

【新学術領域研究（研究領域提案型）】

複合領域



研究領域名 動的構造生命科学を拓く新発想測定技術 ータンパク質が動作する姿を活写するー

九州大学・生体防御医学研究所・教授

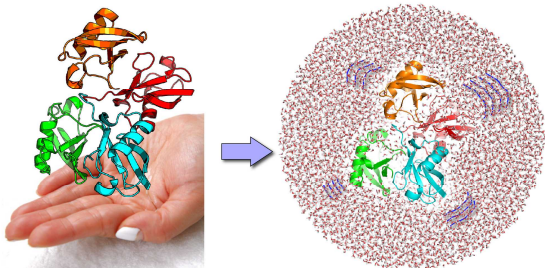
こうだ だいすけ
神田 大輔

研究課題番号：26119001 研究者番号：80186618

【本領域の目的】

タンパク質中のアミノ酸が並ぶ順番は遺伝子DNAが指定しています。長い生物進化におけるランダム変異と選択の結果、タンパク質は自発的に折れ畳んで一定の立体構造を持ち、センサー、触媒、モーター、そして構造体として極めて洗練された構造と機能を持つ分子機械となりました。

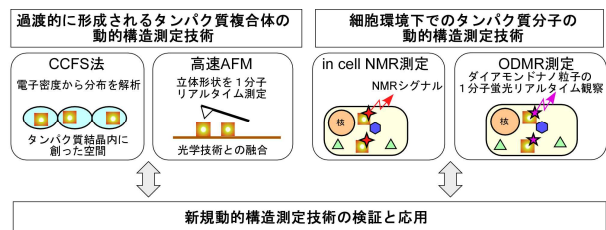
分子機械としてのタンパク質分子の機能を理解するには、立体構造を精密に決定することが必要です。得られた構造は基本的に静止画像ですが、紙芝居のように並べて説明することで、手のひらサイズの機械のように多くの事実を説明することができます。この方法が成功を収めたことから構造生物学という学問分野が生まれました。しかし、構造生物学の既存の測定手法は、タンパク質の形の時間変化に十分に対処できていません。そこで、本領域では、タンパク質分子が生きて動作している状態を働いている現場 (*in situ*) で活写する測定方法の開発を独創的な発想に基づいて行います。



マクロサイズの分子機械とみなす構造生物学から、働く現場における動的な姿を活写する動的構造生命科学への転換

【本領域の内容】

タンパク質分子の3次元の形の時間変化を知るには核磁気共鳴法 (NMR) と原子間力顕微鏡 (AFM) の2つの手法が適しています。しかし、NMRとAFMを含む従来の測定技術では、「平均と分布の問題」と「インビトロ測定問題」(キーワード参照)を克服することは難しいのが現状です。そこで、本領域では「AFM装置の高速化と光学技術の融合」と「タンパク質結晶内に隙間をつかって運動性解析を行う」課題に挑戦して、平均と分布の問題の原理的解決を目指します。また、試験管内の希薄溶液状態ではなく細胞環境などの現場において、タンパク質分子の動的構造変化を知る方法が必要です。「インセルNMRの手法の高度化」と「ダイヤモンドナノ粒子の蛍光測定と電子スピン共鳴法を組み合わせた光検出磁気共鳴 (ODMR) 測定法」を開発することで、「インビトロ測定問題」の解決を目指します。



新しい測定法は、まったく新しい結果を与えます。したがって、結果の正しさの検証を行う必要があります。そこで、計算機による分子動力学計算と比較して検証します。新測定手法を特定の課題に集中的に利用することで、測定手法の問題点や限界、潜在的な適用範囲を明らかにし、リスクの大きい革新的測定技術開発を短期間に達成することが可能になります。

【期待される成果と意義】

「タンパク質の形の3次元の動的変化の領域」において、日本発の独創的計測技術の開発と普及を図ることで、日本の生命科学研究力の強化を達成します。また、新測定技術を広く生物学の諸問題に適用することで、ブレイクスルーを促すような斬新な学問上の発見を期待できます。

【キーワード】

平均と分布の問題：安定状態は動きが小さく意味のある平均構造をつくることができます。ところが、動きが大きい状態では平均構造を作ると歪んでしまいます。したがって分布を正しく評価する方法が必要となります。1分子測定による統計も解決法の1つです。

インビトロ測定問題：試験管内のような人工的な環境における最安定構造と機能している現場である細胞内環境における活性型の構造が異なる可能性があります。原因として、他の分子との相互作用や分子クラウディング効果があります。解決には、細胞内にあるタンパク質の感度良い選択的な測定が鍵になります。

【研究期間と研究経費】

平成26年度ー30年度
1,171,000千円



**Title of Project : Novel measurement techniques for visualizing
'live' protein molecules at work**

Daisuke Kohda
(Kyushu University, Medical Institute of Bioregulation,
Professor)

Research Project Number : 26119001 Researcher Number : 80186618

【Purpose of the Research Project】

Genomic DNA encodes the amino acid sequences of proteins. In the evolution of life, random mutations and natural selection have made the proteins molecular machines that autonomously form stable tertiary structures, for their functions as catalysts, sensors, actuators, and scaffolds in organisms. The 3D structures determined by X-ray crystallography are inevitably static, but they provide convenient explanations of the protein functions, as if they were macro-scale machines.

However, most structural biological techniques cannot properly convey the dynamic aspects of protein structures. In this research program, we aim to develop innovative measurement techniques, to vividly describe protein structures at their sites of action (Fig. 1).

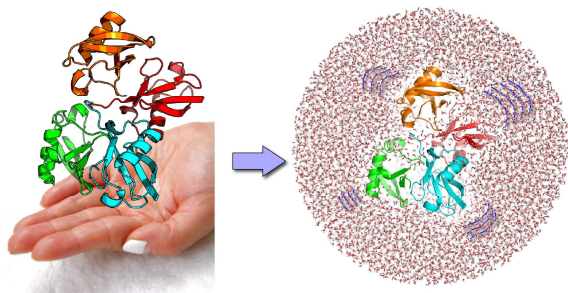


Figure 1: From a static view to a dynamic view.

【Content of the Research Project】

Nuclear magnetic resonance (NMR) and atomic force microscopy (AFM) are the methods of choice for characterizations of the time variations of protein structures. We must consider two fundamental problems, related to the "mean and distribution of motions" and the different structures between the "*in-vitro* and *in-situ* states" (See the Key Words section). We will solve the first problem by 1) "the integration of optical techniques into the high-speed AFM measurement" and 2) "the creation of crystal contact-free space in protein crystals" (Fig. 2). We will also address the second problem by 3) "the development of in-cell NMR measurement technology" and 4) "biologically-oriented application of optically detected magnetic resonance (ODMR), using nanodiamonds" (Fig. 2).

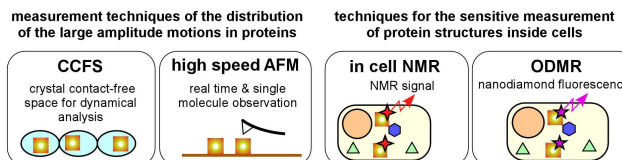


Figure 2: Measurement techniques for describing protein structures in action and on site.

Since new measurement techniques inevitably provide truly novel results, we will evaluate their precision by molecular dynamics simulations. We will also apply the new measurement techniques to specific biological targets to discover their potential applications and limitations, thus eventually accelerating the methodological development within a short time period.

【Expected Research Achievements and Scientific Significance】

The capabilities of Japanese life sciences research will be strengthened by developing innovative measurement techniques for protein dynamics. The applications of these novel techniques to a wide variety of biological problems will facilitate discoveries toward breakthroughs in life sciences.

【Key Words】

Problem of "mean and distribution of motions": Large motions give distorted mean structures. Therefore, the unbiased measurement of the distribution of motions is required.

Problem of "*in vitro* versus *in situ* states": A stable protein structure in a test tube and a biologically active structure in a cellular environment may differ, due to molecular crowding effects and interactions with other molecules.

【Term of Project】 FY2014-2018

【Budget Allocation】 1,171,000 Thousand Yen