

## 事後評価報告書（日英研究交流）

1. 研究課題名：単一受容体タンパク質の動的構造変化と機能の相関

2. 研究代表者名：

2-1. 日本側研究代表者：鳥光 慶一（日本電信電話株式会社 物性科学基礎研究所 機能物質科学研究部 部長）

2-2. 英国側研究代表者：John Ryan (Bionanotechnology IRC & Dept. of Physics, Univ. of Oxford 教授 研究総括及び受容体担当)

総合評価：(秀)

3. 研究交流実施内容及び成果：

本研究交流では、受容体蛋白質を用いたナノバイオデバイス構築に不可欠な単一の受容体蛋白質の動的構造変化と機能の相関性の解明及び電気的特性評価を目的とする。

研究者相互の交流を積極的に進め、日本側で延べ18人、滞在日数として481日間、英国側で延べ14人、滞在日数として237日間と数多くの研究者交流を実施できた。

また、今回の研究交流プログラムをきっかけに、オックスフォード大学よりカリキュラムとして毎年2～3名の学生を1～2ヶ月程度受け入れる学生交流プログラムを試験的にスタートさせることができた。これにより、日英双方にメリットがある若手の教育的人材育成の足がかりができたと言える。

研究成果としては以下のとおり。

### (1) 日本側の成果

#### ①単一の受容体蛋白質の動的構造変化の観察について

溶液中での受容体蛋白質の計測技術を確立した。特に、生体膜や人工膜中に存在する特定の受容体蛋白質を計測／同定するために利用した金ナノ粒子と抗体の組み合わせは、AFMの計測において極めて有効であることが明らかとなった。これにより、他の受容体蛋白質との区別や形状がよく似た蛋白質、微粒子が混在する中での特定受容体蛋白質の計測／同定が可能となった。

また、受容体蛋白質の動的構造観察に向けた計測法を確立した。

生理的環境に近い条件で多量体および活性に関係するP2X受容体の構造を解析した。AFMと蛍光色素を用いることにより、単一のP2X受容体の構造変化とイオン透過性の関

連性を示す結果を得ることに成功した。

NMDA受容体を観察し、NMDA受容体は活性化／不活性化に伴って大きくNTDの構造を変化させることを示した。

単離した単一の受容体蛋白質について、高解像度観察及び動的構造変化の観察に成功し、P2X受容体で初めて構造変化のモデルを提唱することができた。NMDA受容体については、AFMによる構造計測の他、アゴニスト／アンタゴニストによる活性化／不活性化に伴う構造変化を、GABA<sub>A</sub>受容体については、構造変化とともにラフト局在性を明らかにすることができた。

- ②ナノデバイス構築に向けた基盤技術として、脂質をもちいて蛋白質を任意の位置へ移動させるための二つの手法について研究を進めた。まだ基礎段階の結果を得たところであり、さらに検討を進める必要がある。

## (2) 英国側の成果

- ①蛋白質の遺伝子改変及び化学修飾による基板表面相互作用解析とベシクル埋込に関する基板技術の確立

様々な表面状態の基板に対するバクトリオロドプシンなどの蛋白質との相互作用の解析を行い、構造変化に必要な条件を見つけるとともに、自己組織化を利用した基板を用いた蛋白質の特定場所への配置、この基板を利用した導電性計測への応用について検討した。その結果、基板の親水性、疎水性の影響の他、自己組織化基板では、シリコン基板上の金ナノ粒子に対する脂質ベシクルの吸着制御を達成し、バクトリオロドプシンなどの蛋白質配列の可能性を示した。

- ② 受容体蛋白質の脂質二分子膜ベシクルへの埋め込み

脂質二分子膜へのAMPA受容体の埋め込みを行い、受容体の埋め込み方向性を評価した。脂質二分子膜へ受容体が挿入される際に、ドメイン構造がキーとなることが明らかになった。

- ③ 電気的特性評価

ナノホール内の電極を利用した電気計測に取り組んでいるところ。

## 今後期待される効果

### ・科学技術進展の面から

本研究で取り組む受容体蛋白質の動的構造変化と機能の相関は、脳における情報伝達・処理の基本であるシナプス機能を理解する上で極めて重要な課題である。本成果により、受容体がアゴニスト／アンタゴニストにより活性化／不活性化する際の動的構造変化を単一の受容体でAFMにより初めてとらえることができたことは、受容体のシグナル受容に関する基礎的な知見を明らかにすることができる点ですぐれた成果である。また、その際の構造変化が視覚化されることで、状態変化を詳細に検討でき、新たな発見につながるポテンシャルを有している。

今後、新しいセンシングデバイスの創製、人工シナプスの創製／構築によるインターフェース、情報通信、医療応用などにつながるものと日本側研究チームは考えている。

- ・社会・産業への波及効果の面から

創薬や医療分野に応用可能な広い範囲への波及効果がある。例：脳梗塞や虚血など受容体が関連した予防医薬の開発、薬効評価、センシングデバイスの開発、ハイスループットスクリーニングへの応用、BMI，通信サービスなど、創薬・医療などの分野への貢献が期待されると日本側研究チームは考えている。

#### 4. 事後評価結果

##### 4-1. 総合評価

本研究交流はオックスフォード大学とNTT物性基礎研究所との間で、ナノデバイス構築に不可欠な単一の蛋白質の動的構造変化と機能の相関解明及び、電気的特性評価に関する共同研究を目的としている。本事業開始と同時期にNTTグループの独自研究が急速に進展し、受容体のシグナル受容の際の構造変化が視覚化されるという画期的な成果が上がり始めた。それゆえ、オックスフォード大学のグループにとってもNTTグループとの交流が極めて魅力のあるものとなったと想像される。また両者にとって、その次の課題である受容体蛋白質の膜への配置と固定の制御、および電気的特性評価という課題がより重要となり、本事業への取り組みにも熱が入ったと察せられる。共同研究の成果については、報告書には詳細が書かれていないが、両研究グループそれぞれがもつ技術と考え方が共同研究により相補的かつ相乗的に機能し、短期間にそれなりの成果をあげていると想像できる。また研究者交流も効率よく行われ、日英の研究文化の相違点まで若手研究者にも実感させることができているようである。

##### 4-2. 研究交流の有効性

単一受容体蛋白質観察では、金沢大の安藤らが開発した溶液中での高速AFM法を応用して、種々(AMPA, NMDA, GABA, P2X)の受容体の機能に直接関与する構造変化を実時間で観察することに成功した。最も重要な成果はP2X受容体についての研究で、本報告提出後2009年5月に、PLOS-biology誌に論文として発表された(ただし、この研究はOxford大学グループとの共同研究ではなく日本側グループ単独の研究である)。更に、受容体蛋白質を改変して基板表面との相互作用や、ベシクル埋め込みに関する基板技術の開発を推進して、吸着制御を試みた。また、電気的特性評価のための測定を試みて、受容体活性化に伴う電気特性変化を検知できた。ナノバイオデバイスの構築のためには多くの解決すべき技術的課題が残されているが、本研究により解決のための多数の手がかりが得られており、今後の発展が期待できる。しかしながら、成果報告書では投稿中の論文を多数記載しており、誠実な態度とは言い難い。

多数の若手研究員や学生の双方向の派遣がなされており、将来の研究交流につながる人材の育成は十分になされたと判断できる。

Oxford 大学との交流は良好で、研究成果と相俟って、今後も継続的な交流が十分に期待される。

#### 4－3．当初目標の達成度

相互に訪問し合い、多くの実験が進展しており、研究交流実施体制等が適切であったことが十分に認められる。

十分な相互派遣が実現されるとともに、多くのワークショップが開催されている。