008) 497-505
15. 森勇介、安達宏昭、高野和文、井上豪、村上聡、松村浩由
「フェムト秒レーザー核発生と溶液攪拌による新しいタンパク質結晶化技術」
ケミカルエンジニアリング 53 (2008) 22-27
16. 森勇介、安達宏昭、高野和文、井上豪、村上聡、松村浩由、吉川洋史
「フェムト秒レーザー誘起タンパク質結晶核発生」
O plus E 30 (2008) 480-484
17. 森勇介
「異分野の知の結晶-タンパク質結晶化の新技術-」
現代化学 447 (2008) 16-21
18. 村上聡
「多剤耐性のしくみ」
日本臨床 66 (2008) 193-203
19. 吉川洋史、村井良多、北谷友也、安達宏昭、高野和文、松村浩由、井上豪、村上聡、
佐々木孝友、森勇介
「タンパク質結晶のパルスレーザー加工」
OPTRONICS 27 (2008) 153-161
20. 井上豪
「異分野連携による創薬研究」
生産と技術 60 (2008) 63-65
21. 村上聡（分担執筆）
「膜タンパク質の可溶化と調整
やさしい原理から入る タンパク質科学実験： I タンパク質をつくる ― 抽出・
精製と合成」 (2008) 107-133
22. 安達宏昭、森勇介、井上豪、村上聡、高野和文、松村浩由
「コンピュータで薬を創ろう」
ケイ・ディー・ネオブック
23. 森勇介
「基礎研究からビジネス展開へ～結晶技術の様々な実用化パターン～」
日本結晶成長学会誌 36 (2009) 59-60
24. Satoshi Murakami
“Multi-drug resistance”
Medical Science Digest 35 (2009) 346-347

25. Satoshi Murakami
 “Multidrug recognition and pumping by bacterial multidrug efflux transporter”
 J. Pharm. Sci. 109 (2009) 33P
26. 安達宏昭, 森勇介
 「有機結晶材料の基礎と応用」
 シーエムシー出版
27. 松村浩由, 杉山成, 安達宏昭, 高野和文, 村上聡, 井上豪, 森勇介
 「結晶成長の新技术」
 月刊バイオインダストリー 3月号 (2011年) 30-36
- (3)国際学会発表及び主要な国内学会発表
 ① 招待講演 (国内会議 35 件、国際会議 18 件)
1. 安達宏昭 (阪大)
 “新しい結晶化技術による高品質タンパク質結晶の育成”
 第 1 回タンパク 3000 プロジェクト産学連携フォーラム、札幌、2005 年 10 月 7 日
 2. 井上豪 (阪大)
 “ヒト由来造血器型プロスタグランジンD 合成酵素の構造をもとにした阻害薬開発”
 生産技術振興協会のハイテク推進セミナー、大阪、2005 年 11 月 2 日
 3. 森勇介 (阪大)
 “レーザー核発生と溶液攪拌による新しいタンパク質結晶化技術”
 生産技術振興協会のハイテク推進セミナー、大阪、2005 年 11 月 2 日
 4. 森勇介 (阪大)
 “たんぱく質単結晶の革命的創製技術”
 未踏科学技術協会 特別講演会、東京、2005 年 12 月 14 日
 5. 森勇介 (阪大)
 “レーザー核発生と溶液攪拌技術による大型高品質タンパク質結晶育成技術”
 科研費企画調査シンポジウム、東京、2006 年 1 月 23 日
 6. 森勇介、安達宏昭、細川陽一郎、増原宏、吉村政志、佐々木孝友 (阪大)
 “短パルスレーザーを用いた蛋白質の結晶化”
 レーザー学会学術講演会第 26 回年次大会、さいたま、2006 年 2 月 9～10 日
 7. 安達宏昭 (阪大)
 “創薬のための新しい結晶育成技術－異分野連携が生んだ結晶成長のブレークスルー”
 第 17 回バイオインターフェース、大阪、2006 年 2 月 14 日
 8. Yusuke Mori (Osaka University)
 “Protein crystallization using femtosecond laser irradiation and solution-stirring”
 The 11th International Conference of Crystallization of Biological Macromolecules
 Quebec City, Canada, August 16-21, 2006
 9. 森勇介、高野和文、安達宏昭、井上豪、村上聡、松村浩由、細川陽一郎、増原宏、
 佐々木孝友 (大阪大学、創晶)
 “フェムト秒レーザー照射と溶液攪拌による新しいタンパク質結晶化技術”
 2006 年度秋季応用物理学会学術講演会

立命館大学びわこ・くさつキャンパス（草津市）、2006 年 8 月 29 日～9 月 1 日

10. 安達宏昭（創晶）
“異分野連携から生まれた革新的な結晶化技術：有機低分子からタンパクまで”
第 46 回日本臨床化学会年次学術集会
昭和女子大学第 1 会場（大学 3 号館 1 階 グリーンホール）、2006 年 9 月 8 日
11. 高野和文、森勇介、安達宏昭（大阪大学、創晶）
”若手異分野連携と新規タンパク質結晶化技術の開発 “
イノベーション・ジャパン 2006
東京国際フォーラム（東京・有明町）、2006 年 9 月 13～15 日
12. Yusuke Mori (Osaka University)
“Protein Crystallization and Processing using Femto-Second Laser and all Solid-State 193 nm Laser”
Photonics West 2007, San Jose Convention Center, California (USA), January 20-25, 2007
13. 森勇介（大阪大学）
“新しいタンパク質高品質結晶化技術”
SORST ジョイントシンポジウム（6）「超微量物質の同定/認識の化学」
コクヨホール（東京・品川）、2007 年 1 月 30～31 日
14. 安達宏昭（創晶）
“大学発 VB のビジネスモデル紹介”
第 4 回全国 VBL フォーラム
京都大学桂キャンパス ローム記念会館内大ホール、2007 年 7 月 17～18 日
15. 安達宏昭（創晶）
“創薬研究におけるタンパク質・有機低分子の新しい結晶化技術”
第 23 回創薬セミナー、八ヶ岳ロイヤルホテル（山梨県北杜市）、2007 年 7 月 25～27 日
16. K. Takano, H. Adachi, H. Matsumura, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori
(Osaka University, SOSHO Inc.)
“Protein Crystal Processing by Femtosecond Laser and Pulsed Deep-UV Laser”
24th European Crystallographic Meeting (ECM24), Marrakech, Morocco, August 22-27, 2007
17. Satoshi Murakami (Osaka University)
“Structure and molecular mechanism of bacterial multi-drug efflux transporter”
24th European Crystallographic Meeting (ECM24), Marrakech, Morocco, August 22-27, 2007
18. 森 勇介（大阪大学）
“分野連携によるタンパク質結晶化技術開発とベンチャー創成”
第 68 回応用物理学会秋季学術講演会特別シンポジウム「応用物理とベンチャービジネス—学会発ベンチャーの起業に向けて—」
北海道工業大学 G 棟 1F-G104（北海道札幌市）、2007 年 9 月 4 日
19. 村上 聡（大阪大学）
“Structural aspects of drug recognition and multidrug efflux transporter”
第 12 回分生研シンポジウム「膜輸送体の構造生物学」
学術総合センター 一橋記念講堂（東京都千代田区）、2007 年 10 月 11 日
20. 村井良多、吉川洋史、中田慎也、長谷中仁志、北谷友也、牧 祥、杉山 成、佐崎 元、
安達宏昭、高野和文、松村浩由、村上 聡、井上 豪、佐々木考友、森 勇介
（大阪大学、創晶）
“フェムト秒レーザーによるタンパク質結晶化の原理解明研究”
第 37 回結晶成長国内会議(NCCG-37) バイオ有機分科会合同シンポジウム

北海道大学百年記念会館、2007 年 11 月 5～7 日

21. 井上 豪 (大阪大学)
“創薬バリューチェーンによるインシリコでの阻害剤探索と最適化に関する研究”
日本薬学会構造活性相関部会主催 第 35 回構造活性相関シンポジウム
京都大学百周年時計台記念館 (京都市左京区)、2007 年 11 月 15～16 日
22. 松村浩由 (大阪大学)
“中性子構造解析に供するタンパク質の大型結晶育成に関する研究”
茨城県中性子利用促進研究会主催 第 3 回新薬創生研究会
テクノ交流館リコッティ (茨城県那珂郡東海村)、2007 年 12 月 10 日
23. Kazufumi Takano (Osaka University)
“Growing Start-ups and Technology Transfer from Osaka University”
Japanese University Network in the Bay Area (JUNBA) 2008
Hyatt Regency Santa Clara (California), January 10-11, 2008
24. 高野和文 (大阪大学、創晶)
“フェムト秒レーザー・溶液攪拌を用いたタンパク質結晶化”
第 1 回タンパク質結晶育成研究会、日立、2008 年 3 月 18～19 日
25. 高野和文 (大阪大学)
“フェムト秒レーザーによるタンパク質結晶化”
酵素工学研究会第 59 回講演会、京都テルサ、2008 年 4 月 25 日
26. K. Takano, R. Murai, T. Kitatani, H. Y. Yoshikawa, S. Maki, Y. Takahashi, S. Sugiyama,
G. Sasaki, H. Adachi, H. Matsumura, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori (Osaka University,
SOSHO Inc.)
“Protein Crystallization by Femtosecond Laser Irradiation and Solution Stirring”
The 4th Asian Conference on Crystal Growth and Crystal Technology (CGCT-4)
Sendai, Japan, May 21-24, 2008
27. 村上聡 (東京工業大学)
“大腸菌多剤排出トランスポーターによる薬剤認識および排出機構”
第 8 回日本蛋白質科学会年会、タワーホール船堀、2008 年 6 月 10～12 日
28. Satoshi Murakami (Osaka University)
“Multidrug Recognition and Pumping by Bacterial Multidrug Transporter –A Structural View”
22nd Annual Symposium of The Protein Society, San Diego, CA, USA, July 19-34, 2008
29. H. Y. Yoshikawa, Y. Hosokawa, R. Murai, G. Sasaki, T. Kitatani, S. Maki, S. Sugiyama,
H. Masuhara, H. Adachi, T. Inoue, H. Matsumura, K. Takano, S. Murakami, T. Sasaki, Y. Mori
“Protein Crystallization by Femtosecond Laser Ablation in Supersaturated Solution”
IUPAC Symposium on Photochemistry, Gothenburg, Sweden, July 28-August 1, 2008
30. Satoshi Murakami (Tokyo Institute of Technology)
“Bacterial Multidrug Efflux Transporter AcrB - The pumping mechanism.”
(Micro Symposium on New membrane protein structure.)
XXI Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography
Grand Cube Osaka, Osaka, Japan 25, August 23-31, 2008
31. Hiroyoshi Matsumura (Osaka Univ.)
“Crystallization using Femto-Second Laser Irradiation and Solution-Stirring”
Powder Diffraction on Proteins - Current Status and Future Prospect – (Satellite Meeting of

XXI Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography)
Central Hall in Kyoto Institute of Technology Kyoto, Japan, September 1-2, 2008

32. 森勇介 (大阪大学)
“フェムト秒レーザー照射による新しいタンパク質結晶化技術”
第 69 回応用物理学学会学術講演会、中部大学
2008 年 9 月 2～5 日、中部大学
33. 森勇介 (大阪大学)
“異分野連携による新しいタンパク質結晶化技術の研究開発とベンチャー創成”
日本農芸化学会関西支部シンポジウム、JR 京都駅前メルパルク、2008 年 10 月 3 日
34. 村上聡 (東京工業大学)
“大腸菌多剤排出トランスポーターによる薬剤認識および排出機構”
日本生物物理学会第 46 回年会、福岡国際会議場 (福岡市博多区)、2008 年 12 月 3～5 日
35. 森勇介 (大阪大学)
“創晶プロジェクトによる新しい結晶化技術の開発とその実際例”
彩都・医薬基盤研究所連携フォーラム、よみうり文化ホール (豊中市)、2008 年 12 月 5 日
36. 安達宏昭 (創晶)
“創薬における新しい結晶化技術”
京都・大阪広域連携事業「創薬バリューチェーンの構築に向けて」発表交流会
大阪大学中之島センター佐治敬三メモリアルホール、2008 年 12 月 8 日
37. 井上豪 (大阪大学)
“創薬バリューチェーンによる阻害薬探索と最適化”
京都・大阪広域連携事業「創薬バリューチェーンの構築に向けて」発表交流会
大阪大学中之島センター佐治敬三メモリアルホール、2008 年 12 月 8 日
38. 高野和文 (大阪大学、創晶)
“株式会社創晶”
彩都バイオヒルズクラブ・青い銀杏の会交流会、茨木、2008 年 12 月 8 日
39. 高野和文 (大阪大学、創晶)
JST-CREST『タンパク質完全結晶創成』の取り組み
第 2 回タンパク質結晶育成研究会、東海村、2009 年 3 月 5～6 日
40. 井上豪、安達宏昭、高野和文、松村浩由、村上聡、森勇介
(大阪大学、東京工業大学、創晶)
“キラリティー創出のための新しい結晶化技術の開発と応用化研究”
Symposium on Molecular Chirality 2009、大阪大学銀杏会館、2009 年 5 月 12～13 日
41. 村上聡 (東京工業大学)
“多剤排出輸送体の結晶構造に基づく多基質認識と輸送メカニズム”
日本薬理学会 第 82 回年会 シンポジウム
パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)、2009 年 6 月 16～18 日

42. Satoshi Murakami (Tokyo Institute of Technology)
“Multidrug efflux transporter – The pumping mechanism”
Membrane Biology Frontier ~ 1st. International Multidisciplinary Workshop
Mikonos& Delos, Greece, May 28- June 2, 2009
43. Satoshi Murakami (Tokyo Institute of Technology)
“Multidrug efflux transporter – The pumping mechanism”
International Symposium on Innovative Nanoscience of Supramolecular Motor Proteins
Working in Biomembrane, Kyoto Univ., Kyoto, Japan, September 8-10, 2009,
44. Satoshi Murakami (Tokyo Institute of Technology)
“Structure and Function of the Drug Efflux Transporter”
The 1st. Formosan Symposium on Structural Biology of Membrane Proteins and Biomembranes
National Taiwan Univ., Taipei, Taiwan, December 9-10, 2009
45. Satoshi Murakami
“Structure and Function of Multi-drug Transporter AcrB”
4th INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON RECENT TRENDS IN MACROMOLECULAR
STRUCTURE AND FUNCTION
Chennai, India, January 21-23, 2010
46. 高野和文（大阪大学）
“タンパク質の形づくりから見る生命現象と応用技術開発”
東京大学医科学研究所学友会セミナー、東京、2010年1月28日
47. Satoshi Murakami
“RND transporter, AcrB-The pumping mechanism”
3rd FEBS Special Meeting 『ATP-Binding Cassette Protein: From Multidrug Resistance to
Genetic Diseases』
Innsbruck, Austria, February 27- March 5, 2010
48. 村上聡
“Mechanism of bacterial multi-drug resistance based on the crystal structure of efflux
transporter”
第83回日本細菌学会総会、横浜、2010年3月27～29日
49. 村上聡
“結晶構造解析により明らかになった膜輸送体による薬剤の能動的排出機構”
日本膜学会第32年会、江東区青梅、2010年5月13～14日
50. 村上 聡
“結晶解析により明らかになった多剤排出トランスポーターの作動メカニズム”
第22回微生物シンポジウム～微生物科学の発展と感染症対策～
大阪府高槻市、2010年9月3～4日
51. Hiroyoshi Matsumura (Osaka University)
“Crystal structure of spermidine acetyltransferase from Escherichia coli”
2010 INTERNATIONAL POLYAMINE CONFERENCE
Gotemba Kogen Resort "Toki-no-sumika", Shizuoka, JAPAN, June 14-18, 2010
52. T. Inoue, H. Adachi, K. Takano, H. Matsumura, S. Murakami and Y. Mori
(Osaka University, SOSHO Inc., Tokyo Institute of Technology)

“Development of the new protein crystallization techniques and application for structural analysis of target enzymes”

The 10th KIAS Conference on Protein Structure and Function

International Conference Hall, Korea Institute for Advanced Study, Seoul, Korea,

September 30 - October 2, 2010,

53. R. Murai, H. Y. Yoshikawa, Y. Takahashi, M. Maruyama, S. Sugiyama, G. Sasaki, A. Hiroaki, K. Takano, H. Matsumura, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori

(Osaka University, University of Heidelberg, Hokkaido University, SOSHO Inc.)

“Femtosecond laser-induced protein crystallization in a gel solution”

SPIE Photonics West, The Moscone Center, San Francisco, California, USA,

January 22-27, 2011

② 口頭発表 (国内会議 71 件、国際会議 16 件)

1. K. Kakinouchi, H. Adachi, H. Matsumura, T. Inoue, S. Murakami, Y. Mori, T. Sasaki, Y. Koga, K. Takano & S. Kanaya (Osaka University)

“Effect of Ultrasonic Irradiation on Protein Crystallization”

The 3rd Asian Conference on Crystal Growth and Crystal Technology (CGCT-3)

Beijing, China, October 16-19, 2005

2. H. Adachi, A. Niino, T. Kinoshita, M. Warizaya, R. Maruki, K. Takano, H. Matsumura, T. Inoue, S. Murakami, Y. Mori & T. Sasaki

(Osaka University, Osaka Prefecture University, Astellas Pharma Inc.)

“Solution-Stirring Method Improves Crystal Quality of Human Triosephosphate Isomerase”

The 3rd Asian Conference on Crystal Growth and Crystal Technology (CGCT-3), Beijing,

China, October 16-19, 2005

3. R. Murai, S. Nakata, M. Kashii, H. Adachi, K. Takano, H. Matsumura, T. Inoue, S. Murakami, Y. Mori & T. Sasaki (Osaka University)

“Temperature Screening for Protein Crystal Growth”

The 3rd Asian Conference on Crystal Growth and Crystal Technology (CGCT-3), Beijing,

China, October 16-19, 2005

4. 中田慎也、村井良多、柏井将文、安達宏昭、高野和文、村上聡、松村浩由、井上豪、森勇介、佐々木孝友 (大阪大学)

“温度制御を用いたタンパク質結晶育成技術”

第 50 回人工結晶討論会、名古屋、2005 年 11 月 4～5 日

5. 森勇介、安達宏昭、吉村政志、増原宏、細川陽一郎、佐々木孝友 (大阪大学)

“短パルスレーザーを用いた蛋白質の結晶化”

第 98 回微小光学研究会、京都、2005 年 12 月 2 日

6. 木下誉富、仲西功、寺坂忠嗣、久野真子、関信男、割鞘雅一、松村浩由、井上豪、高野和文、森勇介、安達宏昭、藤井隆

(大阪府立大学、京都大学、藤沢薬品工業(株)、大阪大学、(株)創晶)

“アデノシンデアミナーゼの活性部位の構造変化をもたらす水分子結合位置の発見”

日本結晶学会平成 17 年度年会、姫路、2005 年 12 月 6～7 日

7. 森勇介 (大阪大学)

“電子デバイスをめざした有機結晶の新展開－有機結晶は無機結晶を超えられるか？－”

【4】大型高品質有機結晶の育成、第 124 回結晶工学分科会研究会

学習院創立百周年記念会館 3F 小講堂 (東京都豊島区)、2006 年 4 月 27 日

8. 安達宏昭（創晶）
“有機およびタンパク質結晶の育成とその応用”
第5回国際バイオフィォーラム、東京ビッグサイト、2006年5月17～19日
9. 森勇介（大阪大学）
“全固体紫外レーザーの開発とそのバイオ応用”
第5回国際バイオフィォーラム、東京ビッグサイト、2006年5月17～19日
10. 井上豪（大阪大学）
“P G合成酵素の各種薬剤複合体のX線構造解析”
第5回国際バイオフィォーラム、東京ビッグサイト、2006年5月17～19日
11. 村上聡（大阪大学）
“膜タンパク質の結晶育成～膜輸送体の結晶構造”
第5回国際バイオフィォーラム、東京ビッグサイト、2006年5月17～19日
12. 高野和文（大阪大学）
“バイオクリスタルデザイン”
第5回国際バイオフィォーラム、東京ビッグサイト、2006年5月17～19日
13. 森勇介（大阪大学）
“Process Control and New Developments in Crystal Growth from Solution: Oxide, Organic, Protein and Nitride”
第3回阪大国際ナノフォトリクスシンポジウム（INPS3）
大阪大学銀杏会館（吹田キャンパス内）、2006年7月6～8日
14. 森勇介（大阪大学）
“医工連携の実践”
健康医療開発機構の設立記念シンポジウム、経団連会館国際会議場、2006年8月4日
15. H. Y. Yoshikawa, M. Kashii, R. Murai, Y. Hosokawa, H. Masuhara, H. Adachi, T. Inoue, H. Matsumura, K. Takano, S. Murakami, Y. Mori, T. Sasaki (Osaka University, SOSHO Inc.)
“Femtosecond laser processing of protein crystals in solution”
5th International Conference on Photo-Excited Processes and Applications (ICPEPA5)
Charlottesville, Virginia USA, September 3-7, 2006
16. 森勇介、高橋義典、川村史朗、安達宏昭、吉村政志、北岡康夫、佐々木孝友（大阪大学、創晶）
“結晶基盤技術の融合を目指して-無機から有機へのベクトル”
2006年度秋季応用物理学会学術講演会
立命館大学びわこ・くさつキャンパス（草津市）、2006年8月29日～9月1日
17. 森勇介（大阪大学）
“タンパク質完全結晶創成”
イノベーション・ジャパン 2006 新技術説明会
東京国際フォーラム（セミナールーム B）、2006年9月14日 14:30～16:00
18. H. Y. Yoshikawa (Osaka University)
“Protein Crystallization and Processing Using Femtosecond Laser
US-Japan Young Scientists Symposium on Nanotechnology and Nanomanufacturing”
大手町サンケイプラザ, October 30, 2006
19. 吉川洋史、村井良多、北谷友也、安達宏昭、高野和文、井上豪、松村浩由、村上 聡、細川陽一郎、増原宏、森勇介、佐々木孝友（大阪大学）

- “タンパク質結晶のフェムト秒レーザーアブレーションによる単結晶成長誘導”
第 36 回結晶成長国内会議
大阪大学吹田キャンパス コンベンションセンター、2006 年 11 月 1～3 日
20. 村上聡 (大阪大学)
“Structural Aspects of Channel and Transporter Proteins”
EABS & BSJ 2006
沖縄コンベンションセンター、2006 年 11 月 12～16 日
21. 村上聡 (大阪大学)
“Crystal structure of a multidrug transporter reveal a functionally rotating mechanism”
EABS & BSJ 2006
沖縄コンベンションセンター、2006 年 11 月 12～16 日
22. Kazufumi Takano (Osaka University)
“Crystal Structure of Amyloid Beta Fragments”
8th international conference AD/PD 2007
Salzburg (Austria), 2007 年 3 月 14～18 日
23. 吉川洋史 (大阪大学)
“タンパク質結晶完全創成”
若手研究者による学際領域ナノテクノロジー創成に向けたミーティング
青山学院大学 相模原キャンパス (相模原市)、2007 年 3 月 29 日
24. 村井良多、吉川洋史、北谷友也、牧祥、安達宏昭、高野和文、松村浩由、村上聡、
井上豪、森勇介、佐々木孝友 (大阪大学、創晶)
“フェムト秒レーザー誘起タンパク質結晶核発生の最適条件の検討”
第 54 回応用物理学関係連合講演会
青山学院大学 相模原キャンパス (相模原市)、2007 年 3 月 27～30 日
25. 曾我部祐里、木下誉富、山口亜佐子、阪本龍司、居原秀、安達宏昭、高野和文、
井上豪、森勇介、多田俊治 (大阪大学、大阪府立大学、創晶)
“*Penicillium Chrysogenum* 31B 株由来エキソ型アラビナナーゼの X 線構造解析”
日本農芸化学会 2007 年度大会
東京農業大学 世田谷キャンパス (東京都世田谷区)、2007 年 3 月 24～27 日
26. 井上豪、村上聡、森勇介、安達宏昭、高野和文、松村浩由 (大阪大学、創晶)
“膜タンパク質の結晶化技術の新展開および創薬バリューチェーンの紹介”
日本薬学会第 127 年会
G 会場ボルファートとやま多目的ホール (真珠の間)、2007 年 3 月 29 日
27. 村上聡 (大阪大学)
“多剤排出トランスポーターの結晶構造から明らかになった多剤認識および排出機構”
日本薬学会第 127 年会
G 会場ボルファートとやま多目的ホール (真珠の間)、2007 年 3 月 29 日
28. 安達宏昭 (創晶)
“タンパク質・有機分子の新しい結晶化技術”
第 6 回国際バイオフィォラム、東京ビッグサイト、2007 年 6 月 20～22 日
29. 吉川洋史 (大阪大学)
“フェムト秒レーザーによる有機およびタンパク質結晶化”
第 6 回国際バイオフィォラム、東京ビッグサイト、2007 年 6 月 20～22 日
30. 井上豪 (大阪大学)

- “P G 合成酵素の各種薬剤複合体の X 線構造解析”
第 6 回国際バイオフィォーラム、東京ビッグサイト、2007 年 6 月 20～22 日
31. 村上聡 (大阪大学)
“膜タンパク質の結晶育成～膜輸送体の結晶構造”
第 6 回国際バイオフィォーラム、東京ビッグサイト、2007 年 6 月 20～22 日
32. 高野和文 (大阪大学)
“バイオクリスタルデザイン -タンパク質結晶育成・応用-”
第 6 回国際バイオフィォーラム、東京ビッグサイト、2007 年 6 月 20～22 日
33. 松村浩由 (大阪大学)
“生体高分子の新規結晶化技術およびその立体構造に基づく応用”
第 6 回国際バイオフィォーラム、東京ビッグサイト、2007 年 6 月 20～22 日
34. 森勇介 (大阪大学)
“フェムト秒レーザーによるたんぱく質の結晶化”
第 18 回 若手技術者と学生のためのレーザー応用セミナー
(レーザー学会 東京支部セミナー)
慶應義塾大学理工学部 矢上校舎 厚生棟大会議室、2007 年 7 月 6 日
35. 森勇介 (大阪大学)
“レーザーの異分野・産業連携による新展開とベンチャーの創生”
多元技術融合光プロセス研究会 平成 19 年度 第 1 回研究交流会
機械振興会館 B3 階 (東京)、2007 年 7 月 10 日
36. 安達宏昭 (創晶)
“フェムト秒レーザー照射による有機・タンパク質の結晶化受託ビジネス”
平成 19 年度 光産業ベンチャービジネスセミナー
幕張メッセ 国際会議場コンベンションホール (千葉)、2007 年 7 月 11 日
37. 森勇介 (大阪大学)
“非線形光学結晶からタンパク質結晶化技術への展開～異分野連携におけるコミュニケーションの重要性～”
InterOpto 2007 注目される光技術セミナー
幕張メッセ国際展示場 6 ホール (千葉)、2007 年 7 月 12 日
38. R. Murai, H. Yoshikawa, T. Kitatani, S. Maki, H. Adachi, K. Takano, H. Matsumura,
S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori, T. Sasaki (Osaka University, SOSHO Inc.)
“Development of protein crystallization using femtosecond laser and solution stirring
techniques”
The 15th International Conference on Crystal Growth (ICCG-15)
Salt Lake City, Utah (USA), August 17, 2007
39. 吉川洋史、村井良多、空洋介、佐崎元、細川陽一郎、増原宏、北谷友也、牧祥、
杉山成、安達宏昭、高野和文、松村浩由、村上聡、井上豪、森勇介、佐々木考友
(大阪大学、濱野財団、東北大金研、創晶)
“蛍光ラベルタンパク質を用いたフェムト秒レーザー誘起核発生メカニズムの解析”
第 68 回応用物理学会秋季学術講演会
北海道工業大学 G 棟 1F-G104 (北海道札幌市)、2007 年 9 月 5 日
40. 井上豪 (大阪大学)
“創薬バリューチェーンによる医薬品開発の試み”
新産業を創る先端科学技術フォーラム 2007 「ポストゲノム創薬のための新技術」
インテックス大阪 5 号館 (大阪)、2007 年 10 月 18 日

41. 森勇介（大阪大学）
“フェムト秒レーザー照射と溶液攪拌による新しいタンパク質結晶化技術”
応用物理学会の有機分子・バイオエレクトロニクス分科会講習会
大阪大学 銀杏会館（吹田キャンパス）、2007 年 11 月 12～13 日
42. 吉川洋史、村井良多、牧祥、北谷友也、杉山成、安達宏昭、高野和文、松村浩由、
村上聡、井上豪、佐々木孝友、森勇介（大阪大学、創晶）
“フェムト秒レーザーによるタンパク質結晶化の制御”
レーザー学会 第 367 回研究会「レーザー加工」
名古屋大学ベンチャービジネスラボラトリー3F（名古屋市千種区）、2007 年 11 月 21 日
43. 松村浩由（大阪大学）
“異分野連携による革新的タンパク質結晶化技術開発”
近畿バイオインダストリー振興会議主催 第 19 回
バイオテクノロジー産業化のための技術シーズ公開会
大阪科学技術センター8 階中ホール（大阪市西区靱本町）、2007 年 11 月 28 日
44. 森勇介（大阪大学）
“異分野連携による新しいタンパク質結晶化技術の研究開発”
社団法人研究産業協会シンポジウム「持続するイノベーションーその創出への取り組み」
（財）都道府県会館 101 大会議室（東京都千代田区）、2007 年 11 月 26 日
45. 吉川洋史、森勇介（大阪大学）
“フェムト秒レーザー照射と溶液攪拌による新しいタンパク質結晶化技術”
日本光学会年次学術講演会（OPJ2007）
大阪大学コンベンションセンター（阪大吹田キャンパス）、2007 年 11 月 26～28 日
46. 森勇介（大阪大学）
“創薬支援のための新しいタンパク質結晶化技術”
青い銀杏の会 第 6 回大会
大阪大学 中之島センター 10 階 佐治敬三メモリアルホール、2007 年 12 月 3 日
47. 村上聡（大阪大学）
“多剤排出トランスポーターによる薬剤排出機構”
千里ライフサイエンスセミナー「生命機能を支える生体超分子の高次構造と機能」
千里ライフサイエンスセンタービル 5F 千里ライフホール、2008 年 2 月 28 日
48. 松村浩由（大阪大学）
“中性子回折実験に向けた大型タンパク質結晶育成技術の開発”
タンパク質結晶育成研究会
日立シビックセンター（茨城県日立市）、2008 年 3 月 18～19 日
49. 高野和文（大阪大学）
“フェムト秒レーザー・溶液攪拌を用いたタンパク質結晶化”
タンパク質結晶育成研究会
日立シビックセンター（茨城県日立市）、2008 年 3 月 18～19 日
50. 川原寿人、佐崎元、村上聡、井上豪、北谷友也、佐々木孝友、森勇介、安達宏昭、
高野和文、松村浩由、村井良多、清水典子、杉山成、山上恵（大阪大学、創晶）
“フェムト秒レーザー・溶液攪拌を用いたタンパク質結晶化”
第 55 回応用物理学関係連合講演会
日本大学理工学部 船橋キャンパス（千葉県船橋市）、2008 年 3 月 28 日

51. T. Kitatani, K. Takano, S. Sugiyama, H. Matsumura, S. Murakami, H. Adachi, T. Inoue, Y. Mori (Osaka University, SOSHO Inc.)
“Development of a Novel Mounting Method for Protein Crystals”
The 4th Asian Conference on Crystal Growth and Crystal Technology (CGCT-4)
Sendai, Japan, May 21-24, 2008
52. N. Shimizu, H. Y. Yoshikawa, M. Yamakami, T. Kitatani, S. Maki, S. Sugiyama, G. Sasaki, H. Adachi, K. Takano, H. Matsumura, S. Murakami, T. Inoue, T. Sasaki, Y. Mori (Osaka University, SOSHO Inc.)
“Growth of large protein crystals by hanging a seed crystal”
The 4th Asian Conference on Crystal Growth and Crystal Technology (CGCT-4)
Sendai, Japan, May 21-24, 2008
53. 安達宏昭 (創晶)
“タンパク質の新しい結晶育成技術と関連ツールの開発”
第7回国際バイオフィォーラム、東京ビッグサイト、2008年7月2～4日
54. 高野和文 (大阪大学)
“バイオクリスタルデザイン(タンパク結晶育成・加工・取扱技術)”
第7回国際バイオフィォーラム、東京ビッグサイト、2008年7月2～4日
55. 松村浩由 (大阪大学)
“タンパク質の大型結晶育成に関する研究”
第7回国際バイオフィォーラム、東京ビッグサイト、2008年7月2～4日
56. 村上聡 (東京工業大学)
“膜タンパク質の結晶育成～膜輸送体の結晶構造”
第7回国際バイオフィォーラム、東京ビッグサイト、2008年7月2～4日
57. 北谷友也 (大阪大学)
“タンパク質結晶の新しいマウントツールの開発”
第7回国際バイオフィォーラム、東京ビッグサイト、2008年7月2～4日
58. 高野和文 (大阪大学、創晶)
“結晶構造解析用技術の開発”
イノベーション・ジャパン 2008
東京国際フォーラム (東京・有明町)、2008年9月16～18日
59. 村井良多、吉川洋史、長谷中仁志、家藤奈津子、北谷友也、高橋義典、杉山成、安達宏昭、高野和文、松村浩由、村上聡、井上豪、森勇介
(大阪大学、東京工業大学、創晶)
“フェムト秒レーザー照射によるタンパク質核発生メカニズムの解明と最適条件の検討”
第38回結晶成長国内会議、仙台市戦災復興記念館(宮城県仙台市)、2008年11月4～6日
60. 川原寿人、佐崎元、中村真利子、高橋義典、北谷友也、安達宏昭
(大阪大学、東京工業大学、創晶)
“溶液流れがタンパク質結晶の成長ステップ挙動に与える影響”
第38回結晶成長国内会議、仙台市戦災復興記念館(宮城県仙台市)、2008年11月4～6日

61. 中村真利子、川原寿人、村井良多、北谷友也、高橋義典、佐崎元、杉山成、安達宏昭、高野和文、松村浩由、村上聡、井上豪、森勇介（大阪大学、東京工業大学、創晶）
“溶液攪拌がタンパク質結晶化に与える影響”
第56回応用物理学関係連合講演会、筑波大学、2009年3月30日～4月2日
62. 長嶋剣、阿部真之、森田清三、大藪範昭、小林圭、山田啓文、村井良多、安達宏昭、高野和文、松村浩由、村上聡、井上豪、森勇介、大田昌弘、粉川良平
（大阪大学、東京工業大学、創晶）
“周波数変調方式 AFM による液中での分子分解能測定”
日本地球惑星科学連合 2009 年大会、幕張メッセ国際会議場、2009 年 5 月 16～21 日
63. 安達宏昭（創晶）
“新しい結晶育成技術と結晶関連ツールの開発”
第8回国際バイオフィォーラム、東京ビッグサイト、2009年7月1～3日
64. 丸山美帆子（大阪大学）
“結晶表面における1分子挙動の視覚化-高品質完全結晶育成を目指して-”
第8回国際バイオフィォーラム、東京ビッグサイト、2009年7月1～3日
65. 松村浩由（大阪大学）
“タンパク質の大型結晶育成、及び溶液構造制御による結晶化技術に関する研究”
第8回国際バイオフィォーラム、東京ビッグサイト、2009年7月1～3日
66. 高橋義典（大阪大学）
“有機低分子材料の結晶育成”
第8回国際バイオフィォーラム、東京ビッグサイト、2009年7月1～3日
67. 高野和文（大阪大学）
“タンパク質完全結晶創成へ向けて”
第8回国際バイオフィォーラム、東京ビッグサイト、2009年7月1～3日
68. 家藤奈津子、村井良多、丸山美帆子、高橋義典、杉山成、安達宏昭、松村浩由、村上聡、井上豪、森勇介、古賀雄一、高野和文、金谷茂則（大阪大学、東京工業大学、創晶）
“フェムト秒レーザー照射によるタンパク質結晶核発生と溶液状態の関係”
第70回応用物理学学会学術講演会、富山大学、2009年9月8～11日
69. 村井良多、吉川洋史、家藤奈津子、丸山美帆子、高橋義典、杉山成、安達宏昭、高野和文、松村浩由、村上聡、井上豪、森勇介（大阪大学、東京工業大学、創晶）
“フェムト秒レーザー照射によるタンパク質核発生メカニズムの解明”
日本物理学会 2009 年秋季大会（物性関係）
熊本大学黒髪キャンパス、2009 年 9 月 25～28 日、
70. 松村浩由（大阪大学）
“溶液流動制御によるタンパク質完全結晶創成”
回折構造生物第169委員会 研究会
ゆうぽうと（東京都目黒区）、2009年11月9日
71. 清水典子、杉山成、丸山美帆子、高橋義典、安達宏昭、高野和文、村上聡、松村浩由、井上豪、森勇介（大阪大学、東京工業大学、創晶）

“TSSG 法と溶液攪拌を用いた大型タンパク質単結晶の育成”

第 39 回結晶成長国内会議、名古屋大学東山キャンパス、2009 年 11 月 12～14 日

72. 杉山成、廣瀬未果、北谷友也、高橋義典、佐崎元、丸山美帆子、安達宏昭、高野和文、村上聡、森勇介、井上豪、松村浩由（大阪大学、東京工業大学、創晶）

“固相中育成技術による超高分解能タンパク質結晶の創成”

日本結晶学会 2009 年年会

関西学院大学西宮上ヶ原キャンパス（兵庫県西宮市）、2009 年 12 月 5～6 日

73. H. Matsumura (Osaka University)

“Protein Crystallization by Solution Flow Control”

タンパク質結晶育成研究会（主催：科研費『水和と ATP』）

いばらき量子ビームセンター（東海村）、2010 年 1 月 26～27 日

74. K. Takano, K. Kakinouchi, N. Shimizu, S. Sugiyama, Y. Takahashi, M. Maruyama, R. Murai, H. Adachi, H. Matsumura, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori

(Osaka University, SOSHO Inc., Tokyo Institute of Technology)

“Novel Approach for Growth of Large Protein Crystals”

The Meeting of Biology and Synchrotron Radiation

Melbourne, Australia, February 15-18, 2010

75. 倉田将輝、村井良多、吉川洋史、家藤奈津子、丸山美帆子、高橋義典、杉山成、安達宏昭、高野和文、松村浩由、村上聡、井上豪、森勇介（大阪大学、東京工業大学、創晶）

“溶液ゲル化によるフェムト秒レーザー誘起タンパク質結晶核発生技術の高度化”

第 57 回応用物理学関係連合講演会

東海大学（神奈川県平塚市）、2010 年 3 月 17～20 日

76. 安達宏昭（創晶）

“中性子線構造解析に向けたタンパク質結晶の大型化”

第 9 回 国際バイオ EXPO、東京ビッグサイト、2010 年 6 月 30 日～7 月 2 日

77. 高野和文（大阪大学）

“タンパク質完全結晶創成プロジェクト”

第 9 回 国際バイオ EXPO、東京ビッグサイト、2010 年 6 月 30 日～7 月 2 日

78. 松村浩由（大阪大学）

“溶液構造制御による新規タンパク質結晶化法”

第 9 回 国際バイオ EXPO、東京ビッグサイト、2010 年 6 月 30 日～7 月 2 日

79. 杉山成（大阪大学）

“タンパク質結晶構造の高分解能解析”

第 9 回 国際バイオ EXPO、東京ビッグサイト、2010 年 6 月 30 日～7 月 2 日

80. 村井良多（大阪大学）

“新しい結晶化技術の高度化と原理解明”

第 9 回 国際バイオ EXPO、東京ビッグサイト、2010 年 6 月 30 日～7 月 2 日

81. Natsuko Iefuji, Ryota Murai, Hiroshi Y. Yoshikawa, Mihoko Maruyama, Yoshinori Takahashi, Shigeru Sugiyama, Hiroaki Adachi, Hiroyoshi Matsumura, Satoshi Murakami, Tsuyoshi Inoue, Yusuke Mori, Yuichi Koga, Kazufumi Takano, Shigenori Kanaya

(Osaka University, University of Heidelberg, Tokyo Institute of Technology, SOSHO Inc.)
“Laser-induced nucleation in protein crystallization: Local increase in protein concentration by femtosecond laser irradiation”
The 16th International Conference on Crystal Growth (ICCG-16),
Beijing, China, August 8-13, 2010

82. Hiroyoshi Matsumura (Osaka University, Tokyo Institute of Technology, SOSHO Inc.)
“Novel Approach for Growth of High-Quality and Large Protein Crystals”
The 13th International Conference on the Crystallization of Biological Macromolecules
Dublin, Ireland, September 12-16, 2010

83. 松村浩由 (大阪大学)
“ハイドロゲルを用いたタンパク質結晶化法の開発”
BioJapan 2010、パシフィコ横浜、2010年9月29日～10月1日

84. 松村浩由 (大阪大学)
“タンパク質の良質結晶ならびに大型結晶の育成技術”
蛋白研セミナー、大阪大学蛋白質研究所、2010年10月6～7日

85. 石川沙枝、杉山成、富取秀行、新山真由美、廣瀬未果、東恭平、安達宏昭、高野和文、村上聡、森勇介、井上豪、柏木敬子、五十嵐一衛、松村浩由
(大阪大学、東京工業大学、創晶)
“ポリアミン代謝関連酵素スベルミジンアセチルトランスフェラーゼのX線結晶構造解析”
平成22年度関西支部大会、近畿大学農学部キャンパス、2010年10月2～3日

86. 杉山成、廣瀬未果、清水典子、佐崎元、丸山美帆子、安達宏昭、高野和文、村上聡、井上豪、森勇介、松村浩由 (大阪大学、東京工業大学、創晶)
“ハイドロゲルを利用した固相中タンパク質結晶化技術の開発とその応用”
平成22年度関西支部大会、近畿大学農学部キャンパス、2010年10月2～3日

87. 村上聡 (東京工業大学)
“原子構造から見たバクテリアの薬剤排出機構”
日本結晶学会年会、大阪大学コンベンションセンター、2010年12月3～5日

③ ポスター発表 (国内会議 50 件、国際会議 34 件)

1. 高野和文、遠藤秀爾、向山厚、全賢基、松村浩由、古賀雄一、金谷茂則
(阪大院工、JST PRESTO)
“アミロイドβペプチドの水溶液環境の構造”
第43回日本生物物理学会、札幌、2005年11月23～25日

2. 白木原康雄、白鳥綾、村上聡、安達宏昭、松村浩由、高野和文、井上豪、森勇介、佐々木孝友、鈴木俊治、吉田賢右 (遺伝研、阪大、創晶、東工大)
“ATP合成酵素結晶の高品質化”
第43回日本生物物理学会、札幌、2005年11月23～25日

3. 木下誉富、寺坂忠嗣、仲西功、久野真子、関信男、割鞘雅一、松村浩由、井上豪、高野和文、森勇介、安達宏昭、藤井隆 (阪府大院理、アステラス製薬、阪大院工)
“アデノシンデアミナーゼ阻害剤の Structure-Based Drug Design における水分子の重要性”
第24回メディシナルケミストリーシンポジウム、大阪、2005年11月28～30日

4. 塚崎智也、森博幸、深井周也、沼田倫征、Anna Perederina、安達宏昭、松村浩由、高野和文、村上聡、井上豪、森勇介、佐々木孝友、Vassilyev Dmitry G、濡木理、伊藤維昭（京都大学、大阪大学、創晶、東工大、PRESTO、University of Alabama）
“高度好熱菌由来トランスロコン関連膜タンパク質 SecDF の精製・結晶化ならびに X 線回折”
第 6 回蛋白質科学会年会 国立京都国際会館(京都市左京区宝ヶ池)、
2006 年 4 月 24～26 日
5. 木下誉富、割鞘雅一、丸木理世、安達宏昭、新納愛、井上豪、松村浩由、高野和文、村上聡、森勇介、佐々木孝友、多田俊治
（アステラス製薬、大阪大学、大阪府立大学、創晶）
“ヒト肝臓由来トリオースフォスフェートイソメラーゼの結晶成長制御”
第 6 回蛋白質科学会年会、国立京都国際会館(京都市左京区宝ヶ池)、
2006 年 4 月 24～26 日
6. 森勇介、高野和文、安達宏昭（大阪大学、創晶）
“「タンパク質の結晶化技術」の開発”
第 5 回産学官連携推進会議の展示会、国立京都国際会館（京都市左京区宝ヶ池）
2006 年 6 月 10～11 日
7. H. Y. Yoshikawa, Yoichiro Hosokawa, Hiroshi Masuhara (Osaka University)
“Nucleation and Crystal Growth of Organic Molecules Triggered by Focused Femtosecond Laser Irradiation”
第 3 回阪大国際ナノフォトニクスシンポジウム (INPS3)
大阪大学銀杏会館（吹田キャンパス内）、2006 年 7 月 6～8 日
8. H. Y. Yoshikawa, H. Adachi, H. Matsumura, T. Inoue, K. Takano, S. Murakami, Y. Hosokawa, H. Masuhara, Y. Mori, T. Sasaki (Osaka University)
“Protein crystallization at low supersaturation by focused femtosecond laser irradiation”
第 3 回阪大国際ナノフォトニクスシンポジウム (INPS3)
大阪大学銀杏会館（吹田キャンパス内）、2006 年 7 月 6～8 日
9. R. Murai, S. Nakata, M. Kashii, H. Adachi, K. Takano, H. Matsumura, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori, T. Sasaki (Osaka University, SOSHO Inc.)
“Effect of Solution Stirring on Protein Crystallization”
ACA2006, Honolulu, Hawaii, July 22-27, 2006
10. K. Takano, H. Kitano, H. Adachi, M. Kashii, H. Matsumura, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori, M. Doi, T. Sasaki (Osaka University, SOSHO Inc., Nikon)
“Protein Crystal Processing Using Ultraviolet Laser Irradiation”
ACA2006, Honolulu, Hawaii, July 22-27, 2006
11. 安達宏昭、森勇介、高野和文、松村浩由、井上豪、村上聡、佐々木孝友
（大阪大学、創晶）
“Crystallization Service by Novel Growth Techniques”
ミニ国際シンポジウム「最近の結晶成長メカニズムに関する研究トピックスとそれらの回折実験向け高分解能蛋白質結晶生成への貢献」
JAXA 東京事務所第 1～第 3 会議室、2006 年 7 月 31 日
12. 森勇介、高野和文、松村浩由、井上豪、村上聡、佐々木孝友、安達宏昭（大阪大学、創晶）

“フェムト秒レーザー照射による結晶核発生と溶液攪拌による新しいタンパク質結晶化技術”

イノベーション・ジャパン 2006、東京国際フォーラム（東京・有明町）

2006年9月13～15日

13. 森勇介、高野和文、松村浩由、井上豪、村上聡、佐々木孝友、吉川洋史、牧祥、北谷友也、金久展子、小林亜沙子、安達宏昭（大阪大学、創晶）

“タンパク質の高品質結晶化技術”

バイオジャパン 2006、大阪国際会議場（グランキューブ大阪）10階 展示会場

2006年9月13～15日

14. 安達宏昭、森勇介、高野和文、松村浩由、井上豪、村上聡、佐々木孝友（大阪大学、創晶）

“レーザー照射によるタンパク質の結晶化と溶液攪拌による結晶の高品質化”

オミックス医療が拓く未来 2006 シンポジウム

2006年10月3～4日

15. 安達宏昭、森勇介、高野和文、松村浩由、井上豪、村上聡、佐々木孝友（大阪大学、創晶）

“革新的技術によるタンパク質の結晶化”

大阪大学との産学交流マッチングフェア 2006

大阪大学吹田キャンパス内体育館、2006年10月23～24日

16. H. Y. Yoshikawa, S. Nakata, R. Murai, T. Kitatani, S. Maki, H. Adachi, T. Inoue, H. Matsumura, K. Takano, S. Murakami, Y. Mori, and T. Sasaki (Osaka University)

“Membrane Protein Crystallization under High Pressure”

AsCA 2006/CrSJ, Epochal Tsukuba, November 20-23, 2006

17. K. Tokuoka, S. Krungkrai, Y. Kusakari, T. Inoue, H. Adachi, H. Matsumura, K. Takano, S. Murakami, Y. Mori, Y. Kai, K. Jerapan, and T. Horii

“The Crystal structure of orotidine 5'-monophosphate decarboxylase from the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*”

AsCA 2006/CrSJ, Epochal Tsukuba, November 20-23, 2006

18. Y. Sogabe, T. Kinoshita, A. Yamaguchi, T. Kitatani, T. Sakamoto, H. Ihara, H. Matsumura, K. Takano, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori, and T. Tada

(Osaka University, Osaka Prefecture University)

“The Crystallization and X-ray Diffraction of the Exo-Arabinanase from *Penicillium Chrysogenum*”

AsCA 2006/CrSJ

November 20-23, 2006, Epochal Tsukuba

19. 森勇介、高野和文、松村浩由、井上豪、村上聡、佐々木孝友、安達宏昭（大阪大学、創晶）

新規タンパク質結晶化法の開発～若手異分野連携が産む逆転の発想～

全日本科学機器展

2006年11月29日～12月1日 東京ビッグサイト（東4・5ホール）

20. 高野和文（大阪大学）

大阪大学創晶プロジェクト

全日本科学機器展

2006年11月29日～12月1日 東京ビッグサイト（東4・5ホール）

21. 安達宏昭、森勇介、高野和文、松村浩由、井上豪、村上聡、佐々木孝友
(大阪大学、創晶)
医薬候補化合物である有機低分子やタンパク質の結晶化と X 線構造解析
日本薬学会第 127 年会併設展示会
2007 年 3 月 28～30 日 富山市総合体育館 1F 第 1 アリーナ (富山市湊入船町)

22. S. Maki, R. Murai, H. Y. Yoshikawa, T. Kitatani, S. Nakata, H. Kawahara, H. Hasenaka,
A. Kobayashi, S. Okada, S. Sugiyama, H. Adachi, H. Matsumura, K. Takano, S. Murakami,
T. Inoue, T. Sasaki, and Y. Mori (Osaka University, SOSHO Inc.)
“Protein crystallization in 100 nano-liter solution with a new stirring equipment”
The 2nd International Symposium on Diffraction Structural Biology 2007 (ISDSB2007)
Tower Hall Funabori, September 10-13, 2007

23. H. Matsumura, S. Okada, M. Adachi, T. Tamada, R. Kuroki, K. Hidaka, Y. Hayashi, Y. Kiso, S.
Maki, S. Sugiyama, T. Kitatani, H. Y. Yoshikawa, A. Kobayashi, H. Adachi, K. Takano,
S. Murakami, T. Inoue and Y. Mori (Osaka University, SOSHO Inc.)
“Growth of high-quality and large crystals of HIV protease-inhibitor complex for neutron
crystallography”
The 2nd International Symposium on Diffraction Structural Biology 2007 (ISDSB2007)
Tower Hall Funabori, Tokyo, September 10-13, 2007

24. H. Y. Yoshikawa, R. Murai, T. Kitatani, S. Maki, H. Adachi, K. Takano, H. Matsumura,
T. Inoue, S. Murakami and Y. Mori (Osaka University, SOSHO Inc.)
“Laser energy and pulse time width dependence on femtosecond laser induced-nucleation of
protein molecules”
The 9th annual Conference on Laser Ablation (COLA)
Guía de Isora, Canary Islands, Spain, September 24-28, 2007

25. 村井良多、吉川洋史、牧祥、安達宏昭、高野和文、松村浩由、村上聡、井上豪、
佐々木孝友、森 勇介 (大阪大学)
“フェムト秒レーザー誘起タンパク質結晶核発生メカニズムの検討”
日本光学会年次学術講演会 (OPJ2007)
大阪大学コンベンションセンター (阪大吹田キャンパス)、2007 年 11 月 26～28 日

26. 北谷友也、杉山 成、松村浩由、吉川洋史、牧 祥、村上 聡、安達宏昭、井上 豪、
高野和文、森 勇介 (大阪大学、創晶)
“新規タンパク質結晶マウント法の開発”
日本結晶学会 2007 年度年会
東京工業大学・大岡山キャンパス (東京都目黒区)、2007 年 12 月 1～2 日

27. 山口亜佐子、木下誉富、新納愛、安達宏昭、森勇介、浅野智之、切畑光統、多田俊治
(大阪大学、大阪府立大学、創晶)
“ホウ素化合物を特異的に認識する抗体の X 線結晶構造解析”
日本結晶学会 2007 年度年会
東京工業大学・大岡山キャンパス (東京都目黒区)、2007 年 12 月 1～2 日

28. R. Murai, H. Y. Yoshikawa, S. Maki, T. Kitatani, H. Adachi, K. Takano, H. Matsumura,
S. Murakami, T. Inoue, T. Sasaki, and Y. Mori (Osaka University, SOSHO Inc.)
“Research of the Mechanism of Femtosecond Laser-induced Nucleation”
1st Global COE International Symposium Electronic Devices Innovation (EDIS2008)
大阪大学銀杏会館 (Osaka University), January 21-22, 2008

29. 森 勇介・吉村政志 (大阪大学)
“機能性結晶”
大阪大学フォトニクス先端融合研究センター 第2回シンポジウム
「フォトニクスの夜明け」
虎ノ門パストラルホテル (東京都港区)、2008年2月29日
30. H. Matsumura, S. Sugiyama, S. Okada, M. Yamakami, M. Adachi, T. Tamada, R. Kuroki, K. Hidaka, Y. Hayashi, Y. Kiso, S. Maki, T. Kitatani, H. Y. Yoshikawa, H. Adachi, K. Takano, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori
(Osaka University, SOSHO Inc., Japan Atomic Energy Agency, Kyoto Pharmaceutical University)
“Growth of high-quality and large crystals of HIV protease-inhibitor complex for neutron crystallography”
The First J-PARC International Symposium International Symposium on Pulsed Neutron and Muon Sciences (IPS08)
茨城県 市町村会館 (茨城県水戸市笠原町)、March 5-8, 2008
31. K. Takano, T. Kitatani, S. Sugiyama, H. Matsumura, H. Adachi, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori (Osaka Univ., SOSHO Inc.)
“New Technique of Manipulating a Protein Crystal”
The 2008 Annual Meeting of the American Crystallographic Association (ACA2008)
Knoxville Convention Center, Knoxville, Tennessee, USA, May 31-June 5, 2008
32. 村井良多、吉川洋史、長谷中仁志、北谷友也、杉山成、山上恵、安達宏昭、高野和文、松村浩由、村上聡、井上豪、佐々木孝友、森勇介 (大阪大学、創晶)
“フェムト秒レーザー照射によるタンパク質結晶化の原理解明研究”
第8回日本蛋白質科学会年会
タワーホール船堀、2008年6月10~12日
33. R. Murai, H. Y. Yoshikawa, H. Hasenaka, T. Kitatani, S. Sugiyama, M. Yamakami, H. Adachi, K. Takano, H. Matsumura, S. Murakami, T. Inoue, T. Sasaki, Y. Mori
(Osaka Univ., Tokyo Institute of Technology, SOSHO Inc.)
“Study on Nucleation Mechanism with Femtosecond Laser Irradiation”
1st Global COE Student Conference on Innovative Electronic Topics SCIENT2008
Ichokaikan, Osaka Univ., Suita, Osaka, Japan, July 31-August 1, 2008
34. H. Matsumura, S. Sugiyama, T. Kitatani, Y. Nomura, T. Sakamoto, S. Miyakawa, Y. Nakamura, S. Maki, H. Y. Yoshikawa, H. Adachi, K. Takano, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori (Osaka Univ., Tokyo Institute of Technology, Ribomic Inc., Chiba Institute of Technology, Univ. of Tokyo, SOSHO Inc.)
“Crystal structure of RNA aptamer in complex with human immunoglobulin G”
XXI Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography
Grand Cube Osaka, Osaka, Japan, August 23-31, 2008
35. M. Yamakami, H. Matsumura, S. Sugiyama, S. Okada, M. Adachi, T. Tamada, R. Kuroki, K. Hidaka, Y. Hayashi, Y. Kiso, S. Maki, T. Kitatani, H. Y. Yoshikawa, H. Adachi, K. Takano, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori (Osaka Univ., JAEA, Kyoto Pharmaceutical Univ., SOSHO Inc.)
“Growth of high-quality and large crystals of HIV protease-inhibitor complex for neutron crystallography”
XXI Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography
Grand Cube Osaka, Osaka, Japan, August 23-31, 2008
36. S. Sugiyama, H. Matsumura, T. Kitatani, A. Kobayashi, S. Miyakawa, Y. Nomura,

- T. Sakamoto, Y. Nakamura, S. Okada, M. Yamakami, S. Maki, H. Y. Yoshikawa, H. Adachi, K. Takano, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori
(Osaka Univ., Ribomic Inc., Chiba Institute of Technology, Univ. of Tokyo, SOSHO Inc.)
Crystallization and preliminary X-ray diffraction studies of RNA aptamer in complex with human immunoglobulin G
XXI Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography
Grand Cube Osaka, Osaka, Japan, August 23-31, 2008
37. R. Murai, H. Y. Yoshikawa, S. Sugiyama, T. Kitatani, M. Yamakami, H. Adachi, K. Takano, H. Matsumura, S. Murakami, T. Inoue, T. Sasaki, Y. Mori (Osaka Univ., SOSHO Inc.)
“Study on femtosecond laser-induced nucleation dynamics of proteins”
XXI Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography
Grand Cube Osaka, Osaka, Japan, August 23-31, 2008
38. H. Hasenaka, R. Murai, H. Y. Yoshikawa, M. Yamakami, T. Kitatani, S. Sugiyama, H. Adachi, K. Takano, H. Matsumura, S. Murakami, T. Inoue, T. Sasaki, Y. Mori (Osaka Univ., SOSHO Inc.)
“Wavelength dependence of the crystallization by the laser irradiation”
XXI Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography
Grand Cube Osaka, Osaka, Japan, August 23-31, 2008
39. H. Kawahara, G. Sazaki, R. Murai, N. Shimizu, T. Kitatani, S. Sugiyama, M. Yamakami, H. Adachi, K. Takano, H. Matsumura, S. Murakami, T. Inoue, T. Sasaki, Y. Mori (Osaka Univ., SOSHO Inc.)
“The first direct observation of individual protein molecules on a protein crystal under forced solution-flow”
XXI Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography
Grand Cube Osaka, Osaka, Japan, August 23-31, 2008
40. N. Shimizu, H. Y. Yoshikawa, M. Adachi, T. Tamada, K. Hidaka, Y. Hayashi, Y. Kiso, M. Yamakami, T. Kitatani, S. Sugiyama, G. Sazaki, H. Adachi, K. Takano, H. Matsumura, S. Murakami, T. Inoue, R. Kuroki, T. Sasaki, Y. Mori (Osaka Univ., SOSHO Inc., JAEA, Kyoto Pharmaceutical Univ.)
“Growth of large protein crystals for neutron crystallography by hanging a seed crystal”
XXI Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography
Grand Cube Osaka, Osaka, Japan, August 23-31, 2008
41. T. Kitatani, T. Hasegawa, S. Sugiyama, K. Hamada, H. Matsumura, K. Takano, H. Adachi, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori (Osaka Univ., PharmAcess Inc., SOSHO Inc.)
“Application of a novel mounting tool using adhesive for protein crystals”
XXI Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography
Grand Cube Osaka, Osaka, Japan, August 23-31, 2008
42. 村井良多、吉川洋史、長谷中仁志、家藤奈津子、北谷友也、高橋義典、杉山成、安達宏昭、高野和文、松村浩由、村上聡、井上豪、森勇介
“フェムト秒レーザー照射によるタンパク質核発生メカニズムの解明と最適条件の検討”
第 38 回結晶成長国内会議、仙台市戦災復興記念館(宮城県仙台市)、
2008 年 11 月 4～6 日
43. S. Sugiyama, H. Matsumura, T. Kitatani, Y. Nomura, T. Sakamoto, S. Miyakawa, Y. Nakamura, Y. Takahashi, H. Adachi, K. Takano, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori (Osaka University, SOSHO Inc., Chiba University, University of Tokyo)
“X-ray structure of RNA aptamer in complex with human immunoglobulin G”

第46回日本生物物理学会、福岡国際会議場（福岡市博多区）、2008年12月3～5日

44. 長谷中仁志、松村浩由、清水典子、廣瀬未果、北谷友也、杉山成、高橋義典、
安達宏昭、高野和文、村上聡、井上豪、森勇介
“フェムト秒レーザーを用いたタンパク質結晶加工”
第22回日本放射光学会年会、東京大学本郷キャンパス、2009年1月9～12日
45. 村井良多、吉川洋史、家藤奈津子、北谷友也、高橋義典、杉山成、安達宏昭、
高野和文、松村浩由、村上聡、井上豪、森勇介（大阪大学、東京工業大学、創晶）
“溶液のゲル化によるフェムト秒レーザー誘起核発生の高度化”
第9回日本蛋白質科学会年会、熊本全日空ホテルニュースカイ、2009年5月20～22日
46. 安達基泰、大原高志、栗原和男、玉田太郎、本庄栄二郎、岡崎伸生、新井栄輝、
正山祥生、松村浩由、杉山成、安達宏昭、高野和文、森勇介、日高興士、木村徹、
林良雄、木曾良明、黒木良太（大阪大学、東京工業大学、創晶）
第9回日本蛋白質科学会年会、熊本全日空ホテルニュースカイ、2009年5月20～22日
47. Kazufumi Takano (Osaka University)
“Protein Crystal Growth by New Techniques”
International Conference on Materials for Advanced Technologies 2009
The Suntec Singapore International Convention and Exhibition Centre, June 28-July 3, 2009
48. 家藤奈津子、村井良多、丸山美帆子、高橋義典、杉山成、安達宏昭、松村浩由、
村上聡、井上豪、森勇介、古賀雄一、高野和文、金谷茂則（大阪大学、東京工業大学、
創晶）
“溶液状態から見たタンパク質結晶のレーザー核発生”
コミュニティ嵯峨野（京都市右京区）、2009年7月4～5日
49. R. Murai, H. Y. Yoshikawa, N. Iefuji, T. Kitatani, Y. Takahashi, S. Sugiyama, H. Adachi,
K. Takano, H. Matsumura, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori
(Osaka University, Tokyo Institute of Technology, SOSHO Inc.)
“Improvement of femtosecond laser-induced nucleation efficiency in a highly viscous solution”
The 2009 Annual Meeting of the American Crystallographic Association
Toronto, Ontario, Canada, July 25-30, 2009
50. K. Takano, T. Kitatani, H. Adachi, S. Sugiyama, H. Matsumura, Y. Takahashi, S. Murakami,
T. Inoue, Y. Mori (Osaka University, Tokyo Institute of Technology, SOSHO Inc.)
“Manipulating Tool for Protein Microcrystals in Solution using Adhesive Materials”
The 2009 Annual Meeting of the American Crystallographic Association
Toronto, Ontario, Canada, July 25-30, 2009
51. K. Nagashima, M. Abe, S. Morita, N. Oyabu, K. Kobayashi, H. Yamada, R. Murai, H. Adachi,
K. Takano, H. Matsumura, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori, M. Ohta, R. Kokawa
(Osaka University, Tokyo Institute of Technology, SOSHO Inc.)
“Molecular Resolution Investigation of Lysozyme Crystal in Liquid by Frequency-Modulation
AFM”
The 12th International Conference on Noncontact Atomic Force Microscopy
Yale Univ., New Haven, CT, USA, August 10-14, 2009
52. T. Kitatani, T. Hasegawa, S. Sugiyama, K. Hamada, H. Adachi, H. Matsumura, S. Murakami,
T. Inoue, Y. Mori, K. Takano (Osaka University, Tokyo Institute of Technology, SOSHO Inc.)
“A Novel Mounting Tool Using Adhesive for Protein Crystals”
The Asian Crystallographic Association 2009, Jingyi Hotel, Beijing, China,

October 22-25, 2009

53. 丸山美帆子、川原寿人、中村真利子、佐崎元、高橋義典、北谷友也、杉山成、
安達宏昭、高野和文、松村浩由、村上聡、井上豪、森勇介（大阪大学、東京工業大学、
創晶）
“タンパク質結晶成長メカニズムに依存した溶液流れの効果”
第 39 回結晶成長国内会議、名古屋大学東山キャンパス、2009 年 11 月 12～14 日
54. 長嶋剣、阿部真之、森田清三、大藪範昭、小林圭、山田啓文、村井良多、安達宏昭、
高野和文、松村浩由、村上聡、井上豪、森勇介、大田昌弘、粉川良平
（大阪大学、東京工業大学、創晶）
“周波数変調 AFM による正方晶リゾチーム(110)面の液中分子分解能観察”
第 39 回結晶成長国内会議、名古屋大学東山キャンパス、2009 年 11 月 12～14 日
55. 杉山成、廣瀬未果、田邊佳奈、新山真由美、垣之内啓介、丸山美帆子、高橋義典、
安達宏昭、高野和文、村上聡、森勇介、井上豪、松村浩由
（大阪大学、東京工業大学、創晶）
“高強度アガロースゲルを用いた固相中タンパク質結晶化”
第 39 回結晶成長国内会議、名古屋大学東山キャンパス、2009 年 11 月 12～14 日
56. 田邊佳奈、廣瀬未果、杉山成、丸山美帆子、清水典子、高橋義典、高野和文、森勇介、
安達宏昭、村上聡、井上豪、松村浩由（大阪大学、東京工業大学、創晶）
“固相中タンパク質結晶化における核発生確率”
第 39 回結晶成長国内会議、名古屋大学東山キャンパス、2009 年 11 月 12～14 日
57. 中村真利子、川原寿人、丸山美帆子、村井良多、新山真由美、高橋義典、佐崎元、
杉山成、安達宏昭、高野和文、松村浩由、村上聡、井上豪、森勇介
（大阪大学、東京工業大学、創晶）
“タンパク質結晶育成における溶液攪拌の効果”
第 39 回結晶成長国内会議、名古屋大学東山キャンパス、2009 年 11 月 12～14 日
58. 新山真由美、杉山成、長谷中仁志、廣瀬未果、清水典子、北谷友也、高橋義典、
丸山美帆子、安達宏昭、高野和文、村上聡、井上豪、森勇介、松村浩由
（大阪大学、東京工業大学、創晶）
“固相中タンパク質結晶の自動マウントシステムに向けた要素技術の開発”
日本結晶学会 2009 年年会
関西学院大学西宮上ヶ原キャンパス（兵庫県西宮市）、2009 年 12 月 5～6 日
59. 清水典子、杉山成、丸山美帆子、高橋義典、安達宏昭、高野和文、村上聡、井上豪、
松村浩由、森勇介（大阪大学、東京工業大学、創晶）
“TSSG 法と溶液攪拌を用いた大型タンパク質単結晶の育成”
日本結晶学会 2009 年年会
関西学院大学西宮上ヶ原キャンパス（兵庫県西宮市）、2009 年 12 月 5～6 日
60. 垣之内啓介、丸山美帆子、高橋義典、杉山成、松村浩由、中村努、安達基泰、
玉田太郎、黒木良太、安達宏昭、高野和文、村上聡、井上豪、森勇介
（大阪大学、東京工業大学、創晶）
“中性子構造解析に向けたタンパク質大型結晶の高効率育成”
日本結晶学会 2009 年年会
関西学院大学西宮上ヶ原キャンパス（兵庫県西宮市）、2009 年 12 月 5～6 日

61. 松村浩由、杉山成、長谷中仁志、廣瀬未果、丸山美帆子、清水典子、高橋義典、高野和文、森勇介、安達宏昭、村上聡、溝端栄一、井上豪（大阪大学、東京工業大学、創晶）
“固相中で育成したタンパク質結晶のフェムト秒レーザーによる加工”
日本結晶学会 2009 年年会
関西学院大学西宮上ヶ原キャンパス（兵庫県西宮市）、2009 年 12 月 5～6 日
62. 廣瀬未果、杉山成、田邊佳奈、清水典子、北谷友也、長谷中仁志、高橋義典、丸山美帆子、安達宏昭、高野和文、村上聡、森勇介、井上豪、松村浩由（大阪大学、東京工業大学、創晶）
“高強度アガロースゲル中でのタンパク質結晶育成”
日本結晶学会 2009 年年会
関西学院大学西宮上ヶ原キャンパス（兵庫県西宮市）、2009 年 12 月 5～6 日
63. 家藤奈津子、村井良多、吉川洋史、丸山美帆子、高橋義典、杉山成、古賀雄一、金谷茂則、安達宏昭、松村浩由、高野和文、村上聡、井上豪、森勇介（大阪大学、東京工業大学、創晶）
“フェムト秒レーザー照射が誘起するタンパク質結晶核発生”
日本結晶学会 2009 年年会
関西学院大学西宮上ヶ原キャンパス（兵庫県西宮市）、2009 年 12 月 5～6 日
64. 丸山美帆子、川原寿人、中村真利子、佐崎元、高橋義典、北谷友也、杉山成、安達宏昭、高野和文、松村浩由、村上聡、井上豪、森勇介（大阪大学、東京工業大学、創晶）
“溶液攪拌によるタンパク質結晶高品質化のメカニズム解明”
日本結晶学会 2009 年年会
関西学院大学西宮上ヶ原キャンパス（兵庫県西宮市）、2009 年 12 月 5～6 日
65. 田邊佳奈、廣瀬未果、杉山成、丸山美帆子、清水典子、高橋義典、高野和文、森勇介、安達宏昭、村上聡、溝端栄一、井上豪、松村浩由（大阪大学、東京工業大学、創晶）
“固相中タンパク質結晶化における核発生確率”
日本結晶学会 2009 年年会
関西学院大学西宮上ヶ原キャンパス（兵庫県西宮市）、2009 年 12 月 5～6 日
66. K. Nagashima, M. Abe, S. Morita, N. Oyabu, K. Kobayashi, H. Yamada, R. Murai, H. Adachi, K. Takano, H. Matsumura, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori, M. Ohta, R. Kokawa (Osaka University, Tokyo Institute of Technology, SOSHO Inc.)
“Molecular Resolution Investigation of Tetragonal Lysozyme(110) Face in Liquid by Frequency-Modulation AFM”
17th International Colloquium on Scanning Probe Microscopy
Atami, Shizuoka, Japan, December 10-12, 2009
67. K. Nagashima, M. Abe, S. Morita, N. Oyabu, K. Kobayashi, H. Yamada, R. Murai, H. Adachi, K. Takano, H. Matsumura, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori, M. Ohta, R. Kokawa (Osaka University, Tokyo Institute of Technology, SOSHO Inc.)
“Molecular resolution investigation of tetragonal lysozyme(110) face in liquid by frequency-modulation AFM”
Watching Biomolecules in Action, Osaka, Japan, December 15-17, 2009,
68. K. Nagashima, M. Abe, S. Morita, N. Oyabu, K. Kobayashi, H. Yamada, R. Murai, H. Adachi,

- K. Takano, H. Matsumura, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori, M. Ohta, R. Kokawa
(Osaka University, Tokyo Institute of Technology, SOSHO Inc.)
“Molecular resolution investigation of tetragonal lysozyme(110) face in liquid by frequency-modulation AFM”
Watching Biomolecules in Action, Osaka, Japan, December 15-17, 2009
69. K. Nagashima, M. Abe, S. Morita, N. Oyabu, K. Kobayashi, H. Yamada, R. Murai, H. Adachi, K. Takano, H. Matsumura, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori, M. Ohta, R. Kokawa
(Osaka University, Tokyo Institute of Technology, SOSHO Inc.)
“Molecular resolution investigation of tetragonal lysozyme(110) face in liquid by frequency-modulation AFM”
Watching Biomolecules in Action, Osaka, Japan, December 15-17, 2009
70. 松村浩由、清水典子、杉山成、丸山美帆子、高橋義典、安達基泰、玉田太郎、黒木良太、安達宏昭、高野和文、村上聡、森勇介、井上豪
(大阪大学、創晶、東京工業大学、CREST-JST、JAEA)
“TSSG 法と溶液攪拌を用いたタンパク質の大型結晶の育成”
第 27 回 PF シンポジウム、つくば国際会議場エポカル、2010 年 3 月 9～10 日
71. H. Matsumura, S. Sugiyama, M. Hirose, K. Kakinouchi, N. Shimizu, M. Maruyama, R. Murai, Y. Takahashi, H. Adachi, K. Takano, S. Murakami, Y. Mori and T. Inoue
(Osaka University, Tokyo Institute of Technology, SOSHO Inc.)
“Novel Approach for Growth of High-Quality and Large Protein Crystals”
The 3rd International Symposium on Diffraction Structural Biology 2010 (ISDSB2010)
University Paris-Sud, Orsay, May 25-28, 2010
72. M. Nakamura, H. Kawahara, M. Maruyama, R. Murai, K. Kakinouchi, M. Niiyama, Y. Takahashi, G. Sazaki, S. Sugiyama, H. Adachi, K. Takano, H. Matsumura, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori
(Osaka University, Tokyo Institute of Technology, SOSHO Inc.)
“Effects of solution stirring on behavior of dislocations and/or defects during protein crystallization”
The 16th International Conference on Crystal Growth (ICCG-16)
Beijing, China, August 8-13, 2010
73. S. Sugiyama, M. Hirose, R. Murai, Y. Takahashi, M. Maruyama, G. Sazaki, H. Adachi, K. Takano, S. Murakami, T. Inoue, Y. Mori and H. Matsumura
(Osaka University, Tokyo Institute of Technology, SOSHO Inc.)
“Protein Crystallization in Agarose Gel with High Strength”
The 13th International Conference on the Crystallization of Biological Macromolecules
Dublin, Ireland, September 12-16, 2010
74. 安達宏昭、高野和文、松村浩由、村上聡、井上豪、森勇介
(大阪大学、東京工業大学、創晶)
“異分野連携による新しい結晶化技術の開発 ～創晶プロジェクト”
第 4 回 バイオ関連化学シンポジウム
大阪大学 豊中キャンパス 共通教育管理講義棟、2010 年 9 月 24～26 日
75. 杉山成、廣瀬未果、丸山美帆子、佐崎元、村井良多、安達宏昭、高野和文、村上聡、井上豪、森勇介、松村浩由 (大阪大学、東京工業大学、創晶)
“アガロースゲルを用いたタンパク質結晶化技術の汎用性の検討”
日本結晶学会年会、大阪大学コンベンションセンター、2010 年 12 月 3～5 日
76. 垣之内啓介、杉山成、丸山美帆子、村井良多、中村努、安達基泰、玉田太郎、

- 黒木良太、安達宏昭、高野和文、村上聡、井上豪、森勇介、松村浩由
（大阪大学、東京工業大学、創晶）
“中性子線構造解析に向けたタンパク質大型結晶の高効率育成新技術の開発”
日本結晶学会年会、大阪大学コンベンションセンター、2010年12月3～5日
77. 新山真由美、廣瀬末果、杉山成、富取秀行、石川沙枝、東恭平、安達宏昭、
高野和文、村上聡、森勇介、井上豪、柏木敬子、五十嵐一衛、松村浩由
（大阪大学、東京工業大学、創晶）
“中性子線構造解析に向けたタンパク質大型結晶の高効率育成新技術の開発”
日本結晶学会年会、大阪大学コンベンションセンター、2010年12月3～5日
78. 廣瀬末果、杉山成、丸山美帆子、安達宏昭、高野和文、村上聡、森勇介、井上豪、
松村浩由（大阪大学、東京工業大学、創晶）
“高強度アガロースゲル中結晶化ツールの開発”
日本結晶学会年会、大阪大学コンベンションセンター、2010年12月3～5日
79. 丸山美帆子、中村真利子、斎藤諭、村井良多、佐崎元、高橋義典、北谷友也、
杉山成、安達宏昭、高野和文、松村浩由、井上豪、森勇介、村上聡
（大阪大学、東京工業大学、創晶）
“膜タンパク質結晶の欠陥密度に及ぼす溶液攪拌の効果”
日本結晶学会年会、大阪大学コンベンションセンター、2010年12月3～5日
80. 森永学、廣瀬末果、杉山成、安達宏昭、丸山美帆子、村井良多、高橋義典、
高野和文、村上聡、井上豪、森勇介、松村浩由（大阪大学、東京工業大学、創晶）
“Gel Advanced Interfacial Nucleation (GAIN) plate を用いたタンパク質結晶化”
日本結晶学会年会、大阪大学コンベンションセンター、2010年12月3～5日
81. 倉田将輝、村井良多、吉川洋史、丸山美帆子、高橋義典、杉山成、安達宏昭、
高野和文、松村浩由、村上聡、井上豪、森勇介（大阪大学、東京工業大学、創晶）
“キャビテーション挙動制御によるフェムト秒レーザー誘起タンパク質結晶核発生技術
の高度化”
日本結晶学会年会、大阪大学コンベンションセンター、2010年12月3～5日
82. 石川沙枝、杉山成、富取秀行、新山真由美、廣瀬末果、東恭平、安達宏昭、
高野和文、村上聡、森勇介、井上豪、柏木敬子、五十嵐一衛、松村浩由（大阪大学、
東京工業大学、創晶）
“Structural and structure-based mutational analyses of the Escherichia coli spermidine
acetyltransferase”
BMB2010、神戸ポートアイランド、2010年12月7～10日
83. 石井さやか、多田敦朗、江口陽子、内海龍太郎、安達宏昭、松村浩由、高野和文、
村上聡、井上豪、森勇介、谷澤克行、岡島俊英（大阪大学、東京工業大学、創晶）
“Streptococcus mutans のバイオフィルム形成に関与する情報伝達タンパク質 LiaS の
X 線結晶構造とドメイン間相互作用の解析”
BMB2010、神戸ポートアイランド、2010年12月7～10日
84. 垣之内啓介、杉山成、丸山美帆子、村井良多、中村努、安達基泰、玉田太郎、
黒木良太、安達宏昭、高野和文、村上聡、井上豪、森勇介、松村浩由（大阪大学、
創晶、東京工業大学、JST、産総研、原研）

“大型タンパク質結晶の高効率育成技術の開発”

第 2 回 MLF シンポジウム、高エネルギー加速器研究機構 小林ホール（茨城県つくば市）

2011 年 1 月 17～18 日

85. 岡島俊英、石井さやか、多田敦朗、江口陽子、安達宏昭、松村浩由、高野和文、村上 聡、井上豪、森勇介、内海龍太郎、谷澤克行（大阪大学、東京工業大学、創晶）
“*Streptococcus mutans* のバイオフィルム形成に関与する細菌情報伝達タンパク質の X 線結晶構造解析”

日本農芸化学会 2011 年度大会、京都会館、2011 年 3 月 25～28 日（中止）

86. 松村浩由、杉山成、廣瀬未果、安達宏昭、高野和文、村上聡、森勇介、井上豪
“ハイドロゲルを用いた固相中タンパク質結晶化技術の開発”

日本農芸化学会 2011 年度大会、京都会館、2011 年 3 月 25～28 日（中止）

(4)知財出願

① 国内出願（5 件）

1. 発明の名称：粘着式ピンセット、粘着式ピンセット用部材、粒子の保持方法、粒子の解析方法および分析装置
発明者：安達宏昭、松村浩由、高野和文、村上聡、井上豪、森勇介、柴田和博、上野元信、山本浩司
出願人：有限会社シバタシステムサービス
出願日：2007 年 11 月 15 日
出願番号：特願 2007-296354
2. 発明の名称：結晶製造方法、凍結結晶製造方法、結晶構造解析方法、結晶化スクリーニング方法、結晶化スクリーニング装置
発明者：杉山成、安達宏昭、松村浩由、高野和文、村上聡、井上豪、森勇介
出願人：株式会社創晶
出願日：2008 年 1 月 17 日
出願番号：特願 2008-008561
3. 発明の名称：目的物質移行方法、結晶製造方法、組成物製造方法、目的物質移行装置
発明者：森勇介、井上豪、高野和文、松村浩由、安達宏昭、村上聡、杉山成、村井良多、倉田将輝
出願人：国立大学法人大阪大学
出願日：2011 年 1 月 18 日
出願番号：特願 2011-008320

② 海外出願（2 件）

1. 発明の名称：粘着式ピンセット、粘着式ピンセット用部材、粒子の保持方法、粒子の解析方法および分析装置
発明者：安達宏昭、松村浩由、高野和文、村上聡、井上豪、森勇介、柴田和博、上野元信、山本浩司
出願人：有限会社シバタシステムサービス
出願日：2008 年 7 月 31 日
出願番号：PCT/JP2008/063760

出願国：PCT

2. 発明の名称：結晶製造方法、凍結結晶製造方法、結晶構造解析方法、結晶化スクリーニング方法、結晶化スクリーニング装置

発明者：杉山成、安達宏昭、松村浩由、高野和文、村上聡、井上豪、森勇介

出願人：株式会社創晶

出願日：2009 年 1 月 17 日

出願番号：PCT/JP2009/050592

出願国：PCT

③その他の知的財産権

特になし。

(5)受賞・報道等

①受賞

1. 佐々木孝友、森勇介、増原宏、細川陽一郎（大阪大学）
第 21 回 櫻井健二郎氏記念賞 「フェムト秒レーザー照射によるタンパク質の結晶化技術」、
2. 佐々木孝友、森勇介、井上豪、高野和文、村上聡、安達宏昭（大阪大学、創晶）
第 16 回（2006 年度）日経 BP 社主催 日経 BP 技術賞、大賞
「フェムト秒レーザーを使ったたんぱく質結晶化技術」
2006 年 4 月
3. 森勇介、高野和文、安達宏昭（大阪大学、創晶）
第 4 回産学官連携功労者表彰 科学技術政策担当大臣賞
「タンパク質の結晶化技術の開発」
2006 年 6 月
4. 安達宏昭、新納愛、松村浩由、高野和文、村上聡、井上豪、森勇介
（大阪大学、創晶）
第 20 回（2006 年度）独創性を拓く 先端技術大賞 特別賞
「新規タンパク質結晶化法の開発～若手異分野連携が産む逆転の発想～」
2006 年 7 月
5. 森勇介、高野和文、井上豪、村上聡、松村浩由、佐々木孝友、牧祥、北谷友也、
吉川洋史、安達宏昭、熊倉三重子、辻丸光一郎、上田良樹、草場信仁
（大阪大学、創晶、辻丸国際特許事務所、三菱商事株式会社）
2006 年日刊工業新聞社主催 第 1 回モノづくり連携大賞、特別賞、
「異分野連携による革新的タンパク質結晶化技術開発と大学発ベンチャー起業」
2006 年 10 月
6. 吉川洋史（大阪大学）
第 36 回結晶成長国内会議講演奨励賞
「タンパク質結晶のフェムト秒レーザーアブレーションによる単結晶成長誘導」
2006 年 11 月
7. 村上聡（大阪大学）
平成 19 年度科学技術分野の文部科学大臣表彰 科学技術賞（若手科学者賞）

- 「多剤排出蛋白質の結晶構造に基づく作動メカニズムの研究」
2007 年 4 月
8. 株式会社創晶
フジサンケイビジネスアイ主催第 5 回日本バイオベンチャー大賞「大阪科学機器協会賞」
「フェムト秒レーザーを用いたタンパク質結晶化率向上の研究」
2007 年 9 月
9. 松村浩由（大阪大学）
日本結晶学会 2007 年度年会 平成 19 年度進歩賞
「二酸化炭素固定酵素の X 線構造解析による構造-機能相関の解明」
2007 年 12 月
10. 安達宏昭、松村浩由、高野和文、村上聡、井上豪、森勇介（大阪大学、創晶）
デジタルニューデイル研究所（DND 研究所）主催
DND Entrepreneur of the year 2007 「フロンランナー賞」
2007 年 12 月
11. 森勇介、高野和文、安達宏昭、井上豪、松村浩由（大阪大学、創晶）
文部科学省 平成20年度科学技術分野の文部科学大臣表彰「科学技術賞（研究部門）」
「高精度構造解析用革新的タンパク質結晶化と加工技術の研究」 2008 年 4 月
12. 安達宏昭、森勇介、佐々木孝友、高野和文（大阪大学、創晶）
日本結晶成長学会 第15回技術賞
「タンパク質の新しい結晶成長技術の開発」 2008 年 11 月
13. 高野和文(大阪大学)、シバタシステムサービス
2009 年 第21回 中小企業優秀新技術・新製品賞「産学官連携特別賞」
「粘着式ピンセットによる結晶保持技術」
14. Shigeru Sugiyama (Osaka University)
The 13th International Conference on the Crystallization of Biological Macromolecules
Poster Prize “Protein Crystallization in Agarose Gel with High Strength”
September, 2010
15. 安達宏昭、松村浩由、国宗範彰（大阪大学、創晶、株式会社クニムネ）
第 2 回ひがしんビジネス大賞 特別賞
「タンパク質結晶化新規セル」
16. 高野 和文（大阪大学）
丸文財団 平成 22 年度丸文研究奨励賞
「レーザーを用いたタンパク質結晶化・加工技術の開発」
17. 松村浩由、杉山成、廣瀬未果、安達宏昭、高野和文、村上聡、森勇介、井上豪（大阪大学、創晶、東京工業大学）
日本農芸化学会 2011 年度大会 トピックス賞
「ハイドロゲルを用いた固相中タンパク質結晶化技術の開発」

②マスコミ(新聞・TV等)報道

1. 2005 年 11 月 9 日 読売新聞
たんぱく質 生命をかたちづくるもの 第Ⅳ部 解析の最難関結晶作製に新技法 成功率
25%→71% 期間半年→2 日 “非常識”かくはんで達成
2. 2005 年 11 月 16 日 読売新聞
アルツハイマー病 治療に光 阪大グループ、世界初
3. 2005 年 11 月 14 日 日刊工業新聞 科学・開学技術
アルツハイマー病の原因たんぱく質 結晶構造の一部決定 阪大 アミロイド組織化解明
阻害剤開発に期待
4. 2006 年 3 月 17 日 日本経済新聞
阪大などに大賞 日経BP技術賞
5. 2006 年 06 月 05 日 (月) 日刊工業新聞
第 4 回産学官功労者決定
6. 2006 年 06 月 07 日 (水) フジサンケイ ビジネスアイ
「第 20 回独創性を拓く 先端技術大賞」の受賞者決定
7. 2006 年 08 月 17 日 (木) 日経産業新聞
細菌の耐性原因たんぱく 立体構造を解明
8. 2006 年 09 月 29 日 (金) 日刊工業新聞
第 1 回モノづくり連携大賞の受賞案件が決定
9. 2006 年 10 月 12 日 (木) Nature 日本版
タンパク質構造解析ツール/受託サービス
10. 2006 年 11 月 15 日 (水) イグザミナ
常識覆す結晶化技術で独走「創晶」
11. 2006 年 12 月 01 日 (金) 日刊工業新聞
産学官をつなぐモノづくり連携大賞受賞例から<7>
12. 2007 年 06 月 04 日 (月) 日本経済新聞
ニキビ菌の酵素を発見
13. 2007 年 09 月 12 日 (水) フジサンケイビジネスアイ
第 5 回日本バイオベンチャー大賞の受賞企業決まる
14. 2007 年 11 月 28 日 (水) 日刊工業新聞
溶液中のたんぱく質結晶を粘着剤で容易に取り出し
15. 2007 年 10 月 23 日 (火) 日刊工業新聞
【社説】異分野の連携
16. 2007 年 10 月 29 日 (月) 日刊工業新聞
溶液の結晶化で新手法

17. 2007 年 11 月 28 日 (水) 日刊工業新聞
大阪大学創晶プロジェクト
18. 2007 年 12 月 19 日 (水) 日経産業新聞
結晶簡単キャッチーペン型器具開発ー
19. 2008 年 01 月 31 日 (木) 日刊工業新聞
溶液中たんぱく質の結晶摘出
20. 2008 年 02 月 21 日 (木) 日刊工業新聞
HIV 由来のたんぱく質分解酵素 1mm 角の大型結晶作製
21. 2008 年 03 月 23 日 (日) 朝日新聞
大阪力！part3ー続・バイオ
22. 2008 年 3 月 26 日 (水) 日刊工業新聞
粘着剤で取り出しーたんぱく質結晶回折精度向上に助け
23. 2008 年 4 月 23 日 (水) 日刊工業新聞
過酸化水素の無害化反応 硫黄含む中間体を形成
24. 2008 年 5 月 15 日 (木) 産経新聞
非常識が生んだタンパク質結晶化技術
25. 2008 年 5 月 23 日 (金) 日刊工業新聞
30 種の有機溶媒対応 有機低分子結晶取り出し器具
26. 2008 年 9 月 10 日 (水) 日刊工業新聞
溶液中結晶に粘着
27. 2008 年 9 月 29 日 (月) 日刊工業新聞
阻害剤開発を推進
28. 2008 年 10 月 16 日 (木) 日刊工業新聞
溶液中の結晶取り出し器具 ガラス製 微細対応
29. 2009 年 4 月 15 日 日本経済新聞
タンパク質研究で組織
30. 2009 年 4 月 16 日 日刊工業新聞
創薬企業の連携支援
31. 2009 年 4 月 27 日 日刊工業新聞
たんぱく質・有機低分子結晶を取り出す「クリスタルキャッチャー」
32. 2009 年 7 月 7 日 日刊工業新聞
創晶ー創薬支える結晶化技術、低分子化合物でニーズ
33. 2009 年 7 月 17 日 日刊工業新聞
タンパク質結晶化技術 米製薬大手と実証試験 -阪大発 VB 創晶 国際展開の試金石

34. 2009 年 7 月 28 日 日刊工業新聞
創薬支援でローリスク
35. 2009 年 9 月 17 日 日刊工業新聞
関西のバイオテクノロジー「創晶」
36. 2009 年 12 月 21 日 朝日新聞
「大学発ベンチャー」の記事中で成功例として紹介
37. 2010 年 3 月 12 日 日刊工業新聞
阪大発 VB の創晶、創薬支援サービス強化
38. 2010 年 3 月 30 日 日刊工業新聞
結晶化を総合支援－創晶
39. 2010 年 7 月 28 日 日刊工業新聞
CVG 受賞者 大阪で OB 会
40. 2010 年 7 月 30 日 日刊工業新聞
RNA と標的分子 電気的引力使わず結合 新たな仕組み解明
41. 2010 年 8 月 3 日 日経産業新聞
RNA アプタマーとたんぱく質 結合の仕組み解明
42. 2010 年 8 月 13 日 朝日新聞
RNA、医薬応用の可能性拡大
43. 2010 年 8 月 17 日 読売新聞
がん阻害分子 働く範囲拡大
44. 2010 年 9 月 13 日 科学新聞
RNA アプタマーが標的分子を捕らえる仕組み－阪大、東大などのグループ発見－
45. 2010 年 11 月 22 日 日刊工業新聞
多剤耐性菌 薬剤細胞外排出
46. 2011 年 2 月 16 日 日本経済新聞
大阪の産学官 海外製薬企業と商談会

③その他
特になし。

(6)成果展開事例

①実用化に向けての展開

- ・ 本研究成果は、(株)創晶にて実用化を目指す。
- ・ クリスタルキャッチャーを(株)創晶から実用化した。

§ 6 研究期間中の主なワークショップ、シンポジウム、アウトリーチ等の活動

特になし。

§ 7 結び

研究開始当初は、①フェムト秒レーザー照射による低過飽和度状態での結晶核発生の誘導、②溶液攪拌技術による高品質結晶育成、という新しい結晶化方法の原理が全く分からず、またどのようなタンパク質に有効なのか、汎用技術として広く一般化できるのか、全く分かりませんでした。5年半の研究開発によって、これらの新しい結晶化技術の原理解明と高度化、各種難結晶化タンパク質・有機低分子化合物の構造解析を実現できましたことから、当初の予想以上の成果が得られたのではないかと考えています。

構造ゲノム科学研究や創薬分野の進展に伴い、より難結晶化タンパク質・有機低分子化合物の結晶化が問題として一層残存していくと思われますので、今後も本研究内容の継続実施により、他には追随できない高度で汎用的な難結晶化材料結晶化技術の創出を目指します。また開発した技術は創品にて実用化することで、社会へ還元したいと考えております。

本プロジェクトの結晶化という研究内容は、装置を開発・購入すれば出来るというものではありませんので、優秀な人材を多く雇用し、連携を図ることが重要となります。電気系から化学、バイオ系まで幅広い人材が同じ部屋で一緒に研究を進める体制を構築し、さらに、数多くの研究報告会(毎月1回)とランチミーティング(毎週1回)を実施することで、情報共有と連携体制の強化に努めました。また、研究費と致しましては、結果的に人件費の割合が多くなりましたが、お陰様で多くの難結晶化タンパク質の構造解析に成功いたしました。追加予算では、高速度カメラを購入でき、この装置によってレーザー照射により発生したキャビテーションの挙動が解明され、フェムト秒レーザー照射による結晶核発生技術の原理解明と高度化が実現できました。このように本プロジェクトでは、予算を有効に活用できたのではないかと考えております。

本プロジェクト開始当初は、大学教員のメンバー5名は准教授、助教でしたが、本プロジェクトの成果もあり、教授に3名、准教授に1名が昇進いたしました。また、若く優秀な特任研究員の方々を多く雇用できたことが本CRESTチームの特長であり、若いメンバーが協力しあってプロジェクトを推進する間に、恋が芽生え結婚に至るケースもありました。そして、写真にもありますように、プロジェクト期間中に、何名かのメンバーの家庭に新しい命の誕生もありました。メンバー一同にとって、本CRESTプロジェクトは、研究者としての青春時代を過ごした生涯の思い出となるものになりました。このような貴重な機会を賜りましたことに厚く御礼申し上げます。

※メンバーの集合写真、実験室や研究設備のスナップ写真、新しい命の写真を最終項に添付いたします。

