

【基盤研究(S)】

大区分B



研究課題名 新世代中性子構造生物学の開拓

京都大学・複合原子力科学研究所・教授

すぎやま まさあき
杉山 正明

研究課題番号：18H05229 研究者番号：10253395

キーワード：蛋白質ダイナミクス、中性子散乱、重水素化、計算機シミュレーション

【研究の背景・目的】

近年、蛋白質をはじめとする生体高分子の機能解明のために静的な構造解析に加えダイナミクスの理解の必要性が高まっている。そこで、図1に典型的なマルチドメイン蛋白質(MurD)を例にとり、その構造とダイナミクスの相関を示してみる。まず図1(上)によく知られた蛋白質の階層的構造として、構造単位である「アミノ酸」($10^{11}\text{ m}\cdot 10^{-10}\text{ m}$)、3次元の構造単位である「ドメイン」($10^{10}\text{ m}\cdot 10^{-9}\text{ m}$)、ドメインが連結した「全体構造」($10^9\text{ m}\cdot 10^{-8}\text{ m}$)、全体構造に他の分子や蛋白質が結合した「会合体」($>10^8\text{ m}$)を示す。次に、各構造に対応するダイナミクスの時間スケールを図1(下)の時空間マップに投影すると、アミノ酸の運動は主として $10^{-15}\text{ s}\cdot 10^{-12}\text{ s}$ (ゾーンI)、ドメインの運動は $10^{-12}\text{ s}\cdot 10^{-9}\text{ s}$ (ゾーンII)、ドメイン間の共同運動は $10^{-9}\text{ s}\cdot 10^{-6}\text{ s}$ (ゾーンIII)、蛋白質や分子と解離会合は $<10^{-6}\text{ s}$ (ゾーンIV)に存在する。

各階層での運動は分子動力学計算により予測されているが、対応する実験手法をみるとゾーンI・ゾーンIVでは種々の測定法が存在するが、ゾーンII・ゾーンIIIではダイナミクスを測定する手法がほとんど存在していない。したがって、この領域は測定上の「ミッシングゾーン」となっており、測定手法を確立させることが重要な課題となっている。

中性子分光法はこのミッシングゾーンをカバーする手法であるが、これまでは中性子ビーム強度不足により溶液中の蛋白質のダイナミクスの測定には一部の系を除き実用的な測定手法とはなり得なかった。一方、今世紀に入りJ-PRACをはじめとする高強度中性子源が建設され、そこに設置された分光器群を用いることで、ミッシングゾーンでのダイナミクスを直接測定することが可能になりつつある。

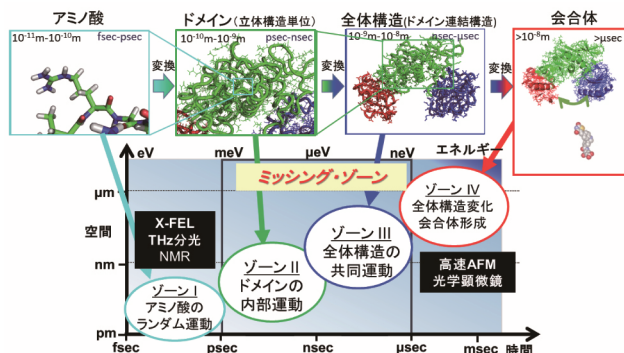


図1 マルチドメイン蛋白質における構造とダイナミクスの相関。(上)各階層の構造。(下)時空間マップにおける各階層のダイナミクス。蛋白質はMurD。

本研究では、これらの最新鋭の中性子分光器を駆使する測定・解析手法を開発し、ミッシングゾーンの蛋白質ダイナミクスの解析プロトコルを確立する。この成果をもとに、種々の蛋白質の階層間連携ダイナミクスの解明を目指す。

【研究の方法】

本研究は測定・解析手法の「開発研究」と機能性蛋白質を対象とした「実証研究」の両輪で進める。

開発研究では「高度試料重水素化手法」・「最適測定手法」・「データ解析手法」の開発を行い、「中性子準弾性測定(QENS)法」「中性子スピネコー(NSE)法」「中性子小角散乱(SANS)法」を用いた測定と分子動力学計算と各測定データを協奏的に利用した解析によりミッシングゾーンでの溶液蛋白質ダイナミクスの解明法を確立する。

実証研究では固いコア領域が連結したマルチドメイン蛋白質としてMurD、柔らかな天然変性領域を持つ蛋白質としてHefに注目し、開発研究の成果を利用して研究を進め、順次対象蛋白質を拡大する。

【期待される成果と意義】

本研究ではモデル系を利用した手法開発を行うだけでなく実際の生物学的研究の要望に則って、実用的な測定・解析手法を構築する。その成果を多くの系に適用することで蛋白質科学における重要な課題の1つである「アミノ酸のランダムな熱運動がドメイン間の共同運動に変換される機構＝階層間連携ダイナミクス」が解明に向かうことが期待できる。

開発する実用的な手法はユーザーに広く開放する。このことで、我が国がJ-PARCを中心として中性子構造生物学における1大拠点となることが期待できる。また、本研究の分担・連携研究者の多くは若手研究者であり、彼らが今後の中性子構造生物学の中核となっていくことも期待できる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- P. Bernadó, M. Sugiyama, et al., BBA General Subjects, 1862 (2018) 253-274.
- R. Inoue, M. Sugiyama, et al., Sci. Rep., 6 (2016) 29208.

【研究期間と研究経費】

平成30年度－34年度
151,600千円

【ホームページ等】

<http://www.rri.kyoto-u.ac.jp/NSBNG>