



「構造及び機能単位としてのモジュールを組み合わせた新規蛋白質の分子設計と創製」

(平成 12～15 年度特別推進研究「構造及び機能単位としてのモジュールを組み合わせた新規蛋白質の分子設計と創製」)

所属(当時)・氏名：京都大学工学研究科・教授・森島 績

(現所属：京都大学・名誉教授／立命館大学生命科学部・客員教授)

1. 研究期間中の研究成果

生物はランダム変異のような単純な分子進化の手法だけではなく、はるかに効率的で高度な手法である遺伝子上でのエクソンの組換え、つまり「エクソン・シャッフリング」を利用してきた。近年、エクソンが蛋白質の構造単位「モジュール」に対応しており、「エクソン・シャッフリング」すなわち「モジュール」の置換により新規機能をもった蛋白質の進化が促進されたという分子進化の仮説が提唱されている。そこで本研究では、自然界における分子進化過程と考えられるこの斬新な「モジュール」の置換を巧みに用いて、新たな蛋白質分子設計法を開発することを目指した。4年間の研究の結果、例えば、全く相同性のない2種の蛋白質においてモジュール構造を巧みに組み合わせることにより、酸素結合能を金属イオンの結合によって制御するという自然界に存在しない人工的な蛋白質を創出することに成功した。また、金属酵素の工業的利用を目指した酸化酵素の基質特異性の人工的改変や酸素添加酵素の電子受容特性の設計についても成果を挙げることができ、いずれも天然の蛋白質にはない新たな機能を実現できた。一方で、酸化ストレスに伴う神経細胞死を防ぐ働きがあるヒトのニューログロビン(Ngb)の作用機序をモジュール置換等を行い解析することにより、Ngbは酸化ストレス応答性のセンサー蛋白質として働き、酸化ストレスを受けた時のみNgbがヘテロ三量体G蛋白質 α 鎖と特異的に結合し、GDP解離抑制蛋白質(GDI)として機能することを発見した。

2. 研究期間終了後の効果・効用

期間終了後、ヒトNgbの神経細胞死抑制活性にGDI活性が極めて重要であることを実際に細胞を使って実証した。また、魚類Ngbには細胞の外から細胞内に自ら移行する働き「細胞膜貫通特性」があることを発見した。さらに、ヒトNgbと魚類Ngb間でモジュール置換を行うことにより、ヒトNgb特有のGDI活性を持ち、魚類Ngb特有な細胞膜貫通特性を兼ね備えた新規蛋白質の創製に成功した。このモジュール置換蛋白質は、細胞の外の培養液に加えておくだけで細胞質内に入っていく酸化ストレスに伴う神経細胞死を保護する働きがあることも明らかになり、モジュール置換法の有効性を実証した。今後、生命現象の根幹をなすシグナル伝達系を人工的に制御する蛋白質を創製する際など、蛋白質の設計手法としてモジュール置換法が極めて有力な手法になると期待できる。また、モジュール置換蛋白質の構造、機能解析の際に開発した種々の蛋白質の精製法、分光学的手法、特に構造が不安定化した蛋白質の単離、安定同位体ラベル化手法、高分子量、低濃度蛋白試料に対する高感度多次元NMR測定法を応用して、生理的な重要性が指摘されながら構造的、機能的解析が大きく遅れていた金属イオンを制御因子とする転写因子や呼吸鎖における電子移動反応の解析に取り組み、大きな成果をあげた。

【科学研究費補助金審査部会における所見】

本特別推進研究は、蛋白質の構造・機能単位としてのモジュールに着目し、金属イオンにより酸素結合能制御可能な人工グロビン蛋白質の創製や、モジュール置換によるニューログロビンの機能解明など、優れた成果をあげた。

研究期間終了後も、ニューログロビンの機能解明に関する研究をはじめとして、多くの研究を進展させており、また、研究期間中に整備した機器あるいは開発した方法を応用して、数多くの研究成果をあげている。蛋白質工学の観点からは、モジュール概念の応用について研究期間終了後の進展が期待よりもやや少ないと思われる面もあるが、本研究の成果を応用して得られた蛋白質フォールディングや機能解析に関する研究成果を考えれば、蛋白質科学・生命科学の基礎・応用両面において、学術的に大きな波及効果を及ぼしているといえる。さらに、NMR 計測手法や一分子計測技術の開発は、他分野の研究にも大きく貢献しているといえる。本研究が蛋白質科学に関する基礎研究であることを考えれば、医薬開発をはじめとして数多くの応用分野に影響を及ぼすことは容易に想像できる。

研究代表者は、研究期間終了後間もなく研究環境が大きく変化し、直接に研究を遂行する時間が激減したと思われるが、特別推進研究に参画した研究者との共同研究によりこの5年間にも継続して研究成果を発表し、研究期間中の成果とともに、多くの論文に引用されている。

人材育成に関しては、研究期間中に育った若手研究者が、それぞれ研究を展開し、非常に優れた数多くの研究成果を継続してあげており、その発表論文も数多く引用されている。この点で、本特別推進研究が当該学術領域の発展において行った人的資源に関する貢献は多大なものであると考えられる。