

研究課題別評価

1.研究課題名 :タンパク質表面構造を対象とする認識 変換素子の創製

2.研究者氏名 浜地 格

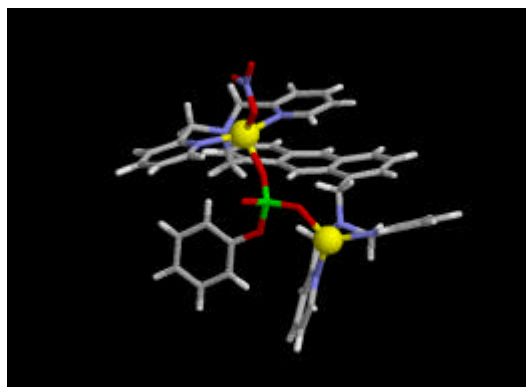
3.研究の狙い:

近年の細胞生物学の急速な進展により生きた細胞における情報伝達には、多くのタンパク質間の相互作用が重要であることが分かってきた。とりわけこれら生体高分子の表面を介した認識、即ち「タンパク質表面-表面間の分子認識」は生命現象における共通の言語と考えられるという共通認識が広がりつつある。細胞外からの情報の多くは、細胞膜や細胞内部でのタンパク質表面を介した相互作用によって、増幅され伝達される。これらを人為的に制御する分子レベルでの方法論の開発のためには、複雑で高度に水和した特定タンパク質の表面を選択的に認識し、さらにはこれらを化学変換できる分子群が必要となる。本研究では、タンパク質表面を特異的に認識・改変できる新規な小分子・表面レセプターおよび表面モジュレーター分子の開発を目指した。

4.研究結果:

(1) リン酸化タンパク質 / ペプチドを認識・センシングできる分子の開発

タンパク質表面のリン酸化 / 脱リン酸化は細胞内情報伝達においてもっとも一般的な現象である。私はリン酸化されたタンパク質表面を特異的に認識し、蛍光強度の変化としてセンシングできる人工分子を世界で初めて開発した。これは2核の亜鉛イオンを含む金属錯体であり、タンパク質上のリン酸基を二個の亜鉛イオンが挟み込むように結合することが結晶構造解析から明らかになった(図1)。また亜鉛イオン間の距離を変えた人工分子を合成することによって、複数のリン酸基を有するペプチドの配列選択的な認識とセンシングが可能であることも明らかにした。



(2) タンパク質表面のリガンド結合部位特異的な化学変換法の開発

また、タンパク質表面の選択的な化学反応として、特定の基質(リガンド)を認識するタンパク質のリガンド結合能を利用した新しい化学手法を開発することに成功した。これは光親和性ラベル化とその後の選択的な化学反応を組み合わせたもので、ポスト光親和性ラベル化後修飾(P-PALM)法と名付けられた。この方法を利用して、糖結合タンパク質であるレクチンの糖結合部位近傍のアミノ酸残基1個の選択的な化学変換が可能となり、蛍光プローブや人工分子認識部位の導入によって、特定の糖鎖の結合を蛍光変化としてセンシングできる新しいバイオセンサーの構築に成功した。

5.自己評価:

リン酸化タンパク質表面認識レセプターの開発は、タンパク質リン酸化の関与する生化学反応

の簡便な分析やタンパク質 / タンパク質相互作用制御分子の創製など様々な展開が期待される。また P-PALM 法は他のレセプタータンパク質などへの適用も可能と考えられ、現在タンパク質表面の部位選択的な化学変換法として一般化に挑戦中である。

これらの成果は、細胞での言語の分子レベルでの改変を可能にし、多くの生命現象をコントロールできる分子ツールを提供することになるであろう。未踏の研究分野である細胞内有機化学を先導する成果と期待される。

6. 研究総括の見解：

リン酸化たんぱく質認識レセプターを開発し、このレセプターにスペーサーをつけ、より複雑な認識が可能となった。このリン酸化たんぱく質センサーは、海外において注目されており、今後応用展開が期待される。

7. 主な論文等：

1. Pd(en) as a Sequence-Selective Molecular Pinch for α -Helical Peptides, I. HAMACHI, N. KASAGI, S. KIYONAKA, T. NAGASE, Y. MITO-OKA, S. SHINKAI, Chem. Lett., 16-17 (2001).
2. Zn(II) Dipicolylamine-based Artificial Receptor as A New Entry for Surface Recognition of α -Helical Peptides in Aqueous Solution, Y. MITO-OKA, S. TSUKIJI, T. HIRAOKA, N. KASAGI, S., S. SHINKAI, I. HAMACHI, Tetrahedron Lett., 427059-7062 (2001).
3. First Artificial Receptors and Chemosensors toward Phosphorylated Peptide in Aqueous Solution, A. OJIDA, Y. MITO-OKA, M. INOUE, I. HAMACHI, J. Am. Chem. Soc., 124, 6256-6258 (2002).
4. Cross-linking Strategy for Molecular Recognition and Fluorescent Sensing of a Multi-phosphorylated Peptide in Aqueous Solution, A. OJIDA, M. INOUE, Y. MITO-OKA, I. HAMACHI, J. Am. Chem. Soc., 125, 10184-10185 (2003).
5. Molecular Recognition and Fluorescence Sensing of mono-Phosphorylated Peptides in Aqueous Solution by bis(Zn(II)-dipicolylamine)-based Artificial Receptors, A. OJIDA, Y. MITO-OKA, K. SADA, I. HAMACHI, J. Am. Chem. Soc., 125, in press (2003).
6. Recognition and Fluorescence Sensing of Specific Amino Acid Residue on Protein Surface Using Designed Molecules, A. OJIDA, Y. MIYAHARA, T. KOHIRA, I. HAMACHI, Biopolymers-peptide science., in press (2003).
7. A General Semisynthetic Method for Fluorescent Saccharide-Biosensors Based on a Lectin, I. HAMACHI, T. NAGASE, S. SHINKAI, J. Am. Chem. Soc., 122, 12065-12066 (2000).
8. Post-Photoaffinity Labeling Modification Using Aldehyde Chemistry to Produce a Fluorescent Lectin toward Saccharide-Biosensors, T. NAGASE, S. SHINKAI, I. HAMACHI, Chem. Commun., 229-230 (2001).
9. Construction of Artificial Signal Transducers on a Lectin Surface by Post-Photoaffinity-Labeling Modification for Fluorescent Saccharide Biosensors, T. NAGASE, E. NAKATA, S. SHINKAI, I. HAMACHI, Chem. Eur. J., 9, 3660-3669 (2003).

国際会議招待講演 ⑨ 件)

Itaru Hamachi: Modulation of Molecular Recognition on a Protein Surface, Gordon Research Conference on Bioorganic Chemistry, New Hampshire(USA), 9-14 June 2002

など

特許 ③ 件)