

課題名 (タイトル) :

電子顕微鏡による単粒子解析

利用者氏名 :

○竹本 千重
横山 武司
加茂 友美
長内 隆
津田 健吾

理研での所属研究室名 : ライフサイエンス技術基盤研究センター 構造・合成生物学部門 タンパク質機能・構造研究チーム

1. 本課題の研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係

生命科学の分野において、生体高分子の複合体の高分解能構造情報を得ることは、それらの生理的機能や制御機構を知る上で重要である。クライオ電子顕微鏡解析は、NMR 解析や X 線結晶構造解析と並んで、そのための主要な手法のひとつである。近年、電子直接検出器の出現により、著しく感度と分解能が向上し、試料調製からデータ収集において、飛躍的なハイスループット化が進んだ。次は、いかに迅速にかつ取得したデータを有効に活用して、より精度の高い構造を得るかが重要な課題となってきた。昨年度は主に利用しているプログラム Relion の GPU 版をインストールして、GPU を搭載した研究室のローカルマシンとの比較を行ったが、現時点で求めている計算の精度や速度においては、研究室のローカルマシンでも遜色ない結果が得られている。しかし、データ取得や解析のプログラムの改良・新しいプログラムの開発も日進月歩であるため、引き続き HOKUSAI を利用できる環境を準備しておきたい。

一方、実験的に得られた高分解能の構造情報は、分子シミュレーションにより、生体内の環境に近い状態での反応機構の解析や、マルチドメインの動的構造解析に利用することができる。今回は、すでに準備されているプログラム AMBER を使って、初期エンドソームの制御因子である Rab5 をターゲットに、イオンの影響を調べた。Rab タンパク質は、メンブレントラフィックの制御に関わる低分子量 G タンパク質で、活性化状態である GTP 結合型と、不活性化状態である GDP 結合型で分子構造が変化し、分子スイッチとして機能す

ることが知られている。

2. 具体的な利用内容、計算方法

AMBER16 を用いて、Rab5 の構造に対するマグネシウムイオンの有無の影響を調べた。初期構造は既報の結晶構造(PDB ID: 1N6I, 分解能 1.6Å)をもとに MODELLER と AMBER により構築した。力場は ff99SBILDN を用いて、計算時間は 1 μs、温度は 298 K で cuda 版の pmemd を用いて分子動力学計算を実行した。

3. 結果

マグネシウムイオン存在下では、終始 Rab5 の構造に大きな変化は見られなかったのに対し、マグネシウムイオンが存在しない場合は、500 ns を超えた辺りでシート構造の一部が崩れ始め、ヘリックスの一部が外に張り出すという構造変化が現れた。

4. まとめ

マグネシウムイオンと GDP を含む構造と GDP のみ結合した構造をモデリングにより初期構造として構築して分子動力学計算を行い、マグネシウムイオンが無いと Rab5 の構造は不安定であることがわかった。

5. 今後の計画・展望

本計算で得られた運動性のデータと他の生化学実験等の結果とを比較して、Rab5 に対するマグネシウムイオンの影響について、統合的な知見を得たいと考えている。