

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名: ゲノムレベルの生体分子相互作用探索と医療に向けたナノレゴ開発

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点)

研究代表者

林崎 良英((独)理化学研究所 林崎生体分子機能研究室 主任研究員)

主たる共同研究者

松田 武久 (九州大学 大学院医学研究院 教授)平成18年3月まで

(金沢工業大学 ゲノム生物学研究所 教授)平成 18 年4月から

木戸秋 悟 (九州大学 先導物質化学研究所 教授)平成18年4月から

林 利蔵 ((株)ダナフォーム 会長) 平成17年12月まで

3. 研究内容及び成果

3 - 1 研究課題全体

本研究は、自己組織化能を持つ新規分子をナノレゴとして新たに創出し、これを用いて新規構造体の作成を目指すために、(1)ナノレゴ開発のための基礎研究、(2)ナノレゴ構築理論の確立とナノレゴ開発、(3)ナノレゴを用いた機能性材料開発に関する研究を進めた。

ナノレゴ開発のための基礎研究では、超好熱古細菌(Pyrococcus horikoshii)におけるタンパク質相互作用の系統的解析を、動物細胞2 - ハイブリッド法を用いた大規模タンパク質相互作用スクリーニングシステムを活用して実施し、107 組のタンパク質相互作用を検出した。このタンパク質相互作用情報を明記し、Pyrococcus horikoshii の全遺伝子を収載した「Pyrococcus DNAブック」を作製した。

また、高精度にリガンドーレセプタ力を測定する方法として、原子間力顕微鏡プローブ表面にグラフト重合層を形成し、そのグラフト鎖の自由末端にタンパク質を固定して力測定を行うハンドリング技術を開発した。この測定におけるリガンドーレセプタ対の特異的相互作用の強制剥離力が、プローブ引き離し速度に依存し、その速度依存性の解析から相互作用の自由エネルギープロファイルの概形を推定することが可能であることも明らかとした(DFS解析)。

ナノレゴ構築理論の確立とナノレゴ開発では、ヘテロ相互作用タンパク質対(接着素子)と構造対称性を有するホモオリゴマータンパク質(骨格素子)を連結させた人工融合タンパク質(ナノレゴ)を作製した。特に、PDZ/PDZpeptide 相互作用タンパク質対を接着素子、4量体タンパク質 Superoxide reductase(SOR)を骨格素子としたナノレゴを2種類混合すると、骨格素子を中心に接着素子間の結合部位2つが組となって会合した繊維状集合体が形成することが明らかとなった。また、Ca²⁺イオンの有無で会合状態が変化するタンパク質を接着素子として用いると、Ca²⁺イオンを添加した場合のみ高分子化が起こり、キレート剤添加によって会合体の解離が促進されることも見いだした。

ナノレゴを用いた機能性材料開発では、3方向に接着素子を安定に保持したナノレゴである CutA-TIP1 と TIP1 結合ペプチドを末端に導入した4分岐性PEGをバルク溶液中で混合し、透明で粘性のあるハイドロゲル形成が認められた。さらに、細胞接着モチーフRGDをCutAタンパク質に導入したものをを用いて作製したハイドロゲルは軟骨細胞との接着および伸展に非常に有効であることを見いだした。

3 - 2 グループ毎

(1)理化学研究所グループ

このグループでは、ナノレゴ開発のための基礎研究、ナノレゴ構築理論の確立とナノレゴ開発を担当した。

ナレゴ開発のための基礎研究では、超好熱古細菌 (Pyrococcus horikoshii) におけるタンパク質相互作用の系統的解析を、動物細胞2 - ハイブリッド法を用いた大規模タンパク質相互作用スクリーニングシステムを活用して実施し、107 組のタンパク質相互作用を検出した。

ナレゴ構築理論の確立とナレゴ開発では、ヘテロ相互作用タンパク質対(接着素子)と構造対称性を有するホモオリゴマータンパク質(骨格素子)を連結させた人工融合タンパク質(ナレゴ)を作製した。特に、PDZ/PDZpeptide 相互作用タンパク質対を接着素子、4量体タンパク質 Superoxide reductase(SOR)を骨格素子としたナレゴを2種類混合すると、骨格素子を中心に接着素子間の結合部位2つが組となって会合した繊維状集合体が形成することが明らかとなった。また、Caイオンの有無で会合状態が変化するタンパク質を接着素子として用いると、Caイオンを添加した場合のみ高分子化が起こり、キレート剤添加によって会合体の解離が促進されることも見いだした。

(2)九州大学グループ

このグループでは、ナレゴ開発のための基礎研究を担当した。

高精度にリガンドレセプタ力を測定する方法として、原子間力顕微鏡プローブ表面にグラフト重合層を形成し、そのグラフト鎖の自由末端にタンパク質を固定して力測定を行うハンドリング技術を開発した。この測定におけるリガンドレセプタ対の特異的相互作用の強制剥離力が、プローブ引き離し速度に依存し、その速度依存性の解析から相互作用の自由エネルギープロファイルの概形を推定することが可能であることも明らかとした(DFS解析)

(3) 金沢工業大学グループ

このグループではナレゴを用いた機能性材料開発を担当した。

3方向に接着素子を安定に保持したナレゴである CutA-TIP1 と TIP1 結合ペプチドを末端に導入した4分岐性PEGをバルク溶液中で混合し、透明で粘性のあるハイドロゲル形成が認められた。さらに、細胞接着モチーフRGDを CutA タンパク質に導入したものをを用いて作製したハイドロゲルは軟骨細胞との接着および伸展に非常に有効であることを見いだした

(4) ダナフォーム グループ

このグループでは、DNAブック作製を担当した。

理化学研究所グループで見いだされた超好熱古細菌 (Pyrococcus horikoshii) における 107 組のタンパク質相互作用情報を明記し、Pyrococcus horikoshii の全遺伝子を収載した「Pyrococcus DNAブック」を作製した。

4. 事後評価結果

4 - 1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

論文 (原著)		口頭 (ポスター)		招待講演		その他 (著作など)	特許出願	
国際	国内	国際	国内	国際	国内	国際&国内	国際	国内
17	0	10	30	12	22	11	1	2

蛋白質をベースにした新しい材料(ナレゴ)の作成という非常に困難なテーマにチャレンジしたためか、論文、口頭発表数、特許出願数ともに少ない。

ナレゴ蛋白質という新しい概念を提案し、蛋白質の強い相互作用のスクリーニング法を見だし、このスクリーニング法で見つけた蛋白質を用いてナレゴ構築を図り、接着素子、骨格素子がナレゴ蛋白質には必要であることを提案し、実証したことは生物学的に大きな意義がある。

ここまでの成果を得るには多くの困難があり、それを克服して概念の体系化と基本技術の確立を行ったが、

このコンセプトがどのように発展して、有用なものとなるかは今後のさらなる研究を要する。

4 - 2 . 成果の戦略目標・科学技術への貢献

タンパク質ナレゴの概念は、代表者のオリジナルで、ゲノム科学と物質科学をつなぐものとして科学的にインパクトの高いものである。今回のナレゴ概念の体系化と基本技術の確立を受けて、様々なナレゴ構造物を完全制御下で容易に創出する道が開かれた。種々の応用研究、実用化に繋がることを期待する。

4 - 3 . その他特記事項(受賞歴など)

(1) 受賞

2004年 文部科学大臣賞受賞 林崎良英 主任研究員

2005年 科学技術への顕著な貢献 in2005 受賞 林崎良英 主任研究員

2007年 紫綬褒章受章 林崎良英 主任研究員

(2) 今後の展開

具体的な展開はまだないが、本研究で確立したナレゴの概念の体系化、基本技術を生かした研究事業への展開を考えている。