

伊藤 隆

首都大学東京大学院理工学研究科
教授

NMR と計算科学の融合による *in situ* 構造生物学の確立と
真核細胞内蛋白質の動態研究への応用

§ 1. 研究実施体制

(1)「伊藤」グループ

- ① 研究代表者:伊藤 隆 (首都大学東京大学院理工学研究科、教授)
- ② 研究項目
 - ・NMR 測定法とデータ処理法の開発・最適化
 - ・In-cell NMR のための常磁性 NMR 測定法の確立
 - ・In-cell NMR に最適化した部位特異的安定同位体標識蛋白質の調製
 - ・細胞内蛋白質の効率的な構造情報取得法と構造決定法の開発

(2)「木川」グループ

- ① 主たる共同研究者:木川 隆則 (理化学研究所生命システム研究センター、チームリーダー)
- ② 研究項目
 - ・選択的アミノ酸標識と 3 重共鳴 2D NMR を用いた、蛋白質主鎖・側鎖シグナル帰属法の開発
 - ・迅速な多次元 NMR 測定, および精度の高いデータ処理技術の開発
 - ・In-cell NMR に最適化した部位特異的安定同位体標識蛋白質の調製

(3)「杉田」グループ

- ① 主たる共同研究者:杉田 有治(理化学研究所杉田理論分子科学研究室、主任研究員)
- ② 研究項目
 - ・分子動力学シミュレーションを用いた細胞内蛋白質の動態の解析

- 新しい拡張アンサンブル法の開発による NMR 情報を練り込んだ構造探索
- 分子クラウド系への拡張アンサンブル法の導入

§ 2. 研究実施の概要

本研究では、真核細胞内における蛋白質の立体構造、ダイナミクス、相互作用等を高分解能で解析することができる、NMR および計算科学を融合した研究開発を推進する。

具体的な研究内容は、①in-cell NMR を用いた真核細胞内蛋白質の立体構造解析法の確立とその応用、②計算科学的手法を用いた細胞内蛋白質の動態解析、および、①と②を総合した、③細胞内蛋白質の動態の普遍的な理解とその応用研究、の3つに大別される。

H28の研究実施概要は以下の通りである。

上記①の研究内容のうち、「選択的アミノ酸標識と3重共鳴2D NMRを用いた、蛋白質シグナル帰属法の開発」については、木川グループの「符号化標識法」を実際のin-cell NMRデータに適用し、シグナル密集領域においても比較的短時間で帰属の取得が可能であることを実証した。

「In-cell NMRのための新規ランタノイド結合タグの合成と導入技術の開発」では、非天然型アミノ酸の導入とclick chemistryの利用によって蛋白質と結合させる新規タグの合成に取り組んだ。

「細胞内蛋白質の効率的な構造情報取得法と構造決定法の開発」では、ベイズ統計を利用した立体構造計算法[1]をSf9内蛋白質の立体構造解析に適用した結果、真核細胞内の蛋白質としては世界で初めて、高分解能な立体構造の決定に成功した。

「真核細胞内蛋白質の構造生物学的解析」では、 ^{19}F -標識RasをHeLa細胞に導入しin-cell NMR解析を行った結果、蛋白質が細胞膜に局在した状態でのin-cell NMR信号の観測に初めて成功し、かつ細胞内における蛋白質ライフサイクルの一端を観測することにも成功した。

上記②の研究のうち、「新しい拡張アンサンブル法によるNMR情報を繰り込んだ構造探索」については、新しく開発したReplica State Exchange Metadynamicsを用いることで、生体高分子の全体構造の動的な構造変化を計算で予測することに成功した。

「分子クラウディング系への拡張アンサンブル法の導入」については、水分子とアミノ酸の相互作用を修正することで、NMRで観測した回転拡散運動を計算で定量的に再現することに成功した。

「細胞環境を含む系への拡張アンサンブル法の導入」については、現実に近い系として細胞内の蛋白質濃度などを再現した巨大分子系の全原子モデルを構築して、その場での蛋白質の動態を解析することに成功した(図)[2]。また、NMR情報を繰り込んだ拡張アンサンブル法に基づく計算も実施した。



図. 原核細胞の細胞質の全原子モデル.

上記③の研究については、「蛋白質の細胞内動態の予測と実証」、「細胞内の特定の生命現象全体の実データおよびシミュレーションによる理解」の2つのサブテーマについて研究を進めた。

[1] Ikeya, T. et al. "In-cell structure determination of proteins at near-physiological concentration" *Sci. Rep.* **6**, 38312 (2016).

[2] Yu, I. et al. "Biomolecular interactions modulate macromolecular structure and dynamics in atomistic model of a bacterial cytoplasm" *eLife* **5**, e19274 (2016).