

「医療に向けた化学・生物系分子を利用したバイオ素子・システムの創製」  
平成16年度採択研究代表者

由良 敬

(日本原子力研究所計算科学技術推進センター 副主任研究員)

### 「低分解能生体超分子像からの原子構造構築技法」

#### 1. 研究実施の概要

ナノバイオテクノロジーの基礎となるデータは、タンパク質の非常に大きな複合体（生体超分子）構造データである。生体中で実際に機能しているタンパク質は生体超分子を構成しており、その動作原理を理解するには立体構造が不可欠である。現在、生体超分子の構造を明らかにするには電子顕微鏡が広く用いられている。しかし電子顕微鏡像による解析では、一般には原子レベルの解像度を得ることはむずかしい。原子解像度で立体構造を解明できるX線結晶解析を用いると、生体超分子の構造決定は分子の大きさゆえに困難である。このような状況においてなすべきことは、生体超分子を構成するタンパク質（要素タンパク質）の立体構造をX線結晶解析によって原子分解能で明らかにし、電子顕微鏡でえられている生体超分子全体構造像に各要素タンパク質をあてはめることで、生体超分子の原子分解能構造を作り出す計算機手法を開発することと考えられる。

本研究課題では、電子顕微鏡による生体超分子像と生体超分子を構成する要素タンパク質のX線結晶解析像に、要素タンパク質の構造変化を考慮するための分子動力学シミュレーション、要素タンパク質間の界面を推定するためのバイオインフォマティクス、要素タンパク質の特性を生かした電子顕微鏡像への当てはめ技法などを導入することで、精度よい生体超分子の高解像度構造をえることを目指して研究を開始した。本研究チームには、コンピュータによる手法開発チームと、開発した手法と実データを用いて原子解像度の超分子立体構造を導出するチームがある。このことによって、開発チームが技法のプロトタイプを完成した段階で、すぐに実問題に技法を適用し、その問題点を明らかにするとともに、技法を向上できる体制を持つことができている。

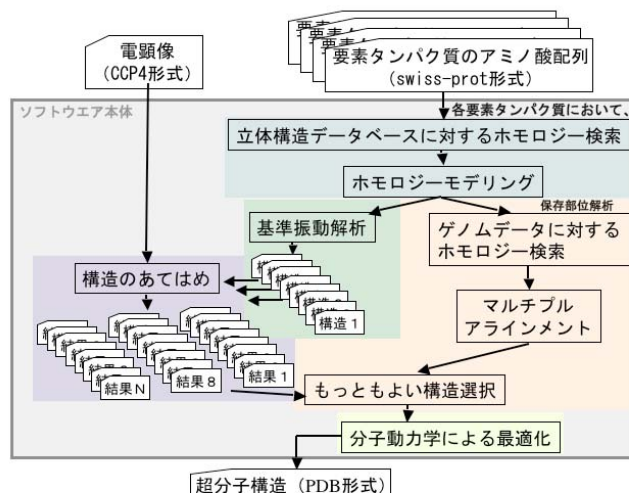
研究第1年度にあたる平成16年度下期においては、上記各手法の開発を開始した段階であり、平成17年度中のプロトタイプ完成と試行を目指している。

#### 2. 研究実施内容

本研究チームには、電子顕微鏡によって得られる低分解能の生体超分子像に、X線結晶解析で得られる要素タンパク質の高分解能像をあてはめる技法を開発するメンバーと、開発された技法を実データに適用し実用に耐える技法であるかを検証するメンバーが存在す

る。研究第1年度にあたる平成16年度下期においては、平成17年度中のプロトタイプ完成を目指して、全メンバーによる議論ののちに開発すべき技法の細分化を立案し、技法開発メンバーによる各部分の開発を開始した。技法を検証するメンバーは、技法のテストを行うための電子顕微鏡像の測定を開始した。

電子顕微鏡でえられる生体超分子像から高分解能構造をえる方法の開発は、世界的にも活発になってきている。それらの研究を通して、少なくとも以下の2つの問題点が明らかになってきた。A) X線結晶解析で判明している要素タンパク質の立体構造と、生体超分子を構成している時の要素タンパク質の立体構造には、構造変化による違い



図：開発中の原子構造構築技法の考え方

がある場合があり、要素タンパク質をあてはめる場合に、タンパク質の構造変化を推定する必要がある。B) 電子顕微鏡像に要素タンパク質の構造をあてはめたときに、あてはめ結果を一意的に決定することができない。電子顕微鏡像の解像度によっては、要素タンパク質が実際の場所とまったく異なる場所にもあてはまることありえる。これら2つの問題点をできるだけ少なくし、より精度が高いと考えられる立体構造をえるために、我々のグループでは、あてはめ技法開発を以下の行程に細分化することとした。1) 要素タンパク質を電子顕微鏡像にあてはめる画像フィティング法の開発、2) 要素タンパク質の立体構造をえるためのホモロジーモデリング法の開発、3) ゲノム情報にもとづく要素タンパク質界面部位推定法の開発、4) 要素タンパク質の生体超分子構成時の構造変化を推定するための基準振動解析法の開発、5) できあがった生体超分子構造の分子動力学シミュレーションによる精密化法の開発(図参照)。A)の問題は、4)と5)による解決を目指し、B)の問題は分子進化などから得られるまったく別の知識(上記3)を導入することで、解決を目指す。さらに1)と2)に新規手法を導入することで、高精度の原子分解能生体超分子構造の導出を目指す。平成16年度下期においては、これらの計画のもとに各技法の開発を開始し、それぞれのプロトタイプ完成に向けて開発を進めた。

### 3. 研究実施体制

生体超分子バイオインフォマティクス研究グループ

① 研究分担グループ長：

由良 敬（日本原子力研究所計算科学技術推進センター、副主任研究員）

② 研究項目：

画像フィティング法、保存部位同定法、およびホモロジーモデリング法の開発

生体超分子シミュレーション研究グループ

① 研究分担グループ長：

石田 恒（日本原子力研究所中性子利用研究センター、研究員）

② 研究項目：

基準振動解析法、およびあてはめ構造の精密化法の開発

生体超分子電子顕微鏡像測定研究グループ

① 研究分担グループ長：

岩崎憲治（大阪大学超高压電子顕微鏡センター、客員助教授）

② 研究項目：

実データ取得、および実データへのツール適用

#### 4. 主な研究成果の発表

(1) 論文発表

- O.T.P. Kim, K.Yura, N. Go and T. Harumoto. Newly sequenced eRF1s from ciliates: the diversity of stop codon usage and the molecular surfaces that are important for stop codon interactions. *Gene*, **346**, 277-286 (2005).