

【研究費区分】：戦略的研究プロジェクト

【研究代表者所属】：理学研究科 化学専攻

【研究代表者氏名】：伊藤 隆

【研究代表者氏名フリガナ】：イトウ ユタカ

【研究代表者職】：教授

【国内研究分担者（所属,氏名,職）】

- ・東京都立大学大学院理学研究科, 池谷 鉄兵, 助教
- ・東京都立大学大学院理学研究科, 猪股 晃介, 特任准教授
- ・東京都立大学大学院理学研究科, 三島 正規, 准教授
- ・理化学研究所・生命機能科学研究センター, 木川 隆則, チームリーダー
- ・理化学研究所・杉田理論分子科学研究室, 杉田 有治, 主任研究員
- ・東北大学メディカルメガバンク, 小柴 生造, 教授
- ・東北大学大学院医学系研究科, 鈴木 隆史, 講師

【国外研究分担者（所属,氏名,職）】

- ・独フランクフルト大学, Peter Güntert, 教授
- ・英レスター大学, Geerten Vuister, 教授
- ・英レスター大学, 田仲 加代子, 講師
- ・英ケンブリッジ大学, Ernest Laue, 教授
- ・英ケンブリッジ大学, Daniel Nietlispach, 講師
- ・英グラスゴー大学, Brian Smith, 講師

【研究課題名】：医薬に資する *in situ* NMR 生命科学

【研究実績の概要】

本研究では、生細胞を試料として核磁気共鳴 (NMR) 測定を行う「*in-cell* NMR」を柱とした、医薬に資する「*in situ* (その場) 生命科学」の基盤・応用研究を展開している。国内外の研究グループとのネットワーク形成を推進するとともに、(a) 迅速で高感度な NMR 測定法, (b) 情報科学を駆使した自動解析技術, (c) 細胞試料を長時間測定するためのマイクロ培養技術, (d) 標的蛋白質の細胞内局在コントロール技術, (e) 複合体形成やドメイン間相

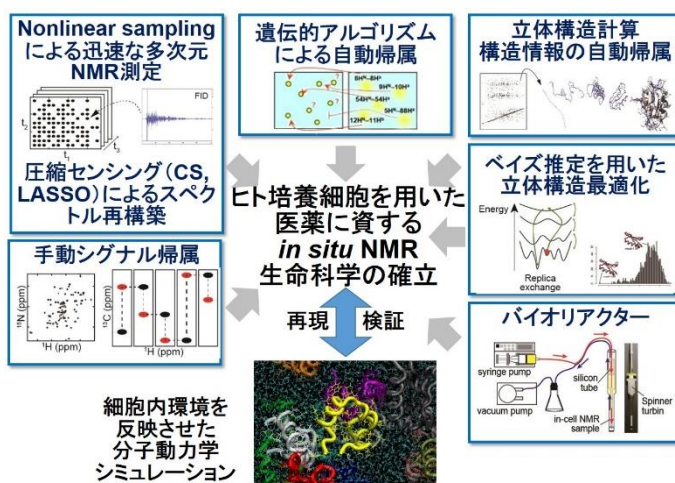


図 1. 本研究計画の概要.

対配置の解析法，の開発を行っている（図 1）．また，（f） ヒト培養細胞環境での薬剤スクリーニング，についても研究を進めている．

2020 年度は，当初計画のテーマ（a）～（c），（f） についてと，前倒し的に開始した（e） について研究を進め，以下のような興味深い結果が得られた．

（a） については，測定点をランダムに間引いた多次元 NMR データについて，圧縮センシングによる信号再構成法の開発を進め，良好な結果が得られた．（b） については，複数構造を仮定した multi-state 立体構造計算法の確立を行い，モデル試料について局所的に広い構造分布を持つアンサンブル構造を得ることに成功した（図 2）．（c） については，細胞固定法としてアルギン酸ゲルを採用した新たなバイオリクター装置を用いた研究を展開した．（d） については，NF- $\kappa$ B 経路に關与する linear diUb， および MAPK 経路に属する GRB2 の 2 種のモデル蛋白質について，常磁性効果に由来する長距離の構造情報（約 10~40 Å）を用いた立体構造解析に成功した．（e） については，酸化ストレス防御機構に重要な転写因子 Nrf2 とその制御因子 Keap1 の系を取り上げ，in-cell NMR 解析を試み，良好なスペクトルの取得に成功した．

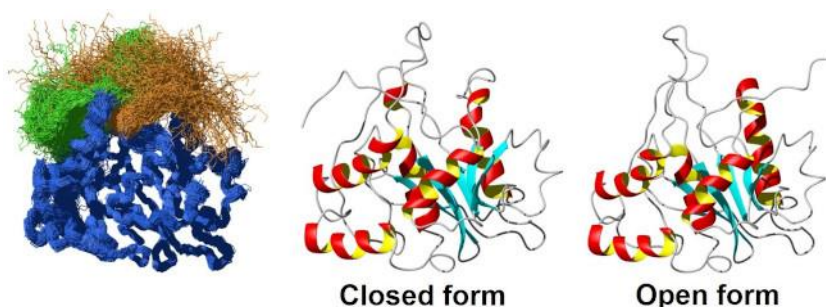


図 2. multi-state 立体構造解析で得られた YUH1 の最終構造のアンサンブル(左)．この中に含まれる，典型的な closed 型および open 型の構造を右側に示した．

#### 【学会発表（発表題目，発表大会名，年月）】

##### 【国際会議（招待）】

- Y. Ito: *29th International Conference on Magnetic Resonance in Biological Systems*, 23-28 August, 2020, USA (Boston, MA) [2 年延期]
- Y. Ito & T. Ikeya: "Solution NMR approaches to investigating protein behaviours under intracellular crowding environments". *The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2020* 15-16 December, 2020, USA (Honolulu, HA) [1 年延期]

##### 【国内会議（招待）】

- 池谷 鉄兵，伊藤 隆「複数の異なる NMR データの統合解析によるタンパク質 multi-state 立体構造解析」 第 58 回日本生物物理学会 最先端計測技術で拓く「生命金属科学」の新たなフロンティア 2020 年 9 月 16 日 [オンライン開催]

##### 【国内会議（口頭）】

- 三島 正規 「NMR studies on the protonation state of cyanobacteriochrome」 第 59 回 NMR 討論会，2020 年 11 月 17 日，G メッセ群馬
- 森岡 太一，岩橋 晴香，池谷 鉄兵，伊藤 隆，片山 秀和，降旗 一夫，永田 宏次，鈴木 道生 「アコヤガイ靱帯の石灰化に關わる有機物の機能・構造解析」 第 15 回バイオミネラルイノベーションワークショップ，2020 年 11 月 13 日 [オンライン開催]

##### 【国内会議（ポスター）】

- 鈴木 拓巳，田島 佳寿，川原 裕之，伊藤 隆，三島 正規 「Rab32 の NMR による解析」 第 59 回 NMR 討論会，2020 年 11 月 17-19 日，G メッセ群馬
- 小泉 太貴，会津 貴大，宮ノ入 洋平，伊藤 隆，広瀬 侑，三島 正規 「光受容タンパク質 GAF ドメインにおける発色団のプロトン化状態の解析」 第 59 回 NMR 討論会，2020 年 11 月 17-19 日，

## G メッセ群馬

- 渡邊 吏輝, プバティ マキシシ サイーシュ, 末元 雄介, 木川 隆則, 三島 正規, 猪股 晃介, 池谷 鉄兵, 伊藤 隆 「NMR を用いたアダプター蛋白質 Drk の動態解析」 第 59 回 NMR 討論会, 2020 年 11 月 17-19 日, G メッセ群馬
- 中島 弘稀, 若松 馨, 伊藤 隆, 三島 正規 「NDSB の添加によるユビキチン分子内の水素結合への影響」 第 59 回 NMR 討論会, 2020 年 11 月 17-19 日, G メッセ群馬
- 田端 真彩子, 池谷 鉄兵, 美川 務, 川端 庸平, 安藤 考史, 館野 桂太, 三島正規, 伊藤 隆 「PRE, PCS を用いたマルチドメイン蛋白質 Grb2 の立体構造解析」 第 59 回 NMR 討論会, 2020 年 11 月 17-19 日, G メッセ群馬
- H. Nakajima, T. Koizumi, M. Uuno, M. Mishima “Quantitative analysis of J value via hydrogen bonds” 第 58 回日本生物物理学会 2020 年 9 月 16-18 日 [オンライン開催]
- T. Koizumi, T. Aizu, T. Nagae, Y. Hirose, M. Mishima “Structural study of a GAF domain of photosensor protein from Cyanobacteria” 第 58 回日本生物物理学会 2020 年 9 月 16-18 日 [オンライン開催]

## 【論文発表又は著書発行（発表題目、著者、発表誌又は出版社、年月）】

- \* Nishida, N., Ito, Y. & Shimada, I. “In situ structural biology using in-cell NMR” *Biochem. Biophys. Acta Gen. Subj.* **1864**, 129364 (2020).
- \* Sugiki, T., Yamaguchi, Y., Fujiwara, T., Inouye, M., Ito, Y. & Kojima, C. “In-cell NMR as a sensitive tool to monitor physiological condition of Escherichia coli.” *Sci. Rep.* **10**, 2466 (2020).
- \* Murase, K., Moriwaki, Y., Mori, T., Liu, X., Masaka, C., Takada, Y., Maesaki, R., Mishima, M., Fujii, S., Hirano, Y., Kawabe, Z., Nagata, K., Terada, T., Suzuki, G., Watanabe, M., Shimizu, K., Hakoshima, T. & Takayama, S.: “Mechanism of self/nonself-discrimination in Brassica self-incompatibility” *Nat. Commun.* **11**, 4916 (2020)

## 【外部資金への応募状況】

- 2020 年度はなし.

## 【科学研究費助成事業や国等の提案公募型研究費、企業からの受託研究費・共同研究費の獲得状況】

- 科学研究費, 新学術領域研究「公募研究」(2019~2023), 「生命金属動態解析を可能とする in-cell NMR による金属タンパク質研究」, 研究代表者
- 科学研究費, 基盤研究 (S) (2019~2023), 「マルチスケール分子動力学シミュレーションによる細胞内分子動態の解明 (代表: 杉田有治)」, 研究分担者
- 科学研究費, 基盤研究 (C) (2020~2021), 「Use of contact prediction-based restraints for protein structure determination from sparse NMR data (代表: Peter Güntert)」, 研究分担者

## 【受賞等】

- 伊藤 隆: 東京都立大学 「先導研究者」の称号付与 2020 年 4 月 1 日

### 【その他社会貢献】

[公的審議会・委員会等の公的貢献, 生涯学習支援・普及啓発, 国際貢献・国際交流等]

- 日本核磁気共鳴学会, 評議員 (任期: 2019年4月1日—2021年3月31日)
- 日本核磁気共鳴学会, 理事 (任期: 2019年4月1日—2021年3月31日)
- 科学技術振興機構, 戦略的創造研究推進事業 (CREST), 研究領域「計測技術と高度情報処理の融合によるインテリジェント計測・解析手法の開発と応用」, 領域アドバイザー (任期: 2016年度～)
- ISMAR-APNMR-NMRSJ-SEST2021 合同会議, プログラム委員

### 【研究成果による特許等の産業財産権の出願・取得状況】

- なし.

### 【研究分担額】

(研究代表者・分担者名,所属,金額 (円))

- 伊藤 隆, 東京都立大学理学研究科, 15,000,000 円