

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
  - ・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 (独立行政法人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
  - ・Nonlinear sampling による迅速な多次元 NMR 測定, および精度の高いデータ処理技術の開発

### (3)「杉田」グループ

- ① 主たる共同研究者:杉田 有治(独立行政法人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 情報を繰り込んだ構造探索
- ・分子クラウディング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。これにより、蛋白質が実際に機能している場における真の姿に迫る「*in situ* 構造生物学」の創設を目指す。

具体的な研究内容としては、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。H25 年度は①および②について研究を行った。

①の「in-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」については、以下の 4 つのサブテーマについて研究を行った。

まず、「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」については、木川グループの「符号化標識法」を進化させた新手法の確立に着手した。In-cell NMR 解析では、試験管内データに比べて「品質が著しく劣るデータ」の取り扱いを余儀なくされる。従来の「符号化標識法」に加えて、解析の誤り検出・訂正情報を与える「符号」の役割を果たす標識パターンを導入した結果、解析の正解率の顕著な上昇が見られた。これにより、in-cell NMR データに適用した際のこの手法の有効性が示された。

In-cell NMR においては迅速な多次元 NMR 測定法や、測定法に対応したデータ処理が必要になる。「nonlinear sampling による迅速な多次元 NMR 測定、および精度の高いデータ処理技術の開発」においては、伊藤グループや木川グループが開発を進めている次世代データ処理法について、観測データサイズの縮小程度やサンプリング・パターンと、再構成されたスペクトルの再現性の相関を検証した。その結果、従来法の 1/8 程度以下に縮小した in-cell NMR データについても、良好な再現性でスペクトルを構築可能であることが示された。

真核細胞内蛋白質の構造情報取得のために、「in-cell NMR のための常磁性 NMR 測定法の確立」に着手した。モデル試料を用いて常磁性 NMR スペクトルの測定を行うとともに、ランタノイドイオンと高い親和性を持つ新規分子プローブを用いた実験を開始した。さらに、「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」に着手し、常磁性 NMR データを用いて、従来法よりも確度の低い少ない情報から正確な細胞内蛋白質の立体構造を算出する方法を検討した。

②の「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」については 2 つのサブテーマで研究を行った。

「新しい拡張アンサンブル法の開発による NMR 情報を繰り込んだ構造探索」では、細胞内クラウディング環境で蛋白質ダイナミクスの効率的な探索を行うことのできる計算手法として、レプリカ交換法とメタダイナミクス法を組み合わせた新しい手法の開発を行った。検証を行った結果、この新しい手法によって構造探索の効率が顕著に改善された事を確認した。

細胞内クラウド環境などの大規模なシステムについて計算を行うためには、ソフトウェアの改良が不可欠である。「分子クラウド系への拡張アンサンブル法の導入」については、前項で開発した効率の良いシミュレーション手法を、杉田グループで開発した、並列化された分子動力学ソフトウェアに組み込む準備を行った。

### § 3. 成果発表等

#### (3-1) 原著論文発表

##### 論文詳細情報(国内)

該当なし

##### 論文詳細情報(国際)

該当なし